

原 著

Ethambutol 感受性により *Mycobacterium malmoense* を
Mycobacterium nonchromogenicum から区別する方法

矢 守 貞 昭 ・ 東 村 道 雄

国立療養所中部病院内科

受付 昭和 63 年 9 月 7 日

DIFFERENTIATION BETWEEN *MYCOBACTERIUM MALMOENSE* AND
MYCOBACTERIUM NONCHROMOGENICUM BY ETHAMBUTOL SUSCEPTIBILITY

Sadaaki YAMORI* and Michio TSUKAMURA

(Received for publication September 7, 1988)

Mycobacterium malmoense strains are resistant to 1 µg/ml ethambutol in Ogawa egg medium, whereas *Mycobacterium nonchromogenicum* strains are susceptible to this concentration. Therefore, these two Group III nonphotochromogens are differentiated clearly from each other by the susceptibility test for ethambutol 1 µg/ml. Ninety-five % of *Mycobacterium avium* complex strains are resistant to this concentration, while *M. nonchromogenicum* strains are susceptible. Therefore, the test serves for differentiating *M. nonchromogenicum* from *M. avium* complex.

Previously, Tsukamura (Kekkaku 45 : 237, 1970) reported that pathogenic and nonpathogenic mycobacteria of Group II and Group III are differentiated by the susceptibility test to ethambutol, 5 µg/ml. However, the use of Ogawa egg medium containing 1 µg/ml ethambutol is superior to that of 5 µg/ml ethambutol for differentiating pathogenic and nonpathogenic ones of the Group III.

Key words : *Mycobacterium malmoense*,
Mycobacterium nonchromogenicum, Suscep-
tibility to ethambutol

キーワードズ : *Mycobacterium malmoense*, *My-*
cobacterium nonchromogenicum, エタンブトール
感受性

緒 言

Mycobacterium malmoense は, Schröder & Juhl¹⁾ により, *Mycobacterium avium* complex と区別できる Group III nonphotochromogens の病原性抗酸菌として報告されたが, 続いての Jenkins & Tsukamura²⁾ の研究により, *M. avium* complex と

Mycobacterium nonchromogenicum-*M. terrae*-*M. triviale* complex との中間の性状を示すことが明らかにされ, これらとの区別点が報告された。しかしながら, *M. avium* complex と *M. malmoense* の区別は, Tween 80 水解 (14 日後), β-esterase, acetate の C 源としての利用 (NH₄-N 存在下) などにより, 比較的明瞭に可能であったが, *M. nonchromogenicum*

* From the National Chubu Hospital, Obu, Aichi 474 Japan.

との区別は、必ずしも明確にできなかった。もちろん、ethambutol 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 感受性、acid phosphatase などの組み合わせによって鑑別可能であったが、単一反応による区別は不可能であった³⁾。われわれは、今回、ethambutol 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 感受性テストにより、これが可能であることを見出した。

方 法

M. avium complex 64 株、*M. nonchromogenicum* 20 株、*M. malmoense* 11 株を使用した。前2者は、われわれの研究室で分離同定したものを使用し、*M. malmoense* は、P. A. Jenkins 博士 (Mycobacterium Reference Laboratory, University of South Wales, Cardiff, UK) から受領した株を使用した。

「1%小川培地」で、Fig. に示した濃度の Ethambutol (EB) を含む培地を作った。EB は滅菌前に添加し、165 \times 16.5 mm の試験管に 7 ml ずつ注し、90°C 60 分滅菌して斜面とした。菌株は、「1%小川培地」に 37°C 10 日間培養し、湿菌量 10 mg/ml の菌液を作った (0.1% Tween 80 水溶液に浮遊)。この 0.02 ml ずつを渦巻白金耳で、上記の EB 培地に接種し、37°C 14 日培養後、完全発育阻止を起こした最小濃度 (MIC) を測定した。時に痕跡の発育がみられることがあったが、これは発育阻止とみなした。対照培地では、常に豊富な菌膜状発育がみられたので、培地の一部に極少量の痕跡の発育がみられた場合は、事実上の発育阻止と考えられたからである。

成績および考察

成績を Fig. に示す。*M. nonchromogenicum* は全株が EB 0.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で発育を阻止されたが、*M. malmoense* は、全株が EB 0.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に発育した。*M. malmoense* に対する EB の MIC は 1.6~25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。*M. avium* complex に対する EB の MIC は、0.8~>50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。EB 0.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で発育阻止されたのは、64 株中 3 株 (5%) だけであり、残りの 95% の株は、EB 0.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 培地に発育した。

以上の成績から、EB 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 培地で感受性テストを行うと、*M. nonchromogenicum* は、全部が発育しないのに対し、*M. malmoense* は、全株が発育するので、両者を区別できる。

前に、東村⁴⁾は、EB 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 感受性試験により、Group II および Group III の病原菌と非病原菌を区別できることを報告した。*M. avium* complex、*M. xenopi* および *M. scrofulaceum* は、EB 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 耐性であったが、*M. nonchromogenicum* complex、*M. gastri* および *M. gordonae* (tap water scotochromogens) は感受性であった。その後、*M. szulgai*

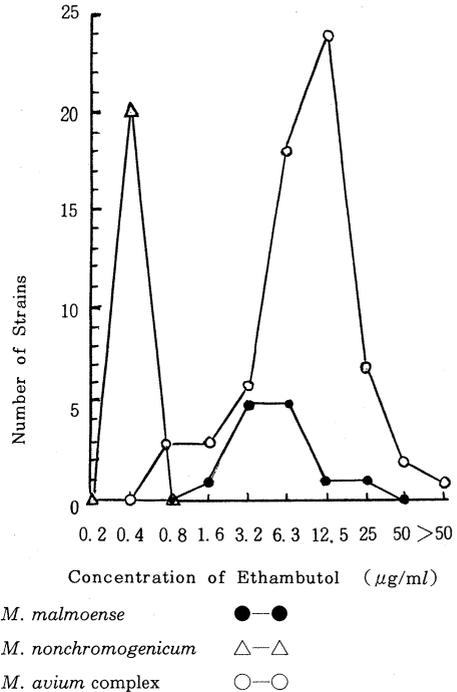


Fig. Comparison of the minimal inhibitory concentrations of ethambutol against 11 strains of *Mycobacterium malmoense*, 20 strains of *Mycobacterium nonchromogenicum*, and 64 strains of *Mycobacterium avium* complex.

The susceptibility testing was made using Oga-wa egg medium. A 0.02 ml-sample of the bacterial suspensions, 10 mg wet weight per ml, prepared from 10 day-old cultures of test strains was inoculated on each medium containing ethambutol or containing no drug, and the minimal inhibitory concentrations were determined after incubation at 37°C for 14 days.

が病原菌であるにもかかわらず、例外的に EB 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 感受性であることが分かったが⁵⁾、上記の所見は変わらない。

その後、*M. malmoense* が発見され、これもたいがい EB 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 耐性と認められたが²⁾、その後、*M. malmoense* は *M. avium* complex よりもやや EB 感受性であることが分かったので³⁾、今回、この実験を行った。その結果は、*M. malmoense* と Group III の非病原菌 *M. nonchromogenicum* を区別するには、EB 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 培地を用いる方がよいことが分かった。また、*M. nonchromogenicum* と *M. avium* complex を区別するためにも、EB 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 培地の方がよいと考えられる。

結 論

M. malmoense を *M. nonchromogenicum* から区別するためには、Ethambutol 1 $\mu\text{g/ml}$ を含有する「1%小川培地」を用いるとよい。前者は、この培地に発育し、後者は発育しない。また、*M. nonchromogenicum* を *M. avium* complex から区別するためにも、この培地の方が、Ethambutol 5 $\mu\text{g/ml}$ 培地よりもすぐれている。*M. nonchromogenicum* は、全株が発育しないが、*M. avium* complex の株は、95%までが、これに発育する。

文 献

- 1) Schröder, K. H. and Juhlin, I. : *Mycobacterium malmoense* sp. nov, Int J Syst Bacteriol, 27 : 241-246, 1977.
- 2) Jenkins, P. A. and Tsukamura, M. : Infections with *Mycobacterium malmoense* in England and Wales, Tubercle, 60 : 71-76, 1979.
- 3) 東村道雄 : *Mycobacterium malmoense* 感染症, 結核, 63 : 151-155, 1988.
- 4) 東村道雄 : Ethambutol 耐性による病源性および非病源性抗酸菌 (Group II および Group III) の区別, 結核, 45 : 237-240, 1970.
- 5) Marks, J., Jenkins, P. A. and Tsukamura, M. : *Mycobacterium szulgai*—a new pathogen, Tubercle, 53 : 210-214, 1972.