

[短 報]

非結核性抗酸菌の検出状況と薬剤感受性の年次推移

角田拓也・橋本郷美・真柴新一・江副 純・久川 聡
株式会社 保健科学研究所

(平成 30 年 11 月 5 日受付, 令和元年 5 月 16 日受理)

当センターにおいて、2011 年から 2017 年の間に 300 床未満の医療施設を中心に検査依頼を受けた非結核性抗酸菌 (Nontuberculous mycobacteria : NTM) の検出状況と薬剤感受性の年次推移を調査した。NTM における主な検出菌は、*Mycobacterium avium* (*M. avium*) : 7,967 株 (58.4%) と *Mycobacterium intracellulare* (*M. intracellulare*) : 2,343 株 (17.2%) で、次いで *Mycobacterium gordonae* が 1,171 株 (8.6%) 認められた。また、*Mycobacteroides* (*Mycobacterium*) *abscessus* と *Mycobacterium* (*Mycobacterium*) *fortuitum* の近年における増加傾向と、*Mycobacteroides* (*Mycobacterium*) *chelonae* における 2015 年をピークとした減少傾向が認められた。

薬剤感受性検査については streptomycin (SM), ethambutol (EB), kanamycin (KM), rifampicin (RFP), rifabutin (RBT), levofloxacin (LVFX), clarithromycin (CAM), ethionamide (TH), amikacin (AMK) の MIC を測定したが、経年的な耐性傾向は認められなかった。耐性率が 10% を超える薬剤は *M. avium* では 5 薬剤 (SM, EB, KM, TH, AMK), *M. intracellulare* で 2 薬剤 (EB, TH), *Mycobacterium kansasii* (*M. kansasii*) で 2 薬剤 (SM, EB) 認められた。MAC (*M. avium* complex) に対し *in vitro* で薬剤感受性結果と臨床効果に相関性がみられる CAM¹⁾, および *M. kansasii* に有効とされる RFP¹⁾はいずれも耐性率が 10% 以下を示し、それらの有用性が保たれていることが確認できた。

Key words: 非結核性抗酸菌, Nontuberculous mycobacteria (NTM), DNA-DNA Hybridization (DDH), BrothMIC NTM

序 文

非結核性抗酸菌 (Nontuberculous mycobacteria : NTM) は土壌や水系 (環境水, 上水道), その他あらゆる環境下に生息²⁾³⁾, 人に対し肺疾患だけでなくリンパ節, 関節, 皮膚, 軟部組織への感染も起こしうる¹⁾。NTM 症は近年増加しており, 2014 年の罹患率は 14.7 人/10 万人年で 2007 年の 2.6 倍を示し⁴⁾, 肺 NTM 症の中でも難治性の *Mycobacteroides* (*Mycobacterium*) *abscessus* (*M. abscessus*) 症が約 5 倍に増加している⁴⁾こと, さらに NTM 症による死亡率の増加⁵⁾に関しても報告されている。その他, 国内における特定地域や医療施設における同様の報告⁶⁾⁷⁾が多数なされているものの, 抗酸菌関連の検査を外部機関に委託している施設に関する NTM の分離状況や薬剤耐性傾向に関する報告は少なく, 現状を把握するのが困難である。今回, 300 床未満の医療施設を中心に当センターに検査依頼のあった NTM の検出状況と薬剤感受性の年次推移について調査を行った。

材料と方法

2011 年から 2017 年において DNA-DNA Hybridization method (DDH 法) による抗酸菌同定と MIC 測定を実施した患者を対象とした。同一患者から分離された菌株のデータについては重複処理を行い, DDH 法の依頼のあった 17,325 件のうち重複患者 1,499 件を除いた 15,826 件を対象とした。また薬剤感受性検査については MIC 測定依頼のあった 1,380 件のうち, 重複患者 69 件を除いた 1,311 件を対象とした。15,826 件における検体の種類は喀痰 13,903 件 (87.8%), TTA 採痰 563 件 (3.6%), 咽頭ぬぐい液 442 件 (2.8%) を含む呼吸器検体が 14,987 件で全体の 94.7% を占め, その他, 主な検体は胃液 523 件 (3.3%), 胸水 86 件 (0.5%), 皮膚・膿 97 件 (0.6%) であった。また, 検体が提出された地域は神奈川県内の施設 7,891 件 (49.9%) を含む関東地方からの提出が最も多く全体の 71.8% を占め, 近畿・北陸・東海地方 18.4%, 北海道・東北地方 7.1%, 中国・九州・沖縄地方 2.6% であり, 四国地方は対象がなかった。なお, 患者の臨床的背景は入手困難なため, 肺 NTM 症の診断基準⁸⁾を満たしているかは不明であった。

菌種同定と MIC 測定はそれぞれ DDH マイコバクテリア '極東' と BrothMIC NTM (いずれも極東製薬工業株式会社) を用いて各検査法に準じ実施し, それらの結果を後ろ向きに調査した。各種抗菌薬のブレイクポイント⁹⁾が設定されている *Mycobacterium avium* (*M. avium*) および *Mycobacterium intracellulare* (*M. intracellulare*), *Mycobacterium*

著者連絡先: (〒240-0005) 神奈川県横浜市保土ヶ谷区神戸町 106 番地
株式会社保健科学研究所
角田拓也
TEL: 045-333-1661
FAX: 045-335-3298
E-mail: tsunoda@hkk.co.jp

Table 1. Nontuberculous mycobacteria and *Mycobacterium tuberculosis* complex detection in each year

Species	Number of detections								Percentage of whole isolates (n = 15,826)	Percentage of NTM *8 (n = 13,640)
	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	Total		
<i>M. avium</i>	1,007	998	1,285	1,218	1,216	1,152	1,091	7,967	50.3	58.4
<i>M. intracellulare</i>	295	321	330	354	337	342	364	2,343	14.8	17.2
<i>M. gordonae</i>	79	168	219	227	201	149	128	1,171	7.4	8.6
<i>M. abscessus</i> *1	42	34	59	72	66	76	81	430	2.7	3.2
<i>M. kansasii</i>	40	54	40	48	54	43	36	315	2.0	2.3
<i>M. chelonae</i> *2	20	17	29	39	50	26	23	204	1.3	1.5
<i>M. fortuitum</i> *3	22	35	28	32	53	51	48	269	1.7	2.0
<i>M. peregrinum</i> *4	23	9	19	27	26	27	15	146	0.9	1.1
<i>M. terrae</i> *5	0	5	5	13	13	8	10	54	0.3	0.4
<i>M. scrofulaceum</i>	1	9	9	11	8	8	4	50	0.3	0.4
<i>M. xenopi</i>	4	4	3	4	6	3	4	28	0.2	0.2
<i>M. nonchromogenicus</i> *6	0	2	4	7	8	3	3	27	0.2	0.2
<i>M. szulgai</i>	2	2	5	2	4	1	4	20	0.1	0.1
<i>M. marinum</i>	3	0	1	1	1	4	5	15	0.1	0.1
<i>M. simiae</i>	0	0	0	0	0	1	1	2	0.0	0.0
<i>M. trivialis</i> *7	0	0	0	0	1	0	0	1	0.0	0.0
<i>M. gastri</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
<i>M. tuberculosis</i> complex	368	291	284	346	331	282	284	2,186	13.8	—
unidentified	46	59	69	102	101	113	108	598	3.8	4.4
Total	1,952	2,008	2,389	2,503	2,476	2,289	2,209	15,826	100.0	100.0

*1. *Mycobacteroides* (*Mycobacterium*) *abscessus*, *2. *Mycobacteroides* (*Mycobacterium*) *chelonae*, *3. *Mycolicibacterium* (*Mycobacterium*) *fortuitum*, *4. *Mycolicibacterium* (*Mycobacterium*) *peregrinum*, *5. *Mycolicibacter* (*Mycobacterium*) *terrae*, *6. *Mycolicibacter nonchromogenicus* (*Mycobacterium nonchromogenicum*), *7. *Mycolicibacillus trivialis* (*Mycobacterium triviale*), *8. Nontuberculous mycobacteria.

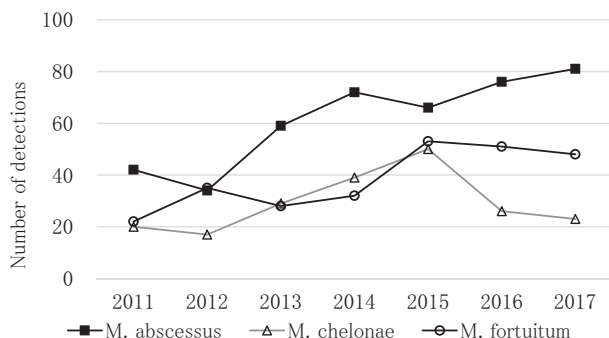


Fig. 1. The increase and decrease of *Mycobacteroides abscessus* (*Mycobacterium abscessus*), *Mycolicibacterium fortuitum* (*Mycobacterium fortuitum*), and *Mycobacteroides chelonae* (*Mycobacterium chelonae*)

kansasii (*M. kansasii*) については経年的な耐性率の推移と複数薬剤同時耐性株の割合を調査した。さらに MIC₅₀ および MIC₉₀ については上記 3 菌種に加え、対象株数が上位を占めた *Mycobacterium gordonae* (*M. gordonae*) についても調査し比較した。対象薬剤は streptomycin (SM), ethambutol (EB), kanamycin (KM), rifampicin (RFP), rifabutin (RBT), levofloxacin (LVFX), clarithromycin (CAM), ethionamide (TH), amikacin (AMK) の計 9 薬剤で、RBT については MIC プレートに搭載された 2011 年 9 月からの検査結果を採用した。また、30 日以内に同一患者から同一菌種が複数回検出された場合、重複処理し最初のデータのみを使用した。

MIC 値が異なる場合はいずれも集計対象とした。各種抗菌薬のブレイクポイントを以下に示す。*M. avium* と *M. intracellulare* (susceptible, intermediate, resistant) : SM (≤ 2, 4, ≥ 8), EB (≤ 2, 4, ≥ 8), KM (≤ 2, 4-8, ≥ 16), RFP (≤ 0.5, 1-4, ≥ 8), LVFX (≤ 1, 2-4, ≥ 8), CAM (≤ 8, 16, ≥ 32), TH (≤ 1, 2-4, ≥ 8), AMK (≤ 2, 4-8, ≥ 16)。 *M. kansasii* (susceptible, resistant) : SM (≤ 4, ≥ 8), EB (≤ 2, ≥ 4), RFP (≤ 0.5, ≥ 1), CAM (≤ 8, ≥ 16)。

結 果

1. *Mycobacterium* 属の分離状況

DDH 法による同定検査を実施した 15,826 件のうち *Mycobacterium tuberculosis* complex 2,186 株を除いた NTM 13,640 株において、*M. avium* は 7,967 株 (58.4%) 認められ、次いで *M. intracellulare* が 2,343 株 (17.2%) で優位を占めた (Table 1)。その他、*M. gordonae* と *M. abscessus*, *M. kansasii* について、それぞれ 1,171 株 (8.6%), 430 株 (3.2%), 315 株 (2.3%) 認められた。*M. abscessus* と *Mycolicibacterium* (*Mycobacterium*) *fortuitum* (*M. fortuitum*) においては、集計期間の初期と比較し、近年の増加傾向が認められ、*Mycobacteroides* (*Mycobacterium*) *chelonae* (*M. chelonae*) においては 2015 年をピークとした減少傾向を示した (Fig. 1)。

該当株数が少なかった泌尿器材料を除き検体種別にみると、呼吸器と消化器、血液・穿刺液検体で *M. avium* と *M. intracellulare* が優位を占めたが、皮膚や膿においては *M. avium*

と *M. intracellulare* の割合が大きく低下し、代わりに *M. abscessus* や *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *Mycobacterium marinum* (*M. marinum*) の割合が増え、いずれも 5% 以上を占めた (Table 2)。未同定となった 598 株については、呼吸器検体において 579 株 (4.4%) で数自体は多かったものの、検体別の割合は皮膚・膿由来の 10.3% (6 株) が最も高かった。

地域ごとに検出菌の割合を比較すると近畿地方、中国地方、九州・沖縄地方における *M. intracellulare* の割合は 20% を超え、他の地域より高い割合を示した (Table 3)。特に九州・沖縄地方では *M. intracellulare* の占める割合は 32.6% で *M. avium* と同等であった。甲信越地方と東海地方における *M. gordonae* の割合は 10% を超え、他の地域より高い割合を示したが、その他の菌種において地域による検出率に顕著な差は認められなかった。

2. 薬剤感受性検査

薬剤感受性検査の結果、判定基準⁹⁾のある 3 菌種 (*M. avium*: 932 株 および *M. intracellulare*: 231 株, *M. kansasii*: 20 株) において、各薬剤の耐性率については変動を生じた年があったものの、経年的な耐性傾向の推移は認められなかった (Table 4)。また、10% 未満の耐性率を示す薬剤とそれ以上の耐性率を示す薬剤の大きく 2 つに分けられ、*M. avium* および *M. intracellulare* において耐性率が 10% を超える薬剤はそれぞれ 5 薬剤 (SM, EB, KM, TH, AMK)、2 薬剤 (EB, TH) 認められ、一方、両菌種共に RFP, LVFX, CAM は 10% 以下の耐性率だった。*M. kansasii* においては対象株数が少なく変動が大きくなり、SM と EB では耐性率が 10% を超えたが、CAM, RFP に対しては全ての株が感受性を示した。肺 MAC 症の化学療法は CAM, RFP, EB の 3 薬剤による多剤併用が基本とされる¹⁰⁾が、*M. avium* と *M. intracellulare* の集計期間における耐性率は CAM でそれぞれ 5.4%, 1.7% であり、RFP では 4.4%, 1.3%, EB で 92.6%, 25.4% であった。

次に薬剤耐性株の割合をみた場合、どの薬剤に対しても耐性を示さなかった株は、*M. avium*, *M. intracellulare* においてそれぞれ 14 株 (1.5%), 11 株 (4.7%) であった (Table 5)。また、なんらかの 1 薬剤のみ耐性を示した株は 93 株 (10.0%), 133 株 (57.3%) で、*M. avium* における EB と *M. intracellulare* における TH で顕著であった。さらに 2 薬剤以上に同時に耐性を示した株が 827 株 (88.5%), 88 株 (37.9%) であった。そのうち *M. avium* 2 株 (0.2%) のみ CAM, RFP, EB の 3 剤同時に耐性を示し *M. avium* において複数薬剤同時耐性の傾向が認められた。

MIC₅₀ と MIC₉₀ の結果においても、*M. intracellulare* と *M. gordonae* における TH や、*M. kansasii* における KM は *M. avium* の結果と同等かそれ以上の高値を示したが、*M. avium* の MIC₅₀ と MIC₉₀ は他菌種より高い値を示す傾向が認められた (Table 6)。特に *M. intracellulare* と *M. gordonae*, *M. kansasii* に対する RFP, RBT, CAM において MIC₅₀ と MIC₉₀ が 1 µg/mL 未満を示すなか、*M. avium* の RFP, CAM における MIC₉₀ はそれぞれ 2 µg/mL, 4 µg/mL と他菌種より高い値を示し、最も耐性傾向が認められた。

考 察

NTM において *M. avium* と *M. intracellulare* が全国的に優位を占める傾向¹¹⁾に変化はなかった。しかし、既報¹¹⁾における *M. avium*/*M. intracellulare* の比はおよそ 2.0~2.1 であるのに対し、今回のデータにおいては 3.4 であった。これは我々のデータが報告した株全てを集計対象としている点や、特に当センターは *M. avium* の割合が高い関東地方の検体数が多かったなど、対象株の抽出条件に起因するものと考えられた。集計期間において *M. abscessus* と *M. fortuitum* の検出数の増加と、*M. chelonae* における 2015 年をピークとした減少傾向が認められたが、*M. abscessus* の増加傾向に関する報告¹⁾はあるものの、*M. fortuitum* における増加傾向や *M. chelonae* の減少傾向に関する報告は乏しいため今後の動向を注視する必要がある。

検体種別に検出菌の割合をみると、*M. avium* と *M. intracellulare* が優位を占めるなか、皮膚や膿検体からは *M. marinum* に加え、*M. abscessus* や *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. marinum* などの割合が増え、それらが検出される検体の種類¹⁾と一致した。

地域ごとに検出菌の割合を比較した場合、近畿地方、中国地方、九州・沖縄地方における *M. intracellulare* の割合は 20% を超え、他の地域より高い割合を示した。特に九州・沖縄地方では *M. intracellulare* の占める割合は 32.6% で *M. avium* と同等であった。この西日本で *M. intracellulare* の割合が高い傾向は既報¹¹⁾と類似していたが、近畿地方における *M. kansasii* や九州・沖縄地方における *M. abscessus* の分離率が高い¹¹⁾という点については、今回の我々の結果からは認められなかった。両地域における我々の対象株は少なく、さらなるデータの蓄積が必要であった。さらに、甲信越地方と東海地方における *M. gordonae* が他の地域より高い割合で検出された。本菌はヒトへの病原性が低いと考えられていたが、human immunodeficiency virus (HIV) 感染者をはじめとする易感染者だけでなく、健常者での肺感染症の原因菌となることもある¹²⁾。しかし、本検討において報告した株のうち、どの程度が治療の対象となったかについては調査できなかった。

次に、薬剤感受性検査の結果から、耐性率が 10% を超える薬剤数や複数薬剤に対する同時耐性の割合、さらに MIC₅₀ と MIC₉₀ を考慮した場合においても、全体的に *M. avium* が耐性傾向を示していた。一部、*M. kansasii* において KM の MIC₅₀ と MIC₉₀ が高い値を示す結果が得られたが、この点についても河田ら⁷⁾の報告と類似していた。ただし、MIC 自体は河田ら⁷⁾の報告と比べ全体的に 1~2 管低い値を示していた。これについては測定された年代が異なるものの経年的な差ではなく、対象株の地域性、データの数、NTM 症と診断された患者由来の株のみを集計対象としたかなどの要因が影響しているものと考えられた。

しかし、MAC に対し *in vitro* で薬剤感受性結果と臨床効果に相関性がみられる CAM¹⁾ や *M. kansasii* に有効な RFP¹⁾ についてはいずれも耐性率は 10% 以下を示し、それらの有用性が保たれていることが確認できた。一方、*M. avium* と *M. intracellulare* における EB の耐性率はそれぞれ 92.6%, 25.4% で耐性傾向が顕著であったが、EB については CAM

Table 2. Nontuberculous mycobacteria (NTM) detection in each specimen

Species	Specimen																			
	Respiratory system				Digestive system				Urine/ vaginal secretions				Blood/ Puncture liquid				Skin/ Pus		Total	
	n		%		n		%		n		%		n		%		n		%	
	Sputum	Others*4	Total		Gastric aspirates	Others*5	Total		Pleural effusion	Others*6	Total									
<i>M. avium</i>	7,274	491	7,765 (58.7)	176	7	183 (56.1)	0	0	7	3	10 (47.6)	9	9	15.5 (15.5)	7,967 (58.4)					
<i>M. intracellulare</i>	2,095	166	2,261 (17.1)	65	2	67 (20.6)	0	0	2	2	4 (19.0)	11	11	19.0 (19.0)	2,343 (17.2)					
<i>M. goodii</i>	1,067	67	1,134 (8.6)	26	9	35 (10.7)	1	1	0	0	0 (0.0)	1	1	1.7 (1.7)	1,171 (8.6)					
<i>M. abscessus</i> *1	400	14	414 (3.1)	6	0	6 (1.8)	0	0	0	0	0 (0.0)	10	10	17.2 (17.2)	430 (3.2)					
<i>M. kansasii</i>	276	24	300 (2.3)	11	3	14 (4.3)	0	0	0	1	1 (4.8)	0	0	0.0 (0.0)	315 (2.3)					
<i>M. chelonae</i> *2	197	3	200 (1.5)	0	0	0 (0.0)	0	0	0	0	0 (0.0)	4	4	6.9 (6.9)	204 (1.5)					
<i>M. fortuitum</i> *3	247	12	259 (2.0)	3	0	3 (0.9)	0	0	0	4	4 (19.0)	3	3	5.2 (5.2)	269 (2.0)					
<i>M. marinum</i>	0	1	1 (0.0)	0	2	2 (0.6)	0	0	0	1	1 (4.8)	11	11	19.0 (19.0)	15 (0.1)					
Other NTM species	310	11	321 (2.4)	2	1	3 (0.9)	0	0	1	0	1 (4.8)	3	3	5.2 (5.2)	328 (2.4)					
Unidentified	540	39	579 (4.4)	10	3	13 (4.0)	0	0	0	0	0 (0.0)	6	6	10.3 (10.3)	598 (4.4)					
total	12,406	828	13,234 (100.0)	299	27	326 (100.0)	1	1	10	11	21 (100.0)	58	58	100.0 (100.0)	13,640 (100.0)					
%	(91.0)	(6.1)	(97.0)	(2.2)	(0.2)	(2.4)	(0.0)	(0.1)	(0.1)	(0.2)	(0.2)	(0.4)	(0.4)	—	—					

*1. *Mycobacteroides (Mycobacterium) abscessus*, *2. *Mycobacteroides (Mycobacterium) chelonae*, *3. *Mycobacterium (Mycobacterium) fortuitum*, *4. Transtracheal aspiration, Pharyngeal swab, Endotracheal aspirate, bronchoalveolar lavage fluid, trachea tube and bronchial washing are included. *5. Feces and intestinal mucosa are included. *6. Ascites, lymph node, cerebrospinal fluid, venous blood, arterial blood, and bone marrow aspirate are included.

Table 3. Nontuberculous mycobacteria (NTM) detection in each region

Species	Region																			
	Hokkaido		Tohoku		Kanto		Koshinetsu		Tokai		Kinki		Chugoku		Shikoku		Kyushu/ Okinawa		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>M. avium</i>	82	(60.7)	600	(67.8)	5,778	(60.4)	378	(55.2)	859	(46.8)	100	(59.2)	140	(50.4)	0	—	30	(32.6)	7,967	(58.4)
<i>M. intracellulare</i>	11	(8.1)	128	(14.5)	1,568	(16.4)	134	(19.6)	361	(19.7)	34	(20.1)	77	(27.7)	0	—	30	(32.6)	2,343	(17.2)
<i>M. goodii</i>	6	(4.4)	50	(5.6)	761	(8.0)	79	(11.5)	234	(12.7)	11	(6.5)	21	(7.6)	0	—	9	(9.8)	1,171	(8.6)
<i>M. abscessus</i> *1	7	(5.2)	15	(1.7)	245	(2.6)	14	(2.0)	129	(7.0)	2	(1.2)	13	(4.7)	0	—	5	(5.4)	430	(3.2)
<i>M. kansasii</i>	6	(4.4)	9	(1.0)	268	(2.8)	6	(0.9)	24	(1.3)	2	(1.2)	0	(0.0)	0	—	0	(0.0)	315	(2.3)
<i>M. chelonae</i> *2	3	(2.2)	7	(0.8)	147	(1.5)	3	(0.4)	35	(1.9)	1	(0.6)	6	(2.2)	0	—	2	(2.2)	204	(1.5)
<i>M. fortuitum</i> *3	1	(0.7)	10	(1.1)	190	(2.0)	17	(2.5)	38	(2.1)	8	(4.7)	4	(1.4)	0	—	1	(1.1)	269	(2.0)
Other NTM species	6	(4.4)	29	(3.3)	210	(2.2)	24	(3.5)	57	(3.1)	4	(2.4)	6	(2.2)	0	—	7	(7.6)	343	(2.5)
Unidentified	13	(9.6)	37	(4.2)	393	(4.1)	30	(4.4)	99	(5.4)	7	(4.1)	11	(4.0)	0	—	8	(8.7)	598	(4.4)
total	135	(100.0)	885	(100.0)	9,560	(100.0)	685	(100.0)	1,836	(100.0)	169	(100.0)	278	(100.0)	0	—	92	(100.0)	13,640	(100.0)

*1. *Mycobacteroides (Mycobacterium) abscessus*, *2. *Mycobacterium chelonae*, *3. *Mycobacterium fortuitum*.

Table 4. Detection ratio of drug-resistant nontuberculous mycobacteria

Number of tests	total period																	
	(a)		(b)		(c)		(d)		(e)		(f)		(g)		(h)		(i)	
	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012
SM	46.7	61.1	0.0	14.3	0.0	14.3	16.7	42.9	0.0	14.3	0.0	14.3	0.0	14.3	0.0	14.3	0.0	14.3
EB	80.0	94.4	16.7	42.9	16.7	42.9	16.7	42.9	16.7	42.9	16.7	42.9	16.7	42.9	16.7	42.9	16.7	42.9
KM	40.0	55.6	0.0	14.3	0.0	14.3	0.0	14.3	0.0	14.3	0.0	14.3	0.0	14.3	0.0	14.3	0.0	14.3
RFP	33.3	16.7	33.3	0.0	33.3	0.0	33.3	0.0	33.3	0.0	33.3	0.0	33.3	0.0	33.3	0.0	33.3	0.0
LVFX	6.7	5.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
CAM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
TH	80.0	83.3	100.0	85.7	100.0	85.7	100.0	85.7	100.0	85.7	100.0	85.7	100.0	85.7	100.0	85.7	100.0	85.7
AMK	33.3	50.0	0.0	28.6	0.0	28.6	0.0	28.6	0.0	28.6	0.0	28.6	0.0	28.6	0.0	28.6	0.0	28.6

The isolates of nontuberculous mycobacteria include (a) *Mycobacterium avium* (n = 934), (b) *Mycobacterium intracellulare* (n = 232), and (c) *Mycobacterium kansasii* (n = 20). Gray, antimicrobial drug resistance rates in total period ≥ 10%. SM, streptomycin; EB, ethambutol; KM, kanamycin; RFP, rifampicin; LVFX, levofloxacin; CAM, clarithromycin; TH, ethionamide; AMK, amikacin.

Table 5. Detection ratio of drug-resistant nontuberculous mycobacteria

Species	Susceptible or intermediate to all drugs		Resistant to one drug								Resistant to more than two drugs (Resistant to EB, RFP, and CAM)		
			SM	EB	KM	RFP	LVFX	CAM	TH	AMK			
	n	%	n								%	n	%
<i>M. avium</i> (n=934)	14	1.5	3	63	0	0	0	0	26	1	10.0	827 (2)	88.5 (0.2)
<i>M. intracellulare</i> (n=232)	11	4.7	0	3	0	0	0	0	130	0	57.3	88 (0)	37.9 (0)
<i>M. kansasii</i> (n=20)	1	5.0	2	10	—	0	—	0	—	—	60.0	7 (0)	35.0 (0)

Table 6. MIC₅₀ and MIC₉₀ of Nontuberculous mycobacteria

Drugs	<i>M. avium</i> (n=932)		<i>M. intracellulare</i> (n=231)		<i>M. gordonae</i> (n=67)		<i>M. kansasii</i> (n=20)	
	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀
SM	8	16	2	4	1	4	4	8
EB	16	32	4	16	1	4	4	8
KM	8	32	4	8	1	8	32	≥128
RFP	0.5	4	0.06	0.5	0.06	0.5	0.125	0.25
RBT	0.125	0.5	0.125	0.25	0.125	0.5	≤0.008	0.03
LVFX	2	4	1	2	0.5	4	0.5	0.5
CAM	0.5	2	0.125	0.5	0.125	0.5	0.125	0.25
TH	8	≥16	≥16	≥16	8	≥16	1	2
AMK	≥16	≥16	2	8	1	8	4	8

(MIC: µg/mL)

The MIC₅₀ and the MIC₉₀ (µg/mL) were calculated except for strains for which results could not be determined in the susceptibility testing. The number of undeterminable isolates were 2, 1, 18, and 0 for *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium gordonae*, and *Mycobacterium kansasii*, respectively.

耐性化を抑制する効果がある⁷⁾とされており、単剤での結果が臨床効果の有無を示すものではないことには留意すべきである。

もう一つ、薬剤感受性検査の課題として、CLSI M24-A2¹³⁾以降では微量液体希釈法に使用する培地として OADC (oleic acid-albumin-dextrose-catalase) 添加の陽イオン調整 Muller-Hinton プロス (pH 7.4) が推奨されていることが挙げられる。今回使用した BrothMIC NTM は Middlebrook7H9 培地が用いられており、どの程度 MIC 値に乖離が生じるのか不明である。今後の試薬の改良が望まれるところではあるが、現在、通常の検査において臨床効果を *in vitro* で推測するためには、BrothMIC NTM に頼らざるを得ない状況にある。抗菌薬の臨床効果はその *in vitro* での抗菌活性に加え、薬物の体内動態やマクロファージ移行性、薬物相互作用、宿主の免疫反応などが関与するため *in vivo* での効果の判定が必要とされる⁷⁾が、上記の改善に加えブレイクポイント・チェッカーボードプレート¹⁴⁾を活用するなど *in vitro* における有効な複数薬剤の組み合わせを検査することができれば、さらに有用な情報を臨床に提供できるものと考えられる。

最後に、菌種同定について改めて述べておきたいのが DDH マイコバクテリア「極東」の性能であるが、本法では臨床的に検出頻度の高い 18 菌種の同定に優れた試薬ではある。しかし、今回我々の結果において同定できなかった株が

598 株 (4.4%) 認められたように、必ずしも臨床検体から検出される全ての菌について同定ができるわけではない。また *M. heckeshornense* が *M. xenopi* と誤同定されてしまうことや、*M. ulcerans* と *M. shinshuense* が *M. marinum* と誤同定されることも知られている⁹⁾。近年、質量分析法による同定が広く導入されつつある中で、当センターにおいても質量分析法による同定検査を導入しており、これまで報告されていなかった菌種とその薬剤感受性検査の結果を蓄積しているところである。

臨床検査センターにおいて患者の臨床的背景は入手困難なため、肺 NTM 症の診断基準⁹⁾を満たしているのか、さらに報告した菌種が実際に治療の対象となっているか不明な点が課題である。しかし、外部機関に抗酸菌検査依頼をしている医療施設、特に当センターにおいては 300 床未満の医療施設からの検体を中心に検査を行っているため、中小規模の医療施設の NTM による疫学的状況を把握する上で、検査から得られたデータを引き続き解析していく必要がある。

謝辞: 本論文作成にあたり、多大なるご指導を賜りました株式会社マイクロスカイラボ 柳沢英二様に深謝申し上げます。

利益相反: 申告すべき利益相反なし

文 献

- 1) American Thoracic Society. 2007. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 175: 367-416.
- 2) Hruska, K., M. Kaevska. 2012. Mycobacteria in water, soil, plants and air: a review. *Veterinarni Medicina* 57 (12): 623-679.
- 3) Nishiuchi, Y., T. Iwamoto, F. Maruyama. 2017. Infection sources of a common non-tuberculous Mycobacterial pathogen, *Mycobacterium avium* complex. *Front. Med* <https://doi.org/10.3389/fmed.2017.00027>. 2018年11月5日現在.
- 4) Namkoong, H., A. Kurashima, K. Morimoto, et al. 2016. Epidemiology of pulmonary nontuberculous mycobacterial disease, Japan. *Emerg Infect Dis* 22 (6): 1116-1117.
- 5) Morimoto, K., K. Iwai, K. Uchimura, et al. 2014. A steady increase in nontuberculous mycobacteriosis mortality and estimated prevalence in Japan. *Ann Am Thorac Soc* 11 (1): 1-8.
- 6) Ide, S., S. Nakamura, Y. Yamamoto, et al. 2015. Epidemiology and clinical features of pulmonary nontuberculous mycobacteriosis in Nagasaki, Japan. *PLoS One* doi:10.1371/journal.pone.0128304. 2018年10月15日現在.
- 7) 河田典子, 河原 伸, 多田敦彦, 他. 2006. BrothMIC NTM を用いた非結核性抗酸菌の薬剤感受性についての検討. *結核* 81 (4): 329-335.
- 8) 日本結核病学会非結核性抗酸菌症対策委員会, 日本呼吸器学会感染症・結核学術部会. 2008. 肺非結核性抗酸菌症診断に関する指針—2008年. *結核* 83 (7): 525-526.
- 9) 日本結核病学会 抗酸菌検査法検討委員会. 2016. 抗酸菌検査ガイド2016.
- 10) 日本結核病学会非結核性抗酸菌症対策委員会, 日本呼吸器学会感染症・結核学術部会. 2012. 肺非結核性抗酸菌症化学療法に関する見解—2012年改訂. *結核* 87 (2): 83-86.
- 11) Morimoto, K., N. Hasegawa, K. Izumi, et al. 2017. A Laboratory-based Analysis of Nontuberculous Mycobacterial Lung Disease in Japan from 2012 to 2013. *Ann Am Thorac Soc* 14 (1): 49-56.
- 12) 古西 満, 宇野健司, 笠原 敬, 他. 2007. 無治療で経過観察中に増悪した肺 *Mycobacterium gordonae* 感染症の1例. *日呼吸会誌* 45 (5): 436-440.
- 13) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2011. Susceptibility testing of Mycobacteria, Nocardiae, and other aerobic Actinomycetes; Approved standard—second edition, Wayne, PA.
- 14) 小栗豊子, 石井良和, 三澤成毅, 他. 2011. ブレイクポイント・チェッカーボードプレートによる多剤耐性緑膿菌感染症に対する治療薬選択のためのスコア化による評価. *日化療会誌* 59 (2): 172-176.

Isolation and antimicrobial susceptibility of clinical isolates of nontuberculous mycobacteria analyzed in a clinical testing laboratory from 2011 to 2017

Takuya Tsunoda, Satomi Hashimoto, Shinichi Mashiba, Jun Ezoe, Satoshi Kugawa
Health Science Research Institute, Inc.

We investigated the isolation and antimicrobial susceptibility of clinical isolates of nontuberculous mycobacteria (NTM) that were tested in our laboratory from January 2011 to December 2017. The specimens were mainly collected from small- and mid-sized medical facilities in Japan. The most detected NTM species by DNA-DNA hybridization with DDH Mycobacteria Kyokuto (Kyokuto Pharmaceutical Industrial Co., Ltd.) was *Mycobacterium avium* (*M. avium*) at 58.4% (n=7,967), followed by *Mycobacterium intracellulare* (*M. intracellulare*) at 17.2% (n=2,343), and *Mycobacterium gordonae* at 8.6% (n=1,171). The number of *Mycobacteroides* (*Mycobacterium*) *abscessus* and *Mycolicibacterium* (*Mycobacterium*) *fortuitum* has been increasing since 2011. Furthermore, the number of *Mycobacteroides* (*Mycobacterium*) *chelonae*, that had been increasing until 2015, has been decreasing after 2016. The MICs of streptomycin, ethambutol, kanamycin, rifampicin, rifabutin, levofloxacin, clarithromycin, ethionamide, and amikacin were determined by microdilution test with BrothMIC NTM (Kyokuto Pharmaceutical Industrial Co., Ltd.). Regarding the trend of antimicrobial drug resistance, there has been no significant positive change over time. Furthermore, the ratio of antimicrobial drug resistance and the MIC₅₀ and MIC₉₀ values of *M. avium* and *M. intracellulare* to clarithromycin and those of *Mycobacterium kansasii* to rifampicin were significantly low, indicating higher activity. This study was conducted only *in vitro*, so further studies are needed to evaluate the clinical effects of antimicrobial drugs. However, our epidemiological data should be useful for medical facilities, in particular small and mid-sized facilities, and for regional surveillance of NTM.