

病原性 *Nocardia* のアミノ配糖体抗生物質に対する感受性

矢沢勝清・三上 襄・音在清高
千葉大学真核微生物研究センター化学療法部*

新 井 正
生物学療法研究会

(昭和 63 年 7 月 25 日受付)

菌糸状の微生物である *Nocardia* をガラスビーズを含む三角フラスコを用いて回転振盪培養することにより、感受性試験に適した均一な *Nocardia* 接種菌液を作製することができた。この方法とマイクロキュレーターを用いることにより同時に多数の菌株の感受性試験が可能となった。17 種類のアミノ配糖体抗生物質 (AGs) (SM, KM, AKM, FRM, PRM, RBSM, GM, DKB, MCR, SISO, TOB, AMK, HBK, HAPA-B, NTL, ASTM, SPCM) に対する *Nocardia* (*N. asteroides* 57 株, *N. brasiliensis* 34 株) の感受性試験を行なった結果、以下の成績を得た。

1) *N. asteroides* および *N. brasiliensis* のほとんどが SM, KM, AKM, FRM, PRM, RBSM に耐性を示した。

2) 一方 GM, DKB, MCR, SISO, TOB などの 3'-デオキシ誘導体に対して *N. asteroides* は 70% が耐性であったが *N. brasiliensis* はほとんどが感受性であった。

3) デオキシストレプタミンの C-1 位のアミノ基がアシルおよびアルキル化された AMK, HBK, HAPA-B, NTL は *N. asteroides* および *N. brasiliensis* のいずれに対しても強い抗菌作用を示し、耐性株は全く認められなかった。

これらの実験結果から、*N. brasiliensis* には AGs の 3'-OH 基をリン酸化して不活化する酵素 (AAC (3')) の存在が、また *N. asteroides* の 70% 以上の株が AAC (3') または 2'-OH 基をアデニル化する酵素 (AAD (2')) を有していることが示唆された。さらに AGs の中で HBK が最も優れた活性を有することを明らかにした。

Key words: アミノ配糖体抗生物質, *Nocardia*, 薬剤感受性

近年、*Nocardia* の感染症は増加の傾向にあり、特にステロイド剤の投与や全身性エリテマトーデス (SLE) などの免疫疾患の患者からの分離頻度が高いことから日和見感染菌として関心が高まっている¹⁾。BEAMAN によれば、米国では AIDS 患者の 0.5~1.0% に *Nocardia* の感染がみられるとの報告もある²⁾。

臨床材料から分離される *Nocardia* は *N. asteroides* *N. brasiliensis* であり、まれに *N. otitidiscauiarum* (*N. caviae*) が分離される。*Nocardia* 症の治療は、これまでサルファ剤や ST 合剤を中心に行なわれ、また最近ではミノサイクリンなどでの成績もいくつか見られるようになってきたが、耐性や副作用の問題で必ずしも満足すべき段階にはない³⁻⁶⁾。

我々は今回、当研究室で保存されてきた *Nocardia*

および新たに臨床材料より分離同定した *Nocardia* 特に *N. asteroides* および *N. brasiliensis* について、各種のアミノ配糖体抗生物質 (AGs) に対する感受性を検討したので報告する。

I. 実験材料および実験方法

1) 使用菌株

1981 年以降、本邦の医療機関より同定依頼された新鮮分離株を含む *N. asteroides* 57 株および *N. brasiliensis* 34 株を用いた。

2) 使用薬剤

Amikacin (AMK, 萬有製薬), arbekacin (HBK, 明治製薬), astromicin (ASTM, 協和発酵), bekanamycin (AKM, 明治製薬), dibekacin (DKB, 明治製薬), gentamicin (GM, Sigma), isepamicin (HAPA-B, 東

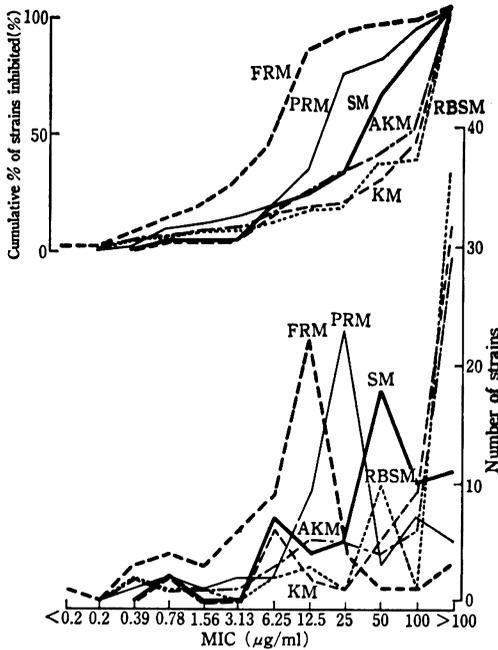


Fig. 1. Sensitivity distribution of 57 isolates of *Nocardia asteroides* to aminoglycoside antibiotics, AKM, FRM, KM, PRM, RBSM and SM

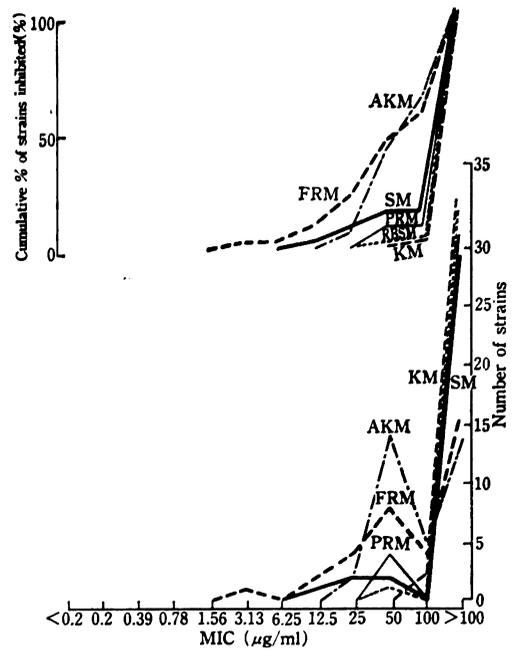


Fig. 2. Sensitivity distribution of 34 isolates of *Nocardia brasiliensis* to aminoglycoside antibiotics, AKM, FRM, KM, PRM, RBSM and SM

洋醸造), kanamycin (KM, Sigma), micronomicin (MCR, 協和発酵), neomycin (FRM, Sigma), netilmicin (NTL, 三共), paromomycin (PRM, 協和発酵), ribostamycin (RBSM, 明治製菓), sisomicin (SISO, 山之内製薬), spectinomycin (SPCM, Sigma), streptomycin (SM, Sigma), tobramycin (TOB, Sigma) の各薬剤を滅菌蒸留水に溶解し, 1,000 $\mu\text{g/ml}$ の標準液を製し, さらに2倍希釈系列で目的とする濃度に調整し用いた。

3) 感受性測定法

被験液作製以外は化学療法学会標準法⁷⁾に準じ, 感受性測定培地(ニッスイ)を用いた寒天平板希釈法で行なった。接種被験液は直径3mmのガラスビーズ8個と3%グルコース添加 Brain Heart Infusion Broth (Difco) を5mlを入れた10mlの三角フラスコに植菌し, 回転振盪培養機 (Environmental Incubator Shaker G 24, New Brunswick Scientific Co., U.S.A.) を用い, 250 rpm, 30°C, 4日間培養し, 菌数を $10^8/\text{ml}$ に調整し接種菌液として用いた。菌液は薬剤添加培地にマイクロインキュレーター (Multipoint Inoculator A 400, Sussex, England) を用いて接種し, 27°C, 7日間培養を行ない, 肉眼的に菌の発育が全く認められない最低濃度を最小発

育阻止濃度 (MIC) とした。

II. 実験成績

1) SM, KM, FRM, AKM等のAGsの*Nocardia*に対する薬剤感受性

*N. asteroides*のこれらAGsに対するMIC値の分布をFig. 1に示した。この図からも明らかなように, このグループのAGsは*Nocardia*に対する抗菌作用が弱く, 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上のMICを示す菌株数がSM, KM, AKM, FRM, PRM, RBSMで, 各々11, 32, 29, 3, 5, 36と多くみられた。MIC₉₀値で比較した場合もKM, AKM, SMおよびRBSMでは100 $\mu\text{g/ml}$ 以上を示し, またFRMとPRMでは各々25および90 $\mu\text{g/ml}$ のMIC₉₀値を示した。これらグループの中ではFRMとPRMが比較的低いMIC値を示すことが明らかとなった。

Fig. 2に同じグループのAGsの*N. brasiliensis*に対するMIC値を示した。この図からも明らかなように, *N. brasiliensis*は*N. asteroides*よりもさらにこれらAGsに非感受性で, 試験した菌株のすべてがSM, KM, PRM, RBSMに対し100 $\mu\text{g/ml}$ 以上のMIC値を示し, またAKM, FRMに対しても半数の菌株が100 $\mu\text{g/ml}$ 以上のMIC値を示した。

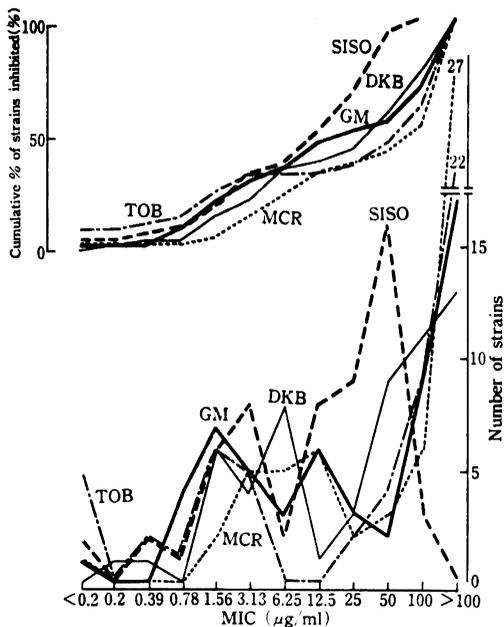


Fig. 3. Sensitivity distribution of 57 isolates of *Nocardia asteroides* to aminoglycoside antibiotics, DKB, GM, MCR, SISO and TOB

2) 3'-デオキシおよび 3',4'-デオキシ AGs に対する *Nocardia* の薬剤感受性

Fig. 3 は *N. asteroides* のデオキシストレプトタミン (2-DOS) 含有抗生物質の 3'-デオキシ誘導体である GM, DKB, MCR, SISO, TOB などの AGs に対する MIC 分布を示した。これら抗生物質に対する *N. asteroides* の MIC が 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上を示す菌株は、GM では 17 株、DKB で 13 株、MCR で 27 株、TOB で 22 株と多く認められた。しかし、GM, TOB, MCR などに対してかなり低い MIC 値を示す株もあり、これらの AGs に対する *N. asteroides* の感受性パターンの特徴として、二峰性の MIC 値の分布、すなわち、感受性株と耐性株が存在することが明らかとなった。また、このことが結果的に累積 MIC 値を高くしていると思われる。

Fig. 4 に同じ GM グループの AGs に対する *N. brasiliensis* の MIC 値の分布を示した。GM では例外的と思われる 4 株が 50 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC 値を示したが、他の菌株の MIC は 0.39~25 $\mu\text{g/ml}$ に分布していた。他の 4 薬剤もほぼ同様の MIC 分布を示し、これら 3'-,4'-デオキシ体の AGs は特に *N. brasiliensis* に対して平均して強い抗菌活性を示すことが明らかとなった。GM に対し 50 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC 値を示した菌株、IFM 0075, IFM 0188, IFM 0189, IFM 0191 株は他の 4 薬剤に対しても交叉耐性を示すことが明らかとなった (Ta-

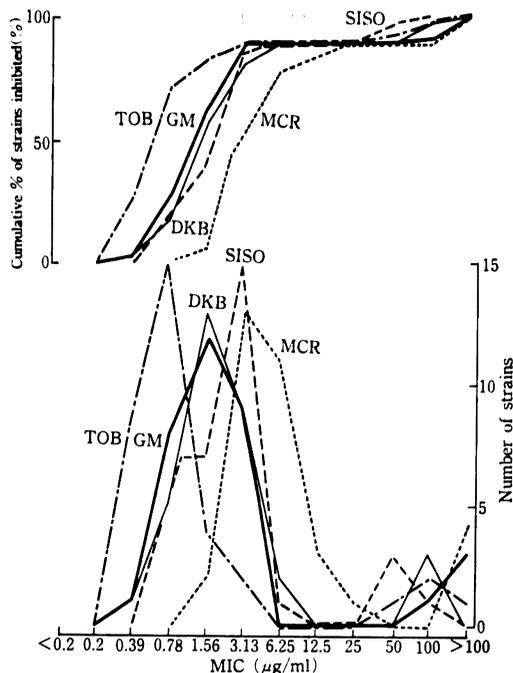


Fig. 4. Sensitivity distribution of 34 isolates of *Nocardia brasiliensis* to aminoglycoside antibiotics, DKB, GM, MCR, SISO and TOB

ble 1)。これら 4 菌株を除外した MIC₉₀ は GM 2.61 $\mu\text{g/ml}$, DKB 3.13 $\mu\text{g/ml}$, MCR 8.13 $\mu\text{g/ml}$, SISO 2.93 $\mu\text{g/ml}$, TOB 1.37 $\mu\text{g/ml}$ であった。

3) AMK, HBK, HAPA-B, NTL グループの AGs に対する *Nocardia* の薬剤感受性

AMK, HBK, HAPA-B および NTL は 2-DOS の C-1 位のアミノ基が修飾された AGs である。Fig. 5 にそれら AGs の *N. asteroides* に対する累積 MIC 値を示したが、AMK では 6.25, HBK では 12.5 また HAPA-B で 12.5, NTL では 25 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC 値を示す菌株は認められず、これらの AGs は *Nocardia* に対して極めて強い抗菌作用を示すことが明らかとなった。また、これらの薬剤の MIC₉₀ は AMK 3.13 $\mu\text{g/ml}$, HBK 1.25 $\mu\text{g/ml}$, HAPA-B 5.21 $\mu\text{g/ml}$, NTL 5.62 $\mu\text{g/ml}$ であり、HBK は AMK よりもさらに強い抗菌活性を示した。また Fig. 6 に示したように *N. brasiliensis* のこれら AGs に対する MIC 値も 0.39~25 $\mu\text{g/ml}$ の間に分布しており、*N. asteroides* と同様、試験したすべての菌株が感受性であった。これらの薬剤のそれぞれの MIC₉₀ 値は AMK では 7.5 $\mu\text{g/ml}$, HBK で 1.46 $\mu\text{g/ml}$, HAPA-B で 6.7 $\mu\text{g/ml}$, また NTL では 8.3 $\mu\text{g/ml}$ であり、HBK が *N. asteroides* と同様極めて強い活性を示していた。

Table 1. *In vitro* susceptibility of *Nocardia brasiliensis* to 3'-deoxy-type aminoglycoside antibiotics

| | Antibiotics and MIC values ($\mu\text{g/ml}$) | | | | | |
|------------------------------|---|-------|------|------|------|------|
| | IFM no. | GM | DKB | MCR | SISO | TOB |
| <i>Nocardia brasiliensis</i> | 0015 | 0.78 | 0.78 | 3.13 | 0.78 | 0.39 |
| | 0047 | 0.78 | 1.56 | 3.13 | 0.78 | 0.78 |
| | 0064 | 3.13 | 3.13 | 12.5 | 3.13 | 0.78 |
| | 0065 | 3.13 | 6.25 | 25 | 3.13 | 3.13 |
| | 0066 | 3.13 | 6.25 | 12.5 | 3.13 | 3.13 |
| | 0067 | 3.13 | 3.13 | 6.25 | 3.13 | 1.56 |
| | 0068 | 1.56 | 3.13 | 6.25 | 3.13 | 0.78 |
| | 0069 | 1.56 | 3.13 | 6.25 | 3.13 | 0.78 |
| | 0071 | 3.13 | 3.13 | 6.25 | 3.13 | 0.78 |
| | 0075 | N.S. | N.S. | N.S. | 100 | N.S. |
| | 0076 | 1.56 | 3.13 | 6.25 | 3.13 | 1.56 |
| | 0080 | 1.56 | 1.56 | 6.25 | 3.13 | 0.78 |
| | 0081 | 3.13 | 3.13 | 6.25 | 6.25 | 1.56 |
| | 0082 | 1.56 | 3.13 | 6.25 | 3.13 | 0.78 |
| | 0084 | 3.13 | 3.13 | 12.5 | 3.13 | 1.56 |
| | 0087 | 1.56 | 1.56 | 3.13 | 3.13 | 0.39 |
| | 0088 | 0.78 | 0.39 | 1.56 | 3.13 | 0.39 |
| | 0089 | 1.56 | 1.56 | 3.13 | 3.13 | 0.39 |
| | 0090 | 1.56 | 1.56 | 3.13 | 3.13 | 0.39 |
| | 0188 | 100 | 100 | N.S. | 50 | 50 |
| | 0189 | (100) | 100 | N.S. | 50 | 100 |
| | 0191 | (100) | 100 | N.S. | 50 | 100 |
| | 0223 | 3.13 | 0.78 | 3.13 | 1.56 | 0.39 |
| | 0226 | 0.78 | 1.56 | 1.56 | 0.78 | 0.78 |
| | 0227 | 0.78 | 1.56 | 3.13 | 0.78 | 0.78 |
| | 0229 | 0.78 | 1.56 | 3.13 | 0.78 | 0.78 |
| | 0230 | 0.78 | 1.56 | 6.25 | 1.56 | 0.78 |
| | 0233 | 0.78 | 1.56 | 6.25 | 0.78 | 0.78 |
| | 0234 | 0.39 | 1.56 | 3.13 | 0.78 | 0.78 |
| | 0235 | 1.56 | 1.56 | 3.13 | 1.56 | 0.78 |
| 0236 | 3.13 | 1.56 | 6.25 | 1.56 | 0.78 | |
| 0246 | 1.56 | 0.78 | 3.13 | 1.56 | 0.39 | |
| 0249 | 1.56 | 0.78 | 3.13 | 1.56 | 0.39 | |
| 0276 | 1.56 | 0.78 | 3.13 | 1.56 | 0.39 | |

4) 二糖類の AGs に対する *Nocardia* の薬剤感受性 Fig. 7 a, b に *N. asteroides* および *N. brasiliensis* の二糖類の AGs, SPCM および ASTM に対する MIC 値を示した。SPCM に対して, *N. asteroides* のほとんどの菌株が 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC 値を示したが, ASTM の MIC 値は 1.56~50 $\mu\text{g/ml}$ と中程度に分布し, MIC₉₀ は 23.3 $\mu\text{g/ml}$ と幾分強い抗菌活性を示した。また, MIC 値の分布では, いずれの抗生物質に対しても *N. asteroides* は二峰性の感受性パターンを示し, 感受性株と非感受性株の存在が示唆された。

N. brasiliensis に対する二糖類の AGs の MIC 値の分布も, *N. asteroides* と同様で SPCM に対してほとんどの菌株が 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC 値を示したが, ASTM

に対する MIC₉₀ は 80 $\mu\text{g/ml}$ で, 全体的に *N. asteroides* の場合よりも感受性が低かった。

III. 考 察

Nocardia は通常, 液体培養しても菌糸状の形態を示し, MIC 測定に適した均一な菌懸濁液が得られず, 従来は寒天表面に培養した菌体を寒天の一部とともにかきとり, ガラス玉を入れた試験管などでホモジナイズして接種菌液を調整していた⁹⁾。しかし, この方法では菌数の正確な測定が困難であるばかりでなく, 接種菌液の調整に時間がかかり一度に多数の菌株を処理することにも問題点があった。今回我々は, 三角フラスコにガラスビーズを入れて培養する方法を用いることにより *Nocardia* の均一な接種菌液を得ることができた。また本方法

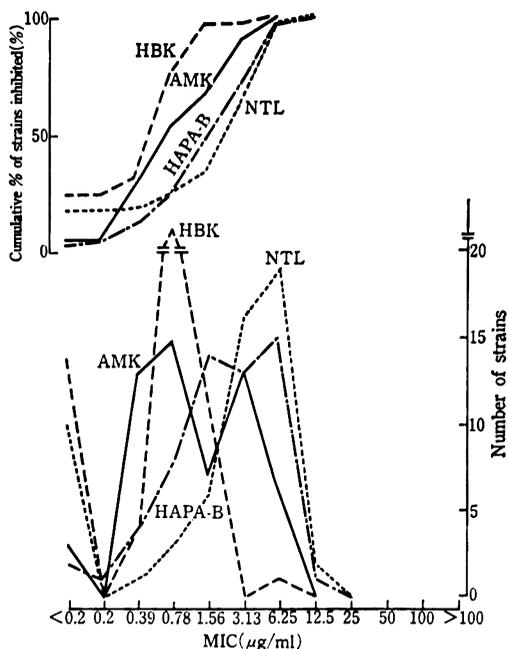
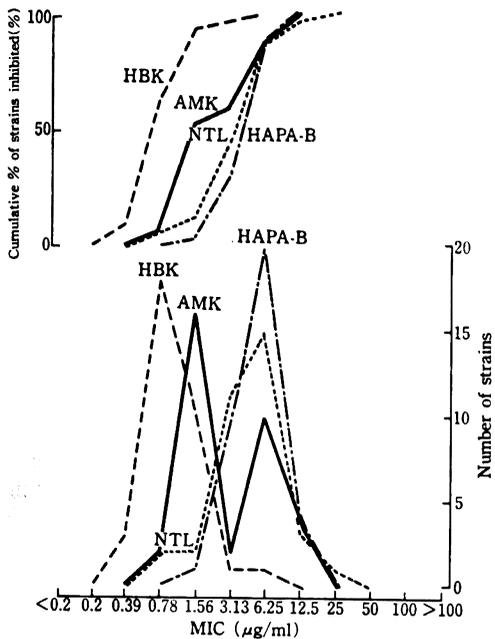


Fig. 5. Sensitivity distribution of 57 isolates of *Nocardia asteroides* to aminoglycoside antibiotics, AKM, HAPA-B, HBK and NTL

Fig. 6. Sensitivity distribution of 34 isolates of *Nocardia brasiliensis* to aminoglycoside antibiotics, AKM, HAPA-B, HBK and NTL

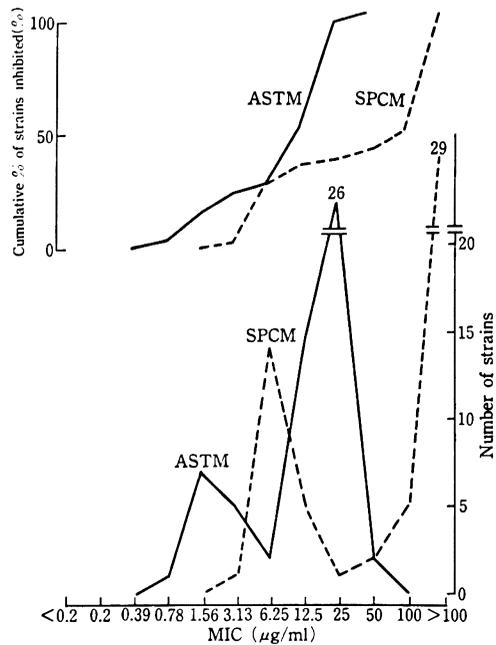
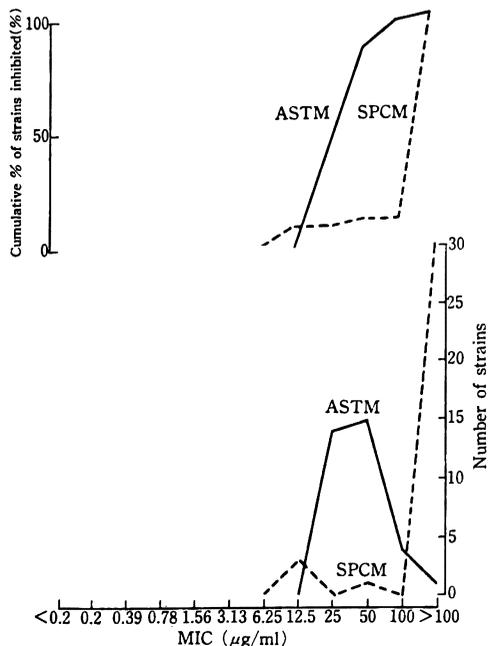


Fig. 7. Sensitivity distribution of *Nocardia asteroides* (a) and *Nocardia brasiliensis* (b) to aminoglycoside antibiotics, ASTM and SPCM

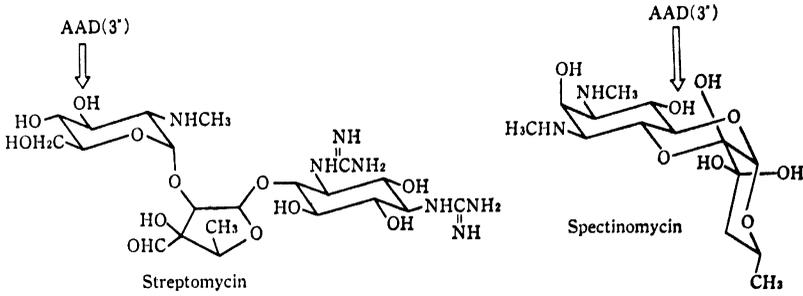


Fig. 8. Possible inactivation sites of SM and SPCM by *Nocardia asteroides* and *Nocardia brasiliensis*

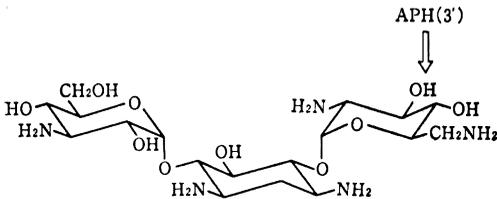


Fig. 9. Possible inactivation site of KM by *Nocardia brasiliensis*

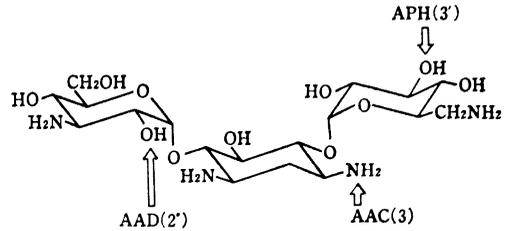


Fig. 10. Possible inactivation sites of KM by *Nocardia asteroides*

を用いることにより、多数の菌株の処理を短時間でこなすことも可能となった。

SM, KM など主として結核の治療剤として用いられる AGs の MIC 値は *N. asteroides* および *N. brasiliensis* の菌株に対して 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上を示し、これらの AGs は同じ抗酸菌ながら *Nocardia* 症の治療には全く無効と思われる。また AKM や RBSM, さらに四糖類の FRM や PRM はいずれの *Nocardia* に対しても弱い抗菌作用しか示さなかった。

一方 3'-または 3',4'-デオキシ体の AGs である GM, TOB, DKB, MCR, SISO, MCR は、例外的な菌株を除いて *N. brasiliensis* に対して極めて強い活性を示したが、一方 *N. asteroides* の場合は約 70% 以上が 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC 値を示すなど、菌株間で差が著明であった。

AMK などの 2-DOS の 1 位のアミノ基が修飾された AGs は *N. asteroides*, *N. brasiliensis* 両菌種に対しても低濃度で強い抗菌活性を示した。特にこれらの AGs に対しては全く耐性菌も確認されておらず、また *N. asteroides* および *N. brasiliensis* のいずれに対しても同様に強い抗菌活性を示すことから、臨床上、原因菌の同定前でも使用することができる利点があると思われる。これらの AGs の中でも、HBK は DBK から誘導された新しい AGs であるが、AMK よりもかなり強い抗菌活性を示すことが明らかとなり、今後の詳細な *in*

vivo での研究とともに、*Nocardia* 症の治療薬として特に期待されるものである。

細菌の AGs に対する耐性機構はその修飾酵素についてよく研究されており、主に AG リン酸転移酵素 phosphotransferase (APH), AG アデニル転移酵素 adenylyltransferase (AAD), そして AG アセチル転移酵素 acetyltransferase (AAC) の 3 種の不活化酵素の存在が報告されている⁹⁻¹⁰。我々も現在、部分的な不活化酵素の研究を進めているが、*N. asteroides* および *N. brasiliensis* における SM, SPCM の感受性試験結果は、Fig. 8 に示したように、ほとんどの菌株が AAD (3'), すなわち、SM の 3'-OH および SPCM の 9-OH 基をアデニル化などをする酵素を持ち、その結果、これらの薬剤に耐性になることを示唆している。また KM および GM などに対する感受性の実験結果は *N. brasiliensis* の約 90% 以上の菌株が 3'-OH をリン酸化して不活化する酵素、すなわち APH (3') を有していることを示した (Fig. 9)。そのことはさらに、不活化される部位を持たない 3'-デオキシ体の AGs は *N. brasiliensis* に強い活性を示すことや、また AMK や HBK のように、立体的な障害により APH (3') による酵素的修飾を受けにくいとされている AGs では強い活性が観察されていることから、その仮説が支持される。

一方、*N. asteroides* では約 20% の株が APH (3') を有していると考えられる。また 50% 以上の *N. aster-*

oides が AAC (3) または AAD (2'') を有していること、さらにまた、AAD (4'') の存在をも示唆するデータが得られている (Fig. 10)。しかし、これまでの実験結果から *N. brasiliensis* では AAC (3) や AAD (2'') などの酵素の存在を示唆する結果は得られていない。

東村は *Nocardia* を近縁微生物である *Rhodococcus* や *Mycobacterium* から区別する場合、マイトマイシン C やフルオロウラシルなどの制癌剤に対する感受性パターンを用いることが優れた方法であることを報告している¹¹⁾。本研究でもまた、放線菌の薬剤感受性のパターンは安定しており、再現性が極めて高いこと、さらに、我々が現在進めているプラスミドの検索でも *N. brasiliensis* に関して必ずしもすべての耐性の菌株においてその存在が証明できないことなどから *Nocardia* の薬剤感受性パターンは、今後同定法の一手段として用いることが可能であると思われる。

GM などに対する *N. asteroides* の感受性株、耐性株の存在は *N. asteroides* がすでにいくつかの研究者によって指摘されているように、ヘテロジナスな属であることを支持するものである。最近出版された Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (vol. 2)¹²⁾ によれば、*N. asteroides* はさらに *N. asteroides* と *N. farcinica* の 2 種に分割されている。実際、今回用いた *N. asteroides* 菌株の我々の予備的な実験結果では、GM に対して耐性である株は *N. farcinica* に属するものが多いことを示していた。したがってこれらの感受性試験は *N. asteroides* の細分類にも有効な手段となる可能性がある。

種々の細菌において、AGs を含め抗生物質の耐性機構は多くの場合、プラスミドによることがわかっているが、我々の予備的な実験によれば、*Nocardia* に関しては、その可能性はこれまでのところ少ないように思われる。同じ放線菌グループがこれら AGs の生産菌であることを考えると、これら耐性機構の解明は AGs の生合成の面からも興味ある研究課題である。

文 献

1) SCHAAL K P, BEAMAN B L: Clinical significance of actinomycetes. The Biology of Actinomycetes (GOODFELLOW M, MORDARSKI

M, WILLIAMS ST), pp. 389~424, Academic Press, 1984

- 2) BEAMAN B L: *Nocardia* as the etiology of nocardiosis. In Abstract of Actinomycetes as opportunistic pathogens. (3rd Inter. Symp. of the Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses, Chiba University) pp. 3~5, 1988)
- 3) DEWSNUP D H, WRIGHT D N: *In vitro* susceptibility of *Nocardia asteroides* to 25 antimicrobial agents. Antimicrob Agents Chemother 25: 165~167, 1984
- 4) GOMBERT M E: Susceptibility of *Nocardia asteroides* to various antibiotics, including new beta-lactams, trimethoprim-sulfamethoxazole, amikacin, and *N*-formimidoyl thienamycin. Antimicrob Agents Chemother 21: 1011~1012, 1982
- 5) LERNER P L, BAUM G L: Antimicrobial susceptibility of *Nocardia* species. Antimicrob Agents Chemother 4: 85~93, 1973
- 6) GOMBERT M E, ANLICINO T M, DU-BOUCHET L: Susceptibility of *Nocardia asteroides* to new quinolones and β -lactams. Antimicrob Agents Chemother 31: 2013~2014, 1987
- 7) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法. Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 8) 三上 襄, 岸 浩一郎, 加治晴夫, 新井 正: 好気性病原性放線菌の薬剤感受性について. 真菌誌 22: 265~272, 1981
- 9) 三橋 進編: 薬剤耐性機構の生化学, 3. アミノ配糖体の耐性機構 (近藤信一), 27~58 頁, 学会出版センター, 1981
- 10) HAAS M J, DOWDING J E: Aminoglycoside-modifying enzymes. Methods in Enzymology 43: 611~628, 1981
- 11) TSUKAMURA M: Differentiation between the genera *Mycobacterium*, *Rhodococcus* and *Nocardia* by susceptibility to 5-fluorouracil. J Gen Microbiol 125: 205~208, 1981
- 12) BUTLER J P: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2. Nocardiforms (LECHEVALIER H A), pp. 1458~1471, Williams & Wilkins 1986

**IN VITRO SUSCEPTIBILITY OF *NOCARDIA*
ASTEROIDES AND *NOCARDIA BRASILIENSIS*
TO 17 AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTICS**

KATSUKIYO YAZAWA, YUZURU MIKAMI and KIYOTAKA OTOZAI

Department of Experimental Chemotherapy, Research Center for Pathogenic Fungi
and Microbial Toxicoses, Chiba University,
1-8-1, Inohana, Chiba 280, Japan

TADASHI ARAI

Biotherapy Research Association

Fifty-seven strains of *Nocardia asteroides* and thirty-four of *Nocardia brasiliensis* were tested by agar dilution for their susceptibility to 17 aminoglycoside antibiotics (AGs). The inoculum used in the study was prepared by increasing the homogeneity of the organism suspension using sterile glass beads in Erlenmeyer flasks.

Both *N. asteroides* and *N. brasiliensis* were generally insensitive to SM, KM, AKM, FRM, PRM and RBSM group AGs. 3'-Deoxy type AGs, such as GM, DKB, MCR, SISO and TOB were effective against *N. brasiliensis*, whereas most of them were not effective against *N. asteroides*. C-1-N-Acylated or acetylated AGs, such as AMK, HBK, HAPA-B and NTL, were highly effective against both *N. asteroides* and *N. brasiliensis* and no resistant strains were observed.

These results indicate that all *N. brasiliensis* strains have an inactivating enzyme, APH (3') and about 50% of *N. asteroides* strains have either adenylyltransferase ADD (2") or phosphotransferase AAC (3').

Among the 17 AGs tested, HBK was found to be most effective, followed by AMK, and the MIC₉₀ values of HBK against *N. asteroides* and *N. brasiliensis* were 1.25 and 1.46 µg/ml, respectively.

Our studies suggest that a test for the susceptibility of *Nocardia* to aminoglycosides is useful to differentiate between species of *N. asteroides* and *N. brasiliensis*. Our data also suggest that strains of *N. asteroides sensu stricto* could be divided into at least two subgroups by their reaction to 3'-deoxy type aminoglycoside antibiotics.