

原 著

入院時薬剤耐性に関する研究：1992年度の各施設の
成績と結研判定の比較

鹿住 祐子・平野 和重・阿部 千代治
森 亨・青木 正和・青柳 昭雄

結核療法研究協議会（委員長：青柳 昭雄）

受付 平成7年 9月 18日

受理 平成7年 11月 20日

A STUDY ON PREVALENCE OF RESISTANCE TO ANTITUBERCULOSIS
DRUGS IN JAPAN : COMPARISON OF RESULTS IN
THE LOCAL FACILITIES AND IN THE
REFERENCE LABORATORY

Yuko KAZUMI, Kazue HIRANO, Chiyoji ABE*, Toru MORI,
Masakazu AOKI and Teruo AOYAGI

Tuberculosis Research Committee of Japan (Chairman : Teruo AOYAGI)

(Received 18 September 1995/Accepted 20 November 1995)

During five years since the last survey of drug-resistant tuberculosis in Japan, features of tuberculosis in Japan have been changed. A nationwide survey was conducted by the Tuberculosis Research Committee of Japan. A total of 38 hospitals in various districts of Japan participated in the cooperative study. Each collaborating laboratory sent all mycobacterial cultures isolated during 1 June to 30 November, 1992 to the reference laboratory of the Committee, where species of the isolates were identified and drug susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* isolates were reexamined. The reference laboratory received a total of 1,236 cultures. Among them, 290 cultures were excluded from further examinations by various reasons, such as contamination (52 cultures), non-viability (53), growth of nontuberculous mycobacteria (182) and other reasons (3). Thus, drug susceptibility test results were available for 946 cultures, including 26 cultures from non-Japanese persons. In the local laboratories, two methods, the absolute concentration method using 1% Ogawa egg slant (standard method, 26 hospitals) and its modified method using a microwell plate (microtiter method, 12 hospitals), were used for drug susceptibility testing, and the standard method was used in the reference laboratory. The results in the local laboratories were compared with those in the reference laboratory. The overall coincidence rate between drug susceptibility results reported from the local laboratories and

* From the Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association, Kiyose-shi, Tokyo 204 Japan.

those from the reference laboratory was 92.5%. A high coincidence rate (94.3%) was seen when the standard method was used in both local and reference laboratories. On the other hand, the coincidence rates between the results with the microtiter method in the local laboratory and those with the standard method in the reference laboratory were lower (standard method vs microtiter method ; $P < 0.01$). Out of 19 hospitals, when the isolates were tested by the standard method 17 (89.5%) showed high coincidence rates (over 85%). Three hospitals using the microtiter method showed the coincidence rate over 90%, while other three showed lower rate (less than 80%) with high overestimation rates (over 19%), indicating that there are variations among facilities in performing the microtiter test. A part of the results concerning the resistance patterns to five antituberculosis drugs will be reported elsewhere.

Key words : Drug-resistant tuberculosis, Nationwide survey, Tuberculosis Research Committee, Quality control

キーワード : 薬剤耐性結核, 全国規模調査, 結核療法研究協議会, 精度管理

はじめに

わが国の患者分離結核菌の薬剤耐性の頻度を調べる目的で、結核療法研究協議会は1957年以来過去10回^{11)~14)}にわたり、2年ないし5年毎に入院時に患者から分離された結核菌の薬剤に対する耐性状況について調べてきた。前回の調査からすでに5年が経過し、その間にわが国では高齢化社会の結核、在日外国人の結核など新たに種々の要因が増え結核も様変わりしてきた。当然薬剤耐性頻度にも変化が起きていることが予想されることから、最近の動向を明らかにする目的で結核療法研究協議会は共同研究を計画した。

結核菌の細菌学的検査の中で最も精度管理の難しい検査は薬剤感受性試験である。国によりさまざまな方法^{12)~16)}が採用されている。わが国でも複数の方法が取り入れられており、施設によりその方法が異なる。成績の比較は同一の方法で試験されてはじめて可能である。今回の共同研究では、各施設で従来から行われている方法で試験された菌を結核予防会結核研究所（以下結研と記載する）に集め、そこで普通法で再検査した。ここでは各施設で得られた成績と結研の成績の比較について述べる。

肺結核患者から分離された菌の耐性頻度については別誌¹⁷⁾に報告される。

材料と方法

調査対象

療研委員の所属する施設のなかで、38施設がこの共同研究に参加した。1992年6月1日から同年11月30

日までの6カ月間に入院した抗酸菌症患者で菌が分離された例を対象とした。各施設において、感受性試験が終了した時点で調査個人票が作成された。分離培養または感受性試験の対照培地上の培養のいずれかの菌株は郵便法に定められたように缶またはプラスチックの容器に入れられ、調査個人票と一緒に結研に送付された。汚染のチェックと増菌培養の目的で到着後直ちにミドルブルック7H9液体培地で培養した。その全培養を凍結用チューブに移し、使用時まで -30°C に保存した。

分離菌の同定

分離菌の同定は施設により異なる方法で行われていた。結研では送付された菌の鑑別同定をアキュプロープ法（中外製薬）、DDHマイコバクテリア法（極東製薬）および従来からの培養・生化学的方法により行った。

薬剤感受性試験

薬剤感受性試験の方法も施設により異なっていた。結研では送付された菌の薬剤感受性試験を1%小川斜面培地を用いる固定濃度法（普通法）で行った。薬剤含有培地は結研で作られ、作製後2週以内に試験に供された。接種用の菌は、ミドルブルック7H9液体培地で540nmにおける比濁度が0.1（McFarland No.0.5に相当）に到達するまで培養された。その全培養の100倍希釈菌液の0.1mlを薬剤含有培地および薬剤を含まぬ培地に接種し、 37°C で培養した。観察は3週目と4週目に行われたが、判定は4週目の成績によった。試験は結核菌検査指針¹⁸⁾に記載されている濃度について行われたが、感受性・耐性の判定は次の薬剤濃度で行った；イソニアジド（INH）： $1\mu\text{g}/\text{mL}$ 、リファンピシン（RFP）： $50\mu\text{g}/\text{mL}$ 、ストレプトマイシン（SM）： $20\mu\text{g}/\text{mL}$ 、エタ

ンブートル (EMB) : 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, カナマイシン (KM) : 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. 薬剤を含みぬ対照培地における発育と比較し, 対照培地のコロニー数の75%以上のコロニー数が薬剤含有培地にみられた場合に, その薬剤に対して耐性と判定した。各施設の結果も同様の基準で判定し, 記録した。

集計および解析

送付された資料および得られた成績の集計に, ソフトウェア Let's Iris Ver. 3.0 を用いた。送られた個人票の薬剤感受性試験の項に対照培地の成績の記載がないためコード化できなかった例と, 検査法が普通法またはマイクロタイター法以外でその他と記載された例は, 各施設と結研の薬剤感受性試験の成績の比較から除いた。また施設により試験された薬剤の種類と数が異なることから, 比較可能な例数は薬剤の種類により異なった。

成績の一致率, 過大評価率, 過小評価率は検査評価例数に対する一致例数, 過大評価例数 (各施設では不完全または完全耐性とされていたが結研では感受性とされたもの, および各施設では完全耐性とされていたが結研では不完全耐性であったもの), 過小評価例数 (各施設では感受性または不完全耐性とされていたが結研では完全耐性であったもの, および各施設では感受性とされていたが結研では不完全耐性とされたもの) の割合として表した。統計学的有意差の検定は χ^2 試験により行った。

結 果

共同研究のために1,236例の個人票と抗酸菌が結研に送付されてきた。そのうち886例(71.7%)が男性で, 350例(28.3%)が女性であった。在日外国人の結核患者の増加が指摘されているが, 今回調査した1,236例の中で外国人は26例(2.1%)であった。全体の平均年齢は56.1歳(14~96歳)であり, 男性は56.3歳(15~93歳), 女性は55.8歳(14~96歳)であった。

参加38施設の中で32施設(84.2%)は鑑別同定検査にナイアシン試験を用いていた(表1)。次いでDNAプローブ法が22施設(57.9%), パラニトロ安息香酸(PNB)培地上の発育試験法が19施設(50%), その他(培養・生化学的方法, DDH-マイコバクテリア)が13施設(34.2%)で用いられていた。これらの方法を単独で使用している施設は少なく(ナイアシン試験のみは7施設, DNAプローブ法のみは4施設), 多くの施設は2つ以上の方法を組み合わせて鑑別同定を行っていた。

結研では, 送付された菌株の鑑別同定をアキュプローブ結核菌群同定, アキュプローブ・マイコバクテリウム・アビウム・コンプレックス, DDH-マイコバクテリアおよび従来からの培養・生化学的方法により行った。送

表1 各施設で用いた同定試験法

試験法	施設数
単独	
ナイアシン試験	7
PNB培地上の発育	0
DNAプローブ法	4
その他*	0
2種の組み合わせ	
ナイアシン+PNB	6
ナイアシン+DNA	11
ナイアシン+その他	1
PNB+その他	1
3種の組み合わせ	
ナイアシン+PNB+DNA	1
ナイアシン+PNB+その他	5
PNB+DNA+その他	5
4種	
ナイアシン+PNB+DNA+その他	1

* : 培養・生化学的方法, DDH-マイコバクテリア

表2 各施設から送付された培養の中で結研で培養できた菌の内訳

菌種名	菌株数
<i>M. tuberculosis</i> complex	949
<i>M. avium</i> complex	144
<i>M. kansasii</i>	26
<i>M. gordonae</i>	4
<i>M. szulgai</i>	1
<i>M. nonchromogenicum</i>	1
<i>M. fortuitum</i>	2
<i>M. chelonae</i> subsp. <i>abscessus</i>	4
計	1,131

付された1,236例の中で結研で培養が可能であったのが1,131例(表2), 培養不能例が53例であった。残りの52例には抗酸菌以外の微生物による汚染がみられたことから, その後の研究から除いた。培養できた1,131例の内訳は *M. tuberculosis* complex が949(肺外結核からの3例を含む), 非結核性抗酸菌が182例であった。非結核性抗酸菌例の79%は *M. avium* complex であり, 14.3%は *M. kansasii* であった。残りは *M. gordonae*, *M. chelonae* subsp. *abscessus*, *M. fortuitum*, *M. szulgai*, *M. nonchromogenicum* であった。

各施設から報告された成績と, 結研の同定試験の成績

表3 各施設の同定試験の成績と結研の成績の間の不一致例

各施設の同定	結研の同定	菌株数
<i>M. tuberculosis</i> complex	<i>M. kansasii</i>	3
<i>M. tuberculosis</i> complex	<i>M. avium</i> complex	7
<i>M. tuberculosis</i> complex	<i>M. nonchromogenicum</i>	1
<i>M. kansasii</i>	<i>M. gordonae</i>	1
<i>M. szulgai</i>	<i>M. gordonae</i>	1
<i>M. gordonae</i>	<i>M. szulgai</i>	1
Nontuberculous mycobacteria	<i>M. tuberculosis</i> complex	2
計		16

の間に不一致例がいくつかみられた(表3)。各施設から *M. tuberculosis* complex として報告された11株の菌のうち、結研での試験で3株は *M. kansasii*, 7株は *M. avium* complex, 1株は *M. nonchromogenicum* と鑑別同定された。また各施設から非結核性抗酸菌と報告された5株の中の2株は結研で *M. tuberculosis* complex と鑑別された。

多くの施設は感受性試験に市販の培地を用いていたが、38施設の中で8施設は自家製培地のみまたは市販の培地に加え自家製培地を試験に用いていた(表4)。また23施設は感受性試験を小川斜面培地を用いた固定濃度法(普通法), 9施設は少量培地による固定濃度法(マイクロタイター法), 3施設は上記の両者, 3施設はその他の方法を用いていた(表5)。

肺結核患者946例中143例は、材料と方法の項で述べた種々の理由(対照培地の成績の記載なし、検査法の記載が「その他」など)から、各施設と結研の成績の比較から除かれ、803例が比較された。そのうち80.8%は

表4 各施設で感受性試験に用いた培地

培地	施設数
自家製培地のみ	4
市販培地のみ	27
自家製と市販の両者	4
試験を他の施設に委託	3

表5 各施設で用いた感受性試験法

試験法	施設数
普通法* ¹	23
マイクロタイター法* ²	9
普通法+マイクロタイター法	3
その他	3

*¹: 斜面培地による固定濃度法

*²: 少量培地による固定濃度法

表6 肺結核患者分離菌の抗結核薬に対する耐性頻度
各施設の普通法と結研の普通法の比較

薬剤	治療なし例 (n=450)* ²		治療あり例 (n=145)* ²	
	各施設	結研	各施設	結研
INH	5 (1.1%)* ²	4 (0.9%)	30 (20.7%)	29 (20.0%)
RFP	3 (0.7%)	4 (0.9%)	23 (15.9%)	19 (13.1%)
SM	21 (4.7%)	20 (4.4%)	16 (11.0%)	15 (10.3%)
EMB	2 (0.4%)	0	2 (1.4%)	1 (0.7%)
KM	0	0	7 (4.9%)	5 (3.4%)
Any	27 (6.0%)	26 (5.8%)	39 (26.9%)	38 (26.2%)

*¹: 各施設で5薬剤試験された検体数

*²: 数字は耐性菌株数, 括弧内は耐性頻度

表7 各施設で普通法で試験された検体について
結研の普通法による成績との薬剤別の比較

薬剤	試験濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	比較可能 検体数	一致率 (%)	過小評価率 (%)	過大評価率 (%)
INH	0.1	648	92.3	1.9	5.9
	1.0	610	95.7	1.3	3.0
	5.0	632	97.6	1.0	1.4
RFP	10.0	634	88.5	1.6	9.9
	50.0	649	96.8	1.1	2.2
SM	20.0	649	95.8	1.5	2.6
	200.0	634	97.5	1.0	1.6
EMB	2.5	647	88.3	0.9	10.8
	5.0	634	97.3	0.0	2.7
KM	25.0	613	88.4	2.9	8.7
	100.0	626	99.0	0.3	1.6

表8 肺結核患者分離結核菌の抗結核薬5剤に対する耐性頻度
各施設のマイクロタイター法と結研の普通法の比較

薬剤	化療なし例 (n=115) * ¹		化療あり例 (n=30) * ¹	
	各施設	結研	各施設	結研
INH * ²	6 (5.2%)	6 (5.2%)	9 (30.0%)	6 (20.0%)
RFP	2 (1.7%)	2 (1.7%)	8 (26.7%)	7 (23.3%)
SM	9 (7.8%)	5 (4.3%)	2 (6.7%)	2 (6.7%)
EMB	5 (4.3%)	1 (0.9%)	5 (16.7%)	3 (10.0%)
KM	2 (1.7%)	1 (0.9%)	0	0
Any	15 (13.0%)	11 (9.6%)	13 (43.3%)	10 (33.3%)

*¹: 各施設で5薬剤試験された検体*²: INHは各施設、結研両者とも0.1 $\mu\text{g/ml}$ 濃度の成績を示した。
結研でINH 1 $\mu\text{g/ml}$ 濃度の成績は化療なし例は2.6%、化療あり例は16.7%であった。

普通法で、19.2%はマイクロタイター法で試験されていた。調べた全薬剤について、各施設から報告された薬剤感受性試験の成績と結研の成績の一致率は92.5%、過小評価率は1.3%、過大評価率は6.2%であった。

試験法別に分けて解析してみると、普通法の一致率は94.3%、マイクロタイター法の一致率は84.0%であり、マイクロタイター法では約10%低い一致率であった。各施設で普通法で試験が行われた検体の中で5薬剤すべてが試験された検体は化療なし例450例、化療あり例145例であった。

合計595例についての結核病学会治療委員会見解¹⁹⁾の基準濃度による薬剤耐性頻度の比較を表6に示したが、化療なしと化療ありの両者とも各施設と結研の成績の間

に差はみられなかった。各施設の成績と結研の成績の一致率、過大評価率、過小評価率を表7に示した。それぞれの薬剤の高濃度の成績と比べ低濃度の成績の一致率が低い傾向がみられた。しかし結核病学会治療委員会見解に記載された耐性の基準濃度で比べたとき、いずれの薬剤についても95%以上の高い一致率であった。またこの基準濃度では、過小評価率も過大評価率も低値であった。

各施設でマイクロタイター法で試験された検体について、薬剤別耐性頻度と各施設と結研の成績の一致率を表8と表9に示した。マイクロタイター法のスペクトル培地にはINHの1 $\mu\text{g/ml}$ の濃度がないため、0.1 $\mu\text{g/ml}$ の成績を示した。普通法については1 $\mu\text{g/ml}$ 濃度の成

表9 各施設でマイクロタイター法で試験された検体について
結研の普通法による成績との薬剤別の比較

薬剤	試験濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	比較可能 検体数	一致率 (%)	過小評価率 (%)	過大評価率 (%)
INH	0.1	154	74.7	2.6	22.7
	5.0	140	94.3	1.4	4.3
RFP	10.0	140	80.0	0.7	19.3
	50.0	153	97.4	0.6	2.6
SM	20.0	154	91.6	3.3	5.2
	200.0	139	95.7	1.4	2.9
EMB	2.5	151	55.0	2.7	42.4
	5.0	138	77.5	0.7	21.7
KM	25.0	140	94.3	1.4	4.3
	100.0	153	97.4	0.0	2.6

表10 各施設で普通法で試験された検体について
結研の普通法による成績との施設別比較*1

施設	総比較可能数*2	一致率(%)	過小評価率(%)	過大評価率(%)
1	55	90.9	1.8	7.3
2	132	99.2	0	0.8
3	132	87.9	3.8	9.1
4	770	98.1	0.9	1.0
5	1,199	96.8	0.5	2.7
6	550	97.1	1.1	1.8
7	451	97.8	1.8	0.4
8	272	88.2	3.7	8.1
9	110	99.1	0	0.9
10	161	87.5	1.9	10.6
11	854	98.5	0.6	0.9
12	143	90.2	4.2	5.6
13	195	94.8	2.6	2.6
14	339	96.1	1.2	2.7
15	74	91.9	0	8.1
16	55	81.8	0	18.2
17	66	92.4	0	7.6
18	429	88.6	1.6	9.8
19	538	88.6	1.9	9.5
20	286	83.6	0.3	16.1
21	165	91.5	0.6	7.9
計	6,976	94.3	1.2	4.5

*1: 比較症例数が少ない場合に極端な数値になりかねないので5例以下の施設は表から除かれた。

*2: 1薬剤当たりINH(3濃度)を除き2濃度試験された。すべてが比較可能であれば1症例で11となる。

績を参考までに括弧の中に示した。化療なし例についてみると、INHとRFPの成績に差はみられなかったが、

SM, KM に対する耐性頻度はマイクロタイター使用群で約2倍、EMBに対しては約4倍高かった。化療あり

表11 各施設でマイクロタイター法で試験された検体について
結研の普通法による成績との施設別比較*¹

施設	総比較可能数* ²	一致率(%)	過小評価率(%)	過大評価率(%)
1	270	65.2	1.1	33.7
2	138	98.5	1.5	0
3	67	77.6	3.0	19.4
4	284	81.0	3.2	15.8
5	165	76.4	0	23.6
6	319	94.0	2.8	3.1
7	260	93.5	0.4	6.1
計	1,503	84.0	1.7	14.3

*¹: 比較症例数が少ない場合に極端な数値になりかねないので5例以下の施設は表から除かれた。

*²: 1薬剤当たり2濃度で5薬剤試験された。すべてが比較可能であれば1症例で10となる。

表12 各施設または結研で耐性(R)と判定された分離株の
結研または各施設における検査成績

試験法	評価数* ¹	一致数	%
各施設でRのうち結研でもR			
普通法	117	87	74.4
マイクロタイター法* ²	51	34	66.7
計	168	121	72.0
結研でRのうち各施設でもR			
普通法	107	87	81.3
マイクロタイター法	37	31	83.8
計	144	118	81.9

*¹: 結核病学会治療委員会見解の基準濃度による耐性の総評価数

*²: INHの判定には、マイクロタイター法は1 μ g/mlの濃度がないため0.1 μ g/mlの濃度の成績を、普通法については基準濃度である1 μ g/mlの成績を用いた。

例についてもINHとEMBでマイクロタイター法が約1.5倍高く判定されていた。各施設のマイクロタイター法と結研の普通法との間の全体的一致率は74.7%であり、普通法同士的一致率と比べ低い値であった($P < 0.01$)。マイクロタイター法では22.7%の例で過大評価されていた。またRFPの低濃度とEMBの両濃度は80%以下的一致率であった。これらの例ではマイクロタイター法の過大評価率は19.3%以上であった。RFP, SM, KMについて前記の治療委員会見解の耐性の基準濃度で比べてみると、いずれも90%以上的一致率であり、過大評価率も6%以下であった。

各施設で普通法で試験された検体について結研の普通法による成績との施設別比較を表10に示した。比較症

例数が少ない場合に偏りを生ずる恐れがあることから、比較例数が5例以下の5施設は表から除いた。施設16と施設20の2施設を除き19施設の成績は結研との比較で85%以上の高い一致率を示した。同じ施設別比較をマイクロタイター法についても行った。表11に示したように、比較された7施設のうち3施設は80%以下の低い一致率であり、これらの施設の過大評価率は19%以上であった。しかし同じマイクロタイター法を用いた試験した3施設の成績は結研との比較で90%以上の高い一致率を示した。

各施設または結研で治療委員会見解の基準濃度で耐性または感受性と判定された分離株の結研または各施設における検査成績を表12と表13に示した。なおINHの

表13 各施設または結研で感受性(S)と判定された分離株の
結研または各施設における検査成績

試験法	評価数* ¹	一致数	%
各施設でSのうち結研でもS			
普通法	3,125	3,104	99.3
マイクロタイター法* ²	794	788	99.2
計	3,919	3,892	99.3
結研でSのうち各施設でもS			
普通法	3,086	3,056	99.0
マイクロタイター法	808	791	97.9
計	3,894	3,847	98.8

*¹: 結核病学会治療委員会見解の基準濃度による耐性の総評価数

*²: INHの判定には、マイクロタイター法は1 µg/mlの濃度がないため0.1 µg/mlの濃度の成績を、普通法については基準濃度である1 µg/mlの成績を用いた。

判定にはマイクロタイター法は1 µg/mlの濃度がないため0.1 µg/mlの濃度の成績を、普通法については基準濃度1 µg/mlの成績を用いた。各施設でそれぞれの薬剤に対して耐性と判定された中で、結研でもそれぞれの薬剤に対して耐性と判定されたものの割合は72.0%であった。普通法(74.4%)に比べマイクロタイター法の一致率(66.7%)は低値であった。しかしこの差は統計学的に有意ではなかった。一方、結研で耐性と判定された例では80%以上は各施設でも耐性と判定されていた(表12)。これに対して、各施設または結研で感受性と判定された例では試験法の別に関係なく、約98%以上の例で結研または各施設でも感受性と判定されていた(表13)。

考 察

すべての抗酸菌がナイアシンを産生する。結核菌はナイアシンを代謝しないので培地中に蓄積されることから、ナイアシン試験は結核菌の鑑別に用いられている。しかし、*M. africanum*, BCGのある菌株(BCG日本株)や*M. ulcerans*, *M. simiae*は陽性であり、*M. chelonae* subsp. *chelonae*, *M. avium* complex, *M. kansasii*などでナイアシン試験陽性の菌株も2~3%存在する。またPNB培地上の発育試験も日本では結核菌の鑑別に用いられている。しかし、結核菌のみならず大多数の*M. marinum*, *M. gastri*, *M. xenopi*と一部の*M. kansasii*もPNB 500 µg/mlに感受性²⁰⁾である。それゆえ結核菌の鑑別をナイアシン試験やPNB培地による試験単独で行った場合に誤って鑑別されることがある。一方核酸のハイブリダイゼーションに基づいた鑑別同定のためのキットも開発され市販されて

いる。結核菌鑑別のためのDNAプローブ法の感度と特異性は100%²¹⁾であり、少量の菌で短時間のうちに鑑別できる。共同研究参加38施設のなかで約60%の施設は、従来からのナイアシン試験やPNB培地上の発育試験に加えて、DNAプローブ法を結核菌の鑑別同定試験に用いていた。

今回の研究で、各施設の同定の結果と結研の成績の間の不一致例が16例みられた。そのうち、結研で行った試験で非結核性抗酸菌と鑑別同定された11株は、それぞれの施設では*M. tuberculosis* complexとして鑑別されていた。またそれぞれの施設で非結核性抗酸菌と診断された2例は、結研の検査で*M. tuberculosis* complexとして鑑別された。これらの例は、ナイアシン試験のみあるいはナイアシン試験にPNB培地上の発育試験およびその他の生物学的性状の試験を加えた方法で鑑別同定されていた。結核菌群に属する菌株と*M. kansasii*を除く他の抗酸菌は抗結核薬に感受性が低く、結核菌の感受性試験に用いている濃度では、多くの非結核性抗酸菌は耐性と判定される。今回(1992年)の調査¹⁷⁾で初回治療例の耐性の頻度は5.6%と低いレベルにあり、このような集団への非結核性抗酸菌の混入は、薬剤耐性結核の頻度を大きく変えるに違いない。それゆえ薬剤耐性結核の調査において、菌の鑑別は非常に重要である。

結核菌の細菌学的検査のなかで、精度管理の最も難しい検査は薬剤感受性試験である。国により感受性試験の方法^{12)~16)}や用いる培地の種類は異なり、そこで得られた成績は異なることが予想される。試験に同じ培地と同じ方法を用いたときのみ耐性頻度の厳密な比較は可能となる。わが国においては大部分の検査室は1%小川卵培

地を用いる絶対濃度法を使用しており、実際には斜面培地を用いる普通法または簡便法であるマイクロタイター法で試験している。共同研究参加38施設の中で26(68%)施設は試験を普通法で、12(32%)施設はマイクロタイター法で行っていた。各施設の普通法と結研の普通法による成績とを比較したとき88%以上の一致率であった。

各薬剤について比較濃度を、結核病学会治療専門委員会見解の耐性の基準濃度に限ってみたとき一致率は95%以上、過小評価率は1.5%以下、過大評価率は3%以下であり、非常に良好な成績であった。これに対し、各施設のマイクロタイター法と結研の普通法との全体の一致率は低く、その値は84%であった。普通法同士の全体の一致率(94.3%)と比較し、それらの間の差は統計学的に有意であった($P < 0.01$)。特にINHとEMBの一致率がマイクロタイター法では低く、それは過大評価率の高さと結びついていた。マイクロタイター法では普通法と比べ培地量が少ないにもかかわらず接種菌量が多いため、判定最適日を越えてから成績の判定をした場合には薬剤の種類により感受性菌を耐性菌と読む傾向がある。

表10に示したように各施設の普通法の成績と結研の成績を施設別に比較したとき、一致率は81.8%~99.1%の範囲にあり、施設により少し差がみられた。試験に用いる菌量は判定結果に影響することが報告²²⁾されている。また培地製造後使用までの保存期間の長さも結果に大きく影響することが知られており、薬剤含有培地は製造後1カ月以内に使用することが勧められている。ここでみられた、施設による差の理由については明らかでない。しかし21施設のうち19施設は85%以上の一致率であり、残りの2施設の一致率も80%以上であることから、普通法で試験された施設の成績には施設間に大きな差はないと言える。

マイクロタイター法で試験した7施設の中で、3施設は80%以下の低い一致率であった。特に表11の施設1の一致率は65.2%であった。これら3施設の過小評価率は3%以下であったが、過大評価率は19%以上と高値であった。これに対し同じマイクロタイター法を用いた他の3施設の一致率は93.5%以上、過大評価率は6.1%以下であり、結研との比較で非常に良好な成績であった。マイクロタイター法による試験の場合、上述の理由や培地上の菌の増殖の度合いの判定の困難さなどのため、薬剤の種類により過大に評価される例が多くみられる。

現在テトラゾリウム塩の酸化還元反応を利用し、発育菌を赤色に染め分けることで増殖の度合いを迅速に判定できる培地が開発²³⁾され、その有用性が評価されてい

る。感受性試験に用い有効であることが確かめられれば、上記のいくつかの問題は解決するものと考えられる。

共同研究者と参加施設名

岸不盡彌(国療札幌南病院)、及川光雄(弘前中央病院)、武内健一(岩手県立中央病院)、本田芳宏(仙台厚生病院)、柳内 登、斉藤武文(国療晴嵐荘病院)、東正明(国療西群馬病院)、豊田丈夫(国療東埼玉病院)、黒沢知徳、上野正江(埼玉県立小原療養所)、奥井津二、福田 潔(国立霞ヶ浦病院)、庵原昭一、鈴木公典(国療千葉東病院)、片山 透、毛利昌史、町田和子(国療東京病院)、森久保裕(日赤医療センター)、伊賀六一、小林龍一郎(東京都済生会中央病院)、江波戸欽弥、伊藤不二雄(東京有隣会有隣病院)、堀江孝至、萩原照久(日大医学部第一内科)、木野智慧光(結核予防会複十字病院)、和田雅子(結核予防会結核研究所、同複十字病院)、佐藤瑞枝(結核予防会結核研究所)、盛本正男(結核予防会新山手病院)、可部順三郎、伊藤通成(国療中野病院)、鈴木 光(東京都立府中病院)、藤野忠彦(国療南横浜病院)、平川 寛、横内裕佳(国療東長野病院)、水野武郎(聖隷三方原病院)、中村英一、矢守貞昭(国療中部病院)、三輪太郎、佐々木智康、鈴木喜久男(国療東名古屋病院)、塩谷謙二(国療富山病院)、池田宣昭、森 一彌(国療南京都病院)、小原幸信、東日出夫(国療宇多野病院)、久世文幸、村山尚子(京都大学胸部疾患研究所)、亀田和彦(大阪府立羽曳野病院)、螺良英郎、榎野富彌(結核予防会大阪支部大阪病院)、副島林造、沖本二郎(川崎医科大学)、井上圭太郎、望月孝二、吉岡弘子(国療広島病院)、西村一孝(国療愛媛病院)、松崎義和(国療福岡東病院)、石橋凡雄、原田康子(国療大牟田病院)、島津和泰(国療熊本南病院)、直江弘昭(国療再春荘病院)、蓑田節夫(国療宮崎病院)。

謝 辞

この研究は厚生省厚生科学研究費補助金の援助を受けた。

文 献

- 1) 結核療法研究協議会：肺結核患者の入院時における結核菌薬剤耐性に関する研究。日本医事新報。1960 ; 1900 : 3-10.
- 2) 結核療法研究協議会：肺結核患者の入院時における結核菌薬剤耐性に関する研究、昭和34年調査成績ならびに昭和32年との比較。日本医事新報。1962 ; 1979 : 3-10.
- 3) 結核療法研究協議会：肺結核患者の入院時における結核菌薬剤耐性に関する研究、昭和36年調査成績

- ならびに32年・34年の調査成績との比較。日本医事新報。1963；2064：9-26。
- 4) 結核療法研究協議会：肺結核患者の入院時における薬剤耐性，昭和38年と32年，34年，36年との比較。日本医事新報。1967；2247：49-57。
 - 5) 結核療法研究協議会：肺結核患者の入院時における薬剤耐性，昭和41年度の調査成績と昭和32年，34年，38年との比較。日本医事新報。1969；2355：3-8。
 - 6) Tuberculosis Research Committee (Ryoken) : Primary drug resistance to the major anti-tuberculosis drugs in Japan. *Tubercle*, Lond. 1970 ; 51 : 152-171.
 - 7) 結核療法研究協議会：肺結核患者の入院時における薬剤耐性，第1編。1972年の調査成績と前6回の成績の比較。結核。1975；50：108。
 - 8) 結核療法研究協議会：肺結核患者の入院時における薬剤耐性，第2編。耐性の頻度に関連する因子について。結核。1975；50：55-62。
 - 9) 結核療法研究協議会：肺結核患者の入院時における薬剤耐性，第1編。1977年の調査成績と前7回の成績の比較。結核。1979；54：515-522。
 - 10) 結核療法研究協議会：肺結核患者の入院時における薬剤耐性，第2編。耐性の頻度に関連する因子について。結核。1979；54：549-555。
 - 11) 結核療法研究協議会：肺結核患者の入院時薬剤耐性に関する研究，第1編。1982年の現地調査成績と25年間の推移。結核。1991；66：367-373。
 - 12) Canetti G, Froman S, Grosset J, et al. : Mycobacterial : laboratory methods for testing drug sensitivity and resistance. *Bull WHO*. 1963 ; 29 : 565-578.
 - 13) Canetti G, Rist N, Grosset J : Mesure de la sensibilit du bacille tuberculeux aux drogues antibacillaires par la m thode des proportions. *Rev Tuberc*. 1963 ; 27 : 217-272.
 - 14) Leading Article : Sensitivity tests. *Tubercle*, Lond. 1964 ; 45 : 169-171.
 - 15) Kent PT, Kubica GP : Antituberculosis chemotherapy and drug susceptibility testing. In : *Public health mycobacteriology, a guide for the level III laboratory*, Kent PT and Kubica GP, ed. CDC, USA, 1985, 159-184.
 - 16) Huebner R, Good RC, Tokars JI : Current practices in mycobacteriology : results of a survey of state public health laboratories. *J Clin Microbiol*. 1993 ; 31 : 771-775.
 - 17) Hirano K, Kazumi Y, Abe C, et al. : Resistance to antituberculosis drugs in Japan. *Tuberc Lung Dis*. (印刷中)
 - 18) 厚生省：結核菌検査指針，日本公衆衛生協会，東京，1979。
 - 19) 日本結核病学会治療専門委員会：結核化学療法に関する見解。結核。1974；49：349-356。
 - 20) Rastogi N, Goh KS, David HL : Selective inhibition of the *Mycobacterium tuberculosis* complex by p-nitro- α -acetyl-amino- β -hydroxypropio-phenon (NAP) and p-nitrobenzoic acid (PNB) used in 7H11 agar medium. *Res Microbiol*. 1989 ; 140 : 419-423.
 - 21) 阿部千代治，鹿住祐子，深澤 豊，他：Accu-probeによる抗酸菌の同定。臨床と微生物。1991；18：557-561。
 - 22) 正木孝幸，梅橋豊蔵：抗酸菌検査に関する検討，第1報。市販抗酸菌感受性培地の比較検討。医学検査。1991；40：1087-1090。
 - 23) 大久保華子，岡沢 豊：テトラゾリウム塩を用いた抗酸菌早期分離培地。結核。1994；69：143。