

原 著

入院時薬剤耐性に関する研究：1997年度の各施設と結研の成績の比較

平野 和重 和田 雅子 阿部千代治 青柳 昭雄
療研共同研究参加78施設

結核療法研究協議会（委員長：青柳昭雄）

A STUDY ON RESISTANCE OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* TO FOUR
FIRST-LINE ANTI-TUBERCULOSIS DRUGS IN JAPAN : COMPARISON OF RESULTS
IN THE LOCAL FACILITIES AND IN THE REFERENCE LABORATORY, IN 1997

Kazue HIRANO, Masako WADA, *Chiyoji ABE, Teruo AOYAGI,
78 Cooperating Institutions

*Tuberculosis Research Committee (Ryoken)
(Chair: Teruo Aoyagi)

Five years after the last survey of drug-resistant tuberculosis in Japan, a nationwide survey was conducted by the Tuberculosis Research Committee (Ryoken). A total of 78 hospitals in various districts of Japan participated in this cooperative study. Each collaborating laboratory sent all the isolated mycobacterial cultures during June 1 to November 30, 1997 to the Research Institute of Tuberculosis (RIT), which is one of the Supranational Reference Laboratories of the WHO/IUATLD Global Project on Anti-tuberculosis Drug Resistance Surveillance. At RIT identification and drug susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* isolates were reexamined. The RIT received a total of 2,167 cultures. Among them, 523 cultures were excluded from further examinations because of various reasons, such as growth of mycobacteria other than tubercle bacilli (MOTT, 453), mixed cultures of *M. tuberculosis* and MOTT (16), and contamination or non-viability (54). Thus drug susceptibility test results were available for 1,644 cultures, including 47 from foreign-born people. In the local laboratories, the absolute concentration method using 1% Ogawa egg slant (standard method, 26 hospitals), its modified methods using a 48-well plate (Microtiter method, 29 hospitals) and a 16-well plate (Well-pack method, 7 hospitals), combination of above 2 or 3 methods (13 hospitals), and other method (3 hospitals) were used for drug susceptibility testing, and the proportion method using 1% Ogawa egg slant was used in the RIT. The results in the local laboratories were compared with those in the RIT. A high concordance rate (over 90%) was seen in the testing for 1 $\mu\text{g/ml}$ of isoniazid (INH), rifampin (RFP) and streptomycin (SM), but the rate was lower (under 90%) in the testing for 0.1 $\mu\text{g/ml}$ of INH and

*〒204-8533 東京都清瀬市松山3-1-24 結核研究所内

* C/o Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association, 3-1-24, Matsuyama, Kiyose-shi, Tokyo 204-8533 Japan.
(Received 10 Jan. 2001/ Accepted 19 Mar. 2001)

ethambutol (EMB). However, there was no significant difference in the concordance rates according to the test drugs among methods for drug susceptibility testing used in the local laboratories. Median concordance rates between the results with the standard method, Microtiter method and Well-pack method in the local laboratories, and those in the RIT were 95.9%, 93.2% and 96.4% respectively. Relatively lower concordance rates were seen in the laboratories using the Microtiter method related to high overestimation rates (median overestimation rate of 5.3%), compared with 1.2% and 2.3% in the laboratories using the standard method and Well-pack method, respectively. However, relatively lower concordance rates (less than 90%) were seen in the laboratories using any of the three methods, indicating that there are variations among facilities. Part of the results concerning the resistance patterns to four first-line anti-tuberculosis drugs were reported elsewhere.

Key words: Drug resistant tuberculosis, Nationwide survey, Drug susceptibility testing, Quality control of test

キーワードズ：薬剤耐性結核，全国調査，薬剤感受性試験，試験の精度管理

はじめに

1994年に、世界保健機関（WHO）は国際結核肺疾患予防連合（IUATLD）と協力し、薬剤耐性結核の広がりを調べることを目的としたプロジェクトを開始した。これまでに、調査に参加した国のすべてに薬剤耐性菌が出現していること、少なくともイソニアジド（INH）とリファンピシン（RFP）の両者に耐性を示す多剤耐性結核（MDR-TB）の頻度が高い地域があり、結核対策を困難にしていることが明らかになった¹⁾²⁾。

結核療法研究協議会は、1957年以来2～5年ごとに過去12回にわたり、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を調べてきた^{3)～15)}。前回の調査から5年が経過し、その間に高齢化社会の結核、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。わが国では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。今回の共同研究では、各施設で従来からの絶対濃度法で試験し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、日本結核病学会から提案された比率法で再検査した¹⁶⁾。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。結核患者から分離された菌の薬剤耐性頻度については別紙に報告した¹⁷⁾。

材料と方法

1. 調査対象

結核病床を持つ病院の中で78施設がこの共同研究に参加した。1997年6月1日から同年11月30日までの間に入院した結核患者および非結核性抗酸菌症患者で、菌が分離された例を対象にした。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を作成した。分離培養または感受性試験の対照培地のいずれかの菌株を郵便法で定められた方法を守り、缶またはプラスチックの容器に入れ、調査個人票と一緒に結研に送付した。結研では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℃に保存した。

2. 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、アキュプローブ法（極東製薬）および抗MPB 64モノクローナル抗体を用いる免疫クロマトグラフィー（MPB 64-ICA）で送付された菌を鑑別した¹⁸⁾¹⁹⁾。結核菌以外の非結核性抗酸菌の鑑別・同定にはDDHマイコバクテリア（極東製薬）および培養・生化学的試験を用いた²⁰⁾²¹⁾。

3. 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、日本結核病学会から新しく提案された小川培地を用いる比率法を試験に用いた¹⁶⁾。試験は主要4薬剤、INH、RFP、ストレプトマイシン（SM）、エタンブトール（EMB）について行った。薬剤含有培地は結研で作

り、作製後2週以内に試験に供した。接種菌はミドルブルック7H9液体培地で培養した。McFarland No. 0.5に調製し、その100倍希釈液の0.1mlを薬剤含有培地に接種した。対照培地は2本用意し、100倍希釈液と10,000倍希釈液を接種し、37℃で培養した。10,000倍希釈液を接種した対照培地のコロニー数と比較して、薬剤含有培地のコロニー数が多ければ耐性菌の割合が1%以上と判定し、耐性と記録した。

4. 集計および解析

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（各施設では耐性と判定していたが結研では感受性と判定した例数）、過小評価例数（各施設では感受性と判定していたが結研では耐性と判定した例数）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

結核病床を持つ病院のなかで78施設が今回の共同研究に参加した。1997年6月1日から同年11月30日までの間にそれぞれの病院で入院患者から分離された抗酸菌2,167例の個人票と抗酸菌が結研に送られた。

Table 1に示したように参加78施設の中で49施設(62.8%)は鑑別・同定検査にナイアシン試験を用いていた。次いでDDHマイコバクテリアが44施設(56.4

%), アクユプローブ法が27施設(34.6%), 核酸増幅法が25施設(32.1%)で用いられていた。これらの試験法を単独で用いている施設は少なく、多くの施設は2つ以上の方法を組み合わせて鑑別・同定していた。

結研では送付された菌株の鑑別・同定をアクユプローブ法, MPB64-ICA, DDHマイコバクテリアおよび従来からの培養・生化学的方法で行った。送付された2,167例のうち523例は、非結核性抗酸菌(453例), 結核菌と非結核性抗酸菌の混合(16例), 培地の汚染と発育不能(54例)のため除外し、残る1,644例を分析した。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1,644例の中で外国人は47例(2.9%)であった。1,374例は初回治療例であり、264例は2週間以上の治療歴を持つ既治療例であった。初回治療例であっても、外来で2週間以上治療後に入院治療に切り替えた例は既治療例に含めた。

各施設から報告された成績と結研の鑑別・同定検査の間に不一致例がいくつかみられた(Table 2)。各施設から結核菌群として報告された菌株のうち32株は結研での試験で非結核性抗酸菌と同定された。また結核菌群と報告された16培養は結核菌群と非結核性抗酸菌の混合培養であった。

用いた薬剤感受性試験の方法は施設により異なっていた(Table 3)。26施設は小川斜面培地を用いる普通法、

Table 1 Methods used for culture confirmation and identification of species belonging to the *M. tuberculosis* complex in the local laboratories

Method	No. of laboratory
Niacin ^a + other method(s)	49
Accuprobe ^b + other method(s)	27
DDH ^c + other method(s)	44
Amplification ^d + other method(s)	25
Culture ^e + other method(s)	17

^a Niacin accumulation test, ^b Accuprobe TB confirmation test, ^c DNA-DNA hybridization method in microdilution wells, ^d Amplicore Mycobacteria or Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test, ^e Conventional biological and biochemical tests

Table 2 Discrepant identification results between local laboratories and RIT

Local laboratory	RIT ^a	No. of culture
<i>M. tuberculosis</i>	MOTT ^b	32
<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. tuberculosis</i> + MOTT	16

^a Research Institute of Tuberculosis

^b Mycobacteria other than tubercle bacilli

29施設はマイクロタイター法, 7施設はウエルパック法を用いて試験した。また13施設は上記3種の組み合わせ, 3施設はMIC測定などを薬剤感受性試験に用いた。

今回の研究では, 各施設は絶対濃度法, 結研では比率法で試験したことから厳密に比較することはできない。しかし試験法は異なるが, 各施設で普通法で試験した施設の83%は結研の成績と95%以上の高い一致率を示したことから比較することは意味があると考えた。

ここでは, INHについては各施設の0.1 $\mu\text{g/ml}$ と結

研の0.2 $\mu\text{g/ml}$, RFPは各施設の50 $\mu\text{g/ml}$ と結研の40 $\mu\text{g/ml}$, SMは各施設の20 $\mu\text{g/ml}$ と結研の10 $\mu\text{g/ml}$, EMBは各施設の2.5 $\mu\text{g/ml}$ と結研の2.5 $\mu\text{g/ml}$ の成績を比較した。各施設の成績と結研の成績の試験薬剤別一致率, 過大評価率, 過小評価率を Table 4-1 (各施設の普通法), Table 4-2 (各施設のマイクロタイター法) および Table 4-3 (各施設のウエルパック法) に示した。INHの試験濃度1 $\mu\text{g/ml}$, RFPおよびSMについてはいずれの試験法でも90%以上の高い一致率であつ

Table 3 Methods of drug susceptibility testing used in the local laboratories

Method	No. of laboratory
Standard	26
Microtiter	29
Well-pack	7
Combination of above 2 or 3	13
Other	3

Table 4-1 Comparison of results measured with the standard method in the local laboratories with those of RIT according to test drugs

Drug ($\mu\text{g/ml}$)	Concordance rate (%)	Over-estimation rate (%)	Under-estimation rate (%)
Isoniazid (0.1) ^a	88.6	10.7	0.8
Isoniazid (1.0)	96.3	2.6	1.1
Rifampin (50) ^b	98.6	0.8	0.6
Streptomycin (20) ^c	93.9	3.2	2.9
Ethambutol (2.5)	86.5	13.4	0.2

^a Compared to the results of 0.2 $\mu\text{g/ml}$ in the RIT

^b Compared to the results of 40 $\mu\text{g/ml}$ in the RIT

^c Compared to the results of 10 $\mu\text{g/ml}$ in the RIT

Table 4-2 Comparison of results measured with the Microtiter method in the local laboratories with those of RIT according to test drugs

Drug ($\mu\text{g/ml}$)	Concordance rate (%)	Over-estimation rate (%)	Under-estimation rate (%)
Isoniazid (0.1) ^a	89.6	9.5	0.9
Isoniazid (1.0)	95.5	3.1	1.4
Rifampin (50) ^b	95.2	4.1	0.7
Streptomycin (20) ^c	91.0	6.1	2.9
Ethambutol (2.5)	83.2	16.4	0.4

^a Compared to the results of 0.2 $\mu\text{g/ml}$ in the RIT

^b Compared to the results of 40 $\mu\text{g/ml}$ in the RIT

^c Compared to the results of 10 $\mu\text{g/ml}$ in the RIT

たが、INHの試験濃度0.1 $\mu\text{g/ml}$ (結研の0.2 $\mu\text{g/ml}$ との比較)とEMBについて結研の成績との一致率は90%以下であった。後者の低い一致率は過大評価率の高さと関連していた。すなわち結研の成績では感受性と判定されていた例が各施設では耐性と判定されていた。

今回10株以上試験した施設について、施設別の全体

の一致率、過大評価率、過小評価率を Table 5-1 (普通法), Table 5-2 (マイクロタイター法), Table 5-3 (ウエルバック法) に示した。各施設の普通法と結研の一致率は75.0%から100%の間であり、その中央値は95.9%であった。普通法で試験した18施設のうち、15施設(83.3%)は95%以上の高い一致率であった。各施設の

Table 4-3 Comparison of results measured with the Well-pack method in the local laboratories with those of RIT according to test drugs

Drug ($\mu\text{g/ml}$)	Concordance rate (%)	Over-estimation rate (%)	Under-estimation rate (%)
Isoniazid (0.1) ^a	82.4	16.3	1.4
Isoniazid (1.0)	93.2	6.8	0
Rifampin (50) ^b	96.4	2.7	0.9
Streptomycin (20) ^c	91.0	5.0	4.1
Ethambutol (2.5)	75.1	24.0	0.9

^a Compared to the results of 0.2 $\mu\text{g/ml}$ in the RIT

^b Compared to the results of 40 $\mu\text{g/ml}$ in the RIT

^c Compared to the results of 10 $\mu\text{g/ml}$ in the RIT

Table 5-1 Comparison of results measured with the standard method in the local laboratories with those of RIT according to the laboratory

Laboratory	No. isolates tested	Overall Concordance rate (%)	Over-estimation rate (%)	Under-estimation rate (%)
1	41	97.0	1.2	1.8
2	16	98.6	0	1.4
3	45	95.0	4.4	0.6
4	42	98.2	1.2	0.6
5	46	95.1	0	4.9
6	37	95.3	3.4	1.3
7	12	97.9	0	2.1
8	15	98.3	1.7	0
9	12	95.8	4.2	0
10	24	98.0	1.0	1.0
11	43	75.0	23.8	1.2
12	11	100	0	0
13	69	98.6	0.4	1.0
14	19	95.9	4.1	0
15	84	99.1	0.6	0.3
16	12	83.3	16.7	0
17	23	85.9	14.1	0
18	18	95.8	4.2	0
Median		95.9	1.2	0.6
Maximum		100	23.8	4.9
Minimum		75.0	0	0
Average		94.9	4.0	1.1

Table 5-2 Comparison of results measured with the Microtiter method in the local laboratories with those of RIT according to the laboratory

Laboratory	No. isolates tested	Overall Concordance rate (%)	Over-estimation rate (%)	Under-estimation rate (%)
1	15	90.0	8.3	1.7
2	42	99.4	0	0.6
3	39	95.5	2.6	1.9
4	16	76.6	23.4	0
5	50	95.5	0.5	4.0
6	26	84.6	15.4	0
7	25	95.0	5.0	0
8	41	95.7	3.7	0.6
9	25	91.0	8.0	1.0
10	18	37.5	59.7	2.8
11	38	96.1	3.9	0
12	43	96.5	3.5	0
13	25	95.0	4.0	1.0
14	32	91.4	7.8	0.8
15	47	88.8	11.2	0
16	33	93.2	5.3	1.5
17	15	86.4	10.2	3.4
18	11	95.5	4.5	0
19	31	93.5	5.6	0.9
20	15	88.3	8.3	3.4
21	87	94.0	4.6	1.4
22	17	87.5	7.8	4.7
Median		93.2	5.3	0.9
Maximum		99.4	59.7	4.7
Minimum		37.5	0	0
Average		91.6	7.2	1.2

Table 5-3 Comparison of results measured with the Well-pack method in the local laboratories with those of RIT according to the laboratory

Laboratory	No. isolates tested	Overall Concordance rate (%)	Over-estimation rate (%)	Under-estimation rate (%)
1	12	95.8	4.2	0
2	36	96.4	0.7	2.9
3	34	97.8	0	2.2
4	11	97.7	2.3	0
5	57	75.0	24.1	0.9
Median		96.4	2.3	0.9
Maximum		97.8	24.1	2.9
Minimum		75.0	0	0
Average		88.6	9.9	1.5

Table 6 Concordance rates of the results between local laboratories and RIT according to the method used for drug susceptibility testing

Method	No. of laboratory	No. (%) of laboratory with concordance rates of			
		95% ≤	95-95%	80-90%	< 80%
Standard	18	15 (83.3)	0	2 (11.1)	1 (5.6)
Microtiter	22	9 (40.9)	6 (27.3)	5 (22.7)	2 (9.1)
Well-pack	5	4 (80.0)	0	0	1 (20.0)
All	45	28 (62.2)	6 (13.3)	7 (15.6)	4 (8.9)

Table 7 Concordance rates between local laboratories and RIT

Method	No. of isolates	Concordance rate (%)
Local laboratory (R) ^a		
Standard	61	48.6
Microtiter	88	38.4
Well-pack	28	30.6
RIT (R) ^a		
Standard	37	79.2
Microtiter	42	80.4
Well-pack	11	79.1
Local laboratory (S) ^a		
Standard	560	98.6
Microtiter	603	98.6
Well-pack	137	98.4
RIT (S) ^a		
Standard	584	94.6
Microtiter	649	91.6
Well-pack	154	87.5

^a Diagnosed as resistant (R) or susceptible (S) in the local laboratories or RIT

マイクロタイター法と結研の一致率は37.5%から99.4%の範囲であり、その中央値は93.2%であった。22施設のうち7施設(31.8%)は90%未満の低い一致率であった。これは高い過大評価率と関連しており、5施設は10%以上の過大評価率であった。ウエルパック法で10株以上を試験した施設数は5施設であり、一致率は75%から97.8%の範囲であった。一致率別に比較した成績をTable 6に示した。90%以上の一致率を示した施設は、普通法で83.3%、マイクロタイター法で68.2%、ウエルパック法で80%であり、用いた方法により一致率に差がみられた。しかしいずれの方法でも一致率80%以下の施設がみられた。成績は示さなかったが試験株数が

10以下の施設の一貫率がより低い傾向にあった。

各施設で耐性と判定した分離株で結研でも耐性と判定した株の割合は50%以下であったが、結研で耐性と判定した株のほぼ80%は各施設でも耐性と判定していた(Table 7)。これに対し、各施設で感受性と判定していた株の99%は結研でも感受性と判定していた。

考 察

結核菌群に属する菌種と *Mycobacterium 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。今回の調査で初回治療例の耐性の

頻度は10.3%であり¹⁷⁾、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、分離された菌の鑑別は非常に重要である。

わが国では分離結核菌の鑑別にナイアシン試験²¹⁾、PNB培地上の発育試験²²⁾、アキュプローブ結核菌群鑑別試験¹⁸⁾、DDHマイコバクテリア²⁰⁾、培養・生化学的試験が用いられている。新結核菌検査指針²³⁾では、核酸の相同性を利用したキットの使用を勧めている。すなわちアキュプローブキットの感度と特異性は100%であることから、まずこのキットで鑑別し、陰性例についてはDDHマイコバクテリアと培養・生化学的試験により同定する。この場合も発育日数やコロニーの形態および着色などを参考にするのはもちろんである。今回の共同研究参加78施設の中で、13施設(16.7%)は単独の試験で結核菌群を鑑別していた。2施設はナイアシン試験のみ、11施設は核酸を用いた試験で行っていた。*M. africanum*、BCGのある株(BCG日本株)、*M. ulcerans*や*M. simiae*はナイアシン試験陽性であり、*M. chelonae*、*M. avium*、*M. kansasii*などでナイアシン試験陽性の菌株も1~2%存在する。それゆえ、結核菌の鑑別をナイアシン試験単独で行った場合に誤って鑑別されることがある。参加施設の中にPNB培地上の発育試験を単独で用いていた施設はなかった。大部分の施設(65/78, 83.3%)は上記試験を2種以上組み合わせて結核菌の鑑別を行っていた。

各施設の鑑別の結果と結研の成績の間に不一致例が48例みられた(Table 2)。それぞれの施設で結核菌群と同定された32株(32/1,692, 1.9%)は結研で行った試験で非結核性抗酸菌と鑑別された。また各施設で結核菌群と鑑別された培養の16(16/1,692, 1%)は結研の試験で結核菌群と非結核性抗酸菌の混合培養であった。ここ1~2年の間に初回分離に液体培地が用いられるようになった。しかし液体培地のみの培養では、結核菌の培養に約1%存在する非結核性抗酸菌の混入を見落とすことがあり、結核菌の薬剤感受性を誤って判定することがある。初回の分離培養に液体培地と卵培地を1本ずつ用いることが重要であり、新検査指針でも勧めている^{23) 24)}。

結核菌の細菌学的検査の中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や用いる培地の種類が異なり、そこで得られた成績は異なることが予想される^{25)~29)}。わが国では、大部分の検査室は1%小川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、簡便法であるマイクロタイター法とウエルバック法で試験している。今回、共同研究参加78施設の中で26施設は普通法(33.3%)、29施設(37.2%)はマイクロタイター法、7施設(9%)

はウエルバック法、13施設(16.7%)は2種または3種の組み合わせで試験した。結研では日本結核病学会から提案された1%小川斜面培地を用いる比率法で試験した¹⁶⁾。各施設と結研では用いた試験法および試験濃度が異なることから厳密に比較することはできない。しかしTable 6に示したように、普通法で試験した18施設のうち15施設(83.3%)は結研の成績と95%以上の一致率であった。この結果は、各施設の成績を薬剤別、試験法別に結研の成績と比較することは薬剤感受性試験の精度管理の上で意味があることを示している。

INHの低濃度とEMBの一致率は90%以下であり、いずれの試験法でも同じ傾向であった。治療前の患者から分離された結核菌に対するINHのMICは広く分布していることが知られている。この研究では、各施設の0.1 µg/mlと結研の0.2 µg/mlの成績が比較されたことから、0.1 µg/ml耐性/0.2 µg/ml感受性の菌株が含まれていることが考えられる。しかしEMBの試験では同じ濃度が用いられており、低い一致率の理由は不明である。前回の調査(1992年)でもマイクロタイター法を用いた施設と結研の成績の間で同様の傾向を認めた¹⁵⁾。今後新しい検査法に変わることから早急に検討する必要がある¹⁶⁾。

試験菌株数が10以上であった施設の全体の一致率をTable 5-1, Table 5-2, Table 5-3に示した。マイクロタイター法で試験した施設と結研の成績との一致率は37.5%から99.4%の範囲であり、7施設(31.8%)は90%未満の低い一致率であった。これは過大評価率の高さと関連していた。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判定をした場合に、薬剤の種類により感受性菌を耐性と読む傾向がある³⁰⁾。一方普通法およびウエルバック法で試験した施設の一致率の中央値は96%であり、過大評価率の中央値も低いレベルであった。しかしいずれの方法を用いた場合も90%以下の低い一致率を示した施設が見られた。

試験菌株数が10以下の施設の成績は示さなかったが、10以上の施設より一致率が低い傾向にあった。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²³⁾。ここでみられた試験菌株数が少なかった施設の一致率がより低かった理由については分からない。しかし一部は製造後の保存期間の長さに関連していることが考えられる。

各施設で行われた普通法、マイクロタイター法、ウエルバック法で耐性と判定した菌株の中で51.4%、61.6%、69.4%は結研での試験で感受性と判定された(Table 7)。これに対し感受性と判定した菌株は結研の試験でもほぼ

100%感受性であった。これらのことは、感受性試験の結果を治療に応用する上で十分注意する必要があることを示している。特にINHの低濃度とEMBについては考慮する必要がある。いずれにしても、使用する培地および操作法の精度管理のために、検査室で標準菌株を用い定期的にチェックすることが大事である。

現在液体培地を用いる薬剤感受性試験法が評価されている。米国のNCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) も液体培地または寒天培地での感受性試験を勧めている³¹⁾。保険点数との関連で今後クリアしなければならぬ問題も残っているが、検査の精度と迅速性を考慮し液体培地の導入を検討する必要がある。

共同研究者と参加施設名

岸不盡彌, 品川雅明 (国療札幌南病院), 中林武仁, 荒谷義和 (国立函館病院), 渡辺英明, 川島則子 (市立函館病院), 草島勝之, 永田 学 (国療帯広病院), 佐々木伸博, 小笠寿之 (国療道北病院), 蝦名昭男 (青森県立中央病院), 奥寺光一, 福七一彦 (秀芳園弘前中央病院), 武内健一 (岩手県立中央病院), 佐藤正男 (国療盛岡病院), 木村啓二, 我妻勝彦 (平鹿総合病院), 座安清 (国療宮城病院), 石川秀雄, 小松幸夫 (国療福島病院), 斎藤武文 (国療晴嵐荘病院), 福田 潔, 青木邦之 (国立霞ヶ浦病院), 盛本正男 (医療法人埼玉病院), 青柳昭雄, 川城文夫, 豊田文夫 (国療東埼玉病院), 山岸文雄, 佐々木結花 (国療千葉東病院), 近藤信哉 (東京都立清瀬小児病院), 毛利昌史, 町田和子 (国療東京病院), 杉田博宣 (結核予防会複十字病院), 阿部千代治, 和田雅子, 平野和重, 森 亨 (結核予防会結核研究所), 青木正和 (結核予防会), 盛本正男 (結核予防会新山手病院), 鈴木 光, 岡田直美 (都立府中病院), 伊藤通成, 遠藤 富 (東京有燐会有燐病院), 小林龍一郎 (東京済生会中央病院), 小林勝博 (自衛隊中央病院), 藤野忠彦, 鈴木忠利 (国療神奈川病院), 河田兼光 (国療横浜南病院), 濱野三吾, 桑原牧子 (総合相模東生病院), 近藤有好, 和田光一, 小川 勝 (国療西新潟中央病院), 佐藤和弘 (総合病院長岡赤十字病院), 松島昭廣, 安田孝夫, 百石 博 (国療七尾病院), 大場泰良 (国療富山病院), 中積泰人, 大西初栄 (金沢市立病院), 奈良田光男, 大森 浩 (健康保険岡谷塩嶺病院), 水野武郎, 中村美加栄 (総合病院聖隷三方原病院), 本多淳郎, 伊藤敬子 (静岡県立総合病院), 矢守貞昭, 深谷勇二 (国療中部病院), 近藤康博, 橋本良恒 (公立陶生病院), 豊田国彦, 岩田 泰 (愛知県厚生連愛北病院), 笹本基秀, 吉川和弘 (国療東名古屋病院), 駿田直俊 (国療和歌山病院), 柏木秀雄 (国療明星病院), 関川利幸, 加藤一男 (財団

法人近江兄弟社ヴォーリス記念病院), 高嶋哲也, 中曾根智恵 (大阪府立羽曳野病院), 螺良英郎, 山中正彰 (結核予防会大阪府支部大阪病院), 山梨政行, 福中道男 (梨花会山梨病院), 坂谷光則 (国療近畿中央病院), 李永浩 (同友会共和病院), 池田宣昭, 佐藤敦夫 (国療南京都病院), 村山尚子 (京都大学胸部疾患研究所), 中川雅夫, 岩崎吉伸 (京都府立医科大学付属病院), 岩崎博信, 阪下哲司 (西神戸医療センター), 谷 靖彦 (医療法人喜望会谷向病院), 河原 伸 (国療南岡山病院), 宮本宏明, 栗原満枝 (総合病院岡山市立市民病院), 沖本二郎 (川崎医大川崎病院), 松島敏春, 橋口浩二 (川崎医大病院), 能勢順吉, 初岡富夫 (国療西鳥取病院), 重藤えり子 (国療広島病院), 安戸真司 (国療松江病院), 谷口清英 (国療高松病院), 杉本友則, 杉本圭子 (国療東徳島病院), 北室真人, 藤川英史 (国療西香川病院), 元木徳治 (国療東高知病院), 町田健一, 安部美稚子 (高知県立中央病院), 中山 正 (高知市立市民病院), 石橋凡雄, 原田康子 (国療大牟田病院), 池田東吾, 吉田章子 (国療南福岡病院), 新田由規子, 石井久雄, 田中三千代 (福岡県立遠賀病院), 小江俊行, 入村健児 (国療東佐賀病院), 道津安正 (長崎市立病院成人病センター), 朝野和典, 河野 茂 (長崎大学付属病院), 田中宏史 (国療川棚病院), 島津和康 (国療熊本南病院), 小河 洋 (国療三角病院), 石島英昭, 榎本誠一 (国療宮崎東病院), 瀧川修一, 吉野 浩 (国療西別府病院), 高岡 真, 黒木久和 (聖心会高岡病院), 久場睦夫 (国療沖縄病院)

謝 辞

この研究は厚生省厚生科学研究費補助金「新興・再興感染症研究事業」の援助を受けた。

文 献

- 1) WHO/IUATLD Global Project on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance: Anti-tuberculosis drug resistance in the world. WHO/TB/97. 229. Geneva, WHO, 1998.
- 2) WHO/IUATLD Global Project on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance: Anti-tuberculosis drug resistance in the world, Report No. 2. Prevalence and trends. WHO/CDS/TB/2000. 278. Geneva, WHO, 2000.
- 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. 日本医事新報. 1960; 1900: 3-10.
- 4) 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.
- 5) 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.
 - 6) 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.
 - 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, 昭和41年度の調査成績と昭和32年, 昭和34年, 昭和38年との比較. 日本医事新報. 1969; 2355: 3-8.
 - 8) Tuberculosis Research Committee (Ryoken): Primary drug resistance to the anti-tuberculosis drugs in Japan. *Tubercle Lond.* 1970; 51: 152-171.
 - 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. 1972年の調査成績と前6回の成績の比較. 結核. 1975; 50: 108.
 - 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. 1975; 50: 55-62.
 - 11) 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.
 - 12) 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.
 - 13) 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.
 - 14) Hirano K, Kazumi Y, Abe C, et al.: Resistance to antituberculosis drugs in Japan. *Tubercle Lung Dis.* 1996; 77: 130-135.
 - 15) 鹿住祐子, 平野和重, 阿部千代治, 他: 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核判定の比較. 結核. 1996; 71: 267-276.
 - 16) 日本結核病学会薬剤耐性検査検討委員会: 結核菌の薬剤感受性試験, 特に試験濃度改変と比率法導入への提案. 結核. 1997; 72: 597-598.
 - 17) Abe C, Hirano K, Wada M, et al.: Resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to four first-line anti-tuberculosis drugs in Japan, 1997. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2001; 5: 46-52.
 - 18) 阿部千代治, 鹿住祐子, 深澤 豊, 他: Accuprobeによる抗酸菌の同定. 臨床と微生物. 1991; 40: 1087-1090.
 - 19) Abe C, Hirano K, Tomiyama T: Simple and rapid identification of the *Mycobacterium tuberculosis* complex by immunochromatographic assay using anti-MPB64 monoclonal antibodies. *J Clin Microbiol.* 1999; 37: 3693-3697.
 - 20) Kusunoki S, Ezaki T, Tamesada Y, et al.: Application of colorimetric microdilution plate hybridization for rapid genetic identification of 22 *Mycobacterium* species. *J Clin Microbiol.* 1991; 29: 1596-1603.
 - 21) 厚生省公衆衛生局: 結核菌検査指針. 日本公衆衛生協会, 東京, 1979.
 - 22) Rastogi N, Goh KS, David HL: Selective inhibition of the *Mycobacterium tuberculosis* complex by p-nitro- α -acetylaminio- β -hydroxypropiofenon (NAP) and p-nitrobenzoic acid (PNB) used in 7H11 ager medium. *Res Microbiol.* 1989; 140: 419-423.
 - 23) 日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会: 新結核菌検査指針. 結核予防会, 東京, 2000.
 - 24) 日本結核病学会治療・社会保険・抗酸菌検査法検討合同委員会: 新しい抗酸菌検査法の臨床での利用について. 結核. 2000; 75: 681-684.
 - 25) Canetti G, Froman S, Grosset J, et al.: *Mycobacteria*: laboratory methods for testing drug sensitivity and resistance. *Bull WHO.* 1963; 29: 565-578.
 - 26) Canetti G, Fox W, Khomenko HT, et al.: Advances in techniques of testing mycobacterial drug sensitivity, and the use of sensitivity tests in tuberculosis control programmes. *Bull WHO.* 1969; 41: 21-43.
 - 27) Leading Article: Sensitivity tests. *Tubercle Lond.* 1964; 45: 169-171.
 - 28) Kent PT, Kubica GP: Antituberculosis chemotherapy and drug susceptibility testing. *Public health mycobacteriology, a guide for the level III laboratory.* US Department of Health and Human Services, CDC, Atlanta, 1985.
 - 29) Heubner R, Good RC, Tokaras JI: Current practices in mycobacteriology: results of a survey of state public health laboratories. *J Clin Microbiol.* 1993; 31: 771-775.
 - 30) 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.
- 31) Kiehn TE, Cynamon MH, Inderlied CB, et

al.: Antimycobacterial susceptibility testing
for *Mycobacterium tuberculosis*: tentative
standard. NCCLS M24-T. 1995; 15: 1-31.