

抗酸菌検査の精度管理 (2)

市販薬剤感受性試験培地の精度について

平成 15 年 4 月

日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会

はじめに

薬剤感受性試験は精度管理の最も難しい検査である。検査精度の善し悪しは患者の治療効果を左右するのみならず新たに耐性菌を作ることにも結びつく。1994 年、世界保健機関 (WHO) と国際結核肺疾患予防連合 (IUATLD) は薬剤耐性結核の広がりを調べることを目的として世界的規模のプロジェクトを開始した。得られた結果を比較する上で重要なことは、世界の異なる検査室で行われている薬剤感受性試験の精度を明らかにすることである。WHO/IUATLD は 20 数カ所の研究所を Supranational Reference Laboratory (SRL) として選び、WHO/IUATLD のセンターとの間で菌株を交換し、検査室における検査精度を調べることから研究をスタートした^{1)~3)}。この研究に当たって、WHO/IUATLD は大多数の SRL が報告した成績をその菌の示す耐性/感受性のゴールドスタンダードとして用いることにした。もちろんこの決定には遺伝子の変異や臨床応答も参考にしている。次に、SRL は同じ WHO 地域内の諸国の National Reference Laboratory との間で同様の試験を行うことで検査精度の向上を目指した。

わが国では、このような本格的な抗酸菌の薬剤感受性試験の精度管理試験はこれまでのところ行われていない。日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会では、抗酸菌検査の精度管理の一環として、2001 年度に市販培地の発育試験を実施し、得られた成績を本誌に報告したが⁴⁾、今回は、病院の検査室および検査センターで行っている薬剤感受性試験の検査精度の向上に寄与することを最終目的として、薬剤感受性試験の精度管理に関する検討を実施した。わが国では、大部分の検査室では市販培地を用い薬剤感受性試験を行っていることから、今回の精度管理試験を行うに当たっては、既に SRL で薬剤感受性の判定結果が得られている結核菌菌株を供試して、わが国の 4 種の市販培地による感受性試験の精度に関する検討を実施した。

材料と方法

1. 供試菌株

WHO/IUATLD のコーディネーター (Prof. Portaels, Mycobacteriology Unit, Institute of Tropical Medicine, Belgium) から SRL 内での薬剤感受性試験の精度管理試験用に送付された 9 菌株と標準菌株である結核菌 H37Rv の合計 10 菌株を、試験の再現性を調べる目的で、それぞれ 2 本ずつ、都合 20 株の試験菌を 2% 小川培地に培養し、参加 7 施設に送付した。

2. 薬剤感受性試験培地

今回は主要 4 薬剤、イソニアジド (INH)、リファンピシン (RFP)、ストレプトマイシン (SM) およびエタンブトール (EB) の感受性試験培地を評価した。試験には、中試斜面培地を用いる極東結核菌用感受性一濃度培地 (極東製薬工業) および感受性培地・TB (日水製薬)、簡便法である極東結核菌感受性ビットスペクトル-SR (極東製薬工業) と“ニチビー”抗酸菌検査用ウエルパック培地 P (日本 BCG) の 4 種を用いた。参加施設により試験日が異なったため用いた培地の製造ロットは同一ではなかった。また接種菌の調製および結果の判定は、各培地製造会社のマニュアルに準じて行った。結果は、新結核菌検査指針に従い、耐性菌の割合が 1% 未満を感受性 (S)、1% 以上を耐性 (R) として判定した⁵⁾⁶⁾。

3. 成績の解析

WHO/IUATLD の精度管理試験で大多数 (70% 以上) の SRL が報告した成績をその菌の示す耐性/感受性のゴールドスタンダードとして解析に用いた。SRL 内で RFP の試験で意見の分かれた (SRL 内の一致率が 70% 以下) 2 つのペアは RFP の解析から除外した。各供試培地を用いた場合の薬剤感受性試験の感度は、SRL で耐性と判定された株を各々の施設でも同じく耐性と判定し得た場合の割合で、また、特異性は、SRL で感受性と判定された株を各々の施設でも感受性と判定し得た場合の割合

で表示した。さらに、全体の一致率は、SRLで感受性または耐性と判定された株がそれぞれの施設でも正しく感受性または耐性と判定された割合で、また、再現性は、ペア菌株の成績の一致率で示した^{1)~3)}。

結 果

今回実施した薬剤感受性試験により、表1（参加7施設全体の成績）および表2（各施設ごとの成績）にまとめたような成績が得られた。

1. INH感受性試験

今回実施したINH感受性試験では、供試4種の培地に差はみられず、試験に参加した7施設すべてで同一の成績が得られた。また、供試20菌株中12菌株が耐性、8菌株が感受性と判定され、これらの結果はSRLの成績と完全に一致した。従って、供試4培地の感度、特異性、再現性はいずれも100%であったことになる（表1）。

2. RFP感受性試験

今回のRFP感受性試験に供試した菌株の中には、元々SRL内でも感受性判定成績を異にした菌株が2ペア（4菌株）含まれていた。その内訳であるが、1つのペアについては、SRL23施設中13施設で耐性に、10施設で感受性と判定されており、もう1つのペアについては、SRL16施設で感受性に、7施設で耐性と判定されている。ところで、これら2ペアについては、今回7施設で

実施した試験でも培地間、施設間、ペア間で異なる判定結果が得られていることから、これらの菌株は、今回のRFP培地の精度管理の解析からは除外し、最終的には残りの16菌株を解析に用いることとした。

その結果（表1；RFP参照）、培地Ⅰ、Ⅱ、Ⅲを供試した試験では、各施設間の結果に特記すべき差は認められず、いずれの施設でも10菌株は感受性、4菌株は耐性と判定され、これら3種の培地で得られた判定結果はSRLの成績と100%一致していた。他方、培地Ⅳについては、5施設からの成績はSRLの成績と100%の一致率をみたが、他の2施設からはSRLの成績とは異なる結果が得られ、そのうち1施設では耐性2菌株を感受性と、他の1施設では感受性1菌株を耐性と判定している。従って、SRLの成績をゴールドスタンダードとして参加7施設の結果を比較してみると、培地Ⅰ～Ⅲでは感度、特異性、再現性ともすべて100%であったのに対して、培地Ⅳでは、感度は92.9%と低く、特異性は98.9%、再現性は98.6%とやや低い結果が得られたことになる。

3. SM感受性試験

SM感受性については、4セット（8株）の供試菌についてSRLのそれとは異なる判定結果が報告されたが（表3）、これらはいずれもSRLで耐性と判定された菌株であった。このうち、セット1の菌株については、すべての施設から、SRLで判定された結果とは異なる成績が、培地Ⅰ～Ⅳのいずれかの培地を使用した場合に得られて

表1 薬剤感受性試験培地の精度^a

薬剤	培地名	感度 ^b	特異性 ^c	一致率 ^d	再現性 ^e
INH	Ⅰ	100	100	100	100
	Ⅱ	100	100	100	100
	Ⅲ	100	100	100	100
	Ⅳ	100	100	100	100
RFP	Ⅰ	100	100	100	100
	Ⅱ	100	100	100	100
	Ⅲ	100	100	100	100
	Ⅳ	92.9	98.9	97.4	98.6
SM	Ⅰ	81.4	100	90.7	95.7
	Ⅱ	72.9	100	86.4	92.9
	Ⅲ	98.6	100	99.8	98.6
	Ⅳ	60.0	100	79.3	91.4
EB	Ⅰ	100	94.0	95.7	97.1
	Ⅱ	100	98.0	98.6	97.1
	Ⅲ	100	96.1	97.1	97.1
	Ⅳ	97.6	89.0	91.4	85.7

^a精度：SRLと参加7施設の成績の比較

^b感度：SRLで耐性と判定した株を各施設で耐性と判定した割合

^c特異性：SRLで感受性と判定した株を感受性と判定した割合

^d全体の一致率：SRLで耐性または感受性と判定した株を正しく耐性または感受性と判定した割合

^e再現性：ペア菌株の成績の一致率

表 2 各施設の薬剤感受性試験の精度

薬剤	精度	施設						
		A	B	C	D	E	F	G
INH	感 度	100	100	100	100	100	100	100
	特異性	100	100	100	100	100	100	100
	一致率	100	100	100	100	100	100	100
	再現性	100	100	100	100	100	100	100
RFP	感 度	100	87.5	100	100	100	100	100
	特異性	100	100	100	100	100	97.9	100
	一致率	100	96.9	100	100	100	98.4	100
	再現性	100	100	100	100	100	96.9	100
SM	感 度	75.0	82.5	85.0	72.5	70.0	85.0	77.5
	特異性	100	100	100	100	100	100	100
	一致率	87.5	91.3	92.5	86.3	85.0	92.5	88.8
	再現性	95.0	100	95.0	92.5	95.0	95.0	92.5
EB	感 度	100	100	100	95.8	100	100	100
	特異性	91.1	89.3	96.4	92.9	96.4	96.4	96.4
	一致率	93.8	92.5	97.5	93.8	97.5	97.5	97.5
	再現性	92.5	95.0	95.0	92.5	95.0	95.0	95.0
全体	感 度	92.2	93.0	95.3	91.4	90.6	95.3	93.0
	特異性	97.2	96.6	98.9	97.7	98.9	98.3	98.9
	一致率	95.1	95.1	97.4	95.1	95.4	97.0	96.4
	再現性	96.9	98.8	97.5	96.3	97.5	96.9	96.9

いる。その内訳であるが、培地Ⅳでの試験ではすべての施設で感受性に、また、培地ⅠとⅡでの試験では1～2施設を除いた他のすべての施設で感受性と判定されたが、培地Ⅲでの試験では1施設を除く他の施設ではすべて耐性と判定された。次に、2-Aの菌株については、施設DとEが培地ⅡとⅣでの試験で感受性と判定している。さらに、2-B、4-A、4-Bの菌株については、培地Ⅳで試験した場合にのみ一部の施設でSRLと異なる成績が得られている。なお、今回の感受性試験では、SRLで感受性と判定された菌株が耐性と判定された事例は皆無であった。上述の成績を総括すると、表1に示すようであり、培地Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳの感度はそれぞれ81.4%、72.9%、98.6%および60%であり、培地Ⅲを除き90%以下の低い値であった。再現性はそれぞれ95.7%、92.9%、98.6%および91.4%であり、2培地では95%以下であった。一方、特異性は供試4培地のすべてで100%であった。

4. EB感受性試験

EB感受性については、培地Ⅰでの試験では施設AとBが各々3菌株、培地Ⅱでの試験では施設AとDが各々1菌株、培地Ⅲでの試験では施設Bが2菌株、および施設CとGが各々1菌株、さらに培地Ⅳでの試験ではすべての施設が1～4菌株についてSRLのそれとは異なる結果が得られた(表2)。これらの事例では、いずれも1つの組み合わせを除きSRLで感受性と判定した菌

株を耐性と判定していた。表1に示すように、供試4培地の感度はいずれも95%以上であったが、特異性は2培地(培地Ⅰ、Ⅳ)で95%以下であった。また培地Ⅳの再現性は90%以下で、他の培地の97%に比較してかなり低いものであった。

考 察

WHO/IUATLDは、2002年のSRLネットワークの会合で重要な抗結核剤中、なかんずくINHとRFPの感受性試験の感度、特異性、再現性を95%以上に保つことを目標にすることに決定した。培地Ⅰ、Ⅱ、Ⅲを供試してのINHとRFPの感受性試験では、それら試験精度のパラメーターのいずれもが100%であり、WHO/IUATLDの基準に適合していた。これに対して、培地Ⅳを供試した場合は、INH感受性試験の精度は100%であったが、RFP感受性試験の感度は95%以下と低かった。この場合、SRLと一致しない成績を報告したのは参加7施設の中の2施設であり、他の5施設からはSRLと同一の成績が報告された。このことは、培地Ⅳについてはこれまでも指摘されているように、この培地を用いての薬剤感受性試験の実施に当たっては、検査手技に熟練することが肝要であることを示している。

INHとRFPについてはほぼ良好な結果が得られたのに対して、SMとEBについては、SRLの成績との間に不一致例が多数見られた。SMの試験では不一致例のすべてがSRLで耐性と判定されていた菌株が感受性と判

表3 SM感受性試験でSRLと各施設の間の不一致例

セット (菌株名)	SRL ^a		培地	施設						
	S	R		A	B	C	D	E	F	G
1-A (W-11)	5	18	I	S	R	S	S	S	S	S
			II	S	S	S	S	S	R	S
			III	R	R	R	R	R	R	S
			IV	S	S	S	S	S	S	S
1-B (W-533)	4	19	I	S	R	R	S	S	S	S
			II	S	S	S	S	S	R	S
			III	R	R	R	R	R	R	R
			IV	S	S	S	S	S	S	S
2-A (W-54)	4	19	I	R	R	R	R	R	R	R
			II	R	R	R	S	S	R	R
			III	R	R	R	R	R	R	R
			IV	R	R	R	S	S	R	R
2-B (W-475)	2	21	I	R	R	R	R	R	R	R
			II	R	R	R	R	R	R	R
			III	R	R	R	R	R	R	R
			IV	R	S	R	R	S	R	R
4-A (W-145)	4	18	I	R	R	R	R	R	R	R
			II	R	R	R	R	R	R	R
			III	R	R	R	R	R	R	R
			IV	S	S	S	R	S	R	R
4-B (W-642)	4	18	I	R	R	R	R	R	R	R
			II	R	R	R	R	R	R	R
			III	R	R	R	R	R	R	R
			IV	S	S	R	S	S	S	R
9-A (W-386)	3	20	I	R	R	R	R	R	S	R
			II	R	R	R	S	S	R	S
			III	R	R	R	R	R	R	R
			IV	R	R	R	R	R	R	S
9-B (W-771)	2	21	I	S	R	R	R	R	R	R
			II	S	R	R	S	R	R	R
			III	R	R	R	R	R	R	R
			IV	R	R	R	R	R	R	R
合計不一致数 ^b				10	7	6	11	12	6	9

^aSRL：23のSRLの中で感受性(S)または耐性(R)と判定した施設数を表した。セット4の菌株については、1施設からの報告がなかった。

^b合計不一致数：SRLの成績と不一致の結果を報告した施設別合計数を表した。

定されていた。ところで、レーベンシュタイン・イエンセン(L-J)培地を用いる比率法の場合、SMの試験濃度は4 μ g/mlに設定されている。これに関連して、日本結核病学会薬剤耐性検査検討委員会では、委員の所属する3施設でL-J培地と1%小川培地による比較試験を実施した結果、L-J培地で用いているSMの試験濃度4 μ g/mlは1%小川培地で10 μ g/mlに相当することが分かり⁴⁾⁵⁾、新結核検査指針では、1%小川培地へのSMの添加濃度は、従来の20 μ g/mlの1/2濃度である10 μ g/mlに改められた。SMの感受性試験については多少異なる検査濃度を採用している国もあり、例えば、韓国ではL-J培地を用いているにもかかわらず10 μ g/mlを基準濃度としている。なお、今回の精度管理試験では、培地Ⅲを供試した場合に得られた判定結果はSRLの成績とほ

ぼ一致しており、このことは供試3培地で見られたSRLの判定成績との不一致例は検査に用いているSMの試験濃度の違いに起因したものではないことを示唆している。

EB培地での判定成績でのSRLのそれとの不一致例では、SRLで感受性と判定された菌株を耐性と判定していたものが大部分であった。感受性試験の感度については4培地とも問題なかったが、培地ⅠとⅣの特異性は95%以下であり、特に培地Ⅳの特異性は90%以下と低いものであった。EBとSMはSRL内でも成績のばらつきのある試験であるが、精度管理試験を繰り返す度にその精度は改善されてきている²⁾³⁾。因に、EBは静菌的作用を示す薬剤であり、接種菌の調製法や判定日などにより検査結果に影響がみられることが考えられるので、EB感

受性試験の実施に当たっては、こうした点にも留意する必要がある。

今回の精度管理の検討には、7施設が参加しているが、施設によりSMとEBの感受性試験でSRLの判定成績との間の一致率に差が見られた(表2)。SM試験の一致率は、高い施設の92.5%(74/80)から低い施設の85%(68/80)、また、EB試験の一致率も、高い施設97.5%(78/80)から低い施設の92.5%(74/80)と施設により開きがあった。今回の精度管理試験では、培地に添付されているマニュアルに従い薬剤感受性試験を実施しているが、参加施設により接種菌の調製法、接種菌量、判定などに微妙な違いがあり、結果としてこのような差が出たものと考えられる。特に培地Ⅳについてはこれまでも判定の難しさが指摘されてきているが⁷⁾⁸⁾、今回の成績はこれを追認するものである。なお、季節の変動や餌により卵の成分に差が出ることも予想されるところであり、薬剤感受性試験は微妙な検査であるので、こうした事情も念頭におき、今後同じ菌株を用い、時期を変えて製造ロットによる差をみるような精度管理試験を実施することも必要であろう。

その他の特記事項

今回の薬剤感受性試験を実施した各委員より寄せられた意見および特記事項、ならびにそれらに対する培地メーカー側からの回答は以下のとおりである。

(1) INH, RFPについては、いずれの培地も感度、特異性とも良好で特に問題はない。

(2) SM, EBについては、多くの培地ではSRLの成績との一致率が低く、特に、SMでは感度が低く、EBでは特異性が低い傾向が認められる。これには、検査を実施した者の手技の巧拙がかなり関係しているのではないかと。

(3) いずれの培地を使用するに当たっても、いかに均等菌液を調製するかが最も重要である。そういう観点からすると、接種菌は液体培地で培養したほうがよさそうである。ただし、液体培地発育菌を使用した場合は薬剤感受性に差が出る可能性もある。

培地メーカーからの回答：病院の臨床検査室などで培養陽性後ただちに菌の感受性試験が実施できる施設や、陽性検体を自動的に感受性試験に供することの可能な施設では、卵培地などの固形培地から直接菌液を調製するのが最も良い。しかし分離菌が古くなってしまった等の理由で再培養を要する場合には、卵培地でもよいが、菌液調製用の液体培地も推奨できる。なお、液体培地を用いての菌液調製について若干の検討を行ったところ、Tween 80が添加された液体培地でも結核菌のコード形成は避けられないという結果が得られており、少なくと

も1日1回の攪拌作業は必要であると考えられる。

(4) 普通法(試験管法)では、判定がしやすいという長所があるが、1検体の薬剤感受性検査に必要な培地数が多く、菌の接種操作や発育の有無の観察に非常に時間を費やすので、その点では利便性に劣ると言える。また、普通法の培地にはキャップがきつすぎるものがあった。また、培地Ⅱは横に寝かせて出荷されてくるので、凝固水が培地にしみ込んでしまっており、培地全面に接種菌液を広げるのに苦労した。これは使用2～3日前に立てておくことで解決するのかもしれない。他方、キャップの緩い培地もあったが、この場合は作業のしやすさには特に問題はないが、バイオハザードの点では問題がある。

(5) 培地Ⅲ：ほどほどのコンパクト性があり、菌の発育の有無の見極めがしやすく、判定もほとんど迷わずに可能であったが、少数発育菌のコロニーが小さい場合には発育しているかどうか見極め難い場合がある。また、この培地には、①菌接種時間を短縮できる、②判定時間が比較的短くて済む、③培養器のスペースをあまり必要としないなどの利点がある。

(6) 培地Ⅳ：現在、関西の検査室では、①コストが安い、②操作が簡便である、③コンパクトで場所を取らない、④色で判定するので見やすい、といった理由で、すでに半数の施設で培地Ⅳが使用されている。しかしながら、今回の成績からも明らかなように、培地Ⅳは、呈色が点状になる場合や、全体に薄く広がる場合、さらに色調が強い場合と弱い場合などとまちまちであり、判定に苦慮する場合が少なからずある。また、菌の発育量が多い時などには、呈色の色合いがはっきりしないために判定が困難なことが多く、特にSM, EBは判定しづらい。また、菌塊を接種してしまうと、それだけで呈色してしまうこともあり、判定ミスが起きやすく、さらに、判定時期が遅れた場合には感受性を耐性と判定する危険性が高い。こうしたことが原因してか、培地Ⅳでは成績がかなりばらつく傾向があり、再現性にもやや劣るようである。やはり、薬剤感受性試験においては、色での判定は問題があるのではないかと。また、添付マニュアルの判定基準の記述も不十分である。判定日については、被験菌の増殖速度の違いにより適宜変える必要があり、各自で被検菌ごとに最適なものを決めたほうがよい。また、培地Ⅳでは、検査者の技術の巧拙が成績を左右する傾向が強いので、特に初心者は注意が必要であり、そうした者にも正しい理解が可能なように、マニュアルを改訂する必要がある。

培地メーカーからの回答：培地Ⅳは、酸化還元呈色色素をもって菌の発育を検知しようとするものであるが、今回検討した菌株の中には、本呈色色素への反応性が弱

い菌株があった可能性が考えられる。また、供試菌株の中に薬剤感受性が耐性と感性のボーダーライン上にある菌株が含まれていたことも、今回の感受性試験での培地Ⅳの感度や一致率の低さの原因の一つとなったのではないかと考えられる。さらに、培地Ⅳの使用に当たっては、検査者が当該培地の使用法に習熟していることが望ましいので、臨床検査室への培地の導入に当たっては、培地メーカー側からの技術指導の徹底を図っているところである。

(7) 供試培地の中には、小型化を追求するあまり、かえって操作性に問題が生じてしまっているものもある。あまり小さな培地では、酸素量が少なく、培養結果にばらつきが生じやすいので、培地の微量化はほどほどにする必要がある。また、培地が少ないと、混合感染の場合にチェックが効かないことも考慮しておく必要がある。

謝 辞

今回の精度管理試験は一部日本結核病学会よりの資金援助を受けて実施されたものであり、また供試小川培地はすべて極東製薬工業株式会社、日本BCG製造株式会社、日水製薬株式会社のご厚意により分与を受けたものであります。ここに謝意を表します。

追記：詳細なデータの開示をご希望の方は、前抗酸菌検査法検討委員会委員長*までご連絡下さい。

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) Laszlo A, Rahman M, Espinal M, et al.: Quality assurance programme for drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* in the WHO/IUATLD Supranational Reference Laboratory Network: five rounds of proficiency testing, 1994-1998. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2002; 6: 748-756.
- 4) 日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会：抗酸菌検査の精度管理(1)市販培地の発育試験成績について。結核。2003; 78: 61-64.
- 5) 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.
- 6) 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2000」。結核予防会、東京、2000.
- 7) 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研判定の比較。結核。1996; 71: 267-276.
- 8) 平野和重、和田雅子、阿部千代治、他：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。結核。2001; 76: 461-471.

日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会

委員長 ○富岡 治明*

副委員長 ○阿部千代治

委員 飯沼 由嗣 ○小栗 豊子 鎌田 有珠 古賀 宏延
小林 和夫 斎藤 肇 竹山 博泰 長沢 光章
○長谷川直樹 ○樋口 武史 本田 芳宏 ○山崎 利雄
○和田 光一 (○は実験担当代表者)

肺非結核性抗酸菌症診断に関する見解—2003年

平成15年4月

日本結核病学会非定型抗酸菌症対策委員会

当委員会は1998年に「非定型抗酸菌症の治療に関する見解」¹⁾を発表し、同症の概論、本邦における現況、分離・同定上の注意、治療法についての詳細な解説を行った。しかし診断については、従来よりわが国で繁用されていた国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班の診断基準と1997年に発表された米国胸部学会(ATS)²⁾の診断基準を併記するにとどめた。本報告はこの「見解」を補う形で、わが国における新たな診断基準を提言するものである。重複を避けるため解説は必要最小限度にとどめたので、「治療に関する見解」との併読を推奨する。なお従来わが国では非定型抗酸菌との呼称が一般的であったが、現在世界的には nontuberculous mycobacteria (非結核性抗酸菌) と呼ばれるのが通常となっているため、本見解でも非結核性抗酸菌との呼称を使用することとした。また今後の使用の便宜を図るため、本見解が提案した新たな基準の呼称を「結核病学会基準」とする。

1. 新たな診断基準が必要な理由

従来本症は比較的まれな疾患で国立療養所等を中心とする結核専門施設で扱うことが多かったが、近年罹患率の相対的・絶対的増加が顕著であり、一般の医療機関で診断される例も増えている^{3)~5)}。特に肺 *Mycobacterium avium* complex (MAC) 症では従来の肺結核に類似した病型に代わり、基礎疾患の特にない中高年の女性に発症し、画像的にも中葉・舌区を中心に多発性の小結節や気管支拡張を示す症例が急増している^{6)~9)}。一方 High Resolution Computed Tomography (HRCT) や気管支鏡の普及および菌の分離・同定法の進歩により、本症の初期とも考えられる症例に接する機会も増えている。加えてクラリスロマイシンや新しいニューキノロン薬が開発され、本症を積極的に治療しようとする傾向も次第に強くなっている^{1) 2) 10)~13)}。以上の諸点より、新たな病型、特にその初期像にも対応し、また HRCT や気管支鏡所見も含み、広く呼吸器科医に理解されうる、新たな本症の診断基準が必要であると判断した。全く同じ必要性から ATS の新たな診断基準が1997年に発表されわが国でも既に広く普及しつつある。

2. 新たな診断基準の作成の基本的な考え方

国際的ハーモナイゼーションを考慮し、当診断基準も ATS の診断基準を基本的に踏襲している(表1)。ただし現行の ATS 診断基準の邦訳¹⁾は分かりにくく、かつ菌量の表示に日米間で若干の差がある点を考慮し修正し

た。米国の培養2+以上は100コロニー以上、塗抹2+以上はガフキー5号相当(簡易法では2+)以上となる¹⁴⁾。ただし肺 *Mycobacterium (M.) kansasii* 症については薬剤効果が高いうえに検体に混入する危険性が低いとの考えから^{1) 15) 16)}、その細菌学的基準を緩和することとした。また ATS の診断基準には合致しない肺野孤立結節例の診断基準を新たに定めた。

非結核性抗酸菌症の診断・治療に関しては世界的に臨床的エビデンスに乏しいのが現状である^{1) 2) 17)}。特に各国の治療ガイドラインはほとんどが試験管内もしくは動物実験からの判断か、少数例の臨床研究もしくはエキスパートオピニオンを根拠として作成されている。従って、本見解もレベルの高い臨床的エビデンスを根拠としている訳ではない。全国規模の臨床研究を実施しレベルの高い診断・治療のエビデンスを作成していくことが今後の重要な課題である。

3. 新たな診断基準利用の注意点

肺野孤立結節例(下記4.)を除き、表1の臨床的基準、画像的基準、細菌学的基準のすべてを満たす必要がる。白血病、悪性リンパ腫、臓器移植後、その他の免疫抑制療法を受けている等で全身性の免疫低下状態が疑われる場合、1回の気管支洗浄液で診断する場合の細菌学的基準が緩和されている点に注意されたい。また HIV 陽性で CD4 が200未満の場合、MACを除いて同様に緩和されている。これらの気管支洗浄液の細菌学的基準の緩和

表1 肺非結核性抗酸菌症の診断基準（結核病学会基準）

1. 臨床的基準

肺の慢性感染症に伴う典型的な症状（咳，喀痰，全身倦怠感，咯血，息切れ）や所見（発熱，体重減少，赤沈の亢進，CRPの増加等）のいずれかがあること，かつ症状や所見を呈しうる他疾患（結核，癌，真菌症，肺炎等）が否定できるあるいはそれらの疾患に適切な治療を行っても症状や所見が悪化すること

2. 画像的基準

- a) 胸部 X-P で多発性結節か空洞か2カ月以上続く浸潤影があること（1年以上前からある陰影では徐々に悪化していること）
- b) HRCT で多発性の小結節か肺野の小結節を伴うもしくは伴わない多発性の気管支拡張所見があること

3. 細菌学的基準

A) *M. avium* complex

- a) 1年以内で少なくとも3回の喀痰もしくは気管支洗浄液について
抗酸菌塗抹陰性の場合には培養陽性が3回，抗酸菌塗抹陽性の場合には培養陽性が2回
- b) 喀痰が得られず気管支洗浄液を1回採取できた場合
培養が100コロニー以上または塗抹が2+（ガフキー5号相当）以上
ただし HIV 陽性を除く全身性の免疫低下がある場合，上記基準の培養を50コロニー以上とする

B) *M. kansasii*

- a) 1年以内で少なくとも2回の喀痰もしくは気管支洗浄液の培養が陽性（菌量は問わず）
- b) 喀痰が得られず気管支洗浄液を1回採取できた場合で培養が陽性（回数・菌量は問わず）

C) その他の菌種

- a) 1年以内で少なくとも3回の喀痰もしくは気管支洗浄液について
抗酸菌塗抹陰性の場合には培養陽性が3回，抗酸菌塗抹陽性の場合には培養陽性が2回
- b) 喀痰が得られず気管支洗浄液を1回採取できた場合
培養が100コロニー以上，または塗抹が2+（ガフキー5号相当）以上
ただし全身性の免疫低下がある場合と HIV 陽性で CD4 < 200 の時は上記基準の培養を50コロニー以上とする

D) すべての菌種共通に下記条件のいずれかを満たした場合

- a) 気管支や肺の生検組織からの培養陽性（菌量問わず）
- b) 気管支や肺の生検組織に肉芽腫か抗酸菌が認められ，かつ喀痰または気管支洗浄液からの培養陽性（菌量問わず）
- c) 通常無菌部分（胸水，骨髓，血液，髄液等）からの培養陽性（菌量問わず）

4. 肺野孤立結節例

画像上の孤立結節を外科的に完全に切除した例で，組織が類上皮細胞肉芽腫でありかつ組織から病原性非結核性抗酸菌が培養された場合（菌量問わず），臨床的基準と画像的基準を満たさなくても例外的に肺非結核性抗酸菌症と診断してよい

注1：肺非結核性抗酸菌症の診断は肺野孤立結節手術例を除き，上記臨床的・画像的・細菌学的基準のすべてが満たされた場合のみ行う

注2：基準中 a) b) c) の各項目はいずれかを満足すればよい

は ATS の診断基準をそのまま踏襲している。ただし先述したとおり *M. kansasii* に関しては免疫低下状態の有無にかかわらず ATS と比べて細菌学的基準を大幅に緩和している。

1回の気管支洗浄液で診断する場合を除けば，診断に菌量は不要で液体培地のみでも診断可能である。結核と異なり非結核性抗酸菌症の診断において核酸増幅法はあくまで補助的検査であり¹⁸⁾，診断基準には含めないこととした。1回の気管支洗浄液で診断する場合，気管支鏡の汚染による偽陽性の危険性が常に存在するので，各施設で気管支鏡の洗浄の徹底と抗酸菌汚染の有無のチェックを定期的に行う必要がある。

わが国で肺感染症が報告されている病原性非結核性抗酸菌を表2に呈示した¹⁹⁾。他に北欧で多い肺 *M. mal-*

moense 症¹⁷⁾は今後わが国にも出現する可能性が高いと思われる。これらの菌種以外の非結核性抗酸菌が呼吸器検体から検出された場合，たとえ診断基準を満たしても肺感染症であると診断するにはより慎重な扱いが必要である。

肺結核治療中に喀痰より非結核性抗酸菌（多くは MAC）が検出されることが時々ある。この場合結核の治療をそのまま続けることで非結核性抗酸菌も消失することが多い^{20) 21)}。しかし一部症例では結核治療後非結核性抗酸菌症を発症することが経験されている。複数の菌種の非結核性抗酸菌を同時にまたは時期を隔てて検出することもまれではない。特に *M. avium* と *M. intracellulare* の混合排菌は時々認められる。また肺 MAC 症の治療後肺 *M. abscessus* 症や肺 *M. fortuitum* 症を発症する例が散

表2 わが国で肺感染症が報告されている病原性非結核性抗酸菌

しばしば認められる菌種

M. avium, *M. intracellulare*, *M. kansasii*

比較的まれに認められる菌種

M. abscessus, *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. szulgai*, *M. xenopi*,
M. nonchromogenicum, *M. terrae*, *M. scrofulaceum*, *M. goodii*,
M. simiae, *M. shimoidae*, *M. thermoresistibile*注：*M. avium*, *M. intracellulare* は性状が類似しており，一括して *M. avium* complex (MAC) と呼ぶことが多い見られる²²⁾。

たとえ肺非結核性抗酸菌症の診断基準を満たした場合でも，他の呼吸器疾患（特に肺がん）の合併には十分注意する必要がある。本症は肺結核と比べて陰影が多発性のことが多くまた化学療法の効果が弱いため，他疾患の合併の発見に時間がかかる恐れがある。

4. 肺野孤立結節例

症状がなく画像上孤立結節で肺がんの可能性も否定できないため外科的に切除したところ，組織が類上皮細胞肉芽腫でかつ組織から非結核性抗酸菌が培養されたという症例が報告されている^{23)~25)}。この場合臨床的基準と画像的基準に合致しないため，ATSの診断基準を満たさないことになる。旧来わが国で用いられてきた非定型抗酸菌症研究協議会の基準²⁶⁾はこのような場合にも対応しており，診断基準を満たすことになる。当基準ではこのような経過をたどった症例は例外的に診断基準を満たすことにする。なお気管支鏡下の生検やCTガイド下の生検のみで同様の所見を得た場合は他疾患（特に肺がん）の可能性を完全に否定できないため当診断基準には含めないこととした。今後米国の専門家との協議も含めてさらに検討が必要な事項である。外科的切除時塗抹検査と組織診のみ行い培養検査が実施されないと，菌種の同定ができずすべて結核と診断されることになってしまう。術後の化学療法の必要性の判断，また孤立結節型非結核性抗酸菌症診断基準の今後の改定のためにも切除組織の培養検査の重要性を重ねて強調しておきたい。

5. 診断基準と治療の適応，診断基準を満たさない例の扱い

肺非結核性抗酸菌症と診断された症例の中に，症状も少なく，無治療で数年経過観察しても画像上・臨床上増悪がほとんど見られないか自然軽快する例が存在することが報告されている^{2) 27)~29)}。このような観察および非結核性抗酸菌症の化学療法の効果が結核と比べて著しく劣る点より，特に肺 MAC 症では診断基準を満たした症例のすべてが薬剤治療の対象となる訳ではないとの考えが

わが国では一般的である²⁹⁾。しかし ATS の新しいガイドラインでは診断基準を満たした症例は基本的に化学療法を行うという方向性が打ち出されており，無治療の場合は頻回の経過観察を生計行うべきであるとされている²⁾。また英国胸部学会 (BTS) のガイドラインでも積極的な治療が勧められている¹⁷⁾。クラリスロマイシンや新しいニューキノロン薬等従来と比べて有効性の高い薬剤の相次ぐ開発により，非結核性抗酸菌症の化学療法は以前よりは積極的に施行するのが世界的な傾向となっている。70歳未満の症例は一度は化学療法を試みる，また70歳以上の症例では症状が強い・進行が速い場合に化学療法を行うというのが現状でのわが国でのコンセンサスと考えられるが，今後治療の適応に関して全国規模での臨床的検討を行い科学的に定めていく必要がある。特に肺 MAC 症では，従来の結核類似型の病型と近年増加している小結節・気管支拡張型の病型での臨床経過や治療効果の違いが報告されつつあり^{2) 13) 30)}，今後のさらなる検討が期待される。ただし肺 *M. kansasii* 症は無治療では悪化する例が多く化学療法の有効性が比較的高いため基本的に全例が治療の対象となる^{2) 29)}。

一方臨床的，画像的に非結核性抗酸菌症の可能性が高いと考えられても，喀痰の細菌学的基準のみ満たさない例も散見する。このような例は非結核性抗酸菌症の早期である可能性も高く，症例に応じて気管支洗浄や経気管支肺生検 (TBLB) を積極的に実施し，診断確定に努力すべきである。高齢，基礎疾患等で気管支鏡が困難な場合は，画像・喀痰検査を定期的に実施し，十分な経過観察を行うのがよい。

〔文 献〕

- 1) 日本結核病学会非定型抗酸菌症対策委員会：非定型抗酸菌症の治療に関する見解—1998年。結核。1998；73：599-605。
- 2) American Thoracic Society：Diagnosis and treatment of diseases caused by nontuberculous mycobacteria. Am J Respir Crit Care Med. 1997；156：s1-s25。
- 3) 国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班：日本における非定型抗酸菌感染症の研究 (国立療養所非定型抗酸菌

- 症共同研究班1983年報告). 結核. 1985; 60: 299-318.
- 4) 坂谷光則: 非定型抗酸菌の疫学. 日本胸部疾患学会雑誌. 1994; 32 (増刊号): 211-215.
 - 5) 鈴木克洋, 坂谷光則: 非定型抗酸菌感染症, 診断基準, 臨床疫学, 病態, 化学療法の領域. 2001; 17 (S-1): 195-201.
 - 6) 田中栄作, 網谷良一, 久世文幸: *M. avium* complex 症の臨床. 結核. 1993; 68: 57-62.
 - 7) Tanaka E, Amitani R, Niimi A, et al.: Yield of computed tomography and bronchoscopy for the diagnosis of *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med. 1997; 155: 2041-2046.
 - 8) 北原義也, 原田泰子, 原田 進, 他: 一次感染型 *Mycobacterium avium* complex 症の CT 上の分布とその特徴. 結核. 1997; 72: 173-180.
 - 9) 鈴木克洋, 田中栄作, 露口一成, 他: *M. avium* complex 症, 一次感染型を中心に. 化学療法の領域. 1999; 15: 689-694.
 - 10) 山本正彦, 久世文幸, 斎藤 肇, 他: *Mycobacterium avium-M. intracellulare* complex 肺感染症に対する Clarithromycin の臨床的検討. 結核. 1997; 72: 1-7.
 - 11) Tanaka E, Kimoto T, Tsuyuguchi K, et al.: Effect of clarithromycin regimen for *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med. 1999; 160: 866-872.
 - 12) 河原 伸, 多田敦彦, 永礼 旬: 諸種抗酸菌に対する ofloxacin, levofloxacin, ciprofloxacin, sparflaxacin の *in vitro* 抗菌活性の比較. 結核. 2001; 76: 357-362.
 - 13) 小橋吉博, 沖本二郎, 松島敏春, 他: ガイドラインに沿った肺 *Mycobacterium avium* complex 症の治療成績. 結核. 2002; 77: 435-441.
 - 14) Wallace RJ, Brown BA, Griffith DE, et al.: Initial clarithromycin monotherapy for *Mycobacterium avium-intracellulare* complex lung disease. Am J Respir Crit Care Med. 1994; 149: 1335-1341.
 - 15) 下出久雄: 非定型抗酸菌症の臨床的研究. 第16報. 17年間の国立療養所東京病院における *Mycobacterium kansasii* 症の臨床的研究. 日本胸部臨床. 1984; 43: 925-932.
 - 16) 水谷清二: 特に *M. kansasii* 症について. 化学療法の領域. 1999; 15: 728-732.
 - 17) Subcommittee of the Joint Tuberculosis Committee of the British Thoracic Society: Management of opportunistic mycobacterial infections: Joint Tuberculosis Committee Guidelines 1999. Thorax. 2000; 55: 210-218.
 - 18) Matsumoto H, Tsuyuguchi K, Suzuki K, et al.: Evaluation of Roche Amplicor PCR assay for *Mycobacterium avium* complex in bronchial washing. Int J Tuberc Lung Dis. 1998; 2: 935-940.
 - 19) 斎藤 肇: 非定型抗酸菌. 結核. 1988; 63: 667-676.
 - 20) Epstein MD, Aranda CP, Bonk S, et al.: The significance of *Mycobacterium avium* complex cultivation in the sputum of patients with pulmonary tuberculosis. Chest. 1997; 111: 142-147.
 - 21) Suzuki K, Kimoto T, Tsuyuguchi K, et al.: Modification of results of drug susceptibility tests by coexistence of *Mycobacterium avium* complex with *Mycobacterium tuberculosis* in a sputum sample: case report and experimental considerations. J Clin Microbiol. 1998; 36: 2745-2747.
 - 22) Griffith DE, Girard WM, Wallace RJ Jr.: Clinical features of pulmonary disease caused by rapidly growing mycobacteria. Am J Respir Crit Care Med. 1993; 147: 1271-1278.
 - 23) Gribetz AR, Damsker B, Kirschner P, et al.: Solitary pulmonary nodules due to nontuberculous mycobacterial infection. Am J Med. 1981; 70: 39-43.
 - 24) 村田嘉彦, 草島健二, 大石不二雄, 他: 肺に孤立性結節影を呈した *M. avium* complex 感染症の2例. 日胸疾会誌. 1993; 31: 1313-1316.
 - 25) 鈴木克洋, 橋本 徹, 田中栄作, 他: 左下肺野に孤立結節影で発見され肺癌が疑われた肺 *Mycobacterium avium* complex 症の1手術例. 結核. 1995; 70: 25-29.
 - 26) 非定型抗酸菌症研究協議会: 肺非定型抗酸菌症診断基準についての提案. 結核. 1976; 51: 61.
 - 27) Ahn C, McLarty JW, Ahn S, et al.: Diagnostic criteria for pulmonary disease caused by *Mycobacterium kansasii* and *Mycobacterium intracellulare*. Am Rev Respir Dis. 1982; 125: 388-391.
 - 28) 伊藤 穰, 望月吉郎, 中原保治, 他: “一次感染型肺 *Mycobacterium avium* complex 症”の胸部 CT 所見の変化についての検討. 結核. 1999; 74: 843-847.
 - 29) 倉島篤行: 化学療法の適応, 効果と判定基準, 新しい試み. 化学療法の領域. 2001; 17 (S-1): 215-223.
 - 30) 原田 進, 原田泰子, 落合早苗, 他: 肺 MAC 症の死亡例の検討—5年以上経過を観察した生存例と対比して—. 結核. 2002; 77: 709-716.

日本結核病学会非定型抗酸菌症対策委員会

委員長	坂谷 光則		
副委員長	倉島 篤行		
委員	荒井 秀夫	加治木 章	河原 伸
	岸 不盡彌	佐藤 滋樹	鈴木 克洋
	豊田恵美子	長谷 光雄	前倉 亮治