

肺結核診断時に必要な液体培地による喀痰培養検査の回数

¹伊藤 邦彦 ²青野 昭男 ³吉山 崇 ¹和田 雅子
³尾形 英雄

要旨：〔目的〕肺結核診断時に必要な液体培地による喀痰培養検査の回数について調査する。〔対象と方法〕2002年1月1日～2003年9月30日の期間に著者らの所属する病院を受診した者のうち、肺結核を強く疑う者すべてを対象とした前向き研究。これらの患者で診断時の連続検痰の各培養を原則的にそれぞれMGIT+小川培地（1本）の両者で行う。〔結果〕対象となった患者は喀痰結核菌培養陽性290例。このうち初回喀痰塗抹陽性例（n=210）ではMGITを3回行う場合、3回目の結核菌培養陽性率の増加は1.0%以下であり、2回のMGITで98.1%の症例で結核菌が検出可能であった。初回喀痰塗抹陰性例（n=80）では、MGITを3回行う場合でも3回目の結核菌培養陽性率の増加は5.0%以上であり、2回のMGITで結核菌が検出可能であるのは90.0%にすぎなかったが、これは従来の小川培地（2本）3回の培養検査での推定値（91.4%）とほぼ同等であった。〔考察と結論〕初回喀痰塗抹陽性例ではMGITによる喀痰培養は2回で十分であると推測された。初回喀痰塗抹陰性例ではMGIT使用の場合であっても3回目の喀痰培養検査の有用性は比較的高いと思われた。

キーワード：肺結核，診断，培養検査，小川培地，MGIT（Mycobacterium Growth Indicator Tube）

1. 背景と目的

従来から肺結核診断時の喀痰検査は3回が標準とされてきた。感度に優れる反面高コストであるMGIT（Mycobacteria Growth Indicator Tube/日本ベクトン・ディッキンソン社）等の液体培地が臨床に導入されてからも、肺結核診断時の3回の喀痰培養検査という方針はほとんどの臨床の現場で変わりなく採用され続けているように思われる。しかし私見の及ぶかぎり日本では、これら新たな培養検査法下における最適な検痰回数に関する検討は行われていない。また3回という検痰回数を堅持するにしても、このうちすべてで液体培地を用いるべきかについて検討するためのデータもなく、各医療機関が慣習にしたがって方針を決めているのが現状と思われる〔ちなみに、われわれの施設ではこれまで3回のうち2回をMGITで、1回を小川（2本）で行うことをルーティンとしてきた〕。これらの問題は包括的医療費支払制度（以

下DPC）導入後のことを考えた場合にも、一度検討しておかねばならない事項であろう。

本稿の第一の目的は、肺結核診断時において3回の検痰を行う方針を堅持した場合、このうちの何回をMGITによる培養（残りは小川培地とする）で行うべきかについて検討することである。あわせて、MGIT培養時に同時に小川培地を併用する意義についても検討した。これらのデータから肺結核診断時の検痰を原則2回とする可能性について考察することが第二の目的である。

2. 対象と方法

2.1. 調査内容と方針および対象

著者らの所属する結核病棟を有する病院（以下、当院）を2002年1月1日～2003年9月30日の間に受診した者で、肺結核を強く疑う者すべてを対象として診断時の連続検痰の各培養を原則的にそれぞれMGIT+小川培地（1本）の両者で行う前向きの検討で行った。分析対象

¹結核予防会結核研究所研究部，²結核予防会榎十字病院臨床検査科，³呼吸器科

連絡先：伊藤邦彦，結核予防会結核研究所研究部，〒204-8533 東京都清瀬市松山3-1-24（E-mail: ito@jata.or.jp）
（Received 5 Dec. 2005 / Accepted 9 May 2006）

となる検体は当院で培養検査が行われた喀痰のみとし(ネブライザー誘発喀痰や吸引痰を含む), 気管支鏡検体や胃液検体を除外する。対象検痰は最初の当院での検痰から数えて6回目までとした。検痰時にすでに7日ないしそれ以上の化学療法を受けた喀痰検査は除外した(中断日はカウントしない)。化学療法開始後6日以内の検痰では, MGITおよび小川培地での結核菌培養陽性率に対する化学療法剤の影響は無視しうるものと考えられる¹⁾。

塗抹および小川培地の施行と結果判定は基本的に結核病学会の推奨²⁾に従って行った。ただし前処理にはスプータザイムを併用した。MGITによる培養はBACTEC MGIT 960を用い, 日本ベクトン・ディッキンソン社による既定のマニュアルに従って行った。

重症度(排菌量)による結果の違いを検出するため, 症例は「初回喀痰塗抹陽性群」³⁾と「初回喀痰塗抹陰性群」に分けて検討した。

2.2. 培養結果の解釈と定義

MGITで雑菌汚染が起こった場合には再処理の有無やその結果に関係なくすべて「雑菌汚染」と判断する。小川培地では培養継続不能例(培地のくずれ)のみを雑菌汚染と定義する。

MGITないし小川培地で結核菌陰性とは, 上記の意味で雑菌汚染がなくかつ結核菌が検出されなかったものを指す。

小川培地の結果判定はすべて小川培地(1本)の結果を対象とする。小川培地(2本)が用いられている例で, 2本共に結核菌培養陽性ないし陰性のものはそのままを小川培地(1本)での結果とする。2本のうち1本が結核菌培養陽性で他の1本が陰性ないし雑菌汚染の場合, その患者の当院ID番号末尾数字が偶数であれば結核菌培養陽性を小川培地(1本)の結果とし, 奇数であればそれぞれ陰性ないし雑菌汚染を小川培地(1本)の結果とする。

2.3. 統計処理

培養陽性率の信頼区間は95%で判定し(以下95% CIとする), z 分布に従って計算した。

3. 結果

3.1. 対象の記述

当該前向き研究にエントリーされた症例は計685例であった。このうち67例は最終診断が非抗酸菌性肺炎患(肺炎, 肺癌, BOOP等)ないし正常もしくは診断不明, 101例は肺非結核性抗酸菌症, 14例は抗酸菌混合感染症, 12例は肺外結核のみ(喀痰陽性でも画像陰性であればこのカテゴリーに含め肺に陰影を有する粟粒結核は肺結核とする), 8例は慢性穿孔性膿胸合併肺結核であった。

これを順に除外し, 肺結核症例483例が残った。

さらに, すべての診断時検痰が化学療法開始後7日ないしそれ以降である(転院が主)もの78例, 菌陰性で臨床診断のみ21例, 前医でのみ培養陽性11例, 核酸増幅法のみ陽性1例, 胸水のみ結核菌陽性1例, 資料不備による詳細不明1例を順に除外して, 370例(初回320例, 再治療50例)の喀痰結核菌培養陽性肺結核が残った。

上記抗酸菌混合感染症(疑いを含む)14例中, 3例は非結核性抗酸菌のみの混合, 他の11例は結核と非結核性抗酸菌の混合であった。これは当該研究対象中の肺結核患者(穿孔性膿胸合併例を除く)494例(=483+11)の2.2%, 喀痰結核菌培養陽性肺結核患者381(=370+11)例中2.9%に相当する。

対象370例では, 1例あたりの診断時検痰回数は1~7回, 96.8%(358/370)で3回以上の検痰が施行されていた。対象370例で6回までの診断時検痰でかつ化学療法開始後6日以内の検痰は1197検体で, 検痰時の化学療法なし: 57.8%, 化学療法1~3日: 33.7%, 化学療法4~6日: 8.4%であった。1197検体中, 小川培地(2本)が用いられていた検体は92検体であり, 小川培地(1本)の結果を小川培地(2本)の結果に換算する際にはこれらの培養結果を基礎データとして用いた。

対象370例中検痰3回未満が18例, 初回から3回目までの喀痰培養検査のいずれかでMGITによる培養を行っていないものが58例, 初回から3回目までの喀痰培養検査のいずれかで小川培地による培養を行っていない4例を順に除外し, 残り290例(男217/女73, 年齢16~100歳/中央値61歳)での初回から3回目までの検痰結果(これらはすべて化学療法開始から6日以内の検痰であった)を最終的な分析対象とした。この290例すべては当院の喀痰検査で結核菌培養陽性が確認されている例であるが, このうち1例は喀痰結核菌培養陽性の確認が4回目以降の喀痰検査でなされている。290例の病型分布をTable 1に示す。これらの患者では初回から3回目までの3連続検痰すべてでMGITと小川培地が併用されておりいずれも化学療法6日以内の検痰であることになる。

3.2. 小川培地(1本)での陽性率の小川培地(2本)への変換

小川培地(2本)が用いられた92検体中(3.1.項), 62検体は2本とも結核菌培養陽性, 20検体は2本とも陰性ないし雑菌汚染, 9検体は結核菌培養陽性と陰性がそれぞれ1本, 1検体は結核菌培養陽性と雑菌汚染がそれぞれ1本であった。したがってこれら92検体が小川培地(1本)で行われた場合, 小川培地(2本)の結果のどちらかがrandomに小川培地(1本)の結果になるとすれば, 期待される「結核菌培養が確認できない検体(陰性

ないし雑菌汚染)」は $20 + (9 + 1) / 2 = 25$ 検体となる。これらに小川培地 (2 本) で培養を行った場合にはこのうちさらに 5 検体 ($5/25 = 20\%$ [以下 $0.2 = \alpha$ とする]) が結核菌培養陽性となることになる。

小川培地 (2 本) の片方のみで結核菌培養陽性となる上記 10 検体はすべて異なる症例から提出されており、このうち 2 例では他の検痰はない。1 例では他の 4 回の検痰での小川培地 (1 本) のうち 1 回のみ結核菌培養陽性、1 例では他の 2 回の検痰での小川培地 (1 本) のうち 1 回のみ結核菌培養陽性、4 例では他の小川培地 (1 本) のすべて (2 ~ 3 検体) で結核菌培養陽性が確認されていた。残り 2 例で他の小川培地 (1 本) のすべて (2 ~ 3 検体) で結核菌培養陰性であった。したがって 3 回の検痰を仮定した場合、上記 8 例で他の 1 回の小川培地 (1 本) で結核菌培養陽性となる確率は平均で $(0.25 + 0.5 + 1 \times 4) / 8 = 0.594$ (これを $\beta 1$ とする)、他の 2 回の少なくともどちらか一方の小川培地 (1 本) で結核菌培養陽性となる確率は $(0.5 + 1 \times 5) / 8 = 0.688$ ($\gamma 1$ とする) となる。

小川培地 (2 本) の片方のみで結核菌培養陽性であった場合、他の 1 回の小川培地 (2 本) で結核菌培養陽性となる確率を $\beta 2$ 、および他の 2 回の小川培地 (2 本) のうち少なくともどちらか一方の小川培地 (2 本) で結核菌培養陽性となる確率を $\gamma 2$ とする。小川培地 (2 本) における結核菌培養陽性率の過小評価を避けるため、他の 2 回の小川培地 (2 本) の少なくともどちらか一方で結核菌培養陽性となる場合にはどちらか一方でしか陽性にならないと仮定すると；

$$\beta 2 = \beta 1 + \alpha (1 - \beta 1)$$

$$\gamma 2 = \gamma 1 + \alpha (1 - \gamma 1)$$

3 回連続検痰での小川培地 (1 本) および小川培地 (2 本) による培養を仮定し、小川培地 (1 本) の 3 連続検痰での 1, 2, 3 回目の累積結核菌培養陽性率 (全体を 1 とする) を $A1, A2, A3$ 、これらを小川培地 (2 本) で行ったと仮定した場合に予想される累積結核菌培養陽性率を同様に $B1, B2, B3$ とする。小川培地 (2 本) における結核菌培養陽性率の過小評価を避けるため、2 ないし 3 回の検痰中複数回で小川培地 (1 本) 陰性が小川培地 (2 本) 陽性になる際にもこれらを重複してカウントするとすると、 $B1, B2, B3$ は過剰評価気味に以下のよう計算される；

$$B1 = A1 + \alpha (1 - A1)$$

$$B2 = A2 + \alpha (1 - \beta 2) \{(1 - A1) + (1 - A2)\}$$

$$B3 = A3 + \alpha (1 - \gamma 2) \{(1 - A1) + (1 - A2) + (1 - A3)\}$$

3.3. 様々な喀痰培養方針での結核菌培養陽性率

培養方法として小川 (1 本) のみ、MGIT のみ、MGIT

Table 1 Distribution of type and extent of pulmonary tuberculosis

Type of lesion on chest X-ray [#]	Extent of disease on chest X-ray [†]	Number of case
I	3	13
II	1	22
II	2	118
II	3	40
III	1	38
III	2	46
III	3	13
Total		290

[#] I = large cavity disease (area of total cavities are more than the area of lung area above the horizontal line of upper limit of anterior mediastinal-side 2nd rib. II = cavitory disease other than I. III = non-cavitory disease

[†] 1 = minimal extent disease (area of total tuberculosis lesions are less than the area of lung area above the horizontal line of upper limit of anterior mediastinal-side 2nd rib. 2 = more than 1, but less than 3. 3 = extensive disease (area of total tuberculosis lesions are more than one lung)

+小川 (1 本) の 3 種を考えた場合、3 回検痰の培養検査法の組み合わせは 27 通りとなる。当院における最初の喀痰集菌塗抹検査が陽性であった群 ($N=210$) と、陰性であった群 ($N=80$) に分けてこれら 27 通りの検痰を仮定した場合、および 3.2. 項の換算式を用いて小川培地 (2 本) で 3 連続検痰を行ったと仮定した場合の各回の結核菌培養陽性率を Table 2 と Table 3 に示す。表では、検痰を 2 回に限定した場合の各回の結核菌培養陽性率も下段に再掲した。以下では Table 2, 3 中の左側 2 つのコラムにある strategy no. (検痰方針 1 ~ 37) ないし、3 回検痰における MGIT の回数によってグループ化した数字 (group A ~ C) で各検痰方針を示す。

3.3.1. MGIT の回数

初回喀痰塗抹陽性の場合、group A ~ C での結核菌培養陽性率は平均でそれぞれ 99.5%, 99.5%, 99.3% とほとんど変わらず、MGIT を使用しない従来の小川培地 (2 本) 3 回の検痰方針 28 での推定値と 1% 前後の差を示した。

初回喀痰塗抹陰性例の場合 group A ~ C での結核菌培養陽性率は平均でそれぞれ 97.9%, 95.5%, 92.5% と MGIT の回数が減るに従い低下傾向を示し、MGIT を使用しない従来検痰方針 28 での推定値ではさらに約 1% の低下を示した。

どちらの群でも、用いる培地数/種類が同じであれば、各培養を用いる順序が、最終的な結核菌検出率に与える影響には一定の傾向が見出されない。

3.3.2. MGIT と小川培地の併用

初回喀痰塗抹陽性例では、MGIT の回数が同じ場合、MGIT 1 回にのみ同時に小川培地 (1 本) 併用を追加した

Table 2 Cumulative and incremental culture positive rate of 2 or 3 sputums by various culture strategy in first-sputum-smear positive cases (N=210)

Group	Strategy no.	Culture method*			1st		2nd			3rd			95% CI of total positive rate (%)	
		1st	2nd	3rd	No. of positive case	%	No. of positive case	Incre. rate (%) [#]	Cumu. +ve rate (%) [¶]	No. of positive case	Incre. rate (%) [#]	Cumu. +ve rate (%) [¶]	Lower limit	Upper limit
A	1	M+Og	M+Og	M+Og	200	95.2	209	4.3	99.5	210	0.5	100	—	—
	2	M	M+Og	M+Og	196	93.3	207	5.2	98.6	208	0.5	99.0	97.7	100
	3	M+Og	M	M+Og	200	95.2	208	3.8	99.0	210	1.0	100	—	—
	4	M+Og	M+Og	M	200	95.2	209	4.3	99.5	210	0.5	100	—	—
	5	M	M	M+Og	196	93.3	206	4.8	98.1	208	1.0	99.0	97.7	100
	6	M	M+Og	M	196	93.3	207	5.2	98.6	208	0.5	99.0	97.7	100
	7	M+Og	M	M	200	95.2	208	3.8	99.0	210	1.0	100	—	—
	8	M	M	M	196	93.3	206	4.8	98.1	208	1.0	99.0	97.7	100
	Group A/mean				198.0	94.3	207.5	4.5	98.8	209.0	0.7	99.5		
B	9	M+Og	M+Og	Og	200	95.2	209	4.3	99.5	209	0.0	99.5	98.5	100
	10	M+Og	Og	M+Og	200	95.2	209	4.3	99.5	210	0.5	100	—	—
	11	Og	M+Og	M+Og	193	91.9	208	7.1	99.0	210	1.0	100	—	—
	12	M+Og	M	Og	200	95.2	208	3.8	99.0	209	0.5	99.5	98.5	100
	13	M	M+Og	Og	196	93.3	207	5.2	98.6	207	0.0	98.6	97	100
	14	M+Og	Og	M	200	95.2	209	4.3	99.5	210	0.5	100	—	—
	15	M	Og	M+Og	196	93.3	207	5.2	98.6	208	0.5	99.0	97.7	100
	16	Og	M	M+Og	193	91.9	207	6.7	98.6	210	1.4	100	—	—
	17	Og	M+Og	M	193	91.9	208	7.1	99.0	210	1.0	100	—	—
	18	M	M	Og	196	93.3	206	4.8	98.1	207	0.5	98.6	97	100
	19	M	Og	M	196	93.3	207	5.2	98.6	208	0.5	99.0	97.7	100
	20	Og	M	M	193	91.9	207	6.7	98.6	210	1.4	100	—	—
	Group B/mean				196.3	93.5	207.7	5.4	98.9	209.0	0.6	99.5		
C	21	Og	Og	M+Og	193	91.9	204	5.2	97.1	210	2.9	100	—	—
	22	Og	M+Og	Og	193	91.9	208	7.1	99.0	208	0.0	99.0	97.7	100
	23	M+Og	Og	Og	200	95.2	209	4.3	99.5	209	0.0	99.5	98.5	100
	24	Og	Og	M	193	91.9	204	5.2	97.1	209	2.4	99.5	98.5	100
	25	Og	M	Og	193	91.9	207	6.7	98.6	208	0.5	99.0	97.7	100
	26	M	Og	Og	196	93.3	207	5.2	98.6	207	0.0	98.6	97	100
	Group C/mean				194.7	92.7	206.5	5.6	98.3	208.5	1.0	99.3		
	27	Og	Og	Og	193	91.9	204	5.2	97.1	205	0.5	97.6	95.5	99.7
	28	Og (2)	Og (2)	Og (2)	196.4	93.5	205.5	4.3	97.9	206.4	0.4	98.3	96.6	100
	29	M+Og	M+Og		200	95.2	209	4.3	99.5				98.5	100
	30	M	M+Og		196	93.3	207	5.2	98.6				97	100
	31	M+Og	M		200	95.2	208	3.8	99.0				97.7	100
	32	M	M		196	93.3	206	4.8	98.1				96.2	99.9
	33	M+Og	Og		200	95.2	209	4.3	99.5				98.5	100
	34	Og	M+Og		193	91.9	208	7.1	99.0				97.7	100
	35	M	Og		196	93.3	207	5.2	98.6				97	100
	36	Og	M		193	91.9	207	6.7	98.6				97	100
	37	Og	Og		193	91.9	204	5.2	97.1				95.8	99.4

*M=MGIT, M+Og: MGIT and Ogawa (1 slant) / combined use, Og=Ogawa (1 slant), Og (2): Ogawa (2 slant).

[#]incremental rate (%) [¶]cumulative positive rate (%)

Table 3 Cumulative and incremental culture positive rate of 2 or 3 sputums by various culture strategy in first-sputum-smear negative cases (N=80)

Group	Strategy no.	Culture method*			1st		2nd			3rd			95% CI of total positive rate (%)	
		1st	2nd	3rd	No. of positive case	%	No. of positive case	Incre. rate (%) [#]	Cumu. +ve rate (%) [¶]	No. of positive case	Incre. rate (%) [#]	Cumu. +ve rate (%) [¶]	Lower limit	Upper limit
A	1	M+Og	M+Og	M+Og	58	72.5	74	20.0	92.5	79	6.3	98.8	96.4	100
	2	M	M+Og	M+Og	54	67.5	74	25.0	92.5	79	6.3	98.8	96.4	100
	3	M+Og	M	M+Og	58	72.5	73	18.8	91.3	79	7.5	98.8	96.4	100
	4	M+Og	M+Og	M	58	72.5	74	20.0	92.5	78	5.0	97.5	94.1	100
	5	M	M	M+Og	54	67.5	72	22.5	90.0	78	7.5	97.5	94.1	100
	6	M	M+Og	M	54	67.5	74	25.0	92.5	78	5.0	97.5	94.1	100
	7	M+Og	M	M	58	72.5	72	17.5	90.0	78	7.5	97.5	94.1	100
	8	M	M	M	54	67.5	72	22.5	90.0	77	6.3	96.3	92.2	100
	Group A/mean				56.0	70.0	73.1	21.4	91.4	78.3	6.5	97.9		
B	9	M+Og	M+Og	Og	58	72.5	74	20.0	92.5	77	3.8	96.3	92.2	100
	10	M+Og	Og	M+Og	58	72.5	68	12.5	85.0	76	10.0	95.0	90.2	99.8
	11	Og	M+Og	M+Og	46	57.5	69	28.8	86.3	78	11.3	97.5	94.1	100
	12	M+Og	M	Og	58	72.5	73	18.8	91.3	77	5.0	96.3	92.2	100
	13	M	M+Og	Og	54	67.5	74	25.0	92.5	77	3.8	96.3	92.2	100
	14	M+Og	Og	M	58	72.5	68	12.5	85.0	75	8.8	93.8	88.5	99.1
	15	M	Og	M+Og	54	67.5	68	17.5	85.0	76	10.0	95.0	90.2	99.8
	16	Og	M	M+Og	46	57.5	68	27.5	85.0	78	12.5	97.5	94.1	100
	17	Og	M+Og	M	46	57.5	69	28.8	86.3	76	8.8	95.0	90.2	99.8
	18	M	M	Og	54	67.5	72	22.5	90.0	76	5.0	95.0	90.2	99.8
	19	M	Og	M	54	67.5	68	17.5	85.0	75	8.8	93.8	88.5	99.1
	20	Og	M	M	46	57.5	68	27.5	85.0	76	10.0	95.0	90.2	99.8
	Group B/mean				52.7	65.9	70.0	21.6	87.5	76.4	8.0	95.5		
C	21	Og	Og	M+Og	46	57.5	62	20.0	77.5	75	16.3	93.8	88.5	99.1
	22	Og	M+Og	Og	46	57.5	69	28.8	86.3	75	7.5	93.8	88.5	99.1
	23	M+Og	Og	Og	58	72.5	68	12.5	85.0	73	6.3	91.3	85.1	97.5
	24	Og	Og	M	46	57.5	62	20.0	77.5	73	13.8	91.3	85.1	97.5
	25	Og	M	Og	46	57.5	68	27.5	85.0	75	8.8	93.8	88.5	99.1
	26	M	Og	Og	54	67.5	68	17.5	85.0	73	6.3	91.3	85.1	97.5
	Group C/mean				49.3	61.6	66.2	21.1	82.8	74	9.8	92.5		
	27	Og	Og	Og	46	57.5	62	20.0	77.5	70	10.0	87.5	80.3	94.7
	28	Og (2)	Og (2)	Og (2)	52.8	66.0	65.4	15.8	81.8	73.1	9.6	91.4	85.3	97.5
	29	M+Og	M+Og		58	72.5	74	20.0	92.5				86.7	98.3
	30	M	M+Og		54	67.5	74	25.0	92.5				86.7	98.3
	31	M+Og	M		58	72.5	73	18.8	91.3				85.1	97.5
	32	M	M		54	67.5	72	22.5	90.0				83.4	96.6
	33	M+Og	Og		58	72.5	68	12.5	85.0				77.2	92.8
	34	Og	M+Og		46	57.5	69	28.8	86.3				78.8	93.8
	35	M	Og		54	67.5	68	17.5	85.0				77.2	92.8
	36	Og	M		46	57.5	68	27.5	85.0				77.2	92.8
	37	Og	Og		46	57.5	62	20.0	77.5				68.3	86.7

*M=MGIT, M+Og: MGIT and Ogawa (1 slant) / combined use, Og=Ogawa (1 slant), Og (2): Ogawa (2 slant).

[#]incremental rate (%) [¶] cumulative positive rate (%)

場合の結核菌培養陽性率の上昇は(検痰方針2-4〔結核菌培養陽性率の平均をとる/以下同様〕と1, 5-7と2-4, 8と5-7, 12-17と9-11, 18-20と12-17, 24-26と21-23, 30-31と29, 32と30-31, 35-36と33-34で比較)平均+0.5%であった。MGIT 2回にのみ小川培地(1本)併用を追加した場合(検痰方針と1と5-7, 2-4と8, 9-11と18-20, 29と32で比較)には+0.8%, MGIT 3回に小川培地(1本)併用を追加した場合には(検痰方針1と8)+1.0%となる。

初回喀痰塗抹陰性例では, MGITの回数が同じ場合, MGIT 1回にのみ同時に小川培地(1本)併用を追加した場合の結核菌培養陽性率の上昇は(検痰方針2-4と1, 5-7と2-4, 8と5-7, 12-17と9-11, 18-20と12-17, 24-26と21-23, 30-31と29, 32と30-31, 35-36と33-34で比較)平均+0.9%であった。MGIT 2回にのみ小川培地(1本)併用を追加した場合(検痰方針1と5-7, 2-4と8, 9-11と18-20, 29と32で比較)には+1.8%, MGIT 3回に小川培地(1本)併用を追加した場合には(検痰方針1と8)+2.5%となる。

3.3.3. 検痰3回目の結核菌培養陽性率増加

初回喀痰塗抹陽性例では, 3回目の検痰にのみMGITを行う検痰方針21, 24を除けば, 3回目の検痰による結核菌培養陽性率の増加は0.5~1.4%であり, ほとんどの検痰方針で1%以下であった。これは従来の小川培地(2本)3回の検痰方針28での推定値でも同じ(0.4%)である。

初回喀痰塗抹陰性例では, 3回目の検痰が小川培地(1本)のみで他の2回でMGITを使用している検痰方針9, 13, 18を除けば, 3回目の検痰による結核菌培養陽性率の増加は5.0~16.3%であった。この数値は3回ともMGITを使用するgroup Aでも5.0~7.5%であった。

3.3.4. MGITによる検痰2回方針

初回喀痰塗抹陽性例の場合, 検痰を2回とする検痰方針32(MGIT 2回)では98.1%の症例で結核菌を検出可能であった。これは従来の小川培地(2本)3回の検痰方針28での推定値(98.3%)とほとんど変わらない。2

回共にMGITと小川培地を併用する検痰方針29ではこの率は99.5%となる。

初回喀痰塗抹陰性例の場合, 検痰を2回とする検痰方針32(MGIT 2回)で結核菌を検出可能なものは90.0%であった。これは従来の3回小川培地(2本)の検痰方針28での推定値(91.4%)とほとんど変わらないが, MGITを3回使用するgroup Aと比較して6.3~8.8%の差があった。また最後だけ小川培地を用いる検痰方針18と比較した場合には5.0%の差があった。検痰方針32と比較して, 2回共にMGITと小川培地を併用する検痰方針29での結核菌培養陽性率は92.5%であった。

4. 考 察

4.1. 従来の検痰回数決定の基準

検痰回数を増加させれば, 検痰回数6~8回程度までは累積結核菌培養陽性率も上昇するとされている⁴⁾。しかし臨床ではこれまで重症度によらず肺結核診断時には3回の検痰を標準としてきた。これには効率(労力や経済的コスト)の問題が関与しているものと思われる。従来の小川培地(2本)による喀痰培養ではこれまで4回目の検痰を多くの場合行わなかった。この判断の基となっている日本でのデータは不明である。

しかし, 過去の寒天培地による報告⁴⁾や, レーベンシュタイン・イエセン培地での報告⁵⁾では, 4回の培養で菌陽性になった症例中4回目の検痰で初めて陽性になった症例はそれぞれ2.2%と1.9%とされている。これらの値がそのまま小川培地(2本)においても妥当なものであれば, すくなくとも従来はこの程度の累積陽性率の増加であれば無視しうる(さらなる検痰を妥当とするものではない)ものと考えていたことになるものと判断される。

4.2. 過去の報告

肺結核診断時の培養をBACTECによる液体培地で行った場合の累積培養陽性率に関する報告が海外で2つ報告されている⁶⁾⁷⁾。本調査の合計290例での結果(3回のMGITによる培養)とともにTable 4に示す(Table 4で

Table 4 Cumulative and incremental culture positive rate of 3 sputums by BACTEC culture system in previous report and this study

Reference	N	1st		2nd		3rd		No. of positive case	Incr. rate (%) [#]	Cumulative positive rate (%) [¶]
		No. of positive case	Cumulative positive rate (%) [¶]	No. of positive case	Incr. rate (%) [#]	Cumulative positive rate (%) [¶]	No. of positive case			
5)	120	80	66.7	113	27.5	94.2	120	5.8		100
6)	143	117	81.8	131	9.8	91.6	143	8.4		100
This study	285	250	87.7	278	9.8	97.5	285	2.5		100

[#] incremental rate (%)

[¶] cumulative positive rate (%)

の本調査の結果は3回のMGITのいずれかで陽性となった285例を100%としてある)。本調査では3回目の結核菌培養陽性率の増加が他よりも低いが、当院が結核病棟をもつ病院であり喀痰塗抹陽性患者が他の報告よりも多い可能性があり(本調査の1回目の結核菌培養陽性率は他より高い)、このことが関与しているのかもしれない。文献7)ではその題が示すように、感度の高い液体培地導入後も3回目の喀痰培養検査の必要性は減じないと結論している。

4.3. 初回喀痰塗抹陽性例での検痰

初回喀痰塗抹陽性の場合、3回検痰を原則とするのであればそのうちのMGIT施行回数(1~3回)によらず結核菌培養陽性率はほとんど変わらない(平均で99.3%~99.5%/3.3.1.項)。MGIT導入前の標準法である小川培地(2本)のみで3回の培養を行う場合の推定陽性率は98.3%とわずかに陽性率は低下する傾向にある。結核菌培養陽性までの日数を考慮すれば最低1回は液体培地での培養を行うべきであろうが、初回喀痰塗抹陽性例等の排菌量が多い症例であれば、培養陽性率の観点からはかならずしも3回すべてでMGITを施行する必要性はなさそうである。

3回目の検痰による喀痰結核菌培養陽性率増加はわずかであり、この観点からのみ見れば、従来の小川培地(2本)のみによる検痰方針を含めほとんどの検痰方針では、2回の検痰で十分である(4.1.項)。また最終的な結核菌培養陽性率からみても、2回の液体培地による培養であれば高い結核菌検出率を期待できる。もし感染性評価のための集菌塗抹検査も2回でよいとすれば⁸⁾、海外の一部の報告が提唱するように²⁾、初回喀痰塗抹陽性等の排菌量の多い患者では検痰自体も2回でよいことになる。

4.3. 初回喀痰塗抹陰性例での検痰

これらではMGITによる培養検査の回数が減れば結核菌培養陽性率も減少し、MGITが1回減ると陽性率は2.4~3.0%減少する(3.3.1.項)。この数値は、3回の検痰を原則とした場合に3回すべてをMGITで行うべきかどうかを判断する際には微妙なレベルであろう(上記4.1.項参照)。

3回目の検痰による結核菌培養陽性率の増加は5%以上と無視しえない数値であった。この数値は3回ともMGITを使用する検痰方針においても5.0~7.5%と比較的高い。したがってこの観点からは、初回喀痰塗抹陰性例等の排菌量の少ない症例においては液体培地を使用してもやはり3回の検痰が望ましいことになる。最終的な結核菌培養陽性率からみた場合、2回のMGITのみによる培養では結核菌検出率は90%程度にとどまり、3回目に小川培地(1本)のみを行った場合と比較した場合においてすら5%の差を生じる。

しかし2回のMGITのみによる培養での陽性率は、従来の3回の小川培地(2本)における推定値とほぼ同等である。従来の3回の小川培地(2本)での結核菌培養陽性率が十分に受容可能な水準だとする立場であれば、これらの初回喀痰塗抹陰性患者においても肺結核診断時の培養検査はMGITによる培養を原則として2回で十分との判断になる。逆に過去の小川培地(2本)による3回の培養検査感度は不十分でありコストを増加させてもできるだけ多くの結核患者から結核菌を検出するべきであるという立場をとれば、これらの患者ではMGIT等による培養を原則として今後も3回の検痰が推奨されることになる。

4.4. MGITへの小川培地併用の意義

われわれは以前、すでに検体ベースでのMGIT/小川培地(1本)併用の意義を結核菌検出率の観点から検討している⁹⁾。これによれば、MGITに小川培地(1本)を併用する意義はMGITで雑菌汚染をきたした場合のサルベージにあるが、MGITで雑菌汚染をきたした場合にMGIT再処理を原則としたほうが小川培地(1本)併用よりも低コストで済み、しかも最終的な結核菌培養陽性率が高いだろうという推測を得ている。本調査では、MGIT再処理をしないことを原則とした場合の、3連続検痰でのMGIT/小川培地(1本)併用の意義をあわせて調査した。

結核菌培養陽性率の観点からのみみた場合、MGITに小川培地(1本)併用を追加した場合の結核菌培養陽性率増加は0.5~2.5%でほとんどの場合2.0%以下(3.3.2.項)であった。3連続検痰での結核菌培養陽性率の観点からみた場合、MGITに小川培地(1本)を併用する意義はあまり大きくないようである(4.1.項参照)。

4.5. 本調査の限界

肺結核診断時にどのような培養検査(MGIT or 小川培地 or MGIT+小川培地)をそれぞれどれだけの回数を行うのがよいかは培養陽性率だけではなく、本調査で扱えなかった、①結核菌と非結核性抗酸菌との混合培養の問題、②MGIT雑菌汚染への対応法(MGIT再処理の是非)、③喀痰の質の問題、④結核医療における検痰コストの効率分析(特にDPC下での考察)、等とも密接にかかわりあう問題である。しかも本調査が単一施設での検討にすぎず、小川培地(1本)での結核菌培養陽性率を小川培地(2本)のそれに換算する変換法(3.2.項)や少数の例から計算された各変換係数値の妥当性も不明である。以上の限界を考慮すれば、本調査の結果のみから一律の結論を引き出しえないのは言うまでもない。しかし本調査の結果から、従来の3回検痰の方針について今後他施設/多施設での検討も含めて議論を重ね、今後の液体培地と小川培地の併用方法を含めた標準的検痰方針を決定し

ていく必要があることは明らかと思われる。

文 献

- 1) 伊藤邦彦, 青野昭男, 吉山 崇, 他: 肺結核の化学療法は検痰終了後に開始するべきか? 結核. 2005; 80: 735-741.
- 2) 日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会編: 「新結核菌検査指針2000」. 結核予防会, 2000, 東京.
- 3) Stone BL, Burman WJ, Hildred MV: The diagnostic yield of Acid-Fast-Bacillus smear positive sputum specimens. J Clin Microbiol. 1997; 35: 1030-1031.
- 4) Blair EB, Brown GL, Tull AH: Computer files and analyses of laboratory data from tuberculosis patients. II. Analyses of six years' data on sputum specimens. Am Rev Resp Dis. 1976; 113: 427-432.
- 5) Levy H, Feldman C, Sacho H, et al.: A reevaluation of sputum microscopy and culture in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. Chest. 1989; 95: 1193-1197.
- 6) Nelson SM, Deike MA, Cartwright CP.: Value of examining multiple specimens in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. J Clin Microbiol. 1998; 36: 467-469.
- 7) Harvell JD, Hadley WK, Ng VL: Increased sensitivity of the BACTEC 460 Mycobacterial radiometric culture system dose not decrease the number of respiratory specimens required for a definitive diagnosis of pulmonary tuberculosis. J Clin Microbiol. 2000; 38: 3608-3611.
- 8) 伊藤邦彦: 肺結核の感染性評価に必要な喀痰集菌塗抹検査の回数. 結核. 2006; 81: 357-362.
- 9) 伊藤邦彦, 青野昭男: 肺結核診断時の結核菌検出率から見た液体培地/小川培地併用の意義. 結核. 2006; 81: 401-405.

Original Article

NUMBER OF SPUTUM CULTURES BY MGIT SYSTEM NEEDED TO DIAGNOSE PULMONARY TUBERCULOSIS

¹Kunihiko ITO, ²Akio AONO, ³Takashi YOSHIYAMA, ¹Masako WADA, and ¹Hideo OGATA

Abstract [Purpose] To study the number of sputum cultures by MGIT system (Becton-Dickinson) needed to diagnose pulmonary tuberculosis.

[Object and Method] Prospective study of all patients who visited our hospital, and were strongly suspected of pulmonary tuberculosis during the period from Jan. 2002 to Sept. 2003. In these patients, 3 consecutive sputum cultures were done by both MGIT-system and egg-based Ogawa medium (1 slant).

[Results] Altogether 290 cases of sputum-culture positive pulmonary tuberculosis were available for analysis. In 210 first-sputum-smear positive cases, incremental yield of 3rd sputum culture in 3 consecutive MGIT cultures was equal to or less than 1.0% and 98.1% of culture positive cases were detected by 2 consecutive MGIT cultures. In 80 first-sputum-smear negative cases, incremental yield of 3rd sputum culture in 3 consecutive MGIT cultures was equal to or more than 5.0%, and 90.0% of culture positive cases were detected by 2 consecutive MGIT cultures. This detection rate was almost the same as the calculated detection rate (91.4%) by 3 con-

secutive Ogawa (2 slant) cultures (previous standard method).

[Conclusion] It was suggested that 2 consecutive sputum cultures by MGIT were sufficient to detect *M. tuberculosis* in first-sputum-smear positive cases, but 3 consecutive sputum cultures by MGIT were relatively useful in first-sputum-smear negative cases.

Key words: Pulmonary tuberculosis, Diagnosis, Culture, Ogawa medium, MGIT (Mycobacterium growth indicator tube)

¹Department of Research, Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association (JATA), ²Department of Clinical Laboratory, ³Department of Respiratory Medicine, Fukujiji Hospital, JATA

Correspondence to: Kunihiko Ito, Department of Research, Research Institute of Tuberculosis, JATA, 3-1-24, Matsuyama, Kiyose-shi, Tokyo 204-8533 Japan.
(E-mail: ito@jata.or.jp)