

バクテック MGIT 960 結核菌薬剤感受性検査用ミジットシリーズ (MGIT AST) および小川標準法によるイソニアジド低濃度薬剤感受性検査の判定不一致に関する検討

¹御手洗 聡 ³小林 郁夫 ³阿部千代治 ²和田 雅子
⁴鈴木 克洋 ⁵高嶋 哲也 ⁶川辺 芳子 ⁶町田 和子
⁷田野 正夫 ⁸瀧川 修一 ⁹鎌田 有珠 ¹⁰重藤えり子
¹¹藤井 俊司 ¹²森 健一 ¹³須山 尚史 ¹⁴矢野 修一
¹⁵川城 丈夫 ¹⁶尾形 英雄

要旨:〔目的〕INHの薬剤感受性検査について、BACTEC MGIT 960 結核菌薬剤感受性検査用ミジットシリーズ (MGIT AST) の精度を評価した。〔方法〕2002年に実施された入院時薬剤感受性調査株を使用し、小川標準法とMGIT ASTでINHの感受性検査を行った。結果は小川標準法を基準とし、感度、特異度、一致率、 κ 指数にて評価した。また、不一致例の臨床経過も検討した。〔結果〕最終的に1,109株を検討した。小川標準法に対するMGIT ASTのINH感度は100%、特異度は97.1%となり、一致率は97.3%、 κ 指数は0.798であった。不一致 (MGIT AST耐性・小川感受性) を示した30株 (2.7%) について、予後の明らかな11例で再発は認めなかった。初回治療例のINH耐性頻度はMGIT ASTで5.3%、小川標準法で2.7%であった。〔考察〕MGIT ASTによるINH感受性検査は、感度、特異度、一致率のすべてで95%を超えており、小川標準法に照らして十分な精度を有していた。しかし、MGIT ASTによるINH耐性頻度は小川標準法に比べて有意に高くなり、さらなる検討が必要である。
キーワード: 結核, 薬剤感受性検査, イソニアジド, 低濃度, MGIT AST

はじめに

結核の治療の要点は、有効な薬剤を3剤以上併用し、一定以上の期間確実に患者に投与することである¹⁾。投与した薬剤が有効であるか否かを判定するには、分離された結核菌について、薬剤感受性検査を実施することが最低限必要である。薬剤感受性検査の標準法は1%小川培地を用いた方法 (以下、小川標準法) であるが、通常結核菌の分離から結果を得るまでに1~2カ月を要し、

簡易法を用いても、検査期間を大幅に短縮することは不可能である。適切な治療のためには、可能なかぎり短期間で薬剤感受性検査結果を得ることが望ましく、米国CDCは検体採取から30日以内に薬剤感受性結果を報告するよう勧告している²⁾。この勧告を満たすことは、結核の有効な治療を保証することにもつながるため、検査期間の短縮は重要な課題である。

上記の要求による早期培養を実現するため、結核菌の薬剤感受性検査の方法として、近年液体培地を利用した

¹結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンスセンター細菌検査科, ²同研究部, ³日本ベクトン・ディッキンソン株式会社ダイアグノスティックシステム事業部, ⁴国立病院機構 (NHO) 近畿中央胸部疾患センター呼吸器科, ⁵大阪府立病院機構大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター結核内科, ⁶NHO東京病院呼吸器科, ⁷NHO東名古屋病院呼吸器科, ⁸NHO西別府病院呼吸器科, ⁹NHO札幌南病院呼吸器科, ¹⁰NHO東広島医療センター呼吸器科, ¹¹NHO山形病院呼吸器科, ¹²NHO東徳島病院呼吸器科, ¹³長崎市立病院成人病センター呼吸器科, ¹⁴NHO松江病院呼吸器科, ¹⁵NHO東埼玉病院呼吸器科, ¹⁶結核予防会複十字病院呼吸器内科

連絡先: 御手洗 聡, 結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンスセンター細菌検査科, 〒204-8533 東京都清瀬市松山3-1-24 (E-mail: mitarai@jata.or.jp)

(Received 29 Sep. 2006/Accepted 19 Dec. 2006)

BACTEC MGIT 960 (MGIT) が広く臨床応用されている。MGITを利用することにより分離培養期間が短縮され、さらにそのまま結核菌薬剤感受性検査用ミジットシリーズ (MGIT AST) を用いて薬剤感受性検査を行うことが可能であるため、その迅速性から大変に有用な方法である^{3)~5)}。しかし、一次抗結核薬であるイソニアジド (Isoniazid; INH) に対する感受性検査において、MGIT ASTと小川標準法 (0.2 $\mu\text{g/ml}$) との結果に不一致が認められることが報告されている。この結果の不一致は、MGIT AST耐性・小川感受性と判定されるものがほとんどであり、結核予防会複十字病院のデータでは、MGIT ASTにより INH耐性となった結核菌株の12.6%で小川標準法感受性であったと報告されており⁶⁾、国立病院機構東京病院からも同様の不一致が31.9%と報告されている⁷⁾。

MGITシステムは、検査の迅速化のうえで重要な方法である。INH使用の可否を決定するうえで非常に重要な INH低濃度 (0.2 $\mu\text{g/ml}$) における感受性検査結果の不一致について検討し、この不一致がもたらす臨床上的の問題点を評価することによって、MGIT ASTによる薬剤感受性検査の精度を再評価し、併せて臨床上的の有用性を判断することを目的として研究を実施した。

対象と方法

日本全国から無作為に結核菌株を収集し、それらに対して小川標準法と MGIT ASTの双方で INHの感受性検査を実施し、小川標準法による結果を基準として、各結果を比較することにより結核菌薬剤感受性検査としての MGIT ASTの精度を評価した。

(1) 菌株

2002年度に結核療法研究協議会 (療研) で実施した、結核菌の入院時薬剤感受性全国調査の際に全国から収集した結核菌3,127株のうち、12施設からの了解を得て、1,122株を対象に研究を開始した。対象施設は、地域的な偏りを最小とするよう、北海道から九州までを7つのブロックに区分し、それぞれの地域ごとに1~2施設を選定した。

(2) 薬剤感受性検査

小川標準法および MGIT ASTにより INHの薬剤感受性検査を実施した。小川標準法については、新結核菌検査指針2000に従った⁸⁾。すなわち、小川培地上に発育した結核菌を分散チューブ (ニチビー) にて分散させ、Middlebrook7H9培地中で OD値が約0.1となるまで培養して、接種用菌液の原液とした。これを冷滅菌蒸留水で100倍および10,000倍に希釈し、10,000倍希釈液の0.1 mlを対照培地に、100倍希釈液をもう1本の対照培地と、INH 0.2 $\mu\text{g/ml}$ および1.0 $\mu\text{g/ml}$ を含む1%小川培地に0.1

mlずつ接種した。接種した試験管は、斜面培地上にて37°Cで4週間培養し、比率法に基づいて1%を基準として耐性・感受性を判定した。

MGIT ASTについては、BACTEC MGIT 960結核菌薬剤感受性検査用ミジットシリーズの添付文書に従い、結核菌薬剤感受性用 MGITチューブに専用サプリメントと INHを添加した。INHの濃度は、通常の0.1 $\mu\text{g/ml}$ 以外に、小川標準法での高濃度 (1.0 $\mu\text{g/ml}$) に相当する0.4 $\mu\text{g/ml}$ を用いた。Middlebrook7H9培地で増菌培養後 McFarland 0.5に調整した菌液を冷滅菌蒸留水で5倍希釈し、INH添加 MGITチューブへの接種菌液とした。コントロール用 MGITチューブへの接種には、接種菌液を冷滅菌蒸留水でさらに100倍希釈したものを用いた。菌液を各 MGITチューブに0.5 ml接種後、直ちに MGIT 960全自動抗酸菌培養装置で培養を開始した。MGIT 960では、培養開始4日目より13日目までの間でコントロール用 MGITチューブ内の菌発育を示す蛍光強度が400を超えた時点で INH添加 MGITチューブの蛍光強度を測定し、被検菌の感受性を判定した。

(3) 臨床情報

小川標準法と MGIT ASTとの間で、INHの感受性検査結果に不一致を認めた株については、その結核菌を有していた患者の治療内容、経過、予後について情報を収集し、判定の不一致による不利益の有無を検討した。

(4) 結果の解析

小川標準法および MGIT ASTによる比率法での薬剤感受性結果について、小川標準法を基準として MGIT ASTの感度、特異度、一致率および κ 指数を計算した。感度とは、小川標準法で耐性と判定した株を正しく耐性と判定する割合であり、特異度とは小川標準法で感受性と判定した株を正しく感受性と判定する割合を示す。一致率とは感受性・耐性を合わせた全体での判定一致の割合である。 κ 指数は判定の一致の程度を示す指標の一つであり、偶然の一致以上に結果が一致しているかどうかを判定するのに有用である。Landisらによると $0 \leq \kappa \leq 0.2$ はごく軽度の一致、 $0.2 < \kappa \leq 0.4$ は軽度の一致、 $0.4 < \kappa \leq 0.6$ は中等度の一致、 $0.6 < \kappa \leq 0.8$ は高度の一致、 $0.8 < \kappa$ はほぼ完全な一致とされる⁹⁾。なお、INHの耐性・感受性の判定については、小川標準法では0.2 $\mu\text{g/ml}$ での判定を、MGIT ASTの場合は0.1 $\mu\text{g/ml}$ での判定を基準とした。

結 果

(1) 小川標準法による INH感受性検査結果

検査対象とした1,122株のうち、13株については発育不良のため除外し、最終的に1,109株に対する検討となった。小川標準法0.2 $\mu\text{g/ml}$ (低濃度) による検査では、

Table Comparative drug susceptibility results of Ogawa and MGIT 960

Methods	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)			Results				
Ogawa	0.2	R	R	S	R	R	S	S
	1.0	R	S	S	R	S	S	S
MGIT960	0.1	R	R	R	R	R	R	S
	0.4	R	R	R	S	S	S	S
No. of strains		46	11	1	1	7	29	1,014

R: Resistant, S: Susceptible

1,044株 (94.1%) が感受性, 65株が耐性 (5.9%) であった。また, 0.2 $\mu\text{g/ml}$ で耐性であった65株のうち, 47株 (72.3%) が1.0 $\mu\text{g/ml}$ (高濃度) でも耐性であった。

(2) MGIT ASTによる INH 感受性検査結果

MGIT AST 0.1 $\mu\text{g/ml}$ (通常法) については, 95株 (8.6%) が耐性, 1,014株 (91.4%) が感受性であった。また, 95株中58株 (61.1%) が0.4 $\mu\text{g/ml}$ (高濃度) についても耐性と判定された。

(3) 小川標準法を基準とした MGIT AST の結果

MGIT ASTによる感受性結果を小川標準法と比較すると, Tableのようになった。INH耐性基準濃度に関して, 小川標準法・MGIT ASTともに耐性となったのは65株 (5.9%) であり, 共に感受性となったのは1,014株 (91.4%) であった。1,109株中30株 (2.7%) がMGIT AST耐性・小川感受性であった。基準濃度について, MGIT AST感受性・小川耐性となった株は認められなかった。小川標準法に対するMGIT ASTの感度は100% (65/65), 特異度は97.1% (1,014/1,044) となり, 一致率は97.3% (1,079/1,109) であった。 κ 指数は0.798となった。

(4) MGIT AST耐性・小川標準法感受性と判定された症例の臨床経過

MGIT AST耐性・小川感受性となった30株のうち, 19株について患者の臨床情報が得られた。患者は男性11名, 女性8名で, 年齢は53.5 \pm 22.5 (30~87) であった。19名のうち6名が死亡していたが, 死亡していたのはすべて72歳以上 (72~86) であり, 6名中5名は治療開始から3カ月以内 (27~87日) に死亡しているうえ, 少なくとも小川標準法でリファンピシン (RFP) およびエタンブトール (EB) に耐性の結核菌は存在せず, 結核の薬剤耐性は死因に直接関係ないと考えられる症例であった。

生存例で治療経過が確認されている症例は9例であった。6例では追加薬剤等なく, 標準療法に準ずる形でINHを治療期間中継続して使用していた。このうち2例はINH, RFP, EBおよびピラジナミド (PZA) による6カ月標準療法を実施しており, 2例は標準療法を3カ月延長し9カ月治療している。また1例は維持期を9カ月

継続し, 1例はINH, RFP, EBの3剤併用療法で15カ月治療していた。1例を除いて, いずれも治療後191~753日間 (平均516日) 経過観察されているが, 一例も再発は認められていない。一方, INHを投与しながら, 新たにニューキノロン剤を追加投与している症例が3例あったが, これについても348~1,005日間 (平均571日) の経過観察にて再発を認めていない。

4例の転医例のうち, 2例は転医先でも再発はないと報告されているが, 1例は状況不明である。1例は転医先で老衰のため死亡している。

考 察

結核菌薬剤感受性検査を実施するうえで液体培地を使った高感度培養法は迅速性の点で有用である¹⁰⁾。本邦でもMGITシステムの利用は拡大しており, 2002年度の療研サーベイランスでは参加99施設中31施設が分離培養にMGITを使用していた¹¹⁾。当時薬剤感受性検査にMGIT ASTを使用していたのは4施設にすぎなかったが, 2005年の日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会による薬剤感受性検査外部精度評価では参加66施設中10施設がMGIT ASTを使用しており¹²⁾, 迅速な薬剤感受性検査法として拡がりつつあると思われる。

INHの薬剤感受性検査において, 1%小川培地による標準法とMGIT ASTによる迅速法との間で, 12.6%に不一致が認められることが複十字病院から報告されている⁶⁾。同様の結果の不一致は2005年の日本結核病学会で他の施設からも報告されており⁷⁾, これらはMGIT ASTにて先にINH耐性と判定され, 後日小川標準法 (あるいは小川培地による簡易法) にて感受性と判定されたという経過である。この結果の不一致について, 検査精度上の観点から解決する必要があるものと考えられた。

2002年度結核療法研究協議会 (療研) による「結核菌の入院時薬剤感受性全国調査」において全国より収集された結核菌について, 療研共同研究施設の許可を受けたうえで1,109株に関してMGIT ASTおよび小川標準法による比較を行ったところ, 小川標準法を基準とした場合, MGIT ASTの最終的な感度は100%, 特異度は97.1%, 一

致率97.3%となり、すべての評価基準で95%を超えていた。TortoliらはMGIT ASTと、米国における標準法である¹³⁾ BACTEC 460TBによる結核菌の薬剤感受性検査結果を比較し、MGIT ASTにおいて耐性の過大評価傾向があることを指摘しているが、検査法としては精度に差がないことを報告している¹⁴⁾。また、長谷川らは52株の臨床分離結核菌株を用いてMGIT ASTと小川標準法を比較しており、MGIT AST耐性・小川感受性の傾向とともに92.3%の一致率があることを報告しており¹⁵⁾、同様に富田らは臨床分離結核菌15株についてINH感受性検査結果の一致率が100%であると報告している¹⁶⁾。さらに、今回の結果は小川標準法に対するピットスペクトルSR (感度83.9%, 特異度98.4%, 一致率97.6%) やウエルバックS (感度79.6%, 特異度99.2%, 一致率98.3%) と比較しても遜色ない結果であり¹⁷⁾、薬剤感受性検査法として良好な成績と考えられた。また、 κ 指数も0.798であり、ほぼ完全な一致を示すものと考えられた。

現在、日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会は、世界保健機関(WHO)と結核肺疾患予防連合(IUATLD)が指定するSupra-National Reference Laboratories (SRLs)での精度管理に使用され、薬剤感受性が既知となっている結核菌株を用いて、薬剤感受性検査の外部精度評価を行っている¹⁸⁾。同じ精度管理に使用された菌株を用いたMGIT ASTの薬剤感受性検査精度管理に関する報告では、MGIT ASTのINH感受性検査結果に関する感度、特異度、一致率は100%と報告されている¹⁹⁾。これは、外部精度評価上も、MGIT ASTが十分な検査精度を備えていることを保証しているものと考えられる。

試験結果の臨床的影響については、例数が少ないものの、MGIT AST耐性であったが小川標準法の結果が感受性であったことに従って標準的な治療を行った場合は、特に予後に影響はないものと考えられた。また、今回INHを治療から外した例は見られなかったが、MGIT ASTによりINH耐性菌と判定されて治療内容からINHを除外したとしても、臨床的な治療経過に与える影響は治療期間の延長のみであり、治療効果としてはほぼ同等の効果が得られることが示されており^{20)~22)}、検査の迅速化が与える利益に鑑みて、現状2.7%存在する小川標準法との不一致は治療効果に影響を及ぼさないと結論された。

今回の検討でも、これまでの報告と同様に、MGIT ASTにてINH耐性と判定された結核菌株95株のうち、小川標準法で30株が感受性と判定され、不一致率は31.6% (30/95)となった。小川標準法0.2 $\mu\text{g/ml}$ とMGIT AST 0.4 $\mu\text{g/ml}$ との結果を比較すると、この場合の不一致は1株のみとなるが、一方でMGIT AST感受性・小川標準法耐性となる株が8株発生することになる。従っ

て、MGIT ASTにおいてINH感受性判定濃度が0.1 $\mu\text{g/ml}$ と設定されていることがMGIT AST耐性・小川感受性となる主因と考えられる。また、このことからINHについてMGIT AST耐性・小川感受性となる結核菌株については、感受性として一致する株に比べて最小発育阻止濃度(MIC)が高い傾向にあることが予想され、実際にわれわれは不一致が認められた株にBrothMIC MTB-Iにて判定保留となるMIC 1.0~2.0 $\mu\text{g/ml}$ の株が多く認められることを報告しており、INH低濃度耐性を支配するといわれている*inhA*のプロモーター領域でのC→T変異も同定している⁹⁾。これらの株が、治療の結果として将来的に小川標準法でもINH耐性を示すようになるのかは不明であるが、臨床的には興味ある問題である。

さらに今回検討したすべての株の感受性検査結果を疫学的にみると、MGIT ASTの結果をもって薬剤感受性検査の結果とした場合、INHの耐性頻度は8.6%となり、小川標準法を用いた場合の5.9%に比べて有意に高くなる($p=0.017$)。また初回治療患者での耐性頻度はMGIT ASTと小川標準法でそれぞれ5.3%と2.7%となり、有意差を認めた($p=0.005$)。このことは将来的にMGIT ASTが薬剤感受性検査の主流となった時、INH耐性頻度を評価するうえで大きな影響を与える可能性を示している。INH耐性が4.0%を超えている地域では、初回治療を必ず4剤で開始するよう米国CDCは勧告しており、標準療法の内容にも影響を与えることが考えられる。

小川標準法とMGIT ASTとのINH感受性検査結果の不一致について、検査精度と臨床の双方の観点から検討した。結果として、通常小川標準法よりも早く結果が判明するMGIT ASTの感受性検査結果を、小川標準法の結果を待たずに、そのまま利用することに検査精度上も臨床上も問題はないと考えられた。しかしながら、疫学的にはINH耐性頻度を有意に増加させ、治療内容の選択に影響を及ぼす可能性があり、今後も引き続き検討が必要と考えられる。

謝 辞

この研究において、日本ベクトン・ディッキンソン株式会社ダイアグノスティックシステム事業部の手塚隆善氏にご協力頂きました。深謝申し上げます。

文 献

- 1) 倉澤卓也：日本結核病学会治療委員会「見直し」声明の背景と要点. 新しい結核医療の基準 平成16年改正. 結核予防会, 東京, 2004.
- 2) Tenover FC, Crawford JT, Huebner RE, et al.: The resurgence of tuberculosis: is your laboratory ready? J Clin Microbiol. 1993; 31: 767-770.

- 3) Tortoli E, Cichero P, Piersimoni C, et al.: Use of BACTEC MGIT 960 for recovery of mycobacteria from clinical specimens: multicenter study. *J Clin Microbiol.* 1999; 37: 3578-3582.
- 4) 鈴木克洋, 露口一成, 松本久子, 他: Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) による結核菌迅速薬剤感受性検査. *結核.* 1997; 72: 187-192.
- 5) 阿部千代治, 青野昭男, 平野和重: BACTEC MGIT 960 システムによる結核菌の迅速薬剤感受性試験: 固形培地を用いる比率法との比較. *結核.* 2001; 76: 657-662.
- 6) 御手洗聡: 抗酸菌検査法の臨床への応用 液体培地や遺伝子を用いた新しい薬剤感受性試験. *結核.* 2004; 79: 169.
- 7) 川辺芳子, 鈴木純子, 倉島篤行, 他: MGIT による薬剤感受性検査と標準法の比較. *結核.* 2005; 80: 251.
- 8) 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: 第7章精度管理. *結核予防会.* 2000, 100-102.
- 9) Landis JR, Koch GG: The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics.* 1977; 33: 159-177.
- 10) Johansen IS, Thomsen VO, Marjamaki M, et al.: Rapid, automated, nonradiometric susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* complex to four first-line antituberculous drugs used in standard short-course chemotherapy. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004; 50: 103-107.
- 11) 御手洗聡 (結核療法研究協議会): 2002年度療研結核菌薬剤耐性全国調査報告 (1). *結核.* 2005; 80: 288.
- 12) 御手洗聡: 結核菌とくに薬剤感受性検査の精度管理に関する研究. 小児結核及び多剤耐性結核の予防, 診断, 治療における技術開発に関する研究; 平成17年度総括・分担研究報告書. 2006; 171-191.
- 13) NCCLS: Susceptibility testing of *Mycobacteria*, *Nocardia*, and other aerobic *Actinomycetes*; Approved Standard. NCCLS document M24-A, 2003.
- 14) Tortoli E, Benedetti M, Fontanelli A, et al.: Evaluation of automated BACTEC MGIT 960 system for testing susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to four major antituberculosis drugs: comparison with the radiometric BACTEC 460 TB method and the agar plate method of proportion. *J Clin Microbiol.* 2002; 40: 607-610.
- 15) 長谷川美幸, 三次典男, 小山悦子, 他: 液体培地を用いた自動結核菌感受性測定法に関する検討 従来法および NCCLS 法との比較. *日本化学療法学会雑誌.* 2004; 52: 371-375.
- 16) 富田元久, 竹野 華, 鈴木克洋, 他: バクテック MGIT 960 による薬剤感受性検査における接種菌量の検討と検査の再現性. *結核.* 2004; 79: 625-630.
- 17) 大友幸二 (結核療法研究協議会): 2002年度療研結核菌薬剤耐性全国調査報告 (2). *結核.* 2005; 80: 288.
- 18) 御手洗聡 (日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会): 検査センターを対象とした結核菌薬剤感受性試験外部精度アセスメント. *結核.* 2005; 80: 349-358.
- 19) 小林郁夫, 阿部千代治, 御手洗聡: 結核菌薬剤感受性検査のための BACTEC MGIT 960 AST の評価: 外部精度管理菌株を用いた研究. *結核.* 2006; 81: 57-62.
- 20) Mitchison DA, Nunn AJ: Influence of initial drug resistance on the response to short-course chemotherapy of pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis.* 1986; 133: 423-430.
- 21) Hong Kong Chest Service/British Medical Research Council: Five-year follow-up of a controlled trial of five 6-month regimens of chemotherapy for pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis.* 1987; 136: 1339-1342.
- 22) Zierski M: Prospects of retreatment of chronic resistant pulmonary tuberculosis patients. A critical review. *Lung.* 1977; 154: 91-102.
- 23) 山根誠久, 一山 智, 河原 伸, 他: Middlebrook 合成培地での抗酸菌薬剤感受性試験 (第3報): 微量液体希釈法を原理とする BrothMIC MTB の多施設間評価—施設間再現性と Agar Proportion 法との判定互換性の解析. *臨床病理.* 1999; 47: 754-766.
- 24) American Thoracic Society: Treatment of Tuberculosis and Tuberculous Infection in Adults and Children. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994; 149: 1359-1374.

Original Article

COMPARATIVE STUDY OF BACTEC MGIT 960 AST AND CONVENTIONAL PROPORTION METHOD USING OGAWA MEDIUM FOR THE DRUG SUSCEPTIBILITY TESTING OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* TO ISONIAZID

¹Satoshi MITARAI, ³Ikuo KOBAYASHI, ³Chiyoji ABE, ²Masako WADA, ⁴Katsuhiro SUZUKI,
⁵Tetsuya TAKASHIMA, ⁶Yoshiko KAWABE, ⁶Kazuko MACHIDA, ⁷Masao TANO,
⁸Shuichi TAKIGAWA, ⁹Arisu KAMADA, ¹⁰Eriko SHIGETOH, ¹¹Shunji FUJII, ¹²Kenichi MORI,
¹³Hisashi SUYAMA, ¹⁴Shuichi YANO, ¹⁵Takeo KAWASHIRO, and ¹⁶Hideo OGATA

Abstract [Objective] To evaluate the accuracy of drug susceptibility testing to isoniazid with BACTEC MGIT 960 (MGIT AST) comparing with the standard proportion method using Ogawa medium.

[Method] A total of 1,109 *M. tuberculosis* strains, which were selected from the collection of RYOKEN drug resistance survey in 2002, were selected and subjected to the susceptibility testing to isoniazid using MGIT AST and 1% Ogawa standard methods. The results from MGIT AST were compared with the judicial diagnosis by Ogawa. The sensitivity to detect drug resistance, the specificity for susceptible strain, the efficiency of overall agreement, and kappa coefficient were calculated to evaluate the performance. The treatment process, outcome and prognosis were analysed for the patients on whom the tests showed discrepant results.

[Results] Compared with the judicial results, the sensitivity, specificity, efficiency, and kappa coefficient of MGIT AST were 100%, 97.1%, 97.3%, and 0.798, respectively. The strains, which showed discrepant results between MGIT AST and Ogawa, were all susceptible by Ogawa and resistant by MGIT AST. A total of 11 out of 30 discrepant cases were followed clinically and no relapse cases were identified, irrespective of the modification of the treatment regimen. As for the proportion of primary INH drug resistance in the present study, it was 5.3% with MGIT AST but was 2.7% with Ogawa, and the difference was statistically significant ($p=0.005$).

[Discussion] The discrepancies on the results of drug susceptibility testing of *M. tuberculosis* strains to isoniazid between MGIT AST and 1% Ogawa proportion method have been reported. In the present study, the sensitivity, specificity, and overall efficiency of MGIT AST on the prevalent strains in Japan were all beyond 95%, and considered sufficient as the anti-tuberculosis drug susceptibility testing (AST), though

2.7% of discrepancy was observed. Even for the discrepant cases, there was no difference in the treatment outcome and prognosis. Thus, MGIT AST was confirmed as a reliable AST method comparable to Ogawa standard. However, MGIT AST might increase the proportion of INH resistance if it was used as a major AST method, compared with Ogawa.

Key words: Tuberculosis, Anti-tuberculosis drug susceptibility testing, Isoniazid, Low concentration, MGIT AST

¹Bacteriology Division, Mycobacterium Reference Centre, and ²Research Division, Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association (JATA), ³Diagnostic Systems, Nippon Becton Dickinson Company Ltd. ⁴Respiratory Medicine, National Hospital Organization (NHO) Kinki-chuo Chest Medical Center, ⁵Tuberculosis Medicine, Osaka Prefectural Medical Center for Respiratory and Allergic Diseases, ⁶Respiratory Medicine, NHO Tokyo National Hospital, ⁷Respiratory Medicine, NHO Higashi Nagoya National Hospital, ⁸Respiratory Medicine, NHO Nishibeppu National Hospital, ⁹Respiratory Medicine, NHO Sapporo Minami National Hospital, ¹⁰Respiratory Medicine, NHO Higashihiroshima Medical Center, ¹¹Respiratory Medicine, NHO Yamagata National Hospital, ¹²Respiratory Medicine, NHO Higashitokushima National Hospital, ¹³Respiratory Medicine, Nagasaki Municipal Medical Center, ¹⁴Respiratory Medicine, NHO Matsue National Hospital, ¹⁵Respiratory Medicine, NHO Higashisaitama National Hospital, ¹⁶Respiratory Medicine, Double-barred Cross Hospital, JATA

Correspondence to: Satoshi Mitarai, Bacteriology Division, Mycobacterium Reference Centre, Research Institute of Tuberculosis, JATA, 3-1-24 Matsuyama, Kiyose-shi, Tokyo 204-8533 Japan. (E-mail: mitarai@jata.or.jp)