

ラインプローブ法による抗酸菌同定および結核菌薬剤感受性判定の臨床評価

¹松本 智成 ²尾形 英雄 ³豊田恵美子 ⁴鈴木 克洋
⁵斎藤 武文 ⁶藤田 明 ⁷末竹 寿紀 ⁸近松 絹代
⁸水野 和重 ⁸御手洗 聡

要旨：〔背景〕多剤耐性結核（MDR-TB）や超多剤耐性結核（XDR-TB）は治療が困難なことから問題とされているが、結核菌の薬剤感受性検査は培養株が得られてから3～4週間を要するため、迅速な検出方法が求められている。〔目的〕今回、菌種同定と薬剤感受性試験を同時に実施できる新規ラインプローブアッセイ（LiPA；ニプロ株式会社）の評価を行った。〔対象と方法〕臨床検体163例を収集し、LiPAにて菌種同定、結核菌群RFP, INH, PZA, LVFX感受性判定を行った。〔結果〕臨床検体から直接検出するうえで十分な感度で結核菌、*Mycobacterium avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*の同定が可能であることが確認できた。また、結核菌における薬剤感受性についてはINH感受性では一部の検体で乖離した結果となったが、RFP, PZA, LVFXについては全て一致した結果であった。〔考察〕LiPAによる迅速な菌種同定と薬剤耐性判定は、適切な薬剤による治療の早期開始と感染リスクの予防に有用と考えられる。

キーワード：多剤耐性結核、迅速診断、ラインプローブアッセイ

はじめに

結核は、全世界の人口の3分の1が感染し、毎年920万人が発病し、毎年170万人の患者が亡くなる世界最大の感染症である¹⁾。日本において結核の発生者数は緩やかに減少しているが、世界的に見るとアジア、アフリカを中心に増加している。その要因となっているのがHIV/AIDSと多剤耐性結核（MDR-TB）である。

MDR-TBとは、結核治療に重要なイソニアジド（isoniazid; INH）とリファンピシン（rifampicin; RFP）の2剤に少なくとも耐性である結核菌の総称である。最近、超多剤耐性結核（XDR-TB）が問題になっているが、XDR-TBとは、INH, RFPのほかにフルオロキノロン系（fluoroquinolones; FQ）ならびにアミノグリコシド系を中心とする注射剤に耐性のMDR-TBである。MDR-/XDR-TBは、治療の失敗によってつくられるのみならず、感染拡大もする。2011年3月に医療機関におけるXDR-TBの集団感

染が国内で初めて報告された。従って、MDR-/XDR-TBを迅速に診断し感染対策を行うことが重要である。しかしながら現在、通常結核菌の薬剤感受性検査は結果が判明するまでに早くとも1カ月の期間を要しており、結核菌の薬剤耐性遺伝子変異を早急に検出し対応できる方法が必要になっている。また、抗酸菌排菌患者の結核症疑いに対する、結核感染対策としての隔離入院は、患者個人の貴重な時間を束縛するのみならず医療経済上も大きな負担である。迅速に結核症を否定し非結核性抗酸菌症と診断することにより、不必要な結核隔離入院を回避できることは医療経済上、そして患者の人権上有用である。

近年、結核菌の薬剤耐性に関与する遺伝子が明らかになってきており、RFP耐性結核菌では約95%が*rpoB*遺伝子に変異があることが知られている^{2)~4)}。INH耐性に関与する遺伝子には複数の報告があり、なかでも*katG*遺伝子や*inhA*遺伝子のプロモーター領域の変異が高頻度

¹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、
²結核予防会複十字病院、³国立病院機構東京病院、⁴国立病院機構近畿中央胸部疾患センター、⁵国立病院機構茨城東病院、
⁶東京都保健医療公社多摩北部医療センター、⁷ニプロ株式会社、
⁸結核予防会結核研究所

連絡先：松本智成、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、〒583-8588 大阪府羽曳野市はびきの3-7-1 (E-mail: tom_matsumoto@sutv.zaq.ne.jp)
 (Received 15 Jun. 2012/Accepted 15 Oct. 2012)

でみられる^{5)~7)}。ピラジナミド (pyrazinamide; PZA) 耐性結核菌では *pncA* 遺伝子に、FQ 耐性結核菌では *gyrA* 遺伝子に変異があることが知られている^{8)~10)}。

これらの薬剤耐性遺伝子に加えて新たな遺伝子領域を追加したラインプローブアッセイ (LiPA) に基づいた新しい遺伝子変異検出キット (ニプロ株式会社) が開発され、今回、臨床上の有用性を確認するために臨床検体を用いた試験を行った。

方 法

(1) 供試検体

2009年7月から2010年4月までに結核予防会複十字病院、国立病院機構 (NHO) 東京病院、NHO近畿中央胸部疾患センター、NHO茨城東病院、東京都立多摩総合医療センターならびに大阪府立呼吸器・アレルギー医療センターにて、結核患者94名、*Mycobacterium avium* 症患者20名、*M. intracellulare* 症患者14名、*M. kansasii* 症患者11名、その他の非結核性抗酸菌症患者3名および陰性対照者21名の計163名から採取された臨床検体163例を収集した。収集した検体は全て結核予防会結核研究所に送付され、結核菌検査指針2007に従って塗抹検査実施後、N-アセチルL-システイン・水酸化ナトリウム (NALC-NaOH) 処理を行った。

(2) 同定と培養および薬剤感受性検査

結核菌群の検出としてコバス アンプリコア マイコバクテリウム ツベルクローシス (ロシュ・ダイアグノスティクス; 以下、PCR法) を行い、コバス アンプリコ

ア マイコバクテリウム アビウム・イントラセルラー (ロシュ・ダイアグノスティクス; 以下、PCR法) にて *M. avium* および *M. intracellulare* の検出を行った。同定しえなかった検体はDDHマイコバクテリア '極東' (極東製薬工業) を用い、必要に応じて16S rRNAのシーケンズ解析を行った¹¹⁾。

また、培養は2%小川培地ならびにBDバクテック MGIT 960 (日本ベクトン・ディッキンソン) を用い、培養陽性となった検体はキャピリアTB (日本ベクトン・ディッキンソン) にて結核菌の確認を行った。結核菌の薬剤感受性試験はRFP、INHおよびレボフロキサシン (Levofloxacin; LVFX) に対しては1%小川培地を用い、PZAに対してはMGITシリーズ ピラジナミド (日本ベクトン・ディッキンソン) を用いた。

(3) ラインプローブアッセイ

ラインプローブアッセイ (LiPA) はニプロ株式会社が開発した以下の4種のストリップ (Fig.) を用いた¹²⁾。すなわち、NTM/MDR-TBストリップでは *M. tuberculosis*、*M. avium*、*M. intracellulare* および *M. kansasii* の菌種同定、結核菌群 *rpoB* 遺伝子の検出および結核菌群 *inhA*、*katG* 遺伝子の検出を行い、INHストリップでは結核菌群 *inhA*、*fabG1*、*furA* および *katG* 遺伝子の検出を行い¹³⁾、PZAストリップでは結核菌群 *pncA* 遺伝子の検出を行い¹⁴⁾、FQストリップでは結核菌群 *gyrA* 遺伝子の検出を行った¹⁵⁾。

結 果

(1) 菌種同定

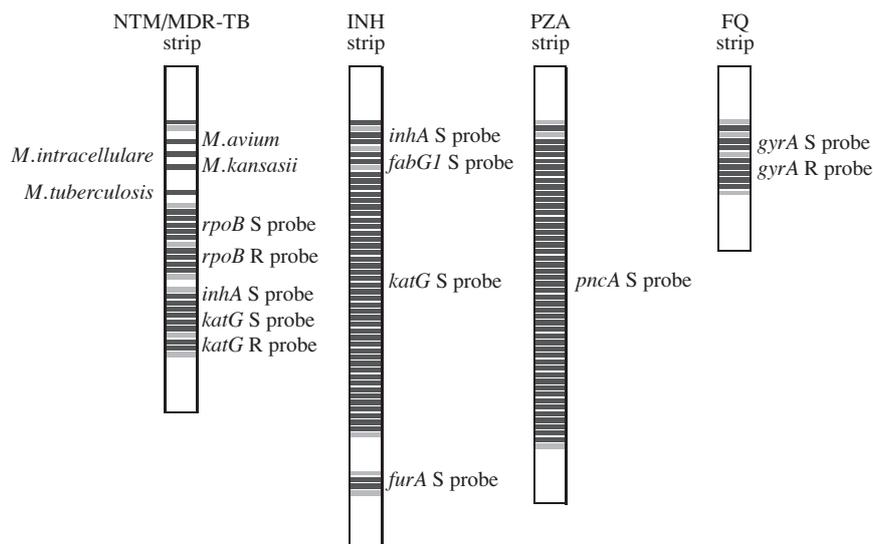


Fig. Design of NTM/MDR-TB strip, INH strip, PZA strip and FQ strip.

S probes are designed to detect the wild-type sequence of *M. tuberculosis*, whereas R probes are designed to detect the mutant sequence frequently found in drug-resistant *M. tuberculosis*.

NTM: nontuberculous mycobacteriosis MDR-TB: multi-drug resistant tuberculosis
INH: isoniazid PZA: pyrazinamide FQ: fluoroquinolone

Table 1 LiPA results with NTM/MDR-TB strips for detection of TB, *M. avium*, *M. intracellulare* and *M. kansasii* compared to smear, culture and PCR tests

Smear result	n	LiPA		Culture		PCR	
		Positive	Negative	Positive	Negative	Positive	Negative
3+	18	18	0	18	0	18	0
2+	44	44	0	35	9	41	3
1+	17	11	6	8	9	13	4
±	15	10	5	6	9	6	9
Negative	45	26	19	20	25	18	27
Total	139	109	30	87	52	96	43

LiPA: line probe assay PCR: polymerase chain reaction

NTM/MDR-TB ストリップでは *M. tuberculosis*, *M. avium*, *M. intracellulare* および *M. kansasii* を検出する。喀痰検体163例のうち検出対象となる菌種を含む139例について、塗抹検査成績と比較したものを Table 1 に示す。塗抹検査2+以上の陽性例では全例検出されたが、1+, ±ではそれぞれ17例中6例、15例中5例が陰性となった。また、塗抹陰性例では45例中19例が陰性となったが、26例は陽性となり、菌種を特定することが可能であった。全139例では109例(78.4%)が陽性となり、菌種も全て一致した。また、この139例で培養陽性およびPCR陽性となったのは87例(62.6%)、96例(69.1%)であった。

(2) 薬剤感受性検査

①リファンピシン (RFP)

結核患者から採取した臨床検体94例のうち、NTM/MDR-TB ストリップを用いたLiPAによるRFP感受性判定がなされたのは81例であった。一方、培養陽性となり、RFP感受性検査結果が得られたのは59例であった。LiPAおよび培養の両方でRFP感受性結果が得られた55例の結果を比較すると、3例が *rpoB* 変異型すなわちRFP耐性、52例が *rpoB* 野生型すなわちRFP感受性と判定され、RFP感受性検査の結果と比較して感度・特異度共に100%であった (Table 2A)。

②イソニアジド (INH)

NTM/MDR-TB ストリップを用いたLiPAでは75例がINH感受性の判定がなされ、このうちの52例については培養陽性となりINH感受性検査結果が得られた。INH耐性であった6例はLiPAでは3例が変異型すなわちINH耐性と判定されたが、3例は野生型すなわちINH感受性と判定された(感度50%)。INH感受性であった46例中45例はLiPAでINH感受性と判定されたが、1例はINH耐性と判定された(特異度97.8%) (Table 2A)。

また、INH ストリップおよびINH感受性検査の両方で結果が得られた46例では、INH耐性であった4例についてLiPAでは3例がINH耐性と判定されたが、1例はINH感受性と判定された(感度75%)。INH感受性42例では

Table 2 Results of LiPA for drug susceptibility with NTM/MDR-TB strips (A), INH strips (B), PZA strips (C) and FQ strips (D)

Drug susceptibility test result		n	LiPA result with NTM/MDR-TB strip	
			Mutation	Wild type
RFP	Resistant	4	3	0
	Susceptible	55	0	52
INH	Resistant	7	3	3
	Susceptible	52	1	45
RFP: rifampicin				
Drug susceptibility test result		n	LiPA result with INH strip	
			Mutation	Wild type
INH	Resistant	7	3	1
	Susceptible	52	3	39
Drug susceptibility test result		n	LiPA result with PZA strip	
			Mutation	Wild type
PZA	Resistant	5	4	0
	Susceptible	53	0	52
Drug susceptibility test result		n	LiPA result with FQ strip	
			Mutation	Wild type
LVFX	Resistant	7	7	0
	Susceptible	52	0	48
LVFX: levofloxacin				

LiPAで39例がINH感受性と判定され、3例がINH耐性と判定された(特異度92.9%) (Table 2B)。

NTM/MDR-TB ストリップはINH感受性判定プローブ8本であるのに対し、INH ストリップはINH感受性判定プローブ46本を備えており、NTM/MDR-TB ストリップでは検出しない変異を検出することが可能である (Fig.)。それぞれのストリップおよびINH感受性検査の判定結果が一致しなかった乖離例を Table 3 に示す。

③ピラジナミド (PZA)

PZA ストリップを用いたLiPAによる感受性判定がなされたのは76例であった。一方、培養陽性となり、PZA

Table 3 Discrepant results between *in vitro* INH susceptibility test and LiPA with NTM/MDR-TB strips or INH strips

Sample No.	INH susceptibility test result	LiPA result for INH susceptibility		Mutation
		NTM/MDR-TB strip	INH strip	
10	Resistant	Wild type	$\Delta katG-39$	<i>katG</i> T2093C
80	Resistant	Wild type	$\Delta katG-37$	<i>katG</i> G1795T
148	Resistant	Wild type	Wild type	<i>katG</i> T571C, G1079A
8	Susceptible	$\Delta inhA-S6$	$\Delta inhA-2$	<i>inhA</i> C-15T
78	Susceptible	Wild type	$\Delta fabG1-1$	<i>fabG1</i> G609A
144	Susceptible	Wild type	$\Delta fabG1-1$	<i>fabG1</i> G609A

感受性検査結果が得られたのは58例であった。LiPAおよび培養の両者でPZA感受性結果が得られた56例の結果を比較すると、4例が*pncA*変異型すなわちPZA耐性、52例が*pncA*野生型すなわちPZA感受性と判定され、PZA感受性検査の結果と全て一致した（感度・特異度共に100%）（Table 2C）。

④レボフロキサシン（LVFX）

FQストリップを用いたLiPAによる感受性判定がなされたのは77例であった。一方、培養陽性となり、LVFX感受性検査結果が得られたのは59例であった。LiPAおよび培養の両者でLVFX感受性結果が得られた55例の結果を比較すると、7例が*gyrA*変異型すなわちFQ耐性、48例が*gyrA*野生型すなわちFQ感受性と判定され、LVFX感受性検査の結果と比較して感度・特異度共に100%であった（Table 2D）。

考 察

結核菌検査のゴールドスタンダードは、塗抹検鏡、培養検査であり、菌株から得られた薬剤感受性試験である。しかしながら抗酸菌、特に結核菌の場合は培養に日数を要し、そこから得られる薬剤感受性試験の結果は、固形培地で約2カ月、液体培地でも約1カ月を要する。XDR-TBの集団感染が報告された現在において迅速に感受性を判定できることは重要である。また、喀痰塗抹陽性患者の場合に非結核性抗酸菌症であるか結核症であるかの迅速な判断が必要とされる。

本邦で検出される非結核性抗酸菌では*M. avium*, *M. intracellulare*および*M. kansasii*の3菌種が主要なものであり、非結核性抗酸菌の約90%を占める¹⁶⁾。結核菌を含めたこれらの4菌種139例について培養陽性87例（62.6%）、PCR陽性96例（69.1%）に対し、LiPAでの陽性は78.4%（109/139）であった。LiPAでは死菌も検出されうるが、今回の培養検査については検体収集から保管・移送の影響があった可能性が考えられ、また、PCR法では*M. kansasii*が検出対象外であることから単純な比較はできないが、PCRおよび培養いずれかの方法で陽性となった検体は80.6%（112/139）（data not shown）であり、

LiPAは臨床検体から直接検出するうえで十分な検出感度であった（Table 1）。

LiPAにより判定することができたRFP、PZAおよびLVFX薬剤感受性については、培養による感受性検査の結果と全例一致しており（Table 2）、臨床検体からの直接検出であっても陽性であれば正しく薬剤感受性を判定できることが確認された。今回収集した臨床検体からは薬剤耐性結核菌数は少ないが、RFP耐性菌の約95%が*rpoB*遺伝子に^{4) 10)}、PZA耐性菌の72~95%が*pncA*遺伝子に^{10) 17) 18)}、FQ耐性菌の75~94%が*gyrA*遺伝子に変異をもっていることが知られており^{10) 19)}、LiPAを用いることで同様の感度で臨床検体から迅速に薬剤感受性を判定できると考えられる。

INH耐性結核菌で高頻度に見られる変異は*katG*遺伝子の315番目のSerに該当する部位であり、次いで*inhA*遺伝子上流-15番目および-8番目の変異が知られている^{10) 20) 21)}。この領域を標的としたNTM/MDR-TBストリップではINH耐性菌の3例は耐性と正しく判定されたが、3例では変異が検出されず感受性と判定された（Table 2A）。感受性と判定された3例はいずれも検出領域外の*katG*遺伝子に変異があることが確認されており、そのうち2例はINHストリップで変異が検出され、INH耐性と判定された（Table 3）。また、*inhA*遺伝子上流C-15Tの変異をもつ1例は、NTM/MDR-TBストリップ、INHストリップどちらも変異を検出しているが、感受性検査では感受性と判定された。*inhA*遺伝子上流域の変異をもつ場合は最小発育阻止濃度（MIC）が低いことが知られている²²⁾。さらにINHストリップではINH感受性と判定された検体の中に*fabG1*遺伝子変異を2例で検出している（Table 3）。*fabG1*遺伝子G609A変異は*inhA*遺伝子上流域の変異と同程度にMICが低いと考えられる。

RFP耐性の場合、他の薬剤にも耐性である場合が多い^{23) 24)}。NTM/MDR-TBストリップは頻度の高いINH耐性変異を検出するが、RFP耐性・INH感受性と判定された場合、より多くの変異を検出するINHストリップを用いることでINH耐性変異を検出できる可能性がある。

MDR-TBでは治療が困難で予後は不良である。治療開

始と感受性試験結果が得られるまでにタイムラグがあるため、薬剤耐性遺伝子を検査することで迅速に感受性を判定することは、適切な薬剤を選択するうえ、ならびに迅速な感染対策を行ううえで重要な情報となりうる。

喀痰塗抹検査にて陽性であった場合に、結核症を念頭におき隔離入院が行われる。抗酸菌排菌NTM症患者に対する念のための感染対策上の結核隔離入院は、患者個人の貴重な時間を束縛するのみならず医療経済上も大きな支出である。このNTM/MDR-TBストリップにより迅速に結核症を否定し非結核性抗酸菌症と診断することで、不必要な結核隔離入院を回避でき、医療経済上、患者の人権上において恩恵を得られる可能性が十分に考えられる。

謝 辞

喀痰検体の保存ならびに薬剤耐性遺伝子の検出は厚生労働科学研究費補助金（グラント番号：H21-新興-一般-008 および H24-新興-一般010）の一部で実施した。

文 献

- 1) WHO: Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. WHO Report 2008. 2009.
- 2) Telenti A, Imboden P, Marchesi F, et al.: Detection of rifampicin-resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis*. Lancet. 1993 ; 341 : 647-650.
- 3) Rossau R, Traore H, De Beenhouwer H, et al.: Evaluation of the INNO-LiPA Rif. TB assay, a reverse hybridization assay for the simultaneous detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex and its resistance to rifampin. Antimicrob Agents Chemother. 1997 ; 41 : 2093-2098.
- 4) Hirano K, Abe C, Takahashi M: Mutations in the *rpoB* gene of rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated mostly in Asian countries and their rapid detection by line probe assay. J Clin Microbiol. 1999 ; 37 : 2663-2666.
- 5) Zhang Y, Heym B, Allen B, et al.: The catalase-peroxidase gene and isoniazid resistance of *Mycobacterium tuberculosis*. Nature. 1992 ; 358 : 591-593.
- 6) Banerjee A, Dubnau E, Quemard A, et al.: *inhA*, a gene encoding a target for isoniazid and ethionamide in *Mycobacterium tuberculosis*. Science. 1994 ; 263 : 227-230.
- 7) Lavender C, Globan M, Sievers A, et al.: Molecular characterization of isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates collected in Australia. Antimicrob Agents Chemother. 2005 ; 49 : 4068-4074.
- 8) Morlock GP, Crawford JT, Butler WR, et al.: Phenotypic characterization of *pncA* mutants of *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrob Agents Chemother. 2000 ; 44 : 2291-2295.
- 9) Musser JM: Antimicrobial agent resistance in mycobacteria: molecular genetic insights. Clin Microbiol Rev. 1995 ; 8 : 496-514.
- 10) Zang Y, Telenti A: Genetics of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. In: Molecular Genetics of Mycobacteria. ASM press, Washington DC, 2000, 235-256.
- 11) Springer B, Stockman L, Teschner K, et al.: Two-laboratory collaborative study on identification of mycobacteria: molecular versus phenotypic methods. J Clin Microbiol. 1996 ; 34 : 296-303.
- 12) Mitarai S, Kato S, Ogata H, et al.: Comprehensive multi-center evaluation of a new line probe assay kit for identification of *Mycobacterium* species and detection of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol. 2012 ; 50 : 884-890.
- 13) Ando H, Kondo Y, Suetake T, et al.: Identification of *katG* mutations associated with high-level isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrob Agents Chemother. 2010 ; 54 : 1793-1799.
- 14) Sekiguchi J, Nakamura T, Miyoshi-Akiyama T, et al.: Development and evaluation of a line probe assay for rapid identification of *pncA* mutations in pyrazinamide-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains. J Clin Microbiol. 2007 ; 45 : 2802-2807.
- 15) Ando H, Mitarai S, Kondo Y, et al.: Evaluation of a line probe assay for the rapid detection of *gyrA* mutations associated with fluoroquinolone resistance in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. J Med Microbiol. 2011 ; 60 : 184-188.
- 16) 坂谷光則：非定型抗酸菌症。結核。2005 ; 80 : 25-30.
- 17) Hirano K, Takahashi M, Kazumi Y, et al.: Mutation in *pncA* is a major mechanism of pyrazinamide resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. Tuber Lung Dis. 1997 ; 78 : 117-122.
- 18) Sreevatsan S, Pan X, Zhang Y, et al.: Mutations associated with pyrazinamide resistance in *pncA* of *Mycobacterium tuberculosis* complex organisms. Antimicrob Agents Chemother. 1997 ; 41 : 636-640.
- 19) Takiff HE, Salazar L, Guerrero C, et al.: Cloning and nucleotide sequence of *Mycobacterium tuberculosis gyrA* and *gyrB* genes and detection of quinolone resistance mutations. Antimicrob Agents Chemother. 1994 ; 38 : 773-780.
- 20) Marttila HJ, Soini H, Eerola E, et al.: A Ser315Thr substitution in KatG is predominant in genetically heterogeneous multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates originating from the St. Petersburg area in Russia. Antimicrob Agents Chemother. 1998 ; 42 : 2443-2445.
- 21) Lee AS, Lim IH, Tang LL, et al.: Contribution of *kasA* analysis to detection of isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Singapore. Antimicrob Agents Chemother. 1999 ; 43 : 2087-2089.
- 22) 阿野裕美, 松本智成, 永井崇之, 他: INH-MIC低濃度耐性結核菌株での耐性遺伝子変異の検討。結核。2006 ; 81 : 709-713.
- 23) Ramaswamy S, Musser JM: Molecular genetic basis of antimicrobial agent resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: 1998 update. Tuber Lung Dis. 1998 ; 79 : 3-29.

24) Shen X, DeRiemer K, Yuan ZA, et al.: Drug-resistant tuberculosis in Shanghai, China, 2000–2006 : prevalence, trends

and risk factors. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2009 ; 13 : 253–259.

————— Original Article —————

CLINICAL EVALUATION OF A LINE PROBE ASSAY KIT FOR
THE IDENTIFICATION OF *MYCOBACTERIUM* SPECIES AND DETECTION OF
DRUG-RESISTANT *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

¹Tomoshige MATSUMOTO, ²Hideo OGATA, ³Emiko TOYOTA, ⁴Katsuhiko SUZUKI,
⁵Takefumi SAITO, ⁶Akira FUJITA, ⁷Toshinori SUETAKE, ⁸Kinuyo CHIKAMATSU,
⁸Kazue MIZUNO, and ⁸Satoshi MITARAI

Abstract [Background] Multidrug resistance (MDR) involves resistance to both isoniazid and rifampicin, which makes the treatment of tuberculosis very difficult. Extensive drug resistance (XDR) occurs when, in addition to isoniazid and rifampicin resistance, the microorganisms are resistant to a fluoroquinolone and an injectable agent (e.g., kanamycin, amikacin, or capreomycin).

Generally, drug susceptibility testing takes more than 3–4 weeks after the initial cultivation. There is an urgent need to identify methods that can rapidly detect both the presence of *Mycobacterium tuberculosis* and the status of drug resistance.

[Purpose] This study was aimed at evaluating the line probe assay (LiPA; Nipro Co.), for the identification of *Mycobacterium* species and detection of mutations associated with anti-tuberculous drugs.

[Results] We found that LiPA enabled the rapid identification of *M.tuberculosis*, *M.avium*, *M.intracellulare*, and *M.kansasii*. When the results of the LiPA and conventional drug susceptibility tests were compared, there was no difference in the susceptibility to rifampicin, pyrazinamide, and levofloxacin; however, there was a difference in the susceptibility to isoniazid.

[Conclusion] Thus, LiPA can be used for the rapid identification of *Mycobacterium* species and the determination of susceptibility to drugs, which can help in the early initiation of appropriate treatment, leading to a reduction in infectiousness.

Key words: Multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*, Rapid diagnosis, Line probe assay

¹Osaka Prefectural Medical Center for Respiratory and Allergic Diseases, Osaka Prefectural Hospital Organization, ²Fukujuji Hospital, Japan Anti-Tuberculosis Association (JATA), ³National Hospital Organization (NHO) Tokyo National Hospital, ⁴NHO Kinki-chuo Chest Medical Center, ⁵NHO Ibaraki-higashi National Hospital, ⁶Tokyo Metropolitan Tama Medical Center, ⁷Nipro Corporation, ⁸Research Institute of Tuberculosis, JATA

Correspondence to: Tomoshige Matsumoto, Osaka Prefectural Medical Center for Respiratory and Allergic Diseases, 3-7-1, Habikino, Habikino-shi, Osaka 583-8588 Japan.
(E-mail: tom_matsumoto@sutv.zaq.ne.jp)