

# 日本における結核菌薬剤感受性試験外部精度評価の評価基準に関する解析

日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会

**要旨：**〔目的〕抗結核薬薬剤感受性試験の外部精度評価結果を解析し、適切な評価基準を定めることを目的とした。〔方法〕日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会が2004年から2010年までに実施した7回の薬剤感受性試験外部精度評価について検討した。各年度の参加施設ごとの薬剤感受性試験結果を標準判定と比較し、年度あるいは検査室ごとに感度、特異度、一致率および $\kappa$ 指数を算出した。〔結果〕2004～2010年に耐性既知の結核菌を延べ564施設に送付し、isoniazid (INH), rifampicin (RFP), streptomycin (SM) およびethambutol (EB) について計25,100試験分の回答を得た。全体として特異度>感度の傾向が明らかであり、RFPについて7年間で感度の有意な上昇が観察された。連続参加した16施設で7年間に実施した計85試験の感度はINH, RFP, SMおよびEBについて各々0.999 (95% CI 0.992-1.000), 0.985 (95% CI 0.973-0.992), 0.932 (95% CI 0.912-0.948) および0.965 (95% CI 0.947-0.977) であった。同様に特異度は各々0.998 (95% CI 0.991-1.000), 0.997 (95% CI 0.989-0.999), 0.977 (95% CI 0.962-0.986) および0.978 (95% CI 0.966-0.986) であった。〔考察〕検討期間を通じて、INHとRFPの検査精度は高く維持されていた。しかし特にSMで精度のばらつきが大きく、結果を評価するうえで配慮を必要とした。実践上、現時点での検体数は10株が適当であり、精度評価基準としてINHとRFPについては感度・特異度ともに95%以上、SMとEBに対する一致率90%以上を満たすことが必要と考えられた。

**キーワード：**結核, 薬剤感受性試験, 外部精度評価, 評価基準

## はじめに

結核の治療は化学療法を基本としている。2009年に改正された結核治療基準には、患者の結核菌が感受性を有するものを3剤あるいは4剤併用して投与することを原則とすることが明確に謳われている<sup>1)</sup>。結核菌の薬剤感受性を決定するには、ある一定の手順に基づく感受性試験を実施し、それを正確に評価することが必要となるが、結核の薬剤感受性試験は2000年以降比率法 (Proportion method) を標準としており<sup>2)</sup>、この方法がもつ定性的な側面や結核菌の細菌学的特性のため<sup>3)</sup>、代謝の活発な結核菌を適正な濃度で接種するなど、精度の維持に熟練を要する検査法となっている。薬剤感受性試験結果は治療方法の選択に直接影響するほか、薬剤耐性パターンによ

る患者管理の違いなど、臨床や行政への影響が直接的であるため、その試験結果には高い精度が要求される。

近年、日本国内での結核患者数は漸減しており、2012年の罹患率は人口10万対16.7となっている<sup>4)</sup>。2002年の療研調査によると1997年から2002年までの間に既治療患者における耐性頻度は有意に減少しており<sup>5)</sup>、治療の失敗や服薬コンプライアンスの不良による獲得耐性は減少していると思われる。一方で未治療耐性は有意な減少がなく、特に20～40歳代で耐性頻度が高い傾向が示されている。多剤耐性結核 (multi-drug resistant tuberculosis: MDR-TB) の頻度も低下していない。世界的にみて日本の結核菌の薬剤耐性率は低いとされているが、依然として耐性菌は一定の割合で存在しており、適切な対策や患者管理のため、個々の症例について薬剤耐性を正確に把

連絡先：御手洗聡，結核予防会結核研究所抗酸菌部細菌科，〒204-8533 東京都清瀬市松山3-1-24

(E-mail: mitarai@jata.or.jp)

(Received 6 Feb. 2014/Accepted 4 Oct. 2014)

握する必要があることは医療基準にも明示されている。

世界的に薬剤耐性結核の状況をみると、結核の診断率の改善と治療の拡大に伴って、MDR-TBは増加しており、世界保健機関（WHO）によると年間約40万人がMDR-TBを発症すると推計されている<sup>6)</sup>。また近年では新たに超多剤耐性結核菌（extensively drug-resistant tuberculosis: XDR-TB）という概念が登場しており、これはMDRに加えて、少なくとも1つの注射剤（カナマイシン、カプレオマイシン、アミカシン）と1種類以上のニューキノロン剤に耐性を「拡大」した耐性菌と定義されている<sup>7)</sup>。XDR-TB患者は2011年末の時点で少なくとも84の国と地域で確認されており、日本も含まれる<sup>6)</sup>。

結核の発生状況そのものは世界的にもようやく緩やかに減少傾向に入ったものの<sup>6)</sup>、薬剤耐性結核は前述のごとく国内、海外ともに依然として重要な問題である。結核の治療方法の選択や効果の最低限の保証を行ううえで薬剤感受性試験の重要性は高いと考えられる。日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会では2002年から薬剤感受性試験の外部精度評価を実施しており、抗酸菌検査精度保証の一環としての有用性が明らかになりつつある<sup>8)~17)</sup>。外部精度評価には日常検査検体を再検査するクロスチェック、結果既知の検体を試験するパネルテスト、および検査のトレーニングの3つの方法があるが、対象施設が多数の場合はパネルテストが最も実践的である<sup>18)</sup>。今回は、2004～2010年に実施された7回のパネルテストによる外部精度評価結果の解析から、適切な実施方法と評価基準を設定することを目的として検討を行った。

## 対象と方法

### (1) 対象施設

2004年から2010年までに延べ564施設（平均81施設/年、レンジ48～101）に対して薬剤感受性試験外部精度評価としてパネルテストを実施した。各年度における参加施設の種別と参加数をTable 1に示した。これらの施設は薬剤感受性試験キットの出荷状況や、アンケート調査に基づく感受性試験実施数をもとにパネルテスト実施案内を送付し、これを諾とした施設であった。2005年までは一定の感受性試験実施数を上回る施設のみに参加を呼びかけたが、2006年以降は全ての施設を対象とした。研究への参加は任意とした。

### (2) 被験結核菌株

被験結核菌株を1%小川培地上（8mlポリスチレンチューブ）に発育した状態、あるいは1.5mlのスクリーキャップ付チューブ中に液体培地で懸濁した状態で参加施設に送付した。計7回のパネルテストを通じて送付した菌株は、WHOのSupra-national Reference Laboratory Network (SRLN)で1994年から2009年までに実施された薬剤感受性試験精度管理プログラムに使用された約310の結核菌株から<sup>19)</sup>、SRLN施設の80%以上で判定（耐性あるいは感受性）が一致した株を選び、それぞれの判定をこの菌株の感受性の「標準」とし、被験菌群の各薬剤に対する耐性率がパネルテストごとに約50%となることを目標に組み合わせた。2004～2005年はこうして選定した10株を再現性の評価のため2株ずつ複製した計20株を被験菌株とした。2006、2008～2010年は各施設でパネルテストを実施する際にかかるコストを考慮し、再現性を評価しないこととして菌株を複製せず、それぞれ異なる結核菌10株を送付した。2007年には一度被験菌数を5株まで減じた。それぞれの年のisoniazid (INH), rifampicin (RFP), streptomycin (SM) およびethambutol (EB) のパネル内の耐性率をTable 2に示した。参加各施設に配付

**Table 1** Category and number of laboratory that participated to external quality assessment

Type of facility	Year							Total
	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	
Hospital	25	39	66	72	57	57	57	373
Private and others*	23	27	30	29	29	28	25	191
Total	48	66	96	101	86	85	82	564

\*Others included prefectural public health laboratory and health center laboratory.

**Table 2** Proportion of resistant strains for each anti-tuberculosis drug in each round

Drug	Year						
	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
INH	60%	70%	50%	40%	50%	40%	40%
RFP	60	60	50	40	40	40	40
SM	60	60	50	60	50	50	50
EB	40	50	50	40	40	40	30

INH: isoniazid RFP: rifampicin SM: streptomycin EB: ethambutol

した検体には、施設ごとに1検体ずつ異なる番号を割り振り、施設相互に参照不可としたうえで、全ての結果はこの番号に基づいて解析した。

### (3) 試験薬剤

試験薬剤は、SRLNの方式に従い、ある程度安定した検査結果が期待できるINH, RFP, SMおよびEBの一次抗結核薬4剤のみとした<sup>20</sup>。研究に参加した施設は、市販の検査キットを使用している場合がほとんどであることから、薬剤を同じメーカーあるいはロットで統一して供給することは行わなかった。このため、使用されたキットの薬剤力価そのものの精度については今回検討していない。また、2009年以降は使用したキットの種類も調査していないので、今回はキット別の薬剤感受性試験精度の検討自体を行っていない。

### (4) 薬剤感受性試験方法

薬剤感受性試験は、日常的に実施していない試験法を用いることで精度が低下することを避けるため、基本的に各施設が日常実施している方法で実施するよう依頼した。それぞれの被験菌株の薬剤感受性試験の結果は、結核菌検査指針に基づき、比率法の場合は1%をcritical proportionとして耐性あるいは感受性のいずれかとして判定・報告された。BACTEC MGIT AST（日本ベクトン・ディッキンソン）や最小発育阻止濃度（minimum inhibitory concentration: MIC）を感受性試験法として利用している場合は、それぞれの方法の判定基準に従って耐性か感受性かを判定するものとした。

### (5) 結果の解析

各施設から送付された結果については感度（sensitivity）、特異度（specificity）、一致率（efficiency）および判断の一致度をみるためkappa coefficient（ $\kappa$ 指数）を計算し評価した。感度とは、WHOのSRLNで耐性と判定した株のうち当該施設において耐性と判定された株の割合であり、特異度とは同様にSRLNで感受性とした株のうち当該施設で感受性と判定した割合である。一致率はSRLNとの判定の一致（耐性もしくは感受性）の割合とした（不一致率=1-一致率）。

2004年から2010年まで継続してパネルテストを実施した施設は検査センターで10施設、病院検査室で6施設であった。これらの施設については、統計解析上の精度を考慮して全ての菌株の結果を統合し、85株（ $20 \times 2 + 10 \times 4 + 5 \times 1$ ）の被験菌株についてパネルテストを実施したのとして解析を行った。

統計解析にはJMP 10.0（SAS Institute, CA, USA）を使用し、各薬剤について年度ごとの感度、特異度、一致率の検定および各率の95%信頼区間の推定を行った。まれな事象の区間推定にはWilson scoreを用いた。また傾向性を検定するためCochran-Armitage傾向検定を実施し

た。 $P < 0.05$ をもって有意と判定した。

## 結 果

### (1) 全参加施設における各薬剤の精度評価

2004～2010年に送付した結核菌株は52株（strain）であり、延べ数は6,275株であった。送付後に各施設で発育不良であった株が7年間で9株認められたため、データ回収率は99.9%（6,266/6,275）であった。期間中にパネルテストを実施した全ての施設について、Fig. 1に年度および薬剤ごとの感度、特異度、一致率および $\kappa$ 指数を示した。また7年間を通したそれぞれの薬剤に関する統合感度（全施設の成績をまとめて解析した感度）は、INH, RFP, SM, EBのそれぞれについて0.998（95% CI 0.996–0.999）、0.981（95% CI 0.976–0.986）、0.908（95% CI 0.898–0.912）および0.959（95% CI 0.951–0.966）であり、同様に特異度はそれぞれ0.994（95% CI 0.990–0.996）、0.991（95% CI 0.987–0.994）、0.972（95% CI 0.965–0.977）および0.961（95% CI 0.954–0.967）であった。全ての薬剤について感度および特異度が100%（完全一致）であった施設は年度ごとに31.3%（2004年；15/48）、42.4%（2005年；28/66）、13.5%（2006年；13/96）、63.4%（2007年；64/101）、37.2%（2008年；32/86）、36.5%（2009年；31/85）および68.3%（2010年；56/82）認められた。薬剤ごとに、各ラウンドの全施設分をプールした感度、特異度、一致率について傾向性解析を行ったが、RFPの感度に上昇傾向（ $p < 0.0001$ ）、EBの感度に有意の低下傾向（ $p < 0.0001$ ）が認められた。特異度はEBで低下傾向（ $p = 0.0033$ ）であり、一致率はRFPとSMで上昇傾向（ $p < 0.0001$  and  $p = 0.0001$ ）であったがEBでは低下傾向（ $p < 0.0001$ ）であった。

### (2) 連続参加16施設における検査結果

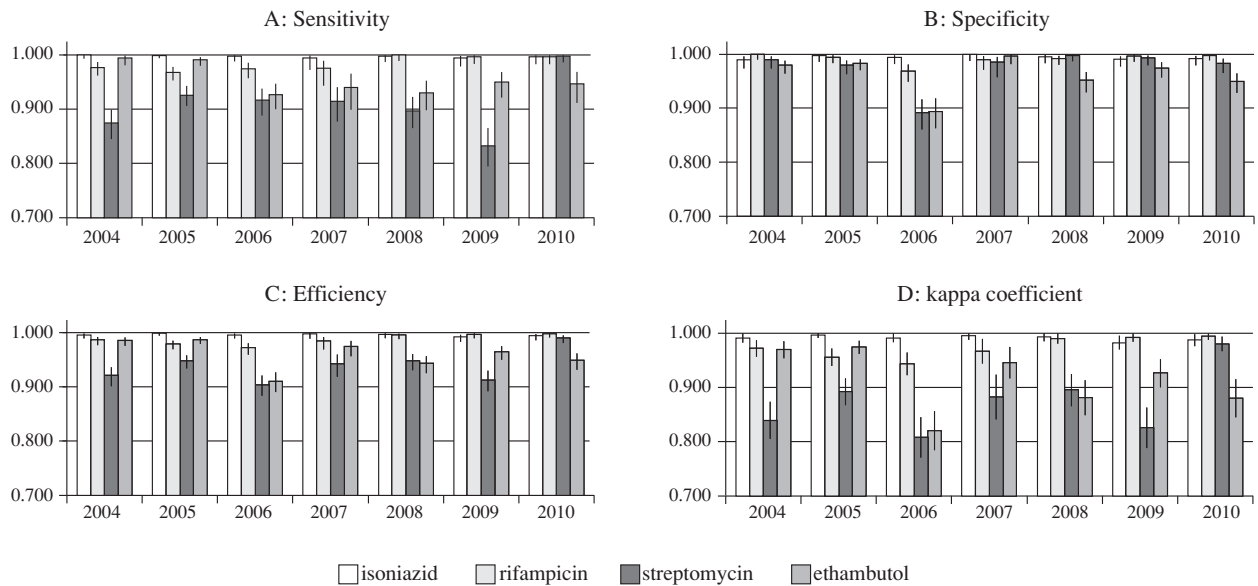
2004年から2010年までの7年間に外部精度評価を行った施設のうち、1回のみ参加が47（27.6%）施設、2回参加が32（18.8%）施設、3回参加が18（10.6%）施設、4回が19（11.2%）施設、5回が17（10.0%）施設、6回が21（12.4%）施設であり、連続して7回外部精度評価を行った施設は16（9.4%）であった。Fig. 2にそれら16施設に限定した薬剤別・年度別の評価結果を示した。7年間に実施した試験の統合感度はINH, RFP, SMおよびEBの各薬剤についてTable 3のようになった。全ての薬剤について感度および特異度が100%（完全一致）であった施設は年度ごとに25.0%（2004年；4/16）、50.0%（2005年；8/16）、12.5%（2006年；2/16）、87.5%（2007年；14/16）、43.8%（2008年；7/16）、62.5%（2009年；10/16）および87.5%（2010年；14/16）であり、年と共に有意に増加する傾向が認められた。

全回参加している16施設について、1回のパネルテス

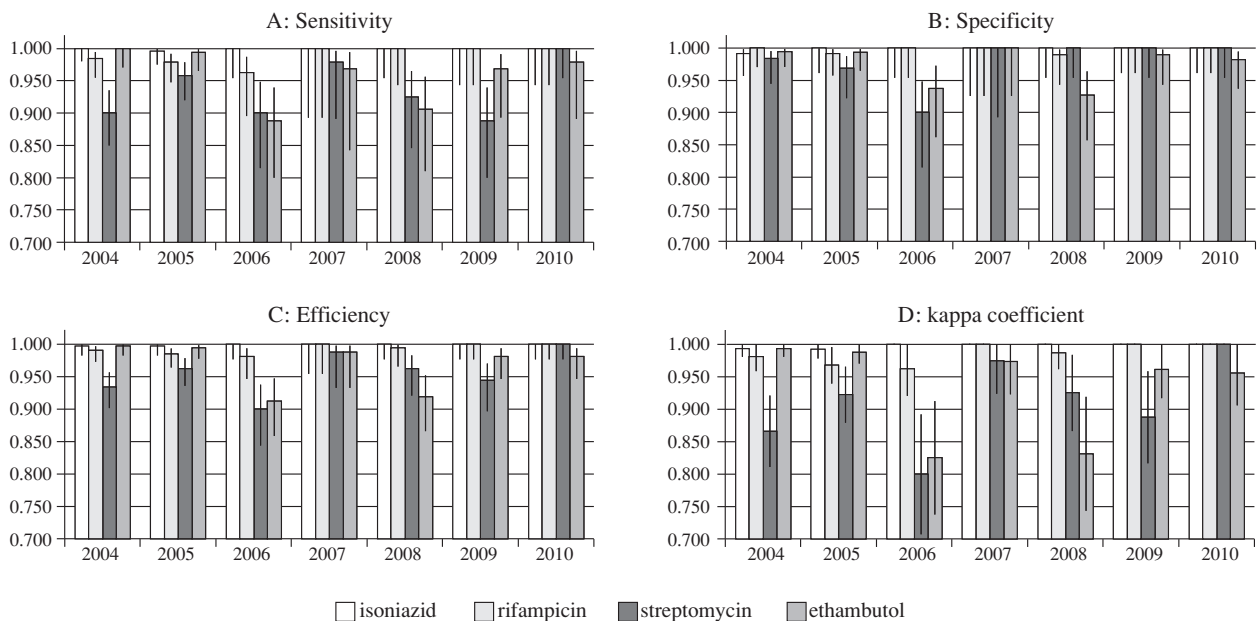
トに20株使用した場合（2004年および2005年）、10株使用した場合（2006年および2008～2010年）および5株使用した場合について、薬剤ごとの感度と特異度をTable 4に示した。それぞれの指標に差はないものの、当然ながら検体数が少ないほど信頼区間（Wilson score）の幅が大きい結果となった。

(3) 菌株ごとにみた感受性検査の成績（全施設）

パネルテストに使用した52の結核菌株（strain）について、株ごとに一致率（SRLNの判定との一致の割合）を算出すると、4剤をまとめて平均で3.0%の不一致が認められた。II-67（11.5%）、VIII-4284（6.5%）、IX-853（8.1%）、IX-5328（13.7%）、IX-5655（9.1%）、IX-8563（9.5%）、X-106（9.4%）およびX-8249（12.6%）の各株は不一致率が全体の算術平均に対して有意に高い（1.96 SD以上）と



**Fig. 1** Quality indicators of all participating laboratories  
Sensitivity (A), specificity (B), efficiency (C) and kappa coefficient (D) of all participating laboratories during 2004–2010 for isoniazid, rifampicin, streptomycin and ethambutol by year of implementation



**Fig. 2** Quality indicators of 16 consecutively participating laboratories  
Sensitivity (A), specificity (B), efficiency (C) and kappa coefficient (D) of 16 full-participating laboratories during 2004–2010 for isoniazid, rifampicin, streptomycin and ethambutol by year of implementation

**Table 3** Pooled performance indicators for 16 laboratories throughout 7 rounds, according to drugs

	Sensitivity		Specificity		Efficiency	
	Pooled	95% CI	Pooled	95% CI	Pooled	95% CI
INH	0.999	0.992–1.000	0.998	0.991–1.000	0.999	0.995–1.000
RFP	0.985	0.973–0.992	0.997	0.989–0.999	0.991	0.985–0.995
SM	0.932	0.912–0.948	0.977	0.962–0.986	0.952	0.939–0.962
EB	0.965	0.947–0.977	0.978	0.966–0.986	0.973	0.963–0.980

95% CI: 95% confidence interval

**Table 4** Performance indicators for anti-tuberculosis drugs by different number of panel test specimens (16 laboratories)

	Sensitivity			Specificity			Efficiency			kappa coefficient		
	Pooled	95% CI low	95% CI high	Pooled	95% CI low	95% CI high	Pooled	95% CI low	95% CI high	Pooled	95% CI low	95% CI high
20 strains												
INH	0.998	0.986	1.000	0.996	0.975	0.999	0.997	0.989	0.999	0.993	0.984	1.000
RFP	0.982	0.963	0.991	0.996	0.978	0.999	0.987	0.975	0.994	0.974	0.957	0.992
SM	0.930	0.899	0.951	0.977	0.950	0.989	0.948	0.928	0.963	0.894	0.859	0.929
EB	0.997	0.981	0.999	0.994	0.980	0.998	0.995	0.986	0.998	0.991	0.980	1.000
10 strains												
INH	1.000	0.987	1.000	1.000	0.989	1.000	1.000	0.994	1.000	1.000	1.000	1.000
RFP	0.989	0.968	0.996	0.997	0.985	1.000	0.994	0.984	0.998	0.987	0.975	1.000
SM	0.928	0.894	0.952	0.975	0.951	0.987	0.952	0.932	0.966	0.903	0.870	0.936
EB	0.930	0.892	0.955	0.961	0.937	0.976	0.948	0.928	0.963	0.892	0.857	0.928
5 strains												
INH	1.000	0.893	1.000	1.000	0.926	1.000	1.000	0.954	1.000	1.000	1.000	1.000
RFP	1.000	0.893	1.000	1.000	0.926	1.000	1.000	0.954	1.000	1.000	1.000	1.000
SM	0.979	0.891	0.996	1.000	0.893	1.000	0.988	0.933	0.998	0.974	0.924	1.000
EB	0.969	0.843	0.994	1.000	0.926	1.000	0.988	0.933	0.998	0.974	0.923	1.000

**Table 5** Strains of significant discrepancy during seven years

Drug	MPD <sup>¶</sup> (%)	Strain ID	JUD <sup>‡</sup>	Disagree* (%)	MIC <sup>†</sup> ( $\mu$ g/ml)
INH	0.4	X-8249	Susceptible	2.2	0.1
		VIII-4284	Susceptible	8.3	0.2
RFP	1.4	II-67	Resistant	10.4	4
		IX-5655	Resistant	13.5	5
		IX-8563	Resistant	15.2	5
		II-67	Susceptible	29.2	2
SM	6.3	IX-853	Susceptible	19.8	5
		IX-5328	Resistant	43.6	10
		IX-5655	Resistant	22.9	10
		IX-8563	Resistant	22.7	10
		X-106	Resistant	24.8	10
		X-8249	Resistant	46.4	10
		XI-5048	Resistant	18.9	10
		XI-148	Susceptible	15.4	2
EB	4.0	XI-206	Susceptible	12.5	2
		XI-4496	Susceptible	12.5	2
		VIII-4284	Resistant	15.6	10
		IX-5328	Resistant	10.2	10
		IX-7406	Resistant	12.8	10
X-106	Resistant	11.9	10		

<sup>¶</sup>MPD: mean proportion of disagreement<sup>†</sup>MIC was measured by BrothMIC MTB-I, while others used Middlebrook 7H10.<sup>‡</sup>JUD: Judicial diagnosis

\*Proportion of disagreement was higher than the mean.

判定された。また、薬剤別に分析した場合に平均を超える不一致を示した株をそれぞれの最小発育阻止濃度とともにTable 5に示した。有意な不一致はINHで最も少なく、SMで最も多かった。MIC既知の耐性株についてMICと不一致性とを相関をみると、RFP耐性株では一致群と不一致群でMICの平均値の有意差はなかった (Welch's t-test;  $p = 0.134$ )。これに対してSMでは平均値に有意差 ( $13.1$  vs  $10.1 \mu\text{g/ml}$ ;  $p < 0.001$ ) が認められ、EBについても同様 (Welch's t-test;  $10.9$  vs  $9.5 \mu\text{g/ml}$ ;  $p < 0.001$ ) であった。

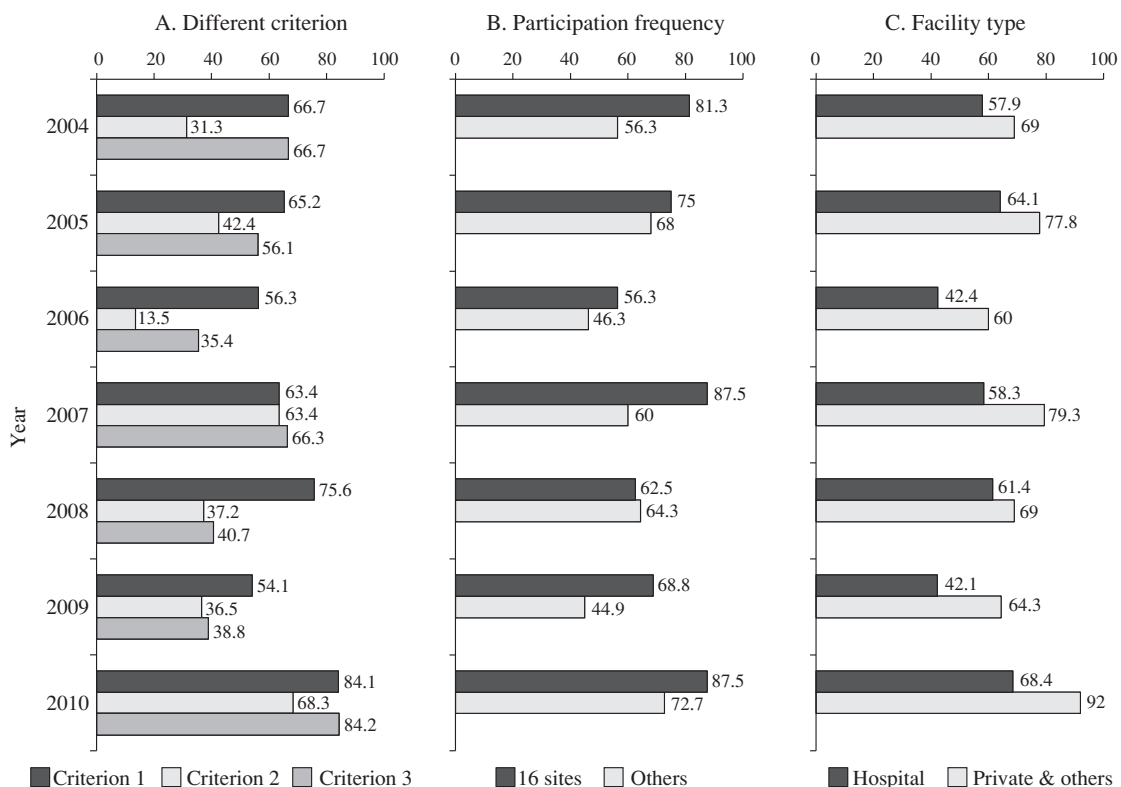
#### (4) 施設ごとにみた評価基準達成状況

全ての参加施設を対象に、いくつかの評価基準を設定して基準達成率を算出し、Fig. 3Aに示した。基準1 (criterion 1) はWHO SRLNの基準である「INHおよびRFPの感度・特異度が95%以上であり、各薬剤の判定一致率が全て90%以上」による。同基準では再現性95%以上ともされているが、今回の解析では2006年以降被験菌数を減らしたため、再現性を評価対象から外した。基準2 (criterion 2) は「完全一致」を基準とした場合であり、基準3

(criterion 3) は「INHおよびRFPの感度・特異度が95%以上であり、SMとEBに対する感度がそれぞれ90%以上」とした場合の基準達成率である。それぞれの基準について基準達成率の推移をみると、基準1と2についてそれぞれ $p = 0.048$ と $p < 0.001$ の有意な傾向性が認められた。Fig. 3Bには2004~2010年の間連続して参加した16施設とそれ以外の施設の年度別の基準1 (criterion 1) による達成率を示した。実施年を通じて連続参加16施設で基準達成率が高い傾向であったが、有意差は2007年にのみ認められた ( $p = 0.035$ )。連続参加16施設で基準1を達成した施設の割合の推移に一定の傾向は認められなかった ( $p = 0.829$ )。Fig. 3Cには施設別 (全施設対象) の基準達成率を年度別に示した。実施年を通じて病院施設よりも検査センターその他の施設で基準達成率が高い傾向であったが、有意差は2007年にのみ認められた ( $p = 0.046$ )。

## 考 察

結核菌の薬剤感受性試験は治療方法を決定するうえで



**Fig. 3** Passing percent of facilities by different criteria

Fig. 3A indicates the proportion of laboratories which passed the following criteria; Criterion 1; Sensitivity and specificity for INH and RFP were and above 95%, and efficiency for INH, RFP, SM and EB were and above 90%, Criterion 2; Perfect agreement for INH, RFP, SM and EB, Criterion 3; Sensitivity and specificity for INH and RFP were and above 95%, and sensitivity for SM and EB was and above 90%. Fig. 3B indicates the proportion of laboratories which passed criterion 1, regarding number of participation (16 laboratories of full-participation and others). Fig. 3C indicates the proportion of laboratories which passed criterion 3, regarding type of facility. Private & others include commercial, public health and health center laboratories.

きわめて重要な要素である。一般的に精度保証の方法には外部精度評価 (external quality assessment: EQA), 内部精度管理 (internal quality control: IQC) およびトレーニングの3つの方法があるが<sup>18)</sup>, これまで結核菌検査については内部精度管理が主たる保証方法であった。結核菌検査の領域では外部精度評価は比較的新しい概念であり, 特に薬剤感受性試験のパネルテストについてはほとんど経験がない。しかしながら, 外部精度評価は品質管理の分野で有用性を認められており, 多くの試験システムの性能評価で採用されている。結核菌の薬剤感受性試験でもこの手法を導入すべく, 日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会では2002年より外部精度評価活動を行ってきたが, これまで適切な評価基準が設定されないままであった。今回実施が本格化した2004年以降の7年分の外部精度評価結果をもとに, 方法の確立と評価基準の設定を目的として解析を実施した。

7回のパネルテストで, 計85株の結核菌が6,275検体として使用されたが, 検体をゆうパック (日本郵政) システムによって遠隔地へ配布することによる被験菌の発育不良は0.5%未満であり, 過去にSRLNで海外輸送を行った際に発生した発育不良と比べても良好な結果であった (internal data)。また検体の破損や遺失・事故・盗難も認められず, 国連容器を使用して通常の公共輸送システムを利用する方法に検体の質を維持するうえでの問題はないと考えられた。唯一輸送に関連して発生した問題は, 2007年の新感染症法の施行によって多剤耐性結核菌 (三種病原体) がゆうパックによって輸送できなくなったことであり, これはパネル検体の構成に直接的な影響を及ぼした。多剤耐性結核菌を含まない (事実上輸送できない) ことが実施前から明確化されているので, INHとRFPのどちらかが耐性であれば他方は必ず感受性であり, 検査結果に関する情報が最初から含まれ, 完全な盲験性が失われた。各回の参加施設数が2007年をピークに減少しているが, 感染症法による施設基準の厳格化が影響した可能性も考えられた。

適中率を適正化するためTable 2に示すように各パネルテストにおける薬剤ごとの耐性の割合を50%前後に維持するよう調整したが, 実際問題として各薬剤の耐性は完全に独立した事象ではないため, 特にINH耐性をもたないRFP耐性株が少ない。そのため実践上の組み合わせは限られており, 実例として2010年にlevofloxacin (LVFX) をパネルに加えているが, 他の薬剤の耐性の割合を適正化することを優先したためLVFXについては適正な耐性率が確保できていない。したがって使用できる薬剤の組み合わせを現在の4剤以上に増やすことは困難と考えられる。もちろんパネルテストの検体数を増やせば組み合わせの選択肢を増やすことは可能であるが, 一方で本来

5%の危険率で精度を評価しようとする場合, パネルテストに使用する結核菌株は59株以上なければならない。これを実践性と経済性の観点から減数した結果が現状のパネルテストであり, SRLNの毎年の精度保証活動でさえ30株しか実施していない<sup>21)</sup>。したがって, 感度と特異度に関してINHとRFPについては1株の間違いも許容されないことになり, これは40株未満のどの株数を採用しても同じである。日本の検査室の日常の作業の中でパネルテストを実施するためには, 30株以上の設定は非現実的であることから, 被験菌数は20株以下を採用すべきものと考えられた。一方5株では完全な一致がないかぎり, 感度・特異度・一致率は必ず80%以下となることから, 1回あたり10株の使用が日本の現状では適当と考えられた。

ここで実践上のもう一つの問題としてパネルテストに要するコストを考える必要がある。2004年と2005年に20株を使用してパネルテストを実施した際には参加施設からコストがかかりすぎるとの指摘が寄せられている<sup>11)12)</sup>。市販の薬剤感受性試験キットは1検体あたり5,000円程度かかることから, 20株実施すると10万円となり, 1項目・1回の外部精度評価としては高額である。このような事情からも2007年以降1回あたり10株によるパネルテストを実施している。

パネルテストに使用した結核菌株の標準検体としての精度はINHおよびRFPで共に95%を超えており, 特に問題とならなかったが, SMとEBに関して全てのラウンドで施設間一致率の低い検体が認められた。Table 5に示したように施設間の判定一致率が低い株は概してMICが低めであり, 耐性菌としてボーダーラインに近いものと考えられた。またSMとEBはもともとMICと薬剤血中濃度の値が近いことから耐性と感受性の間の差が小さいと考えられており<sup>22)</sup>, このこともSMとEBにおける結果のばらつきに関連していると考えられた。実際にSRLNで実施されているパネルテストにおいてもSMとEBは判定一致率が低いことが報告されており<sup>23)</sup>, 比率法を用いるかぎり不可避の問題と考えられた。使用する菌株の感受性判定が容易 (MICがcritical concentrationから十分離れている) であればパネルテストの精度はおのずと高くなる。また, パネルテストは「試験」であることが自明であるため, 一般的に日常的な業務よりも注意を払って実施する機会が多いと考えられる。したがってパネルテストは日常的な精度の評価よりも, 実施時点の最大能力評価であると考えられ, 技術評価という観点からは判定困難な菌株を使用する必要もあるかと思われる。しかしながら, 精度評価を目的とした場合, 判定困難な菌株は適正ではないかもしれない。

外部精度評価を実施した施設数は2004年から2010年

までの間に計170施設となったが、1回ごとに参加施設が異なっていたことから、単純にそれぞれの回の比較を行って有用性等を評価することはできなかった。しかしながら、全ての施設のデータからはRFPの感度の上昇とRFPとSMでの一致率の上昇傾向が示されており、外部精度評価による改善効果が示唆される結果であった。一方EBについては感度・特異度・一致率共に低下傾向であり、やや矛盾した結果となった。EBに関するこの傾向は連続参加16施設だけでも認められており、今回は検討のための情報が得られていない検査法の変更などが影響している可能性が考えられた。

精度基準を考えるにあたって連続参加16施設の85株分のデータをまとめて解析した。総合的あるいは年度別にみて、これらの施設のINHとRFPの感度・特異度は95%以上であったが、SMとEBについては感度あるいはその信頼区間の下限が95%を下回っていた。上記の事象と1回のパネルテストに使用可能な最大値として10株の検体を使用することを併せて考えた場合、Table 3に示した連続参加16施設の検体数別の検査精度（感度・特異度とその信頼区間）から、INHとRFPの感度・特異度については95%以上であることを基準として問題ないものと考えられた。しかしながら、10株で評価した場合、Table 4に示すようにSMとEBについてはこれらの施設でも信頼区間の下限が90%程度となることを考慮し、信頼性基準として「INHおよびRFPの感度・特異度が95%以上であり、SMとEBに対する感度がそれぞれ90%以上」を設定してFig. 3のように各年度での基準達成施設の割合を評価したが、この基準3には他の2つの基準と異なり、外部精度評価を繰り返すことによる明確な改善の傾向は示されなかった。

結果として、被験菌数10株を採用した場合、SMとEBでの精度のばらつきを考慮し、さらにSRLNで一般に使用されている基準であることも勘案して、パネルテストの最小の評価基準として現行WHOで採用されている「INHおよびRFPの感度・特異度が95%以上であり、各薬剤の判定一致率が全て90%以上」が適当と考えられた。

基準1を適用し、施設別に基準達成率を解析したところ、有意差はないものの病院検査室で低めの傾向が認められた。外部精度評価そのものは基本的に実施時点の最大能力の評価であり、これが日常業務の質の差を示しているとは思われないが、業務量の差（薬剤感受性試験実施件数の差）による技術力の維持や精度保証の内容に差がある可能性は否定できない。

パネルテストによる結核菌薬剤感受性試験外部精度評価の有用性は、許容基準以下の精度を洗い出すことにある。われわれが以前に報告したように、パネルテストの

結果を受けて適切な改善活動を実施した施設では精度が改善する<sup>13)</sup>。LaszloらはSRLNで実施した外部精度評価パネルテストの結果を解析し、この方法で検査上の問題点が明確になり、またEBで有意な精度の改善がみられたことを報告している<sup>21)</sup>。

今回の検討により、合理的な薬剤感受性試験外部精度評価の実施方法および達成基準が設定されたと考える。また、この基準において全体としての達成率も上昇していたことから、外部精度評価を通じて主要なエラーを発見し、さらに評価を反復することで薬剤感受性試験精度の維持あるいは改善がなされた可能性が示された。また、今後の課題として、不適正な精度の修正を確認するため、パネルテストの結果を受けて各施設でどのような精度維持改善活動が行われたかを迅速に把握するシステムが必要であろうと考えられた。

## 謝 辞

この研究は日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会によって実施されたものである。研究に参加された各委員、および参加施設に対して深謝する。

### 抗酸菌検査法検討委員会委員

2004～2005年度：高嶋哲也，鎌田有珠，塩谷隆信，御手洗聡，小栗豊子，和田光一，小川賢二，一山 智，竹山博泰，古賀宏延，斎藤 肇，土井教生，富岡治明，長沢光章，樋口武史

2006～2007年度：高嶋哲也，鎌田有珠，塩谷隆信，阿部千代治，御手洗聡，桶谷典弘，中島一光，樋口武史，竹山博泰，大野秀明，小栗豊子，斎藤 肇，長沢光章

2008年度：高嶋哲也，鎌田有珠，塩谷隆信，阿部千代治，御手洗聡，桶谷典弘，中島一光，樋口武史，江田良輔，大野秀明

2009年度：高嶋哲也，鎌田有珠，塩谷隆信，阿部千代治，御手洗聡，桶谷典弘，中島一光，樋口武史，江田良輔，建山正男

2010～2011年度：富岡治明，藤内 智，塩谷隆信，御手洗聡，二木芳人，桶谷典弘，中川 拓，樋口武史，西井研治，建山正男，阿部千代治，小栗豊子，斎藤 肇

著者のCOI（conflicts of interest）開示：本論文発表内容に関して特になし。

## 文 献

- 1) 厚生労働省健康局長：結核医療の基準の全部改正について。平成21年厚生労働省告示第16号。厚生労働省。2009。
- 2) 阿部千代治：新結核菌検査指針2000：第7章 薬剤感受性試験。結核予防会，2007，95-102。



- 3) Canetti G, Fox W, Khomenko A, et al.: Advances in techniques of testing mycobacterial drug sensitivity, and the use of sensitivity tests in tuberculosis control programmes. Bull World Health Organ. 1969; 41: 21-43.
- 4) 結核予防会:「結核の統計2013」. 結核予防会, 2013, 41.
- 5) Tuberculosis Research Committee (RYOKEN): Drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Japan: A nationwide survey, 2002. Intl J Tuberc Lung Dis. 2007; 11: 1129-1135.
- 6) World Health Organization: Global tuberculosis report 2012. World Health Organization, Geneva, 2012.
- 7) World Health Organization: XDR-TB—Extensively Drug-Resistant TB. November 2006. [online] [http://www.who.int/tb/xdr/news\\_update\\_01nov06/en/index.html](http://www.who.int/tb/xdr/news_update_01nov06/en/index.html).
- 8) 御手洗聡: 結核菌とくに薬剤感受性試験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15年度総括・分担研究報告書. 2004, 164-185.
- 9) 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.
- 10) 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 (2) 市販薬剤感受性試験培地の精度について. 結核. 2003; 78: 563-568.
- 11) 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.
- 12) 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 (3)—検査センターを対象とした結核菌薬剤感受性試験の外部精度アセスメント. 結核. 2005; 80: 47-48.
- 13) 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 (4)—検査センターを対象とした結核菌薬剤感受性試験の外部精度アセスメント. 結核. 2006; 81: 25-26.
- 14) 日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会: 抗酸菌検査の精度保証 (5)—抗酸菌検査施設を対象とした結核菌薬剤感受性試験の外部精度評価. 結核. 2008; 83: 729-730.
- 15) 日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会: 抗酸菌検査の精度保証 (6)—抗酸菌検査施設を対象とした結核菌薬剤感受性試験の外部精度評価. 結核. 2008; 83: 799-801.
- 16) 御手洗聡: 抗酸菌検査施設を対象とした薬剤感受性検査外部精度評価2009年度結果. 結核. 2010; 85: 639-642.
- 17) 日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会: 抗酸菌検査施設を対象とした薬剤感受性検査外部精度評価第8回 (2010年度) 結果. 結核. 2012; 87: 87-91.
- 18) Aziz MA, Ba F, Becx-Bleumink M, et al.: External quality assessment for AFB smear microscopy. Association for public health laboratories, 2002, 1-111.
- 19) World Health Organization: Anti-tuberculosis drug resistance in the world. The WHO/IUATLD global project on anti-tuberculosis surveillance. Geneva, Switzerland, 1997. WHO/TB/97. 229.
- 20) World Health Organization: Guidelines for Surveillance of Drug-resistant Tuberculosis. 1996. WHO/TB/96.216.
- 21) Laszlo A, Rahman M, Espinal M, et al.: WHO/IUATLD Network of Supranational Reference Laboratories: 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.
- 22) Kim SJ: Drug-susceptibility testing in tuberculosis: methods and reliability of results. Eur Respir J. 2005; 25: 564-569.
- 23) Laszlo A, Rahman M, Raviglione M, et al.: Quality assurance programme for drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* in the WHO/IUATLD Supranational Laboratory Network: first round of proficiency testing. Int J Tuberc Lung Dis. 1997; 1: 231-238.

日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会

委員長 御手洗 聡  
 委員 樋口 武史 網島 優 青野 昭男 大楠 清文  
 岩本 朋忠 小橋 吉博 柳原 克紀

## Committee's Report

EVALUATION STANDARD OF EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT PROGRAMME  
FOR DRUG SUSCEPTIBILITY TESTING OF  
*MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* IN JAPANESE LABORATORIES:  
PROFICIENCY TESTING IN 2004–2010

The Committee for Mycobacterial Examinations, the Japanese Society for Tuberculosis

**Abstract** [Objective] To analyze the results of the external quality assessments (EQA) for anti-tuberculosis drug susceptibility testing (DST) and to set-up its rational passing criterion.

[Method] Each participating laboratory in EQA performed DST, and the sensitivity, specificity, agreement (efficiency) and kappa coefficient were calculated from the results. We analysed the data of seven EQA results for DST from 2004 to 2010.

[Results] A total of 20, 20, 10, 5, 10, 10, and 10 strains of *M.tuberculosis* with known susceptibility were sent to each participating laboratory in 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, and 2010, respectively. The total of participating laboratories was 564. Each laboratory was asked to perform DST with its routine methods and reported 25,100 test results in these seven years. The laboratories showed relatively high specificity than sensitivity, and an improving sensitivity through the years. Sixteen laboratories participated the EQA continuously, and the sensitivity and specificity to isoniazid (INH), rifampicin (RFP), streptomycin (SM) and ethambutol (EB) were 0.999 (95% CI 0.992–1.000) and 0.998 (95% CI 0.991–1.000), 0.985 (95% CI 0.973–0.992) and 0.997 (95%

CI 0.989–0.999), 0.932 (95% CI 0.912–0.948) and 0.977 (95% CI 0.962–0.986), and 0.965 (95% CI 0.947–0.977) and 0.978 (95% CI 0.966–0.986), respectively.

[Discussion] The analyses revealed that the accuracy of DST for INH and RFP was highly maintained throughout the years. However, SM showed a high unevenness of performance quality and required situational considerations for evaluation. In conclusion, the EQA for DST would require a minimum number of 10 strains for each assessment, and INH and RFP should show over 95% of sensitivity and specificity with over 90% of efficiency to SM and EB as passing remark.

**Key words** : Tuberculosis, Anti-tuberculosis drug susceptibility testing, External quality assessment, Criterion

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