

日本国内における結核菌の薬剤耐性状況に関する研究：2012-2013

結核療法研究協議会（療研）

要旨：〔目的〕2012～2013年に日本で分離された結核菌を対象とし、第15回結核療法研究協議会結核菌薬剤耐性調査を実施した。〔方法〕INH, RFP, SMおよびEBについて49施設から薬剤感受性試験結果を収集し解析した。結核登録者情報システムの利用により治療歴別耐性率等の解析を実施した。〔結果〕全ての薬剤感受性結果（n=8,681）によるINH, RFP, SMおよびEBのcombined resistanceはそれぞれ5.3%, 1.6%, 7.2%および1.9%となった。解析できた2,560例のうち初回治療耐性率はそれぞれ4.2%, 1.3%, 7.1%および1.7%であった。既治療患者での耐性率はそれぞれ17.5%, 10.0%, 15.0%および8.3%であった。〔考察〕2007年と比較するとCombined resistanceおよび初回治療でINH耐性率が今回の調査では有意に高値であり、他の薬剤でも2007年から2013年の間で耐性率の上昇傾向が示された。また外国出生の患者で初回治療耐性率が高いことが示された。一方、臨床情報と薬剤感受性結果のリンクが可能であったデータ数が全体の3分の1程度にとどまり、代表性には疑問がもたれた。

キーワード：結核菌, 薬剤感受性試験, 外部精度評価, 薬剤耐性

はじめに

日本の結核罹患率は継続的に漸減傾向にあるものの、全世界では年間およそ1000万人が新たに結核に罹患し、160万人が死亡している¹⁾。また、日本においては第14回の結核療法研究協議会（療研）結核菌薬剤耐性調査で示されたように、引き続き薬剤耐性は低下あるいは低値維持の状態であるが²⁾、特に西太平洋地域の国々で多剤耐性結核を含む急速な薬剤耐性結核の増加が報告されている³⁾。結核の統計ではわずかながらisoniazid (INH) と rifampicin (RFP) の耐性率が上昇しており^{4)~9)}、主要抗結核薬での耐性率が日本国内で再上昇していることを示した高木らの報告もある¹⁰⁾。日本の結核菌薬剤耐性は再上昇している可能性が高いが、これらのデータは結核の統計でも入力率が80%を下回っており、さらに薬剤感受性試験の精度保証が行われているかどうか不明であるため、データとしての確実性が不十分である。

日本では療研が1957年から2007年までに2～5年ごとに過去14回入院時薬剤耐性菌に関する研究を行い、50

年にわたる日本での薬剤耐性の頻度の推移を報告している^{2) 11) 12)}。これは、感受性試験の精度保証を前提とした日本の代表的な結核菌薬剤耐性調査として世界的に認識されている。2007年の調査ではlevofloxacin (LVFX) の未治療耐性率がINHに匹敵するほど既に高率であることが判明するなど、新たな発見があった一方で、研究参加施設の減少や疫学研究上の倫理指針の取扱いなど、研究実践上の問題点も数多く指摘された。特に結核診療施設の集約化で一部の施設に調査上大きな負担がかかり、2007年の調査では薬剤感受性試験情報が得られていながら臨床情報が得られず解析できなかった株が数百株に及んだ (internal data)。

今回、2007年の調査での課題であった三種病原体の輸送、一部施設への過剰な負担、研究倫理、研究期間の長期化などの問題点を可能なかぎり回避し、さらに療研調査独自の優位性である検査精度保証と収集検体の地域バランスを最大限に生かすよう研究デザインを変更し、第15回となる耐性結核菌全国調査を企画し実施した。

方 法

〔調査対象〕

結核療法研究協議会に参加する全ての施設のうち、本研究に参加することに同意した結核患者診療施設において、研究期間内に活動性結核と診断された全ての結核菌培養陽性症例を解析の対象とした。研究期間（情報収集期間）は2012年1月から2013年12月とした。

〔調査対象数〕

世界保健機関の推奨する方法により、統計学的に有意な薬剤耐性サーベイを実施するのに必要な検体数を推定した。2007～2008年に実施した第14回の療研調査からRFPの耐性率を未治療患者において0.7%、既治療患者で6.7%とし、以下の式より必要数を算出した¹³⁾。

$$n = \frac{N * z^2 * p * (1-p)}{d^2 * (N-1) + z^2 * p * (1-p)}$$

N: 全結核菌陽性患者数

z: z-value (信頼度95%として1.96)

d: absolute precision, p: 期待されるRFP耐性率

2011年の結核統計から結核菌陽性患者数（総数：14,425、新規罹患数：13,074、再治療者数：1,351）をそれぞれNとして¹²⁾、新規患者における $p=0.007$ 、 $d=0.0014$ 、既治療患者での $p=0.067$ 、 $d=0.01$ （1%）と設定すると、未治療患者での必要数は $n=6,672$ となった。同様に、既治療患者での必要数は $n=865$ となり、総数は最低 $n=7,537$ となった。やはり2011年の罹患数¹⁴⁾から地域ごとの予定必要数をTable 1のように設定した。

〔調査方法〕

療研の過去の研究では研究参加施設で分離された結核菌を結核予防会結核研究所に輸送して薬剤感受性試験を実施していたが、先に計算した必要株数から本研究では一施設（結核研究所）のみでの薬剤感受性試験実施は不可能と判断した。本研究では、結核菌株を収集する代わりに研究参加施設に対して薬剤感受性試験に関する精度保証（外部精度評価）を行い、対象薬剤の感受性試験結果を収集し解析した。これは、特に患者数の多い研究参

加施設の負担を軽減するためであり、事前協議でこの条件なしでは研究への参加が困難であることを療研総会で確認した必須条件であった。また外部精度評価対象外の薬剤耐性についても参考値として解析を実施した。多剤耐性結核菌のみは二次抗結核薬感受性試験のため調査期間中に新たに分離された株をまとめて輸送・収集した。

〔薬剤感受性試験外部精度評価〕

薬剤感受性試験データの精度保証の要件として、3年以内（2011年以降）に薬剤感受性試験に関する外部精度評価を実施し、適切な精度基準を満たしていることとした。薬剤感受性試験を外部検査機関に発注している場合は、外注先の施設（検査センター等）が同様の精度評価基準に達していることを前提とした。世界保健機関が実施している精度保証に使用され、耐性既知の結核菌10株を使用したパネルテストを実施した。精度基準は、INHとRFPに対する感度・特異度が95%以上であり、対象となる主要4薬剤〔INH, RFP, streptomycin (SM) およびethambutol (EB)〕全てで一致率が90%以上であることとした¹⁵⁾。なお、最小発育阻止濃度を測定し、I (Indeterminate)と判定された場合は耐性 (R) か感受性 (S) かのどちらか各施設にて判定することとした。

〔薬剤感受性試験結果の収集方法〕

本研究に参加した各施設でINH, RFP, SMおよびEBについて、実施している感受性試験方法とともに、試験結果を耐性 (R) あるいは感受性 (S) の2つのカテゴリーデータとして調査票に記入し、結核研究所で収集した。Iと判定された場合は耐性 (R) か感受性 (S) かのどちらか各施設にて判定することとしたが、Iと報告された場合はRと判定した。LVFX, ethionamide (TH), kanamycin (KM), enniomycin (EVM), para-aminosalicylate (PAS), cycloserine (CS) およびpyrazinamide (PZA) については実施している場合のみ情報を収集した。INH, RFP, SMおよびEB以外の抗結核薬については外部精度評価を実施せず、結果は参考値とした。薬剤感受性試験結果とともに、当該結核菌株が分離された患者の登録保健所名、生年月日および性別をリンク情報（後述）として収集した。

Table 1 Required number of *M. tuberculosis* isolates for drug resistance survey in 2012–2013

Area	Incidence	Proportion	Required number of isolates	
			New	Previously treated
Hokkaido-Tohoku	1,652	0.073	486	63
Kanto	8,269	0.365	2,432	315
Chubu-Hokuriku	3,291	0.145	968	126
Kinki	4,852	0.214	1,427	185
Chugoku-Shikoku	1,909	0.084	562	73
Kyushu	2,708	0.119	797	103
Total	22,681	1.000	6,672	865

〔結核研究所における薬剤感受性試験〕

多剤耐性結核 (MDR-TB) 株の薬剤感受性試験は国際基準に合わせて培地に Löwenstein-Jensen medium を使用し、薬剤濃度も WHO が示す基準に合わせて行った¹⁶⁾。PZA の感受性試験は MGIT PZA AST (ベクトン・ディッキンソン) を用いて実施した。

〔患者情報〕

結核菌を分離した患者の臨床的情報は、薬剤感受性試験結果を解析する際に最も重要な因子の一つである。従来の療研調査では各参加施設において全ての患者の臨床情報を入力していたが、この点が臨床の現場において多大な負担となっていたことから、本研究では結核登録者情報を利用した。

厚生労働省健康局結核感染症課の承認のもとに、患者が登録されている保健所に結核登録者情報システムから臨床情報の提供を依頼した (厚生労働省健康局結核感染症課事務連絡 平成 27 年 12 月 1 日)。研究参加施設からの情報により登録保健所で患者を同定し、基本的に以下の情報を抽出した：①医療機関名称、②診断名 (肺結核あるいは肺外結核)、③国籍および国名、④職業区分、⑤X線所見 (学会分類/部位・性状・拡がり)、⑥治療区分 (初回治療 or 再治療 or 治療歴不明)、⑦合併症 (糖尿病・HIV・その他)、⑧陽性菌検体の種類および塗抹菌量

〔多剤耐性結核菌の解析〕

多剤耐性結核菌と同定された菌株については、薬剤感受性試験結果収集期間終了後にまとめて各施設に分与を依頼した。輸送手配は各施設の担当者と直接連絡し、基本的に専門輸送業者 (日本通運航空部) を利用して感染症法の規定に則って実施した。収集した多剤耐性結核菌については、標準比率法に従って INH, RFP, rifabutin (RBT), EB, SM, TH, KM, PAS, CS, PZA および LVFX の薬剤感受性試験を実施した。

〔倫理上の配慮〕

本研究を実施した時点での倫理指針である「疫学研究に関する倫理指針 (文部科学省・厚生労働省：平成 14 年 6 月 17 日、平成 20 年 12 月 1 日一部改正)」の基本的な考え方によれば、その適用範囲は「人の疾病の成因及び病態の解明並びに予防及び治療の方法の確立を目的とする疫学研究」である。しかし法律の規定に基づき実施される調査 (行政調査)、資料として既に連結不能・匿名化されている情報のみを用いる研究および手術、投薬等の医療行為を伴う介入研究はこの指針の対象とならないとしていた。本研究は、結核研究所にデータを集積する時点で資料として連結不能・匿名化されている情報のみ (対応表を作成しない) であり、収集する情報も個人を特定できないため、個人情報にはあたらないと考えられた。また、当該疫学研究が社会的に重要性が高いと認め

られるものであることから、今回の研究方法に関するかぎり、研究対象者からインフォームド・コンセントを受ける手順は免除されうるものと考えられた。

臨床情報と薬剤感受性試験結果とのリンクは厚生労働省の同意を得たうえで、各保健所において行政調査の一環として実施し、リンク後の情報は個人情報を除外して結核研究所において解析を行った。

〔統計解析〕

評価対象とした薬剤の耐性率を 2007 年の療研調査データと比較した。また、結核登録者情報システムでのリンクから得られた臨床情報に基づいて未治療・既治療に患者群を分類し、薬剤耐性率を評価した。比率の差の検定にはカイ 2 乗検定あるいは Fisher の正確確率検定を使用し、95% 信頼区間の算出には Wilson score interval を使用した。有意差検定で $p < 0.05$ をもって有意差ありと判定した。

結 果

〔研究参加施設と薬剤感受性試験情報〕

2007 年の療研調査結果に基づき算定した結核菌薬剤耐性の評価に必要な結核菌株数は、日本国内の薬剤耐性率が低下していたことを反映して、未治療 ($n=6,672$)・既治療患者 ($n=865$) とともに多数となった。このため、2013 年 7 月に療研 141 施設に実施した予備調査 (回答数 104：回答率 73.8%) で研究に参加可能と回答した 67 施設における 2012 年の患者数合計 6,244 例をもってしても 1 年では目的数に達しないことから、研究は 2 年 (2012～2013 年) 分の患者を対象として行うものとした。

1 回目の予備調査 (2013 年) をもとに、参加可能と回答した施設に対して、薬剤感受性試験の精度保証の有無を含めた研究参加最終確認を行った。1 回目の調査で参加可能と回答し、2 回目の回答がなかったが精度保証が実施されていることが判明している施設については、参加可能と判断した。1 回目の調査で回答がなかったが、2 回目の調査で参加可能と回答した施設も含めた 62 施設が参加予定となった。

2014 年 8 月中に参加施設に研究計画書、データ作成法指示書、多剤耐性結核菌分与依頼書、データ入力用テンプレート (CD-R) 等を送付し、データの収集を依頼した。最終的に 62 施設中 49 施設 (79.0%) からデータの送付を受けた。データ総数は 8,681 となった (Table 2)。Fig. にデータ総数 ($n=8,681$) の年齢分布を示した。患者は男性 5,550 人 (63.9%)、女性 3,131 人 (36.1%) (年齢：68.7±19.9, range: 0-109) であった。

Table 3 には研究参加施設から得られた全データによる INH, RFP, SM, EB, RBT, TH, KM, EVM, PAS, CS, LVFX および PZA の耐性率 (治療歴によるカテゴリー分

Table 2 Number of data collected from participating institutions by area

Area	Number of isolates	Proportion	Expected proportion
Hokkaido-Tohoku	588	0.068	0.073
Kanto	4,052	0.467	0.365
Chubu-Hokuriku	638	0.073	0.145
Kinki	1,752	0.202	0.214
Chugoku-Shikoku	664	0.076	0.084
Kyushu	987	0.114	0.119
Total	8,681	1.000	1.000

No significant difference was observed between the number of expected and collected data for each region.

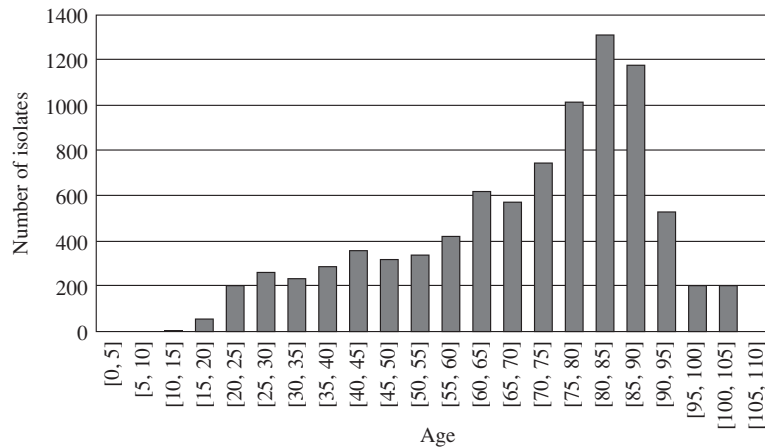


Fig. Age distribution of tuberculosis patients enrolled in drug resistance survey

Table 3 Combined resistances of drugs tested

Data	INH	RFP	RBT	SM	EB	TH	KM	EVM	PAS	CS	LVFX	PZA
Resistant	456	135	8	618	165	89	140	117	92	7	128	75
Susceptible	8,180	8,506	596	8,021	8,457	3,208	3,763	3,183	3,259	3,340	3,892	2,648
Proportion	0.053	0.016	0.013	0.072	0.019	0.027	0.036	0.035	0.027	0.002	0.032	0.028
95% CI	0.048–0.058	0.013–0.018	0.007–0.026	0.066–0.077	0.016–0.022	0.022–0.033	0.030–0.042	0.030–0.042	0.022–0.033	0.001–0.004	0.027–0.037	0.022–0.034
Ryoken 2007	0.038	0.012	ND	0.062	0.014	ND	ND	ND	ND	ND	0.034	ND
2007 vs. 2012	0.0027	0.25	–	0.106	0.093	–	–	–	–	–	0.657	–
# of data	8,636	8,641	604	8,639	8,622	3,297	3,903	3,300	3,351	3,347	4,020	2,723

INH: isoniazid, RFP: rifampicin, RBT: rifabutin, SM: streptomycin, EB: ethambutol, TH: ethionamide, KM: kanamycin, EVM: enviomycin, PAS: para-aminosalicylate, CS: cycloserine, LVFX: levofloxacin, PZA: pyrazinamide, 95% CI: 95% confidential interval, ND: no data

類を行っていないcombined resistance)を示した。前4剤は精度保証対象であるが、以降の8剤については精度保証対象外であり、データ入力も任意とした。検体数(患者数)としては8,681件あるものの、全ての検体で全ての薬剤の検査結果が得られているわけではないため、薬剤によって被験検体数が異なっていた。療研2007のデータとの比較ではINHのみ有意な耐性率の増加が認められた(0.053 vs. 0.038, p=0.0027)。

Table 4には8,681件のデータから算出したMultidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* (MDR-TB), Extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* (XDR-TB)の率と、MDR-TBに注射剤(KM)耐性あるいはフルオロキノロ

ン(LVFX)耐性のどちらかが合併しているPre XDR-TBの率を示した。

[結核登録者情報と薬剤感受性試験結果の連結]

2015年12月1日付で厚生労働省健康局結核感染症課より各都道府県・指定都市に対して結核登録者情報システムにある患者情報の提供について協力依頼が行われた。これを受けて、各自治体に結核登録者情報へのアクセスを可能とするIDとパスワードの提供を依頼しており、最終的に266(78.0%, 266/341)の保健所からID/パスワード、データあるいは14桁の患者IDの提供を受けた。最終的に情報リンクに利用可能であったデータセットは104保健所からの4,322件であり、データ利用率と

Table 4 Multidrug- and extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in combined resistances

	MDR-TB	Pre XDR-TB	XDR-TB
Resistant	105	30	16
Susceptible	8,576	3,652	3,666
Proportion	0.012	0.008	0.004
95% CI	0.010–0.015	0.006–0.012	0.003–0.007

MDR-TB: multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*, Pre XDR-TB: multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* with resistance to injectable drugs or fluoroquinolones, XDR-TB: extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*

Table 5 Area distribution of samples with clinical data

Area	Number of samples	Proportion
Hokkaido-Tohoku	190	0.074
Kanto	1,471	0.575
Chubu-Hokuriku	107	0.042
Kinki	580	0.227
Chugoku-Shikoku	100	0.039
Kyushu	112	0.044
Total	2,560	1.000

Table S1 Anti-tuberculosis drug resistance in new and previously treated patients by geographical region

Region	Category	Result	INH	RFP	SM	EB
Hokkaido-Tohoku	New 186*	Resistant	12	2	11	7
		Susceptible	174	184	175	175
		Proportion (95% CI)	0.065 (0.037–0.109)	0.011 (0.003–0.038)	0.059 (0.033–0.103)	0.038 (0.019–0.077)
	Previously treated 4	Resistant	1	0	1	0
		Susceptible	3	4	3	4
		Proportion (95% CI)	0.250 (0.046–0.699)	0 (0.046–0.180)	0.250 (0.046–0.699)	0 (0.029–0.147)
Kanto	New 1,396	Resistant	54	18	95	15
		Susceptible	1,342	1,378	1,301	1,381
		Proportion (95% CI)	0.039 (0.030–0.050)	0.013 (0.008–0.020)	0.068 (0.056–0.082)	0.011 (0.007–0.018)
	Previously treated 75	Resistant	12	7	8	5
		Susceptible	63	68	67	70
		Proportion (95% CI)	0.160 (0.094–0.259)	0.093 (0.046–0.180)	0.107 (0.055–0.197)	0.067 (0.029–0.147)
Chubu-Hokuriku	New 104	Resistant	2	2	5	3
		Susceptible	102	102	99	101
		Proportion (95% CI)	0.019 (0.005–0.067)	0.019 (0.005–0.067)	0.048 (0.021–0.108)	0.029 (0.010–0.081)
	Previously treated 3	Resistant	0	0	0	0
		Susceptible	3	3	3	3
		Proportion	0	0	0	0
Kinki	New 550	Resistant	28	10	55	16
		Susceptible	522	540	495	534
		Proportion (95% CI)	0.051 (0.035–0.073)	0.018 (0.010–0.033)	0.100 (0.078–0.128)	0.029 (0.018–0.047)
	Previously treated 30	Resistant	7	5	8	5
		Susceptible	23	25	22	25
		Proportion (95% CI)	0.233 (0.118–0.409)	0.167 (0.073–0.336)	0.267 (0.142–0.444)	0.167 (0.073–0.336)
Chugoku-Shikoku	New 96	Resistant	3	0	4	0
		Susceptible	93	96	92	96
		Proportion (95% CI)	0.031 (0.011–0.088)	0 (0.011–0.088)	0.042 (0.016–0.102)	0 (0.011–0.088)
	Previously treated 4	Resistant	0	0	0	0
		Susceptible	4	4	4	4
		Proportion	0	0	0	0
Kyushu	New 108	Resistant	3	0	3	0
		Susceptible	105	108	105	108
		Proportion (95% CI)	0.028 (0.009–0.079)	0 (0.009–0.079)	0.028 (0.009–0.079)	0 (0.009–0.079)
	Previously treated 4	Resistant	1	0	1	0
		Susceptible	3	4	3	4
		Proportion (95% CI)	0.250 (0.046–0.699)	0 (0.046–0.699)	0.250 (0.046–0.699)	0 (0.046–0.699)

*n = 182 for ethambutol

しては49.8% (4,322/8,681) となった。

臨床情報とのリンクが可能であった4,322件についてさらに解析を行った。リンクは完全ではなく、一部しか情報を参照できなかったケースが多く、特に治療歴については1,672件が「空白」、64件が治療歴不明、26件が「LTBIの治療」となっていた。これらのデータを削除した結果、解析患者数は2,560まで減少した (29.5%: 2,560/8,681)。2,529名 (不明31名) の患者の臨床診断名は肺結核94.7% (2,395/2,529) であり、肺外結核が5.3% (134/2,529) であった (肺結核の患者は肺結核のみであるが、肺外結核の患者は肺結核を合併している可能性あり)。これら2,560件の地域内訳をTable 5に示した (Table S1に地域別・治療歴別耐性率を示した)。全データ (Table 2) に比較して関東圏への偏りが大きく、全体の57.5% (1,471/2,560) を占めた。また、2,560件全てでINH, RFP, SMおよびEBの感受性検査データが完全にはそろっておらず、EBで初回治療時の感受性結果が4件不明であった。この条件で未治療および既治療耐性を評価し、Table 6に示した。

2,560件のデータについて、MDR-TB, Pre XDR-TBおよびXDR-TBの存在率を算出した。XDRを判定するために

INH, RFP, KMおよびLVFXのデータがそろっていたのは654件であった。未治療患者および既治療患者でのMDR-TBは各々0.9% (95% CI, 0.6–1.4%) および10.0% (95% CI, 5.8–16.7%) という結果であった。未治療患者にXDR-TBは認められなかったが、Pre XDR-TBが1.3% (95% CI, 0.7–2.5%) という結果となった。

Table 7にAny/Mono resistance, MDR-TBおよびPoly resistanceの内訳を治療歴別に示した。EBの初回治療患者に4件のデータ欠損があるため、全てのデータがそろっている2,556名のみを対象とした。全感受性は未治療患者で89.8%, 既治療患者で78.3%であった。

Table 8に出生国別の薬剤耐性率 (海外での薬剤使用状況を考慮してINH, RFP, SM, EB, LVFXおよびPZAのみ表示), MDRおよびXDRの比率を治療歴別に示した。出生地域の情報あるいは薬剤感受性結果が欠落しているデータがあるため、各薬剤あるいはカテゴリーの評価対象数が異なる結果となった。未治療患者に関する出生国別の耐性率差はINH, RFP, SMおよびPZAで有意な結果であった。

職業区分については無職 (1,572名: 61.5%) が最も多く、常用勤労者 (424名: 16.6%) と臨時雇 (136名: 5.3%),

Table 6 Drug resistances in new and previously treated tuberculosis cases

Drug	INH	RFP	RBT	SM	EB	KM	TH	EVM	PAS	CS	LVFX	PZA
New cases												
Resist.	102	32	1	173	41	15	11	19	13	0	27	18
Suscep.	2,338	2,408	102	2,267	2,395	611	513	502	558	569	823	849
Pr.	0.042	0.013	0.010	0.071	0.017	0.024	0.021	0.036	0.023	0.000	0.032	0.021
95% CI	0.034– 0.050	0.009– 0.018	0.002– 0.053	0.061– 0.082	0.012– 0.023	0.015– 0.039	0.012– 0.037	0.023– 0.056	0.013– 0.039	–	0.022– 0.046	0.013– 0.033
2007	0.031	0.007	–	0.056	0.013	–	–	–	–	–	0.032	–
2007 vs. 2012	0.048	0.071	–	0.061	0.335	–	–	–	–	–	0.898	–
#	2,440	2,440	103	2,440	2,436	626	524	521	571	569	850	867
Previously treated cases												
Resist.	21	12	0	18	10	4	8	3	7	2	9	5
Suscep.	99	108	5	102	110	27	18	23	21	26	29	38
Pr.	0.175	0.100	0.000	0.150	0.083	0.129	0.308	0.115	0.250	0.071	0.237	0.116
95% CI	0.117– 0.253	0.058– 0.167	–	0.097– 0.225	0.046– 0.147	0.051– 0.289	0.165– 0.500	0.040– 0.290	0.127– 0.434	0.020– 0.226	0.130– 0.392	0.050– 0.245
2007	0.123	0.067	–	0.123	0.026	–	–	–	–	–	0.061	–
2007 vs. 2012	0.275	0.312	–	0.413	0.030	–	–	–	–	–	0.014	–
#	120	120	5	120	120	31	26	26	28	28	38	43
Total (combined) cases												
Resist.	123	44	1	191	51	19	19	22	20	2	36	23
Suscep.	2,437	2,516	107	2,369	2,505	638	531	525	579	595	852	887
Pr.	0.048	0.017	0.009	0.075	0.020	0.029	0.035	0.040	0.033	0.003	0.041	0.025
95% CI	0.040– 0.057	0.013– 0.023	0.002– 0.050	0.065– 0.085	0.015– 0.026	0.019– 0.045	0.022– 0.053	0.027– 0.060	0.022– 0.051	0.001– 0.012	0.029– 0.056	0.017– 0.038
2007	0.038	0.012	–	0.062	0.014	–	–	–	–	–	0.034	–
2007 vs. 2012	0.101	0.158	–	0.082	0.112	–	–	–	–	–	0.483	–
#	2,560	2,560	108	2,560	2,556	657	550	547	599	597	888	910

Resist.: resistant, Suscep.: susceptible, Pr.: proportion, #: number of samples

Table 7 Prevalence of drug resistance according to treatment history

	New	Proportion	Previously treated	Proportion	Combined	Proportion
Total	2,436		120		2,556	
All susceptible	2,188	0.898	94	0.783	2,282	0.893
Any resistance						
INH	102	0.042	21	0.175	123	0.048
RFP	32	0.013	12	0.100	44	0.017
SM	173	0.071	18	0.150	191	0.075
EB	41	0.017	10	0.083	51	0.020
Mono resistance						
INH	45	0.018	6	0.050	51	0.020
RFP	8	0.003	0	0	8	0.003
SM	121	0.050	4	0.033	125	0.049
EB	13	0.005	0	0	13	0.005
Multidrug resistance						
INH+RFP	3	0.001	1	0.008	4	0.002
INH+RFP+EB	4	0.002	1	0.008	5	0.002
INH+RFP+SM	4	0.002	3	0.025	7	0.003
INH+RFP+EB+SM	12	0.005	7	0.058	19	0.007
Poly resistance						
INH+EB	2	0.001	0	0	2	0.001
INH+SM	26	0.011	2	0.017	28	0.011
EB+SM	3	0.001	1	0.008	4	0.002
INH+EB+SM	6	0.002	1	0.008	7	0.003
RFP+EB	0	0	0	0	0	0
RFP+SM	0	0	0	0	0	0
RFP+EB+SM	1	0.0004	0	0	1	0.0004

Table 8 Prevalence of drug resistance according to treatment history by place of birth

	INH	RFP	SM	EB	LVFX	PZA	MDR	XDR
Number of data	2,440	2,440	2,440	2,436	873	865	2,440	641
Domestic born								
New								
Resistant	82	21	150	32	22	12	14	0
Susceptible	2,157	2,218	2,089	2,203	780	780	2,225	590
Proportion	0.037	0.009	0.067	0.014	0.027	0.015	0.006	0
95% CI	0.030–0.045	0.006–0.014	0.057–0.078	0.010–0.020	0.018–0.041	0.009–0.026	0.004–0.010	–
Previously treated								
Resistant	18	9	15	8	8	3	9	3
Susceptible	94	103	97	104	28	37	103	26
Proportion	0.161	0.080	0.134	0.071	0.222	0.075	0.080	0.103
95% CI	0.104–0.240	0.043–0.146	0.083–0.209	0.037–0.135	0.117–0.381	0.026–0.199	0.043–0.146	0.036–0.264
Foreign born								
New								
Resistant	12	5	12	3	4	4	5	0
Susceptible	73	80	73	82	30	28	80	21
Proportion	0.141	0.059	0.141	0.035	0.118	0.125	0.059	0
95% CI	0.083–0.231	0.025–0.130	0.083–0.231	0.012–0.099	0.047–0.266	0.050–0.281	0.025–0.130	–
Previously treated								
Resistant	2	2	2	1	0	1	2	0
Susceptible	2	2	2	3	1	0	2	1
Proportion	0.500	0.500	0.500	0.250	0	1.000	0.500	0
95% CI	0.150–0.850	0.150–0.850	0.150–0.850	0.046–0.699	–	–	0.150–0.850	–
P value (domestic vs. foreign in new cases)	0.003	0.030	0.034	0.167	0.057	0.032	0.022	–

P value: p value of drug resistance difference in new cases between domestic and foreign born

自営・自由業（131名：5.1%）を合わせると全体の88.5%（2,263/2,557: データ欠損3）であった。

胸部X線所見（Table 9）では肺結核の性状ごとに主要薬剤の耐性率を算出し、学会分類ⅡとⅢの間にINHの耐性について有意差が示された（0.067 vs. 0.034, p=0.0006）。

Table 10に糖尿病合併の有無と治療歴による耐性率を

示した。糖尿病の合併の有無による耐性率の差は初回治療、既治療ともに認められなかった。胸部X線所見および糖尿病と薬剤耐性との関連については、これまでの療研調査でINH, RFP, SMおよびEBとの関連を調べてきたことから、精度保証を行った主要4剤のみで検討した。HIV感染およびその他についても調査したが、それぞれ

Table 9 Chest X-ray finding and resistances to major four anti-tuberculosis drugs

X-ray finding	Category	INH	RFP	SM	EB
I	Resistant	3	2	7	2
	Susceptible	59	60	55	60
	Proportion	0.048	0.032	0.113	0.032
	(95% CI)	(0.017-0.133)	(0.009-0.110)	(0.056-0.215)	(0.009-0.110)
II	Resistant	67	24	84	28
	Susceptible	932	975	915	968
	Proportion	0.067	0.024	0.084	0.028
	(95% CI)	(0.053-0.084)	(0.016-0.035)	(0.068-0.103)	(0.020-0.040)
III	Resistant	38	18	68	20
	Susceptible	1069	1089	1039	1086
	Proportion	0.034	0.016	0.061	0.018
	(95% CI)	(0.025-0.047)	(0.010-0.026)	(0.049-0.077)	(0.012-0.028)

Table 10 Anti-tuberculosis drug resistance in new and previously treated patients with or without diabetes mellitus complication

Disease	History	Category	INH (n=1,737)	RFP (n=1,737)	SM (n=1,737)	EB (n=1,734)
DM+	New	Resistant	18	7	26	5
		Susceptible	364	375	356	377
		Proportion	0.047	0.018	0.068	0.013
		(95% CI)	(0.030-0.073)	(0.009-0.037)	(0.047-0.098)	(0.005-0.030)
	Previously treated	Resistant	4	3	2	2
		Susceptible	13	14	15	15
DM-	New	Resistant	55	17	87	22
		Susceptible	1229	1267	1197	1259
		Proportion	0.043	0.013	0.068	0.017
		(95% CI)	(0.033-0.055)	(0.008-0.021)	(0.055-0.083)	(0.011-0.026)
	Previously treated	Resistant	11	8	11	6
		Susceptible	43	46	43	48
P value	DM+ vs. DM- in new cases		0.634	0.392	0.899	0.754
	DM+ vs. DM- in previously treated cases		0.671	0.637	0.573	0.728

DM: diabetes mellitus

Table 11 Drug resistances among multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates (n=99)

Drug (critical concentration; µg/ml)	INH 0.2	INH 1.0	RFP 40	SM 4.0	EB 2.0	KM 30	AMK 30	CPM 40	TH 40	PAS 1.0	CS 30	LVFX 2.0	MFLX 0.5	PZA 100
Resistant	99	78	99	75	76	29	17	28	55	39	14	54	54	49
Susceptible	0	21	0	24	23	70	82	71	44	60	85	45	45	50
Proportion	1.000	0.788	1.000	0.758	0.768	0.293	0.172	0.283	0.556	0.394	0.141	0.545	0.545	0.495
95% CI	—	0.707-0.868	—	0.673-0.842	0.684-0.851	0.203-0.383	0.097-0.246	0.194-0.372	0.458-0.653	0.298-0.490	0.073-0.210	0.447-0.644	0.447-0.644	0.396-0.593

AMK: amikacin, CPM: capreomycin, MFLX: moxifloxacin

データの欠損が1,000件以上あり、解析を行わなかった。
〔多剤耐性結核菌の収集〕

MDR-TBとして別に収集された124株のうち、18株はMDR-TB以外であった。また2株発育しなかったため、最終的に評価されたMDR-TBは99株となった。また、そのうちXDR-TBと判定 (INH, RFP, KM, LVFX耐性) されたのは23株で、MDR-TBに占める比率は23.2% (23/99, 95% CI: 13.2–33.1) であった。Table 11にはMDR-TBにおける二次薬耐性を示した。

考 察

第15回となる結核療法研究協議会結核菌薬剤耐性全国調査を実施した。今回は薬剤感受性試験結果のみを研究参加施設から精度保証下に収集した。臨床情報については、結核登録者情報システム (NESIDの一部) から登録保健所名、生年月日および性別をタグとしてリンクさせる方法を用いた。研究参加施設は当初予定の67施設から49施設まで減少したものの、データ総数については収集期間を2年間としたことで目標を上回った。Table 2からも明確なように、治療歴等の臨床情報を含まないデータ全体としては同時期の地域別の罹患数と有意差はあるものの期待値と比率の一致しており、2012～2013年当時の日本の抗結核薬剤耐性状況を反映していると考えられた。これによると、INH, RFP, SMおよびEBのcombined resistanceは2007年に比較して上昇しており、INHについては統計的有意差を認めた ($p=0.0027$)。治療歴や出生地域といった臨床情報を伴わないデータの解析であるためINH耐性増加の原因の推定は困難であるが、後述する臨床情報とのリンクから推定される原因として、薬剤耐性率の高い外国出生者の結核が増加していることによるproportionとしての増加が考えられた¹⁷⁾。結核の統計2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017および2018を比較すると、2012年を最低値 (4.6%) として緩徐なINH耐性率の増加が認められ、2017年には4.9%となっており、同様の耐性率上昇傾向がRFPでも報告されている^{4)~9) 14)}。また一検査センターにおける抗結核薬耐性状況の年次推移を報告した発表でも2013年以降INH, RFP, SMおよびEBの耐性率の上昇傾向が示されている¹⁰⁾。これらを勘案すると、日本における抗結核薬耐性率は少なくとも主要4薬剤について上昇傾向にあると考えられた。さらにcombined resistanceでは2007年の療研調査に比べてMDR-TBが1.2%となり結核の統計2014に示されている0.4%とは乖離した結果となった⁵⁾。原因として、結核病床を有する施設が中心となって情報収集が行われたことによる過大評価が考えられたが、登録者情報システムの入力率が80%未満であり^{4)~9)}、なおかつ感受性試験の精度保証が行われていないことを考えると、今回のデータは耐

性率を高め評価している可能性があるものと考えられた。KMおよびLVFXについて精度保証を行っていないが、XDR-TBは0.4%であり、MDR-TBにおけるXDR-TBの割合は23.2% (23/99, 95% CI: 13.2–33.1) となった。

今回、日本国内におけるPZAの耐性率が初めて明らかとなった。ただしPZAの薬剤感受性試験について外部精度評価を含む検査精度保証は行っていないため、PZA耐性と判定された株の3分の1程度は偽耐性である可能性があり¹⁸⁾、解釈上の注意が必要と考えられた。

結核登録者情報システムのデータを利用し、薬剤感受性試験結果とのリンクを行った。しかしながら臨床情報提供を依頼した時点でそれぞれの自治体の登録者情報の取扱いに関する方針により情報提供を断られる場合が多く、結果的に検査情報と臨床情報とのリンクは不十分 (49.8%) と言わざるをえない状況であった。さらに、詳細な理由は不明ながらリンクが可能であった臨床情報から患者の治療歴に関する情報を完全に収集することができなかったため、最終的に2,560件 (患者数) での解析となった。地域的には関東が57.5%、近畿が22.7%であり、これら2地域で全体の80%を占めていた (Table 5)。従って今回得られた結果は基本的に大都市圏のみのデータであると考えられ、日本全体を代表するとは言い難いものとなった。

前述のとおりメタデータの信頼性に問題があるものの、患者群を治療歴別に未治療結核患者 (New) と既治療結核患者 (Previously treated) とに分けて薬剤ごとの耐性率を比較したところ、全データにおけるcombined resistanceでの場合と同様に新規結核患者でINHの耐性率が2007年に比して有意に上昇していた。一方で、Table 8の日本出生患者のINH耐性率は0.037であり、2007年のINH未治療耐性率0.031とほぼ同じであった ($p=0.266$)²⁾。日本出生者と外国出生者の初回治療において、RFPを含めて外国出生患者で有意に耐性率が高い薬剤が多いことが示されており、INH未治療耐性の有意な増加も外国出生者の高INH耐性が影響していると考えられた。MDR-TBを含む耐性結核において、海外からの輸入が増加している可能性を示すものと思われた。

今回の調査では胸部X線所見上有空洞例でINH, RFP, SMおよびEBに関して耐性率が高くなる傾向が示され、INHについてはⅡ型とⅢ型で耐性率に有意差があった。これは耐性の比較的少ない高齢者で空洞性病変が少なく、さらに外国出生者の占める割合が高い青年層で空洞性病変が多くなることを反映している可能性が考えられた¹⁹⁾。糖尿病の合併の有無による薬剤耐性率の差は2007年の調査ではRFP既治療耐性で認められていたが、今回の調査では認められなかった²⁾。Tegegne BSらはMDR-TBと糖尿病との間には有意な相関があると報告しているが²⁰⁾、

今回の調査結果では糖尿病患者での有意な耐性上昇は認めず、本邦では糖尿病患者においても適切な治療マネジメントが行われていると考えられた。

療研薬剤耐性結核調査は今回で15回目となったが、疫学調査としての統計の正当性を与えるため、耐性率が比較的低い状況下できわめて多数のデータを収集する必要がある、参加施設をはじめとして研究実施上の大きな負担となった。また、精度保証要件を繰り返し確認することで参加施設数が減少することにもつながった。前述のとおり本邦の抗結核薬剤耐性率は上昇しつつあると思われる、今後はサーベイランスシステムとしての適時性を確保していく必要があると考えられた。そのためには、薬剤感受性試験の精度保証を定期的実施し、検査データと臨床情報を効率的にリンクするシステムが必要と考えられた。

研究参加施設が第14回の調査時とほぼ同じであることから、薬剤耐性率の相対的比較は可能と思われた。結論として第15回となる療研薬剤耐性結核調査からは、これまで漸減傾向を続けてきた薬剤耐性率が主要薬剤で再上昇傾向にあることが考えられた。特に外国籍の患者で耐性率が高く、日常診療上注意が必要と考えられた。

結 語

第15回となる療研薬剤耐性結核調査を実施した。2007年と比較するとcombined resistanceおよび初回治療でINH耐性率が有意に高値であり、他の薬剤でも2007年から2012～2013年の間で耐性率の上昇傾向が示された。臨床情報と薬剤感受性結果のリンクが可能であったデータ数が全体の3分の1程度にとどまり、代表性には疑問がもたれたものの、外国出生患者で初回治療耐性率が高いことが示された。

謝 辞

本研究に参加された全ての療研施設に深謝申し上げる。

国立病院機構（以下NHO）北海道医療センター、北海道社会保険病院、北海道中央労災病院、岩手県立中央病院、宮城県立循環器・呼吸器病センター、NHOあきた病院、NHO山形病院呼吸器科、福島県立医科大学附属病院、NHO茨城東病院、NHO宇都宮病院、NHO西群馬病院、埼玉県立循環器・呼吸器病センター、NHO東埼玉病院、さいたま市立病院、(財)化学療法研究所附属病院、NHO千葉東病院、東京都立多摩総合医療センター、NHO東京病院、川崎市立井田病院、横須賀共済病院、NHO西新潟中央病院、NHO富山病院、金沢市立病院、NHOまつもと医療センター、NHO天竜病院、公立陶生病院、NHO東名古屋病院、NHO東近江総合医療センター、(一財)結核予防会大阪病院、NHO近畿中央胸部疾患センター、

大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター、西神戸医療センター、NHO和歌山病院、NHO松江医療センター、岡山県健康づくり財団附属病院、川崎医科大学附属川崎病院、NHO東広島医療センター、NHO山口宇部医療センター、NHO高松医療センター、NHO愛媛医療センター、医療法人西福岡病院、福岡大学医学部呼吸器科、NHO大牟田病院、NHO東佐賀病院、長崎大学病院、NHO西別府病院、NHO南九州病院、NHO沖縄病院、(公財)結核予防会複十字病院、以上49施設

この研究は平成28年度日本医療研究開発機構研究費（新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発研究事業）課題管理番号15fk0108017h0002（主任研究者：石川信克）の分担研究として実施された。

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

文 献

- 1) World Health Organization: Global tuberculosis report 2018, World Health Organization, Geneva, 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- 2) Tuberculosis Research Committee (RYOKEN): Nationwide survey of anti-tuberculosis drug resistance in Japan. Int J Tuber Lung Dis. 2015 ; 19 (2) : 157-162.
- 3) Wright A, Zignol M, Van Deun A, et al. for the Global Project on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance: Epidemiology of antituberculosis drug resistance 2002-07: an updated analysis of the Global Project on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance. Lancet. 2009 ; 373 : 1861-1873.
- 4) 結核予防会：結核の統計2013. 結核予防会, 2013.
- 5) 結核予防会：結核の統計2014. 結核予防会, 2014.
- 6) 結核予防会：結核の統計2015. 結核予防会, 2015.
- 7) 結核予防会：結核の統計2016. 結核予防会, 2016.
- 8) 結核予防会：結核の統計2017. 結核予防会, 2017.
- 9) 結核予防会：結核の統計2018. 結核予防会, 2018.
- 10) 高木明子, 玉井清子, 霜島正浩, 他：検査センターデータによる結核菌薬剤耐性推移：2009-2014. 日本臨床微生物学会雑誌. 2016 ; 26 (S1) : 370.
- 11) Abe C, Hirano K, Wada M, et al.: (Ryohken): Resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to four first-line anti-tuberculosis drugs in Japan, 1997. Intl J Tuber Lung Dis. 2001 ; 5 : 46-52.
- 12) Tuberculosis Research Committee (RYOHKEN): Drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Japan: A nationwide surveillance in 2002. Int J Tuber Lung Dis. 2007 ; 11 : 1129-1135.
- 13) World Health Organization: Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis - 4th ed. WHO/HTM/TB/2009.422.

- 14) 結核予防会：結核の統計2012. 結核予防会, 2012.
- 15) 日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会：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. 結核. 2015 ; 90 : 481-490.
- 16) World Health Organization: Technical Report on critical concentrations for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis. Geneva: World Health Organization; 2018 (WHO/CDS/TB/2018.5). Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- 17) Kawatsu L, Uchimura K, Izumi K, et al.: Profile of tuberculosis among the foreign-born population in Japan, 2007-2014. WPSAR. 2016 ; 7 : 7-16.
- 18) 御手洗聡, 山田博之, 青野昭男, 他：結核菌のPyrazinamide 感受性試験に関する外部精度評価. 結核. 2017 ; 92 : 519-527.
- 19) 豊田恵美子, 町田和子, 長山直弘, 他：高齢者結核の臨床的検討. 結核. 2010 ; 85 : 655-660.
- 20) Tegegne BS, Mengesha MM, Teferra AA, et al.: Association between diabetes mellitus and multi-drug-resistant tuberculosis: evidence from a systematic review and meta-analysis. Syst Rev. 2018 ; 7 : 161. doi : 10.1186/s13643-018-0828-0.

—————Original Article—————

NATIONWIDE SURVEY OF ANTI-TUBERCULOSIS DRUG RESISTANCE IN JAPAN: 2012-2013

Tuberculosis Research Committee (RYOKEN)

Abstract [Objective] To clarify the anti-tuberculosis drug resistance in Japan in 2012-2013 through 15th nationwide survey by Tuberculosis Research Committee (Ryoken).

[Method] A total of 8,681 *Mycobacterium tuberculosis* drug susceptibility testing (DST) data to isoniazid (INH), rifampicin (RFP), streptomycin (SM) and ethambutol (EB) was collected from 49 medical facilities in Ryoken consortium with confirmed quality through external quality assurance. Accordingly, we could link a total of 2,560 patients' clinical information with DST results utilising a part of National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases (NESID) system, and the drug susceptibilities were analysed according to the patients' treatment history, nationality, comorbidities and other factors.

[Results] The combined/total frequencies of drug-resistant *M. tuberculosis* isolates were as follows; INH, 5.3% (95% CI, 4.8-5.8); RFP, 1.6% (95% CI, 1.3-1.8); SM, 7.2% (95% CI, 6.6-7.7); and EB, 1.9% (95% CI, 1.6-2.2). As to the linked data (n=2,560), the frequencies of drug-resistant isolates from new cases were as follows; INH, 4.2% (95% CI, 3.4-5.0); RFP, 1.3% (95% CI, 0.9-1.8), SM, 7.1% (95% CI, 6.1-8.2); and EB, 1.7% (95% CI, 1.2-2.3). The frequencies of drug-resistant isolates from previously treated cases were as follows; INH, 17.5% (95% CI, 11.7-25.3); RFP, 10.0% (95% CI, 5.8-16.7), SM, 15.0% (95% CI, 9.7-22.5); and EB, 8.3% (95% CI, 4.6-14.7). The frequencies of multidrug-resistant *M. tuberculosis* isolates from new and previously treated cases

were 0.9% (95% CI, 0.6-1.4%) and 10.0% (95% CI, 5.8-16.7%), respectively. A significant differences were observed in INH, RFP and SM resistances in new cases between domestic and foreign born patients.

[Discussion] In the current study, INH showed a statistically significant increase in combined and new resistances compared to those of 14th survey in 2007, as other drug resistances showed increasing trends. The foreign-born new tuberculosis patients showed high drug resistances, compared to domestic patients. However, as to the analyses of 2,560 DST data with clinical information, the effective links of these data was limited to approximately 1/3 of total DST data collected, and the origins of linked data were mainly from Kanto and Kinki area. So the clinical analyses of the laboratory data will be representing some metropolitan area but not a whole country. It was a major limitation of this study, but the data will be useful to consider updated increasing trend of tuberculosis drug resistances in Japan.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*, Drug susceptibility testing, External quality assessment, Drug resistance

Correspondence to: Satoshi Mitarai, 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)