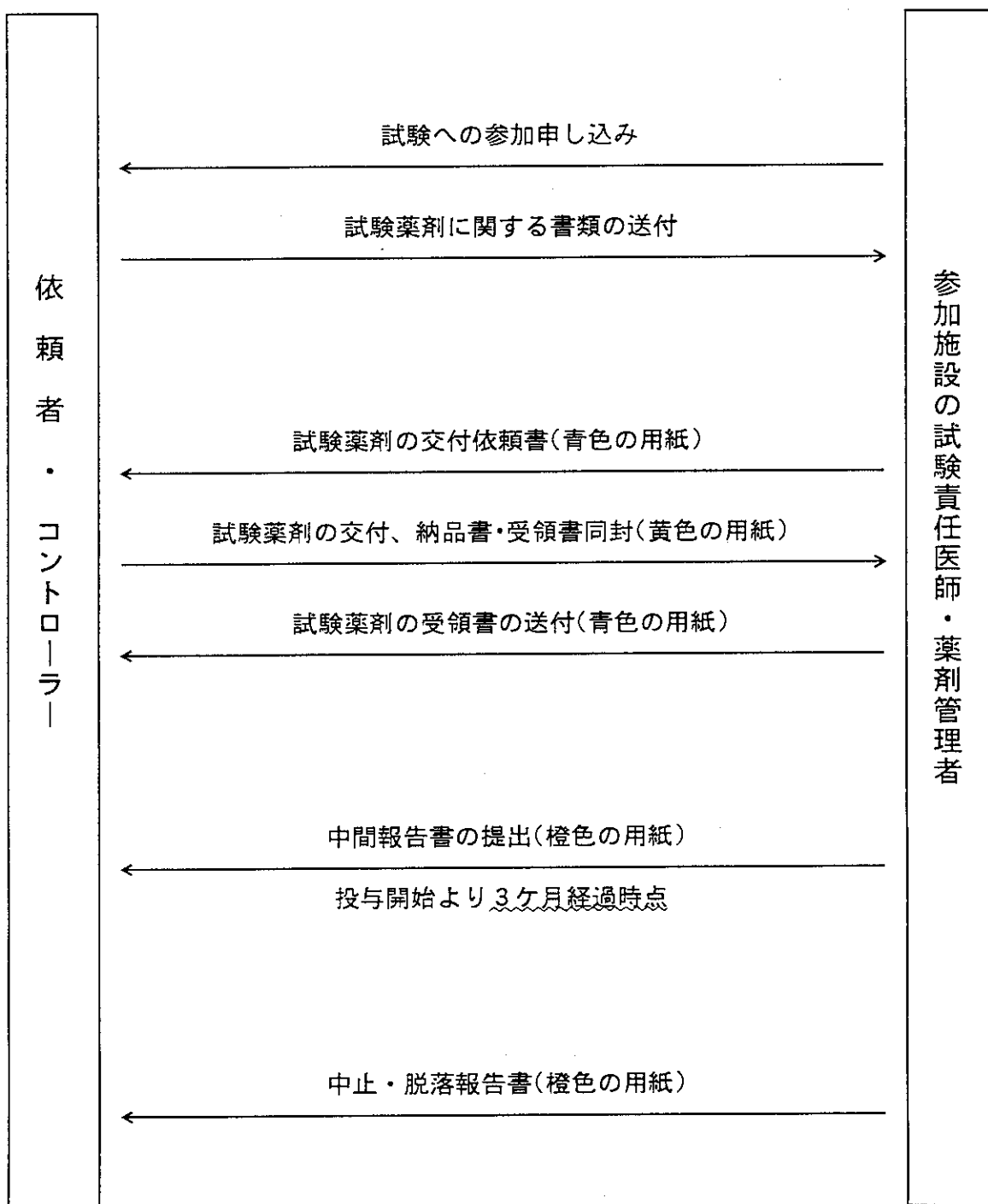


試験薬剤の取扱い手順書（平成11年2月1日作成）

* 次ページのフローチャート参照のこと

試験薬剤名	アンサー20注およびプラセボ（生食液）		
手 順	内 容	依頼者及びコントローラーが 保管すべき書類	受託機関が保管すべ き書類
1. 試験薬剤の 授受	<ul style="list-style-type: none"> 試験薬剤の交付依頼に従い交付する。 納品書と共に受領書を併せて試験薬剤と共に交付する。 受領した試験薬剤は、納品書に記載された数量、番号を確認し、受領書に日付を記載し署名または記名・捺印して、返却する。 	<p>試験薬剤交付依頼書</p> <p>試験薬剤受領書</p>	<p>試験薬剤交付依頼書 （控え）</p> <p>試験薬剤納品書</p>
2. 取扱い、保管	<ul style="list-style-type: none"> 保存条件等を定めた文書に記載 	保存条件等を定めた 文書	保存条件等を定めた 文書
3. 管理・出庫	<ul style="list-style-type: none"> 薬剤管理者は、処方毎に試験薬剤の番号とカルテ番号等の記載を確認する。 試験薬剤管理表により受領後の薬剤の数量管理の記録を作成する。 試験薬剤を処方した場合には、管理表に記載する。 	試験薬剤の施設別 交付管理表	試験薬剤の管理表
4. 処 方	<ul style="list-style-type: none"> 初回処方する際には、試験薬剤の箱にカルテ番号、患者イニシャル、性別、年齢、投与開始月日を記載する。 処方の際には、指定された試験薬剤である事を、薬剤番号、カルテ番号、患者イニシャル、性別、年齢、投与開始日を確認して被験者に交付すること。 1症例分の試験薬剤は、必ず同一患者に使用すること。 上記の記録を医療機関において別添管理表以外で行う場合は、同じ項目を記録出来るもので行うこと。 		
5. 中間報告、 中止・脱落	<ul style="list-style-type: none"> 投与開始、3ヶ月経過後に中間報告書にて経過を依頼者に連絡すること。 投与中止或いは患者脱落の場合は、中止・脱落報告書にて依頼者に連絡すること。 	<p>中間報告書</p> <p>中止・脱落報告書</p>	<p>中間報告書</p> <p>中止・脱落報告書</p>
6. 未使用の試験 薬剤の返却	<ul style="list-style-type: none"> 未使用の試験薬剤は、試験終了後に返却するまで保管する 未使用の数量が、試験薬剤の管理表に基づき、数量が正しく管理されていることを確認する。 返却時には、試験薬剤の返却書に交付された数量と返却数量および試験薬剤の番号を記載して、日付・署名または記名・捺印する。 	試験薬剤返却書	試験薬剤返却書 コピー
7. 未使用の試験 薬剤の処分	<ul style="list-style-type: none"> 返却時に数量等に差異が生じた場合は、試験薬剤の管理表に「差異に対する理由」を記載し、日付、署名または記名・捺印する。 		試験薬剤の管理表
8. その他遵守 すべき事項	<ul style="list-style-type: none"> 試験薬剤の管理者は、医療機関の長に任命された者とする。 本手順書に従って、試験薬剤を取扱う場合、書類等の保存は、依頼者またはコントローラーから指示があるまでとするが、指示がない場合は3年間とする。 	試験薬剤の取扱い 手順書	試験薬剤の取扱い 手順書

連絡事項のフローチャート



試験薬剤の保存条件を定めた文書（平成11年2月1日作成）

1. 試験薬剤

試験薬剤名 製造会社 Lot. No.	アンサー20注：1 mL中にZ-100原液を10 μ L（D-アラビノース換算糖含量として20 μ g）含有する注射液。 添加物として塩化ナトリウム 9.0 mgを含有する。 セリ新薬工業（株）製 Lot. No. :
	プラセボ：アンサー20注と識別不能な注射液で1 mL中に添加物として（生理食塩水）塩化ナトリウム 9.0 mgを含む （株）大塚製薬工場製 Lot. No. : 8J84N

2. 試験薬剤の薬剤番号および包装形態

薬剤番号	各白箱には、「 番」が記載されている また下記の内容が箱の上部に記載されている。 試験薬剤番号： 番（ 本～ 本分） カルテ番号： 患者イニシャル： 性別・年齢： 投与開始年月日：
包装形態	何れの試験薬剤共に、同じ白箱に入っている。 各白箱には、1 mLのガラスアンプル（青い777カット・マーク入り）が、10本入っている。 1症例分として、50本（破損・紛失時の予備としての2本を含む）

3. 安定性

アンサー20注はアンプル／紙箱の包装形態において、室温で39ヶ月安定であることが確認されている。

40℃においては、9ヶ月また室温・蛍光灯下（2000Lux）で90万Lux・hrまで安定である。

4. 貯法

室温保存

5. 使用期限

アンサー20注：平成 年 月まで

プラセボ（生理食塩水）：平成 13年 10月まで

6. 規制区分

アンサー20注は、指定医薬品、要指示医薬品の規制を受けている。

(薬剤交付希望時に、責任医師 → 和田先生宛に「交付依頼書のみ」をFAX送信して下さい)

(財)結核予防会 結核研究所 疫学研究部(担当) 和田 雅子 先生 宛
TEL 0424-93-5711 FAX 0424-92-4600

「薬剤耐性結核のサベ イアス・耐性の分子機構および多剤耐性結核の治療に関する研究」

試験薬剤の交付依頼書

カルテの番号		患者イニシャル	姓	名
投与開始予定日	平成 年 月 日	年齢	歳	性別 <input type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女

上記の患者を試験対象と致しましたので、試験薬剤の交付をお願いします

平成 年 月 日

施設名、診療科： (科)

試験責任医師名： _____ 印

----- 切り取り線 -----

(薬剤の交付依頼時に、責任医師の控え分)

「薬剤耐性結核のサベ イアス・耐性の分子機構および多剤耐性結核の治療に関する研究」

試験薬剤の交付依頼書 (控え)

カルテの番号		患者イニシャル	姓	名
投与開始予定日	平成 年 月 日	年齢	歳	性別 <input type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女

上記の患者を試験対象と致しましたので、試験薬剤の交付をお願いします

平成 年 月 日

施設名、診療科： (科)

試験責任医師名： _____

----- 切り取り線 -----

(薬剤返却時に、試験薬剤管理者 → 返却薬剤と共に和田先生宛に送付して下さい)

(財)結核予防会 結核研究所 疫学研究部(担当) 和田 雅子 先生 宛
〒204-0022 東京都清瀬市檢山3-1-24 TEL 0424-93-5711

「薬剤耐性結核のサベ イアス・耐性の分子機構および多剤耐性結核の治療に関する研究」

試験薬剤の返却書

試験薬剤の番号		交付本数	本	数量差異の理由(除、予備分2本)
カルテの番号		返却本数	本	

上記の患者用の試験薬剤を返却致します

平成 年 月 日

施設名、診療科： (科)

試験薬剤管理者名： _____ 印

(薬剤交付時に → 試験薬剤管理者へ、送付して下さい) -受領書は切り取らないで送付すること-

「薬剤耐性結核のチー・イリス・耐性の分子機構および多剤耐性結核の治療に関する研究」

試験薬剤の納品書

施設名、診療科： _____ (_____ 科)

試験薬剤管理者名： _____ 先生

カルテの番号		患者イニシャル	姓	名
試験薬剤の番号		試験薬剤の本数(予備分2本を含む)		本

ご依頼のありました、上記、患者用の試験薬剤をお納め致します

平成 ____ 年 ____ 月 ____ 日

「薬剤耐性結核のチー・イリス・耐性の分子機構および
多剤耐性結核の治療に関する研究」研究班

(財)結核予防会 結核研究所
疫学研究部

和田 雅子

----- 切り取り線 -----

(薬剤を受け取った試験薬剤管理者は → 受領書のみを同封の封筒にて和田先生に返送して下さい)

「薬剤耐性結核のチー・イリス・耐性の分子機構および多剤耐性結核の治療に関する研究」研究班
(財)結核予防会 結核研究所 疫学研究部(担当) 和田 雅子 先生 宛

TEL 0424-93-5711 FAX 0424-92-4600

「薬剤耐性結核のチー・イリス・耐性の分子機構および多剤耐性結核の治療に関する研究」

試験薬剤の受領書

試験薬剤の番号		試験薬剤の本数(予備分2本を含む)	本
患者のカルテ番号		* 試験薬剤の番号、本数を確認し、記入して下さい	

上記の通り、試験薬剤を受領致しました

平成 ____ 年 ____ 月 ____ 日

施設名、診療科： _____ (_____ 科)

試験薬剤管理者名： _____ 印

注意 薬剤の投与開始から3ヶ月経過時に、同封の封筒に入れて和田先生宛に連絡して下さい

(財)結核予防会 結核研究所 疫学研究部(担当) 和田 雅子 先生 宛
〒204-0022 東京都清瀬市検山3-1-24 TEL 0424-93-5711

「薬剤耐性結核のサベ イラス・耐性の分子機構および多剤耐性結核の治療に関する研究」

中間報告書

カルテの番号		患者イニシャル	姓	名
試験薬の投与開始	平成 年 月 日	所感		

標記の対象患者は、試験を継続していることを連絡致します

平成 年 月 日

施設名、診療科： (科)

試験責任医師名： 印

----- 切り取り線 -----

注意 中止・脱落の場合は、同封の封筒に入れて和田先生宛に連絡をして下さい

(財)結核予防会 結核研究所 疫学研究部(担当) 和田 雅子 先生 宛
〒204-0022 東京都清瀬市検山3-1-24 TEL 0424-93-5711

「薬剤耐性結核のサベ イラス・耐性の分子機構および多剤耐性結核の治療に関する研究」

中止・脱落報告書

カルテの番号		患者イニシャル	姓	名
試験薬の投与開始	平成 年 月 日	中止日	平成 年 月 日	

標記の対象患者は、本試験から中止・脱落したことを連絡致します

中止・脱落の理由	<input type="checkbox"/> 副作用 <input type="checkbox"/> 自覚症状の悪化 <input type="checkbox"/> 合併症・偶発症 <input type="checkbox"/> 臨床検査値の悪化 <input type="checkbox"/> 患者からの申し出 <input type="checkbox"/> 来院せず <input type="checkbox"/> その他()
----------	---

平成 年 月 日

施設名、診療科： (科)

試験責任医師名： 印

* 緊急の連絡先 (財)結核予防会結核研究所 疫学研究部(担当)
和田 雅子
TEL 0424-93-5711 FAX 0424-92-4600
(財)結核予防会 複十字病院 薬剤科(コントローラー)
溝口 國弘
TEL 0424-91-4111 FAX 0424-91-5275

試験薬剤の施設別交付管理表

(財) 結核予防会 複十字病院
薬剤科

印 _____

交付施設名		交付指示月日	平成 年 月 日
試験責任医師名		試験薬剤管理者名	

交付試験薬剤の番号		交付年月日	平成 年 月 日	数量	本
対象患者の情報	イニシャル	姓 名	性別	<input type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女	年齢 歳
投与開始日	平成 年 月 日	中間報告予定日	平成 年 月 日		
中止・脱落の有無	<input type="checkbox"/> 中止 平成 年 月 日	<input type="checkbox"/> 脱落 平成 年 月 日	中間報告	<input type="checkbox"/> 済み <input type="checkbox"/> 未	
薬剤の返却日	平成 年 月 日	返却数量			本

交付試験薬剤の番号		交付年月日	平成 年 月 日	数量	本
対象患者の情報	イニシャル	姓 名	性別	<input type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女	年齢 歳
投与開始日	平成 年 月 日	中間報告予定日	平成 年 月 日		
中止・脱落の有無	<input type="checkbox"/> 中止 平成 年 月 日	<input type="checkbox"/> 脱落 平成 年 月 日	中間報告	<input type="checkbox"/> 済み <input type="checkbox"/> 未	
薬剤の返却日	平成 年 月 日	返却数量			本

交付試験薬剤の番号		交付年月日	平成 年 月 日	数量	本
対象患者の情報	イニシャル	姓 名	性別	<input type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女	年齢 歳
投与開始日	平成 年 月 日	中間報告予定日	平成 年 月 日		
中止・脱落の有無	<input type="checkbox"/> 中止 平成 年 月 日	<input type="checkbox"/> 脱落 平成 年 月 日	中間報告	<input type="checkbox"/> 済み <input type="checkbox"/> 未	
薬剤の返却日	平成 年 月 日	返却数量			本

交付試験薬剤の番号		交付年月日	平成 年 月 日	数量	本
対象患者の情報	イニシャル	姓 名	性別	<input type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女	年齢 歳
投与開始日	平成 年 月 日	中間報告予定日	平成 年 月 日		
中止・脱落の有無	<input type="checkbox"/> 中止 平成 年 月 日	<input type="checkbox"/> 脱落 平成 年 月 日	中間報告	<input type="checkbox"/> 済み <input type="checkbox"/> 未	
薬剤の返却日	平成 年 月 日	返却数量			本

試験成績書

提出先 株式会社 関東科研 殿

徳島県徳門市藤原町立巻字芥原115




製品名 日局 生薬食塩液 大塚生食注

株式会社 大塚製薬



製造番号 8J84N

試験年月日 1998/10/30

品質管理 責任者	試験担当責任者	
		

試験成績

項 目	結 果
性状	適 適合
確認試験	適 適合
pH	適 6.34
純度試験 (1)重金属	適 認めず
(2)ヒ素	適 認めず
含量 : 塩化ナトリウム	適 0.899 W/V%
発熱性物質試験	適 適合
実容量試験	適 適合
不溶性異物検査	適 適合
不溶性微粒子試験 10 μ m以上	適 0.0 個/mL
25 μ m以上	適 0.0 個/mL
無菌試験	適 適合
判定	適
備考 容器名 ポリプロピレン容器	表示量 500mL

発行日 1999/01/19

薬剤の割付記録

1. 試験名

薬剤耐性結核のサヘ・イリス・耐性の分子機構および多剤耐性結核の治療に関する研究

2. 日 時： 平成11年2月15日（月）15時～18時

3. 場 所：（財）結核予防会 結核研究所会議室

4. 出席者： コントローラー：（財）結核予防会 複十字病院 薬剤科 溝口 國弘先生
および薬剤科員

試験担当者：（財）結核予防会 結核研究所 疫学研究部 和田 雅子先生

作 業 手 順

1. 割付薬剤

アンサー20注：1 mL中にZ-100原液を10 μ L（D-アラビノース換算糖含量として20 μ g）含有する注射液。

添加物として塩化ナトリウム 9.0 mgを含有する。

プラセボ：アンサー20注と識別不能な注射液で1 mL中に添加物として（生理食塩水）塩化ナトリウム 9.0 mgを含む

2. 割付準備

作業が正確に効率的に進行できるようにスペースを確保して実施。

①試験薬剤の確認

- ・アンサー20注、生理食塩水であることを全数確認。
- ・1症例あたりの必要本数 50本（予備分2本を含む）
50本の内訳は、週2本×4週/月×6ヶ月に予備2本
- ・アンサー20注、生理食塩水の各7症例分の各々350本があることを確認。

②試験薬剤の区分

- ・アンサー20注の10本入りロッドレションに付箋紙（赤色）、生理食塩水に付箋紙（黄色）を貼る。
- ・1症例分は、10本入りのロッドレションの入った白箱が5箱、計777本50本からなっている事を確認。各々の白箱にも付箋紙を貼付。

③試験薬剤番号の設定

- ・1番から14番までを設定し、白箱に番号を含む諸事項記載のシールを貼付。

④番号の記載、各試験薬剤の識別不能性の確認

- ・コントローラーは、試験薬剤番号が1～14番記載された白箱が用意されていることを確認。
- ・両試験薬剤の外観および包装容器の識別不能性を確認。

2. 割 付

- ・コントローラー以外は、指示があるまで室外にて待機。
- ・コントローラーは
 1. 割付表に従い、何れかの試験薬剤を番号記載（1～14番）の白箱に入れる。（付箋紙を白箱に貼付しておく）
 2. 割付表の番号と試験薬剤が一致している事を確認。
 3. 白箱から付箋紙をはがす。

3. 割付表の保管

- ・コントローラーは、薬剤割付表を保管する。
- ・緊急用として「封印」した割付表を別途保管する。

4. 記 録

- ・試験薬剤の内容、識別不能性および割付が正当に行われた事を議事として記録。

5. キーオープン

- ・試験終了後に全症例データがfixした後に、コントローラーは、割付表から各症例に使用した薬剤情報を開示する。

以上の作業手順に従って作業を行い、議事内容を確認したので署名・捺印する。

平成 年 月 日

（財）結核予防会 複十字病院
薬剤科長

印

難治性 AIDS 合併非定型抗酸菌症(MAC)に関する研究 — 診断法の改善に関する検討 —

分担研究者： 安岡 彰 国立国際医療センター エイズ治療・
研究開発センター医長
研究協力者：酒井敦子、照屋勝治、立川夏夫、菊池 嘉、岡 慎一
国立国際医療センター エイズ治療・研究開発センター

研究要旨 日本における HIV 感染症の重要な合併日和見感染症である播種性非定型抗酸菌症の診断の改善のため、血液からの菌検出率を改善する目的で、7H9 液体培地を用いた液体培養法および血液からの PCR 法について検討した。液体培養法は血液 1mL を浸透圧溶血の後、培地に接種した。PCR 法は溶血洗浄の後、guanidium 法で遺伝子の抽出を行い Roche Amplicor Mycobacterium キットを用いて行った。HIV 陽性患者 45 名から得られた 165 検体を検討した。液体培養法では陽性検体の 88.2% (15/17) で、PCR 法では 72.2% (13/18) で陽性となり、従来法と比較し検出率の改善が得られた。2つの方法は相補的であり、両方を組み合わせることによって、より検出率を改善できるものと思われた。

A. 目的

進行した HIV 感染症にみられる日和見感染症の頻度は、患者の地理的・社会的環境の違いにより異なっていることが知られている。世界的には結核症が HIV 感染症において最も高頻度で見られ予後を規定している疾患として知られており、発展途上国においては結核のコントロールが最大のエイズ対策となっている。しかし、本邦においては米国などと同様 HIV 感染者に結核を合併する率はさほど高くない。一方、非定型抗酸菌による播種性感染症・リンパ節炎は AIDS 診断疾患としては 5 番目に多く重要な感染症となっている。本症は CD4 数が $100 \sim 50 / \mu l$ 以下で発症する難治性合併症であること

が知られており、また一般臨床でルーチンに行われる検査法では検出されないため、診断・治療とも困難さを伴っている。

播種性非定型抗酸菌症(MAC 症)の診断は繰り返し採取した末梢血液から培養によって抗酸菌を検出することとされている。欧米の報告によれば Isolator のような Lysis centrifugation 法により、 $10^1 \sim 10^4/ml$ もの菌量が認められるとされているが、これまで我々が臨床的には MAC 症と考え、治療にも反応した症例で菌が検出されないという事態を少なからず経験してきた。

PCR は最近感染症の診断のために迅速で高感度な方法として様々な臨床応用がなされており、結核菌や

M.avium、*M.intracellulare* に対する PCR キットはすでに医療保険の給付対象となっている。しかし、これらのキットは喀痰などの呼吸器検体を対象としており、血液から感度よく検出するための検討は十分なされていない。

エイズ治療・研究開発センターは年間 100 名以上の新患と 200 名の入院患者を治療している施設であり、非定型抗酸菌患者も多い。本年度の本研究では非定型抗酸菌症の診断法の改善について検討するため、血液からの培養法の改善および血液からの PCR による菌検出法について検討したので報告する。

B. 研究方法

1. 検体採取

主に $CD4 \leq 100/\mu l$ である HIV 陽性患者に、発熱、リンパ節腫脹などが見られた場合で、臨床的に非定型抗酸菌症が疑われた場合、患者より検査についての informed consent を取得後、無菌的に EDTA 採血管で 7ml の血液を採取し、液体培養法及び PCR に供した。可能な限り同時に Isolator 10 (Oxoid) で採血し、当院中央検査部のルチンの抗酸菌培養にも提出した。

2. 液体培養法

液体培養用の検体は血液 1ml に蒸留水 9ml を加え浸透圧溶血の後、速やかに 3000rpm 15min 遠心した。上清を除去後、一部を塗抹染色用を使用し (Ziehl-Neelsen 抗酸染色)、残りを 7H9 抗酸菌液体培地 (M ボトル、BBL) を用いて 37℃ で培養した。検体は経時的に混濁及び M ボトル上部にあるスライド (小川培地・7H10Agar) 上の菌の発育を観察し、最低 4 週間観察を継続した。菌の発

育が認められた場合は、培地の一部を抗酸菌染色もしくは、Roche Amplicor Mycobacterium を用いて PCR を行い、菌の同定を行った。

3. PCR

PCR は guanidine 法による遺伝子抽出法を行い、Roche Amplicor Mycobacterium を用いて遺伝子増幅と同定を行った。

1) 遺伝子抽出

採取した EDTA 加血 2ml を遠心し上清 (血漿) を除去した後、Amplicor MycoWash (Roche Molecular Systems, NJ) 700 μl を添加し沈渣が十分溶解するまで vortex した。Microcentrifuge で 15,000rpm (約 10,000 $\times g$) 10 分遠心の後、上清を捨てた。さらに MycoWash 700 μl を添加して同様に洗浄操作を沈渣から赤血球の赤色が消えるまで (合計 3~4 回) 繰り返した。これに guanidium HCL による RNA/DNA 抽出キット (スマイテスト EX R&D、住友金属) を用いて遺伝子を抽出した。Ethanol を十分乾燥除去の後、MycoLysis 200 μl と Neutralization 200 μl を添加し、この 50 μl を PCR に供した。

2) 増幅・検出

Mycobacterium avium (*M.avium*) および *Mycobacterium intracellulare* (*M.intracellulare*)、*Mycobacterium tuberculosis* (*M.tuberculosis*) 特異的遺伝子の検出は carry over contamination を防ぐウラシル N-グリコシラーゼ (UNG) システムが盛り込まれた Roche Amplicor Mycobacterium キットに従って行った。検体 50 μl に PCR 反応液 50 μl を加え、42 サイクルの増幅を行った。増幅されたサンプルは、特異的プローブがコートされた *M.avium*、*M.intracellulare* および *M.tuberculosis* の microplate を用いた hybridization を行い、primer に結合さ

れた avidine-biotin-HPB による発色反応を microplate reader を用いて 450nm の波長による測定し、OD 0.35 以上を陽性と判定した。

C. 研究結果

Fig. 1 に我々が東京大学医科学研究所付属病院で 1986 年から 1996 年までに CD4 数が $20/\mu\text{L}$ 未満まで低下した患者で検討した、日和見感染症の頻度を示した。非定型抗酸菌症は主な合併症では第 5 位、33.3%で見られており、生命に関わる重篤な感染症としてはカリニ肺炎、細菌性肺炎、サイトメガロウイルス網膜炎、について多く認められた。結核症は 3.8%と発生率は高くはなかった。

今回の検討では、HIV 陽性患者 45 名から計 165 の血液検体が非定型抗酸菌検出のため提出された。検体量

が少ない場合には主治医と協議の上、培養のみまたは PCR のみを施行したため、液体培養 152 検体、PCR 164 検体の検査が施行された。また同時期に Isolator 10 で中央検査部に提出されていた 49 検体の結果と比較した。

液体培養で陽性を示したものは 15 検体 (9.9%)、PCR で陽性であったものは 13 検体 (7.9%) であった。いずれかの検体で抗酸菌が検出されていた陽性検体は 19 検体であった。この検体における陽性率を Fig. 2 に示した。もっとも検出感度が優れていたのは液体培養法で、陽性率は 88.2% であった。

同定された菌は *M.avium* が 19 株、*M.intracellulare* が 1 株 (*M.avium* との混合感染) であった。

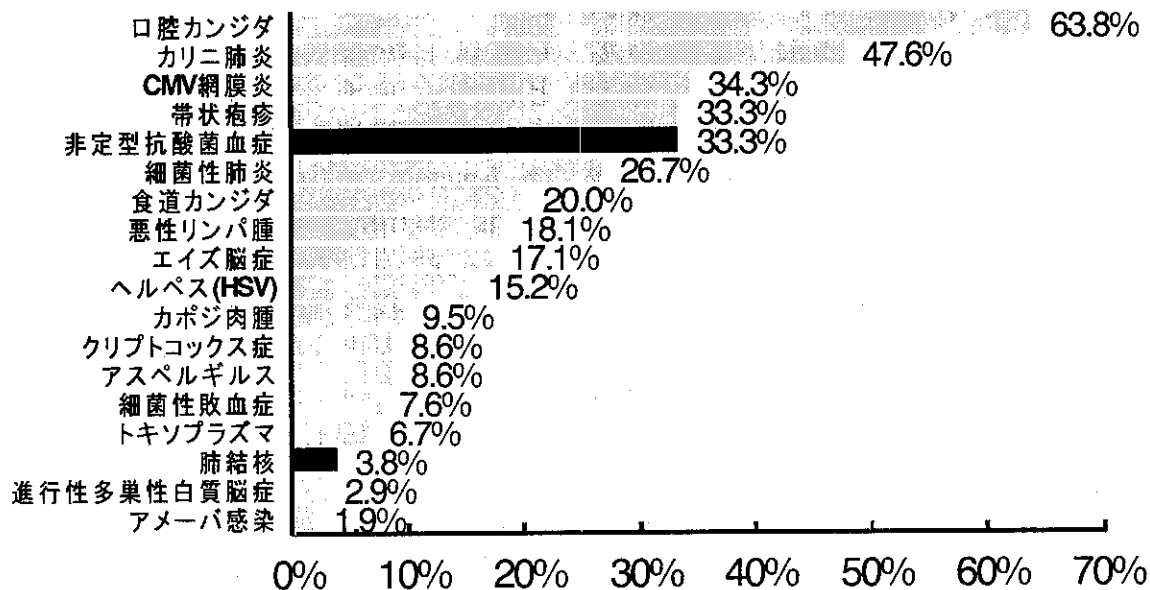


Fig.1 CD4 $\leq 20/\mu\text{L}$ まで減少した患者 105 例での HIV 関連疾患の出現率

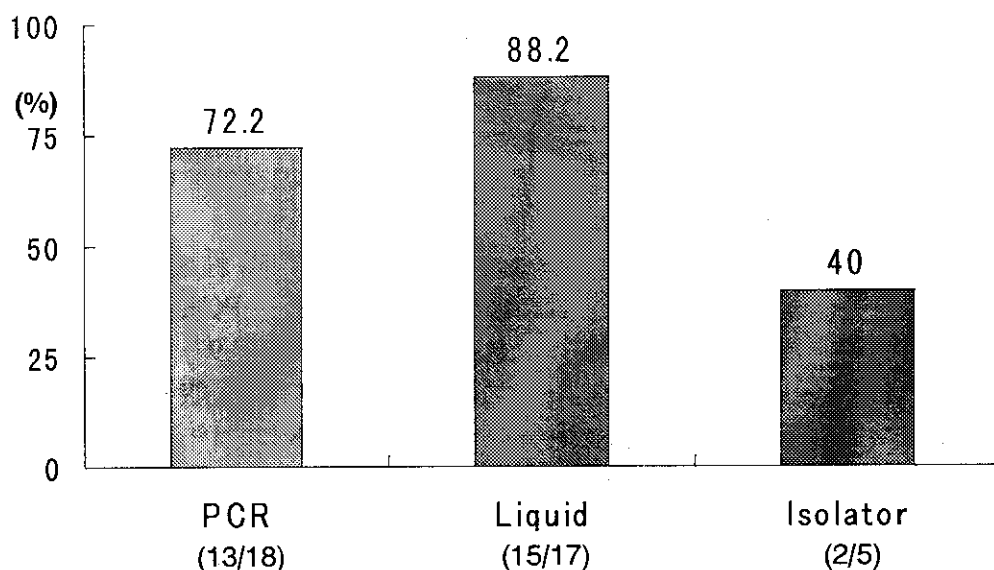


Fig.2 いずれかの方法で非定型抗酸菌陽性となった検体の検査法別陽性率

D. 考 察

アフリカや東南アジアでは結核症は最も高頻度に認められる HIV の合併症であるが、我々の症例では少数であり、これは米国などと同様の傾向であった。これは本邦においては結核がコントロールされており、感染源が少ないこと、既感染者が 40 歳代以上であり、HIV 感染者の年齢層とやや異なっていることなどがあげられる。

一方非定型抗酸菌症やサイトメガロウイルス感染症など、進行した HIV 感染症で認められる疾患の頻度が高く、これらの疾患のコントロールが重要である。HIV に見られる非定型抗酸菌症は播種性感染症であり、消化管、一部は呼吸器から侵入した病原体が網内系を中心とした臓器に感染し、菌血症を起こす疾患であるとされている。病原体は土壌や水の常在菌であり我々は常に本菌の侵入

にさらされているものと思われる。

本症の診断は血液からの菌検出であるが、通常行われている血液培養は、特に抗酸菌の発育支持が考慮されていないこと、抗酸菌の培養には 4 週以上が必要とされていることなどから、ルチンの血液培養では本菌の検出は困難とされている。欧米では Isolator を用いた溶血遠心培養法 (Lysis centrifugation method) が有効な非定型抗酸菌の検出法として推奨されている。我々も本法を中央検査部のルチン検査として導入してもらい検査を行ってきたが、臨床的に疑わしい症例でも陽性結果が得られない事態が続いていた。

最近新しい抗酸菌血液培養法として 7H9 液体培地を用いた方法が有効で早期に検出可能な方法として注目されている。また PCR による遺伝子検出法も迅速で菌種の特異性も可能な方法として利用されるようになってきた。しかし、現時点では非定型

抗酸菌 (*M. avium*、*M. intracellulare*) を血液から有効に PCR を施行するための方法は確立されていない。そこで今回本研究で液体培養法の検討及び PCR 法の検体処理法を検討し、臨床検体での有効率を検討した。

今回検討した菌を溶血させた後 7H9 液体培地を使う方法は、Isolator 法と比べて陽性率が改善しており、陽性検体の大部分は液体培養で検出することができた。今回行った処理法による PCR 法は液体培養法に劣ったが、液体培養法で陰性の検体で PCR 陽性であった検体があり、臨床的にも播種性非定型抗酸菌症に合致する症例が認められている。Roche のキットには UNG を用いた carry over の対策がなされていることから偽陽性の可能性は低いと考えられる。従って PCR 法と液体培養法は検出率向上のために相補的であると考えられる。比較検討した Isolator 法は陽性率が低く、本法のみで陽性となった検体は認められなかった。検査環境などの違いが影響した可能性はあるものの、今後液体培養法などに検査の中心は移っていくものと思われた。ただ、本法では菌量の計測が可能であることから、繰り返し分離される例では経過の観察には有効と考えられる。

今回の検討では液体培養法に血液 1ml、PCR に血液 125 μ l を使用したが、血液中の菌量は $10^1 \sim 10^3$ /ml 程度と考えられており、検査に供する検体量が多い方が検出率が上げられる可能性がある。一方、液体培養では蒸留水を用いて赤血球の溶血を行っており、多量の検体ではこの操作に支障を来す可能性がある。また、PCR では投入する検体の量が多くなると検体中の阻害物質により Taq polymerase の活性が阻害されることが知られており、我々のこれまでの検討でも 250 μ l 以上の血液を用いると PCR 反応が不安定になることが明らかとなっている（未発表データ）。今後遺伝子増幅のための検体処理法を検討し、より感度の高い非定型抗酸菌の血液からの PCR 検出を考えていく必要があるものと思われた。

E. 結 論

HIV 合併の播種性非定型抗酸菌症の診断の向上のため、菌の検出法を検討し、液体培養法が最も高感度な検出法であることが明らかとなった。PCR 法のみで陽性となる検体もあり、両方法を組み合わせることでより検出率の改善が得られた。

厚生科学研究補助金費補助金(新興・再興感染症研究事業)
分担研究報告書

薬剤耐性結核のサーベイランス、耐性の分子機構および
多剤耐性結核の治療に関する研究(H10・新興・4；阿部班)

分担研究課題：「多剤耐性結核の集学的治療体制の確立に関する研究」
分担研究者 中島 由槻 結核予防会複十字病院 診療部長

研究要旨：本研究を遂行するに際して以下の研究課題を設定した。①結核菌耐性検査の精度管理、②新薬による治療効果の検討とその供給システムの確立、③薬剤血中濃度のモニタリング、④内科的治療法、⑤外科的治療法、⑥エイズ合併多剤耐性結核患者に対する治療、⑦長期入院における患者のQOL、⑧患者隔離システムと院内感染対策。各課題の研究方法として①は液体培地(MGIT)による精度管理、③は患者血のRFP濃度測定、②④⑤⑥は症例の全国的調査集積とその分析、⑦は結核病棟を持つ全国医療施設の実態調査とその分析、⑧は文献的検討と先行医療施設における対策の検討およびその評価を行った。なお多剤耐性肺結核症例の全国調査では、平成7年全国病院要覧にて結核病棟を有する全国666の医療施設中、349施設(52.4%)から回答が得られ、1983～1997年の間にさかのぼって調査し得た範囲で、349施設中182施設(52.1%)で多剤耐性肺結核症例を経験しており、さらに56施設(16.0%)で226例の外科治療例があることが判明した。現在までの研究結果は、課題⑤：いまだ一部の症例の分析であるが、多剤耐性肺結核に対する外科治療は特に肺切除例において88.4%と高い成功率が得られた。⑥わが国におけるエイズ合併肺結核において、多剤耐性菌の頻度は約5%で1997年までその集団発生は認められていない。⑧CDCの勧告を参考に複十字病院において種々の結核院内感染防止対策を施行し、一部でその有効性が検証されている。

A. 研究目的

本研究は平成9年度の進行・再興感染症研究事業における「多剤薬剤耐性結核の予防と治療に関する緊急研究(石川班)」に引き続いて、さらに平成10年7月3日に発表された公衆衛生審議会結核予防部会提言(1)緊急に対応すべき課題①「多剤耐性結核対策」に基づいて、広域圏の拠点施設(多剤耐性結核専門医療機関)の整備とその円滑な運用に関する諸問題

の解決を目的とするものである。

B. 研究方法

1) 検討課題項目

上記目的の研究を行うため、まず以下の研究課題を設定した。

- ①結核菌耐性検査の精度管理:迅速な耐性検査法の導入とその精度管理についての研究
- ②新薬による治療効果の検討とその供給システムの確立:ニューキノロン製剤等抗結核薬として

認可されていない薬剤の有効性に関するデータの調査とその供給体制についての研究。

- ③薬剤血中濃度のモニタリング:多剤耐性結核の治療において、薬剤の有効な血中濃度が得られているか否かの研究。
- ④内科的治療法:有効薬剤による化学療法のレジメ、治療期間等についての研究。
- ⑤外科的治療法:外科治療の適応、時期、術式、術前後の化学療法の期間等についての研究。
- ⑥エイズ合併多剤耐性結核患者に対する治療:エイズ合併多剤耐性結核患者の隔離方法とエイズ治療薬と結核治療薬の併用方式についての研究。
- ⑦長期入院における患者のQOL:長期間入院隔離を強いられる患者が可及的に快適な療養生活を送れるための、看護上の問題も含めての療養環境整備に関する研究。また結核入院患者の喫煙対策の研究。
- ⑧患者隔離システムと院内感染対策:結核の感染様式を考慮した施設面での感染防止対策と、院内感染対策マニュアルについての研究。

2) 研究方法

上記各課題に対し、課題毎に以下の研究方法を採用した。

- ①結核菌耐性検査の精度管理:複十字病院における多数の臨床例に対し液体培(MGIT)を使用し、早期かつ安定した結果を得られる耐性検査の可能性を検討する。
- ②新薬による治療効果の検討とその供給システムの確立:わが国で抗結核薬として認可されていないにもかかわらず結核菌に対する有効性を示す薬剤について、多数の内科治療例の分析によりこれらの薬剤の基本的な使用方法、耐性基準濃度、安定的供給手段等について検討する。
- ③薬剤血中濃度のモニタリング:RFPについて耐性と判明した時点で更に1週間服用させ

たのち血中濃度を測定する。感性例について同時期に血中濃度を測定し対照とする。対象は耐性例については研究協力者の所属する施設の症例とし、感性例は複十字病院、府中病院の症例とする。各症例について検体を結核研究所に郵送する。

- ④内科的治療法:多剤耐性結核症について全国的規模の臨床的調査を行い、有効薬剤による化学療法の治療成績を明らかにし、さらに必要な治療期間、不成功の要因等について検討する。それをもとに内科的治療の指針を作成する。
- ⑤外科的治療法:多剤耐性結核症に対する外科治療例について全国調査を行い、その成績を明らかにし、手術の適応、時期、術式、術前後の化学療法の期間等について検討する。さらにそれをもとに外科治療の指針を作成する。
- ⑥エイズ合併多剤耐性結核患者に対する治療:わが国におけるエイズ合併多剤耐性結核患者の治療成績を調査し、隔離方法、エイズ治療薬と結核治療薬の併用等問題点について検討する。
- ⑦長期入院における患者のQOL:長期間入院隔離を強いられる患者について全国的実態調査を行うことにより、これらの患者の医療上、看護上、日常生活上の問題点を明らかにする。それらをもとに喫煙問題も含めて、療養環境の整備について検討する。
- ⑧患者隔離システムと院内感染対策:結核の感染様式に対応した感染防止対策について文献的に調査検討し、特に施設面での整備の関する指針と院内感染対策マニュアルを、内外における具体的成果を参考に作成する。

3) 研究体制

本研究遂行のため以下の研究協力者と共同研究を行った。

研究者名	研究課題	所属施設および現在の専門	役職
分担研究者 中島由槻	分担研究の総括と 課題⑤, ⑧	結核予防会複十字病院／呼吸器外科	診療部長 呼吸器外科長
研究協力者 井内敬二	課題⑤	国療近畿中央病院／呼吸器外科	外科医長
大泉耕太郎	課題②, ④	久留米大学医学部／第一内科	教授
尾形英雄	課題①, ④	結核予防会複十字病院／呼吸器内科	外来科長
鎌田有珠	課題④	国療札幌南病院／呼吸器科	医長
久場陸夫	課題④	国療沖繩病院／呼吸器内科	医長
坂谷光則	課題②, ④	国療近畿中央病院／呼吸器内科	副院長
重藤えり子	課題④	国療広島病院／第二呼吸器内科	医長
土井教生	課題③	結核予防会結核研究所／ 基礎研究部免疫学科	主任
藤田明	課題⑥	都立府中病院／呼吸器科	医長
矢野捷子	課題⑦	結核予防会複十字病院／看護婦	結核病棟婦長
研究顧問 森亨		結核予防会結核研究所	所長

C. 研究結果

全国調査に関して

平成10年10月に、平成7年度版全国病院要覧において結核病棟を有する666医療施設を各県毎にID化してコンピューター登録し、それを基に全国調査を開始している。平成10年12月にINH0.1mcg/ml, RFP50mcg/mlの両剤に対し、微量排菌を除く不完全耐性までを共に示した多剤耐性肺結核症例の全国アンケート調査を行ったところ、666施設中349施設(52.4%)から回答が得られた。1983～1997年の間にさかのぼって調査し得た範囲で、349施設中182施設(52.1%)で前述の定義による多剤耐性肺結核症例を経験しており、さらに56施設(16.0%)で226例の外科治療例があることが判明した。

研究課題①；複十字病院の臨床例について、preliminary studyとしてMGITを使用している培養検査件数を蓄積中(目標約100検体)である。

研究課題③；対象となる多剤耐性例は研究協力者の各施設においては、初診時多くが既に多剤耐性と判明した症例であり、そのような症例に治療効果のないRFPを研究を目的に服用させるためには、患者に対する十分なインフォームド consent と各施設の倫理委員会の承諾が必要である。現在この点に関する手続き的な問題が解決しておらず、平成10年度に具体的な研究結果を得ることは不可能となった。研究課題②, ④；先が多剤耐性肺結核症例を経験した182施設に内科的治療に関するアンケート調査を行う一方、主だった施設の臨床例について詳細に検討中である。研究課題⑤；56施設の226症例について、外科治療の成績を中心にアンケート調査を開始した。このうち結核予防会複十字病院においては、55例の外科治療例があり、この55症例の研究結果については以下のごとくである。

◆多剤耐性肺結核に対する外科療法

中島由規(結核予防会複十字病院呼吸器外科)

INH・RFP両剤耐性の多剤耐性肺結核慢性排菌患者に対する外科治療成績を、自験例において検討した。

[対象と方法] 結核菌耐性検査にて、INH, RFPの両剤に、対照のおおよそ1%以下の微量排菌を除く不完全耐性以上を示した症例を、多剤耐性肺結核外科治療例とした。ここで培養及び耐性検査の判定は小川培地を用いて行い、耐性の濃度基準は結核病学会の新基準に従ったが、INH, EBについては排菌停止困難例であることを考慮してそれぞれ0.1mcg/ml, 2.5mcg/mlの濃度を耐性基準とした。当院では1983年～1997年の15年間に、多剤耐性、持続排菌、XP上硬化性空洞有り、副作用による服薬困難、咯血、治療期間の短縮を目的とした社会的適応等の理由で、難治性肺結核に対し63例70回の外科治療が施行された。このうち多剤耐性例に該当するのは55例62回であり、今回これらの外科治療についてその成績を検討した。なお排菌停止の追跡期間が術後1年未満のものは、「術後再排菌無し」の評価から除外した。また何らかの化学療法が外科治療例全例の術前術後に併用されていた。

[結果] 対象例の性別年齢は男48例54回(平均49±14歳)、女7例8回(平均35±10歳)。その背景因子を見ると初回継続治療27例、耐性薬剤数は主要5剤で平均3.9剤、残りの6剤で1.7剤、術前排菌状況では微量排菌も含めて約76%が塗抹または培養陽性であった。肺結核の外科治療は、排菌のメカニズムから、当然のごとく硬化性空洞を含む結核病巣がその対象であるが、耐性肺結核外科治療例とした55例中54例に硬化性空洞が存在した(表1)。これら55例62回の手術例の術式別内訳は、肺全切除、肺葉切除、区域切除の病巣切除術例が45例48回、胸郭成形術例が8例8回、空洞切開例が5例5回、横膈神経捻除術が1例1回である(表2)。このうち切除術例では、同時または追加の補正胸郭成形術が9例に9回行われた。

外科治療成績を表3に示す。切除術式では全例術後一時的に排菌停止が得られたが、7例8回の切除術後に再排菌を認めた。その概要は表2の通りであり、このうち2例は残存肺切除で排菌の停止が得られた。この結果、最終的に排菌停止が得られなかったのは5例となり、術後1年以上追跡できた区切以上の切除46回の再排菌率は13.3%(8/46)、同じく切除43例の最終的な排菌停止率は88.4%(38/43)であった。

た。なお切除後再排菌に関与した因子を分析すると、残存肺に遺残空洞あり、気管支断端結核菌陽性、耐性薬剤数7剤以上の3因子が有意となった。

胸郭成形8例の術式選択理由は、肺機能上切除は不可能、病巣の広がりや両側広範囲であるが空洞は肺尖部に限局、等であった。8例とも術後一時的に排菌が停止したが2例に再排菌を認めた。内1例では空洞の虚脱不十分と、対側肺結核腫の洞化が再排菌の理由と推測された。一方排菌停止に成功した6例の内5例では、術前に排菌量の著明な減少が得られていた。排菌停止率は75%(6/8)であった。

空洞切開例は5例有り、切除を前提として空洞内菌量の減少を目的としたのが3例、喀痰内排菌量の減少のみを目的としたのが2例であった。5例中3例で術前喀痰塗抹G7～8号が空切後2カ月以内に塗抹陰性となっており、空洞切開は根治手術ではないが、喀痰内排菌量の減少という点では有効であった。

最後に術後3ヶ月以内の合併症を表4に示す。最も多いのが気管支瘻・肺瘻であり約20%に、次いでESDレターを使用した呼吸不全が約10%に認められたが、手術死亡は1例も無かった。

研究課題⑥；

◆エイズ合併多剤耐性結核患者に対する治療(概要) 藤田 明(都立府中病院呼吸器内科)

1. 日本におけるエイズ合併結核の薬剤耐性状況
1994年から1997年の間に厚生省[エイズと日和見感染症に関する臨床研究班]の[日本におけるHIV感染抗酸菌症の実態]調査(分担研究者；森亨)において収集されたエイズ合併結核68例の中から、感受性検査結果が記載されていた39例を集め、耐性薬剤の種類を調べた。INH耐性が4例(10%)、RFP耐性が3例(8%)、RFP単独耐性が1例(3%)で、SM耐性は5例(13%)と多い傾向であった。日本のHIV感染者の間では、多剤耐性結核の集団発生は確認されなかった。

多剤耐性結核2例のうち、1例は治療開始時に感性菌であったが、治療開始後に耐性化したと思われる。他の1例は治療開始前の耐性結果が不明で、治療後の耐性菌と判明した。この2例ではINH, RFPのうちいずれか1剤には不完全耐性と記載されていたが、臨床的には薬剤が無効であり、多剤耐性結核と判断した。

2. HIV感染者における多剤耐性結核対策