

平成12年度

# 創薬等ヒューマンサイエンス研究

## 重点研究報告書

### 第3分野

医薬品等の評価・試験方法の開発に関する研究

# 目 次

課題番号			
2.0000970A 31015	結核菌の迅速薬剤感受性試験法の開発	山崎 利雄	1
971A 31028	バイオテクノロジーを用いた薬物代謝酵素の特性解析と医薬品の適正使用化に関する研究	頭金 正博	9
972A 31064	感染症予防効果のある糖鎖を付加した多機能食用難消化性多糖類の開発とその有効性及び安全性を評価する方法の開発	小西 良子	23
973A 31065	食中毒細菌の検出方法の開発と評価	山本 茂貴	29
974A 31093	リポソームを用いた遺伝子導入法の開発、その有効性、安全性に関する研究	北川 隆之	39
975A 31112	ラット初代培養肝細胞を用いる毒性評価系の確立	四宮 貴久	47
977A 31219	生殖細胞系列の完全連続培養系の開発	佐藤 英明	52
978A 31238	精巣細胞各種分化系列を標識する抗体の作成と精巣障害解析の技術基盤の整備	井上 達	55
979A 31239	加速試験で評価できない製剤機能の安定性評価に関する研究	吉岡 澄江	66
980A 31240	新開発食品の食品化学的特性の解析と評価に関する研究	豊田 正武	74
981A 31242	糖タンパク質及び糖鎖関連物質の糖鎖の機能及び構造解析と品質等評価技術の開発	早川 堯夫	83
982A 31244	食品添加物の開発手法及び食品添加物の品質・安全性の評価・試験方法に関する研究	米谷 民雄	93
983A 31249	遺伝子改変テスターを用いる第二世代変異原性試験法の開発	能美 健彦	102
984A 31266	培養細胞を用いたインビトロ発熱性物質試験法の開発に関する研究	村井 敏美	108
985A 31267	薬物代謝活性の多型性とハイリスク患者における薬物評価に関する研究	大野 泰雄	116
2.0000976A 32146	トランスポーター遺伝子発現細胞を用いた薬物吸収・分布・排泄動態評価系の開発	辻 彰	126

## 結核菌の迅速薬剤感受性試験法の開発

所 属 国立感染症研究所 細菌部  
研究者 山崎利雄

分担研究者

三輪 昭成 極東製薬工業（株） 高萩工場

### 要旨

昨年度報告したATP測定による結核菌の薬剤感受性試験法（ATP法）の更なる簡略化と、臨床分離菌を用いたATP法の判定日の短縮と成績の信憑性について検討し、新しい迅速な結核菌の薬剤感受性試験法に作り上げた。

### 1. 研究目的

1997年に日本結核病学会薬剤耐性検査検討委員会により、試験濃度改変と比率法導入という2つの提案がなされ、2000年には、日本結核病学会編の「新結核菌検査指針」が出版されたが、わが国の結核菌薬剤感受性試験法は、基礎培地に1%小川培地を用いているため最終判定結果を得るまでに3から4週間を必要とする。また、操作法が煩雑で判定にも技術者の熟練を要し、個人差が出る場合もある。さらに、判定時期を遅らせると耐性と判定されやすいなどの問題がある。わが国では、現在のところ耐性菌の頻度は少なく、結核患者から分離される95%は、抗結核薬に感性的な結核菌である。しかし、多剤耐性菌による結核感染症例報告が、結核病学会等で聞かれるようになってきた。3年前には、宮城県や神奈川県で多剤耐性菌による集団感染があり、看護婦が1人死亡していたという新聞報道がされている。また、欧米ではAIDSの流行に伴い、多剤耐性菌による感染が増加している。そのため、迅速で正確な薬剤感受性試験法の開発が望まれている。結核患者の治療において正確な菌の薬剤感受性を知ることは重要である。早期に菌の薬剤感受性がわかれば、患者の予後を最良にすることができる。また、自動化により、検査技師の結核感染の危険性を最小にする事ができる。さらに、治療期間の短縮により結果的に医療費の抑制にもつながる。結核菌の薬剤耐性遺伝子をPCRにて検出する方法は迅速であるが、操作が煩雑で、検査費用が高く耐性情報も限られている。そこでわれわれは、生きている微生物の数が、微生物の持っているadenosine triphosphate (ATP) 量を測定することにより知ることができることに着目した。昨年度は、一昨年度報告したATP測定による結核菌の薬剤感受性試験法（ATP法）の更なる改良を行った。今年度は、結核菌の臨床分離菌株数を増やし、現行法との相関性を調べ、ATP法の判定日の短縮と成績の信憑性について検討し、新しい迅速な結核菌の薬剤感受性試験法に作り上げることを目的とした。また、昨年、日本結核病学会より1%小川培地を用いた試験濃度の改変（一濃度）および諸外国と同様な比率法による試験法が、正式に新結核菌検査指針に記載され、標準法として採用されることになったので、ATP法と標準法として新たに採用された一濃度による比率法との比較を行い互換性についても検討した。

### 2. 研究方法

#### (1) 使用菌及び接種菌液の調製

結核菌参照菌株American Type Culture Collection (ATCC) 27294、ATCC35820 [streptomycin (SM)耐性]、ATCC35822 [isoniazid (INH)耐性]、ATCC35827 [kanamycin (KM)耐性]、ATCC35837 [ethambutol (EB)耐性]、ATCC35838 [rifampicin (RFP)耐性] および臨床分離結核菌65株を用いた。-80℃にて保存された菌株を1%小川培地に接種、37℃で2~4週間培養後、1/4白金耳の菌塊をMiddlebrook 7H9 broth 5mlに懸濁し、通常大気中、37℃で3から7日間培養し、McFarland #0.5濁度以上の菌浮遊液を得た。この菌液を充分攪拌、10分間静置後、その上清を新しいMiddlebrook 7H9 brothにてMcFarland #0.5濁度に調製した。また、某検査センターにて、MGITでUV照射にて菌の増殖を確認、アッキュープローブ法にて結核菌であることが確認された。

MGIT培養菌39株は、UV発光確認後4℃に保存し菌塊をホモジナイズ後、供試菌とした。

#### (2) ATP測定方法

ATP測定に必要な試薬類は、キッコーマン社(千葉)より購入した。培養液100 $\mu$ lを測定用チューブに採取し、FCT試薬50 $\mu$ lを添加、室温30分間放置後、抽出試薬50 $\mu$ lを加え、ヒートブロックにて60℃、5分間加熱してATPを抽出した。1分間水冷後、室温に5分間放置し、ルシフェリン・ルシフェラーゼ100 $\mu$ lを加え、直ちにルミテスターK210(キッコーマン社)にて発光量(Relative light units; RLU)を測定した。

#### (3) ATP測定法による薬剤感受性試験法

INH 0.1 $\mu$ g/ml、RFP 2.0 $\mu$ g/ml、EB 2.5 $\mu$ g/ml、SM 0.8 $\mu$ g/ml、KM 5.0 $\mu$ g/mlの5薬剤をそれぞれ含有するMiddlebrook 7H9 broth、および薬剤不含のMiddlebrook 7H9 broth 5mlにそれぞれMcFarland #0.5濁度に調整済みの結核菌浮遊液0.1mlを接種し、37℃にて培養した。培養開始後、0、3、4、5、7日目にそれぞれの培養液0.1mlについて前述の方法にてATP量を測定した。判定は、RLU ratio(薬剤含有培養液のRLU測定値を薬剤不含培養液のRLU測定値で除した値)で行ない、RLU ratio $\leq$ 0.5を感性、RLU ratio $>$ 0.5を耐性とした。

#### (4) 参照薬剤感受性試験

[MGIT法]: MGITは、日本ベクトンディッキンソン社より購入した。操作判定はマニュアルに従った。薬剤濃度は、INH 0.1 $\mu$ g/ml、RFP1.0 $\mu$ g/ml、EB3.5 $\mu$ g/ml、SM0.8 $\mu$ g/mlである。

[微量液体希釈法でのMICの測定(MIC法)]: 山根らの報告に従って、MICを測定した。すなわち、7H9 broth 4mlに菌苔を内径3mmの白金耳で1/4菌量接種し、充分攪拌をおこないMcFarland No.1( $\sim 3 \times 10^7$ CFU/ml)濁度に相当する菌濃度に達するまで36 $\pm$ 1℃で密栓静置培養(3~5日間)をおこなった。得られたMcFarland No.1濁度菌液を更に7H9 brothにて100倍希釈した後、その0.2mlを薬剤乾燥固着マイクロプレート(96穴マイクロプレート:Nunc社製)の各ウェルに分注し、5%CO<sub>2</sub>、36 $\pm$ 1℃にて培養し、7日~10日後、肉眼的に菌発育がまったく認められない最小濃度をMICとした。また、山根らの報告より、INH1.0 $\mu$ g/ml、RFP0.25 $\mu$ g/ml、EB4.0 $\mu$ g/ml、SM4.0 $\mu$ g/ml、KM8.0 $\mu$ g/ml以下のMICを持つものを感性菌とした。

[NCCLS M24-T法]: M24-T法は、マニュアルに従いSM、INH、RFP、EB、KMの5薬剤について培地を作製し試験に供した。微量液体希釈法と同じ菌株のMcFarland No.1濁度菌液を更に7H9 brothにて10,000倍希釈した後、その0.1mlをコントロール培地(菌発育対照)他5種試験薬剤培地にそれぞれ接種し、5%CO<sub>2</sub>、36 $\pm$ 1℃にて培養し21日目に判定を行った。判定方法は、試験薬剤培地でのコロニー数(colony forming unit; CFU)が、コントロール培地の1%以上発育を耐性、以下を感性と判定した。

[一濃度比率法]: 結核菌参照菌株ATCC6株と臨床分離菌70株を使用した。濁度計にて正確にMcFarland No.1濁度に調整した菌液から、更に滅菌蒸留水にて100倍および10,000倍希釈菌液を作り、薬剤含有培地には、100倍希釈菌液の0.1mlを、またコントロール培地2本中1本には100倍希釈菌液を、他の1本には10,000倍希釈菌液の0.1mlを各々接種後、通常大気36 $\pm$ 1℃にて培養を行った。判定は培養4週以内でコントロール培地上の菌発育が十分になった時点で判定を行った。すなわち、10,000倍希釈菌液を接種したコントロール培地上の菌コロニー数と比較して、薬剤含有培地の菌コロニー数が多ければ耐性(R)、少なければ感性(S)と判定した。

### 3. 研究成果

#### (1) ATP法と参照法との比較検討

研究室保存の臨床分離結核菌65株を用いて、参照法を用いた場合の判定結果とATP法における培養日数ごとの判定結果との一致菌株数を調べた。ATP法とMGIT法の相関をTable 1に、ATP法とMIC法の相関をTable 2に、ATP法とNCCLS M24-T法の相関をTable 3に示す。ATP法では、各参照法の判定結果を得られるまでに要した日数は、3日間の培養でも95%以上の一致率で判定することが出来た。ATP法の培養5日目の判定結果と各参照法での結果との相関をTable 4に示す。ATP法とMGIT法では96.9%以上、ATP法とMIC法では95.4%~98.5%、ATP法とNCCLS M24-T法では96.9%以上の一致率がそれぞれ得られた。このように、ATP法は、現在臨床検査に使われている方法とも良く一致する方法であることが確認された。

#### (2) ATP法とMGIT法の判定可能日の比較

被検株の薬剤感受性試験結果判定までに要した日数を、ATP法と同じMiddlebrook 7H9 brothを基礎培地に用いているMGIT法と比較したものをFig. 1に示す。結核菌のATCC参照菌6株を6回(36株とする)試

験したところ、ATP法では36株全て3日で判定可能であった。MGIT法では、5日では9株（25.0%）、6日で30株（83.3%）、36株全てを判定するのに8日間を要した。臨床分離菌65株の試験では、ATP法では、3日では61株（93.8%）、4日で63株（96.9%）、5日で65株（100%）全てが判定可能であった。MGIT法では、5日では8株（12.3%）、7日で58株（89.2%）、65株全てを判定するのに9日間を要した。このようにわが国の臨床検査に用いられている現行結核菌薬剤感受性検査法の中で、最も迅速な検査法であると言われているMGIT法よりもさらに迅速な検査法であることが確認された。

### （3）供試菌としてMGIT初代分離菌を用いた場合の所要判定日数の比較

最近、結核菌の分離にMGITを用いる施設が増えている。そこで、供試菌としてMGIT初代分離菌を用いた場合、ATP、MGIT、MICの各方法により、薬剤感受性試験判定までに要した日数と判定可能菌株数を調べた。MGITでUV発光確認後2週間4℃の冷蔵庫に保存した菌21株を用いた結果をFig2-Aに示す。ATP法では、21株全てを5日で判定できた。MIC法では7日で16株、10日で21株全てを判定できた。ところが、MGIT法では、8日で2株、9日で5株を判定できたが、判定不能が16株あった。また、MGITでUV発光確認後2週間4℃の冷蔵庫に保存し、1日間37℃で保存した菌18株を用いた結果をFig2-Bに示す。ATP法では、3日で15株、5日で18株全てを判定できた。MIC法では7日で17株、10日で18株全てを判定できた。MGIT法では、5日では2株、7日で10株、9日で14株を判定できたが、判定不能が4株あった。MGITは、指示どおりに行わなかったので悲惨な成績であったが、ATP法では、MGITで分離された初代菌のホモジネートを用いれば、サブカルチャーせず検査が可能で、しかも5日間で判定することができた。したがって、MGITや、MB/Bactなどの液体培地分離菌を用いれば、卵培地分離菌を用いるよりもよりCDC勧告を達成することが可能であることがわかった。

### （4）一濃度比率法とATP法との判定結果の比較

Table 5には、ATCC標準6菌株を5回ずつ反復試験した時の一濃度比率法とATP法での再現性試験成績をまとめている。感性株および5薬剤耐性株ともに感性・耐性を再現性を持って正確に判定できたことを確認した。試験期間については、一濃度比率法の4週間に対し、ATP法は5日間であった。Table 6に、結核菌の臨床分離菌70株を使用し、一濃度比率法での判定結果を参照として、INH, EB, RFP, SM, KMの5薬剤について、ATP法での判定を比較評価した。ATP法と一濃度比率法の比較成績はEB, SMの95.7%～INH, KMの100%と極めて高い一致率を示した。不一致を示した症例はいずれも、一濃度比率法（R）でATP法（S）と判定されるvery major discrepancyであった。また、再現性試験と同様に試験期間については、一濃度法の3～4週間に対しATP法は70株全て5日間で判定可能であった。

## 4. 考 察

米国疾病管理予防センター（Centers for Disease Control and Prevention ; CDC）は、1994年に臨床検査部門の結核菌検査への迅速な対応と報告の必要性を強調し、臨床材料から菌の分離、同定、薬剤感受性試験までの結核菌検査を、すべて30日以内に終了し医師に報告するようにという勧告を出した。この勧告を達成するために、結核菌を臨床検体より直接検出する方法として、アンプリコアやMTD、LCRといった核酸増幅法が開発されキット化された。しかし、結核菌の薬剤感受性について核酸増幅法はリファンピシン以外は、実用化されていない。そのため、現段階では分離培養は不可欠である。結核菌をより迅速に分離検出するために、分離培養法の改良が図られ、BACTEC法、MGIT法、MIC法といった液体培地を用いた迅速な薬剤感受性試験法も報告されている。われわれは、遺伝子組み換え技術により製造された安定なルシフェリン・ルシフェラーゼ（キッコーマン）を用いて、結核菌のATPを測定し、薬剤感受性試験に応用するための方法を検討し、filamentous cell treatment試薬を用いることにより、偽耐性の問題を解決し、判定までの時間短縮を図ってきた。今年度は、参照菌株を用いてATP測定方法の簡略化を図り、臨床分離菌65株を用いて簡略化した方法と参照法との試験結果の比較を行った。ATP法の判定結果が、5日間の培養で現在臨床検査に使われている方法と95%以上の一致率が得られたことから、ATP法は、信頼性が高く、しかも、迅速な方法であることが確認された。また、供試菌に4℃に保存したMGIT初代分離菌39株を前培養せずにホモジナイズしただけで、直接ATP法を実施しても5日間で判定可能であったことから、液体培地分離菌を用いることにより、CDCの勧告を達成できる可能性が示唆された。

日本結核病学会が新たに標準法として採用した一濃度による比率法とATP法の互換性を評価した。今回の検討で得られた成績は、ATCC標準菌6株を用いての再現性および臨床分離菌70株を用いた比較成績か

らも、わが国で標準法であるとされた一濃度比率法とATP法は、高い互換性を示すことが確認された。また、判定までに要した日数は、臨床分離菌70株を用いた場合でも、一濃度法の3～4週間に対しATP法は70株全て5日間で判定可能であったことから、結核菌薬剤感受性試験にATP法を用いることの有用性が再確認された。しかしながら、今回開発したATP法は試験管法であり、操作が測定以外は全て用手法であることから、臨床検査の実用化を目指すためには、自動化を含め操作の簡便性が不可欠であると考えられる。

ATP法は、Middlebrook 7H9 brothを基礎培地とするので、雑菌汚染が生じやすい。また、液体培地のため、ATP測定作業時や容器破損時には、エアロゾルが発生しやすいので、作業は安全キャビネット内で行う必要がある。ところが、結核の国立療養所の安全キャビネットの配備率は、30%程度しかないというデータがあり、この配備率の低さが、ATP法の普及の妨げになることが予想される。また、バイオハザード対策のとられた測定装置の開発も今後の課題である。

## 5. 結 論

生菌の指標として生物発光法によるATP量の測定を、結核菌の薬剤感受性試験に応用し、迅速な薬剤感受性試験法を確立した。しかし、操作が手作業のため自動化とキット化を図ったが、研究期間内には目標を達成できなかった。また、バイオハザード対策のとられた測定装置の開発も今後の課題である。

## 6. 研究発表

(1) 山崎利雄、佐藤直樹、山下研也、岡沢 豊、丹野和信、生物発光を用いた結核菌の迅速薬剤感受性試験法（第Ⅲ報）—filamentous cell treatment によるATP法の改良、臨床病理48：167～173、2000

Table 1 Correlation between ATP and MGIT methods in drug susceptibility test for 65 clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*

Interpretation by MGIT*	No. of consistent results with MGIT by ATP method / No. of strains tested								
	INH 0.1 ( $\mu$ g/mL)			RFP 2.0 ( $\mu$ g/mL)			EMB 2.5 ( $\mu$ g/mL)		
	3-day	4-day	5-day	3-day	4-day	5-day	3-day	4-day	5-day
Susceptible	38/38 (100%)	38/38 (100%)	38/38 (100%)	45/46 (98%)	46/46 (100%)	46/46 (100%)	47/48 (98%)	48/48 (100%)	48/48 (100%)
Resistant	27/27 (100%)	27/27 (100%)	27/27 (100%)	19/19 (100%)	19/19 (100%)	18/19 (95%)	17/17 (100%)	17/17 (100%)	17/17 (100%)
Total	65/65 (100%)	65/65 (100%)	65/65 (100%)	64/65 (99%)	65/65 (100%)	64/65 (99%)	64/65 (99%)	65/65 (100%)	65/65 (100%)

Table 1-Continued

Interpretation by MGIT*	SM 2.0 ( $\mu$ g/mL)			MGIT* : Drug resistance indicated INH 0.1, RFP 1.0, EMB 3.5, and SM 0.8 ( $\mu$ g/mL).
	3-day	4-day	5-day	
Susceptible	46/48 (96%)	47/48 (98%)	48/48 (100%)	
Resistant	15/17 (88%)	15/17 (88%)	15/17 (88%)	
Total	61/65 (94%)	62/65 (95%)	63/65 (97%)	

Table 2 Correlation between ATP and MIC methods in drug susceptibility test for 65 clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*

Interpretation by MIC*	No. of consistent results with MIC by ATP method / No. of strains tested								
	INH 0.1 ( $\mu$ g/mL)			RFP 2.0 ( $\mu$ g/mL)			EMB 2.5 ( $\mu$ g/mL)		
	3-day	4-day	5-day	3-day	4-day	5-day	3-day	4-day	5-day
Susceptible	37/37 (100%)	37/37 (100%)	37/37 (100%)	44/44 (100%)	44/44 (100%)	44/44 (100%)	47/48 (98%)	48/48 (100%)	48/48 (100%)
Resistant	27/28 (96%)	27/28 (96%)	27/28 (96%)	20/21 (95%)	19/21 (91%)	18/21 (86%)	16/17 (94%)	16/17 (94%)	16/17 (94%)
Total	64/65 (99%)	64/65 (99%)	64/65 (99%)	64/65 (99%)	63/65 (97%)	62/65 (95%)	63/65 (97%)	64/65 (99%)	64/65 (99%)

Table 2 -Continued

Interpretation by MIC*	SM 2.0 ( $\mu$ g/mL)			KM 5.0 ( $\mu$ g/mL)		
	3-day	4-day	5-day	3-day	4-day	5-day
Susceptible	47/51 (92%)	49/51 (96%)	49/51 (96%)	54/54 (100%)	54/54 (100%)	54/54 (100%)
Resistant	14/14 (100%)	14/14 (100%)	14/14 (100%)	10/11 (91%)	10/11 (91%)	10/11 (91%)
Total	61/65 (94%)	63/65 (97%)	63/65 (97%)	64/65 (99%)	64/65 (99%)	64/65 (99%)

MIC\* : Drug resistance indicated INH>1.0, RFP>0.25, EB>4.0, SM>4.0, and KM>8.0( $\mu$  g/mL).

Table 3 Correlation between ATP and NCCLS M24-T methods in drug susceptibility test for 65 clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*

Interpretation by NCCLS M24-T*	No. of consistent results with NCCLS M24-T by ATP method / No. of strains tested								
	INH 0.1 ( $\mu$ g/mL)			RFP 2.0 ( $\mu$ g/mL)			EMB 2.5 ( $\mu$ g/mL)		
	3-day	4-day	5-day	3-day	4-day	5-day	3-day	4-day	5-day
Susceptible	38/39 (97%)	38/39 (97%)	38/39 (97%)	45/46 (98%)	46/46 (100%)	46/46 (100%)	48/50 (96%)	49/50 (98%)	49/50 (98%)
Resistant	25/26 (96%)	25/26 (96%)	25/26 (96%)	19/19 (100%)	19/19 (100%)	18/19 (95%)	15/15 (100%)	15/15 (100%)	15/15 (100%)
Total	63/65 (97%)	63/65 (97%)	63/65 (97%)	64/65 (99%)	65/65 (100%)	64/65 (99%)	63/65 (97%)	64/65 (99%)	64/65 (99%)

Table 3-Continued

Interpretation by NCCLS M24-T*	No. of consistent results with each reference method by ATP method (%)					
	SM 2.0 ( $\mu$ g/mL)			KM 5.0 ( $\mu$ g/mL)		
	3-day	4-day	5-day	3-day	4-day	5-day
Susceptible	48/51 (94%)	49/51 (96%)	50/51 (98%)	55/55 (100%)	55/55 (100%)	55/55 (100%)
Resistant	14/14 (100%)	14/14 (100%)	14/14 (100%)	10/10 (100%)	10/10 (100%)	10/10 (100%)
Total	62/65 (95%)	63/65 (97%)	64/65 (99%)	65/65 (100%)	65/65 (100%)	65/65 (100%)

NCCLS M24-T\* : Drug resistance indicated INH 1.0, RFP 1.0, EMB 10.0, SM 10.0, and KM 5.0 ( $\mu$  g/mL).

Table 4 Correlation among ATP and reference methods in drug susceptibility testing for 65 clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*

Drug	No. of consistent results with each reference method by ATP method (%)		
	MGIT	MIC	NCCLS M24-T agar proportion
INH	65 (100%)	64 (98.5%)	63 (96.9%)
RFP	65 (100%)	62 (95.4%)	64 (98.5%)
EB	65 (100%)	64 (98.5%)	64 (98.5%)
SM	63 (96.9%)	63 (96.9%)	64 (98.5%)
KM	not done	64 (98.5%)	65 (100%)



Table 5 Reproducibility of antimycobacterial susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* reference strain by ATP method and ogawa method

method	Antimycobacterial agent	ATCC 27294 susceptible	ATCC 35822 INH resistant	ATCC 35837 EB resistant	ATCC 35838 RFP resistant	ATCC 35820 SM resistant	ATCC 35827 KM resistant
ATP	isoniazid	0/5 *	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	ethambutol	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5
	rifampicin	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5
	streptomycin	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5
	kanamycin	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5
ogawa	isoniazid	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	ethambutol	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5
	rifampicin	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5
	streptomycin	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5
	kanamycin	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5

\* Numerator : No.case with significant growth ; denominator : No.testing

Table 6 Comparison of antimycobacterial susceptibility test results with the ogawa method

Antimycobacterial agent / method	comparison with the interpretation by ogawa method				
	agreed with;			very major discrepancy	major discrepancy
susceptible	resistant	total			
isoniazid / ATP	54 (77.2%)	16 (22.9%)	70 (100%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
ethambutol / ATP	53 (75.7%)	14 (16.3%)	67 (95.7%)	3 (4.3%)	0 (0.0%)
rifampicin / ATP	49 (70.0%)	20 (28.6%)	69 (98.6%)	1 (1.4%)	0 (0.0%)
streptomycin / ATP	55 (78.6%)	12 (17.1%)	67 (95.7%)	3 (4.3%)	0 (0.0%)
kanamycin / ATP	58 (82.9%)	12 (17.1%)	70 (100%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)

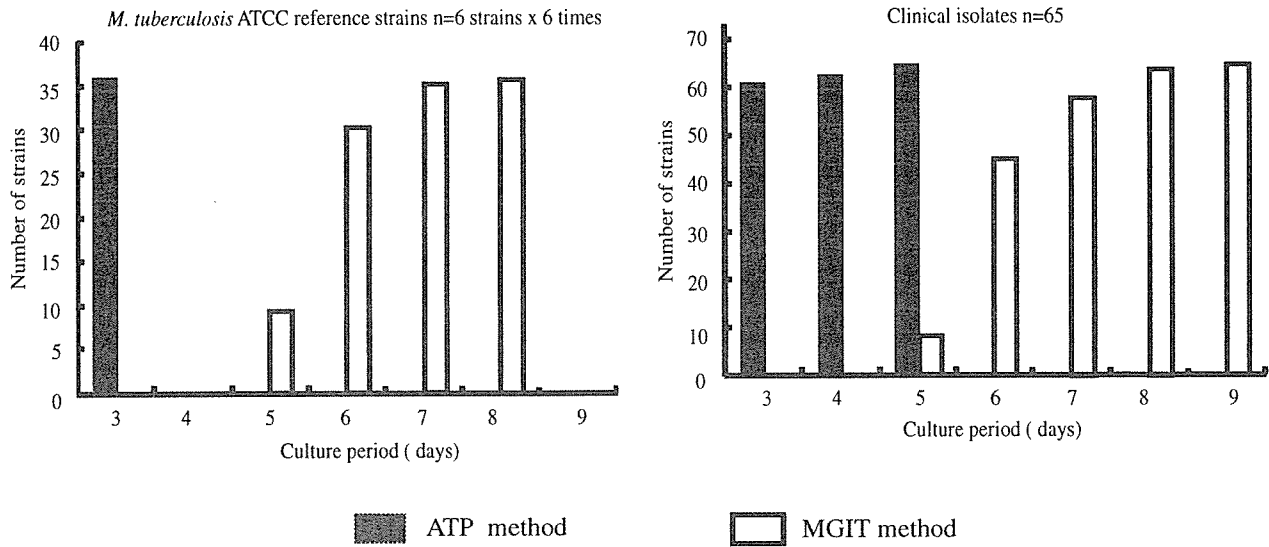


Fig.1 Comparison of culture period for determining susceptibility between ATP and MGIT methods by using ATCC reference strains and clinical isolates.

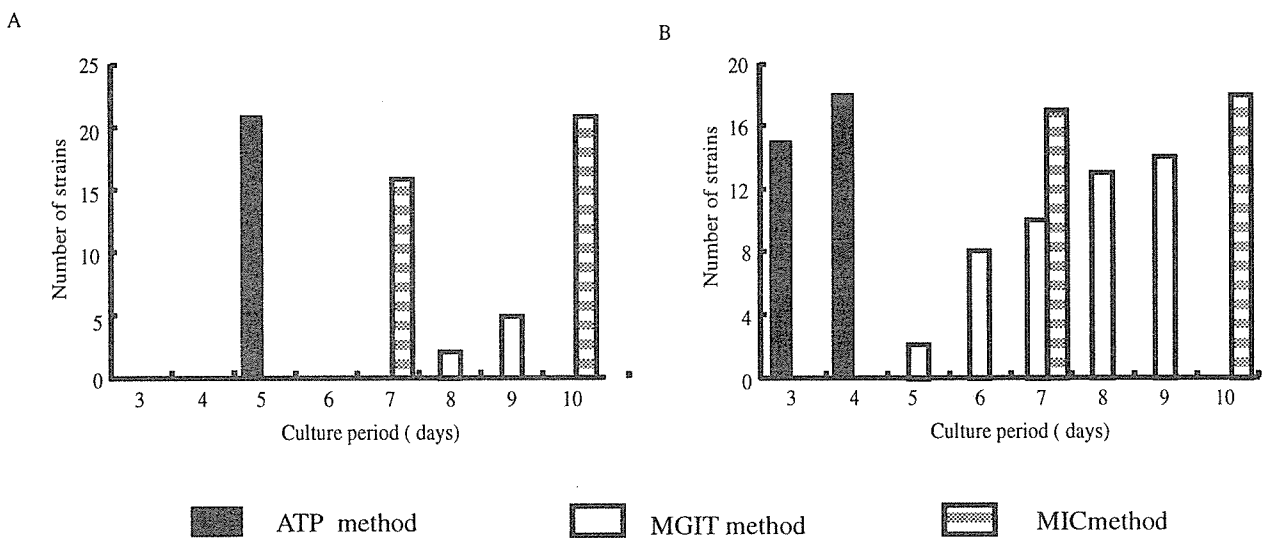


Fig. 2 Comparison of culture period required for determining susceptibility between ATP, MGIT and MIC methods, when clinical isolates by MGIT are stored at 4°C before testing. Twenty one strains were stored at 4°C for 2 weeks after their initial growth was detected by UV. Then they were subjected for susceptibility tests directly(A). Eighteen strains were pre-cultured at 37 °C for 1 day after the storage at 4°C for 5 to 21 days (B).

---

平成12年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究  
重点研究報告書

第3分野

医薬品等の評価・試験方法の開発に関する研究

平成13年11月30日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号  
共同ビル（小伝馬町駅前）4F  
電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

---

印刷 株式会社 ソーラン社