

表 1 種々の国々より分離された結核菌から検出されたBeijing familyの分布(高橋)

Origin	No. of strains Investigated	No. of strains of the Beijing family	% of strains of the Beijing family
Japan	303	216	71.3
Koera	11	7	63.6
Nepal	63	13	20.6
India	9	1	11.1
Bengladesh	7	1	14.3
Sri Lanka	5	1	20.0
Malaysia	88	27	30.6
Myanmar	72	21	29.2
Thailand	26	3	11.5
Philippines	14	2	14.3
Indonesia	9	3	33.3
Solomon	63	0	0
Yemen	19	1	5.3
Bolivia	16	0	0

いう問題もある。これは今後の日本の保健所における接触者検診の強化における重要な問題であろう。同時にRFLPのクラスターがそのまま接触関係を意味しない可能性を否定するものではない。

3. 結核菌の北京ファミリー株

北京地域の患者から分離された菌株の85%がIS6110のRFLPパターンで66%以上の類似性をもった結核菌であった⁸⁶⁾。この遺伝子パターンは北京で高頻度に見出されたことから「北京ファミリー」と名づけられた^{93)~95)}。その後この遺伝子型の結核菌はそれよりは低頻度ながら、アジアのほかの地域⁶²⁾⁶³⁾⁸⁶⁾⁹⁶⁾⁹⁷⁾、旧ソビエト連邦諸国等⁶⁴⁾⁶⁵⁾で見出されている。日本でも上述のように沖縄、また、全国で70%がこれに属する⁹⁸⁾。北京ファミリーのすべての分離株においてIS6110のパターンが完全に一致しているわけではないが、スポリゴタイピングは北京ファミリーに特有の同一のパターンを示す(図4)。

北京ファミリー株が多く地域で優位に蔓延していることから、この株はほかの菌株に比べて、優位に選択されている可能性が考えられる(表1)。その要因としてBCG接種による選択、つまりBCG接種がこの菌株に対しては有効に働かないのではないかと推測されたことがある。これは、ベトナムでBCG既接種の結核患者中に北京ファミリー株が未接種患者におけるよりもやや多かった(非有意)ことから唱えられたもの

である⁹⁶⁾。この遺伝子型の株がBCG接種に対して選択的に抵抗力があるのか、一般的に発病のための活性が高いのかはわからないが、これまで無関係と考えられ、あるいは不明とされてきたIS6110パターンとなんらかの表現型との関連を示唆するものとしても興味深い。

このことはさらに薬剤耐性との関連でも論じられている。ベトナムにおける研究⁹⁵⁾でもほかの地域での研究⁹³⁾⁹⁹⁾においても、北京ファミリーの結核菌の薬剤耐性率が高いことが示された。これは1990年代初頭米国で大規模な集団感染をひき起こした多剤耐性結核菌W株を思い起こさせる^{95)100)~102)}。このW株のIS6110のパターンは北京ファミリーのそれとよく似ており、スポリゴタイピングのパターンは完全に一致している。

分子遺伝子タイピングの制約

以上にみたように、IS6110を基本としたRFLPにはいくつかの制約がある。第一に、RFLPパターンが一致したからといって、それがそのまま菌が最近伝播したことの証拠とならないことがある。これは地域社会にはいわば「流行株」「有力株」というべきものがあって、この場合は遺伝子タイプの「偶然の一致」がめずらしくない。Bradenらのアラスカにおける結核分子疫学の研究¹⁰³⁾では、とくに高齢者の患者ではクラスター形成が最近の感染を意味しないことが示された。米国のいくつかの地域における患者に関する研究で

は46%がIS6110でクラスターを形成したが、これらにpTBN12をマーカーとする2次分析をしたところそのうちの41%が異なるパターンであった。クラスター形成に関して2分析結果が一致した例と不一致例での疫学リンクの確認の割合は78%対11%で、2次分析の重要性を示している¹⁰⁴⁾。

第二に、ある結核菌は少数個のIS6110断片しかもっていない。これらの事例では分離のための特異性が低く、2次タイピング法が必要である。

IS6110によるタイピングのさらに重要な制約は、分析に必要なDNAを得るために培養が必要なことである。このための「待ち時間」が、重大な疫学的措置を遅らせ、有益な疫学的な情報も失わせる。これに対しては新たな核酸増幅を基礎とした迅速タイピング手法がいくつか開発されている。すなわちスポリゴタイピング、mixed-linker PCR、VNTR法などで、これらはいわば「real time-遺伝子タイピング」情報を供給するものである。英国ではまずPCRによるRAPET法という迅速法を行っておき、続いて正規の方法としてのIS6110による最終判定を行い、この成績をデータベースに保存するという方式をとっている¹⁰⁵⁾。一方1次分析としてVNTR法、続いてIS6110法を行うという方式も有力になりつつある¹⁰⁶⁾。

クラスター形成をもとにした応用に関する問題点については「クラスター形成と最近の感染伝播」の章で述べた。

結核菌分子タイピングの今後

これまで結核菌遺伝子タイピングに中心的な役割を果たしてきたIS6110 RFLP分析であるが、上に述べたように克服されるべき面が多く明らかになっている。スポリゴタイピングやMIRU-VNTRなどについては「結核菌遺伝子タイピングのさまざまな技術」の章で述べたが、さらに最近の方法は、繰り返し配列やゲノムシーケンスの特徴に関係した多型性を検出する手法が中心である。

結核の伝播方向や1次、2次的な感染源間の分別のためには3~5年とのIS6110の平均転位活性は長すぎる⁷⁴⁾⁷⁵⁾。結核菌のもっと速い変異を検出する分子時計を使う必要がある。一方、結核菌

の表現形質と系統樹上の位置の相関といった進化論的な研究のためには、結核菌の長期間の遺伝学的変化をみるマーカーが欲しい。そのためにいろいろな分子時計の疫学マーカーが1回の分析で調べられるようになることが望まれ、その可能性もみえてきた。結核菌H37Rvの全ゲノム配列が明らかになった¹⁰⁷⁾ことで、それにもとづくゲノムの多様性を検出するDNA指紋分析技術の開発が可能になった。ゲノム全域を対象に塩基の置換を検出できる方法として開発されたのがFAFLPタイピング法¹⁰⁸⁾である。FAFLPパターンは、株の組み合わせによっては、IS6110 RFLPパターンより分別能があったという。

全ゲノム配列の解析にもとづくそのほかの分析方法としてはDNAマイクロアレイとDNAチップ技術がある。これを用いると種々のゲノム部位の遺伝的な多様性を同時に検出することが可能になる。このようなアプローチは最近H37Rv株との比較による*M. bovis* BCG株における遺伝学的な変異の検討⁴⁹⁾に用いられた。ゲノム上の領域の欠失を用いた研究¹⁰⁹⁾¹¹⁰⁾はそのような方向へのモデルであろう。

DNAマイクロアレイとDNAチップは原理的には1回の分析で菌種の同定、薬剤感受性試験および種々の進化レベルにおける分子タイピングを可能にする究極の技術といえる。問題はこのような進んだ技術をいかに対策の現場に効果的、効率的に結びつけるかであろう。

文 献

- 1) Enarson DA, Chretien J. Epidemiology of respiratory infectious diseases. *Curr Opin Pulm Med* 1999; 5(3): 128.
- 2) Roth A, Schaberg T, Mauch H. Molecular diagnosis of tuberculosis: current clinical validity and future perspectives. *Eur Respir J* 1997; 10(8): 1877.
- 3) Tan WC, Tan MF. DNA diagnosis of pulmonary infections: particular emphasis on *Mycobacterium tuberculosis*. *Respirology* 1996; 1(1): 31.
- 4) Sepkowitz KA, Raffalli J, Riley L, et al. Tuberculosis in the AIDS era. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8(2): 180.
- 5) Riska PF, Jacobs WR Jr, Alland D. Molecular de-

- terminants of drug resistance in tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000 ; 4(2 Suppl 1) : S4.
- 6) Bolhuis H, van Veen HW, Poolman B, et al. Mechanisms of multidrug transporters. *FEMS Microbiol Rev* 1997 ; 21(1) : 55.
 - 7) Heritage J, M'Zali FH, Gascoyne-Binzi D, et al. Evolution and spread of SHV extended-spectrum beta-lactamases in gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother* 1999 ; 44(3) : 309.
 - 8) van Veen HW, Konings WN. Drug efflux proteins in multidrug resistant bacteria. *Biol Chem* 1997 ; 378(8) : 769.
 - 9) Saunders NA. State of the art : typing *Mycobacterium tuberculosis*. *J Hosp Infect* 1995 ; 29(3) : 169.
 - 10) Drobniewski FA, Kent RJ, Stoker NG, et al. Molecular biology in the diagnosis and epidemiology of tuberculosis. *J Hosp Infect* 1994 ; 28(4) : 249.
 - 11) Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections : a review for healthcare epidemiologists. Molecular Typing Working Group of the Society for Healthcare Epidemiology of America. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997 ; 18(6) : 426. Review.
 - 12) Yakubu DE, Abadi FJ, Pennington TH. Molecular typing methods for *Neisseria meningitidis*. *J Med Microbiol* 1999 ; 48(12) : 1055.
 - 13) Kremer K, van Soolingen D, Frothingham R, et al. Comparison of methods based on different molecular epidemiological markers for typing of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains : inter-laboratory study of discriminatory power and reproducibility. *J Clin Microbiol* 1999 ; 37(8) : 2607.
 - 14) Eisenach KD, Crawford JT, Bates JH. Repetitive DNA sequences as probes for *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 1988 ; 26(11) : 2240.
 - 15) Thierry D, Cave MD, Eisenach KD, et al. IS6110, an IS-like element of *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Nucleic Acids Res* 1990 ; 18(1) : 188.
 - 16) Hermans PW, van Soolingen D, Dale JW, et al. Insertion element IS986 from *Mycobacterium tuberculosis* : a useful tool for diagnosis and epidemiology of tuberculosis. *J Clin Microbiol* 1990 ; 28(9) : 2051.
 - 17) Cave MD, Eisenach KD, McDermott PF, et al. IS6110 : conservation of sequence in the *Mycobacterium tuberculosis* complex and its utilization in DNA fingerprinting. *Mol Cell Probes* 1991 ; 5(1) : 73.
 - 18) van Embden JD, Cave MD, Crawford JT, et al. Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting : recommendations for a standardized methodology. *J Clin Microbiol* 1993 ; 31(2) : 406.
 - 19) Edlin BR, Tokars JI, Grieco MH, et al. An outbreak of multidrug-resistant tuberculosis among hospitalized patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1992 ; 326(23) : 1514.
 - 20) Pearson ML, Jereb JA, Frieden TR, et al. Nosocomial transmission of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. A risk to patients and health care workers. *Ann Intern Med* 1992 ; 117(3) : 191.
 - 21) Beck-Sague C, Dooley SW, Hutton MD, et al. Hospital outbreak of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* infections. Factors in transmission to staff and HIV-infected patients. *JAMA* 1992 ; 268(10) : 1280.
 - 22) Kamerbeek J, Schouls L, Kolk A, et al. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. *J Clin Microbiol* 1997 ; 35(4) : 907.
 - 23) Sola C, Filliol I, Legrand E, et al. Genotyping of the *Mycobacterium tuberculosis* complex using MIRUs : association with VNTR and spoligotyping for molecular epidemiology and evolutionary genetics. *Infect Genet Evol* 2003 ; 3(2) : 125.
 - 24) Supply P, Lesjean S, Savine E, et al. Automated high-throughput genotyping for study of global epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* based on mycobacterial interspersed repetitive units. *J Clin Microbiol* 2001 ; 39(10) : 3563.
 - 25) Ross BC, Raios K, Jackson K, et al. Molecular cloning of a highly repeated DNA element from *Mycobacterium tuberculosis* and its use as an epidemiological tool. *J Clin Microbiol* 1992 ; 30(4) : 942.

- 26) Heersma HF, Kremer K, van Embden JD. Computer analysis of IS6110 RFLP patterns of *Mycobacterium tuberculosis*. *Methods Mol Biol* 1998 ; 101 : 395.
- 27) van Embden JD, van Soolingen D, Heersma HF, et al. Establishment of European network of the surveillance of *Mycobacterium tuberculosis*. MRSA and penicillin-resistant *pneumococci* [letter : comment]. *Antimicrob Chemother* 1996 ; 38 : 905.
- 28) van Embden JD, van Gorkom T, Kremer K, et al. Genetic variation and evolutionary origin of the direct repeat locus of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria. *J Bacteriol* 2000 ; 182 : 2393.
- 29) van Soolingen D, van der Zanden AG, de Haas PE, et al. Diagnosis of *Mycobacterium microti* infections among humans by using novel genetic markers. *J Clin Microbiol* 1998 ; 36(7) : 1840.
- 30) Haas WH, Butler WR, Woodley CL, et al. Mixed-linker polymerase chain reaction : a new method for rapid fingerprinting of isolates of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *J Clin Microbiol* 1993 ; 31(5) : 1293.
- 31) Butler WR, Haas WH, Crawford JT. Automated DNA fingerprinting analysis of *Mycobacterium tuberculosis* using fluorescent detection of PCR products. *J Clin Microbiol* 1996 ; 34(7) : 1801.
- 32) Reising F, Kremer K, Amthor B, et al. Flip : Fast ligation-mediated PCR typing of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria. In : Abstract of the Project Meeting Molecular Epidemiology and Control of Tuberculosis. Paris : Institute Pasteur ; 1999.
- 33) Ruhul A, Suzuki Y, Takatorige T, et al. Usefulness of self ligation mediated polymerase chain reaction : a rapid method for fingerprinting in molecular epidemiology of tuberculosis. *Kekkaku* 2001 ; 76(1) : 9.
- 34) van Soolingen D. Molecular epidemiology of tuberculosis and other mycobacterial infections : main methodologies and achievements. *J Intern Med* 2001 ; 249(1) : 1.
- 35) Jereb JA, Burwen DR, Dooley SW, et al. Nosocomial outbreak of tuberculosis in a renal transplant unit : application of a new technique for restriction fragment length polymorphism analysis of *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *J Infect Dis* 1993 ; 168(5) : 1219.
- 36) Genewein A, Telenti A, Bernasconi C, et al. Molecular approach to identifying route of transmission of tuberculosis in the community. *Lancet* 1993 ; 342(8875) : 841.
- 37) Pfyffer GE, Strassle A, Rose N, et al. Transmission of tuberculosis in the metropolitan area of Zurich : a 3 year survey based on DNA fingerprinting. *Eur Respir J* 1998 ; 11(4) : 804.
- 38) van Deutekom H, Gerritsen JJ, van Soolingen D, et al. A molecular epidemiological approach to studying the transmission of tuberculosis in Amsterdam. *Clin Infect Dis* 1997 ; 25(5) : 1071.
- 39) Bishai WR, Graham NM, Harrington S, et al. Molecular and geographic patterns of tuberculosis transmission after 15 years of directly observed therapy. *JAMA* 1998 ; 280(19) : 1679.
- 40) Bauer J, Kok-Jensen A, Faurschou P, et al. A prospective evaluation of the clinical value of nationwide DNA fingerprinting of tuberculosis isolates in Denmark. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000 ; 4(4) : 295.
- 41) Small PM, Hopewell PC, Singh SP, et al. The epidemiology of tuberculosis in San Francisco. A population-based study using conventional and molecular methods. *N Engl J Med* 1994 ; 330(24) : 1703.
- 42) Chin DP, Crane CM, Diul MY, et al. Spread of *Mycobacterium tuberculosis* in a community implementing recommended elements of tuberculosis control. *JAMA* 2000 ; 283(22) : 2968.
- 43) Garcia-Garcia M, Palacios-Martinez M, Ponce-de-Leon A, et al. The role of core groups in transmitting *Mycobacterium tuberculosis* in a high prevalence community in Southern Mexico. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000 ; 4(1) : 12.
- 44) Mangura BT, Napolitano EC, Passannante MR, et al. *Mycobacterium tuberculosis* miniepidemic in a church gospel choir. *Chest* 1998 ; 113(1) : 234.
- 45) Bock NN, Mallory JP, Mobley N, et al. Outbreak of tuberculosis associated with a floating card game

- in the rural south : lessons for tuberculosis contact investigations. *Clin Infect Dis* 1998 ; 27 (5) : 1221.
- 46) Behr MA, Hopewell PC, Paz EA, et al. Predictive value of contact investigation for identifying recent transmission of *Mycobacterium tuberculosis*. *Am J Respir Crit Care Med* 1998 ; 158 (2) : 465.
- 47) Lambregts-van Weezenbeek CS, Sebek MM, van Gerven PJ, et al. Tuberculosis contact investigation and DNA fingerprint surveillance in the Netherlands : 6 years' experience with nation-wide cluster feedback and cluster monitoring. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003 ; 7 (12 Supple 3) : S463.
- 48) van Soolingen D, Hermans PW, de Haas PE, et al. Insertion element IS1081-associated restriction fragment length polymorphisms in *Mycobacterium tuberculosis* complex species : a reliable tool for recognizing *Mycobacterium bovis* BCG. *Clin Microbiol* 1992 ; 30 : 1772.
- 49) Behr MA, Small PM. A historical and molecular phylogeny of BCG strains. *Vaccine* 1999 ; 17 : 915.
- 50) Das S, Chan SL, Allen BW, et al. Application of DNA fingerprinting with IS986 to sequential mycobacterial isolates obtained from pulmonary tuberculosis patients in Hong Kong before, during and after short-course chemotherapy. *Tuber Lung Dis* 1993 ; 74 (1) : 47. Erratum in : *Tuber Lung Dis* 1993 ; 74 (3) : 217.
- 51) Small PM, Shafer RW, Hopewell PC, et al. Exogenous reinfection with multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in patients with advanced HIV infection. *N Engl J Med* 1993 ; 328 (16) : 1137.
- 52) van Rie A, Warren R, Richardson M, et al. Exogenous reinfection as a cause of recurrent tuberculosis after curative treatment. *N Engl J Med* 1999 ; 341 (16) : 1174.
- 53) Caminero JA, Pena MJ, Campos-Herrero MI, et al. Exogenous reinfection with tuberculosis on a European island with a moderate incidence of disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001 ; 163 (3 Pt 1) : 717.
- 54) 近藤有好, 桶谷典弘, 桑原克弘, ほか. 老健施設における結核の外来性再感染と思われる集団発生について. *結核* 2002 ; 77 (5) : 401.
- 55) 露口一成. 外来性再感染も含む多剤耐性結核菌による院内集団感染事例. 第29回結核・非定型抗酸菌症研究会. 2003.
- 56) de Boer AS, van Soolingen D. Recurrent tuberculosis due to exogenous reinfection. *N Engl J Med* 2000 ; 342 (14) : 1050.
- 57) Behr MA, Warren SA, Salamon H, et al. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* from patients smear-negative for acid-fast bacilli. *Lancet* 1999 ; 353 : 444.
- 58) van Soolingen D, de Haas PE, van Doorn HR, et al. Mutations at amino acid position 315 of the *katG* gene are associated with high-level resistance to isoniazid, other drug resistance, and successful transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in the Netherlands. *J Infect Dis* 2000 ; 182 (6) : 1788.
- 59) Alland D, Kalkut GE, Moss AR, et al. Transmission of tuberculosis in New York City. An analysis by DNA fingerprinting and conventional epidemiologic methods. *N Engl J Med* 1994 ; 330 (24) : 1710.
- 60) van Soolingen D, Borgdorff MW, de Haas PE, et al. Molecular epidemiology of tuberculosis in the Netherlands : a nationwide study from 1993 through 1997. *J Infect Dis* 1999 ; 180 (3) : 726.
- 61) Godfrey-Faussett P, Stoker NG. Aspects of tuberculosis in Africa. 3. Genetic "fingerprinting" for clues to the pathogenesis of tuberculosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1992 ; 86 (5) : 472.
- 62) 伊藤邦彦, 高橋光良, 吉山 崇, ほか. 病院検査室における結核菌培養の Cross-contamination. *結核* 1999 ; 74 : 777.
- 63) Borgdorff MW, Nagelkerke N, van Soolingen D, et al. Analysis of tuberculosis transmission between nationalities in the Netherlands in the period 1993-1995 using DNA fingerprinting. *Am J Epidemiol* 1998 ; 147 (2) : 187.
- 64) Borgdorff MW, Nagelkerke NJ, van Soolingen D, et al. Transmission of tuberculosis between people of different ages in The Netherlands : an analysis using DNA fingerprinting. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999 ; 3 (3) : 202.
- 65) Borgdorff MW, Behr MA, Nagelkerke NJ, et al. Transmission of tuberculosis in San Francisco and

- its association with immigration and ethnicity. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000 ; 4(4) : 287.
- 66) ten Asbroek AH, Borgdorff MW, Nagelkerke NJ, et al. Estimation of serial interval and incubation period of tuberculosis using DNA fingerprinting. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999 ; 3(5) : 414.
- 67) 高島毛文雄. 社会経済弱者における結核対策の強化に関する研究. In : 厚生科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業「再興感染症としての結核対策確立のための研究」(主任研究者・森 亨)平成14年度分担研究報告. 2003. p. 49.
- 68) Kulaga S, Behr M, Nguyen D, et al. Diversity of *Mycobacterium tuberculosis* Isolates in an Immigrant Population : Evidence against a Founder Effect. *Am J Epidemiol* 2004 ; 159(5) : 507.
- 69) Verver S, Warren RM, Munch Z, et al. Proportion of tuberculosis transmission that takes place in households in a high-incidence area. *Lancet* 2004 ; 363 : 212.
- 70) Lambregts-van Weezenbeek CS, Sebek MM, van Gerven PJ, et al. Tuberculosis contact investigation and DNA fingerprint surveillance in the Netherlands : 6 years' experience with nation-wide cluster feedback and cluster monitoring. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003 ; 7(12 Suppl 3) : S463.
- 71) Chin DP, Crane CM, Diul MY, et al. Spread of *Mycobacterium tuberculosis* in a community implementing recommended elements of Tuberculosis control. *JAMA* 2000 ; 283(22) : 2968.
- 72) Golub JE, Cronin WA, Obasanjo OO, et al. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* through casual contact with an infectious case. *Arch Intern Med* 2001 ; 161(18) : 2254.
- 73) Yeh RW, Ponce de Leon A, Agasino CB, et al. Stability of *Mycobacterium tuberculosis* DNA genotypes. *J Infect Dis* 1998 ; 177(4) : 1107.
- 74) de Boer AS, Borgdorff MW, de Haas PE, et al. Analysis of rate of change of IS6110 RFLP patterns of *Mycobacterium tuberculosis* based on serial patient isolates. *J Infect Dis* 1999 ; 180(4) : 1238.
- 75) ten Asbroek AH, Borgdorff MW, Nagelkerke NJ, et al. Estimation of serial interval and incubation period of tuberculosis using DNA fingerprinting. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999 ; 3(5) : 414.
- 76) Crawford JT. Genotyping in contact investigations : a CDC perspective. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003 ; 7(12) : S453.
- 77) Sola C, Horgen L, Devallois A, et al. Combined numerical analysis based on the molecular description of *Mycobacterium tuberculosis* by four repetitive sequence-based DNA typing systems. *Res Microbiol* 1998 ; 149(5) : 349.
- 78) Murray M, Alland D. Methodological problems in the molecular epidemiology of tuberculosis. *Am J Epidemiol* 2002 ; 155(6) : 565.
- 79) Murray M. Sampling bias in the molecular epidemiology of tuberculosis. *Emerg Infect Dis* 2002 ; 8(4) : 363.
- 80) Glynn JR, Vynnycky E, Fine PE. Influence of sampling on estimates of clustering and recent transmission of *Mycobacterium tuberculosis* derived from DNA fingerprinting techniques. *Am J Epidemiol* 1999 ; 149(4) : 366.
- 81) de Boer AS, van Soolingen D. Recurrent tuberculosis due to exogenous reinfection. *N Engl J Med* 2000 ; 342(14) : 1050.
- 82) Vynnycky E, Nagelkerke N, Borgdorff MW, et al. The effect of age and study duration on the relationship between "clustering" of DNA fingerprint patterns and the proportion of tuberculosis disease attributable to recent transmission. *Epidemiol Infect* 2001 ; 126(1) : 43.
- 83) Bauer J, Yang Z, Poulsen S, et al. Results from 5 years of nationwide DNA fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates in a country with a low incidence of *M. tuberculosis* infection. *J Clin Microbiol* 1998 ; 36(1) : 305.
- 84) van Soolingen D, Borgdorff MW, de Haas PE, et al. Molecular epidemiology of tuberculosis in the Netherlands : a nationwide study from 1993 through 1997. *J Infect Dis* 1999 ; 180(3) : 726.
- 85) Heldal E, Docker H, Caugant DA, et al. Pulmonary tuberculosis in Norwegian patients. The role of reactivation, re-infection and primary infection assessed by previous mass screening data and restriction fragment length polymorphism analysis.

- Int J Tuberc Lung Dis 2000 ; 4(4) : 300.
- 86) van Soolingen D, Qian L, de Haas PE, et al. Pre-dominance of a single genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in countries of east Asia. J Clin Microbiol 1995 ; 33(12) : 3234.
- 87) Hermans PW, Messadi F, Guebrexabher H, et al. Analysis of the population structure of *Mycobacterium tuberculosis* in Ethiopia, Tunisia and The Netherlands : usefulness of DNA typing for global tuberculosis epidemiology. J Infect Dis 1995 ; 171(6) : 1504.
- 88) Warren R, Hauman J, Beyers N, et al. Unexpectedly high strain diversity of *Mycobacterium tuberculosis* in a high-incidence community. S Afr Med J 1996 ; 86(1) : 45.
- 89) Hirsh AE, Tsolaki AG, DeRiemer K, et al. Stable association between strains of *Mycobacterium tuberculosis* and their human host populations. Proc Natl Acad Sci USA 2004 ; 101(14) : 4871.
- 90) 沖縄県結核サーベイランス検討委員会. 沖縄県の結核患者管理における結核菌遺伝子型同定の有用性. 日本公衆衛生雑誌 2003 ; 50(4) : 339.
- 91) Takahashi M, Kazumi Y, Fukasawa Y, et al. Restriction fragment length polymorphism analysis of epidemiologically related *Mycobacterium tuberculosis* isolates. Microbiol Immunol 1993 ; 37(4) : 289.
- 92) Stead WW, Lofgren JP, Warren E, et al. Tuberculosis as an endemic and nosocomial infection among the elderly in nursing homes. N Engl J Med 1985 ; 312(23) : 1483.
- 93) Diaz R, Kremer K, de Haas PE, et al. Molecular epidemiology of tuberculosis in Cuba outside of Havana, July 1994-June 1995 : utility of spoligo-typing versus IS6110 restriction fragment length polymorphism. Int J Tuberc Lung Dis 1998 ; 2(9) : 743.
- 94) Niemann S, Rusch-Gerdes S, Richter E. IS6110 fingerprinting of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Germany during 1995. J Clin Microbiol 1997 ; 35(12) : 3015.
- 95) Bifani PJ, Mathema B, Liu Z, et al. Identification of a W variant outbreak of *Mycobacterium tuberculosis* via population-based molecular epidemiology. JAMA 1999 ; 282(24) : 2321.
- 96) Anh DD, Borgdorff MW, Van LN, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype emerging in Vietnam. Emerg Infect Dis 2000 ; 6(3) : 302.
- 97) Park YK, Bai GH, Kim SJ. Restriction fragment length polymorphism analysis of *Mycobacterium tuberculosis* isolated from countries in the western pacific region. J Clin Microbiol 2000 ; 38(1) : 191.
- 98) 高橋光良. 結核分子疫学の成果と展望. 結核 2002 ; 77(11) : 741.
- 99) 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(9) : 2443.
- 100) Friedman CR, Stoeckle MY, Kreiswirth BN, et al. Transmission of multidrug-resistant tuberculosis in a large urban setting. Am J Respir Crit Care Med 1995 ; 152(1) : 355.
- 101) Kurepina NE, Sreevatsan S, Plikaytis BB, et al. Characterization of the phylogenetic distribution and chromosomal insertion sites of five IS6110 elements in *Mycobacterium tuberculosis* : non-random integration in the dnaA-dnaN region. Tuber Lung Dis 1998 ; 79(1) : 31.
- 102) Agerton TB, Valway SE, Blinkhorn RJ, et al. Spread of strain W, a highly drug-resistant strain of *Mycobacterium tuberculosis*, across the United States. Clin Infect Dis 1999 ; 29(1) : 85 ; discussion 93.
- 103) Braden CR, Templeton GL, Cave MD, et al. Interpretation of restriction fragment length polymorphism analysis of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from a state with a large rural population. J Infect Dis 1997 ; 175(6) : 1446.
- 104) Burman WJ, Reves RR, Hawkes AP, et al. DNA fingerprinting with two probes decreases clustering of *Mycobacterium tuberculosis*. Am J Respir Crit Care Med 1997 ; 155(3) : 1140.
- 105) Dubroniewski FA, Gibson A, Ruddy M, et al. Evaluation and Utilization as a Public Health Tool of a National Molecular Epidemiological Tuberculosis

- Outbreak Database within the United Kingdom from 1997 to 2001. J Clin Microbiol 2003 ; 41 : 1861.
- 106) Barnes PF, Cave MD. Molecular epidemiology of tuberculosis. N Engl J Med 2003 ; 349(12) : 1149.
- 107) Cole ST, Brosch R, Parkhill J, et al. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. Nature 1998 ; 393(6685) : 537. Erratum in : Nature 1998 ; 396(6707) : 190.
- 108) Goulding JN, Stanley J, Saunders N, et al. Genome-sequence-based fluorescent amplified-fragment length polymorphism analysis of *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol 2000 ; 38(3) : 1121.
- 109) Brosch R, Gordon SV, Marmiesse M, et al. A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. Proc Natl Acad Sci USA 2002 ; 99(6) : 3684.
- 110) Tsolaki AG, Hirsh AE, DeRiemer K, et al. Functional and evolutionary genomics of *Mycobacterium tuberculosis* : insights from genomic deletions in 100 strains. Proc Natl Acad Sci USA 2004 ; 101(14) : 4865.

* * *

小児を取り巻く結核の状況

——法改正後の状況も含めて——

大阪府富田林保健所医師 永井仁美

はじめに

改正結核予防法に基づくBCG直接接種が平成17年4月から始まり、半年が経過した。全国的にみると市町村の接種体制が十分に整っているとは言えない状況でスタートした直接接種であるが、接種期間の短さ、接種対象児の月齢、コッホ現象出現時の対応など問題点が懸念されていた。また、15年度からはBCG再接種の廃止・学校健診の廃止が実施されており、まさに小児結核対策は転換点にあると言える。

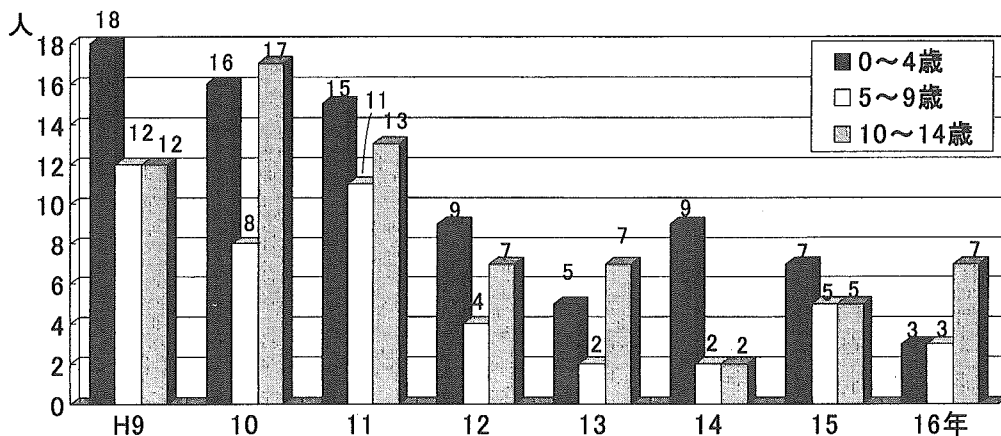
一方、わが国の小児結核の減少は著しいものがあるが、大阪・東京などの大都市部地域では減少率が横ばいであり、まだまだ油断ができない状況である。本稿では、大阪府での小児結核の現状や市町村における法改正後のBCG接種の実際などを報告し、小児を取り巻く結核の状況

について考える。

1. 大阪府下における小児結核患者数の推移

大阪府下（府、大阪市、堺市、東大阪市、高槻市）の小児結核患者数の推移を年齢階級別に示す（図1）。11年までは、毎年40人前後の登録があったが、その後減少傾向がみられる。しかし、いまだに毎年10人以上の登録があるうえ、全国の登録数に占める大阪府の割合を見ると11年が13.9%であったのに対し15年が13.4%、16年が11.1%となっており、今なお全国の1割以上を占めている。一方、16年に小児結核の患者登録が1例もなかった都道府県は18県であった。数年間小児結核の登録がみられない県も複数あり、やはり地域格差は否定できない。

図1 年齢階級別小児結核患者数の推移（大阪府全体）



2. 小児結核患者症例検討会の実施

大阪府では15年度より、小児結核患者症例検討会を開催している。これは、15年度厚生労働科学研究事業の研究助成を受けて実施しているもので、今年度で3回目の開催となった。

集団的一律的対応から個別的重点的対応に重点が移行してきている現在、実際に登録された小児結核症例について、①発病予防可能性、②治療支援の必要性、③院内感染防止上の問題点等の観点から、医療機関と保健所がそれぞれの対応について自己分析し、かつ相互に検討する場として実施している。医療機関と行政（保健所）の関係者が一堂に会することによって、それぞれの症例における課題を総括的に整理し、今後の小児結核対策の改善につなげていくことができる成果は非常に大きい。

今までの検討会で提示された症例の概要を示す（表1）。15～17年7月末までに大阪府下で登録された小児結核患者は35例であり、この検

討会で約半数を検討したことになる。

3. 小児結核患者の現状

提示された18例中16例は身近な感染源が推測されており、成人の結核発症が小児への感染・発病を起こしているのは言うまでもない。なお、感染源が不明な2例はいずれも海外居住歴があった。

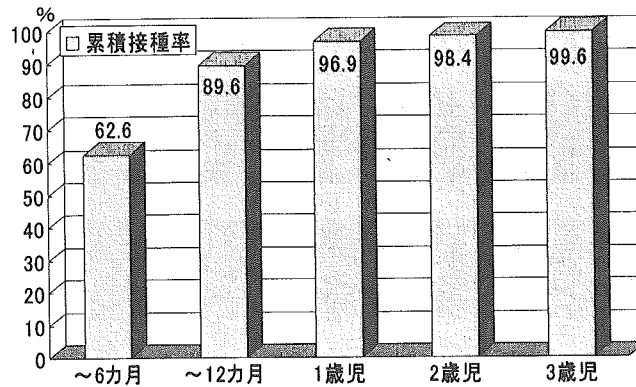
予防可能な例としては、①感染源となった患者の有症状放置、②予防内服中断例、③定期外健診対象者の不適格な選定、④健診拒否例などがみられた。

また、親（養育者）側の要素としては、子どもが症状を呈しているにもかかわらず親が医療機関へ連れて行かない症例や、普段から食事や生活面での養育を十分にしていない症例、子どものことよりも親自身の生活を優先する家族など、子どもの置かれた環境が非常に複雑であるものも多くみられ、ますます小児結核の偏在化

表1 症例の概要（平成15～17年度検討症例）

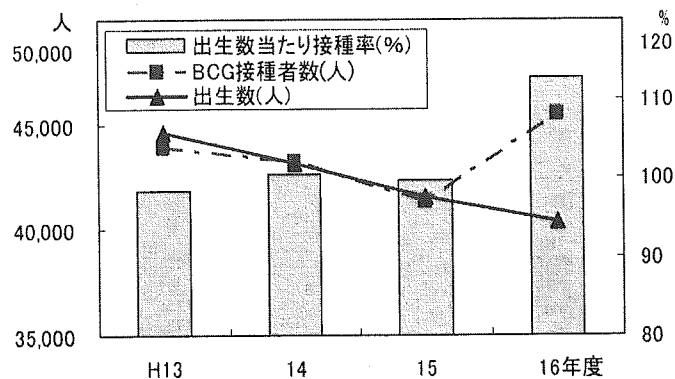
事例	年齢 (歳)	性	登録病名	学会分類	感染源(病型, 塗抹)	BCG歴
1	0	男	肺結核・肺門リンパ節結核	bⅢ2 +/H	父 (bⅡ2, 1+)	無
2	3	女	肺結核	/Ⅲ1	母 (rⅡ2, 2+)	無
3	1	女	肺門リンパ節結核・気管支結核	rH	母 (rⅡ2, 2+)	無
4	2	女	肺門リンパ節結核	/H	祖母 (bⅠ3, 3+)	無
5	0	女	結核性髄膜炎・肺結核	bⅢ2	父 (bⅡ2, 1+)	無
6	2	男	結核性髄膜炎	0型	祖父 (bⅡ3, 1+)	無
7	6	女	肺結核	rⅡ1	不明	有
8	14	男	肺結核	/Ⅲ1	父 (bⅡ2, 2+)	無
9	1	女	肺門リンパ節結核	rH	母 (/Ⅱ1, 1+) 祖母 (bⅡ2, 3+)	無
10	12	女	肺結核	/Ⅲ1	母の同居人 (bⅡ2, rpl, 3+)	有
11	1	男	肺結核・結核性髄膜炎	/Ⅲ2	祖父の姉の夫 (bⅡ3, 1+)	無
12	12	女	結核性胸膜炎	rpl	父 (bⅡ3, ±)	有
13	4	男	肺結核・肺門リンパ節結核	rⅢ1+rH	父 (rⅢ2, 3+)	有
14	9	女	肺門リンパ節結核	/H	父 (rⅡ2, 3+)	有
15	14	女	肺結核	bⅡ2	知人 (+)	有
16	12	女	肺結核・頸部リンパ節結核	/Ⅲ2	祖父 (3+)	有
17	12	女	肺結核	/Ⅲ1	不明	有
18	7	女	肺結核・喉頭結核	bⅢ3	祖父 (/Ⅲ2, -)	有

図2 年齢階級別BCG接種率（平成16年度）



（保健所設置市を除く府内39市町村調査）

図3 接種者数と出生数当たりの接種率の推移



が実感された。

このような小児を治療完遂まで見届けることが医療機関・保健所の目標であるが、そのためには両者の連携に加え、それぞれの事例に必要な関係機関との連絡、協力は不可欠である。学校、保育所、生活保護担当課、児童相談所などと一層の協力をしなければならない。検討会では、それぞれの役割や分担を確認・補充しながら進めている。

4. 法改正後のBCG接種

このように小児を取り巻く結核事情は、まだまだ楽観視できない状況であるが、17年4月より新しいBCG接種体制が始まった。①直接接種

の導入、②定期接種期間を生後6カ月までと変更、③生後3カ月前接種の容認、この3点が改正された。「乳児期早期接種を促進し、乳児期の早期BCG接種率を高め乳児の結核免疫力を強化する」ためであるが、接種体制が全国的には十分整っていない時期でのスタートとなった。

大阪府内市町村でも、16年度中より制度変更への対応を進めてきたが、法改正後の接種率の低下やコホ現象への対応などの課題が懸念されていた。大阪府では16年度に引き続き、17年度にも府内市町村におけるBCG接種状況を調査し、法改正後の状況を把握している。

16年度の年齢階級別BCG接種率を示す（図2）。この年度では6カ月未満に接種を受けた者は62.6%であった。次に、年度別のBCG接種

図4 接種者の年齢別割合

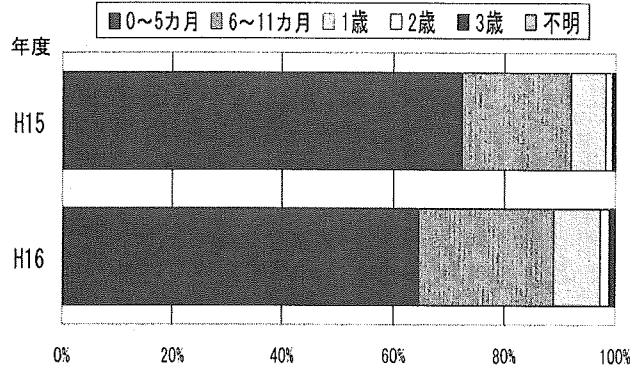


図5 BCG実施方法 (n=39)

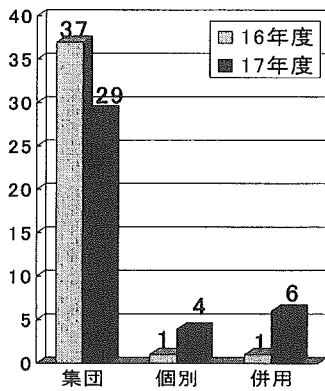
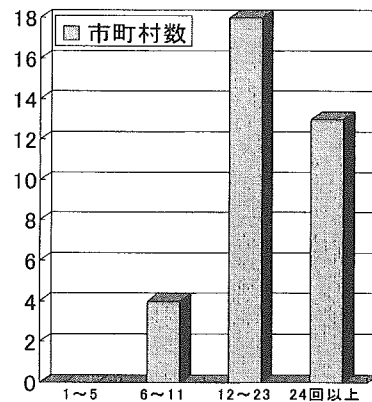


図6 年間実施回数 (17年度 n=35)



者数の推移と出生数当たりのBCG接種率を示す(図3)。13年度から15年度まではほぼ出生数と同数の接種がされていたが、16年度は出生数を大きく上回る接種者数であった。また15年度および16年度の接種者の年齢別割合をみると、6カ月以上の乳幼児の接種者数が増加していた(図4)。これらのことから、府内市町村が次年度(法改正後)より法定接種の対象外になってしまう乳幼児に対して、接種の推進に積極的に取り組んだことが考えられる。

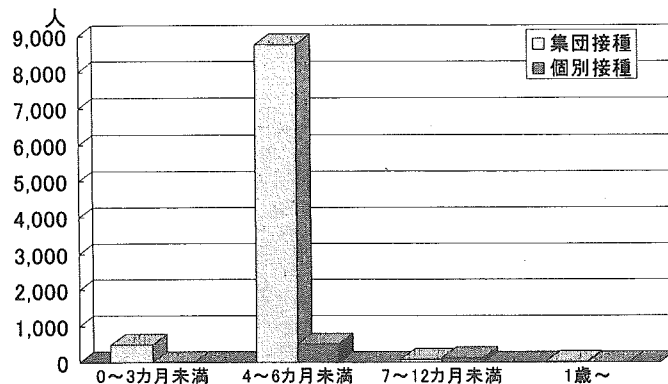
府内市町村の努力は、BCG実施方法や回数からもうかがえる。実施方法は、集団接種が29自治体、個別接種が4自治体、集団・個別併用が6自治体あり、16年度と比し個別接種が8自治体で新たに導入されていた(図5)。集団方式による年間実施回数を階級別に示す(図6)。

集団方式を取り入れている35自治体のうち31自治体(88.6%)で毎月1回以上の頻度で実施されており、年間実施回数の平均は18.3回であった。15年度の10.2回に比し、大きく回数の増加が認められた。

17年度四半期(4~6月)の年齢階級別BCG接種者数を示す(図7)。個別接種で受けた者の割合は6.1%であった。法定接種は全体の98.1%であり、残り1.9%が法定外ではあるが自治体が提供する接種として6カ月以上の子どもに実施されていた。法定接種のうち3カ月未満児に対する接種は4.8%であった。

直接接種が導入されるに当たり、コッホ現象出現時の対応は課題の一つであった。この四半期に法定接種を受けた者のうちコッホ現象陽性であったのは1例(発生率0.01%)であった。

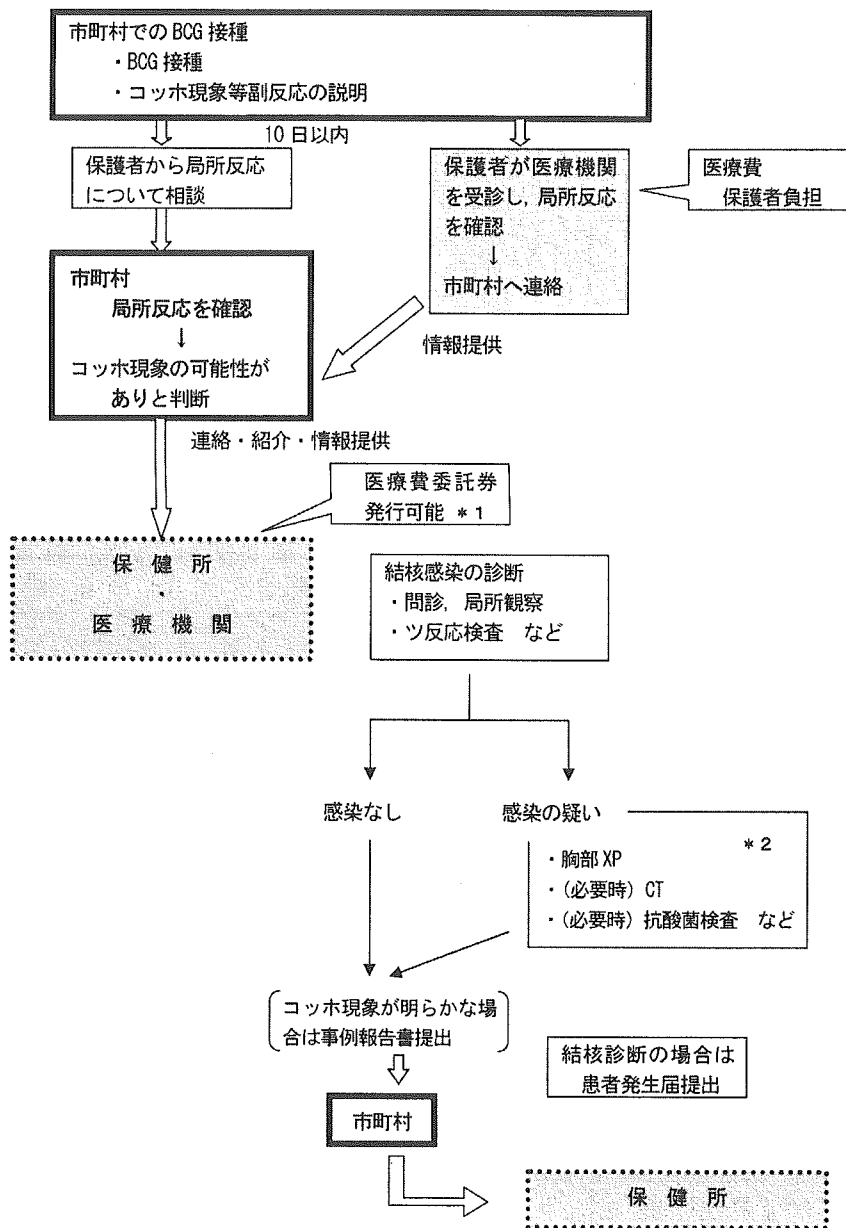
図7 年齢階級別BCG接種者数（平成17年4～6月）



資料1 問診票

平成 年 月 日		
氏名	男・女 生年月日 平成 年 月 日（カ月）	
保護者氏名		
住所	(電話 -)	
結核に関する 家族歴 接触歴	結核になられた方に○をつけてください 祖父・祖母・父・母・兄・姉・おじ・おば 知人（具体的に： ） その他（ ）	
	結核患者氏名	
	住所	
	治療状況	・平成 年 月～ 年 月まで治療していた ・現在治療中 ・
	患者との接触状況 (期間・頻度)	
上記の方と接触した後、保健所等で接触者健診（ツベルクリン反応検査・レントゲン検査）を 受けた ・ 受けていない ・ わからない ↓ どこで受けましたか ⇒ () 保健所 ・ 医療機関 () その結果、どのような指示を受けましたか ⇒ 経過観察・予防内服・その他 ()		
備考		

図8 コッホ現象発生時の対応



* 1 : 家族歴や接触歴のある場合は医療機関に対し委託券を発行できる
 * 2 : 感染の疑われる子どもには、さらに検査を実施し、結核発病を診断された時は治療開始となる
 結核発病なしと判断されたときは要経過観察となる (含: 予防内服)

17年度がスタートする時点では、『現場で役に立つ直接BCG接種の手引き』（結核予防会発行）もまだ手元になかったため、16年度中に独自で問診票の作成などを行った。

コッホ現象を避けるチャンスは何回かあると考える。その一つとして通常の予診表点検時に

「結核患者との接触歴があり、感染を受けた可能性がある」ことが推測された場合、さらに接触状況等を詳しく聞くことのできる問診票を保健所で作成し（資料1）、管内市町村の保健センターへ配布した。通常の業務では結核に携わることが少ない市町村保健師が、保護者から最

低限必要な情報を聞き取ることができるように作成した。このシートを基に、保健所は感染源の情報を収集し、子どもへの対応を考慮することとした。

また、コッホ現象出現時の対応については、保健所が中心となり管内市町村と医療機関で事前に話し合う場を設け確認をした（図8）。このことにより、保護者が市町村・医療機関・保健所のいずれに相談をした際にも迅速・適切な対応が取れるようになったと思われる。小児結核の感染やコッホ現象については、正しい判断のできる医療機関が十分あるとは言えない。だからこそ接種当日に保護者へ、①異常を感じたときの連絡先や、②どのような場合に連絡をするべきかを、写真やポスターあるいは配布プリントで周知することは言うまでもない。そして、

連絡を受けた市町村等は保健所・医療機関とすぐに相談・検討を行うように事前に調整をした。

終わりに

全国的には小児結核の患者数は減少傾向にあるが、その患者背景は複雑であることが多い。法改正後半年以上経過し、今では全国それぞれの地域で、さらに工夫された方策や効果的な運用がなされていると思われる。このような大きな変動の時期こそ、BCG接種率の動向、小児結核患者発生動向を詳細に把握・評価し、今後の政策づくりに生かしていくことが必要であり、結核感染の犠牲になる子どもたちがいなくなることを願ってやまない。

Comparison of erythema and induration as results of tuberculin tests

M. Kimura,* G. W. Comstock,† T. Mori‡

* Ministry of Health, Labor, and Welfare, Tokyo, Japan; † Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Baltimore, Maryland, USA; ‡ Japan Anti-Tuberculosis Association, Tokyo, Japan

SUMMARY

SETTING: Schoolchildren, tuberculosis (TB) patients, and hospital employees in Tokyo, Japan.

OBJECTIVE: To compare erythema and induration resulting from tuberculin tests among TB patients, normal children, and hospital employees with and without evidence of atopy.

DESIGN: The distributions of diameters of erythema and induration were compared among three groups: 95 TB patients, 6139 first-grade and 6185 seventh-grade children, and 97 volunteer employees classified as atopic or non-atopic on the basis of skin tests and serum immunoglobulin E (IgE) concentrations.

RESULTS: Erythema and induration were highly correlated. The distribution of erythema diameters was uni-

modal, and the distribution of induration diameters was bimodal. Erythema was considerably greater than induration among persons classified as being atopic.

CONCLUSION: Both erythema and induration appear to be adequate indices of tuberculin sensitivity. However, because most of the world uses induration as the index and virtually all studies of tuberculin sensitivity rely on induration, there are advantages in the use of induration. It would be desirable to initiate a large prospective study to see whether erythema or induration is the better predictor of subsequent tuberculous disease, and to confirm our finding that erythema is more likely to be confounded by atopy than induration.

KEY WORDS: tuberculin test; erythema; induration; atopy

IT HAS BEEN more than a century since Koch described tuberculin as a curative agent for tuberculosis (TB).¹ Although it did not take long before tuberculin was found not to be a 'magic bullet', the tuberculin skin test (TST) has remained the only widely accepted screening tool for TB infection. Old tuberculin (OT), similar to Koch's original preparation, was introduced in Japan in the mid 1920s.² Florence Seibert of the Henry Phipps Institute introduced purified protein derivative (PPD) of tuberculin in 1934,³ but Japan did not switch from OT to its Japanese standard PPD-s until 1968.² The large batch of PPD-tuberculin by Seibert in 1940 became the international standard PPD (PPD-S) in 1952.^{4,5} Both PPD-s and PPD-S are prepared from OT by precipitating the protein with ammonium sulphate. The usual dose of PPD-s is equivalent to 3 tuberculin units (TU), while the usual dose of PPD-S is equivalent to 5 TU.

In 1934, Aronson recommended that the widest diameter of induration be recorded as the index of sensitivity to a specified dose of tuberculin.⁶ This was accepted by an American committee in 1940.⁷ By 1955, this index had become more specific as the 'widest transverse diameter'.⁸ In 1940, Nobeji and colleagues reported a comparison of erythema and induration

among five patients using 20 medical students as observers and found inter-observer variability to be greater for induration than for erythema.⁹ On the basis of this study, the average of the longitudinal and transverse diameters of erythema was initially accepted as the result of TSTs in Japan. In 1974, this criterion was replaced by the maximum diameter of erythema, with ≥ 10 mm constituting a positive reaction.¹⁰

Because the comparability of erythema and induration of PPD-s reactions has had little discussion, two research questions will be addressed in this study. First, to what extent are the two measurements, erythema and induration, correlated? Second, because Tarlo et al. reported a positive correlation between immediate hypersensitivity to PPD-tuberculin and atopic status,¹¹ is erythema more closely related to atopic status than induration?

MATERIALS AND METHODS

TST results among bacteriologically confirmed TB patients

From records of patients admitted between 1989 and 1997 to Fukujuji Hospital (Japan Anti-Tuberculosis Association), Tokyo, 951 bacteriologically confirmed

Correspondence to: Dr G W Comstock, George W. Comstock Center for Public Health Research and Prevention, P O Box 2067, Hagerstown, MD 21740, USA. Tel: (+1) 301-797-3230. Fax: (+1) 301-797-3669. e-mail: gcomstoc@jhsph.edu
Article submitted 5 September 2004. Final version accepted 21 January 2005.

TB patients with complete records of TSTs were selected for analysis of the association between induration and erythema. The patients were classified into three groups—critically ill, moderate and the least involvement—according to the Disease Classification of Pulmonary Tuberculosis of the Japanese Society for Tuberculosis.¹²

TST results among schoolchildren

TST records of elementary school and junior high school students in the Tokyo area for the school year 1994–1995 were obtained with permission of the Board of Education. The longitudinal diameters of erythema and induration were compared among 6139 first graders aged 6–7 years and 6185 seventh graders aged 12–13 years. More than 95% of schoolchildren are believed to have been vaccinated with bacille Calmette-Guérin (BCG) before the age of 4 years. At primary school entrance, 20–30% are revaccinated, and of these about half are vaccinated again when they enter junior high school.

Subjects for tuberculin and allergy testing

A total of 97 Japanese volunteers aged 23 to 75 years (mean age 40.4 years) living in the northern Tokyo area consented to participate in TST and allergy testing. Of this group, 26 (26.8%) had formerly been bacteriologically confirmed TB patients, five (5.1%) were diagnosed as having had *Mycobacterium avium* disease and 66 (68.0%) were healthy hospital employees. All 97 individuals completed the series of testing. Information was obtained regarding risk factors for atopic disorders, residential area, and socio-economic status, as determined by final education level.

For measurements of serum immunoglobulin E (IgE), 10 ml of venous blood was drawn from each subject, allowed to clot at room temperature, and centrifuged. Total serum IgE levels were measured using enzyme-linked immunosorbent assay ([ELISA], Bethel Laboratories, Inc, Montgomery, TX, USA). All subjects had detectable IgE levels.

A standard test dose of PPD-s (0.05 µg in 0.1 ml of diluent, approximately 3 TU) was injected intracutaneously into the volar surface of the left forearm. Skin test reactions in mm, both as the maximum diameter of erythema and the transverse diameter of induration, were measured at 15 min, 1 h, 4 h, 24 h and 48 h after injection.

To assess atopic status, two types of antigens, pollen (1:1000, Torii Pharmaceutical Company, Tokyo, Japan) and house dust (house dust extract, 1:1000, Torii Pharmaceutical Company, Tokyo, Japan) were also injected intracutaneously. The presence of >10 mm of redness or a wheal ≥5 mm to either antigen at 15 min was interpreted as a positive reaction. The diagnostic criteria of the United Kingdom working party were also used.¹³ Persons were classified as atopic if

they had positive reactions to both antigens and satisfied the UK diagnostic criteria. Total serum IgE concentrations were also compared among atopic and non-atopic persons.

TSTs were performed for all study groups and read by a few expert TB physicians, using the same PPD-s and the same system of reading and recording results. PPD-s was prepared by the Japan BCG Manufacturing Company Ltd, Tokyo, Japan and was used in a dosage equivalent to 3 TU.

Statistical analysis

Student's *t*-test was performed to assess the statistical significance of the difference of means. Pearson's and Spearman's correlation coefficients were used to compare measurements of erythema and induration. Analyses were done with statistical software for STATA® (Stata Corp, College Station, TX, USA).

RESULTS

Relationship between erythema and induration

The frequency distributions of erythema and induration are shown in Table 1. It can be seen from this table that erythema has no mode at 0 mm; its distribution is unimodal among both TB patients and children. Among those with some erythema, the median values were 30.5 mm for the patients, 13.3 mm for the first-grade children, and 18.7 for the seventh-grade children. The induration distributions were bimodal, with the first peak at 0 mm and the median among those with some induration being 16.3 mm among the TB patients, and 11.9 and 16.2 among the first- and seventh-grade schoolchildren, respectively. In all three study populations, erythema had greater means and standard deviations than induration.

Comparisons of erythema and induration among TB patients showed only fair correlation. Pearson's correlation coefficient was 0.53 and Spearman's rank order correlation coefficient was 0.63, based on 5 mm groupings. With increasing age, the correlation tended to be better, although without statistically significant differences. There were no important differences in correlations for males or females. There was only a slight difference according to severity of disease. Among critically ill TB patients, Pearson's correlation coefficient was slightly better than among the other patients (0.69 and 0.60, respectively).

For schoolchildren, the correlation between erythema and induration was better than among patients. Pearson's correlation coefficient was 0.74 and Spearman's rank order correlation coefficient was 0.81, both indicating good correlation. There was little difference in the associations among first-grade and seventh-grade students, with only slightly better Pearson's correlation coefficient among the first graders (0.78 vs. 0.71).

Table 1 Percentage distributions of TB patients and first- and seventh-grade schoolchildren by maximal diameter of erythema and transverse diameter of induration to PPD-s tuberculin

	Schoolchildren					
	TB patients (n = 951)		First grade (n = 6139)		Seventh grade (n = 6185)	
	Erythema	Induration	Erythema	Induration	Erythema	Induration
0	1.8	8.0	3.4	31.9	0.7	19.5
1-4	1.1	1.2	8.4	5.0	3.0	2.5
5-9	2.9	8.5	15.8	19.4	7.4	11.5
10-14	5.8	28.9	36.7	24.7	20.5	20.7
15-19	10.7	28.4	22.0	13.6	25.5	24.0
20-24	13.9	15.7	9.5	4.7	17.4	15.0
25-29	14.0	5.6	2.8	0.7	12.4	5.8
30+	49.8	3.7	1.4	0.03	13.1	1.0
Total	100.0	100.0	100.0	100.03	100.0	100.0
Median*	30.5	16.3	13.3	11.9	18.7	16.2

* Among persons with 1+ mm.
TB = tuberculosis.

Atopic status and tuberculin sensitivity

Of 97 hospital volunteers who successfully completed this part of the study, 65 (67.0%) were male and 32 (33.0%) were female. Mean age was 40.5 years (range 29-75 years). Of these volunteers, 54 were classified as being atopic and 43 as showing no evidence of atopy. The median IgE concentrations of the atopic and non-atopic persons were 41.7 and 19.3 ng/ml, respectively. There were no demonstrable differences in the distributions of IgE concentrations before and after testing with PPD-tuberculin ($P = 0.9$).

The atopic and non-atopic persons were compared with respect to diameters of erythema and induration (Table 2). The atopic group had appreciably larger differences between erythema and induration than the non-atopic persons. The differences between the two groups were trivial when readings were made at <24 h, and became marked by the second day after the TSTs were given. At this time, the distributions of induration between the two groups were not significantly different ($P = 0.42$), while the distributions of erythema did differ significantly ($P = 0.005$).

Table 2 Comparison of erythema and induration from tuberculin testing of 43 normal (not atopic) and 54 atopic adults

	Diameter, mm*	
	Median	10th and 90th percentiles
Erythema		
Not atopic	16.0	8, 45
Atopic	24.5	12, 49
Induration		
Not atopic	5.8	1, 19
Atopic	8.2	0, 18
Difference (erythema minus induration) [†]		
Not atopic	16.0	8, 45
Atopic	24.6	12, 49

* Maximum diameter for erythema; transverse diameter for induration.

[†] Based on distributions of individual values.

DISCUSSION

The answer to the first question posed for this study, 'Are the diameters of erythema and induration correlated?' is yes, although far from perfectly. This is particularly true among the first- and seventh-grade schoolchildren. Each group had a Spearman rank order correlation coefficient of 0.81. Correlation was not as good among the TB patients, for whom the rank order correlation coefficient was only 0.63. This lower value could not be attributed to the inclusion of 109 critically ill patients, as their rank order correlation coefficient was 0.69. All of these coefficients are highly unlikely to be attributable solely to chance.

Erythema proved a slightly more sensitive indicator of tuberculous infection, with 94.2% of the TB patients having diameters of erythema of ≥ 10 mm, whereas only 90.7% of the patients had diameters of induration of ≥ 5 mm.

It is of considerable interest that a 1955 study of tuberculin sensitivity among 417 Egyptian cotton mill workers done by the World Health Organization (WHO) Tuberculosis Research Office (then under the direction of C E Palmer) reported that erythema appeared to be as good an index of tuberculin sensitivity as induration¹⁴ (although perhaps not a feasible index in populations with very dark skins). Among these men, the distributions of both erythema and induration were bimodal, in contrast to the findings of the present study, in which the distribution of erythema diameters showed only one mode. Bimodality is a useful indication that the persons represented by the distribution are composed of two groups, those with and those without the characteristic being measured, or with distinctly different mean values of the characteristic. Bimodality thus suggests that the 'valley' between the two modes is a reasonable cut-off point between 'positives' and 'negatives', and is very useful for a screening or diagnostic test.

The answer to the second question, 'Is erythema

more closely related to atopic status than induration?', is also yes. Atopic persons had considerably more erythema at 2 days, and only slightly more induration than the non-atopic group. This result suggests that erythema as a criterion may yield a higher proportion of false-positive tuberculin reactors than induration. This finding deserves further investigation.

CONCLUSION

A major problem resulting from the use of erythema as an index of tuberculin sensitivity is that the rest of the world uses induration. As a result, it is not possible in Japan to use the same indications for preventive therapy that have been established by studies in other countries. A possible solution to this problem would be to repeat the present study among the general population, not only to confirm its findings but, more importantly, to establish a cohort for longitudinal study. The primary goal of a longitudinal study would be to establish the relative usefulness of erythema and induration as predictors of the risk of the subsequent development of TB and of the need for preventive treatment of latent TB infection. Secondary goals would be 1) to establish more firmly the conclusions of Nobeji et al.⁹ and the WHO Tuberculosis Research Office¹⁴ that measurements of erythema are more repeatable than measurements of induration; 2) to confirm the association of erythema with atopy; and 3) to ascertain whether erythema is subject to boosting to the same extent as induration. Such a study could make important contributions to knowledge of TB and tuberculin testing.

Acknowledgements

The authors are grateful to Dr K Inaba for assistance with the calculations.

References

- 1 Koch R. Weitere Mitteilungen über das Tuberkulin. Deutsche Med Wchnschr 1891; 17: 1189-1192.
- 2 Iwasaki T. Historical perspective of problems of prevention, diagnosis and treatment of tuberculosis since late 1880's of Japan. Kekkaku 1982; 57: 357-362 (in Japanese).
- 3 Seibert F B. The isolation and properties of the purified protein derivative of tuberculin. Am Rev Tuberc 1934; 30: 713-720.
- 4 Seibert F B, Glenn J T. Tuberculin purified protein derivative. Preparation and analyses of a large quantity for standard. Am Rev Tuberc 1941; 44: 9-25.
- 5 Seibert F B. Pebbles on the hill of a scientist. St Petersburg, FL: St Petersburg Printing Co [privately published], 1968: p 78.
- 6 Aronson J D. The purified protein derivative. With special reference to the technique of tuberculin injection and the grading of reactions. Am Rev Tuberc 1934; 30: 727-732.
- 7 Committee on Diagnostic Standards, American Trudeau Society. Diagnosis and classification of tuberculosis. 1940 ed. New York, NY: National Tuberculosis Association, 1940.
- 8 American Trudeau Society. Diagnostic standards and classification of tuberculosis. 1955 ed. New York, NY: National Tuberculosis Association, 1955.
- 9 Nobeji K, Yamagiwa K, Mashiko Y, Tochinai H, Teraki T, Yosana H. Studies on the method of evaluation of tuberculin test; first report. Kosei Kagaku 1940; 1: 31-33.
- 10 Muromashi T, Maeda M, Uchiyama H. Study on the diagnostic criterion of tuberculin tests with the purified protein derivative PPDs. Kekkaku 1958; 33: 639-644.
- 11 Tarlo S M, Day J H, Mann P, Day M P. Immediate hypersensitivity to tuberculin. Chest 1977; 71: 33-37.
- 12 Tuberculosis Disease Classification Committee of the Japanese Society for Tuberculosis. Disease classification of tuberculosis. Kekkaku 1959; 59: 885-888.
- 13 Williams H C, Burney P G, Pembroke H C, Hay R J. The UK Working Party's diagnostic criteria for atopic dermatitis. III Independent hospital validation. Brit J Dermatol 1994; 131: 406-416.
- 14 World Health Organization Tuberculosis Research Office. Tuberculin reaction size on five consecutive days. Bull World Health Organ 1955; 12: 189-195.

RÉSUMÉ

CONTEXTE : Ecoliers, patients tuberculeux et employés d'hôpitaux à Tokyo, Japon.

OBJECTIF : Comparer l'érythème et l'induration résultant des tests tuberculiques parmi les patients tuberculeux, les enfants normaux et les employés d'hôpitaux avec ou sans signe d'atopie.

SCHÉMA : On a comparé les distributions des diamètres de l'érythème et de l'induration dans trois groupes : 951 patients tuberculeux, 6.139 enfants du premier degré et 6.187 enfants du 7ème degré et 97 employés volontaires classés comme atopiques ou non-atopiques sur la base de tests cutanés et de la concentration sérique d'IgE.

RÉSULTATS : Il y a une corrélation étroite entre érythème et induration. La distribution des diamètres d'érythème est unimodale, et la distribution des diamètres d'induration est bimodale. L'érythème est considérablement plus

important que l'induration chez les sujets classés comme atopiques.

CONCLUSION : Tant l'érythème que l'induration s'avèrent des indices adéquats de sensibilité tuberculique. Toutefois, puisque dans la plus grande partie du monde c'est l'induration qui est considérée comme l'index, et puisque virtuellement toutes les études de sensibilité tuberculiques reposent sur l'induration, il y a des avantages à utiliser cette dernière. Il serait souhaitable de mettre en route une importante étude prospective pour savoir si c'est l'érythème ou l'induration qui est le meilleur facteur prédictif d'une maladie tuberculeuse ultérieure et pour confirmer notre observation que l'érythème est plus susceptible d'être confondu par le fait de l'atopie que ce n'est le cas pour l'induration.

RESUMEN

MARCO DE REFERENCIA: Niños en edad escolar, pacientes con tuberculosis (TB) y personal hospitalario en Tokio, Japón.

OBJETIVO: Comparar el eritema y la induración como respuestas a la prueba cutánea de la tuberculina en pacientes con TB, en niños sanos y en el personal hospitalario con datos sugestivos de atopía o sin ellos.

MÉTODO: Se comparó la distribución de los diámetros del eritema y de la induración en tres grupos: 951 pacientes con TB, 6139 niños de primer grado de primaria y 6185 niños de séptimo grado y 97 empleados voluntarios clasificados como atópicos o no atópicos basándose en pruebas cutáneas y concentraciones séricas de IgE.

RESULTADOS: Se observó una alta correlación entre eritema e induración. La distribución de los diámetros del eritema fue monomodal y la distribución de los diá-

metros de la induración fue bimodal. El eritema fue significativamente mayor que la induración en las personas clasificadas como atópicas.

CONCLUSIÓN: Tanto el eritema como la induración parecían índices adecuados de sensibilidad a la tuberculina. Sin embargo, dado que mundialmente se utiliza más la induración como índice de referencia y que casi todos los estudios sobre la sensibilidad a la tuberculina se basan en la induración, el uso de ésta presenta más ventajas. Sería interesante comenzar un amplio estudio prospectivo para definir entre el eritema y la induración el mejor factor de predicción de enfermedad tuberculosa posterior y para confirmar la observación del presente estudio, que es más probable que la atopía constituya un factor de confusión para el eritema, que para la induración.