

表 1.7 (続き)

TC	SC	名 称	参加地位	幹事国	審議委員会事務局 (A)
38	20	布の構成、用語及び解析	O	南アフリカ	(社)繊維評価技術協議会
38	22	製品仕様	N	タンザニア	
38	23	繊維及びより糸の試験方法	O	米	(社)繊維評価技術協議会
38	24	繊維生地のコンディショニング雰囲気と物理試験	P	ポルトガル	(社)繊維評価技術協議会
39	0	工作機械	P	伊	(社)日本工作機械工業会
39	2	金属切削機械の試験条件	P	米	(社)日本工作機械工業会
39	4	木工機械	O	独	(社)全国木工機械工業会
39	6	工作機械の騒音	P	伊	(社)日本工作機械工業会
39	8	スピンドルとチャック	P	伊	(社)日本工作機器工業会
41	0	プーリ及びベルト (Vベルトを含む)	P	—	ISO/TC 41 ベルト国内審議委員会事務局
41	1	Vベルト及びプーリ	P	仏	ISO/TC 41 ベルト国内審議委員会事務局
41	3	コンベヤベルト	P	英	ISO/TC 41 ベルト国内審議委員会事務局
41	4	歯付ベルト伝動	P	米	ISO/TC 41 ベルト国内審議委員会事務局
42	0	写真	P	米	写真感光材料工業会
43	0	音響	P	デンマーク	(社)日本音響学会
43	1	騒音	P	デンマーク	(社)日本音響学会
43	2	建築物の音響	P	独	(社)日本音響学会
44	0	溶接	P	仏	(社)日本溶接協会
44	3	溶接材料	P	スウェーデン	(社)日本溶接協会
44	5	溶接の試験及び検査	P	米	(社)日本溶接協会
44	6	抵抗溶接機器	P	独	(社)日本溶接協会
44	7	溶接記号	O	独	(社)日本溶接協会
44	8	ガス溶接機器	P	独	(社)日本溶接協会
44	9	溶接作業者の保護	O	米	(社)日本溶接協会
44	10	溶接要求事項の統一	P	独	(社)日本溶接協会
44	11	溶接の承認要求	P	スロバキア	(社)日本溶接協会
44	12	はんだ及びはんだ付用フラックス	P	英	(社)日本溶接協会
45	0	ゴム及び製品	P	マレーシア	日本ゴム工業会
45	1	ホース (ゴム及びプラスチック)	P	英	日本ゴム工業会
45	2	試験及び分析	P	スウェーデン	日本ゴム工業会
45	3	ゴム工業用原材料 (ラテックスを含む)	P	カナダ	日本ゴム工業会
45	4	その他の製品	P	マレーシア	日本ゴム工業会
46	0	情報とドキュメンテーション	P	独	(財)日本規格協会
46	2	書き言葉の変換	P	ギリシャ	(財)日本規格協会
46	3	情報・ドキュメンテーション用語	P	イラン	(財)日本規格協会
46	4	情報とドキュメンテーションにおけるコンピュータ利用	P	米	(財)日本規格協会
46	8	統計	P	スウェーデン	(財)日本規格協会
46	9	文献の表現・識別・記述	P	カナダ	(財)日本規格協会
46	10	文献の物理的保存	P	デンマーク	(財)日本規格協会
46	11	文書・記録管理	P	オーストラリア	(財)日本規格協会
47	0	化学	S	日本	(社)日本化学工業協会
47	1	一般試験	P	オランダ	(社)日本化学工業協会
47	7	アルミニウム精錬に用いる酸化アルミニウム、水晶石、ふっ化アルミニウム、ふっ化ナトリウム、炭素質物質	N	—	
48	0	実験用ガラス製理化学器具及び関連器具	O	独	(社)日本硝子製品工業会
48	1	ガラス製容積測定器具	N	独	(社)日本硝子製品工業会
48	2	実験用一般ガラス製器具 (測定用器具を除く)	N	独	(社)日本硝子製品工業会
48	3	温度計	N	独	(社)日本硝子製品工業会

表1.7 (続き)

TC	SC	名称	参加地位	幹事国	審議委員会事務局 (A)
48	4	液体比重計	N	独	(社)日本硝子製品工業会
48	5	ガラス製器具の品質	O	—	(社)日本硝子製品工業会
50	0	ラック (スタンバイ)			
51	0	ユニットロード用パレット	P	英	(社)日本パレット協会
52	0	小形金属缶	O	仏	日本製缶協会
52	4	密封金属缶	N	仏	日本製缶協会
52	5	非密封金属缶	N	仏	全日本一般缶工業団体連合会
52	6	エアゾール缶	N	—	日本エアゾール容器協議会
54	0	精油	O	スペイン	日本香料工業会
56	0	マイカ (スタンバイ)			電気絶縁材料工業会
58	0	ガス容器	P	英	高圧ガス保安協会
58	2	容器用弁	P	仏	高圧ガス保安協会
58	3	容器の設計	P	英	高圧ガス保安協会
58	4	ガス容器の試験検査	P	米	高圧ガス保安協会
59	0	ビルディングコンストラクション	P	ノルウェー	建築・住宅国際機構
59	1	ディメンショナルコーディネーション	P	ベルギー	建築・住宅国際機構
59	2	用語と言語の調和	P	米	建築・住宅国際機構
59	3	機能・使用者要求ならびに建物の性能	P	英	建築・住宅国際機構
59	4	寸法許容誤差と測定	P	イスラエル	建築・住宅国際機構
59	6	構造, 外装, 内部区分	S	—	(社)日本住宅設備システム協会
59	8	結合用品	P	独	日本シーリング材工業会
59	13	建築生産における情報の統合化	P	ノルウェー	建築・住宅国際機構
59	14	デザインライフ	P	英	建築・住宅国際機構
59	15	戸建て住宅の性能評価	P	豪	建築・住宅国際機構
59	16	特別なニーズを持つ人々に対する建物と関連設備のアクセシビリティと使用性			建築・住宅国際機構
60	0	歯車	P	米	(社)日本歯車工業会
60	1	ウォームアップギアと命名法	P	英	(社)日本歯車工業会
60	2	歯車の容量計算あ	P	独	(社)日本歯車工業会
61	0	プラスチック	P	米	日本プラスチック工業連盟
61	1	用語	P	英	日本プラスチック工業連盟
61	2	機械的性質	P	スペイン	日本プラスチック工業連盟
61	4	燃焼挙動	P	英	日本プラスチック工業連盟
61	5	物理・化学的性質	P	スイス	日本プラスチック工業連盟
61	6	老化, 耐薬品性, 耐環境性	P	独	日本プラスチック工業連盟
61	9	熱可塑性樹脂材料	P	米	日本プラスチック工業連盟
61	10	発泡材料	P	カナダ	日本プラスチック工業連盟
61	11	製品	S	日本	日本プラスチック工業連盟
61	12	熱硬化性樹脂材料	P	米	日本プラスチック工業連盟
61	13	複合材料及び強化用繊維	P	仏	日本プラスチック工業連盟
63	0	ガラス容器 (スタンバイ)	O	英	(社)日本硝子製品工業会
67	0	石油及び天然ガス工業用材料及び装置	P	米	(社)日本鉄鋼連盟
67	1	ラインパイプ	P	独	(社)日本鉄鋼連盟
67	2	パイプライン輸送システム	P	オランダ	
67	3	掘削及び仕上げ流体と抗井セメント	N	ノルウェー	
67	4	抗井掘削と生産システム	N	米	
67	5	油井管	S	日本	(社)日本鉄鋼連盟
67	6	処理装置及びシステム	N	仏	
67	7	海洋構造物	P	英	
68	0	銀行業務, 証券業務及びその他金融サービス	P	米	日本銀行金融研究所
68	2	セキュリティ管理と一般銀行業務	P	米	日本銀行金融研究所

表 1.7 (続き)

TC	SC	名 称	参加地位	幹事国	審議委員会事務局 (A)
68	4	証券業務及び関連金融商品	P	スイス	(社)日本証券業協会
68	6	リテール金融サービス	P	フランス	日本銀行金融研究所
69	0	統計的方法の適用	P	仏	(財)日本規格協会
69	1	用語及び記号	P	米	(財)日本規格協会
69	3	標準化における統計的方法の適用	P	仏	(財)日本規格協会
69	4	統計的工程管理	P	米	(財)日本規格協会
69	5	受入検査	P	英	(財)日本規格協会
69	6	測定方法とその測定結果	S	日本	(財)日本規格協会
70	0	内燃機関	P	英	日本内燃機関連合会
70	7	潤滑油濾過器の試験方法	P	英	日本内燃機関連合会
70	8	排気排出物測定測	P	独	日本内燃機関連合会
71	0	コンクリート、鉄筋コンクリート及びプレストレストコンクリート	P	米	(社)日本コンクリート工学協会
71	1	コンクリートの試験方法	P	イスラエル	(社)日本コンクリート工学協会
71	2	コンクリート構造設計通則	O	英	(社)日本コンクリート工学協会
71	3	コンクリートの製造及び管理	P	ノルウェー	(社)日本コンクリート工学協会
71	4	コンクリート構造物の性能基準	P	米	(社)日本コンクリート工学協会
71	5	コンクリート構造物の簡略化設計の規定	P	コロンビア	(社)日本コンクリート工学協会
71	6	コンクリート構造物の新補強材料	S	日本	(社)日本コンクリート工学協会
72	0	繊維機械及び付属品	P	スイス	日本繊維機械標準化協議会
72	1	紡織準備精紡及び撚糸機	P	スイス	日本繊維機械標準化協議会
72	3	製布機械	P	米	日本繊維機械標準化協議会
72	4	染色・仕上機械及び洗浄機械	P	独	日本繊維機械標準化協議会
72	5	工業用洗濯機器及びドライクリーニングマシン	P	独	日本繊維機械標準化協議会
72	7	繊維機械管理のためのデータインタフェース	P	米	日本繊維機械標準化協議会
72	8	繊維機械の安全制御	P	独	日本繊維機械標準化協議会
72	9	繊維機械の図記号	P	独	日本繊維機械標準化協議会
74	0	セメント及び石灰	P	ベルギー	(社)セメント協会
76	0	医療用輸血装置	O	独	日本医療器材工業会
77	0	繊維強化セメント製品	P	ベルギー	(社)日本建材産業協会
79	0	軽金属及び同合金	P	仏	(社)日本アルミニウム協会
79	1	化学分析方法及び分光分析方法	O	ロシア連邦	(社)日本アルミニウム協会
79	2	陽極酸化アルミニウム	P	仏	軽金属製品協会
79	4	アルミニウム地金	S	日本	(社)日本アルミニウム協会
79	5	マグネシウム及びマグネシウム合金	P	ノルウェー	(社)日本アルミニウム協会
79	6	アルミニウム及びアルミニウム合金展伸材	P	仏	(社)日本アルミニウム協会
79	7	アルミニウム及びアルミニウム合金鋳物	P	仏	(社)日本アルミニウム協会
79	9	記号	P	米	(社)日本アルミニウム協会
79	11	チタン	S	日本	(社)日本アルミニウム協会
81	0	農薬の名称	P	英	農水省生産局植物防疫課
81	1	シラブルの勧告		英	
82	0	鉱山 (スタンバイ)	O	独	(社)資源・素材学会
82	1	地質・岩石記号	N	独	(社)資源・素材学会
82	2	コンベアの部品	N	英	(社)日本産業機械工業会
82	3	巻鋼	N	独	(社)資源・素材学会
82	6	ダイヤモンド試すい機器	N	ロシア連邦	(社)日本産業機械工業会
83	0	スポーツ用品及びレジャー用品	O	独	(社)日本スポーツ用品工業協会
83	2	キャンピングテント	P	独	(社)日本スポーツ用品工業協会
83	3	スキー締め具	P	独	(社)日本スポーツ用品工業協会
83	4	スキー及びスノーボード	P	オーストリア	(社)日本スポーツ用品工業協会

表1.7 (続き)

TC	SC	名 称	参加地位	幹事国	審議委員会事務局 (A)
83	5	アイスホッケー用ヘルメット及びフェースプロテクタの安全規格	O	カナダ	(社)日本スポーツ用品工業協会
84	0	医療用注射器及び注射針	O	デンマーク	日本医療器材工業会
84	1	一回だけ使用する注射器及び注射針	O	英	日本医療器材工業会
85	0	原子力	P	仏	(社)日本原子力産業会議
85	2	放射線防護	P	仏	(社)日本保安用品協会 (社)日本画像医療システム工業会
85	5	核燃料工学	P	英	(財)原子力安全研究協会
85	6	原子炉技術	P	米	(社)日本電気協会
86	0	冷凍技術	P	米	(社)日本冷凍空調学会
86	1	安全	P	米	(社)日本冷凍空調学会
86	2	用語と定義	P	米	(社)日本冷凍空調学会
86	3	冷凍装置の試験方法	P	米	(社)日本冷凍空調工業会
86	4	冷凍溶圧縮機の試験方法	P	英	(社)日本冷凍空調工業会
86	5	家庭用電気冷蔵庫の試験方法	P	伊	(社)日本電機工業会
86	6	冷暖房空調装置の試験方法	P	米	(社)日本電機工業会
86	7	冷凍冷蔵ショーケースの試験方法	P	英	(社)日本冷凍空調工業会
86	8	冷凍空調機器の冷媒と潤滑油	P	米	(社)日本冷凍空調学会
87	0	コルク	O	ボルトガル	全国コルク同業会
89	0	木質系パネル	P	独	(社)日本建材産業協会
89	1	繊維板	P	オーストラリア	(社)日本建材産業協会
89	2	パーティクルボード	P	オーストラリア	(社)日本建材産業協会
89	3	合板	P	仏	農水省消費・安全局消費・安全政策課
91	0	界面活性剤	P	イラン	日本石鹼洗剤工業会
92	0	火災安全	P	英	建築・住宅国際機構
92	1	火災の発生と成長	P	英	建築・住宅国際機構
92	2	火災の封じ込め	P	米	建築・住宅国際機構
92	3	人間及び環境への火災による脅威	P	米	建築・住宅国際機構
92	4	火災安全工学	P	仏	建築・住宅国際機構
93	0	でん粉(同製品及び副産物を含む)	O	仏	日本スターチ・糖化工業会
94	0	個人用安全一保護衣及び保護具	O	オーストラリア	(社)日本保安用品協会
94	1	安全帽	P	米	(社)日本保安用品協会
94	3	安全靴	P	英	(社)日本保安用品協会
94	4	安全帯	N	英	(社)日本保安用品協会
94	6	目および顔の保護具	P	英	(社)日本保安用品協会
94	12	聴力保護	N	—	(社)日本保安用品協会
94	13	防護服	P	スイス	(社)日本保安用品協会
94	14	消防隊員用個人防護装備	P		
94	15	呼吸用保護具	P		
96	0	クレーン及び関連装置	P	—	(社)日本クレーン協会
96	2	用語	P	ロシア連邦	(社)日本クレーン協会
96	3	クレーン用鋼索の選定	P	英	(社)日本クレーン協会
96	4	試験方法	P	ロシア連邦	(社)日本クレーン協会
96	5	クレーンの使用、運転及び保安	P	スウェーデン	(社)日本クレーン協会
96	6	自走クレーン	P	米	(社)日本クレーン協会
96	7	塔形クレーン	P	仏	(社)日本クレーン協会
96	8	門形クレーン及び脚付きクレーン	P	英	(社)日本クレーン協会
96	9	天井クレーン及び橋形クレーン	P	フィンランド	(社)日本クレーン協会
98	0	構造物の設計の基本	P	ポーランド	建築・住宅国際機構
98	1	用語及び記号	O	仏	建築・住宅国際機構
98	2	構造物の信頼性	P	ポーランド	建築・住宅国際機構

表 1.7 (続き)

TC	SC	名 称	参加地位	幹事国	審議委員会事務局 (A)
98	3	荷重・力・作用	S	英	建築・住宅国際機構
100	0	伝動用及びコンベア用チェーン並びにスプロケット	P	英	日本チェーン工業会
101	0	連続搬送装置 (コンベヤホイスト)	O	独	(社) 日本産業機械工業会
102	0	鉄鉱石及び還元鉄	S	日本	(社) 日本鉄鋼連盟
102	1	サンプリング方法	S	日本	(社) 日本鉄鋼連盟
102	2	化学分析方法	P	オーストラリア	(社) 日本鉄鋼連盟
102	3	物理試験方法	P	ブラジル	(社) 日本鉄鋼連盟
102	5	直接製鉄用原料及び製品の物理試験方法	P	ブラジル	(社) 日本鉄鋼連盟
104	0	貨物コンテナ	P	米	(社) 日本船主協会
104	1	一般用コンテナ, シリーズ1の寸法, 仕様及び試験	P	仏	(社) 日本船主協会
104	2	特殊用コンテナ, シリーズ1の寸法, 仕様, 試験	P	英	(社) 日本船主協会
104	4	識別及び通信	P	独	(社) 日本船主協会
105	0	ワイヤロープ	P	英	日本鋼索工業会
106	0	歯科材料・器械	P	英	日本歯科材料器械研究協議会
106	1	充てん及び修復材料	P	カナダ	日本歯科材料器械研究協議会
106	2	補綴材料	P	米	日本歯科材料器械研究協議会
106	3	歯科用語	P	仏	日本歯科材料器械研究協議会
106	4	歯科器具	P	独	日本歯科材料器械研究協議会
106	6	歯科器械	P	独	日本歯科材料器械研究協議会
106	7	口腔衛生用品	S	日本	日本歯科材料器械研究協議会
106	8	歯科インプラント	P	米	日本歯科材料器械研究協議会
107	0	金属及び無機質皮膜	P	米	(社) 表面技術協会
107	1	用語	P	スイス	(社) 表面技術協会
107	2	検査方法及び試験方法の調整	P	英	(社) 表面技術協会
107	3	電気めっき	P	米	(社) 表面技術協会
107	4	溶融めっき (亜鉛めっき等)	P	英	(社) 表面技術協会
107	7	金属めっき用腐食試験	P	ポーランド	(社) 表面技術協会
107	8	化学皮膜	P	英	(社) 表面技術協会
108	0	機械振動と衝撃	P	米	(社) 日本機械学会
108	1	回転機械の釣合わせ	P	米	(社) 日本機械学会
108	2	機械・乗物及び構造物の振動・衝撃の測定と評価	P	独	(社) 日本機械学会
108	3	振動・衝撃測定器	P	デンマーク	(社) 日本機械学会
108	4	機械振動・衝撃の人体への影響	P	独	(社) 日本機械学会
108	5	機械の状態監視と診断	P	米	(社) 日本機械学会
108	6	振動発生システム	P	ロシア連邦	日本試験機工業会
109	0	オイルバーナ及び付属装置 (スタンバイ)	O	イギリス	(社) 日本工業炉協会 日本暖房機器工業会
110	0	産業車両	P	独	(社) 日本産業車両協会
110	1	一般用語	P	米	(社) 日本産業車両協会
110	2	動力付産業車両の安全	P	英	(社) 日本産業車両協会
110	3	産業用車輪及びキャスター	O	仏	日本運搬車両機器協会
111	0	巻上げ用リンクチェーン, フック及び附属品	P	英	(社) 日本産業機械工業会
111	1	チェーン	P	英	(社) 日本産業機械工業会
111	3	巻上用附属品	P	英	(社) 日本産業機械工業会
112	0	真空技術	P	米	日本真空協会
112	1	真空装置用フランジ及び継手	P	米	日本真空協会
112	2	低圧力測定リーク検出及び用語	P	仏	日本真空協会

表 1.7 (続き)

TC	SC	名 称	参加地位	幹事国	審議委員会事務局 (A)
112	3	真空ポンプの性能測定	P	独	日本真空協会
113	0	開水路における流量測定	P	インド	(社)土木学会
113	1	面積速度法	O	インド	(社)土木学会
113	2	ノッチ、せき、フリューム	P	英	(社)土木学会
113	3	用語	O	英	(社)土木学会
113	5	流量測定器及び装置	P	米	(社)土木学会
113	6	沈澱物輸送	O	インド	(社)土木学会
113	8	地下水	O	米	(社)土木学会
114	0	時計	P	スイス	(社)日本時計協会
114	1	耐衝撃時計	P	スイス	(社)日本時計協会
114	3	耐水時計	P	スイス	(社)日本時計協会
114	5	ルミネッセンス	P	仏	(社)日本時計協会
114	6	貴金属被覆	P	スイス	(社)日本時計協会
114	7	全寸法	P	スイス	(社)日本時計協会
114	9	技術用語定義	P	仏	(社)日本時計協会
114	10	測定機の歩度のテスト方法の記述	P	スイス	(社)日本時計協会
114	11	時計の精度表示	S	日本	(社)日本時計協会
114	12	耐磁	S	日本	(社)日本時計協会
114	13	ウォッチ用ガラス	P	スイス	(社)日本時計協会
115	0	ポンプ	P	仏	(社)日本産業機械工業会
115	1	ポンプの寸法及び仕様	P	英	(社)日本産業機械工業会
115	2	測定及び試験方法	P	独	(社)日本産業機械工業会
115	3	据付けと用途	P	米	(社)日本産業機械工業会
116	0	暖房装置	O	ニュージーランド	(社)日本ガス石油機器工業会 日本暖房機器工業会
116	3	個別暖房装置	O	ニュージーランド	日本暖房機器工業会 (社)日本ガス石油機器工業会
117	0	工業用送風機	O	仏	(社)日本産業機械工業会
118	0	圧縮機、空気圧工具及び空気圧機械	O	スウェーデン	(社)日本産業機械工業会
118	1	ターボコンプレッサー	O	独	(社)日本産業機械工業会
118	3	空気圧工具及び空気圧機械	P	スウェーデン	(社)日本フルードパワー工業会
118	4	圧縮空気の高品質	P	スウェーデン	(社)日本フルードパワー工業会
119	0	粉末冶金材料及び製品	P	スウェーデン	日本粉末冶金工業会
119	1	用語	P	英	日本粉末冶金工業会
119	2	金属粉末のサンプリング及び試験方法	P	スウェーデン	日本粉末冶金工業会
119	3	焼結合金製品のサンプリング及び試験方法 (超硬合金を除く)	P	仏	日本粉末冶金工業会
119	4	超硬合金のサンプリング及び試験方法	P	スウェーデン	日本粉末冶金工業会
119	5	粉末冶金材料 (超硬合金を除く)	P	英	日本粉末冶金工業会
120	0	皮革	O	インド	(社)日本皮革技術協会
120	1	原料革	N	インド	(社)日本皮革技術協会
120	2	なめし革	O	インド	(社)日本皮革技術協会
121	0	麻酔装置及び医療用呼吸器	P	英	日本医用機器工業会
121	1	呼吸回路接続部と麻酔器	P	英	日本医用機器工業会
121	2	気管チューブ及びその他の麻酔用附属品	P	英	日本医用機器工業会
121	3	医用人工呼吸器	P	米	日本医用機器工業会
121	4	麻酔学用語	P	スイス	日本医用機器工業会
121	6	医用ガス配管	P	米	日本医用機器工業会
121	8	病院用・救急用サクシオン機器	P	オーストラリア	日本医用機器工業会
122	0	包装	P	トルコ	(社)日本包装技術協会
122	2	袋	P	オランダ	(社)日本包装技術協会

表 1.7 (続き)

TC	SC	名 称	参加地位	幹事国	審議委員会事務局 (A)
122	3	包装の品質要件及び試験	P	英	(社)日本包装技術協会
123	0	平軸受	P	ロシア連邦	(社)日本機械学会
123	2	材料及び潤滑剤, その性質, 特性, 試験方法 と試験条件	P	独	(社)日本機械学会
123	3	寸法, 許容差及び構造の詳細	P	独	(社)日本機械学会
123	4	平軸受の計算方法	P	ロシア連邦	(社)日本機械学会
123	5	品質分析及び保証	P	独	(社)日本機械学会
126	0	タバコ及びタバコ製品	O	独	日本たばこ産業株式会社
126	1	物理的な試験及び寸法測定	O	仏	日本たばこ産業株式会社
126	2	葉たばこ	O	トルコ	日本たばこ産業株式会社
127	0	土工機械	P	米	(社)日本建設機械化協会
127	1	性能試験方法	P	英	(社)日本建設機械化協会
127	2	安全性と居住性	P	米	(社)日本建設機械化協会
127	3	運転と整備	S	日本	(社)日本建設機械化協会
127	4	用語と分類	P	伊	(社)日本建設機械化協会
128	0	ガス工場, パイプライン及び付属物 (スタン バイ)	O	フランス	ガラス製品工業会
129	0	アルミニウム鉱石及び鉱物 (スタンバイ)	O	仏	(社)日本アルミニウム協会
130	0	印刷技術	P	独	(社)日本印刷産業機械工業会
131	0	油圧・空気圧システム及び要素機器	P	米	(社)日本フルードパワー工業会
131	1	用語・分類及び記号	P	米	(社)日本フルードパワー工業会
131	2	ポンプ・モータ及び集積伝動装置	P	独	(社)日本フルードパワー工業会
131	3	シリンダ	P	独	(社)日本フルードパワー工業会
131	4	接続及び結合部品	P	米	(社)日本フルードパワー工業会
131	5	制御用要素機器	P	仏	(社)日本フルードパワー工業会
131	6	汚染管理及び作動油	P	英	(社)日本フルードパワー工業会
131	7	密封装置	S	日本	(社)日本フルードパワー工業会
131	8	要素機器の試験	P	英	(社)日本フルードパワー工業会
131	9	装置とシステム	P	英	(社)日本フルードパワー工業会
132	0	フェロアロイ	P	南アフリカ	日本フェロアロイ協会
133	0	衣料品のサイズシステムと表示 (スタンバイ)	P	南アフリカ	(社)繊維評価技術協議会
134	0	肥料及び土壌改良剤 (スタンバイ)	O	イラン	農水省生産局生産資材課
134	2	サンプリング	N	英	農水省生産局生産資材課
134	3	物理的性質	N	カナダ	農水省生産局生産資材課
134	4	化学分析	N	英	農水省生産局生産資材課
135	0	非破壊試験	S	日本	(社)日本非破壊検査協会
135	2	表面試験法	P	南アフリカ	(社)日本非破壊検査協会
135	3	音響試験法	P	米	(社)日本非破壊検査協会
135	4	渦流試験法	P	仏	(社)日本非破壊検査協会
135	5	放射線法	P	独	(社)日本非破壊検査協会
135	6	漏れ試験法	S	日本	(社)日本非破壊検査協会
135	7	技量認定	P	カナダ	(社)日本非破壊検査協会
135	8	赤外線サーモグラフィ試験	N	米	
136	0	家具	P	スウェーデン	(社)日本オフィス家具協会
137	0	靴の寸法, 名称及び表示 (スタンバイ)	O	南アフリカ	日本靴工業会 日本ゴム履物協会
138	0	流体輸送用プラスチック管, 継手及びバルブ 類	S	日本	日本プラスチック工業連盟
138	1	排水用プラスチック管・継手 (農業用を含 む)	P	仏	日本プラスチック工業連盟
138	2	給水用プラスチック管・継手	P	スイス	日本プラスチック工業連盟

表 1.7 (続き)

TC	SC	名 称	参加地位	幹事国	審議委員会事務局 (A)
138	3	工業用プラスチック管・継手	P	伊	日本プラスチック工業連盟
138	4	ガス燃料供給用プラスチック管・継手	P	オランダ	日本プラスチック工業連盟
138	5	一般特性試験方法と仕様	P	オランダ	日本プラスチック工業連盟
138	6	強化プラスチック管・継手	P	スウェーデン	日本プラスチック工業連盟
138	7	プラスチックバルブと補助器具	O	イタリア	日本プラスチック工業連盟
142	0	空気及びその他のガスの清浄装置 (スタンバイ)			
144	0	空気供給及び拡散 (スタンバイ)	N	英	
145	0	図記号	P	英	(社)日本規格協会
145	1	一般案内用図記号	P	英	(財)日本規格協会
145	2	安全認識, 標識, 図形, 記号, 色及び文字	P	独	(社)日本保安用品協会
145	3	機器・装置用図記号	P	米	(財)日本規格協会
146	0	大気の大気	P	独	(社)産業環境管理協会
146	1	固定発生源大気の測定	P	オランダ	(社)産業環境管理協会
146	2	作業環境大気の測定	P	米	(社)産業環境管理協会
146	3	環境大気の測定	P	米	(社)産業環境管理協会
146	4	大気測定的一般事項	P	独	(社)産業環境管理協会
146	5	気象	N	米	
146	6	屋内空気	P	独	(財)建材試験センター
147	0	水質	P	独	(社)産業環境管理協会
147	1	用語	P	南アフリカ	(社)産業環境管理協会
147	2	物理的・化学的・生物的方法	P	独	(社)産業環境管理協会
147	4	微生物学的方法	P	独	(社)産業環境管理協会
147	5	生物学的方法	P	英	(社)産業環境管理協会
147	6	サンプリング (一般法)	P	英	(社)産業環境管理協会
147	7	精度と正確さ	P	英	(社)産業環境管理協会
148	0	ミシン	P	独	(社)日本縫製機械工業会
149	0	自転車	P	スペイン	(財)自転車産業振興協会
149	1	自転車及び主要アセンブリ	P	英	(財)自転車産業振興協会
150	0	外科用体内埋没材	P	独	(社)日本ファインセラミックス協会
150	1	材料	P	独	(社)日本ファインセラミックス協会
150	2	心臓外科	P	米	日本人工臓器工業協会
150	3	神経外科	N	独	厚労省医薬局審査管理課
150	4	人工関節及び人工骨	P	英	(社)日本ファインセラミックス協会
150	5	骨形成	N	米	厚労省医薬局審査管理課
150	6	能動型インプラント	P	米	日本人工臓器工業協会
152	0	ギプス, ギプス用石こう及びギプス用品 (スタンバイ)	N	仏	(社)石膏ボード工業会
152	1	天然及び合成素材	N	仏	
152	2	ギプス構造用石こう		—	
152	3	ギプス構造用構成材		独	
153	0	バルブ	P	—	(社)日本ばね工業会
153	1	設計, 製造, 表示及び試験方法	P	仏	(社)日本ばね工業会
153	2	バルブとバルブ操作機の取付け	P	独	(社)日本ばね工業会
154	0	行政・商業・工業用書式及び記載項目	P	スイス	(財)日本情報処理開発協会
155	0	ニッケル及びニッケル合金	P	カナダ	日本鋳業協会
155	2	ニッケル, ニッケル合金展伸材及び鋳物	P	米	日本伸銅協会
155	3	ニッケルの分析方法	O	カナダ	日本鋳業協会
155	5	フェロニッケル	O	仏	日本鋳業協会
156	0	金属及び合金の腐食	P	ロシア連邦	ステンレス協会
157	0	避妊具	P	スウェーデン	日本ゴム工業会

表 1.7 (続き)

TC	SC	名 称	参加地位	幹事国	審議委員会事務局 (A)
158	0	ガス分析	O	オランダ	(財)化学品質評価研究機構
159	0	人間工学	P	独	日本人間工学会
159	1	人間工学の指導原理	P	独	日本人間工学会
159	3	人体計測と生体力学	S	日本	日本人間工学会
159	4	人間とシステムのインタラクション	P	カナダ	日本人間工学会
159	5	物理的環境の人間工学	P	英	日本人間工学会
160	0	建築用ガラス	P	英	板硝子協会
160	1	製品規格	P	英	板硝子協会
160	2	性能規定	P	米	板硝子協会
161	0	熱発生装置の制御及び安全装置	P	独	(社)日本ガス石油機器工業会
162	0	ドア及び窓	P	ノルウェー	(社)日本サッシ協会
163	0	断熱	P	スウェーデン	建築・住宅国際機構
163	1	試験方法	P	独	(財)建材試験センター
163	2	計算方法	P	ノルウェー	建築・住宅国際機構
163	3	建築用材料	P	カナダ	日本保温保冷工業協会
164	0	金属の機械試験	S	日本	(財)日本規格協会 (社)日本鉄鋼連盟
164	1	単軸試験	P	仏	(社)日本鉄鋼連盟
164	2	延性試験	P	チェコ	(社)日本鉄鋼連盟
164	3	硬さ試験	P	独	(社)日本鉄鋼連盟
164	4	靱性試験	P	米	(社)日本鉄鋼連盟
164	5	疲れ試験	P	米	(社)日本鉄鋼連盟
165	0	木質構造	P	カナダ	(財)日本住宅・木材技術センター
165	1	木筒材料-耐久性と保存	P	カナダ	
166	0	食卓用陶磁器・ガラス器	P	米	日本陶業連盟
166	1	有害物質	P	米	日本陶業連盟
167	0	鋼構造及びアルミニウム構造	P	ノルウェー	(社)日本鋼構造協会
167	1	鋼：材料と設計	P	ノルウェー	(社)日本鋼構造協会
167	2	鋼：製作と建てかた	P	英	(社)日本鋼構造協会
167	3	アルミニウム構造	N	—	(社)日本アルミニウム協会
168	0	義肢及び装具	P	独	日本義肢装具学会
170	0	外科用器具	O	独	日本医科器械学会
171	0	文書画像アプリケーション	P	仏	(社)日本画像情報マネジメント協会
171	1	品質	P	英	(社)日本画像情報マネジメント協会
171	2	アプリケーション	P	米	(社)日本画像情報マネジメント協会
171	3	一般	P	英	(社)日本画像情報マネジメント協会
172	0	光学及び光学機器	P	独	日本光学工業協会
172	1	基本規格	P	独	日本光学工業協会
172	3	光学材料及び構成物	P	仏	日本光学工業協会
172	4	望遠鏡	P	ロシア	日本光学硝子工業会 日本光学工業協会 (財)日本望遠鏡検査・技術協会
172	5	顕微鏡及び内視鏡	P	独	日本光学工業協会 日本顕微鏡工業会
172	6	測量機器	P	スイス	日本光学工業協会 日本測量機器工業会
172	7	眼鏡光学及び眼科・眼鏡機器	P	独	日本光学工業協会 日本医用光学機器工業会
172	9	エレクトロオプティカルシステム	P	独	(財)光産業技術振興協会
173	0	リハビリテーション機器システム	P	スウェーデン	日本健康福祉用具工業会
173	1	車いす	P	スウェーデン	(財)自転車産業振興協会

表 1.7 (続き)

TC	SC	名 称	参加地位	幹事国	審議委員会事務局 (A)
173	2	用語と分類	P	オランダ	(財)テクノエイド協会
173	3	ストーマ・おむつ・収尿器	P	スウェーデン	排泄関連機器標準化協議会
173	6	障害者用リフト	O	スウェーデン	日本健康福祉用具工業会
174	0	ジュエリー	P	独	日本ジュエリー協会
175	0	ほたる石	P	南アフリカ	(社)日本鉄鋼連盟
176	0	品質管理及び品質保証	P	カナダ	(財)日本規格協会
176	1	概念及び用語	P	仏	(財)日本規格協会
176	2	品質システム	P	英	(財)日本規格協会
176	3	支援技術	P	オランダ	(財)日本規格協会
177	0	キャラバン	O	英	(社)自動車技術会
178	0	エレベーター、エスカレーター及び動く歩道	P	仏	(社)日本エレベーター協会
179	0	組石造 (スタンバイ)	O	独	
179	1	非補強組石造	N	英	
179	2	補強組石造	N	中国	
179	3	試験方法	N	英	
180	0	太陽エネルギー	O	オーストラリア	(社)ソーラシステム振興協会
180	1	気象一測定及びデータ	N	独	(社)ソーラシステム振興協会
180	4	システム一熱特性、信頼性及び耐久性	N	米	(社)ソーラシステム振興協会
180	5	集熱装置及び部品	N	ギリシャ	(社)ソーラシステム振興協会
181	0	おもちゃの安全性	P	デンマーク	(社)日本玩具協会
182	0	地盤工学	P	オランダ	(社)地盤工学会
182	1	分類及び表示	P	独	
182	3	基礎、抗土圧構造物及び土工	P	オランダ	
183	0	銅、鉛及び亜鉛の鉱石並びに精鉱	P	オーストラリア	日本鉱業協会
184	0	産業オートメーションシステム及びインテグレーション	P	仏	(財)製造科学技術センター
184	1	機械及び装置の制御	P	独	(社)日本工作機械工業会
184	2	工業用ロボット	P	スウェーデン	(社)日本ロボット工業会
184	4	生産データ及び製造向け言語	P	米	(財)日本情報処理開発協会
184	5	アーキテクチャ及び通信	P	米	(財)製造科学技術センター
185	0	超過圧力に対する保護用安全機器	P	米	(社)日本ばね工業会
186	0	刃物類及び金属製卓上用・装飾用容器	N	英	(財)日本規格協会
187	0	色表示	P	スウェーデン	日本色彩学会
188	0	スモールクラフト	P	スウェーデン	(財)日本船舶標準協会
189	0	陶磁器質タイル	P	米	(社)全国タイル業協会
190	0	地盤環境	P	オランダ	(社)地盤工学会
190	1	評価基準、用語、コード化	P	仏	(社)地盤工学会
190	2	サンプリング一地盤環境調査用のサンプリング	P	独	(社)地盤工学会
190	3	化学的方法と土の特性	P	独	(社)地盤工学会
190	4	生物学的方法	P	英	(社)地盤工学会
190	5	物理的方法	P	オランダ	(社)地盤工学会
190	7	土及び現地評価	P	独	(社)地盤工学会
191	0	人道的わな (スタンバイ)	N	カナダ	
192	0	ガスタービン	P	米	日本内燃機関連合会
193	0	天然ガス	N	オランダ	(社)日本ガス協会
193	1	天然ガス分析	N	オランダ	
193	2	性状測定	N	独	
193	3	上流域		ノルウェー	
194	0	医用・歯科用材料及び機器の生物学的評価	P	独	日本医療器材工業会
195	0	建設用機械と装置	P	ポーランド	(社)日本建設機械化協会
196	0	装飾用宝石 (スタンバイ)	N	スペイン	

表 1.7 (続き)

TC	SC	名 称	参加地位	幹事国	審議委員会事務局 (A)
197	0	水素技術	P	カナダ	(財)エンジニアリング振興協会
198	0	ヘルスケア製品の滅菌	P	米	日本医科器械学会
199	0	機械類の安全性	P	独	(社)日本機械工業連合会
201	0	表面化学分析	S	日本	(財)日本規格協会
201	1	用語	P	米	(財)日本規格協会
201	2	一般的手順	P	米	(財)日本規格協会
201	3	データ管理及び取扱	P	英	(財)日本規格協会
201	4	深さ方向の分析	S	日本	(財)日本規格協会
201	5	オージェ電子分光法	P	米	(財)日本規格協会
201	6	二次イオン質量分析法	S	日本	(財)日本規格協会
201	7	X線光電子分光法	P	英	(財)日本規格協会
201	8	グロー放電分光法	S	日本	
202	0	マイクロビーム分析	P	中国	(財)日本規格協会
202	1	用語	P	米	(財)日本規格協会
202	2	電子探針微小部分分析	P	中国	(財)日本規格協会
202	3	分析電子顕微鏡法 (AEM)	P	米	(財)日本規格協会
202	4	走査型電子顕微鏡法	S	日本	(財)日本規格協会
203	0	技術エネルギーシステム	P	スウェーデン	(社)日本エネルギー学会
204	0	車両交通情報制御システム (TICS)	P	米	(社)自動車技術会
205	0	建築環境設計	P	米	建築・住宅国際機構
206	0	ファインセラミックス	S	日本	ファインセラミックス国際標準化推進協議会
207	0	環境管理	P	カナダ	(財)日本規格協会
207	1	環境管理システム	P	英	(財)日本規格協会
207	2	環境監査	P	オランダ	(財)日本規格協会
207	3	環境ラベル	P	オーストラリア	(社)産業環境管理協会
207	4	環境パフォーマンス評価	P	米	(社)産業環境管理協会
207	5	ライフサイクルアセスメント	P	仏	(社)産業環境管理協会
207	6	用語及び定義	P	ノルウェー	(財)日本規格協会
208	0	産業用熱タービン (スタンバイ)	P	独	(社)火力原子力発電技術協会
209	0	クリーンルーム及び関連制御環境	P	米	(社)日本空気清浄協会
210	0	医療用具の品質管理と関連する一般事項	P	米	日本医療機器関係団体協議会
211	0	地理情報	P	ノルウェー	(財)日本測量調査技術協会
212	0	臨床検査及び体外診断検査システム	P	米	日本臨床検査標準協議会
213	0	製品の寸法・形状の仕様及び評価	P	デンマーク	(財)日本規格協会
214	0	昇降式作業台	P	米	(社)日本建設機械化協会
215	0	保健医療情報	P	米	(財)医療情報システム開発センター
216	0	履物	O	スペイン	全日本履物団体協議会 日本靴工業会
217	0	化粧品	O	イラン	日本化粧品工業連合会
218	0	木材	P	ノルウェー	
219	0	床敷物	P	英	(社)繊維評価技術協議会 建築・住宅国際機構
220	0	冷凍容器	O	仏	高圧ガス保安協会
221	0	ジオシンセティック	P	英	(社)地盤工学会
222	0	パーソナルファイナンシャルプランニング	P	米	(社)金融財政事情研究会
223	0	防災	O	露	
224	0	上下水道	P	仏	
225	0	市場調査	O	スペイン	(社)日本マーケティング・リサーチ協会
227	0	ばね	P	日本	(社)日本ばね工業会
CIE	0	国際照明委員会	P	—	
IIW	0	国際溶接学会	P	—	(社)日本溶接協会

表1.7 (続き)

TC	SC	名 称	参加地位	幹事国	審議委員会事務局 (A)
IULTCS	0	IULTCS	その他	—	
JTC1	0	情報技術	P	米	(社)情報処理学会
JTC1	2	符号化文字集合	S	日本	(社)情報処理学会
JTC1	6	通信とシステム間の情報交換	P	米	(社)情報処理学会
JTC1	7	ソフトウェア技術	P	カナダ	(社)情報処理学会
JTC1	11	フレキシブル磁気媒体	P	米	(社)情報処理学会
JTC1	17	識別カード及び関連装置	P	英	(社)情報処理学会 (社)ビジネス機械・情報システム産業協会
JTC1	22	プログラム言語、その環境及びシステムソフトウェアインタフェース	P	米	(社)情報処理学会
JTC1	23	光ディスク	S	日本	(社)情報処理学会
JTC1	24	コンピュータグラフィクス及びイメージ処理	P	英	(社)情報処理学会
JTC1	25	情報機器間相互接続	P	独	(社)情報処理学会
JTC1	27	セキュリティ技術	P	独	(社)情報処理学会
JTC1	28	オフィス機器	P	ブラジル	(社)情報処理学会 (社)ビジネス機械・情報システム産業協会
JTC1	29	音声、画像、マルチメディアハイパーメディア情報符号化	S	日本	(社)情報処理学会
JTC1	31	自動識別及びデータ取得技術	P	米	(社)情報処理学会
JTC1	32	データ管理及び交換	P	米	(社)情報処理学会
JTC1	34	文書の処理と記述の言語	P	米	(社)情報処理学会
JTC1	35	ユーザインターフェース	P	仏	(社)情報処理学会
JTC1	36	学習、教育、研修のための情報技術	P	米	(社)情報処理学会
JTC1	37	バイオメトリックス	P	米	(社)情報処理学会
TAG4	0	度量衡	P	中央事務局	(財)日本規格協会

Original Article

Standardization of Regional Reference for Mamushi (*Gloydius blomhoffii*) Antivenom in Japan, Korea, and China

Tadashi Fukuda*, Masaaki Iwaki, Seung Hwa Hong¹, Ho Jung Oh¹, Zhu Wei², Kazunori Morokuma³, Kunio Ohkuma³, Lei Dianliang⁴, Yoshichika Arakawa and Motohide Takahashi

Department of Bacterial Pathogenesis and Infection Control, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo 208-0011; ³First, Production Department, Chemo-Sero-Therapeutic Research Institute, Kumamoto 860-8568, Japan; ¹Korea Food and Drug Administration, Soul 122-704, Korea; ²Shanghai Institute of Biological Products, Shanghai 200052; and ⁴Department of Serum, National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing 10050, People's Republic of China

(Received June 27, 2005. Accepted November 11, 2005)

SUMMARY: The mamushi (*Gloydius blomhoffii*) snakes that inhabit Japan, Korea, and China produce venoms with similar serological characters to each other. Individual domestic standard mamushi antivenoms have been used for national quality control (potency testing) of mamushi antivenom products in these countries, because of the lack of an international standard material authorized by the World Health Organization. This precludes comparison of the results of product potency testing among countries. We established a regional reference antivenom for these three Asian countries. This collaborative study indicated that the regional reference mamushi antivenom has an anti-lethal titer of 33,000 U/vial and anti-hemorrhagic titer of 36,000 U/vial. This reference can be used routinely for quality control, including national control of mamushi antivenom products.

INTRODUCTION

Snakebites are a threat to human life in areas inhabited by poisonous snakes. Various antivenom products have been used for the treatment of snakebites (1). Venomous snakes belonging to "mamushi" species inhabit countries in the Far East Asia, including China, Korea, and Japan (2). The mamushi species, *Gloydius blomhoffii*, is widely distributed throughout Japan, and its variants also inhabit China and Korea (*Gloydius blomhoffii brevicaudus*). These snakes were newly proposed to be regrouped into *Gloydius* spp. from *Agkistrodon* spp. in 1997 (2), and their venoms were shown to have very similar immunological characteristics. Although fatality rates of mamushi bites are generally low (3), severe cases can be lethal with cardiac, pulmonary, and/or renal dysfunction (3,4). These symptoms are caused by the snake's venom, which has lethal and hemorrhagic activities (5). Passive immunization against the venom is crucial in the clinical treatment of bites. Antivenom products can neutralize both lethal and hemorrhagic activities of the venom. In Japan and China, these products are manufactured domestically, while in Korea they are imported from Japan and China after confirmation of their potency against venom prepared from mamushi captured locally. The quality of the products has been controlled according to the minimum requirements prescribed in each of these three countries (6-8). However, the lack of international standards from the World Health Organization (WHO) precludes comparison of potency among these three Asian countries. Thus, a common reference antivenom was prepared in these countries and confirmed to be suitable as a regional

reference antivenom.

In the present study, the potency of a candidate regional reference mamushi antivenom produced by Shanghai Institute of Biological Products (SIBP) (Shanghai, China) was calibrated against Japanese national standard mamushi antivenom using the quality control test methods described in the Japanese minimum requirements at the National Institute of Infectious Diseases (NIID) (Tokyo, Japan) and Chemo-Sero-Therapeutic Research Institute (Kaketsuken) (Kumamoto, Japan) and in the Korea minimum requirements at the Korea Food and Drug Administration (KFDA) (Seoul, Korea). The reference antivenom will be used in routine quality control tests in these countries.

MATERIALS AND METHODS

Production of a candidate regional reference mamushi antivenom: The candidate regional reference mamushi antivenom (Lot 011201, 3,000 vials) was produced at SIBP according to the procedure for Chinese commercial antivenom products. The candidate was made from pooled horse serum containing a sufficient antibody titer against mamushi venom. The venom and toxoid (venom detoxified with formaldehyde) prepared from Chinese mamushi were used as antigen to immunize the horse. To ensure stability of quality under storage for long periods, the candidate was freeze-dried similarly to Japanese national standard mamushi antivenom.

Animals: Mice (more than 3 mice/group; body weight, approximately 16 g) were used for determination of anti-lethal titer. The mouse strains were Slc:ddY at NIID and Kaketsuken, ICR at KFDA, and Kunmin at SIBP. For determination of anti-hemorrhagic titer, two rabbits (Japanese white strain) weighing approximately 2.5 kg were used in three countries.

Determination of anti-lethal titer: The antibody titer of the candidate regional reference material against the lethal activity of mamushi venom was determined at SIBP, NIID,

*Corresponding author: Mailing address: Department of Bacterial Pathogenesis and Infection Control, National Institute of Infectious Diseases, 4-7-1 Gakuen, Musashimurayama, Tokyo 208-0011, Japan. Tel: +81-42-561-0771 ext. 545, Fax: +81-42-561-7173, E-mail: yfukuda@nih.go.jp

Table 1. Composition of assay mixtures for mamushi antivenom titer determination

preparation		(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
antivenom	200 U/ml (anti-lethal test) or 20 U/ml (anti-hemorrhagic test)	0.720	0.600	0.500	0.417	0.347
PBS-G ^{b)}		0.280	0.400	0.500	0.583	0.653
venom	10 test dose/ml	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

^{b)} 0.017 mol/l phosphate buffered sodium chloride solution containing 0.2 w/v% gelatin (pH 7.0). (ml)

Kaketsuken, and KFDA, using Japanese national standard mamushi antivenom (Lot C-48, anti-lethal titer: 2,100 U/vial, NIID) with the test methods prescribed in China (8), Japan (NIID and Kaketsuken) (6,9,10), and Korea (7).

The Japanese standard antivenom was dissolved in 0.017 M phosphate buffered sodium chloride solution containing 0.2 w/v% gelatin (pH 7.0) (PBS-G) to make a solution of 200 U/ml and serially diluted with PBS-G such that 1 ml of each dilution contained 160, 125, 100, 80, or 64 U of antivenom (Table 1). The candidate (Lot 011201) was dissolved and serially diluted in a manner similar to the Japanese standard antivenom. Japanese mamushi test venom (Lot 3-2, lethal titer: 530 test dose/ampoule, or Lot 4, lethal titer: 450 test dose/vial) was reconstituted and diluted in PBS-G to a concentration of 10 test doses/ml. Aliquots of 1 ml of appropriately diluted Japanese standard antivenom or the candidate (Table 1) were mixed with 1 ml of venom and kept at room temperature for 1 h. Mice were injected intravenously with 0.2 ml of each mixture at NIID, KFDA, and Kaketsuken, and intraperitoneally at SIBP. The number of deaths was recorded for 2 days at NIID, KFDA, and Kaketsuken, or for 3 days at SIBP. The 50% effective doses (ED_{50}) of the standard antivenom and the candidate were calculated by the probit method from the number of dead mice associated with each dilution. The potency of the candidate was determined relative to that of the standard antivenom.

Determination of anti-hemorrhagic titer: The potency of the candidate regional reference mamushi antivenom was examined against the Japanese national standard mamushi antivenom (Lot C-48, anti-hemorrhagic titer: 3,300 U/vial, NIID) as standard at SIBP, NIID, and Kaketsuken using the Japanese method (6,9,11) and at KFDA using the Korean method (7).

The methods described in Japanese (6) and Korean (7) minimum requirements are essentially identical: the standard antivenom was dissolved in PBS-G to a concentration of 20 U/ml and serially diluted with PBS-G such that 1 ml of the dilution contained a total of 16, 12.5, 10, 8, or 6.4 U (Table 1). The candidate (Lot 011201) was dissolved and serially diluted in the same way as the standard antivenom. Japanese mamushi test venom (Lot 3-2, hemorrhagic titer: 1,200 test dose/ampoule, or Lot 4, hemorrhagic titer: 1,200 test dose/vial) was reconstituted and diluted into PBS-G to a final concentration of 10 test doses/ml. Aliquots of 1 ml of appropriately diluted standard antivenom or candidate were mixed with 1 ml of venom and kept at room temperature for 1 h (Table 1). Thus, aliquots of 0.2 ml of these mixtures were injected intradermally into the shaved backs of two rabbits at two sites for each rabbit per mixture. Twenty-four hours after injection, the rabbits were killed by pentobarbital anesthesia and the skin was stripped off. The cross-diameters of the hemorrhagic spots were measured from the inner side of the skin.

ED_{50} was expressed in terms of number of hemorrhagic spots measuring 10 mm in average cross-diameter. The poten-

cies were determined relative to the standard antivenom by the parallel line method (12,13).

Estimation of stability: The stability test was performed at KFDA (7). The stability of the candidate was determined by accelerated thermal degradation test. In standard routine quality control testing, the accelerated thermal degradation test is performed by keeping the antivenom vials at 20°C, 37°C, and 45°C for 3, 6, and 9 months in triplicate. In the present study, for simplicity, only one vial was subjected to the assay at each temperature and time. The stability of the candidate was determined by comparing the antivenom potencies of vials stored at 20°C, 37°C, and 45°C against that of vials kept at 4°C.

Estimation of safety: At SIBP, the candidate was subjected to pH testing, sterility testing, and pyrogen testing for suitability as a Chinese commercial mamushi antivenom. In the pH test, the hydrogen ion concentration of the candidate was measured with a pH meter using a glass electrode. In the sterility tests, the candidate was determined for freedom from microorganisms. In the pyrogen test, the pyrogenic activity of the candidate was determined based on febrile response of the rabbit to intravenous injection of the candidate. These methods were conducted according to the procedures prescribed in the Chinese minimum requirements (8).

RESULTS

Determination of anti-lethal titer: At SIBP, the anti-lethal titer was examined three times using 10 vials of the candidate to confirm the homogeneity of the candidate preparation. The titer of the candidate was determined to be $29,450 \pm 1,650$ U/vial (Table 2). No significant difference in anti-lethal potency was observed among the three examinations ($P = 0.05$). Then, the titers were determined in collaboration of NIID, Kaketsuken, and KFDA. As shown in Table 3, the titers were 31,437 (95% confidence interval: 29,111-33,949 U/vial at NIID, 31,572 (27,066-36,827) U/vial at Kaketsuken, and 36,391 (32,832-40,335) U/vial at KFDA. The general common potency of the anti-lethal titer determined from the results of the nine tests performed at these three facilities was 32,909 (31,080-34,846) U/vial, which was rounded off to 33,000 U/vial.

Determination of anti-hemorrhagic titer: At SIBP, the anti-hemorrhagic titer of the candidate was determined three times using 10 vials of the candidate to confirm the homogeneity of the candidate preparation. Potency testing indicated that the anti-hemorrhagic titer was $31,000 \pm 2,550$ U/vial (Table 2). No significant difference in anti-hemorrhagic potency was observed among three tests ($P = 0.05$). Then, the anti-hemorrhagic titer was measured in collaboration of three facilities. The results were 34,454 (95% confidence interval: 33,112-35,850) U/vial at NIID (triplicate assays), 37,543 U/vial at Kaketsuken (single assay), and 36,063 (34,411-37,793) U/vial at KFDA and NIID (triplicate assays) (Table 4). From the results of seven tests performed at these

Table 2. Homogeneity for the candidate mamushi antivenom by potency tests at SIBP

vial No.	anti-lethal titer			anti-hemorrhagic titer		
	1	2	3	1	2	3
1	30,000	28,680	28,680	30,000	30,000	30,000
2	28,680	30,070	27,360	30,000	30,000	30,000
3	31,440	28,680	24,960	30,000	30,000	30,000
4	28,680	27,360	31,440	30,000	30,000	30,000
5	31,440	30,070	31,440	30,000	30,000	30,000
6	30,000	27,360	31,440	30,000	30,000	30,000
7	28,680	30,070	31,440	30,000	37,500	30,000
8	28,680	30,070	28,620	30,000	37,500	30,000
9	28,680	30,070	28,620	30,000	30,000	37,500
10	31,440	27,360	31,440	30,000	30,000	37,500
geometric mean	29,770 ± 1,200	28,980 ± 1,180	29,560 ± 2,140	30,000	31,500 ± 3,000	31,500 ± 3,000
general geometric mean		29,450 ± 1,650			31,000 ± 2,550	

Potency tests were performed using 10 vials in triplicate. (U/vial)

Table 3. Collaborative study for anti-lethal titer determination

facility	test	potency	95% confidence interval
Japan NIID ¹⁾	1	30,594	
	2	31,999	
	3	31,328	
	common potency	31,437	29,111 - 33,949
Japan Kaketsuken ²⁾	1	36,310	
	2	29,036	
	3	27,342	
	common potency	31,572	27,066 - 36,827
Korea KFDA ³⁾	1	31,256	
	2	46,114	
	3	37,638	
	common potency	36,391	32,832 - 40,335
general common potency	32,909	31,080 - 34,846	(U/vial)

¹⁾ National Institute of Infectious Diseases.²⁾ The Chemo-Sero-Therapeutic Research Institute.³⁾ Korea Food and Drug Administration.

three facilities, the general common potency anti-hemorrhagic titer was 36,226 (35,440-37,030) U/vial, which was rounded off to 36,000 U/vial.

Estimation of stability: The results of the accelerated thermal degradation test performed at KFDA are shown in Table 5. The titers of the candidate stored at 20°C, 37°C, and 45°C for 9 months were 92.9, 83.1, and 83.1% of that stored at 4°C, respectively. There were no statistically significant differences between potencies and regression coefficients of the candidates stored at these temperatures for these periods ($P = 0.05$). These results indicated that there was no significant loss of anti-lethal activity of the candidate with increasing storage temperature or storage time.

Estimation of safety: The pH 6.9 determined by pH test was within the range (6.8-7.4) described in the Chinese minimum requirements (8). In the sterility test, there was no evidence of microbial growth. Thus, the antivenom candidate met the requirements of the test for sterility (8). The results of the pyrogen test fulfilled the requirements (8) regarding pyrogenicity.

DISCUSSION

For quality control of biological products, such as antivenoms

Table 4. Collaborative study for anti-hemorrhagic titer determination

facility	test	potency	95% confidence interval
Japan NIID	1	37,847	
	2	33,033	
	3	29,561	
	common potency	34,454	33,112 - 35,850
Japan Kaketsuken		37,543	
Korea KFDA	1	42,607	
	2	35,402	
	3	42,607	
	common potency	36,063	34,411 - 37,793
general common potency		36,226	35,440 - 37,030

Abbreviations are in Table 3. (U/vial)

against the bites of poisonous snakes with restricted geographical distributions or those with wider distributions but with significant geographical variation in venom activity, the WHO recommends the establishment of standard materials by individual country or by region (eastern Asia, etc.), because of the difficulty in coverage of such a wide variety of snake venoms by WHO (14). Standard mamushi antivenom is one such case. Thus, we established a regional reference mamushi antivenom for common use in China, Korea, and Japan. The antivenom raised against the venom of the snakes from China is capable of completely neutralizing those of the same species from Korea and Japan (15). Thus, we chose Chinese mamushi venom as an immunogen and the regional reference antivenom was produced in SIBP in China. From the viewpoint of improving the accuracy of the quality control test, a standard material was required to have characteristics similar to a commercial antivenom. This candidate was prepared at SIBP using the same manufacturing procedure as used for the commercial antivenom. The safety tests performed at SIBP indicated that the candidate had characteristics similar to the commercial products. The results of the stability tests performed at KFDA indicated that the candidate was sufficiently stable on long-term storage. The candidate showed an anti-lethal activity titer of 33,000 U/vial and an anti-hemorrhagic activity titer of 36,000 U/vial. The three participating countries evenly shared 3,000 vials of products (1,000 vials/country) and they will be used in

Table 5. Stability for the candidate mamushi antivenom by accelerated thermal degradation test at KFDA

	stored at (°C)	stored for			
		3	6	9	common (months)
Potency ¹⁾		0.825	0.830	0.929	0.870
95% confidence interval	20	(0.635-1.011)	(0.974-0.974)	(0.799-1.078)	(0.792-0.954)
	37	(0.544-0.866)	(0.743-0.997)	(0.715-0.964)	(0.747-0.964)
	45	(0.663-1.098)	(0.717-0.971)	(0.715-0.964)	(0.766-0.921)
	common	(0.703-0.902)	(0.775-0.916)	(0.794-0.936)	(0.799-0.888)
Regression coefficient ²⁾	20	10.716	14.246	12.834	12.281
	37	11.003	17.363	12.722	12.090
	45	8.959	16.411	12.722	11.681
	common	10.213	15.954	12.760	12.386

¹⁾: Anti-lethal titers relative to the candidate stored at 4°C for the same period.

²⁾: Regression coefficient of potency.

routine quality control tests in the region.

The anti-lethal titers of the commercial products are determined in all of Japan, Korea, and China as lot-release tests. The major difference in the methods used for anti-lethal titer determination among these three countries is the route of administration of neutralized venom into mice: intravenous administration is employed in Korea (7) and Japan (6), while intraperitoneal administration is performed routinely in China (8). The route of administration was not the subject of calibration in the present collaborative study, with each country following its own method. This study design was designed based on practical considerations concerning the routine use of the product, and we found no significant differences in the results related to route of administration. However, the interchangeability of route of administration should be confirmed in future studies. Titer determination against hemorrhagic activities of venom is performed routinely for quality control testing in Japan and Korea. However, anti-hemorrhagic titer determination is not recommended by the WHO from the viewpoint of animal welfare (14). Thus, whether anti-hemorrhagic titer determination is necessary should be discussed further.

This study is the first to establish a regional reference antivenom as recommended by the WHO (14). Venomous snakes, spiders, and cnidarians inhabit restricted regions or areas, and various antivenom products have been used on a regional basis for treatment of their bites and stings. Regional reference antivenoms are required for quality control of such antivenom products. Thus, this international collaborative study will provide important information and experience for the establishment of regional reference standards.

ACKNOWLEDGMENTS

We wish to thank Mr. Yoshiaki Nagaoka for his technical assistant with the animal experiments.

This work was supported by the Health Sciences Research Grants from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan (Research on the Pharmaceutical and Medical Safety).

REFERENCES

1. Russell, F. E. and Lauritzen, L. (1991): Antivenin sources. p. 169-181. *In* Poisonous Snakes of the World. Dover

Publications, New York.

2. Wuster, W., Golay, P. and Warrell, D. (1997): Synopsis of recent developments in venomous snake systematics. *Toxicon*, 35, 319-340.
3. Kosuge, T. (1968): Biological toxicity of mamushi-snake venom (*Agkistrodon halys*) and morphological changes caused by the venom. *Kitakanto Med.*, 18, 353-379 (in Japanese).
4. Teteno, I., Sawaki, Y. and Makino, M. (1963): Current status of mamushi snake (*Agkistrodon halys*) bite in Japan with special reference to severe and fatal cases. *Jpn. J. Exp. Med.*, 33, 331-346.
5. Omori, T., Iwanaga, S. and Suzuki, T. (1964): The relationship between the hemorrhagic and lethal of Japanese mamushi (*Agkistrodon halys blomhoffi*) venom. *Toxicon*, 2, 1-4.
6. Ministry of Health and Welfare, Japanese Government (1993): Minimum Requirement for Biological Products. Association of Biologicals Manufacture of Japan, Tokyo (in Japanese).
7. Korea Food and Drug Administration (1993): Minimum Requirement for Biological Products (in Korean).
8. Ministry of Public Health, China (2000): Minimum Requirement for Biological Products.
9. Kondo, H., Kondo, S., Sadahiro, S., Yamaguchi, K. and Murata, R. (1971): Standardization of *Trimeresurus flavoridis* (Habu) antivenin. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.*, 24, 323-327.
10. Kondo, H., Kondo, S., Sadahiro, S., Yamaguchi, K., Ohsaka, A. and Murata, R. (1965): Standardization for antivenine I. A method for determination of antilethal potency of Habu antivenine. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.*, 18, 101-110.
11. Kondo, H., Kondo, S., Sadahiro, S., Yamaguchi, K., Ohsaka, A. and Murata, R. (1965): Standardization of antivenine II. A method for determination of anti-hemorrhagic potency of Habu antivenine in the presence of two hemorrhagic principles and their antibodies. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.*, 18, 127-141.
12. Ohsaka, A. (1979): Hemorrhagic, necrotizing and edema-forming effects of snake venoms. p. 480-546. *In* Albuquerque, E. X. and Lee, C. Y. (eds.), *Snake Venoms: Handbook of Experimental Pharmacology*. vol. 52. Springer-Verlag, Berlin.

13. Finney, D. J. (1964): Statistical methods in biological assay. 2nd ed. Charles Griffin Co., London.
14. Theakston, R. D. G., Warrell, D. A. and Griffiths, E. (2003): Report of a WHO workshop on the standardization and control antivenoms. *Toxicon*, 41, 541-557.
15. Kawashima, Y. (1974): Study of the immunological relationships between venom of six Asiatic *Aglistrodons*. *Snake*, 6, 16-26.

Clinical Evaluation of Macrolide-Resistant *Mycoplasma pneumoniae*

Satowa Suzuki,¹ Tsutomu Yamazaki,² Mitsuo Narita,³ Norio Okazaki,⁴ Isao Suzuki,⁵ Tomoaki Andoh,⁵
Mayumi Matsuoka,¹ Tsuyoshi Kenri,¹ Yoshichika Arakawa,¹ and Tsuguo Sasaki^{1*}

Department of Bacterial Pathogenesis and Infection Control, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo,¹ Department of Pediatrics, Saitama Medical School, Saitama,² Sapporo Tetsudo Hospital, Hokkaido,³ Kanagawa Prefectural Institute of Public Health, Kanagawa,⁴ and Department of Pediatrics, Chigasaki Municipal Hospital, Kanagawa.⁵ Japan

Received 10 August 2005/Returned for modification 24 October 2005/Accepted 23 November 2005

Macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* (MR *M. pneumoniae*) has been isolated from clinical specimens in Japan since 2000. A comparative study was carried out to determine whether or not macrolides are effective in treating patients infected with MR *M. pneumoniae*. The clinical courses of 11 patients with MR *M. pneumoniae* infection (MR patients) treated with macrolides were compared with those of 26 patients with macrolide-susceptible *M. pneumoniae* infection (MS patients). The total febrile days and the number of febrile days during macrolide administration were longer in the MR patients than in the MS patients (median of 8 days versus median of 5 days [$P = 0.019$] and 3 days versus 1 day [$P = 0.002$], respectively). In addition, the MR patients were more likely than the MS patients to have had a change of the initially prescribed macrolide to another antimicrobial agent (63.6% versus 3.8%; odds ratio, 43.8; $P < 0.001$), which might reflect the pediatrician's judgment that the initially prescribed macrolide was not sufficiently effective in these patients. Despite the fact that the febrile period was prolonged in MR patients given macrolides, the fever resolved even when the initial prescription was not changed. These results show that macrolides are certainly less effective in MR patients.

Mycoplasma pneumoniae is a common pathogen causing community-acquired respiratory tract infection mainly in children and young adults. Macrolides are generally considered to be the first-choice agents for treatment of *M. pneumoniae* infection. Although tetracyclines and fluoroquinolones are effective against *M. pneumoniae*, these agents are not recommended for children because of their toxicity. Tetracyclines can cause depression of bone growth, permanent gray-brown discoloration of the teeth, and enamel hypoplasia when given during tooth development. Although the clinical importance of fluoroquinolones has not been demonstrated, they produce cartilage erosion in young animals. Thus, these agents should be given only when there is no alternative (15).

As reported by Lucier et al. (9) and Okazaki et al. (14), an A-to-G transition or A-to-C transversion at position 2063 or 2064 of domain V of the *M. pneumoniae* 23S rRNA gene results in resistance to macrolide antibiotics. We have previously reported the isolation of macrolide-resistant (MR) *M. pneumoniae* from ca. 20% of clinical specimens collected from pediatric patients in Japan (11). Most of those isolates were highly resistant to 14-membered ring macrolides (MIC, >256 $\mu\text{g/ml}$) and moderately resistant to 15- and 16-membered ring macrolides.

Even in the cases of patients infected with MR *M. pneumoniae*, some pediatricians had the impression that there was a good response to macrolide therapy (11). There is a similar debate about the management of infection due to pneumococci. As noted in The Infectious Diseases Society of America

(IDSA) guidelines for community-acquired pneumonia management (10), despite the increase of resistant isolates, a corresponding increase has not been seen in the number of clinical treatment failures.

One possible explanation for this is the nonantimicrobial effects of macrolides. It is known that macrolides have beneficial immunomodulating effects (1, 4, 6, 20), and they are clinically effective in hypersecretory conditions such as diffuse panbronchiolitis (7, 8) and cystic fibrosis (16). Thus, macrolides could be clinically effective even in MR *M. pneumoniae* infections.

It is important to know the clinical significance of MR *M. pneumoniae* infection, because in vitro susceptibility testing for *M. pneumoniae* is not available for daily management of patients. If macrolides are clinically effective against MR *M. pneumoniae* infection, pediatricians do not need to consider the use of tetracyclines or fluoroquinolones, even if the prevalence of MR *M. pneumoniae* rises in the future. Therefore, we performed a comparative study to determine whether or not MR *M. pneumoniae* influences the clinical outcome in patients treated with macrolides.

MATERIALS AND METHODS

Study population and sample collection. Three pediatric clinics in three different areas in Japan participated in this study. Sera and throat swabs or sputa taken from inpatients or outpatients suspected of *M. pneumoniae* infection were subjected to the laboratory tests.

Isolation. Isolation and identification of *M. pneumoniae* was carried out as described in a previous report (11).

PCR detection of *M. pneumoniae*. Sputa were obtained from patients, suspended in a small amount of saline, mixed well, and centrifuged at 2,000 rpm for 15 min, and then DNA was extracted from the supernatant with a QIAamp DNA Mini kit (QIAGEN K. K., Tokyo, Japan) according to the manufacturer's instructions. *M. pneumoniae* DNA was detected by the nested PCR method with primer sets for amplification of the P1 gene as previously described (17). The first

* Corresponding author. Mailing address: Department of Bacterial Pathogenesis and Infection Control, National Institute of Infectious Diseases, 4-7-1 Gakuen, Musashimurayama-shi, Tokyo 208-0011, Japan. Phone: (81) 425610771. Fax: (81) 425653315. E-mail: sasaki@nih.go.jp.

TABLE 1. Prevalence of macrolide-resistant *M. pneumoniae* in Japan

Year	Isolation method		DNA detection method	
	No. of isolates	No. of resistant isolates (%)	No. of specimens with positive <i>M. pneumoniae</i> DNA (no. of examined specimens)	No. of specimens with macrolide resistance mutation in <i>M. pneumoniae</i> DNA (%)
1999	296	0	12 (630)	0
2000	10	1 (10.0)	9 (92)	4 (44.4)
2001	6	2 (33.3)	28 (384)	3 (10.7)
2002	12	3 (25.0)	44 (352)	5 (11.4)
2003	54	7 (13.0)	10 (236)	1 (10.0)
2004	6	1 (16.7)	8 (183)	2 (25.0)
5-year total (2000–2004)	88	14 (15.9)	99 (1247)	15 (15.2)

primer set was ADH2F (5'-GGC AGT GGC AGT CAA CAA ACC ACG TAT-3') and ADH2R (5'-GAA CTT AGC GCC AGC AAC TGC CAT-3'). The second primer set was ADH3F (5'-GAA CCG AAG CCG CTT TGA CCG CAT-3') and ADH3R (5'-GTT GAC CAT GCC TGA GAA CAG TAA-3').

Serological diagnosis. Particle agglutination (PA) antibody titers for *M. pneumoniae* were assayed by using Serodia-MYCO II (Fuji Rebio Ltd., Tokyo, Japan), which is manufactured using artificial gelatin particles, sensitized with cell membrane components of *M. pneumoniae*, according to the manufacturer's instructions.

Detection of resistance point mutations in domain V of 23S rRNA. MR *M. pneumoniae* isolates were screened on the basis of MIC of erythromycin (ERY), and identification of point mutations in domain V of 23S rRNA for ERY-resistant *M. pneumoniae* was performed according to our previously reported methods (11). For PCR-positive samples of *M. pneumoniae* DNA, the detection of a point mutation is indicative of a resistant phenotype because there is only a single rRNA operon in the genome (2). Neither plasmids with *erm* genes to mediate ribosomal modification nor any enzymes that inactivate macrolides have been found in *M. pneumoniae*. Thus, the prevalence of MR *M. pneumoniae* detected by the PCR methodology should reflect the true incidence of resistant strains.

Patient extraction for comparison of clinical courses. Clinical information was collected for the patients from whom *M. pneumoniae* had been isolated or its DNA detected. Patients who fulfilled the following criteria were extracted: (i) *M. pneumoniae* infection was laboratory confirmed, (ii) macrolides were prescribed during the illness, and (iii) complete information about prescribed antimicrobial agents and febrile days was available from the medical record. Laboratory-confirmed *M. pneumoniae* infection was defined as (1-a) isolation of *M. pneumoniae* from throat swabs or (1-b) detection of *M. pneumoniae* DNA from the sputum by PCR methods and serologically positive results, i.e., fourfold or greater rise of antibody titer in paired serum samples or titer higher than 1:640 in a single-serum sample by PA assay.

Patients infected with *M. pneumoniae* showing a point mutation in domain V of the 23S rRNA gene were defined as MR *M. pneumoniae*-infected patients (MR patients), and those infected with *M. pneumoniae* without the mutation were defined as macrolide-susceptible *M. pneumoniae*-infected patients (MS patients). MS patients were selected from the same study population as MR patients, and there were approximately twice as many of them as MR patients.

Measurement of clinical efficacy. To compare the clinical courses of MR and MS patients, we adopted the number of febrile days as a main outcome measurement. A febrile day was defined as a day during which the body temperature exceeded 38.0°C at least once. Total febrile days and the number of febrile days during macrolide administration were assessed. As these parameters would be affected by the time of commencement of macrolide administration, the number of febrile days before macrolide administration was also assessed. Other clinical symptoms and signs, such as cough and chest roentgenogram findings, were not taken into account in this study on account of the difficulty of objective and unified assessment through a retrospective review of medical records.

The numbers of patients whose prescribed antibiotic was changed were also compared. We speculated that a change in prescribed antimicrobial agent might reflect the pediatrician's clinical decision that the initial therapy had insufficient efficacy based on the general clinical condition of the patients. The pediatricians had no information about the susceptibility of *M. pneumoniae* at the time of clinical decision-making.

TABLE 2. Characteristics of enrolled patients

Characteristic	MR patients (n = 11)	MS patients (n = 26)	P
Age (yr)			
Median (range)	9.0 (0–13)	5.5 (1–14)	0.30
Mean	7.6	6.5	
Sex, male/female	4/7	14/12	0.33
No. of patients prescribed 14-membered ring macrolides (%)	8 (72.7)	7 (26.9)	0.025

Statistical analysis was performed using SPSS software, version 9.05 for Windows (SPSS, Inc., Chicago). Differences in categorical variables were assessed with the two-tailed Fisher's test, and for the comparison of medians the exact Wilcoxon rank-sum test was used. *P* values of less than 0.05 were considered to indicate statistical significance.

RESULTS

Prevalence of MR *M. pneumoniae*. The prevalence of MR *M. pneumoniae* among clinical isolates and specimens with positive *M. pneumoniae* DNA is shown in Table 1. Before 1999, no MR *M. pneumoniae* was found among 296 clinical isolates. In 2000, however, MR *M. pneumoniae* appeared in 10% of isolates, and its prevalence rose to 33.3% in 2001. The overall prevalence of MR *M. pneumoniae* during 2000 to 2004 was 15.9%. All MR *M. pneumoniae* isolates had a resistance point mutation in domain V of 23S rRNA. A similar trend was seen in specimens with PCR-positive *M. pneumoniae*. Although the number of positive specimens before 1999 was limited (*n* = 12), no MR *M. pneumoniae* was detected. The prevalence of MR *M. pneumoniae* during 2000 to 2004, based on PCR-positive specimens, was 15.2%.

Comparison of the clinical courses between MR and MS patients. Eleven MR patients were selected for the analysis according to the criteria given above, and 26 MS patients were used as controls.

The patients' characteristics are summarized in Table 2. All patients were outpatients at the time of onset and had no severe underlying disease that might have influenced the clinical course. MR patients tended to be older and had a lower male/female ratio than MS patients, but the differences lacked statistical significance. Most patients were first prescribed β -lactam antimicrobial agents by primary physicians, followed by prescription of macrolides after attendance at a hospital. The prescribed macrolides differed among MR and MS patients. Significantly more MR patients than MS patients were prescribed 14-membered ring macrolides (72.7% versus 26.9%; *P* = 0.025). The majority of MS patients (19 out of 26 [73.1%]) were prescribed only 15-membered ring macrolides (azithromycin [AZM]).

The clinical courses in the MR and MS patients are summarized in Table 3. The total febrile days and the number of febrile days during macrolide administration were significantly greater in MR patients than in MS patients (median of 8 days versus 5 days [*P* = 0.019] and 3 days versus 1 day [*P* = 0.002], respectively). Febrile periods before macrolide administration, which consist of antimicrobial-free and mostly β -lactam-ad-

TABLE 3. Comparison of clinical courses in MR patients and MS patients

Characteristic	MR patients (n = 11)	MS patients (n = 26)	P
Febrile days			
Median (range)	8 (4–19)	5 (2–9)	0.019
Mean	9.3	5.5	
Febrile days during macrolide administration			
Median (range)	3 (1–11)	1 (1–5)	0.002
Mean	4.3	1.4	
Febrile days before macrolide administration			
Median (range)	3 (1–10)	4 (1–8)	0.402
Mean	3.8	4.1	
No. of patients with a febrile period exceeding 48 h after macrolide administration (%)	8 (72.7)	5 (19.2)	0.006
No. of patients with a change of prescription after macrolide administration (%)	7 (63.6)	1 (3.8)	<0.001

TABLE 4. Comparison of patients prescribed 14-membered ring macrolides

Characteristic	MR patients (n = 8)	MS patients (n = 7)	P
Total febrile days			
Median (range)	10.0 (4–19)	6.0 (4–9)	0.152
Mean	10.4	6.6	
Febrile days during macrolide administration			
Median (range)	3.5 (1–11)	1.0 (1–2)	0.004
Mean	4.9	1.1	
Febrile days before macrolide administration			
Median (range)	3.0 (1–10)	5.0 (3–8)	0.152
Mean	4.0	5.4	
No. of patients with a febrile period exceeding 48 h after macrolide administration (%)	7 (87.5)	1 (14.3)	0.01
No. of patients with a change of prescription after macrolide administration (%)	6 (75.0)	0	0.007

ministered days, showed no statistically significant difference (median of 3 days versus 4 days, $P = 0.402$).

The MR patients were more likely to have had the initially prescribed macrolide changed to another antimicrobial agent by their pediatricians (63.6% versus 3.8%; odds ratio, 43.8; $P < 0.001$). Among seven MR patients whose prescriptions were changed, all but one were changed to minocycline.

The results were similar for patients to whom 14-membered ring macrolides were administered (Table 4). Among these 15 patients (8 MR patients and 7 MS patients), 9 patients were prescribed clarithromycin, while the remaining 6 were prescribed ERY. Presumably due to the fact that the number of febrile days during macrolide administration was greater in MR patients than in MS patients (median of 3.5 days versus 1.0 day, $P = 0.004$), the initially prescribed macrolide was more frequently changed among MR patients than MS patients (75% versus 0%, $P = 0.007$). Although there was no statistical significance, there was a prolongation of total febrile days for MR patients (median of 10 days versus 6 days, $P = 0.152$).

When we focused on patients given 15-membered ring macrolides, 2 MR patients and 19 MS patients, the differences were not clear. Although there were only two MR patients in this group, their total febrile days and number of febrile days during macrolide administration were not different from those of MS patients (medians of 4.5 days versus 5.0 days and 1.0 day versus 1.0 day, respectively).

DISCUSSION

There are few reports on the isolation of MR *M. pneumoniae* from clinical specimens, and most of the isolates were obtained following ERY treatment (13, 19). In our survey, MR *M. pneumoniae* was not found in any of 296 clinical isolates or 12 *M. pneumoniae* PCR-positive specimens collected between 1983 and 1999, but it has been found in 15% to 20% of clinical

isolates or PCR-positive specimens since 2000. MR *M. pneumoniae* first appeared in 2000 and rapidly spread throughout Japan (11, 12). Thus, it is important to evaluate the clinical significance of MR *M. pneumoniae*.

In our study, when patients infected with MR *M. pneumoniae* were treated with macrolides, the total febrile period was 3 days longer than that of patients with MS *M. pneumoniae*. Although we did not assess other clinical outcome variables, such as chest roentgenogram findings, a higher frequency of changes in prescription was observed in MR patients than in MS patients. This might reflect the pediatrician's judgment, based on the patient's clinical condition, that the initially prescribed macrolide was not sufficiently effective, even though the pediatricians had no information about the susceptibility of isolates at the time of clinical management. This tendency was also seen in patients who were treated only with 14-membered ring macrolides.

It was difficult to assess the immunomodulatory effects of macrolides in patients with *M. pneumoniae* infection in this study, because all the patients enrolled were prescribed macrolides according to the inclusion criteria. To evaluate the immunomodulatory effects of macrolides, it will be necessary to compare the clinical outcomes among MR patients treated with and without macrolides. An alternative is to compare the number of febrile days of MR patients with that of patients without antimicrobial agent therapy in the literature. According to review articles, fever might persist for about a week in the natural course of *M. pneumoniae* infection (3, 18). Kingston et al. (5) evaluated the effect of demethylchlortetracycline in a double-blind study, and the mean duration of fever in the treated group was 2.13 days, while it was 8.14 days in the placebo group. They started to count the number of febrile days not at the point of onset but only after entry into the study. In our study, the mean number of febrile days of MR patients was 9.2, which is similar to that of the placebo group