

結核菌に関する研究

抗酸菌検査の精度管理と定点監視体制の確立

分担研究者

御手洗聡 結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンスセンター細菌検査科

研究要旨

結核菌の薬剤耐性サーベイランスシステム確立を目指して、病院検査室から得られる結核菌耐性情報の定点観測による調査法を評価し、併せて抗酸菌検査の精度保証法の確立に関する研究を行った。

抗酸菌検査実施施設に対して、耐性既知の結核菌 5 株を検査する方法で薬剤感受性検査の外部精度評価を実施したが、今年度の精度評価活動への参加施設数は 105 施設であり、昨年（2006）度の 99 施設からの増加率は 6.1%に過ぎず、当初の目的であった検体数の削減による参加施設数増加効果はほとんどなかった。2004 年から 2006 年までに実施した同様の外部精度評価と比較すると、被験菌 5 株による検査精度評価は不十分と考えられ、10 株程度の被験菌数を確保する必要があると思われた。また薬剤感受性検査精度の評価上、日本においても世界保健機関における Supranational Reference Laboratory Network (SRLN)同様に「INH 及び RFP の感度・特異度 95% (90%でも可)、かつ全ての薬剤での一致率 90%以上」という基準を採用するべきと考えられた。

抗酸菌検査の外部精度評価を実施する上で、適切な検体を準備することが重要である。我々はこれまでポリアクリルアミドを基質とする人工痰（第一世代）を開発し、抗酸菌塗抹検査での有用性を示した。今回培養 THP-1 細胞と BCG、界面活性剤等を使用することで NALC-NaOH にて均質化（消化）可能な人工痰（第二世代）を開発した。マクロ及びミクロでの外観は第一世代人工痰と同等であり、生菌保持能力もあるため培養検査への応用も可能と思われる。核酸増幅法による抗酸菌検出も可能であり、同検査法の精度評価にも応用の可能性があると思われた。

薬剤耐性定点観測のため、全国の代表的な結核診療施設 45 施設に対してアンケート調査を実施したところ、23 施設（回収率 51.1%）から回答を得た。約半数の施設（11 施設）は未治療・既治療の分類を行っておらず、将来的に定点観測実施に当たってはデータ管理システム（ソフトウェア）の統一も必要と考えられた。12 施設のデータによるイソニアジド、リファンピシン、ストレプトマイシン及びエタンブトールに対する未治療耐性率は 2002 年度の結核療法研究協議会（療研）調査結果と良く一致していたが、既治療耐性率に大きな差異が認められた。最終的な精度（信頼性）評価のためには 2007 年度の療研調査を待つ必要があるが、さらに多くの施設からデータを収集する必要性が示唆された。

A. 研究目的

抗酸菌検査は複雑であり、検査件数の減少に伴って精度を維持することが困難となりつつある。しかし、検査の結果は結核診断のゴールドスタンダードであり、治療法の選択や治療効果の評価にも用いられ、臨床的・社会的な重要性が高い。特に薬剤感受性検査の精度維持は、治療成功や耐性菌発生の防止の意味でも重要である。

抗酸菌検査に関して外部精度評価体制を確立することにより、少なくとも最低限の精度を保証することが可能となる。実際に英国や米国では認証機関が評価を行うことで検査精度を保証している。また、外部精度評価を通じて認証された検査室から、定期的に薬剤感受性検査データを収集するシステムを構築すれば、現在5年ごとに結核療法研究協議会（療研）が実施している全国薬剤耐性サーベイランスを代替し、毎年結核菌の耐性の動向を見ることも可能になるとと思われる。これは結核対策の評価上も有用である。

これまで日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会と共同で結核菌薬剤感受性検査に関する技術試験（パネルテスト）を、全国の病院と検査センターを対象にして実施してきたが、2007年度も引き続き拡大実施する。そのなかでいくつかの問題点や合格基準の設定など解決すべき点が明確となってきた。今回の研究では、それらの点を明らかにすることも目的の一つとした。

抗酸菌検査としては塗抹、培養及び同定検査も重要である。当該事業でのこれまでの研究によって塗抹検査に利用する高精度の人工痰・人工痰スライドの作製法を確立したが、培養・同定検査まで実施できる人工痰パネル検体は確立されていない。2007年度はNALC-NaOHにて消化可能で、生菌

を保持しうる人工痰の作製をさらに進歩させることも目標とした。

さらに、2007年度には療研による薬剤耐性全国サーベイランスが実施される予定であるが、4月1日からの（病原体等の管理は6月1日から）感染症法の改正に伴って結核菌の輸送・管理に困難が予想されるので、薬剤耐性状況の定点観測に関係した情報の収集も行うこととした。

B. 研究方法

1. 抗結核薬薬剤感受性検査外部精度評価

【目的】

パネルテストにより、結核菌の薬剤感受性検査精度を評価すること、またその適正性を判断すること。

【方法】

施設参加要件

結核菌薬剤感受性検査を実施している病院検査室あるいは検査センター全てを対象とする。基本的には参加は任意であり、「日本結核病学会理事長」および「抗酸菌検査法検討委員会委員長」名による本調査への参加依頼を実施プロトコールとともに送付（あるいは掲示）し、諾とした施設のみに試験用の検体を送付する。

送付する検体（結核菌株）

薬剤耐性既知の結核菌5株を小川培地上に発育した状態で送付する。今回送付する菌株はSupra-national Reference Laboratory Network (SRLN) で毎年実施されている薬剤感受性検査外部精度保証プログラムに使用された菌株を用いる。これらの株については、既にSRLNにて評価が定まっており、その最終的な評価を基準として感受性・耐性を判定する。それぞれの施設に配付される検体には、一検体ずつ異なる番号が割り振られており、全ての結果はこの番号によ

って分類される。送付する菌株の中には薬剤耐性株が含まれているが、感染症法の改正に伴って多剤耐性結核菌の運搬の条件が極めて厳格になったため、今回から多剤耐性結核菌は使用していない。しかしながら、他の薬剤耐性は存在するため、取り扱いには十分なる注意を要する。なお、被験菌は国連容器を用いて三重包装とし、ゆうパックにて郵送する。

試験薬剤

検査薬剤は、結果の安定性を考慮して Isoniazid (INH)、Rifampicin (RFP)、Ethambutol (EB) および Streptomycin (SM) とする。尚、INH については基準濃度の結果のみでよいものとする。

感受性検査方法

基本的に各施設で日常実施している方法で感受性検査を行う。調査用紙に検査方法、検査キット名、菌液調製法（コロニー回収法、菌液作製法、濁度調整法）を記入し、検査結果とともにコーディネーター宛報告する。

結果の返送

薬剤感受性検査のコーディネーターへの報告は被験菌受領から 3 ヶ月以内とする。やむを得ず 3 ヶ月を越える場合には前以てコーディネーターへ連絡する。

結果の評価

それぞれの菌株の薬剤感受性検査の結果は「耐性」あるいは「感受性」のいずれかとして判定する。Minimum Inhibitory Concentration (MIC) を用いて測定する場合は、各施設にて感受性・耐性の基準を定める事とする。尚、報告用紙に記入する際は、感受性には S、耐性には R を用いて表記す

る (MIC にて I となった場合は R か S かのどちらか各施設にて判定する)。また、複数の方法について評価を希望する場合は、それぞれの結果を別々の用紙に記載する。

結果の解析

データについては「感度」、「特異度」、「耐性的中率」、「感受性的中率」および「一致率」を計算し評価する。ここで感度とは、SRLN で耐性と判定した株を正しく耐性と判定する割合であり、特異度とは同様に SRLN で感受性とした株を正しく感受性と判定する割合である。耐性的中率とはある菌株を「耐性」と判定した時、その判定が正解である確率であり、同様に感受性的中率とはある菌株を「感受性」とした時の正解率である。一致率は SRLN との判定の一致の割合を示す。

解析結果については個々の解析が終了した時点（結果報告直後）で各施設に個別に通知する他、委員会報告/論文として報告する。委員会報告および論文報告においては施設名を匿名化し、個々の施設が特定されないよう配慮する。

試供検体の処理

試供検体については、各施設にて検査終了後廃棄する。

参加証の交付

日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会名にて、薬剤感受性検査外部精度評価パネルテストに参加したことを認める証明書を発行する。尚、参加証の発行は結果の報告を受けた時点で行うものとする。

その他

検査の安全性に配慮し、感染症法の定める結核菌取扱基準を満たしている施設のみ

参加可能とする。

2. 抗酸菌培養・同定検査のための第二世代人工痰開発

【目的】

NALC-NaOHにて消化可能で、生菌を保持しうる人工痰を作製すること。

【方法】

人工痰調製法

準備するもの

- RPMI 1640 培地
- Fetal calf serum (FCS)
- 2 mM L-glutamine, penicillin (100 U/ml), and streptomycin (100 µg/ml)
- THP-1 cell line
- BCG-Pasteur
- Acrodisk filter (#4650: pore size 5.0 µm, Pall Corporation, Cornway, UK)
- 10% SDS 溶液
- 0.05% Tween80
- Pore size 0.2µm Millipore Millex filter
- 0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.4)

細胞の調製

RPMI-1640 培地 (L-glutamine 含有) 500ml に非働化 (水式恒温槽で 56°C で 30 分加温) した FCS を 50 ml 加え、さらに penicillin (100U/ml)、streptomycin (100µg/ml) の混合液 4ml を加え、よく攪拌する。(10% FCS は細胞の継代の際に添加し、通常人工痰作製の細胞培養には添加していない。) この培地 180-200ml を 150cm² もしくは 175cm² の培養フラスコに分注し、継代あるいは凍結保存した THP-1 細胞 1-2ml を加える。そのまま約 3-4 週間培養する。操作は無菌的に行う。細胞の増殖の様子を適宜顕微鏡で確認する。

抗酸菌 (BCG-Pasteur) の調製

Middlebrook 7H9 (Tween80 0.05%) 液体培地で約 2 週間培養した BCG-Pasteur の OD が 0.7 程度になったところで、Acrodisk filter (#4650: pore size 5.0 µm, Pall Corporation, Cornway, UK) で濾過して、単個菌を得る。濾過した菌液は氷上におき、単個菌が再び菌塊を形成するのを防ぐ。菌液をクライオチューブに 1ml ずつ分注して凍結保存しておく。また、同時に 1% 小川培地に接種し、CFU をカウントする。このカウント数が 5×10^7 CFU/ml より少ない場合は、以降の実験に使えないので、再度液体培地から作り直す。

人工痰調製

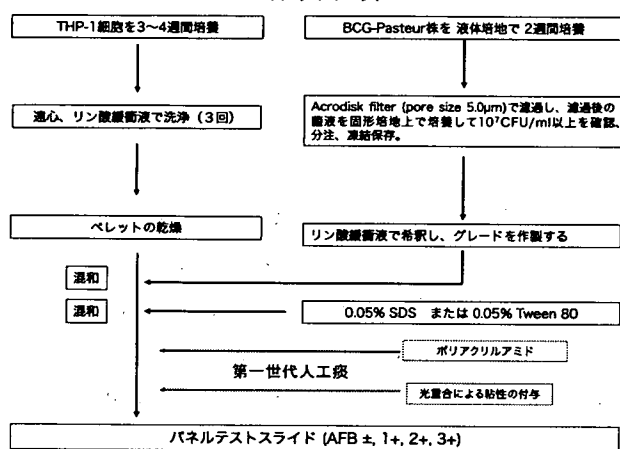
約 3 週間培養した THP-1 細胞を 50ml のポリプロピレンの遠心管に移し、1000rpm で 10 分遠心して上清を捨て、pore size 0.2µm の Millipore Millex filter で濾過したリン酸緩衝液で 3 回洗浄する。この時フラスコ 1 個分の細胞を 1 つの遠心管に集める。洗浄後、上清を捨て、遠心管の口を下にしてペーパータオル上に傾斜させ、安全キャビネット内でファンを作動させて 10-15 分乾燥させる。水分が多く残っていると、最後の混合が正常に行かなくなることがあるので、十分乾燥させる。

ここに調製した BCG-Pasteur 菌液 ($>5 \times 10^7$ CFU/ml 以上) を 200-500µl と 0.05% SDS (10% SDS 溶液を希釈して作製) を等量加えよく攪拌する。フラスコ 1 個分の細胞で約 50 枚の塗抹スライドが作製可能である。規模を大きくする場合は細胞の量にあわせて菌液とゲルの量を増やして混合する。

上記の方法でできる人工痰は、塗抹検体を作製した際陽性度 3+ となる。2+ 以下のスメアを作製する場合は、BCG-Pasteur の菌液を細胞、基質と混合する前に 10 倍希釈系

列で、濾過したリン酸緩衝液で希釈しておく。即ち、2+は 5×10^6 CFU/ml 相当、1+は 5×10^5 CFU/ml 相当、±は 5×10^4 CFU/ml 相当の菌液を作製して 0.05% SDS 混合する。同様に 0.05% Tween80 を用いた人工痰も作製した。作製した人工痰について、外観および粘性を観察した。図 2 にポリアクリルアミドを基質とした場合と比較した人工痰の作製手順を示した。

図 2 人工痰作製手順



第二世代人工痰による塗抹・培養

上記の方法で作製した人工痰を 1 エーゼとり、通常の方法でスライド上に塗抹標本作製した。これを通常のチール・ネールゼン染色にて染色し、光学顕微鏡下で観察した。また、NALC-NaOH (2%)水溶液にて結核菌検査指針 2007 に従って消化・均質化を試みた。NALC-NaOH 処理した検体は BACTEC MGIT 960、小川培地及び Middlebrook 7H9 にて通常の方法による培養を実施し、陽性までの日数を計測した。

3. 薬剤耐性状況定点観測

【目的】

日本では結核菌耐性サーベイランスシステムが存在しないため、適時的な耐性情報管理・提供が困難である。そこで、日本国

内で結核患者の診療を行っている主な病院施設を対象として、定点観測的に耐性結核菌情報を集約することを検討する。個々の病院における結核菌の耐性状況を地域ごとにまとめることにより、最終的に日本全体を代表するサーベイランス情報とすることが可能かどうか検証することを目的とする。

【方法】

日本の耐性結核サーベイとしては、結核療法研究協議会（療研）による調査が代表的であり、2002 年度の調査でもその精度が示されている。病院施設の耐性状況を定点観測する場合、サンプリングする施設数が少ないため、それらを統合した情報が真に全国を代表するか否かを検討する必要がある。療研では 2007 年 8 月から 13 回目の全国調査を開始しており、そこから得られるデータと定点観測データの違いを比較することで、定点観測データの精度を評価する。

日本全体を 7 ブロック（北海道、東北、関東、中部北陸、近畿、中国四国、九州）に分けて、それぞれ主要な結核診療施設 4～6 施設を対象とする。集計はブロックごとにまとめることとし、個々の施設については特定しない。施設名も公表しない。2007 年度の療研データがまとまった時点で、相互にデータの比較を行う。

データの対象は、療研調査との整合性を考慮して、基本的に 2007 年 8 月 1 日以降からの現在までに確定している感受性結果とする。個々の施設での集計システムの違いを考慮して、前後 3 ヶ月程度の対象期間のずれは許容する。

上記調査期間に分離され、既に確定している結核菌感受性検査結果のみを調査する。INH、RFP、SM、EB の各薬剤に対して、他の薬剤の耐性を考慮しない耐性（何らかの

耐性)と、各薬剤のみの耐性(単剤耐性)、およびイソニアジド・リファンピシンの両方に対する耐性(多剤耐性)について、基本的に初回治療患者と既治療患者に分けて調査する。データ上で既治療と初回治療が分けられていない場合には、全てをまとめたデータのみでも可能とする。

C. 研究結果

【抗結核薬感受性検査外部精度評価】

2007年度は、結核病学会のインターネットホームページ、結核病学会雑誌にて外部精度評価パネルテストへの参加を呼びかけた。また2002年度に実施した抗酸菌検査に関するアンケート調査を元にした抗酸菌検査実施283施設にも案内状を送付した。結果として、検査センター30施設、病院検査室75施設からの参加を得た。平成20年2月末日現在で4施設が未回答であり、101施設(検査センター29、病院検査室72)からの結果を得ている。(回収率96.1%)

今回は耐性既知の5株の結核菌を各施設に配布した。昨年度10株の結核菌を使用したが一昨年同様に一度に10株の薬剤感受性研を実施するのは、コストやインキュベーターの容量から困難とする施設が多かったため、参加施設数の増加と実践性の評価をあわせて被験菌数を5株まで減じた。結核菌パネルの構成と感受性パターンは表1の通りである。

表1 2006年度薬剤感受性検査パネルテスト構成

R: Resistant S: Susceptible

Strain ID	INH	RFP	SM	EB
IV-34	R	S	S	R
X-106	R	S	R	R
VIII-892	S	S	R	S
X-1240	S	R	R	S
XI-1578	S	R	S	S

101施設に対して、全部で結核菌505株を送付したが、送付先で発育しなかった株は認められなかった。

各施設での検査法をみると、比率法を採用しているのが87施設(86.1%)、最小発育阻止濃度(Minimum Inhibitory Concentration: MIC)を採用しているのが14施設(13.9%)であり、それ以外の方法を採用している施設はなかった。具体的には、ビットスペクトルSRが38施設(37.6%)、ウエルパックSが36施設(35.6%)、BACTEC MGIT 960によるMGIT ASTが11施設(10.9%)、プロスミックMTB-Iが13施設(12.9%)、1%小川培地が2施設(2.0%)、In-House MICが1施設(1.0%)で実施されていた。4施設で複数の方法を用いていたが、これらはプロスミックMTB-Iと1%小川培地の組み合わせが1施設、プロスミックMTB-Iと1%小川培地が1施設、プロスミックMTB-IとウエルパックSが1施設、MGIT ASTとウエルパックSが2施設であった。これらの施設については、精度評価は両方の検査法について行ったが、統計的な解析には使用頻度の高い方の結果を使用した。

菌液調製法には、固形培地で培養した結核菌を一旦液体培地にて増菌し、濃度を調整して接種する方法(65施設:64.4%)が最も多く用いられており、次に固形培地から集菌した結核菌を分散させて濃度調製して接種する方法(26施設:25.7%)が多かった。液体培地から直接接種している施設も10施設(9.9%)あり、これはMGIT ASTに対応していた。これらの比率は2006年度とほぼ同じであった。

各施設から送られた薬剤感受性検査を、標準結果と比較して解析した。表2(添付資料)は被験菌株・薬剤ごとの判定一致施設数を比率で示したものである。INH、RFP、

EB については全ての菌株で 80%以上の一致率を示したが、X-106 株について SM での一致率が 75.2%であり、やや低い値となった。

表 3 (添付資料) 参加施設全体の精度を薬剤別に示したものである。INH では感度平均が 99.5% (範囲 50-100) で、特異度平均、耐性・感受性的中率平均が 100%、一致率平均が 99.8% (80-100) であり、 κ 指数の平均は 0.996 であった。同様に RFP では感度平均が 97.5% (0-100) であったが、感度 0%の施設があった。特異度平均は 99.0% (66.7-100) であった。耐性的中率平均が 98.9% (66.7-100)、感受性的中率平均が 99.6% (60-100)、一致率平均が 98.4% (60-100) であり、 κ 指数の平均は 0.967 であった。SM では感度平均が 91.4% (66.7-100) で、特異度平均は 98.5% (50-100) であった。耐性的中率平均が 98.6% (57.1-100)、感受性的中率平均が 96.3% (81.8-100)、一致率平均が 94.3% (80-100) であり、 κ 指数の平均は 0.883 であった。EB では感度平均が 94.1% (50-100) で、特異度平均は 99.7% (66.7-100) であった。耐性的中率平均が 99.6% (66.7-100)、感受性的中率平均が 97.6% (75-100)、一致率平均が 97.4% (80-100) であり、 κ 指数の平均は 0.946 であった。 κ 指数から見ると、全ての薬剤で平均が 0.85 を越えており、ほぼ完全に標準結果と一致した判定となった。

表 4 (添付資料) に薬剤別の結果を方法毎に示した (in-house MIC の結果は 1 施設なので除外した)。In-house MIC 以外の方法では、INH についての精度 (感度、特異度、耐性・感受性的中率、一致率、 κ 指数) は 100%であった。RFP では、ブロスミック MTB-I でのみ 100%を下回る精度が認めら

れた。特に感度 0%の施設が 2 施設認められている。SM についてもブロスミック MTB-I の精度が平均として低く、 κ 指数平均が 0.639 となり、RFP とともに 0.8 を下回った。

表 5 (添付資料) には、各検査キットごとに分けた薬剤別の精度を示した。この表では、それぞれの評価因子について、90%あるいは 95%未満の施設の割合を示している。表 4 で示したように、INH の精度は全て 100%であり、従って全て 95%以上となった。これに対して、RFP とブロスミック MTB-I の組み合わせで感度・特異度 90%以下の施設が 3 施設 (0%2 施設、50%1 施設) 認められた。

表 6 (添付資料) には検査センター、病院検査室別の結果を示した。INH について 1 病院施設で 100%の精度を下回ったが、98.6% (71/72) で 100%の精度であった。SM 及び EB の評価因子についても、検査センターの方が精度が高い傾向があった (資料図 1)。また、INH 及び RFP に比べて SM 及び EB について精度のばらつきが大きい傾向があることは過去の研究と同じであった。

表 7 に地域ブロック別に分類した研究参加施設数と、INH 及び RFP の感度・特異度が 95%以上で、かつ全ての薬剤での一致率が 90%以上と言う基準 (SRLN での合格基準) を設定した際の基準充足施設数 (充足率) を示した。全体での基準達成率は 63.4%であった。

表7 ブロック別施設数と基準充足率

ブロック	施設数	基準充足 施設	充足率 (%)
北海道	7	5	71.4
東北	6	1	16.7
関東	34	24	70.6
中部北陸	16	11	68.8
近畿	21	12	57.1
中国四国	6	4	66.7
九州	11	7	63.6
計 (平均)	101	64	63.4

同様に、定点観測拠点を設定する観点から、表7から検査センター施設を除き、病院施設のみとした場合のデータを表8に示した。この場合の基準達成率は全体で56.9%となった。

表8 ブロック別施設数と基準充足率 (病院のみ)

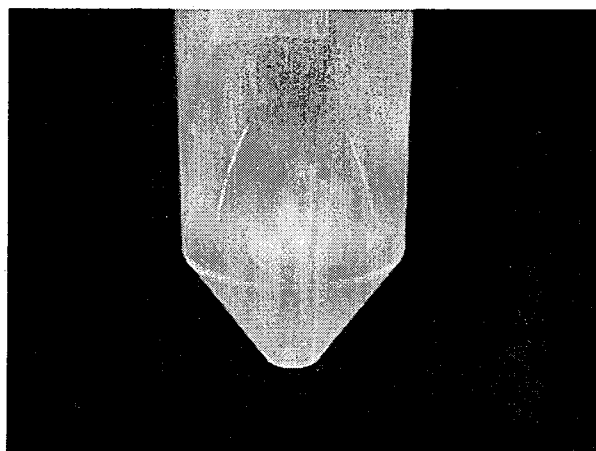
ブロック	施設数	基準充足 施設	充足率 (%)
北海道	5	3	60.0
東北	5	0	0.0
関東	24	19	79.2
中部北陸	13	9	69.2
近畿	13	4	30.8
中国四国	4	2	50.0
九州	8	4	50.0
計 (平均)	72	41	56.9

【抗酸菌培養・同定検査のための第二世代人工痰開発】

前述の方法により、ポリアクリルアミドを利用した第一世代人工痰とほぼ同等の外観を有する第二世代人工痰の作製に至った(図3)。

図4(添付資料)に示すように、第二世代人工痰を用いた塗抹標本は、通常の患者喀痰あるいは第一世代人工痰での標本とほぼ同等であり、チール・ネールゼン染色でもBCGの明確な抗酸性が確保されていた。これはSDSあるいはTween80のいずれでも同じであった。

図3 第二世代人工痰外観

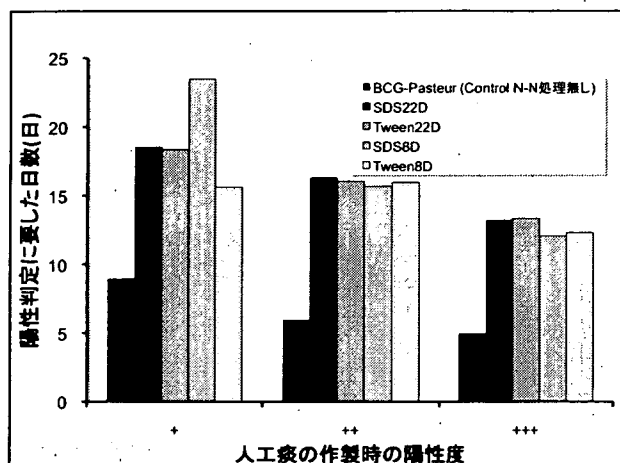


人工痰を等量のNALC-NaOHと混合し、ボルテックスミキサーで約20秒間攪拌したところ、検体はほぼ完全に溶解・均質化した。

均質化した検体を冷蔵(4℃)し、8日あるいは22日間保存した後で、通常の方法でMGIT(0.5ml)及び小川培地、Middlebrook7H11培地(0.1ml)へ接種し、MGIT960及び37℃のインキュベーターにて培養したところ、MGIT960にて図5のように培養陽性を確認した。基質と混合しない場合の同一陽性度のBCG検体に比べると、人工痰基質との混合物では発育が有意

に遅れていた。また、Middlebrook7H11 培地では発育を認めたが、小川培地上には BCG の発育を認めなかった。

図 5 第二世代人工痰の塗抹陽性度と MGIT での培養陽性判定日数



SDS/Tween80 8D: 調製 8 日後の人工痰
SDS/Tween80 22D: 調製 22 日後の人工痰

【薬剤耐性状況定点観測】

全国を 7 ブロックに分け、計 45 施設（北海道 5 施設、東北 4 施設、関東 8 施設、中部北陸 7 施設、近畿 6 施設、中国四国 6 施設、九州 8 施設）に対して耐性結核菌に関するアンケート調査を実施した。最終的に 23 施設（回収率 51.1%）から回答を得た。12 施設については未治療と既治療耐性を分けて集計していたが、その他の 12 施設については既治療・未治療を分類せず Combined として集計していた。表 9 と表 10（添付資料）に未治療耐性と既治療耐性（12 施設）を示した。同様に表 11（添付資料）に全体としての耐性状況を示した。

D. 考察

【薬剤感受性検査の外部精度評価】

2006 年度に引き続き、結核菌薬剤感受性

検査の外部精度保証活動を継続実施した。今回 2007 年度は参加施設数の増加を期待し、これまでの外部精度評価で指摘されていた検査コストの軽減をはかって検体数を 10 株から 5 株に削減した。また、インターネットや学会誌にても参加を呼びかけたが、参加施設数は 2006 年度の 99 施設から 105 施設に増加したのみで、増加率はわずか 6.1%に過ぎず、参加施設数の増加効果はほとんどなかった。

検査精度を各薬剤別にみると、INH の精度がほとんどの施設で 100%となり、1 施設のみ（1.0%）感度あるいは特異度が 95%を下回ることとなった。2004 年から 2006 年までの精度では 1-2%の施設で感度あるいは特異度が 95%以下となっていた。RFP については、今回 6 施設（5.9%）で感度あるいは特異度が 95%を下回った。2004-2006 年までの精度では 4.2-21.2%の施設で感度あるいは特異度が 95%以下となっていた。これらことから、感度及び特異度 95%以上の基準による精度保証基準を用いると、RFP でやや検出力が低下する傾向があるように思われた。また、今回 RFP で精度 100%以下であったのは全てプロスミック MTB-I（MIC）による感受性検査を行った施設であったが、RFP の施設間での判定一致率が高率であったことから考えると、これは元々 MIC による感受性検査で判定保留が発生することによる解釈上の問題ではなく、検査実施上の技術的な問題と思われた。また、これまで常にビットスペクトル SR やウエルパック S でも基準に達しない施設が検出されていたことを考えると、RFP での不良精度検出力が低下している可能性を考慮する必要がある。

一致率についてみると、INH、RFP、SM 及び EB について、90%を下回る施設数は今

回 1 (1.0%)、6 (5.9%)、29 (28.7%)及び 13 (12.9%)となった。これは 2004～2006 年までの平均値である各 1.0% (0-2.1)、2.2% (1.5-5.2)、17.9% (15.2-22.9)及び 8.7% (0-21.9)と比較して、SM について大きく偏位している様に思われた。

SRLN による精度基準である「INH 及び RFP の感度・特異度 95%以上、INH、RFP、SM 及び EB の一致率 90%以上」という基準を適用すると、今回の合格率は 63.4%となる。これは 2006 年の 56.3%、2005 年の 65.2%、2004 年の 66.7%と比較してほぼ同じである。このようにして考えると、最低精度の検出法としては、パネル構成は 5 株でも良いように考えられる。しかし、本来 5%の危険率で精度を評価しようとする場合、薬剤感受性検査パネルテストに使用する結核菌株は 59 株以上なければならない。これを実践性と経済性の観点から減数した結果が現状のパネルテストであり、SRLN の毎年の精度保証でも 30 株しか実施していない。しかも多剤耐性結核菌を含まない（事実上輸送できない）ことが最初から明確化されているので、INH と RFP のどちらかが耐性であれば他方は必ず感受性であり、検査結果に関する情報が最初から含まれていることから無作為とは言いがたく、今回の INH/RFP のパネルテストとしては信頼性が低いと考えられる。これは精度評価上の重大な瑕疵である。また被験菌数の削減が参加施設数の増加に結びついていないことから、精度の検出力を考慮した場合 10 株程度の被験菌数は必要ではないかと考えられた。

さらに INH と RFP の感度・特異度の基準を 95%とした場合、1 株の価値を 5%以下とするためには少なくとも耐性菌（あるいは感受性菌）の菌数を 20 株以上にしなければならない（総数 40 株以上）。日常のワーク

ロードの中でパネルテストを実施するためには 30 株以上の設定は非現実的である。従って、INH と RFP については 1 株の間違っても許容されないことになり、これは 40 株未満のどの株数を採用しても同じである。それならば、一致率に関してそれぞれの薬剤で 1 株の間違いは許容可能な 10 株を適性数として採用すべきと考える。結果として、適正な精度基準として、日本においても INH 及び RFP の感度・特異度 95% (90%でも可)、かつ全ての薬剤での一致率 90%以上を 10 株以上の被験菌数で採用すべきと考える。

【抗酸菌培養・同定検査のための第二世代人工痰開発】

抗酸菌培養あるいは同定検査の外部精度評価はあまり実施されていないが、米国などではブタのムチンを基質として使用し、適切な抗酸菌を混入することでパネルテスト検体としている。しかしながら、この方法では結果陰性の保証や検体間の均質性が確保できない。ポリアクリルアミドを利用した人工痰（第一世代）ではこれらの問題を解決したが、NALC-NaOH にて均質化できないうえ、生菌保持能力がないため培養検査には適用できなかった。第一世代の欠点を補うため、NALC-NaOH にて消化・均質化可能で抗酸菌を生菌のまま保持する人工痰（第二世代）の開発を行った。今回、適切な濃度の界面活性剤を使用することで、第一世代人工痰で達成した外観や粘性についてはほぼ同じレベルで再現可能となった。また、当初の目標であった NALC-NaOH による消化・均質化も可能となった。抗酸菌（BCG）を生きたまま約 3 週間冷蔵保存することも可能であったが、培養による生菌の回収に通常よりも長い時間がかかり（統

計的有意差については検体量が少なく今回検討していない)、8日目と22日目で陽性化までの時間に大差なかったことから、人工痰を調製した時点で菌の活性が低下したものと考えられた。今後生菌の活性に影響を与えない適切な界面活性剤とその濃度を設定する必要がある。また結果には示さなかったが、既に別種の添加剤を用いた人工痰で核酸増幅法(PCR)でもBCGの検出が可能であることを確認している(内部データ)。

尚、これまで製造コストが高いことが人工痰作製の際のひとつの問題となっていた(スライド1枚で約1.5米ドル)が、これは主に基質の一部として用いるTHP-1細胞の培養にかかる費用が高いことが問題であった。本年度は第二世代人工痰開発とともにTHP-1培養法にも改良を加え、製造コストを約1/3にまで削減した(スライド一枚あたりおよそ0.5米ドル)。これにより、途上国での検査精度保証にも利用可能になるものと思われた。

今回の結果は、第二世代人工痰が培養検査や核酸増幅法の外部精度評価にも使用可能であることを示していると思われた。

【薬剤耐性状況定点観測】

結核菌を収集する方法での耐性調査(耐性菌サーベイ)を代替する方法として、主要な病院施設での検査データを直接利用する定点観測調査を、アンケート形式で実施した。全国12施設から集められた未治療耐性データを評価すると、INH、RFP、SM及びEBに対する耐性率は、それぞれ4%、0.5%、4.6%及び0.7%であり、多剤耐性結核の比率は0.5%となっていた。これは2002年度の結核療法研究協議会(療研)のデータ(INH: 2.8%, RFP: 1.0%, SM: 7.0%, EB: 0.9%)とほぼ同等の値であった。

既治療患者ではINH、RFP、SM及びEBに対する耐性率は、それぞれ32.1%、19.2%、26.9%及び17.9%であり、多剤耐性結核の比率は12.8%となっていた。これは2002年度の療研データ(INH: 18.9%, RFP: 11.0%, SM: 14.4%, EB: 8.4%)に比べて高く、1997年度の療研データ(INH: 33.0%, RFP: 21.6%, SM: 24.2%, EB: 15.2%)に近い値であった。

未治療・既治療を分けずに評価したデータ(combined)は計24施設から得られたが、INH、RFP、SM及びEBに対する耐性率は、それぞれ6.0%、1.6%、6.8%及び2.5%となり、多剤耐性結核は1.5%であった。2002年度の療研データ(INH: 5.0%, RFP: 2.4%, SM: 7.9%, EB: 1.9%, MDR: 1.9%)とほぼ同等であった。

今回のアンケート調査による未治療耐性及び総合耐性の結果と2002年度の療研調査の比較から考えると、定点観測による耐性調査でも全国の耐性状況を知りうる可能性があるものと思われた。しかし、既治療耐性で2002年度の療研データよりも高い耐性率が示されており、予想に反した結果であった。1997年度と2002年度の療研耐性率調査の結果比較でも示されているように、DOTS下に適切な治療が実施されれば、基本的にはそれぞれの薬剤の耐性率は特に既治療耐性で改善することが期待される。2002年から5年以上が経過していることから、今回も同様の傾向があるものと予想されている。最終的には2007年度の療研調査との比較によって精度を評価することになるが、今回の結果解釈には注意が必要と考えられた。

今回のアンケート調査ではおよそ半数の施設が未治療と既治療耐性と分類していなかった。耐性調査結果を結核対策に反映させるためには、少なくとも未治療・既治療

の分類による薬剤耐性率が必要である。定点観測方式をサーベイランスシステムとして利用するのであれば、データ管理システム（ソフトウェア）から統一する必要があると考えられる。

E. 結論

結核菌の薬剤耐性サーベイランスシステムを確立するために必要と思われる定点観測法の評価と、その精度保証上必要と思われる技術的背景の確立に関する研究を実施した。

結核菌の薬剤耐性調査を定点観測として実施する場合には、それぞれのデータソース（病院検査室）の検査精度を保証する必要があり、薬剤感受性検査パネルテストは有用な手段と思われた。精度の基準としては、SRLNでも採用している「INH及びRFPの感度・特異度95%（90%でも可）、かつ全ての薬剤での一致率90%以上」という基準を10株以上の被験菌数で実施すべきと考えられた。また、定点観測を実施する際には、データ管理システム（ソフトウェア）を統一し、少なくとも未治療と既治療の分類を実施可能にする必要がある。

薬剤耐性サーベイランスは培養及び同定検査技術にも依存しており、それらの精度を評価することも重要である。従来これらの外部精度評価は検体の準備が困難なことから実施されていなかったが、第二世代人工痰により実施の可能性が示唆された。

F. 健康危惧情報

本研究においては、薬剤感受性パネルテスト用の結核菌を準備する段階において、特に耐性菌を含む感染の危険がある。全ての結核菌の取り扱いにはバイオハザード指針に従ってBSL3レベルの実験室内でClass IIBの安全キャビネットを用いて実施した。

G. 研究発表

学会発表

1. 御手洗聡：日本における多剤耐性結核と超多剤耐性結核. 日本化学療法学会総会 仙台 2007年6月1日
2. 御手洗聡：わが国における抗酸菌検査の現状と精度保証 ワークショップII 抗酸菌検査法. 日本結核病学会総会 大阪 2007年6月5日
3. 大角晃弘, 高橋智恵子, 御手洗聡：抗酸菌情報の流れと抗酸菌検査、保存、輸送の状況に関する日本とイングランドの比較検討. 日本結核病学会総会 大阪 2007年6月5日
4. 山田博之, 御手洗聡, 松本宏子, 藤木明子：ポリアクリルアミド、培養細胞、培養抗酸菌を用いた人工痰の長期安定性. 日本結核病学会総会 大阪 2007年6月5日
5. 御手洗聡, 阿部千代治, 小林郁夫, 和田雅子, 鈴木克洋, 高嶋哲也, 川辺芳子, 尾形英雄：バクテックMGIT 960 結核菌薬剤感受性検査用ミジットシリーズ（MGIT AST）および小川標準法によるイソニアジド低濃度薬剤感受性検査の判定不一致に関する検討. 日本結核病学会総会 大阪 2007年6月5日
6. 阿部千代治, 小林郁夫, 御手洗聡, 和田雅子, 鈴木克洋, 高嶋哲也, 川辺芳子, 尾形英雄：BACTEC MGIT 960 ASTでイソニアジド耐性・小川法で感受性結核菌の性状. 日本結核病学会総会 大阪 2007年6月5日
7. 御手洗聡, 大友幸二, 山田博之：結核菌薬剤感受性検査外部精度評価；2003～2005年での実施経験について. 日本結核病学会総会 大阪 2007年6月5日

- 日
8. 御手洗聡. 日本における薬剤耐性結核の現状と課題. 第 28 回衛生微生物技術協議会研究会 岡山 2007 年 7 月 6 日
 9. Mitarai S, Otomo K, Yamada H, Mizuno K, Maeda S, Murase Y. Extensively Drug Resistant (XDR) tuberculosis in Japan. 38th World conference on IUATLD. Cape Town, South Africa 2007.
 10. Mitarai S. Minimum required quality assurance in TB culture; Issues involved in culture implementation. 38th World conference on IUATLD. Cape Town, South Africa 2007.
 11. Mitarai S (RYOKEN). Drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Japan: A nationwide survey, 2002. 12th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim. Haikou, China 2007

論文発表

1. 大友幸二, 水野和重, 御手洗聡, 和田雅子 (結核療法研究協議会): 結核療法研究協議会 2002 年度入院時結核菌薬剤感受性に関する研究: 検査精度の検討 結核 2007. 82. 155-164.
2. 御手洗聡, 小林郁夫, 阿部千代治, 和田雅子, 鈴木克洋, 高嶋哲也, 川辺芳子, 町田和子, 田野正夫, 瀧川修一, 鎌田有珠, 重藤えり子, 藤井俊司, 森健一, 須山尚史, 矢野修一, 川城丈夫, 尾形英雄: バクテック MGIT 960 結核菌薬剤感受性検査用ミジットシリーズ (MGIT AST) および小川標準法によるイソニアジド低濃度薬剤感受性

検査の判定不一致に関する検討. 結核 2007; 82: 449-454.

3. Tuberculosis Research Committee (RYOKEN). Drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Japan: A nationwide surveillance in 2002. Int J Tuber Lung Dis 2007; 11: 1129-1135.
4. Shishido Y, Mitarai S, Otomo K, Seki M, Sato A, Yano I, Koyama A and Hattori T. Anti-tuberculosis drug susceptibility testing of *Mycobacterium bovis* BCG Tokyo strain. Int J Tuber Lung Dis 2007; 11: 1334-1338.
5. 山田博之, 松本宏子, 御手洗聡, 藤木明子. ポリアクリルアミドを用いた人工痰の長期保存性と塗抹鏡検所見の再現性. 結核 2008; 83: 65-71.

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし。

<研究協力者>

山田博之
結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンスセンター細菌検査科
水野和重
結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンスセンター細菌検査科
大友幸二
結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンスセンター細菌検査科
角 泰人
結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンスセンター細菌検査

資料

表2 被験菌株に関する薬剤ごとの判定一致施設率

菌株	INH		RFP		SM		EB		
	ID	標準判定	一致率	標準判定	一致率	標準判定	一致率	標準判定	
IV-34	1	R	1.000	S	0.970	S	0.970	R	1.000
X-106	2	R	0.990	S	1.000	R	0.752	R	0.881
VIII-892	3	S	1.000	S	1.000	R	0.990	S	1.000
X-1240	4	S	1.000	R	0.980	R	1.000	S	1.000
XI-1578	5	S	1.000	R	0.970	S	1.000	S	0.990
JUD: Judicial Judgement (SRLNでの標準判定)									

表3 参加施設全体での薬剤別検査精度

	INH		RFP		SM		EB		
	平均値	最大値	最小値	平均値	最大値	最小値	平均値	最大値	
感度	0.995	1.000	0.500	0.975	1.000	0.000	0.914	1.000	0.667
特異度	1.000	1.000	1.000	0.990	1.000	0.667	0.985	1.000	0.500
耐性的中率	1.000	1.000	1.000	0.989	1.000	0.667	0.986	1.000	0.571
感受性的中率	1.000	1.000	0.750	0.996	1.000	0.600	0.963	1.000	0.818
一致率	0.998	1.000	0.800	0.984	1.000	0.600	0.943	1.000	0.800
K指数	0.996			0.967			0.883		0.946

表 4 検査方法及び薬剤別検査精度

指標	方法別成績(平均値・最小値・最大値)																		
	ビットスペクトルSR (n=37)			ウェルバックスS (n=35)			MGIT AST (n=13)			BrothMIC MTB-I (n=13)			1%小川培地 (n=2)			総計 (n=101)			
	Mean	最大値	最小値	Mean	最大値	最小値	Mean	最大値	最小値	Mean	最大値	最小値	Mean	最大値	最小値	Mean	最大値	最小値	
INH	感度	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.995	1.000	1.000	0.500
	特異度	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
	耐性的中率	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
	感受性的中率	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.750
	一致率	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.998	1.000	0.800
κ指数	1.000			1.000			1.000			1.000			1.000			0.996			
RFP	感度	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.975	1.000	1.000	0.000
	特異度	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.990	1.000	1.000	0.667
	耐性的中率	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.989	1.000	1.000	0.667
	感受性的中率	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.996	1.000	1.000	0.600
	一致率	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.984	1.000	1.000	0.600
κ指数	1.000			1.000			0.740			1.000			0.967						
SM	感度	0.901	1.000	0.667	1.000	1.000	0.923	1.000	0.667	0.718	1.000	0.667	1.000	1.000	1.000	0.914	1.000	1.000	0.667
	特異度	0.986	1.000	0.500	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.962	1.000	0.500	1.000	1.000	1.000	0.985	1.000	1.000	0.500
	耐性的中率	0.988	1.000	0.571	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.957	1.000	0.571	1.000	1.000	1.000	0.986	1.000	1.000	0.571
	感受性的中率	0.949	1.000	0.818	1.000	1.000	0.958	1.000	0.818	0.855	1.000	0.818	1.000	1.000	1.000	0.963	1.000	1.000	0.818
	一致率	0.935	1.000	0.800	1.000	1.000	0.954	1.000	0.800	0.815	1.000	0.800	1.000	1.000	1.000	-0.943	1.000	1.000	0.800
κ指数	0.868			0.988			0.906		0.639				1.000			0.883			
EB	感度	0.973	1.000	0.500	1.000	1.000	0.808	1.000	0.500	0.923	1.000	0.500	1.000	1.000	1.000	0.941	1.000	1.000	0.500
	特異度	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.990	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.997	1.000	1.000	0.667
	耐性的中率	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.990	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.996	1.000	1.000	0.667
	感受性的中率	0.993	1.000	0.750	1.000	1.000	0.986	1.000	0.750	0.975	1.000	0.750	1.000	1.000	1.000	0.976	1.000	1.000	0.750
	一致率	0.989	1.000	0.800	1.000	1.000	0.983	1.000	0.800	0.969	1.000	0.800	1.000	1.000	1.000	0.974	1.000	1.000	0.800
κ指数	0.977			0.964			0.834		0.935				1.000			0.946			

表 5 検査方法及び薬剤別検査精度・評価因子別精度評価

評価	ヒトへの体外SR (n=37)				OZELVIRYS (n=11)				MGIT AST (n=13)				BrodMIG-MTB (n=13)				1W小川検査法 (n=2)				総計 (n=101)							
	90%未満	90%未満	95%未満	95%未満	90%未満	90%未満	95%未満	95%未満	90%未満	90%未満	95%未満	95%未満	90%未満	90%未満	95%未満	95%未満	90%未満	90%未満	95%未満	95%未満	90%未満	90%未満	95%未満	95%未満				
INH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
強度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
剤性の中等	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
感受性の中等	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
一致率	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
一致率	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RFP	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
強度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
剤性の中等	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
感受性の中等	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
一致率	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
一致率	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SA	11	1	1	1	11	1	1	1	11	1	1	1	11	1	1	1	11	1	1	1	11	1	1	1	11	1	1	1
強度	0.287	0.027	0.027	0.027	0.287	0.027	0.027	0.027	0.287	0.027	0.027	0.027	0.287	0.027	0.027	0.027	0.287	0.027	0.027	0.027	0.287	0.027	0.027	0.027	0.287	0.027	0.027	0.027
剤性の中等	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027
感受性の中等	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027	0.027
一致率	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324
一致率	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324	0.324
EP	2	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0
強度	0.054	0.000	0.000	0.000	0.054	0.000	0.000	0.000	0.054	0.000	0.000	0.000	0.054	0.000	0.000	0.000	0.054	0.000	0.000	0.000	0.054	0.000	0.000	0.000	0.054	0.000	0.000	0.000
剤性の中等	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
感受性の中等	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
一致率	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054
一致率	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054

表 6 施設・薬剤別検査精度

指標	施設別薬剤感受性検査精度											
	病院検査室 (n=72)				検査センター (n=29)				総計 (n=101)			
	平均値	最大値	最小値		平均値	最大値	最小値		平均値	最大値	最小値	
INH												
感度	0.993	1.000	0.500		1.000	1.000	1.000		0.995	1.000	0.500	
特異度	1.000	1.000	1.000		1.000	1.000	1.000		1.000	1.000	1.000	
耐性の中率	1.000	1.000	1.000		1.000	1.000	1.000		1.000	1.000	1.000	
感受性的中率	1.000	1.000	0.750		1.000	1.000	1.000		1.000	1.000	0.750	
一致率	0.997	1.000	0.800		1.000	1.000	1.000		0.998	1.000	0.800	
κ指数	0.994	1.000	0.545		1.000	1.000	1.000		0.996	1.000	0.545	
RIF												
感度	0.965	1.000	0.000		1.000	1.000	1.000		0.975	1.000	0.000	
特異度	0.986	1.000	0.667		1.000	1.000	1.000		0.990	1.000	0.667	
耐性の中率	0.971	1.000	0.000		1.000	1.000	1.000		0.989	1.000	0.667	
感受性的中率	0.994	1.000	0.600		1.000	1.000	1.000		0.996	1.000	0.600	
一致率	0.978	1.000	0.600		1.000	1.000	1.000		0.984	1.000	0.600	
κ指数	0.954	1.000	0.000		1.000	1.000	1.000		0.967	1.000	0.000	
SM												
感度	0.903	1.000	0.667		0.943	1.000	0.667		0.914	1.000	0.667	
特異度	0.986	1.000	0.500		0.983	1.000	0.500		0.985	1.000	0.500	
耐性の中率	0.987	1.000	0.571		0.985	1.000	0.571		0.986	1.000	0.571	
感受性的中率	0.955	1.000	0.818		0.974	1.000	0.818		0.963	1.000	0.818	
一致率	0.936	1.000	0.800		0.959	1.000	0.800		0.943	1.000	0.800	
κ指数	0.870	1.000	0.545		0.915	1.000	0.545		0.883	1.000	0.545	
EB												
感度	0.931	1.000	0.500		0.966	1.000	0.500		0.941	1.000	0.500	
特異度	0.995	1.000	0.667		1.000	1.000	1.000		0.997	1.000	0.667	
耐性の中率	0.995	1.000	0.667		1.000	1.000	1.000		0.996	1.000	0.667	
感受性的中率	0.971	1.000	0.750		0.991	1.000	0.750		0.976	1.000	0.750	
一致率	0.969	1.000	0.800		0.986	1.000	0.800		0.974	1.000	0.800	
κ指数	0.936	1.000	0.545		0.971	1.000	0.545		0.946	1.000	0.545	

図4 NALC-NaOHにて均質化可能・抗酸菌の生菌保持が可能な第二世代人口痰

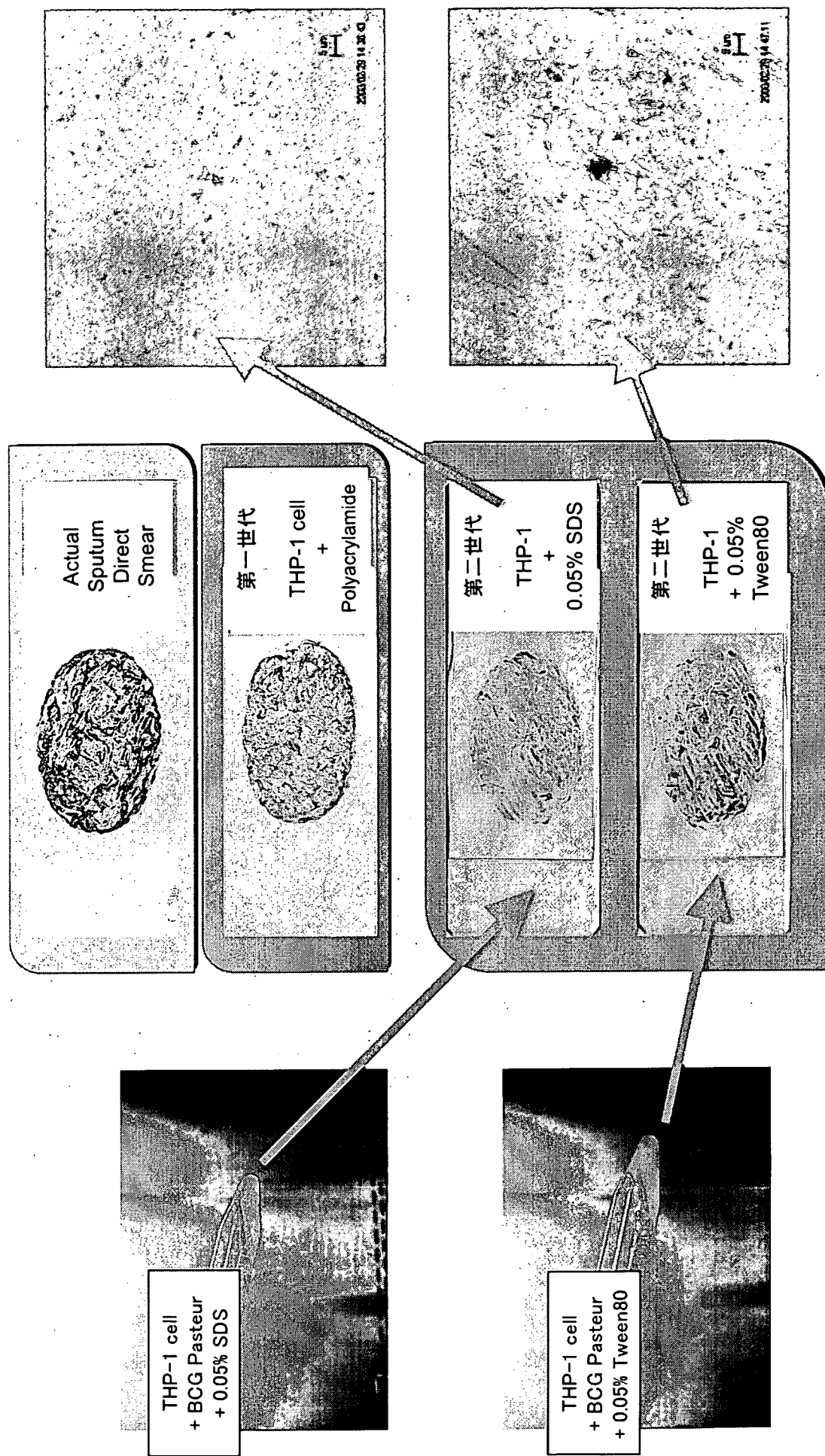


表9 未治療耐性 (12 施設/any resistance)

地域	施設数	株数	INH	RFP	SM	EB	MDR
北海道	1	23	0	0	0	0	0
東北	2	40	0	0	0.025	0	0
関東	1	140	0.064	0.007	0.05	0.014	0.007
中部北陸	2	67	0.029	0	0.044	0	0
近畿	2	171	0.052	0.011	0.058	0.011	0.012
中国四国	3	93	0.032	0	0.053	0	0
九州	1	48	0	0	0.021	0	0
総計	12	582	0.04	0.005	0.046	0.007	0.005

表10 既治療耐性 (12 施設/any resistance)

地域	施設数	株数	INH	RFP	SM	EB	MDR
北海道	1	1	1	0	0	0	0
東北	2	5	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
関東	1	27	0.222	0.111	0.185	0.037	0
中部北陸	2	6	0.5	0.5	0.5	0.667	0.5
近畿	2	20	0.35	0.25	0.3	0.15	0.2
中国四国	3	11	0.364	0.182	0.364	0.364	0.182
九州	1	8	0.375	0.125	0.25	0.125	0
総計	12	78	0.321	0.192	0.269	0.179	0.128

表11 全体での耐性状況 (既治療・未治療合計 24 施設/any resistance)

地域	施設数	株数	INH	RFP	SM	EB	MDR
北海道	1	24	0.042	0	0	0	0
東北	3	76	0.026	0.013	0.053	0.026	0.013
関東	5	734	0.065	0.012	0.067	0.025	0.01
中部北陸	3	211	0.052	0.019	0.09	0.024	0.019
近畿	2	191	0.084	0.037	0.084	0.026	0.031
中国四国	5	188	0.043	0.016	0.064	0.027	0.021
九州	4	219	0.055	0.014	0.05	0.027	0.014
総計	23	1643	0.06	0.016	0.068	0.025	0.015

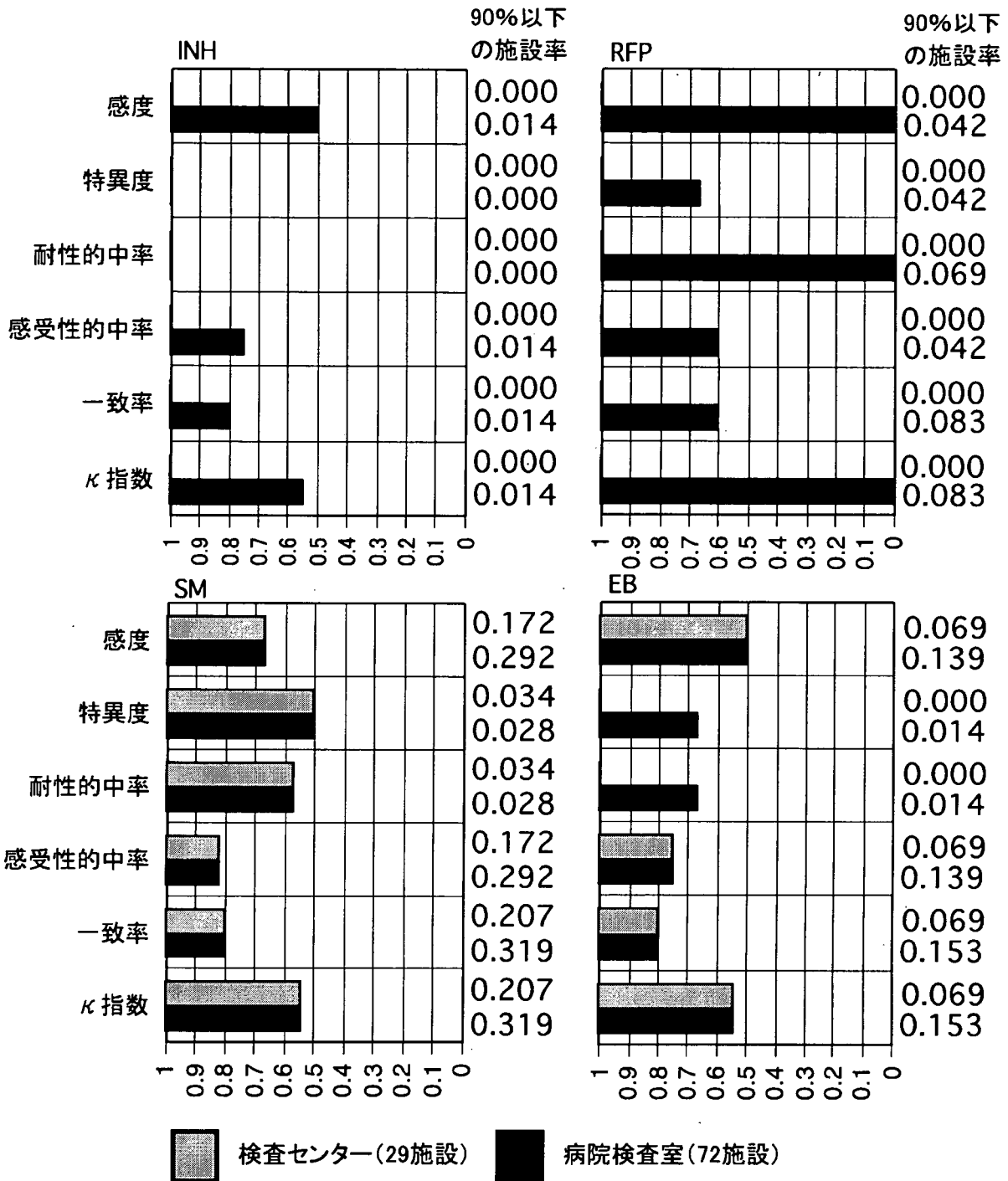


図1 検査方法及び薬剤別検査精度・評価因子別非達成施設割合

INHの精度については1施設で精度100%以下となった。RFPについて病院施設で精度が低いところが認められた。SMとEBについては、精度はほぼ同等と思われたが、指標値90%を下回る施設が病院で多く認められる傾向があった。