

第一部と第二部の総合結論

これらの結果から DOTS は全ての患者あるいは DOTS に関わった全ての保健師をエンパワーする、と結論することは不可能であり、また、そうすることが本研究の目指すところでもない。しかし 18 名の元患者と 10 名の保健師及び DOTS ナースの体験を垣間見ても、DOTS が彼らの人生に何らかの変化をもたらしていたことは明白である。患者に関してはもちろん変化が顕著ではない者もいれば、結核治療はその後の人生になんの影響も与えなかった、と答えた者もいた。しかし DOTS が一人でも多くの患者の人生に影響を及ぼしているのであれば、その効果を記述し、DOTS のエンパワメント効果というプロセスの過程を分析することには意義がある。本研究の結果、患者は DOTS を受け入れ消化する、治療を継続し、終了させる、DOTS の経験を DOTS 終了後の生活に反映させる、の 3 段階を通ることでエンパワメントを体験していたことがわかった。また、それぞれの段階で介入することによって、人為的にエンパワメントを促進することが可能であることも示唆された。

保健師及び DOTS ナースに関しては、エンパワメント体験は協力者のエンパワメントに対する理解と姿勢によって違いが出ていたものの、患者と関することで何かしらの変化を体験していた者が殆どであった。今回の結果から保健師はこうであるべき、あるいはこういう姿勢を保つべき、と結論を出すことは本研究者の本意ではない。本来の目的はあくまで DOTS のエンパワメント効果を検証することであり、本研究においては患者のみならず、DOTS という枠内で患者に関った保健師や DOTS ナースも様々なエンパワメントを体験していたことが証明された、ということが言えるだけである。保健師活動において、対人関係から生じる影響はネガティブな力を持つものと、ポジティブな力を持つものと 2 種類あると考える。ネガティブな力、すなわちストレス、に着目した研究はこれまでも数多くされてきており、その対処方法などについても様々な検討がされてきた。しかしポジティブな力、すなわちエンパワメント、に焦点を当てた研究は少なく、本研究の意義はそこにあると考える。今回の結果をどのようにして保健師の強みを引き出すことに役立てるかには新たな研究課題となるであろう。

〈研究協力者〉

佐藤 和央： 新宿区保健所 健康部保健予防課保健相談係 保健師
小柳 淳： 新宿区保健所 健康部保健予防課保健相談係 保健師
櫻本（旧姓：田口）万紀子： 新宿区保健所 健康部保健予防課保健相談係 保健師
島 史子： 新宿区保健所 健康部保健予防課 課長
福内 恵子： 新宿区保健所 健康部保健予防課 課長
高尾 良子： 新宿区保健所 健康部保健予防課保健相談係 前係長

菌バンク機能の活用及び病原体サーベイランスの構築

研究分担者

御手洗 聡 （公財）結核予防会結核研究所 抗酸菌レファレンス部細菌検査科長

研究要旨

結核菌に関する病原体サーベイランスシステムを構築することを目的として、衛生検査所と地方衛生研究所のシステム構成上の可能性を検討し、併せてこれを集約する施設としての結核研究所結核菌検査・保管施設の有用性等を検討した。

結核菌検査・保管施設では2010年度に結核菌検査に関するレファレンス機能として、国内82施設・海外4施設（輸出150株・輸入200株）に対して薬剤感受性検査外部精度評価を実施した。また非結核性抗酸菌を含む同定・薬剤感受性検査等を42件実施した。さらに多剤他姓結核菌の細菌学的研究のために5株を国内研究機関に分与しており、結核菌のSpecimen Bankとしての有用性が示された。第14回目となる結核療法研究協議会（療研）全国耐性結核菌サーベイでも中心的役割を果たしており、病原体サーベイランス上の有用性が明確となった。

検査センターが日常業務で蓄積した結核菌とその薬剤感受性検査データをサーベイランスに利用する目的で、株式会社ミロクメディカルラボラトリー、株式会社ビー・エム・エル及び株式会社三菱化学メディエンスに協力を依頼し、10,815株分の薬剤感受性検査データを収集した。このデータから重複を除外して地域分布を補正し、最終的に2,700症例分の耐性情報を得ることが可能であった。これを前述の第14回療研調査のデータと比較したところ、ほぼ同じ結果が得られた。結核菌株に付随する臨床情報（年齢・性別）が不完全であり、未治療・既治療の区別もできないなどの欠点はあるものの、日本全国の精度保証に基づいた結核菌耐性状況を迅速に提供できる点でサーベイランス上の有用性があるものと考えられた。

兵庫県では結核対策の一環として、病原体サーベイランスを実施し、新登録患者等から分離される結核菌株を収集した。収集された菌株は、抗結核薬（INH, RFP, RBT, SM, EB, KM）及びFluoroquinolone（LVFX, CPMX）に対する薬剤感受性検査を行い、最小発育阻止濃度（MIC）を調べた。各薬剤のMIC幅（ $\mu\text{g/ml}$ ）は、INH；0.06～32以上、RFP；0.03以下～32以上、RBT；0.008以下～8以上、SM；0.5～128以上、EB；0.5～8、KM；0.25～32、LVFX；0.06～2、CPMX；0.125～4の範囲であった。

A. 研究目的

結核の低まん延化に伴う、都市化や社会的弱者への集中化等の疾病構造の変化に対応するため、従来の地域的対応を集約強化し、国家として結核菌の情報を迅速に管理し、対策に応用する必要がある。そのため、これまで地域毎に分散的に利用されていた結核菌情報を集約し、効果的病原体サーベイランスを実施する方法を検討する。

B. 研究方法

【結核研究所結核菌検査・保管施設の活用】

結核研究所にて2008年7月より運用を開始している結核菌検査・保管施設（菌バンク）について、この運用による有用性、効果的・効率的運用を検証する。

【病原体サーベイランスシステム】

【検査センターにおける薬剤感受性検査データ】

全国から結核菌検査を受託している民間衛生検査所（以降検査センター）である株式会社ミロクメディカルラボラトリー（ミロク）、三菱化学メディエンス株式会社（三菱化学）、及び株式会社ビー・エム・エル（BML）における薬剤感受性検査データを収集し、同時に遺伝子タイピング等の情報を集約するシステムを検討する。なお、薬剤感受性データは基本的に Isoniazid (INH)、Rifampicin (RFP)、Streptomycin (SM) 及び Ethambutol (EB) について収集することとするが、検査センターが使用する薬剤感受性キットによっては最初から二次抗結核薬が含まれており、そのため一部の検体については Ethionamide (ETH)、Kanamycin (KM)、Enviomycin (EVM)、Para-aminosalicylate (PAS)、Cycloserine (CS) 及び Levofloxacin (LVFX) のデータの解析も実施する。

[地方衛生研究所のネットワーク]

兵庫県における結核罹患率は全国と同様に年々低下傾向にある。結核研究所によると、全国の罹患率が 10 以下となり、低まん延国の仲間入りをするのは 2020 年頃と予測されている。そして、この低まん延化に対応した病原体サーベイランスシステムの構築は、今後の結核対策上重要性をもつとされる。本研究は、結核研究所において実施される結核菌病原体発生動向調査（結核菌病原体サーベイランス）システムの構築に関する研究に協力して、兵庫県において結核菌病原体サーベイランスシステムを構築して、新登録患者から分離される菌株を収集・保管するとともに、結核研究所が実施する薬剤感受性調査において、兵庫県内の試験・調査を分担した。

1. 結核病原体サーベイランス

1) 病原体サーベイランスシステムの検討

兵庫県立健康環境科学研究所で実施している病原体サーベイランス実施要綱に基づき、資料4-図1に示す結核病原体サーベイランスシステムの導入について検討した。また、病原体サーベイランスに係る関係機関の役割について整理した。

2) 病原体サーベイランスの実施

兵庫県における 2009 年の結核罹患率は 21.9 で、年間の新登録患者数は約 1,200 名である。また、

これらの患者の約半数から菌が分離されている。新登録患者から分離される結核菌の約 2 割程度の株の収集、および薬剤感受性検査を目標に、県内の結核病床を有する第二種感染症指定医療機関のうち 2 機関に要請し、以下の方法で結核病原体サーベイランスを実施した。

① 行政依頼型サーベイランス

定点として 1 箇所の健康福祉事務所（保健所）が患者を管理している医療機関を選定した。菌株は医療機関から健康福祉事務所を経由して搬送され、健康福祉事務所は研究所に行政検査依頼を行った（資料4-図2）。

② 研究主導型サーベイランス

定点として複数の健康福祉事務所が患者を管理している医療機関を選定した。研究所は、医療機関に直接、分与の依頼を行い、菌株は民間の検査機関から研究所に搬送された（資料4-図3）。

2. 薬剤感受性検査

上記のサーベイランスにおいて、2010 年（2010 年 1 月から 2010 年 10 月）に、健康福祉事務所が収集した 32 株、及び研究所が収集した 159 株の計 191 株を試験の対象にした。そのうち 112 株について、薬剤感受性検査を実施した。使用薬剤は INH、RFP、Rifabutin (RBT)、SM、EB、KM、LVFX、Ciprofloxacin (CPFX) であり、BrothMIC MTB-I（極東製薬工業）により、最小発育阻止濃度（MIC）を測定した。

（倫理面への配慮）

結核菌サーベイランス研究に関しては、基本的に患者から分離された結核菌株のみを対象とする。また臨床情報については年齢、性別、分離地域のみを付随させ、個人を特定しうる情報との連結を不可能とする。個人情報との連結が不可欠な場合は、各研究機関での倫理委員会の承認を得た上で対象者に十分な説明を行い、インフォームドコンセントを得ることとする。

C. 研究結果

【結核研究所結核菌検査・保管施設の活用】

2010 年度には国内および海外から多剤耐性結核菌を含む抗酸菌（結核菌）が、合計 1,903 株が菌バンクに持ち込まれた。これは 2009 年の 1,084

株を上回る保存数であった。同時に 975 株を増菌して国内外の他の施設に送付した（表 1）。

表 1 菌バンク入出抗酸菌

利用目的	病原体分類	株数
詳細検査	四種・その他	42
長期保存	四種	1,578
	三種	53
検査精度保証（国内）	四種	820
検査精度保証（輸入）	四種	30
国際協力（輸出）	三種・四種	150
国際協力（輸入）	三種・四種	200
研究目的（国内）	三種	5

今年度は、長期保存を目的とした多剤耐性結核菌株の譲渡が 3 施設から合計 53 株実施された。また、病院等で検査が困難であった抗酸菌の詳細な検査（薬剤感受性検査及び菌種同定）を目的として菌バンクに送付された株は 42 株（件）であった。さらに研究目的にて菌バンクに保存されている多剤耐性結核菌 5 株を国内の研究機関 1 施設に分与した。

最も大規模に菌バンク保存結核菌株を使用したのは薬剤感受性検査外部精度評価（パネルテスト）であった。全国の結核菌薬剤感受性検査を実施している施設に対する精度保証活動であり、耐性既知の結核菌を送付して感受性検査に関するパネルテストを実施した（プロトコールは資料 1 を参照）。2010 年度は、結核病学会のインターネットホームページと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。結果として、計 82 施設（検査センター 24 施設、病院検査室 57 施設、地方衛生研究所 1 施設）の参加を得た。

今回は耐性既知の 10 株の結核菌を各施設に配布した。結核菌パネルの構成と感受性検査結果（標準判定および各菌株の最小発育阻止濃度）は資料 2-1 の通りである。82 施設に対して全部で結核菌 820 株を送付したが、1 施設について複数の株が発育不良であり、再送付を行った。その他の検査室では発育不良菌は報告されていない。また今回使用した結核菌 10 株の INH、RFP、SM、EB、LVFX に関するパネル内耐性率は、それぞれ 40%、40%、50%、30%、20%であった。

各施設から送られた薬剤感受性検査結果を、標準判定と比較して解析した。資料 2-2 は被験菌株・薬剤ごとの標準判定一致施設数を比率で示したものである。INH、RFP、SM、EB については 82 施設、LVFX のみ 72 施設（87.8%）でのデータである。今回、検査対象とした各結核菌について、検査を行った全ての薬剤で 90%以上の施設間判定一致率を示した。

資料 2-3 に参加施設全体の検査精度（感度、特異度、耐性適中率、感受性的中率、一致率、kappa 指数）を薬剤別に最大値、最小値、平均値で示した。平均値としての INH、RFP 及び SM の感度・特異度・判定一致率は 95%を超えており、EB についても各平均は 90%を超えていた。しかしながら、精度の低い施設も存在し、INH と RFP の感度・特異度の最小値は 75.0%および 83.3%であり、一致率の最小値はそれぞれ 80.0%と 90.0%であった。特に EB では感度の最小値が 0%であり、特異度の最小値も 28.6%であった（資料 2-3a）。資料 2-3b には同様に LVFX の検査精度を示した。感度及び特異度の最大値は 100%であり、最小値はそれぞれ 50%及び 62.5%であった。同様に一致率の最大値と最小値はそれぞれ 100%と 60%であった。感度、特異度、一致率の平均値は全て 95%以上であった。

LVFX を除く全ての薬剤について一致率が 100%であったのは 56 施設であり、全体の 68.3%に相当した。また、INH と RFP について感度・特異度がともに 95%以上であり、さらに INH、RFP、SM 及び EB について一致率が 90%以上であった検査室は 69 施設あり、全体の 84.2%に相当した。

【病原体サーベイランスシステム】

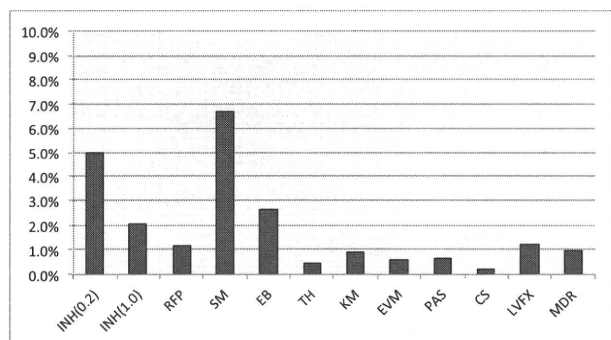
〔検査センターにおける薬剤感受性検査データ〕

2010 年にミロクメディカルラボラトリー、三菱化学メディエンス及びビー・エム・エルにて一般依頼検査として実施された結核菌の薬剤感受性検査結果について、それぞれ 1,503 株、1,421 株及び 7,891 株分のデータの供与を受け、検体総数は 10,815 となった。しかしながら、検体番号等から同一患者の検体が複数含まれている可能性が示されたため、昨年度同様に患者の年齢、性別、分離地域、分離時期を参照して重複を削除した。それにより最終的な検体総数は 4,628 となった。

4,628 株の感受性検査データは、4,628 人分の結核患者に相当すると考えられ、男性 2,703 名 (58.4%)、女性 1,360 名 (29.4%)、性別不明が 565 名 (12.2%) であった。平均年齢は 67.2±19.4 歳 (不明 898 名：19.4%) であった。

図 1 に重複削除データに基づく薬剤別耐性率 (Combined: 治療歴の情報がないため未治療と既治療耐性をあわせた耐性) を示した。また全ての患者検体について全ての薬剤を検討している訳ではないので、資料 3-1 に各薬剤の詳しいデータ数を示した。主な薬剤として、INH の耐性率は 5.0%であり、RFP は 1.1%であった。また、SM と EB の耐性率はそれぞれ 6.7%及び 2.6%であった。

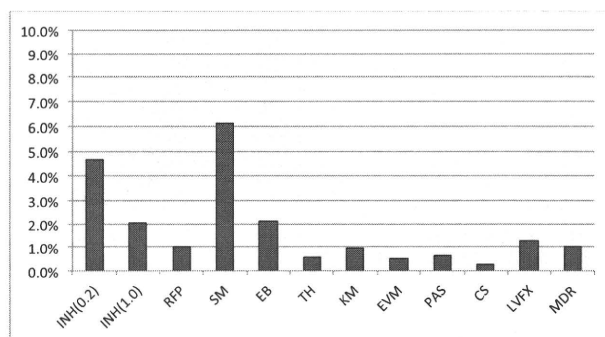
図 1 検査センター3社から提供された薬剤感受性検査データに基づく薬剤別結核菌薬剤耐性率



註：INH 0.2µg/ml と RFP, SM, EB については 4,628 名分のデータであるが、それ以外の薬剤については薬剤によって例数が異なる

4,628 症例 (菌株) の分布は地域的な偏りを持っているため、2009 年の結核患者登録数をもとに補正を行い、最終的に 2,700 症例について耐性率を算出した (図 2, 資料 3-2)。これによって、INH、RFP、SM 及び EB の耐性率はそれぞれ 4.7%、1.0%、6.1%及び 2.1%に低下した。

図 2 検査センター3社から提供された薬剤感受性検査データに基づく薬剤別結核菌薬剤耐性率 (地域差修正後)



註：INH 0.2µg/ml と RFP, SM, EB については 2,700 名分のデータであるが、それ以外の薬剤については薬剤によって例数が異なる

地域補正を行ったデータについて、第 14 回療研結核菌薬剤耐性全国調査 (2007 年) と比較したところ、基本的 Any resistance が有意に低い (p=0.004) 結果となったが、各薬剤について有意差は認められなかった。多剤耐性結核菌の比率は 0.8%となり、これは第 14 回療研調査の結果とほぼ一致した。

今回のデータについて、2009 年に同様の方法で収集・解析を行ったデータと比較を行ったところ、2010 年は全体として Any resistance が減少 (9.3% vs 13.2%) しており、薬剤別にみても INH (4.7% vs 6.9%: p=0.001)、SM (6.1% vs 7.6%) と有意に減少している。資料 3-3 に 2009 年と 2010 年の主要薬剤耐性の比較を示した。

[地方衛生研究所のネットワーク]

1 結核病原体サーベイランス

1) 病原体サーベイランスシステムの検討

結核病原体サーベイランスに係る関係機関の役割について検討した内容を資料 4-1 に示した。薬剤感受性検査を目的とした本システム (資料 4-図 1) の稼働について検討した結果、兵庫県の新規登録患者数が約 1,200 人である現状において、県全体で病原体サーベイランスを実施するには、収集の対象とする病原体数が多いなどの実施上の問題点があった (資料 4-2)。病原体サーベイランスの実施については、結核指定医療機関を限定して以下のサーベイランスを実施した。

2) 結核病原体サーベイランスの実施

① 行政依頼型

行政依頼型サーベイランスシステムは、資料 4-1 に示した関係機関の役割に基づいた菌株の収集が可能であった。このシステムによって収集された結核菌株は 32 株である。また、研究期間中、多剤耐性株は分離されなかったため、感染法上の 3 種病原体に関する輸送手続きは行わなかった。

② 研究主導型

研究主導型サーベイランスシステムでは、医療機関で未同定の抗酸菌株を、個人情報付与せずに収集した。収集された抗酸菌株は 159 株であった。そのなかで小川培地に発育し、結核菌と同定された 114 菌株について、以下の薬剤感受性検査の対象とした。

2 薬剤感受性検査

研究主導型サーベイランスによって収集され、結核菌と同定された 114 菌株のうち、マイコプロス（極東製薬工業）で良好な発育を示した 90 株、および行政依頼型サーベイランスによって収集された 32 株の合計 112 株について薬剤感受性検査を行った。その結果は資料 4-3 に示した。各薬剤に対する MIC 幅 ($\mu\text{g/ml}$) は、INH ; 0.06~32 以上、RFP ; 0.03 以下~32 以上、RBT ; 0.008 以下~8 以上 SM ; 0.5~128 以上、EB ; 0.5~8、KM ; 0.25~32、LVFX ; 0.06~2、CPFX ; 0.125~4 の範囲であった。MIC 値による薬剤感受性について、感受性 (S)、中間 (I)、耐性 (R) の 3 段階による判定の結果、耐性の頻度 R~R+I (%) は、INH ; 8.9~11.6、RFP ; 3.5~8.9、RBT ; 3.5~7.2、SM ; 9.8~13.4、EB ; 1.8~8.9、KM ; 1.8~4.5、Fluoroquinolon (LVFX, CPFX) ; 2.7 であり、SM および INH に対する耐性株の出現頻度が高かった。また、菌株の抗結核薬に対する耐性化の傾向を調べるため、各薬剤の MIC₅₀ と MIC₉₀ を調べた結果、SM の MIC₅₀ と MIC₉₀ は、それぞれ 1 $\mu\text{g/ml}$ および 16 $\mu\text{g/ml}$ であり、薬剤濃度に 16 倍の差がみられた。これは今回の調査においても、SM に対する耐性株の出現頻度が高いことが影響していると思われる。他の薬剤についてはいずれも 2~4 倍以内の濃度差であり、これらの薬剤に対しては耐性化の傾向はみられなかった。

D. 考察

結核研究所結核菌検査・保管施設の活用について、昨年同様に検討した。結核菌検査に関するレファレンス検査は National Reference Laboratory としての重要な機能であり、臨床的な意味が大きいものと考えられた。

2010 年度の抗結核薬感受性検査外部精度評価を実施し、結果の解析を行った。今回の対象薬剤は INH、RFP、SM、EB 及び LVFX であり、従来の 4 薬剤に加えてオプションとして LVFX を新たに追加した。これによって被験薬剤が 5 種類となったため、全ての薬剤についてパネル内の耐性率を 50%前後に設定する（的中率を適正化するため）ことは困難であった。特に LVFX の耐性菌含有率が 20%であったことは、耐性的中率 (Predictive value R) の低下に影響した可能性がある。パネルテストの構成に関して、今後も対象薬剤を増やす可能性があるが、SM や EB 耐性結核菌の多くは多剤耐性結核菌であるため、多剤耐性結核菌を使用せずに適正な比率でパネルを構成するのはほとんど不可能と考えられる。

今回パネルテストに使用した結核菌 10 株について、施設間での標準判定との一致率は全ての被験薬剤に関して 90%以上であり、過去の外部精度評価の結果と異なり高い一致率を示した。最小発育阻止濃度の分布についても特に従来と変わりはなく、菌株の選択基準も同じであることから、外部精度評価に参加している施設全体の検査精度が向上していることが一因として考えられた。

外部精度評価の結果は全体として高感度・高特異度を示していると考えられた。INH、RFP、SM 及び EB (HRSE) の平均感度及び特異度は 94.7%以上であり、SRLN による精度管理の合格基準 (INH と RFP について感度・特異度がともに 95%以上であり、さらに INH、RFP、SM 及び EB について一致率が 90%以上) を適用した場合の基準達成施設率は 84.2%であった。これは 2004~2009 年度の基準達成率が 54.1~75.6%であったことと比較して、有意差はないものの精度の改善を示していると思われる結果であった。今回新たに LVFX のパネルテストを実施したが、感度、特異度、一致率共に 95%以上であり、仮に一致率 90%以上を基準とすれば、69 施設 (95.8%) が基準を達成していることになり、平均的検査精度 INH や RFP と同等と考えられた。

薬剤別に評価すると、EB で特に精度の低い施設（感度 33%以下）が認められた。今回検査方法の報告を依頼しなかったため、どのような検査法が使用されたか不明であるが、検査過程の見直しを含めて適切な対処が必要と考えられた。

検査センターが日常業務として実施している薬剤感受性検査の結果を利用した薬剤耐性サーベイを評価した。検体数としての情報量は昨年（2009 年）よりも増加しており、さらに地域別の結核罹患患者数を考慮した補正後も 2,700 件（症例・菌株）分の情報を維持しており、これは 2007 年に実施した療研調査の検討数（2,292 症例）を上回るものであった。第 14 回の療研調査は 2007 年のデータであり、2010 年のデータとの比較では当所ある程度の統計的差異はあるものと考えられたが、何らかの耐性をもつ結核菌の頻度において有意な低下が認められた他は差異を認めなかった。耐性率の低下は 2002 年と 2007 年の療研調査の結果でも認められていることから、検査センターデータも一般的な耐性率の低下傾向を正確に反映していると考えられた。また、それぞれの薬剤別あるいは薬剤の組み合わせ別の解析でも、今回の検査センターから得られた耐性情報は日本の結核菌の耐性状況をほぼ正確に表しているものと考えられた。

この研究で情報提供依頼を行った検査センター 3 社は日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会が毎年実施している薬剤感受性検査外部精度評価に継続的に参加しており、検査精度の点でも信頼性が保証されている。この点からも、結核菌の耐性情報を迅速・正確に提供するという目的で検査センターからの感受性検査情報を集約解析することは有効であると考えられた。

日本の新登録結核患者は現在、年間 25,000 人程度で、罹患率 20 程度の中まん延状態とされている。結核罹患率の推移から、低まん延状態まで今後 10 年程度かかると見込まれている。また、低まん延状態時には、高齢者比率や、外国人患者の増加など、特定の高リスク集団への偏在、および既感染率の低下による集団感染の増加など、問題が複雑化することが予想されている。そのため、低まん延化への移行に対応した病原体サーベイランスシステムの開発は、結核対策上重要性をもつとされる。本研究は、兵庫県における結核菌病原体サ

ーベイランスシステムを構築するにあたり、現状での問題点についての検討を行った。その結果、県全体で結核病原体サーベイランスを実施するには、収集に係る株数や人員、および経費、また、そこから得られる成果の可否などの理由から薬剤感受性検査のみを目的とした場合、関係機関の協力が得にくいという結論に達した。今後、結核病原体サーベイランスの構築にあたっては、自治体に必要とされる患者の感染源の究明や接触者との株間の関連性の調査において、薬剤感受性検査のみならず、分子疫学解析も視野にいたしたシステムの構築が必要と思われた。

今回の研究において、薬剤感受性検査を目的とした結核菌病原体サーベイランスシステムの実施について、行政依頼型と研究主導型の両方法と比較した。

初発患者の感染源の究明及び接触者の把握などを目的とした、感染症法第 15 条による調査は、保健所等の行政機関に権限が付与されている。今回実施した研究主導型システムによる菌株収集においては、医療機関や医師が情報提供をする場合に、個人情報保護法に基づく個人情報利用制限の適用をうける。また、菌株解析において、個人情報が連結不可能匿名化されなければ、疫学研究に関する倫理指針（平成 14 年 6 月 17 日付文部科学省、厚生労働省通知）により、倫理委員会を設置して研究計画の内容等の審議が必要とされる。

一方、行政依頼型システムは、感染症法第 15 条の積極的疫学調査で実施されるため、医療機関や医師が情報提供をする場合、個人情報保護法に基づく個人情報利用制限の適用除外対象となっている。そのため、菌株解析に必要な患者の住所、年齢、患者間の接触の有無など、疫学情報が得られやすい。

今後、低まん延化への移行に対応した県の病原体サーベイランスの構築のためには、感染症法第 15 条に基づいた、初発患者の感染源の究明及び接触者の把握などを調査目的として、行政機関を中心としたシステムの稼働を図るべきである。しかし、病原体サーベイランスにおける菌株収集に当たって、現在、厚生労働省の通知が一番の根拠となっているが、通知に強制力がないため、予算・人員等の面でもサポートを受け難い。病原体サーベイランスの実施については、その目的や、行

政・検査機関・保健所・地研の役割を明確に示した「法令」または「通知」などの文書等の整備が必要である。また、患者は、県内の結核指定医療機関において、複数の健康福祉事務所によって管理されている場合が多く、行政機関を中心としたシステムの稼働における効率的な運用についても今後の検討が必要である。

さらに多剤耐性結核菌の輸送についても検討が必要である。多剤耐性結核菌は、結核対策上、そのまま延化防止のため、発生の監視が必要な病原体である。しかし、多剤耐性株は、厚生労働省の指定する3種病原体であるため、輸送に当たって公安委員会への届けが義務づけられるなど、感染症法によって輸送に規制を受ける。病原体サーベイランスによって多剤耐性株を収集し、患者の感染源の究明や接触者との株間の関連性の調査や、耐性遺伝子の研究等に使用するには、収集に関する費用や労力の面で自治体にとっては負担であり、その結果、病原体サーベイランスが十分に機能できず、貴重な菌株が廃棄される可能性がある。結核病原体サーベイランスの実施にあたっては、研究機関等において多剤耐性の確定診断を実施できるようにするなど、耐性確認のための検査ができるような方策や、輸送等の規程の簡易化など、病原体の収集がスムーズに行える方法の検討が必要と思われる。

兵庫県内分離株の薬剤感受性検査において、MIC値と薬剤耐性遺伝子の関連性を調査した。これまでの結果、多剤耐性4株を含むRFPの高度耐性株は、いずれも*rpoB*遺伝子にS531Lの変異がみられた。また、SM耐性株は*rpsL*遺伝子にK43RあるいはK88Rの変異がみられ、EB耐性株は*embB*遺伝子にM306LあるいはM306Iの変異がみられた(資料4-4)。表現型を用いた薬剤感受性検査は、結果判明に時間を要し、また菌株によっては、結核菌以外の抗酸菌や真菌の混入によるデータの変動も考えられたことから、今後は遺伝子解析によって、耐性株を迅速に把握できる方法を継続して検討する必要があると思われた。薬剤耐性株の遺伝子解析は現在、2010年分離株について実施中であるが、今後、MIC値と薬剤耐性遺伝子との関連性や、薬剤耐性株の分子疫学解析など、県内で分離される結核菌について、さらなる検討、評価が必要である。

E. 結論

結核菌病原体サーベイランスシステムを構築する上での結核研究所結核菌検査・保管施設の有用性と、検査センター及び地方衛生研究所の役割について検討した。

結核研究所結核菌検査・保管施設は、結核菌に関する研究、精度保証あるいは国際協力の分野に重要な役割を持っていると考えられた。

検査センターが日常的に検査を行っている検体から得られた情報を集積することで、結核菌の薬剤耐性サーベイランスに利用可能な情報が得られる可能性が示された。また、衛生研究所に適切な法的背景を付与することにより、行政主導型の病原体サーベイランスを実施することが可能であると考えられた。

F. 健康危機情報

多剤耐性菌を含む結核菌の取扱に関してバイオハザード上の危険があるが、GMTを基礎とした適切な実験・検査施設(BSL3)を用いて研究を実施しており、危険は最小限と考えられる。

G. 研究発表

(研究を通じて結核菌検査・保管施設に集積された結核菌株に関連した研究を列挙した。)

(1) 学会発表

1. 近松絹代、水野和重、青野昭男、山田博之、菅本鉄広、御手洗聡. GenoType[®]MTBDR_{plus}及びGenoType[®]MTBDR_{sl}による薬剤感受性検査の検討. 第22回日本臨床微生物学会学術集会 岡山 2011年1月8日
2. H Yamada, S Mitarai, T Sugamoto, H Matsumoto, K Chikamatsu, K Mizuno, A Aono, A Fujiki. Improved polyacrylamide-based artificial sputum with cultured cell and formalin-fixed TB bacilli. 40th World conference on IUATLD. Berlin, Germany 2010.
3. 御手洗聡、狩長亮二、山田博之、羽田野智之、水野和重、近松絹代、青野昭男、菅本鉄広. TRICORE集菌キットを用いた結核菌前処理法の検討. 第22回日本臨床微生物学会学術集会 岡山 2010年1月8日
4. 御手洗聡. 結核菌薬剤感受性検査の精度保

証. 第 22 回結核・非定型抗酸菌症治療研究会 東京 2010 年 12 月 4 日

5. 村瀬良朗、御手洗聡、前田伸司、大角晃弘: 結核菌遺伝系統別にみた感染伝播への影響 第 85 回日本結核病学会総会 京都 2010 年 5 月 21-22 日
6. 近松絹代、水野和重、山田博之、青野昭男、御手洗聡: GenoType®MTBDR Plus による多剤耐性結核菌同定に関する検討 第 85 回日本結核病学会総会 京都 2010 年 5 月 21-22 日
7. 山田博之、近松絹代、水野和重、菅本鉄広、藤木明子、松本宏子、御手洗聡: 培養細胞とフォルマリン固定した培養抗酸菌を用いた改良人工痰の特性と有用性 第 85 回日本結核病学会総会 京都 2010 年 5 月 21-22 日

(2) 論文発表

1. Yamada H, Mitarai S, Chikamatsu K, Mizuno K, Yamaguchi M. Novel freeze-substitution electron microscopy provides new aspects of virulent *Mycobacterium tuberculosis* with visualization of the outer membrane and satisfying biosafety requirements. *J Microbiol Methods*. 2010; 80: 14-18.
2. Ando H, Mitarai S, Kondo Y, Suetake T, Sekiguchi JI, Kato S, Mori T, Kirikae T. Pyrazinamide resistance in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Japan. *Clin Microbiol Infect*. 2010; 16: 1164-1168.
3. Murase Y, Maeda S, Yamada H, Ohkado A, Chikamatsu K, Mizuno K, Kato S, Mitarai S. Clonal expansion of multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis, Japan. *Emerg Infect Dis*. 2010; 16: 948-954.
4. Maeda S, Wada T, Iwamoto T, Murase Y, Mitarai S, Sugawara I, Kato S. Beijing family *Mycobacterium tuberculosis* isolated from throughout Japan: phylogeny and genetic features. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2010; 14: 1201-1204.
5. Ando H, Mitarai S, Kondo Y, Suetake T, Kato S, Mori T, Kirikae T. Evaluation of a line probe

assay for the rapid detection of *gyrA* mutations associated with fluoroquinolone resistance in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *J Med Microbiol*. 2011; 60: 184-188.

6. 近松絹代、水野和重、青野昭男、山田博之、菅本鉄広、西山裕之、御手洗聡. GenoType® MTBDRplus による多剤耐性結核菌同定に関する検討 結核 (*in press*)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究協力者

- 水野和重、近松絹代、山田博之、青野昭男 (結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンス部細菌検査科)
- 辻 英高、齋藤悦子、近平雅嗣 (兵庫県立健康環境科学研究センター感染症部)
- 玉井清子、柳沢英二 (株式会社ミロクメディカルラボラトリー)
- 霜島正浩 (株式会社ビー・エム・エル)
- 渋谷俊介 (三菱化学メディエンス株式会社)

資料1 薬剤感受性検査外部精度保証（パネルテスト）2010年度プロトコール

はじめに

現代医療では確実な証拠に基づく治療が基本であり、「定型化された標準療法」を用いる結核の領域でも当然適応される。結核の医療基準においても、薬剤感受性検査の実施を行うこととしているが、結核菌の特性上薬剤感受性検査は決して簡単ではない。薬剤感受性検査の信頼性の確保は重要な課題である。

検査精度の信頼性の確保のため、精度保証活動が必要である。精度保証には内部精度管理と外部精度評価の二つの方法があり、一般に精度管理という場合には機器の維持やマニュアルの整備などを含む内部精度管理を指す。一方、外部精度評価とは、検査室の能力（パフォーマンス）を他の上位の検査室と比較することによって評価する方法とされており、この方策として Proficiency Testing（技術評価試験）、Cross re-checking（再検査試験）および On-site evaluation（検査室立ち入り評価）の三つの要素がある。いずれも検査室の総合的な効率性を評価するために有用であるが、なかでも Proficiency testing は多施設を対象とした外部精度評価に利用される。

日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会では2002年より毎年薬剤感受性検査の外部精度評価を実施しており、評価結果を通じて検査精度の問題点を発見・改善することが可能である。

今回2010年度の薬剤感受性検査外部精度評価を実施する。

目的

Proficiency testing（感受性結果既知の結核菌株によって構成されたパネルテスト）により、結核菌の薬剤感受性検査精度を評価する。

参加要件

感染症法の基準を満たして結核菌薬剤感受性検査を実施している施設全てを対象とする。基本的には参加は任意であり、外部精度評価への参加依頼を実施プロトコールとともに送付し、諾とした施設のみに検査用の検体を送付する。

尚、検体の送付やデータの取りまとめ・解析は結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンス部細菌検査科・御手洗聡が行う。

送付する検体（結核菌株）

結核菌10株を0.5mlの液体培地中に懸濁した状態で送付する。今回送付する菌株はSupra-national Reference Laboratory Network（SRLN・29施設）で実施された薬剤感受性検査外部精度保証プログラムにおいて、基本的に施設間で80%以上の判定一致率を示した菌株であり、その一致した評価を感受性・耐性の基準とする。

送付する菌株の中には薬剤耐性株が含まれているが、感染症法の規定により多剤耐性結核菌の運搬が極めて困難であるため、被検菌に多剤耐性結核菌株を使用しない。しかしながら、他の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。

発送開始は平成22年9月初旬を予定している。

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。なお、本年度よりLevofloxacin (LVFX)を評価対象薬剤として追加するが、LVFXの検査実施は必須ではなく任意とする。

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（別紙）に感受性検査に関するいくつかの事項を記入し、検査結果とともにコーディネーター（結核研究所・御手洗聡）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。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と判定された場合は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」、「一致率」及び「 κ 指数」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、参加全施設の結果を総合した報告書を送付する。また、日本結核病学会において委員会報告/論文として報告する。総合報告書では施設名を匿名化し、個々の施設が特定されないようにする。

経費

本活動に関して参加施設から費用として一回5,000円を徴収する（被験菌とともに請求書・振込用紙を送付予定）。また、各施設での薬剤感受性検査と結果の送付に掛かる費用は各施設の負担とする。

被験菌の処理

被験菌については、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、参加証の発行は基本的に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。

資料 2-1 2010 年度薬剤感受性検査パネルテスト構成と各薬剤に対する最小発育阻止濃度

Strain ID	INH		RFP		SM		EB		LVFX	
	判定	MIC	判定	MIC	判定	MIC	判定	MIC	判定	MIC
XIV-0200	S	0.25	R	4.0	R	128	S	1.0	S	0.5
XIV-1419	S	0.125	R	1.0	S	1.0	S	1.0	S	0.25
XIV-3111	S	0.25	R	8.0	R	128	S	1.0	S	0.5
XV-0024	R	16	S	<0.03	S	0.5	R	16	S	0.5
XV-0029	S	0.125	R	>32	R	32	S	1.0	S	0.25
XV-0752	R	16	S	<0.03	S	0.25	R	16	S	0.5
XV-1933	R	>32	S	<0.03	R	>128	R	8.0	S	0.25
XV-3412	R	16	S	0.06	S	0.25	S	0.25	S	0.25
XV-6348	S	0.5	S	<0.03	R	4.0	S	1.0	R	8.0
XV-7652	S	0.25	S	<0.03	S	0.25	S	1.0	R	4.0

R: Resistant, S: Susceptible, MIC: Minimum Inhibitory Concentration (μg/ml)

MIC: 微量液体希釈法による

資料 2-2 被験菌株に関する薬剤ごとの判定一致施設率

菌株	ID	INH		RFP		SM		EB		LVFX	
		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	一致率	標準判定	一致率
XIV-0200	1	S	1.000	R	1.000	R	1.000	S	0.927	S	0.986
XIV-1419	2	S	0.988	R	0.988	S	0.915	S	0.976	S	0.986
XIV-3111	3	S	1.000	R	1.000	R	1.000	S	0.939	S	1.000
XV-0024	4	R	1.000	S	1.000	S	1.000	R	0.988	S	0.931
XV-0029	5	S	1.000	R	1.000	R	1.000	S	0.915	S	0.986
XV-0752	6	R	1.000	S	1.000	S	1.000	R	0.951	S	0.944
XV-1933	7	R	1.000	S	1.000	R	1.000	R	0.902	S	1.000
XV-3412	8	R	0.988	S	0.988	S	1.000	S	0.951	S	0.986
XV-6348	9	S	0.988	S	1.000	R	0.988	S	0.939	R	0.986
XV-7652	10	S	0.976	S	1.000	S	1.000	S	1.000	R	0.986

資料 2-3a Isoniazid, Rifampicin, Streptomycin, Ethambutol に関する施設別・薬剤別の精度評価結果

指標	施設別薬剤感受性検査精度											
	病院検査室 (n=57)			検査センター (n=24)			地方衛生研究所 (n=1)			総計 (n=82)		
	最大値	最小値	平均	最大値	最小値	平均	最大値	最小値	平均	最大値	最小値	平均
INH												
感度	1.000	0.750	0.996	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.750	0.997
特異度	1.000	0.833	0.988	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.833	0.992
耐性的中率	1.000	0.750	0.983	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.750	0.990
感受性的中率	1.000	0.833	0.997	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.833	0.998
一致率	1.000	0.800	0.991	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.800	0.994
κ指数	1.000	0.583	0.982	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.583	0.987
RFP												
感度	1.000	0.750	0.996	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.750	0.997
特異度	1.000	0.833	0.997	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.833	0.998
耐性的中率	1.000	0.800	0.996	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.800	0.998
感受性的中率	1.000	0.857	0.997	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.857	0.998
一致率	1.000	0.900	0.996	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.900	0.998
κ指数	1.000	0.783	0.993	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.783	0.995
SM												
感度	1.000	0.800	0.996	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.800	0.998
特異度	1.000	0.800	0.979	1.000	0.800	0.992	1.000	1.000	1.000	1.000	0.800	0.983
耐性的中率	1.000	0.833	0.980	1.000	0.833	0.992	1.000	1.000	1.000	1.000	0.833	0.986
感受性的中率	1.000	0.833	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.833	0.998
一致率	1.000	0.900	0.988	1.000	0.900	0.996	1.000	1.000	1.000	1.000	0.900	0.990
κ指数	1.000	0.800	0.975	1.000	0.800	0.992	1.000	1.000	1.000	1.000	0.800	0.980
EB												
感度	1.000	0.000	0.924	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000	0.947
特異度	1.000	0.286	0.945	1.000	0.286	0.958	1.000	1.000	1.000	1.000	0.286	0.949
耐性的中率	1.000	0.375	0.921	1.000	0.375	0.953	1.000	1.000	1.000	1.000	0.375	0.939
感受性的中率	1.000	0.700	0.975	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.700	0.981
一致率	1.000	0.500	0.939	1.000	0.500	0.971	1.000	1.000	1.000	1.000	0.500	0.949
κ指数	1.000	0.000	0.856	1.000	0.194	0.932	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000	0.880

資料 2-3b Levofloxacin に関する施設別・薬剤別の精度評価結果

指標	施設別薬剤感受性検査精度											
	病院検査室 (n=47)			検査センター (n=24)			地方衛生研究所 (n=1)			総計 (n=72)		
	最大値	最小値	平均	最大値	最小値	平均	最大値	最小値	平均	最大値	最小値	平均
LVFX												
感度	1.000	0.500	0.979	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.500	0.986
特異度	1.000	0.625	0.971	1.000	0.875	0.990	1.000	1.000	1.000	1.000	0.625	0.977
耐性的中率	1.000	0.250	0.942	1.000	0.667	0.970	1.000	1.000	1.000	1.000	0.250	0.948
感受性的中率	1.000	0.833	0.993	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.833	0.996
一致率	1.000	0.600	0.972	1.000	0.900	0.992	1.000	1.000	1.000	1.000	0.600	0.979
κ指数	1.000	0.091	0.917	1.000	0.737	0.974	1.000	1.000	1.000	1.000	0.091	0.937

資料 3-1 検査センター3 社からのデータに基づく薬剤別感受性検査結果（重複削除済）

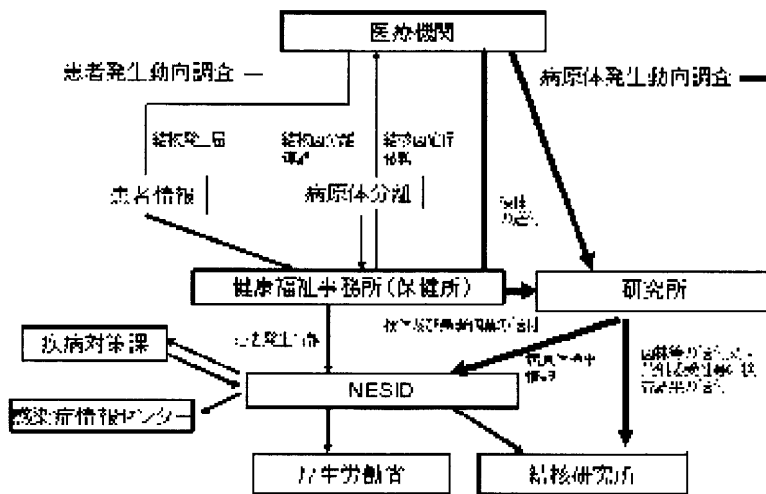
Result	INH 0.2	INH 1.0	RFP	SM	EB	TH	KM	EVM	PAS	CS	LVFX	MDR
耐性	230	68	53	309	122	14	28	19	21	6	40	45
感受性	4398	3230	4575	4319	4506	3185	3174	3175	3177	3189	3175	4583
比率	0.050	0.021	0.011	0.067	0.026	0.004	0.009	0.006	0.007	0.002	0.012	0.010

資料 3-2 衛生検査所データ地域別集計（無作為抽出重複削除済）

Block	Result	INH 0.2	INH 1.0	RFP	SM	EB	TH	KM	EVM	PAS	CS	LVFX	MDR
北海道	耐性	3	1	0	13	1	0	3	0	4	0	1	0
	感受性	205	192	208	195	207	193	190	193	189	193	192	208
	比率	0.014	0.005	0.000	0.063	0.005	0.000	0.016	0.000	0.021	0.000	0.005	0.000
東北	耐性	62	12	12	75	31	3	0	2	2	0	5	11
	感受性	871	497	921	858	902	506	509	507	507	509	504	922
	比率	0.066	0.024	0.013	0.080	0.033	0.006	0.000	0.004	0.004	0.000	0.010	0.012
関東	耐性	13	5	5	13	8	3	4	3	1	2	4	2
	感受性	401	371	409	401	406	326	325	328	329	330	328	412
	比率	0.031	0.013	0.012	0.031	0.019	0.009	0.012	0.009	0.003	0.006	0.012	0.005
甲信	耐性	31	15	6	38	9	4	5	0	4	2	6	5
	感受性	570	518	595	563	592	502	504	503	502	501	508	596
	比率	0.052	0.028	0.010	0.063	0.015	0.008	0.010	0.000	0.008	0.004	0.012	0.008
中部	耐性	3	1	0	10	3	0	1	0	0	0	0	0
	感受性	222	135	225	215	222	136	135	136	136	136	136	225
	比率	0.013	0.007	0.000	0.044	0.013	0.000	0.007	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
北陸	耐性	14	8	5	17	5	1	6	5	2	1	10	4
	感受性	305	311	314	302	314	318	310	311	314	315	306	315
	比率	0.044	0.025	0.016	0.053	0.016	0.003	0.019	0.016	0.006	0.003	0.032	0.013
近畿	耐性	126	42	28	166	57	11	19	10	13	5	26	27
	感受性	2574	2024	2672	2534	2643	1981	1973	1978	1977	1984	1974	2673
	比率	0.047	0.020	0.010	0.061	0.021	0.006	0.010	0.005	0.007	0.003	0.013	0.010
中国	耐性	3	1	0	10	3	0	1	0	0	0	0	0
	感受性	222	135	225	215	222	136	135	136	136	136	136	225
	比率	0.013	0.007	0.000	0.044	0.013	0.000	0.007	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
四国	耐性	14	8	5	17	5	1	6	5	2	1	10	4
	感受性	305	311	314	302	314	318	310	311	314	315	306	315
	比率	0.044	0.025	0.016	0.053	0.016	0.003	0.019	0.016	0.006	0.003	0.032	0.013
九州	耐性	126	42	28	166	57	11	19	10	13	5	26	27
	感受性	2574	2024	2672	2534	2643	1981	1973	1978	1977	1984	1974	2673
	比率	0.047	0.020	0.010	0.061	0.021	0.006	0.010	0.005	0.007	0.003	0.013	0.010
計	耐性	126	42	28	166	57	11	19	10	13	5	26	27
	感受性	2574	2024	2672	2534	2643	1981	1973	1978	1977	1984	1974	2673
	比率	0.047	0.020	0.010	0.061	0.021	0.006	0.010	0.005	0.007	0.003	0.013	0.010

資料 3-3 衛生検査所データ（無作為抽出重複削除済）による結核菌薬剤耐性率（2009 年及び 2010 年）

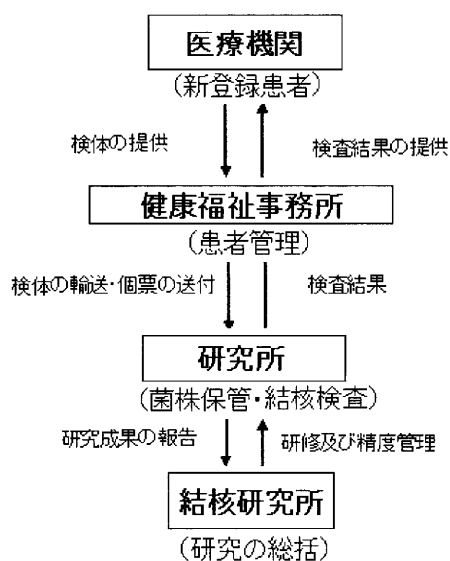
薬剤	2010 年			2009 年		
	感受性	耐性	頻度	感受性	耐性	頻度
Total	2,700			2,052		
All Susceptible	2,449	251	0.907	1,782	270	0.868
Any Resistance	2,449	251	0.093	1,782	270	0.132
INH	2,574	126	0.047	1,911	141	0.069
RFP	2,672	28	0.010	2,029	23	0.011
SM	2,534	166	0.061	1,896	156	0.076
EB	2,643	57	0.021	2,021	31	0.015
Mono Resistance	2,525	175	0.065	1,842	210	0.102
INH	2,645	55	0.020	1,971	81	0.039
RFP	2,696	4	0.001	2,049	3	0.001
SM	2,596	104	0.039	1,945	107	0.052
EB	2,688	12	0.004	2,033	19	0.009
Multi-DRug Resistance	2,678	22	0.008	2,032	20	0.010
INH + RFP	2,695	5	0.002	2,046	6	0.003
INH + RFP + EB	2,697	3	0.001	2,048	4	0.002
INH + RFP + SM	2,700	0	0.000	2,049	3	0.001
INH + RFP + EB + SM	2,686	14	0.005	2,045	7	0.003
Poly Resistance	2,646	54	0.020	2,012	40	0.019
INH + EB	2,694	6	0.002	2,051	1	0.000
INH + SM	2,674	26	0.010	2,013	39	0.019
EB + SM	2,697	3	0.001	2,052	0	0.000
INH + EB + SM	2,683	17	0.006	2,052	0	0.000
RFP + EB	2,700	0	0.000	2,052	0	0.000
RFP + SM	2,700	0	0.000	2,052	0	0.000
RFP + EB + SM	2,698	2	0.001	2,052	0	0.000



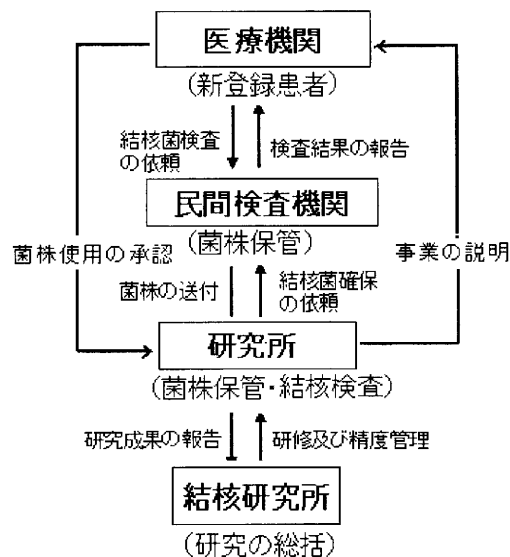
資料4-図1 結核病原体サーベイランスシステム

資料4-1 結核病原体サーベイランスにおける各機関の役割の検討

- 1 県庁
 - ① 医療機関に対し協力依頼、及び患者同意書の健康福祉事務所経由での提出依頼
 - ② 健康福祉事務所へ患者個票の研究センターへの送付依頼
- 2 健康福祉事務所
 - ① 検体又は菌株確保の医療機関への依頼
 - ② 医療機関の菌株保管庫保有の調査、検体又は菌株の輸送あるいは輸送手配
 - ③ 患者同意書の提出依頼
 - ④ 患者個票の作成と研究センターへの提供
- 3 医療機関
 - ① 健康福祉事務所へ結核菌分離の連絡
 - ② 菌株一時保管庫や、検体保管の冷蔵庫の確保
 - ③ 検体又は菌株の郵送あるいは宅配便の手配と発送
 - ④ 検査所で検査する場合、菌株の確保
- 4 研究センター
 - ① 菌株の保管及び薬剤感受性検査
 - ② 必要に応じて検体又は菌株の輸送
 - ③ 多剤耐性菌株の輸送手続き及び輸送
 - ④ 必要に応じて菌株またはDNAの結核研究所への送付
 - ⑤ 感染症サーベイランスシステム（NESID）への結果の登録
- 5 結核研究所
 - ① 研究の総括
 - ③ 結核サーベイランスに係る研修、及び薬剤感受性検査の精度管理



資料 4-図 2 行政依頼型病原体サーベイランス



資料 4-図 3 研究主導型病原体サーベイランス

資料 4-2 病原体サーベイランスの問題点等

- 1 結核病原体サーベイランスの構築上の問題点等について
 - 1) 患者数が多いため、現状では全県的な菌株の収集において、人員、予算上取り組めない。
 - 2) 行政機関が積極的に取り組むための、病原体収集の根拠が希薄である。
 - 3) 薬剤感受性検査は結核診断、および治療の一環として病院あるいは検査機関で実施されており、薬剤感受性検査を行わずに菌株が廃棄される例は少なく、検査対象とする件数が少ない。また、病院の検体を受託検査するには、保険適用上の問題がある。
 - 4) 結核患者は結核指定医療機関に集中しているため、患者は、県内の複数の保健所が管理している。
 - 5) 地研における人員・予算等について地研側の問題がある。
 - 6) インフォームドコンセントを含めた医療機関等の負担の増加が考えられる。
 - 7) 民間検査センターの遠隔化（県外で検査が行われている場合）による菌株の搬送問題等がある。

- 2 病原体サーベイランス実施上の問題点等について
 - 1) 行政依頼型サーベイランス
 - ① 感染症法第 15 条の積極的疫学調査で実施され、各機関におけるサーベイランスの役割が果たせる。
 - ② 薬剤感受性の結果が判明した後、菌株を輸送する際、多剤耐性菌について、公安委員会への手続きなど煩雑な手続きを必要とする。
 - 2) 研究主導型サーベイランス
 - ① 感染症法第 15 条の積極的疫学調査で実施されないため、医療機関ごとに研究目的を説明し、了承を受ける必要がある。また、医療機関や医師が情報提供をする場合に、個人情報保護法に基づく個人情報利用制限の適用をうける。
 - ② 個人情報が連結不可能匿名化されなければ、疫学研究に関する倫理指針により、倫理委員会を設置して研究計画の内容等の審議が必要とされる。また、医療機関による患者同意書の作成は困難であるため、菌株解析に患者の疫学情報を連結できない。
 - ③ 医療機関によっては薬剤感受性検査を民間の検査機関に外部委託しており、検査機関に対しても菌株の分与や輸送の申請を行い、了承される必要がある。

資料4-3 抗結核薬に対する MIC 分布 (112 株)

薬剤	MIC 分布幅 ($\mu\text{g/ml}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/ml}$)	薬剤耐性の判定 (株数)		耐性株頻度 R~R+I (%)
				R	R+I	
Isoniazid	0.06~32 以上	0.25	0.5	10	13	8.9~11.6
Rifampicin	0.03 以下~32 以上	0.03	0.03	4	10	3.5~8.9
Streptomycin	0.5~128 以上	1	16	11	15	9.8~13.4
Ethambutol	0.5~8	1	2	2	10	1.8~8.9
Kanamycin	0.25~32	2	4	2	5	1.8~4.5
Rifabutin	0.008 以下~8 以上	0.008	0.008	4	8	3.5~7.2
Levofloxacin	0.06~2	0.25	0.5	3	3	2.7
Ciprofloxacin	0.125~4	0.25	0.5	3	3	2.7

資料4-4 薬剤耐性遺伝子の解析

St.No.	Drug Susceptibility				Mutation in specific resistant gene						
	RFP(MIC)	INH	SM	EB	RFP	INH			SM		EB
					<i>RpoB</i>	<i>katG</i>	<i>inhA</i>	<i>AhpC</i>	<i>rpsL</i>	<i>rns</i>	<i>embB</i>
1	R(>32)	R	R	R	S531L	wt	-15C-T	-48G-A	K43R	wt	M306L
1	R(>32)	R	R	R	S531L	wt	-15C-T	wt	K43R	wt	M306I
1	R(>32)	R	R	R	S531L	wt	-15C-T	wt	K43R	wt	M306L
1	R(>32)	R	S	R	S531L	wt	wt	-48G-A			M306L
1	R(1)	S	S	R	S522V						M306I
1	R(>32)	S	S	S	S531L						
1	S	R	S	S	wt	S315T	wt	wt	wt	wt	wt
1	S	R	S	S		V1A	wt	wt			
8	S	S	R	S	wt	wt	wt	wt	K43R	wt	wt
1	S	S	R	S	wt	wt	wt	wt	K43R	wt	wt

医療機関からの病原体サーベイランス及び
薬剤感受性結核の分子遺伝学的解析に関する研究

研究分担者

岡田 全司 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 臨床研究センター長

研究要旨

1. 結核入院治療において日本の40%以上の結核患者を診療している国立病院機構呼吸器研究ネットワーク施設（中核の近畿中央胸部疾患センター、東京病院、福岡東病院、愛媛病院、山口宇部医療センター）で当院にサンプルを送付してもらい大阪府立呼吸器アレルギーセンターと共同で結核菌遺伝子タイピングを行った。
2. 近畿中央429株、大阪府立858株、東京402株、山口宇部21株、愛媛74株、福岡東160株、合計1939株の薬剤感受性結核菌をすでに当院に集めた。これらを遺伝子タイピング解析した。
3. (1)これらの菌株のうち1262株（近畿中央250株、大阪府立呼吸器458株、愛媛39株、山口21株、福岡東医療センター100株、東京94株）に対して、supply等の15 Optimized MIRU-VNTRを行った。
396名（総数1251名中）がクラスターを形成しており、クラスター形成率は31.6%であった。35名からなるクラスターは1組、20名からなるクラスターは2組、19名からなるクラスターは1組であった。
(2)さらに、JATAの12VNTRを行った。Supplyの15VNTRとの比較研究を行った。Supplyの15VNTRでクラスター形成した結核菌はJATA12VNTRでもクラスター形成が強いことが示された。
(3)この結果より、共通の菌株が東京、大阪、愛媛、山口を含む広域地域に分布していることが明らかになった。これらの菌の感染力が強いのか、公衆衛生的な要因で菌が感染しているのかは不明であるが今後の更なる検討が望まれる。
4. 結核空洞の率が高いクラスターは35人からなるクラスター、20人からなるクラスター、19人からなるクラスター、14人からなるクラスターであることが示された。

A. 研究目的

1. 病原体サーベイランスについて医療機関のネットワーク（国立病院機構呼吸器ネットワーク等）を活用した有用性の検討。
2. 全国の国立病院機構施設及び結核病床を有する公立病院等の薬剤感受性結核菌の分子遺伝学的解析の研究。

京病院402株、山口宇部医療センター21株、愛媛病院74株、福岡東医療センター160株、合計1939株の薬剤感受性結核菌をすでに当院に集めた。

2. Supplyの15 optimized MIRU -VNTRを行った。さらにJATAの12VNTRを行った。Supplyの15VNTRと比較研究を行った。

B. 研究方法

1. 近畿中央胸部疾患センター429株、大阪府立呼吸器アレルギー医療センター858株、東

（倫理面への配慮）

当国立病院機構近畿中央胸部疾患センターでは臨床試験審査委員会に申請書を提出し、承認を得た。

C. 研究結果

1. 国立病院機構呼吸器研究ネットワーク 65 施設 (図 1) を束ねている近畿中央胸部疾患センターに薬剤感受性結核菌株を送付してもらい、集積した。
2. 大阪府立呼吸器アレルギーセンターと共同で結核菌遺伝子タイピングを行った。
3. (1)これらの菌株のうち 1262 株 (近畿中央 250 株、大阪府立呼吸器 458 株、愛媛 39 株、山口 21 株、福岡東医療センター100 株、東京 94 株) に対して、Supply 等の 15 Optimized MIRU-VNTR を行った。
396 名 (総数 1251 名中) がクラスターを形成しており、クラスター形成率は 31.6%であった。35 名からなるクラスターは 1 組、20 名からなるクラスターは 2 組、19 名からなるクラスターは 1 組、14 名からなるクラスターは 1 組、10 名からなるクラスターは 2 組、8 名からなるクラスターは 1 組等であった。(図 2、3、4) 東京で報告され、関西等で報告さ

れ始めている M 株に関しては、14 株であった。

(2) さらに、JATA の 12VNTR を行った。Supply の 15VNTR でクラスター形成した結核菌は JATA12VNTR でもクラスター形成が強いことが示された。クラスター形成に相関が認められた。(図 5)

(3) この結果より、共通の菌株が東京、大阪、愛媛、山口を含む広域地域に分布していることが明らかになった。これらの菌の感染力が強いのか、公衆衛生的な要因で菌が感染しているのかは不明であるが今後の更なる検討が望まれる。

4. 結核空洞の率が高いクラスターは
35 名からなるクラスター
20 名からなるクラスター(a)
19 名からなるクラスター
14 名からなるクラスター
であることが示された。(図 6、7)

図 1

