

結核 86(3) : 353 2011

- 10) 山内祐子、永田容子、小林典子、加藤誠也、森 亨：結核看護システム；
Ⅱ．服薬支援の指標について 結核
86(3) : 353 2011
- 11) 小林典子、永田容子、山内祐子、加藤誠也、森 亨：『結核看護システム』
のこれからⅠ：今後の取り組み 日
本公衆衛生学会誌 58(10) : 394 2011

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし

Ⅱ 研究分担報告書

厚生労働科学研究補助金新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業
研究分担報告書
薬剤耐性の実態調査

研究分担者

山岸 文雄 独立行政法人国立病院機構千葉東病院院長

研究要旨

第 14 回となる結核療法研究協議会（療研）薬剤耐性結核菌全国調査を実施した。2007 年 8 月 1 日から 1 年間に全国 48 の結核診療施設から非結核性抗酸菌を含む 3,703 検体が収集された。結核菌 2,915 株（78.7%）の感受性検査が終了し、感受性検査は完了した。非結核性抗酸菌は 687 株（18.6%）であり、結核研究所にて発育を認めなかったあるいは雑菌汚染していた検体は 88 検体（2.4%）認められた。結核菌と非結核性抗酸菌が混合していた検体は 13 検体（0.4%）であった。最終的に治療歴を含む臨床情報が得られた 2,292 名の患者についてデータの解析を実施した。

2,292 名の患者の内訳は、男性 1,573 名、女性 719 名（年齢：64.8±19.7, range: 1 - 100）であった。全体の 87.8% (2,012 名)は肺結核であり、肺結核と肺外結核の合併が 10.0%に認められた。何らかの薬剤耐性を認めた結核菌は未治療患者で 10.1%、既治療患者で 30.3%認められた。INH、RFP、SM 及び EB の各薬剤に対する耐性（Any resistance）は、未治療患者でそれぞれ 3.1%、0.7%、5.6%及び 1.3%であり、既治療患者でそれぞれ 12.3%、6.7%、12.3%及び 2.6%であった。今回の研究では無作為に抽出した 852 株について LVFX の感受性検査を実施したが、耐性率は未治療患者で 3.2%、既治療患者で 6.1%であった。多剤耐性結核菌（三種病原体）は未治療患者で 0.4%、既治療患者で 4.1%認められた。さらに多剤耐性結核菌のうち超多剤耐性の範疇にある結核菌は 15.4%認められた。

検査法としては、塗抹陽性率がチール・ネールゼン法よりも蛍光法で 6.5%高いことが示された（ $p=0.02$ ）。また培養・感受性検査ともに液体培養の使用が増加していた。

第 13 回療研調査との比較では、各薬剤に対する未治療耐性に関して、耐性率が有意に増加あるいは減少した薬剤は認められなかったが、INH の未治療耐性率が 2.8%から 3.1%にやや上昇しており、潜在結核感染症治療が関連している可能性が考えられた。一方、既治療耐性の any resistance では、EB の耐性率が有意に減少していた（ $p=0.011$ ）。さらに既治療多剤耐性結核の比率が有意に減少しており、なかでも INH+RFP+SM+EB の比率の減少のみが有意であった（1.0% vs 4.6%, $p=0.046$ ）。これは、近畿地区における既治療 MDR-TB の減少が有意（ $p=0.041$ ）であったことが影響したものと考えられた。

第 14 回となる療研全国調査を完了した。INH、RFP、SM 及び EB の耐性率は既治療・未治療ともに低率であり、2002 年時と比較しても低下の傾向であった。既治療患者での多剤耐性結核が減少していたものの、LVFX で INH に匹敵する耐性率が認められており、今後継続的なモニタリングが必要と考えられた。

A. 研究目的

全世界では年間およそ 880 万人が新たに結核に罹患し、150 万人が死亡している。世界保健機関およ

び国際結核肺疾患予防連合（IUATLD）は世界規模の結核薬剤感受性調査を行い、幾つかの国での急速な薬剤耐性結核の増加が報告されている。また、最

近では Extensively Drug-Resistant Tuberculosis (XDR-TB: 超多剤耐性結核)も報告され、抗結核薬の薬剤耐性の問題は世界的に拡大している。

日本では結核療法研究協議会が 1957 年から 2002 年までに 2~5 年ごとに過去 13 回入院時薬剤耐性菌に関する研究を行い、各年度の耐性菌の頻度と 30 年にわたる日本での薬剤耐性の頻度の推移を報告している。国公立、私立を問わず全国の結核診療施設が参加しており、日本の代表的な薬剤感受性成績として認識されている。

2002 年の調査から 5 年が経過しており、この間結核予防法の一部改正とそれに続く新感染症法への統合があり、結核の取り扱いが大きく変化してきた。直接監視下短期化学療法 (DOTS) の取り組みも拡大している。第 13 回の調査では既治療・未治療ともに耐性頻度が減少したことが示されており、現在に至って減少の傾向が維持されているかどうか、興味のあるところである。液体培地を用いた感受性検査法や、検査の精度保証に関する意識も拡大しており、検査室の精度管理的意味も引き続き重要である。

今回、前回からの薬剤耐性状況の変化を確認し、併せて分子疫学的調査を行うことを含めて、結核菌の薬剤感受性の現状を調査する。

B. 研究方法

総括的研究目的：

日本における結核菌の薬剤感受性について総合的な情報を全国レベルで収集し、結核対策の一助とする。

個々の研究目的：

1. 研究期間内に分離されたすべての結核菌について Isoniazid (INH)、Rifampicin (RFP)、Streptomycin (SM)、Ethambutol (EB)の薬剤感受性を明らかにする。また、多剤耐性菌など必要な場合には、二次抗結核薬、Levofloxacin (LVFX)、Pyrazinamide (PZA)の薬剤感受性検査を実施する。
2. 既治療、未治療患者における耐性菌の頻度を評価する。

3. 疫学的情報 (年齢、性別、地域、合併症) と薬剤耐性との関連を解析する。
4. 多様化している同定法や培養法、感受性検査法に鑑み、参加施設でのそれらの方法の精度評価を行う。
5. 多剤耐性結核菌について VNTR 等の分子疫学的検査を行う。
6. 全ての抗酸菌を収集し、現状での非結核性抗酸菌の分離状況を明らかにする。

研究参加施設・参加者：

全国の結核病床を有する施設のうち、参加の要請を諾とした施設

対象患者：

- 1) 全ての抗酸菌培養陽性症例
- 2) 臨床試験の実施に先立ち本人 (または代諾者) から文書による同意が得られた患者*
- 3) 性別：不問

*個人情報保護のためのオプション

基本的に臨床情報は必要であるが、個人を特定する必要はない。従って、検体と臨床情報が一致していれば良く、個々の検体と個人に「背番号 (ID)」を施設毎にあたえ、患者個々の病院 ID との変換アルゴリズムについてはそれぞれの施設で考えて頂く。また、生年月日は年齢に置き換え、地域については管轄保健所名とする。このように匿名化すれば資料として個人を特定できなくなり、検体の採取も非侵襲性であることから、同意書は基本的に必要ないと考えられる。

同意書については基本的に各参加施設の内部規則に沿うこととする。

研究期間：

研究期間 (検体収集期間) は暫定的に 2007 年 8 月 1 日から 2008 年 1 月 30 日までとする。結核菌検体の代表性を確保するため、地域ごとの目標検体数をあらかじめ算出し、結核菌が必要数に達するまで収集を継続する。

収集の対象とする菌：

- 研究期間中に新たに診断された結核患者（初回・再発）から分離された結核菌
- 研究期間中に新たに診断された非結核性抗酸菌抗酸菌症（初回・再発）から分離された非結核性抗酸菌

収集除外対象菌：

- 結核、非結核性抗酸菌症ともに、慢性排菌例から分離された抗酸菌は対象外とする。

収集方法：

上記菌株については、三種・四種病原体等の輸送基準に鑑みて、薬剤感受性検査結果が判明する以前にコーディネート施設である結核予防会結核研究所細菌検査科へ送付する。薬剤感受性検査結果が判明した後であっても、多剤耐性結核菌でなければ、国連容器を用いて三重包装することにより、UN2814（カテゴリーA）として「ゆうパック」にて輸送することができる。国連容器については、基本的に結核研究所より供与する。

多剤耐性結核菌が同定された場合、分離施設にて保管し、結核研究所で最終的に適当な時期に多剤耐性菌の輸送計画を立て、一括して収集する。もしも多剤耐性結核菌を保管しない施設から同菌が分離された場合、基本的に譲渡して頂くこととし、個別に対応する。

提供患者の匿名化について：

別途文章で同意が得られた患者について、院内で匿名化し院内IDを作成し、その院内IDを菌株にラベルで添付し、研究責任者以外の共同研究者（各施設での担当者）が院内にて保存する。

検体付随臨床情報：

結核菌と判明した株については、薬剤感受性検査が終了した時点でIDが結核研究所から戻され、その後、別紙に添付した調査票に各項目を記入し、結核研究所に再送付する。なお、多剤耐性結核菌についてはVNTRによる結核菌遺伝子タイピングを実施する。非結核性抗酸菌についてはIDと菌同定結果が戻される。

薬剤感受性検査：

サーベイランスのため、INH、RFP、SM及びEBについて、1%小川培地を用いた標準比率法にて薬剤感受性検査を実施する。なお、検査は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にて実施する。

多剤耐性菌などで必要が生じた場合、二次抗結核薬とLVFXについても、1%小川培地を用いた標準比率法を実施する。PZAの感受性検査が必要な場合、基本的にMGIT ASTを用いる。また、判定が困難な場合など、遺伝子による感受性検査も必要に応じて実施する。

菌種同定：

非結核性抗酸菌については菌種同定検査を実施する。

分子疫学的検査：

多剤耐性結核菌についてはRFLPあるいはVNTRによる遺伝子タイピングを実施する。

倫理面への配慮：

基本的に臨床情報は必要であるが、個人を特定する必要はないため、結核研究所には臨床情報と検体のみを送り、患者個人を特定する変換規則は各施設で保管する。検体の採取も非侵襲性である。研究への参加を拒否する患者についてはこれを強要しない。また、参加を拒否することによる何らの診療上の不利益を被ることもない。臨床情報調査票から得られる臨床的情報および各検体から得られる薬剤感受性検査の情報は、結核療法研究協議会委員および結核研究所内の担当者（データ管理責任者：御手洗聡）のみがこれを知りうるものとし、情報・検体については結核研究所内で当該目的以外に使用しないものとする。

研究母体：

結核療法研究協議会（山岸文雄委員長）

郵便番号 204-8533

東京都清瀬市松山3-1-24

結核予防会結核研究所内

C. 結果

2007年8月1日～2008年7月31日の間に全国から収集された3,703検体について解析を実施した。

表1（資料）に参加施設の一覧を示した。

表2 地区別結核菌株数

ブロック	株数
北海道東北	162
関東	833
中部	198
近畿	506
中国四国	202
九州	391
計	2,292

2011年11月28日時点で結核菌2,915株（78.7%）の感受性検査が終了し、感受性検査は完了した。非結核性抗酸菌は687株（18.6%）であり、結核研究所にて発育を認めなかったあるいは雑菌汚染していた検体は88検体（2.4%）認められた。結核菌と非結核性抗酸菌が混合していた検体は13検体（0.4%）であった。最終的に治療歴を含む臨床情報が得られた2,292名の患者についてデータの解析を実施した。表2に地域別の収集菌株数を示した。2,292名の患者の内訳は、男性1,573名、女性719名（年齢：64.8±19.7, range: 1 - 100）であった。図1に対象となった患者の年齢分布ヒストグラムを示した。

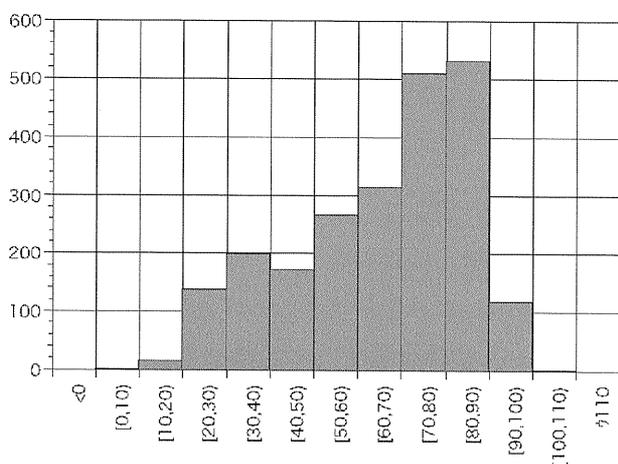


図1 解析対象患者の年齢分布

表3（資料）に対象となった患者の合併症一覧を示した。合併症がなかったのは1,000名であり、

43.6%に相当した。最も多い合併症は糖尿病であり、30.0%に合併していた。悪性腫瘍の合併も104名（8.0%）に認められた。そのほか、ステロイド使用、腎不全、肝炎等が認められ、その他には脳梗塞後遺症などが多く含まれていた。

表4には患者の臨床診断が示されており、全体の87.8%（2,012名）は肺結核であり、肺結核と肺外結核の合併が10.0%（229名）に認められた（表4a）。また表4bと4c（資料）には肺結核のみの患者、あるいは肺結核に肺外結核を合併している患者からの分離株について薬剤別の耐性率（Any resistance）を示した。これら二つのグループ間において対応するカテゴリー・薬剤に対する耐性に有意差はなかった。

表4a 対象患者の臨床診断

診断	患者数	%
肺結核のみ	2,012	87.8
肺結核+肺外結核	229	10.0
肺外結核	51	2.2
Total	2,292	100.0

表5には肺結核症に合併した肺外結核症の一覧を示した。最も多く見られた肺外結核は結核性胸膜炎であり、121例(52.8%)に認められた。また粟粒結核も20.1%(46例)に認められた。

表5 肺結核と肺外結核を合併した患者の具体的診断名

診断	患者数	%
結核性胸膜炎	121	52.8
粟粒結核	46	20.1
腸結核	10	4.4
頸部リンパ節結核	9	3.9
気管支結核	8	3.5
脊椎カリエス	5	2.2
結核性膿胸	5	2.2
結核性腹膜炎	3	1.3
尿路結核	2	0.9
関節結核	2	0.9
結核性髄膜炎	2	0.9
喉頭結核	2	0.9
結核性痔瘻	1	0.4
結核性精巣炎	1	0.4
結核性骨髄炎	1	0.4
リンパ節結核	1	0.4
骨関節結核	1	0.4
左股関節結核	1	0.4
左腋窩リンパ節結核	1	0.4
腎結核	1	0.4
肛門周囲膿瘍	1	0.4
結核性心外膜炎	1	0.4
結核性脳炎	1	0.4
不明	3	1.3
Total	229	100.0

表6a(資料)に治療歴及び薬剤別の耐性数及び比率を示した。何らかの薬剤耐性を認めた結核菌は未治療患者(結核薬による治療歴がないかあっても4週未満)で211株(10.1%)、既治療患者(結核治療歴4週以上)で59株(30.3%)認められた。INH、RFP、SM及びEBの各薬剤に対する耐性(Any resistance: 当該薬剤に耐性を示しており、単剤耐性及び他の薬剤耐性を含む)は、未治療患者でそれぞれ64株(3.1%)、15株(0.7%)、118株(5.6%)及び27株(1.3%)であり、既治療患者でそれぞれ24株(12.3%)、13株(6.7%)、24株(12.3%)及び5株(2.6%)であった。今回の研究では無作為に抽出

した852株についてLVFXの感受性検査を実施したが、耐性率は未治療患者で3.2%(25株)、既治療患者で6.1%(4株)であった。多剤耐性結核菌(少なくともINHとRFPに耐性を有する:三種病原体)は未治療患者で9株(0.4%)、既治療患者で8株(4.1%)認められた。

多剤耐性結核菌は2,915株(感受性検査実施総数)の結核菌のうち28株で認められた(資料:表6b)。二次抗結核薬に対する耐性(一部発育不良等で判定不可の株を除く)はKanamycin(KM)で23.1%(6/26)、Amikacin(AM)で19.2%(5/26)、LVFXで34.6%(9/26)、Paraaminosalicylate(PAS)で42.3%(11/26)、Ethionamide(TH)で34.6%(9/26)、Cycloserineで23.1%(6/26)、Pyrazinamide(PZA)で51.9%(14/27)であった。さらに超多剤耐性結核菌(XDR-TB)は4株であり、MDR-TBに占める割合は15.4%となった。臨床評価対象となった17株だけで解析すると(資料:表6c)、Kanamycin(KM)で18.8%(3/13)、Amikacin(AM)で18.8%(3/13)、LVFXで18.8%(3/13)、Para-aminosalicylate(PAS)で37.5%(6/16)、Ethionamide(TH)で31.3%(5/16)、Cycloserineで12.5%(2/16)、Pyrazinamide(PZA)で50.0%(8/16)であった。

表7(資料)に年齢階級別の薬剤耐性を示した。各薬剤とも、未治療・既治療の両方で青壮年層に耐性が高い傾向が認められた。図2(資料)に第13回療研耐性調査(2002年)との比較を治療歴別に示したが、各年齢階級毎に耐性率の有意な変化は認められなかった。

表8(資料)に全国を6ブロックに分けて地域別に算出した耐性を薬剤別に示した。北海道と東北地域は検体数(患者数)が少ないため、北海道東北地域として一括した。INH未治療耐性率は1.1~5.3%であり、最も耐性率の低い九州と最も高い近畿の間には有意差が認められた($p=0.002$)。また、INHの既治療耐性率は0~23.1%であったが、地域間の有意差は認められなかった。RFPの未治療耐性率は0~1.3%であり、既治療耐性は0~8.8%であったが、それぞれ地域間の耐性率に統計的有意差はなかった。図3に第13回療研耐性調査(2002年)との比較を治療歴別に示したが、各地域毎に比較したところ、

近畿地域において INH の既治療耐性率が有意に減少していた ($p=0.025$)。

表 9 (資料) には男女別に見た薬剤毎の耐性率を示した。全ての薬剤について、未治療・既治療とも男女間に耐性率の差は認められなかった。

表 10 (資料) には、2007 年の結核登録者統計において菌陽性となった患者の地域分布から重み付けして補正した地域別薬剤耐性率を示した。症例数が少ないことから既治療耐性について元の値と補正值との間に比較的大きな差がみられたが、未治療耐性率にはほとんど差異は認められなかった。

表 11-14 (資料) には合併症別の耐性率を示した。表 11 の合併症のない群に対して、表 12 (資料) の糖尿病群では未治療 INH 1.0 と既治療 RFP での耐性率に有意差が認められた。同様に表 13 (資料) の悪性腫瘍合併群でも未治療 INH 1.0 の耐性率が有意に高かった。

表 15 (資料) には塗抹検査法と陽性度の分布を示した。86.8%の検体は蛍光法で検査が実施されていた。第 13 回調査時には 70%であり、蛍光法の使用が増加していた。蛍光法で塗抹陽性率が 6.5%高く ($p=0.02$) また蛍光法の方が陽性度が高い傾向が認められた ($p=0.064$)。

表 16 (資料) に今回の参加施設で使用されていた培養法を示した。MGIT が最も多く 55.5%を占めており、続いて小川培地による培養が 39.2%であった。第 13 回調査の際の MGIT と小川培地の使用がほぼ同数 (1,079 vs 988) であったのに対して、MGIT の使用割合が増加していた。薬剤感受性検査にも MGIT が多く使用されており、全体のおよそ 1/3 は MGIT AST によるものであった (資料: 表 17)。第 13 回調査時には 8.5%であり、MGIT AST の使用が大幅に増加していた。結核菌の同定には免疫薄層クロマトグラフィー法あるいは核酸増幅法が多く使用されていた (資料: 表 18)。表 19 (資料) に非結核性抗酸菌の相対分離頻度を示したが、これは第 13 回調査時と殆ど変わらなかった。

表 20 に結核研究所での感受性検査結果を標準とした場合の各施設での検査結果に関する精度を示した。感度が 38.7-66.4%と低率であるのに対して、

特異度は極めて高く 97.4-99.4%であった。この結果として、 κ 指数も全体に低率であり、0.309-0.669 であった。

D. 考察

2011 年 11 月までに、結核菌 2,915 株の薬剤感受性検査を終了した。臨床情報の提供を受けた検体から、非結核性抗酸菌症及び治療歴不明の検体を除外し、最終的に 2,292 例 (株) について解析を実施した。

INH、RFP、SM 及び EB の各薬剤に対する耐性率は比較的低値であり、最も高率の SM でも未治療患者で 5.6%、既治療患者で 12.3%であった。この値は世界的に見て低率であり、他の薬剤についても同様である。多剤耐性結核についても同様に低率であり、日本の多剤耐性結核率は未治療・既治療ともに世界的に最も低率な地域のひとつと考えられた。

2002 年の第 13 回療研調査との比較では、各薬剤に対する未治療耐性 (any resistance) に関して、耐性率が有意に増加あるいは減少した薬剤は認められなかったが、INH の未治療耐性率が 2002 年の 2.8% から 3.1%にやや上昇しており、統計的有意差はないものの INH 耐性株の増加が考えられた。原因として、潜在結核感染症治療の完遂率の低さ (68.2%程度) があるのではないかとも思われた。

一方、既治療耐性の any resistance では、EB の耐性率が有意に減少していた ($p=0.011$)。さらに既治療多剤耐性結核の比率が有意に減少 ($p=0.023$) しており、なかでも INH+RFP+SM+EB の比率の減少のみが有意であった ($p=0.046$)。これは、近畿地区における既治療 MDR-TB の減少が有意 ($p=0.041$) であったことが影響したものと考えられた。また感染症法の規定により三種病原体を不所持とした施設があることから、今回の研究で収集されなかったために多剤耐性結核の比率が低くなった可能性もある。今回の研究を開始した時点で研究参加 63 施設のうち 27 施設が三種病原体不所持を表明しており、さらに多剤耐性結核菌が分離されても分与しないことを明言した施設もあった。これらのことを考えると、多剤耐性結核菌の比率は過小評価されているかも知れない。

今回無作為に検体を抽出し、LVFX に対する耐性率も評価を行った。これにより、LVFX の未治療及び既治療耐性率は 3.2%及び 6.1%と判明した。LVFX の未治療耐性率は INH にほぼ匹敵する耐性率であった。また、未治療耐性菌に占める Mono resistance の比率が 88.0% (22/25)であり、結核の治療とは関係なく LVFX 耐性が増加していることが示された。これは一般細菌感染症の治療薬としてフルオロキノロンが一般的に使用されていることの影響と考えられた。

合併症と薬剤耐性の関連について解析したが、糖尿病と悪性腫瘍以外は症例数が不十分であり、合併症を持たない群との比較は困難であった。糖尿病において、合併症を持たない群に対して既治療患者での RFP 耐性が有意に高かったが、原因は不明であった。この差は 2002 年時には認められておらず、偶然の結果とも考えられるが、糖尿病と RFP 耐性の関連について精査する必要があるかもしれない。

非結核性抗酸菌の分離比率はおよそ 18.6%であり、これは 2002 年の調査時の 21.7%に対して減少していた。これは菌株の収集ポリシーに由来するものであり、日本における非結核性抗酸菌の減少を示すものではないと考えられた。非結核性抗酸菌のうち *M. avium* complex が占める割合は 77.0%であり、*M. gordonae* と *M. kansasii* がそれぞれ 10.4%と 5.6%で続いていた。この傾向は基本的に 2002 年時とほぼ同じであった。

今回の調査では超多剤耐性結核菌 (Extensively Drug-resistant *M. tuberculosis*: XDR-TB) は 4 株 (全結核菌 2, 915 株中) 認められた。多剤耐性結核菌における XDR-TB の比率は今回の調査では 15.4% (MDR-TB 28 株中) であり、臨床情報を評価し得た 17 株中 1 株 (5.9%) であった。これは 2002 年療研調査時の XDR-TB/MDR-TB 比率 30.9% (19/60) に比べて有意差はないものの大きく減少していた。評価可能な症例が少ないため原因は不明であるが、新規の MDR-TB 患者に XDR-TB 患者が認められなくなったことから、感染制御対策が進んでいるものと考えられた。VNTR (Suppy 15)による解析では、MDR-TB のクラスター形成率 (Genotype が一致した

もの) は 10.7% (3 株) であり、2002 年のクラスター形成率 29%に比べて有意差はないものの大きく減少していた。これも感染制御対策の進展をしめすものと考えられた。

検査法そのものについてみると、蛍光塗抹検査や液体培地による培養・感受性検査の比率が増加しており、蛍光塗抹検査は 80%、液体培養は 50%を超えていた。結核菌の同定はキャピリア TB あるいはアンプリコア MTB で殆どが実施されていた。液体培地による感受性検査も 40%を超えており、前回調査時に液体培地による感受性検査の割合が 11.7%であったのに対して、大幅に増加していた。感度や迅速性に対する要求を満たす形で液体培養・感受性検査や免疫・遺伝子同定が広く普及しているものと考えられた。

E. 結論

第 14 回となる結核療法研究協議会薬剤耐性結核菌全国調査を実施した。INH、RFP、SM 及び EB の耐性率は既治療・未治療ともに低率であり、2002 年時と比較しても低下の傾向であった。既治療患者での多剤耐性結核が減少しており、近畿地域での耐性率の減少が影響していると考えられた。また今回初めて実施した LVFX 耐性調査で INH に匹敵する耐性率が認められており、今後も継続的なモニタリングが必要と考えられた。

F. 健康危機情報

本研究においては、特に多剤耐性菌の感受性検査実施において、感染の危険があった。全ての結核菌の取り扱いには感染症法及びバイオハザード指針に従って BSL3 レベルの実験室内で安全キャビネットを用いて行った。

G. 研究発表

学会発表

1. 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

2. 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 2010年1月8日
3. 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
4. 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
5. 近松絹代, 青野昭男, 山田博之, 水野和重, 菅本鉄広, 西山裕之, 御手洗聡. GenoType[®]MTBDR^{sl} の結核菌薬剤感受性検査に関する検討. 第86回日本結核病学会総会 東京 2011年6月2-3日
6. 近松絹代, 青野昭男, 山田博之, 鹿住祐子, 玉井清子, 柳沢英二, 御手洗聡. Capilia TB-Neo, SD TB Ag MPT64 Rapid 及び BD MGIT TBc Identification Test による結核菌群同定に関する検討. 第23回日本臨床微生物学会総会 横浜 2012年1月21-22日
4. 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.
5. 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[®] MTBDR^{plus} による多剤耐性結核菌同定に関する検討 結核 2011; 86: 697-702.

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし。

<研究協力者>

吉山 崇

結核予防会複十字病院診療部付部長

御手洗聡, 水野和重, 山田博之, 近松絹代, 青野昭男, 菅本鉄広

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

原著論文

1. 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.
2. 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.
3. 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.

表1 研究参加施設

施設名	施設名
国立病院機構函館病院	国立病院機構東名古屋病院
市立室蘭総合病院	国立病院機構三重中央医療センター
国立病院機構札幌南病院	済生会明和病院
労働福祉事業団岩見沢労災病院	京都市立病院
国立病院機構道北病院	大阪市立北市民病院
青森県立中央病院	(公財)結核予防会大阪病院
国立病院機構盛岡病院	大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター
宮城県立循環器・呼吸器病センター	国立病院機構近畿中央胸部疾患センター
国立病院機構茨城東病院	国立病院機構奈良医療センター
国立病院機構宇都宮病院	国立病院機構和歌山病院
埼玉県立循環器・呼吸器病センター	国立病院機構松江病院
国立病院機構大牟田病院	(財)岡山県健康づくり財団附属病院
国立病院機構東京病院	川崎医科大学附属病院
(公財)結核予防会複十字病院	国立病院機構東広島医療センター
川崎社会保険病院	国立病院機構東徳島病院
川崎市立井田病院	国立病院機構愛媛病院
国立病院機構南横浜病院	九州大学胸部疾患研究施設
国立病院機構富山病院	国立病院機構東佐賀病院
金沢市立病院	長崎市立病院成人病センター
長野県立須坂病院	国立病院機構長崎神経医療センター
国立病院機構中信松本病院	国立病院機構西別府病院
国立病院機構千葉東病院	国立病院機構南九州病院
国立病院機構天竜病院	国立病院機構沖縄病院
国立病院機構滋賀病院	
総計 (47 施設)	

表3 解析対象者の合併症

合併症	なし	あり	糖尿病	悪性腫瘍	ステロイド	胃切除	HIV感染	腎不全	肝炎	アルコール依存	その他
例数	1,000	1,292	387	104	73	50	6	45	98	30	541
%	43.6	56.4	30.0	8.0	5.7	3.9	0.5	3.5	7.6	2.3	41.9

主なその他の合併症：脳梗塞後遺症、統合失調症、高血圧症、間質性肺炎、胃潰瘍、じん肺、COPD

表 4b 肺結核のみの患者の薬剤耐性状況

		INH 0.2	INH 1.0	RFP	SM	EB	LVFX*
New	Resistant	61	31	15	107	24	22
	Susceptible	1775	1805	1821	1729	1812	675
	Proportion	3.3%	1.7%	0.8%	5.8%	1.3%	3.2%
Treated	Resistant	23	15	13	23	5	4
	Susceptible	153	161	163	153	171	59
	Proportion	13.1%	8.5%	7.4%	13.1%	2.8%	6.3%

表 4c 肺結核に肺外結核を合併した患者の薬剤耐性状況

		INH 0.2	INH 1.0	RFP	SM	EB	LVFX*
New	Resistant	3	3	0	10	3	3
	Susceptible	211	211	214	204	211	72
	Proportion	1.4%	1.4%	0.0%	4.7%	1.4%	4.0%
Treated	Resistant	1	1	0	1	0	0
	Susceptible	14	12	15	14	15	1
	Proportion	6.7%	6.7%	0.0%	6.7%	0.0%	0.0%

4b と 4c の対応する耐性区分間に有意差無し

表 6a 結核治療歴別（未治療・既治療）薬剤耐性（n=2,292）

	New	Proportion	Pre-treat	Proportion	Combined	Proportion
Total	2097	1.000	195	1.000	2292	1.000
All Susceptible	1886	0.899	136	0.697	2022	0.882
Any Resistance	211	0.101	59	0.303	270	0.118
INH	64	0.031	24	0.123	88	0.038
RFP	15	0.007	13	0.067	28	0.012
SM	118	0.056	24	0.123	142	0.062
EB	27	0.013	5	0.026	32	0.014
LVFX (n=852)	25	0.032	4	0.061	29	0.034
Mono Resistance	147	0.070	21	0.108	168	0.073
INH	36	0.017	7	0.036	43	0.019
RFP	5	0.002	3	0.015	8	0.003
SM	95	0.045	11	0.056	106	0.046
EB	11	0.005	0	0.000	11	0.005
Multi-Drug Resistance	9	0.004	8	0.041	17	0.007
INH + RFP	2	0.001	3	0.015	5	0.002
INH + RFP + EB	3	0.001	1	0.005	4	0.002
INH + RFP + SM	1	0.000	2	0.010	3	0.001
INH + RFP + EB + SM	3	0.001	2	0.010	5	0.002
Poly resistance	23	0.011	11	0.056	34	0.015
INH + EB	3	0.001	2	0.010	5	0.002
INH + SM	13	0.006	7	0.036	20	0.009
EB + SM	3	0.001	0	0.000	3	0.001
INH + EB + SM	3	0.001	0	0.000	3	0.001
RFP + EB	1	0.000	0	0.000	1	0.000
RFP + SM	0	0.000	2	0.010	2	0.001
RFP + EB + SM	0	0.000	0	0.000	0	0.000

表 6b 多剤耐性結核菌における二次抗結核薬の耐性状況（2,915 株）

	KM (20)	CPM (40)	AMK (20)	LVFX (1.0)	ETH (20)	PAS (0.5)	CS (30)	PZA (100)
Resistant	6	5	5	9	9	11	6	14
Susceptible	20	21	21	17	17	15	20	13
Proportion	0.231	0.192	0.192	0.346	0.346	0.423	0.231	0.519

表 6c 多剤耐性結核菌の治療歴と二次抗結核薬の耐性状況

		KM (20)	CPM (40)	AMK (20)	LVFX (1.0)	ETH (20)	PAS (0.5)	CS (30)	PZA (100)
New (n=9)	Resistant	2	2	2	1	3	3	1	3
	Susceptible	7	7	7	8	6	6	8	6
	Proportion	0.222	0.222	0.222	0.111	0.333	0.333	0.111	0.333
Previously treated (n=7)	Resistant	1	0	1	2	2	3	1	5
	Susceptible	6	7	6	5	5	4	6	2
	Proportion	0.143	0	0.143	0.286	0.286	0.429	0.143	0.714
Combined (n=16)	Resistant	3	2	3	3	5	6	2	8
	Susceptible	13	14	13	13	11	10	14	8
	Proportion	0.188	0.125	0.188	0.188	0.313	0.375	0.125	0.500

表 7 年齢階級別薬剤耐性

Age	Category	Result	INH 0.2	INH 1.0	RFP	SM	EB
19≥	New	Resistant	0	0	0	0	0

n=18	Pre-treated	Susceptible	18	18	18	18	18
		Proportion	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
20-29 n=139	New	Resistant	0	0	0	0	0
		Susceptible	0	0	0	0	0
	Treated	Resistant	8	3	1	9	6
		Susceptible	123	128	130	122	125
30-39 n=200	New	Proportion	6.1%	2.3%	0.8%	6.9%	4.6%
		Resistant	1	0	1	2	0
40-49 n=174	Treated	Susceptible	7	8	7	6	8
		Proportion	12.5%	0.0%	12.5%	25.0%	0.0%
50-59 n=268	New	Resistant	7	1	1	16	2
		Susceptible	185	191	191	176	190
60-69 n=315	Treated	Proportion	3.6%	0.5%	0.5%	8.3%	1.0%
		Resistant	1	0	0	1	0
70-79 n=511	New	Susceptible	7	8	8	7	8
		Proportion	12.5%	0.0%	0.0%	12.5%	0.0%
80-89 n=531	Treated	Resistant	7	5	2	14	2
		Susceptible	159	161	164	152	164
90< n=121	New	Proportion	4.2%	3.0%	1.2%	8.4%	1.2%
		Resistant	2	2	0	2	0
	Treated	Susceptible	6	6	8	6	8
		Proportion	25.0%	25.0%	0.0%	25.0%	0.0%
60-69 n=315	New	Resistant	7	3	4	15	2
		Susceptible	235	239	238	227	240
70-79 n=511	Treated	Proportion	2.9%	1.2%	1.7%	6.2%	0.8%
		Resistant	6	4	2	2	3
80-89 n=531	New	Susceptible	20	22	24	24	23
		Proportion	23.1%	15.4%	7.7%	7.7%	11.5%
90< n=121	Treated	Resistant	8	7	2	17	3
		Susceptible	280	281	286	271	285
	New	Proportion	2.8%	2.4%	0.7%	5.9%	1.0%
		Resistant	3	2	3	7	1
70-79 n=511	Treated	Susceptible	24	25	24	20	26
		Proportion	11.1%	7.4%	11.1%	25.9%	3.7%
80-89 n=531	New	Resistant	15	10	3	27	7
		Susceptible	444	449	456	432	452
90< n=121	Treated	Proportion	3.3%	2.2%	0.7%	5.9%	1.5%
		Resistant	8	5	3	5	1
	New	Susceptible	44	47	49	47	51
		Proportion	15.4%	9.6%	5.8%	9.6%	1.9%
80-89 n=531	Treated	Resistant	8	4	1	15	2
		Susceptible	470	474	477	463	476
90< n=121	New	Proportion	1.7%	0.8%	0.2%	3.1%	0.4%
		Resistant	1	1	2	3	0
	Treated	Susceptible	52	52	51	50	53
		Proportion	1.9%	1.9%	3.8%	5.7%	0.0%
90< n=121	New	Resistant	4	1	1	4	2
		Susceptible	104	107	107	104	106
	Treated	Proportion	3.7%	0.9%	0.9%	3.7%	1.9%
		Resistant	2	2	2	2	0
	New	Susceptible	11	11	11	11	13
		Proportion	15.4%	15.4%	15.4%	15.4%	0.0%

表 8 地域別薬剤耐性

Block	Category	Result	INH 0.2	INH 1.0	RFP	SM	EB
北海道 東北 162	New	Resistant	5	0	1	6	3
		Susceptible	151	156	155	150	153
		Proportion	3.2%	0.0%	0.6%	3.8%	1.9%
	Treated	Resistant	0	0	0	0	0
		Susceptible	6	6	6	6	6
		Proportion	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
関東 833	New	Resistant	21	11	5	51	11
		Susceptible	729	739	745	699	739
		Proportion	2.8%	1.5%	0.7%	6.8%	1.5%
	Treated	Resistant	8	6	6	8	3
		Susceptible	75	77	77	75	80
		Proportion	9.6%	7.2%	7.2%	9.6%	3.6%
中部 北陸 198	New	Resistant	6	4	0	8	2
		Susceptible	182	184	188	180	186
		Proportion	3.2%	2.1%	0.0%	4.3%	1.1%
	Treated	Resistant	1	1	0	1	0
		Susceptible	9	9	10	9	10
		Proportion	10.0%	10.0%	0.0%	10.0%	0.0%
近畿 506	New	Resistant	24	15	6	31	4
		Susceptible	433	442	451	426	453
		Proportion	5.3%	3.3%	1.3%	6.8%	0.9%
	Treated	Resistant	5	4	3	7	1
		Susceptible	44	45	46	42	48
		Proportion	10.2%	8.2%	6.1%	14.3%	2.0%
中国 四国 202	New	Resistant	4	2	2	8	4
		Susceptible	185	187	187	181	185
		Proportion	2.1%	1.1%	1.1%	4.2%	2.1%
	Treated	Resistant	3	1	1	4	1
		Susceptible	10	12	12	9	12
		Proportion	23.1%	7.7%	7.7%	30.8%	7.7%
九州 391	New	Resistant	4	2	1	14	3
		Susceptible	353	355	356	343	354
		Proportion	1.1%	0.6%	0.3%	3.9%	0.8%
	Treated	Resistant	7	4	3	4	0
		Susceptible	27	30	31	30	34
		Proportion	20.6%	11.8%	8.8%	11.8%	0.0%

表 9 性別薬剤耐性

Sex	Category	Result	INH 0.2	INH 1.0	RFP	SM	EB	LVFX
男性 N=1,573*	New	Resistant	42	24	11	77	20	13
		Susceptible	1376	1394	1407	1341	1398	520
		Proportion	3.0%	1.7%	0.8%	5.4%	1.0%	2.4%
	Treated	Resistant	21	14	12	18	5	4
		Susceptible	134	141	143	137	150	51
Proportion		13.5%	9.0%	7.7%	11.6%	3.2%	7.3%	
女性 N=719**	New	Resistant	22	10	4	41	7	12
		Susceptible	657	669	675	638	672	241
		Proportion	3.2%	1.5%	0.6%	6.0%	1.0%	4.7%
	Treated	Resistant	3	2	1	6	0	0
		Susceptible	37	38	39	34	40	11
Proportion		7.5%	5.0%	2.5%	15.0%	0.0%	0.0%	

*LVFX のみ 588

**LVFX のみ 264

表 10 2007 年ブロック別菌陽性統計情報に基づく薬剤感受性結果補正值*

Drug		New	Previously-treated
INH 0.2	Raw	3.1	12.3
	Adjust	3.2 (1.1, 5.3)	11.3 (8.0, 15.5)
INH 1.0	Raw	1.6	8.2
	Adjust	1.7 (0.1, 3.4)	7.9 (5.3, 11.7)
RFP	Raw	0.7	6.7
	Adjust	0.7 (0.2, 1.2)	5.3 (3.2, 8.5)
SM	Raw	5.6	12.3
	Adjust	5.6 (3.4, 7.8)	11.8 (8.5, 16.1)
EB	Raw	1.3	2.6
	Adjust	1.3 (0.6, 1.9)	2.1 (1.0, 4.6)
LVFX	Raw	3.2	6.1
	Adjust	3.1 (1.3, 4.8)	5.1 (2.8, 12.8)

*2007 年の結核統計より、北海道東北、関東、中部北陸、近畿、中国四国、九州の各ブロックごとの菌陽性患者数を用いて、ブロック毎に重みづけした補正值（括弧内は 95%信頼区間）

表 11 合併症別薬剤耐性：合併症無し (n=1,000: 男性 645, 女性 355)

		INH 0.2	INH 1.0	RFP	SM	EB	LVFX*
New	Resistant	28	11	8	45	15	11
	Susceptible	893	910	913	876	906	325
	Proportion	3.0%	1.2%	0.9%	4.9%	1.6%	3.3%
Treated	Resistant	10	6	5	13	2	2
	Susceptible	69	67	74	66	77	21
	Proportion	12.7%	7.6%	6.3%	16.5%	2.5%	8.7%

*LVFX のみ n=359

表 12 合併症別薬剤耐性：糖尿病 (n=387: 男性 301, 女性 86)

		INH 0.2	INH 1.0	RFP	SM	EB	LVFX*
New	Resistant	11	10	3	22	4	5
	Susceptible	339	340	347	328	346	123
	Proportion	3.1%	2.9%	0.9%	6.3%	1.1%	3.9%
Treated	Resistant	8	7	7	5	3	2
	Susceptible	29	30	30	32	34	12
	Proportion	21.6%	18.9%	18.9%	13.5%	8.1%	14.3%

*LVFX のみ n=142

合併症無し vs 糖尿病：未治療 INH 1.0: p=0.038, 既治療 RFP: p=0.038, その他有意差無し

表 13 合併症別薬剤耐性：悪性腫瘍 (n=104: 男性 80, 女性 24)

		INH 0.2	INH 1.0	RFP	SM	EB	LVFX
New	Resistant	5	4	0	5	1	2
	Susceptible	86	87	91	86	90	37
	Proportion	5.5%	4.4%	0%	5.5%	1.1%	5.1%
Treated	Resistant	0	0	0	0	0	0
	Susceptible	13	13	13	13	13	7
	Proportion	0%	0%	0%	0%	0%	0%

*LVFX のみ n=46

合併症無し vs 悪性腫瘍：未治療 INH 1.0: p=0.016, その他有意差無し

表 14 合併症別薬剤耐性：ステロイド使用 (n=73: 男性 40, 女性 33)

		INH 0.2	INH 1.0	RFP	SM	EB	LVFX
New	Resistant	2	1	0	2	0	0
	Susceptible	65	66	67	65	67	28
	Proportion	3.0%	1.5%	0%	3.0%	0%	0%
Treated	Resistant	1	1	0	2	0	0
	Susceptible	5	5	6	4	6	3
	Proportion	16.7%	16.7%	0%	33.3%	0%	0%

*LVFX のみ n=31

合併症無し vs ステロイド使用：有意差無し

表 15 塗抹検査法と陽性度（結核診断のみ）

方法		陽性度（相対比率%）				
		-	±	1+	2+	3+
チール・ネールゼン法 (n=302)	13.2%	105 (34.8)	1 (0.3)	94 (31.1)	58 (19.2)	44 (14.6)
蛍光法 (n=1,982)	86.8%	560 (28.3)	6 (0.3)	586 (29.6)	422 (21.3)	408 (20.6)
合計		665	7	680	480	452

χ^2 検定： χ^2 値=9.3754, p=0.064（陽性度）

表 16 参加施設における抗酸菌分離培養法

Method	No. of Laboratory	No. of specimen	%
Ogawa	36	1,171	39.2
MGIT	30	1,655	55.5
BacT/ALERT3D	3	115	3.9
MYCO-F	1	1	0.03
MB/BacT	1	25	0.8
Bit medium	1	16	0.5
Kudoh PD	1	1	0.03
Total		2,984	100.0

表 17 参加施設における結核菌薬剤感受性検査方法

DST method	No. of specimens	%
MGIT AST	736	32.1
Welpack S	634	27.7
Bit spectre SR	482	21.0
BrothMIC MTB-I	224	9.8
Outsource	87	3.8
Ogawa standard (1%)	55	2.4
Unknown	74	3.2
Total	2,292	100.0

表 18 対象菌株の各施設における同定方法（複数回答）

Method	No. of specimen	%
Capilia TB	1,000	43.6
Amplicor MTB	1,284	56.0
DDH	25	1.1
Accu-probe	149	6.5
Niacin accumulation test	26	1.1
Bio-chemical testing	8	0.3
PCR	18	0.8
Total	2,292	100.0

表 19 非結核性抗酸菌の分離頻度（無作為抽出 n=443）

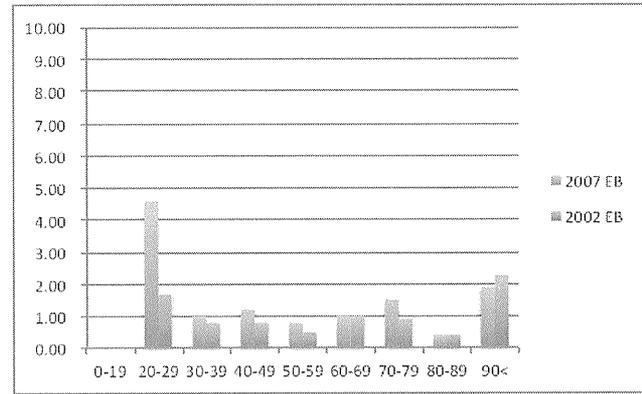
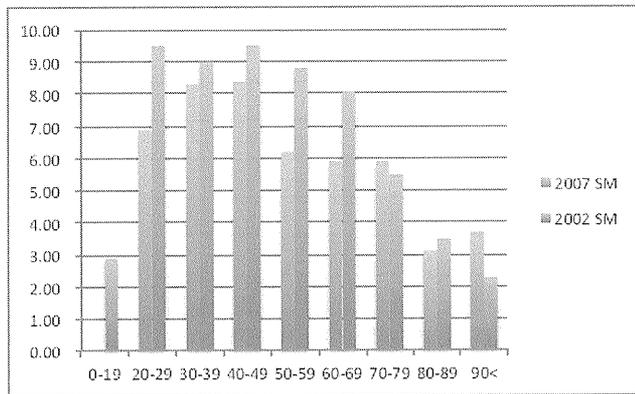
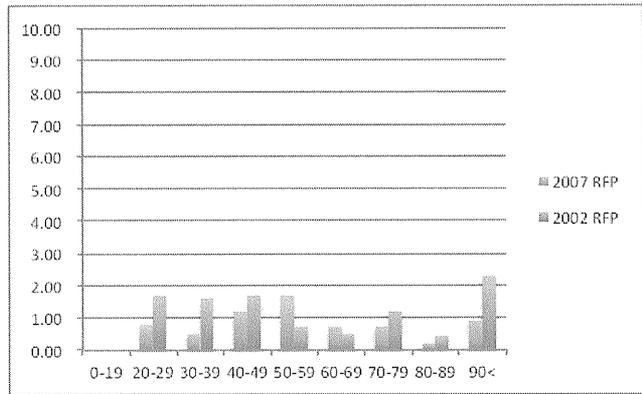
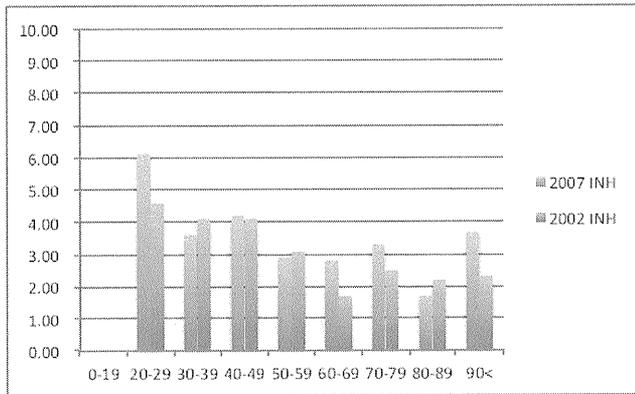
菌種	分離数	比率 (%)
<i>M. avium</i> complex	341	77.0
<i>M. goodii</i>	46	10.4
<i>M. kansasii</i>	25	5.6
<i>M. abscessus</i>	7	1.6
<i>M. mucogenicum</i>	7	1.6
<i>M. lentiflavum</i>	4	0.9
<i>M. xenopi</i>	3	0.7
<i>M. fortuitum</i>	2	0.5
<i>M. chelonae</i>	1	0.2
<i>M. scrofulaceum</i>	1	0.2
<i>M. triviale</i>	1	0.2
<i>M. nonchromogenicum</i>	1	0.2
<i>M. shimoidei</i>	1	0.2
<i>M. asiaticum</i>	1	0.2
<i>M. peregrinum</i>	1	0.2
同定不能	1	0.2

表 20 結核研究所判定を標準とした各施設での薬剤感受性検査精度

Category	INH (0.2)	INH (1.0)	RFP	SM	EB
True Resistant	53	25	17	93	12
False Resistant	55	18	12	37	32
True Susceptible	2052	1631	2160	2020	2131
False Susceptible	32	14	9	47	19
Total	2192	1688	2198	2197	2194
Sensitivity	0.624	0.641	0.654	0.664	0.387
Specificity	0.974	0.989	0.994	0.982	0.985
Predictive Value R	0.491	0.581	0.586	0.715	0.273
Predictive Value S	0.985	0.991	0.996	0.977	0.991
Efficiency	0.960	0.981	0.990	0.962	0.977
Kappa coefficient	0.529	0.600	0.613	0.669	0.309
False resistant rate	0.025	0.011	0.005	0.017	0.015
False susceptible rate	0.015	0.008	0.004	0.021	0.009

図2 2002年と2007年の年齢階級別耐性率比較

未治療耐性



既治療耐性

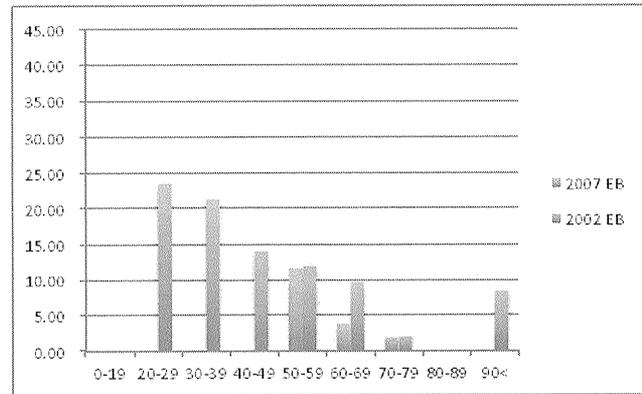
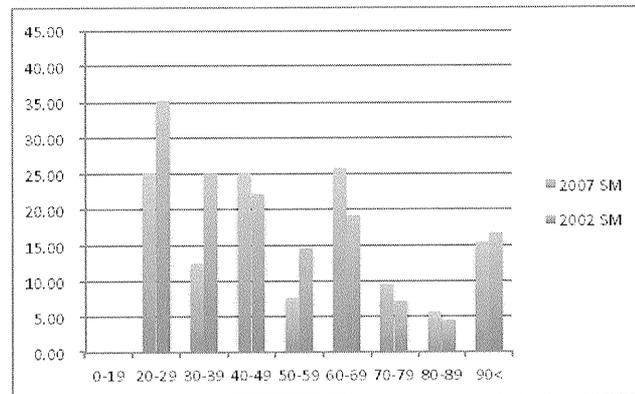
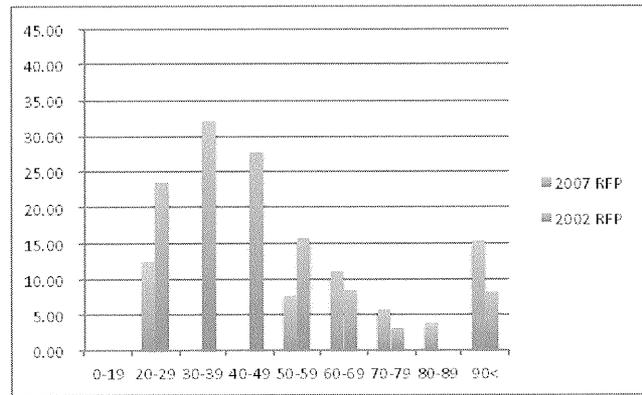
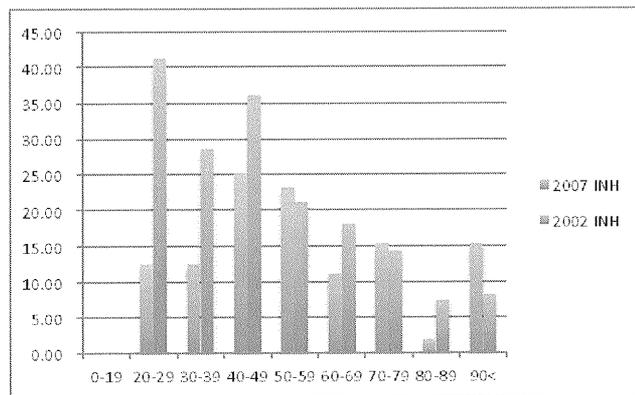
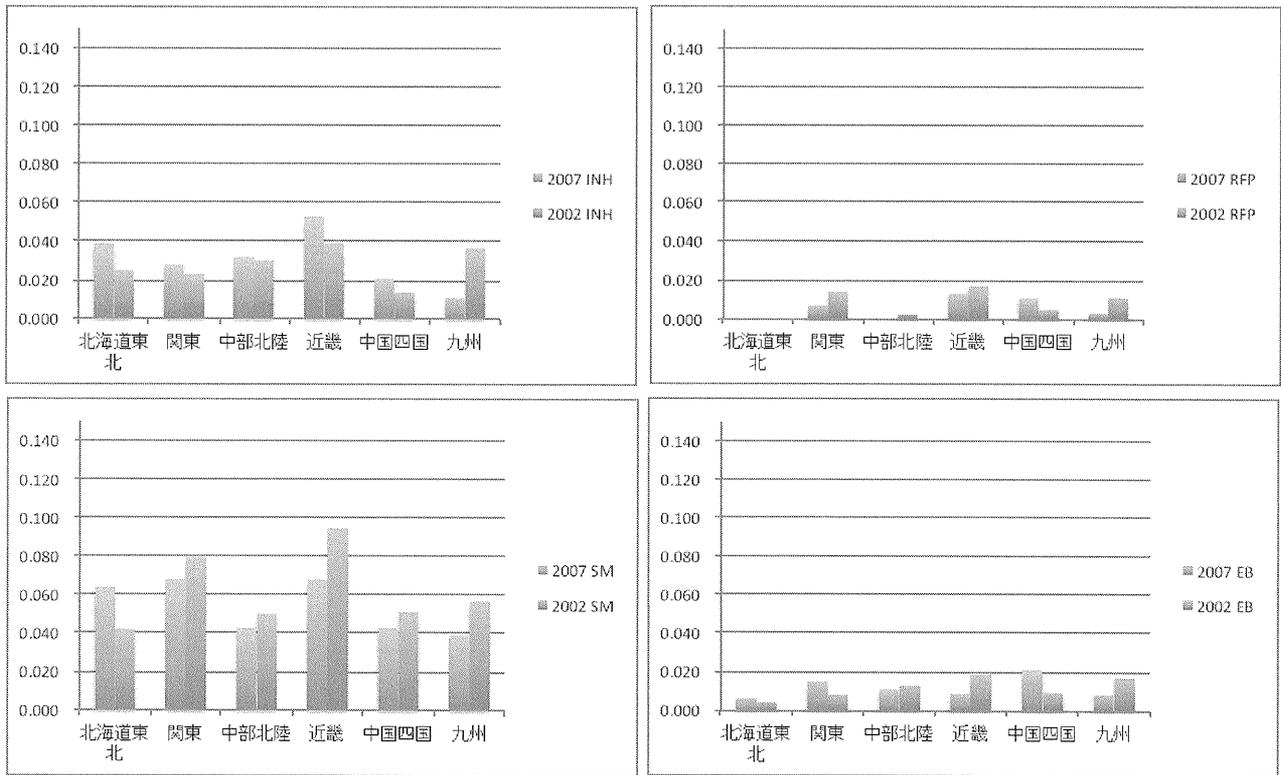


図3 2002年と2007年の地域別耐性率比較
未治療



未治療

