

- 触者健康診断の手引き, 改訂第4版, 2010, 13.
- 7) 徳永 修, 宮野前健: 小児へのQFT等の適用とその課題. 第84回総会シンポジウム「新しい結核感染診断法の課題と展望」. 結核. 2010; 85: 21-23.
 - 8) Pai M, Dheda K, Cunningham J, et al.: T-cell assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: moving the research agenda forward. *Lancet Infect Dis.* 2007; 7: 428-438.
 - 9) 樋口一恵, 原田登之: Interferon-gamma release assays (IGRAs) の研究課題. 結核. 2009; 84: 173-186.
 - 10) 松本健二, 辰巳朋美, 神谷教子, 他: 結核集団接触者健診におけるツベルクリン反応とQFTを用いた感染のリスクの検討. 結核. 2010; 85: 547-552.
 - 11) Menzies D, Pai M, Comstock G, et al.: Meta-analysis: New tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: Areas of uncertainty and recommendations for research. *Ann Intern Med.* 2007; 146: 340-354.
 - 12) 原田登之: QFTの精度管理と感度向上に関する研究成果. 第84回総会シンポジウム「新しい結核感染診断法の課題と展望」. 結核. 2010; 85: 18-20.
 - 13) Harada N, Higuchi K, Yoshiyama T, et al.: Comparison of the sensitivity and specificity of two whole blood interferon-gamma assays for *M. tuberculosis* infection. *J Infect.* 2008; 56: 348-353.
 - 14) Higuchi K, Kawabe Y, Mitarai S, et al.: Comparison of performance in two diagnostic methods for tuberculosis infection. *Med Microbiol Immunol.* 2009; 198: 33-37.
 - 15) Diel R, Loddenkemper R, Meywald-Walter K, et al.: Comparative performance of tuberculin skin test, QuantiFERON-TB-Gold in tube assay, and T-Spot. TB test in contact investigation for tuberculosis. 2009; 135: 1010-1018.
 - 16) 徳永 修, 宮野前健: 小児潜在性結核感染の診断と治療: 現状と課題. 第83回総会シンポジウム「潜在性結核感染症治療のあり方」. 結核. 2008; 83: 756-759.
 - 17) 山口淳一, 大場有功, 金田美恵, 他: クオンティフェロン®TB-2G検査陰性者から複数の発病者が発生した集団感染事例について. 結核. 2007; 82: 629-634.
 - 18) 永井英明, 川辺芳子, 有賀晴之, 他: HIV感染症における結核感染診断に対してのQuantiFERON®-TB第2世代の有用性についての検討. 結核. 2007; 82: 635-640.
 - 19) Sepkowitz KA: How contagious is tuberculosis? *Clinical Infectious Disease.* 1996; 23: 954-962.
 - 20) 吉山 崇, 原田登之, 樋口一恵, 他: 接触者検診のためのクオンティフェロン®TB-2G検査のタイミングについて. 結核. 2007; 82: 655-658.
 - 21) Lee SW, Oh DK, Lee SH, et al.: Time interval to conversion of interferon- γ release assay after exposure to tuberculosis. *Eur Respir J.* 2011; 37: 1447-1452.
 - 22) Van Zyl-Smit RN, Pai M, Pehrah K, et al.: Within-subject variability and boosting of T-cell interferon-gamma responses after tuberculin skin testing. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009; 180: 49-58.
 - 23) Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, et al.: Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004; 170: 65-69.
 - 24) 厚生省保健医療局疾病対策課結核・感染症対策室長通知: 初感染結核に対するINHの投与について. 平成元年2月28日.

Original Article

COMPARATIVE PERFORMANCE OF TUBERCULIN SKIN TEST AND QuantiFERON®TB-GOLD IN CONTACT INVESTIGATIONS FOR TUBERCULOSIS

¹Jun KOMUKAI, ¹Kenji MATSUMOTO, ¹Akiko TOMIHARA, ¹Yuki MIYAKE,
¹Tomomi TATSUMI, ¹Kazuyo ARIMA, ¹Katsura DANNO, ¹Satoshi HIROTA,
¹Hideki YOSHIDA, ¹Shinichi KODA, ¹Kazuhiko TERAKAWA, and ²Akira SHIMOUCI

Abstract [Objectives] To evaluate the performances of the QuantiFERON®TB-Gold assay (QFT) and tuberculin skin test (TST) and to examine how a latent tuberculosis infection (LTBI) should be diagnosed in contact investigations of children aged 6 to 17 years.

[Methods] A total of 232 boys and girls aged 6 to 17 years who were in contact with 134 culture-confirmed pulmonary tuberculosis patients (index cases) were examined both with QFT and TST. Factors influencing the results of the tests and their interactions were evaluated with multivariate analyses.

[Results] Two variables (whether household contact and with/without contact with a cavitary disease patient) were found to significantly predict a positive QFT result. Positive TST defined with erythema being either greater than 20 mm or 30 mm correlated significantly with two variables (whether household contact and with/without contact with a smear positive patient). There was moderate agreement between QFT and TST (positivity defined as with erythema greater than 30 mm), with kappa=0.49, for contacts aged 6 to 11 years. Among contacts aged 6 to 11 years, 14 had a negative QFT result and TST with erythema greater than 30 mm. Of these 14,

7 contacts (50%) of smear positive index case were not indicated for LTBI treatment.

[Conclusions] When diagnosing LTBI among contacts aged 6 to 11 years who show negative QFT and strong TST reactions, we should take into consideration the factors related with a higher probability to the risk of infection. Because a history of past BCG vaccination is more likely to affect TST results in those aged 12 to 17 years than in younger subjects, greater care must be taken when evaluating the TST of these contacts.

Key words : Pediatric tuberculosis, Contact investigation, QuantiFERON®TB-Gold, Tuberculin skin test, Latent tuberculosis infection, Bacillus Calmette-Guérin vaccination

¹Osaka City Public Health Office, ²Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association

Correspondence to: Jun Komukai, Osaka City Public Health Office, 1-2-7-1000, Asahimachi, Abeno-ku, Osaka-shi, Osaka 545-0051 Japan.
(E-mail: j-komukai@city.osaka.lg.jp)

接触者健診における発病例の検討

¹松本 健二 ¹三宅 由起 ¹有馬 和代 ¹小向 潤
¹團野 桂 ¹吉田 英樹 ¹廣田 理 ¹甲田 伸一
¹寺川 和彦 ²下内 昭

要旨:〔目的〕接触者健診で発見された結核発病例を分析・評価することにより今後の対策に役立てる。〔方法〕2005～2008年、大阪市の接触者健診で二次患者が発生した事例における初発患者と二次患者を対象とした。感染診断はツベルクリン反応,あるいはQFTを行った。発病の有無は胸部エックス線検査によって行われ,原則として接触者健診直後,6カ月後,1年後,2年後に行われた。〔結果〕①初発患者の状況:二次患者を認めた初発患者は131例で,空洞を認めた例は67.7%,喀痰塗抹3+は51.5%であった。3カ月以上の発見の遅れは50.4%であった。②二次患者の状況:二次患者は177例で,このうち6カ月未満に107例が発見された。6カ月後から2年後健診で発見された二次患者70例のうち,年齢のため感染診断を行わなかった例は50%であり,内訳は40歳代が11例,50歳代が8例,60歳以上が16例であった。また,潜在性結核感染症と診断されたが治療を拒否あるいは中断し発病した例が17.1%であった。〔考察〕二次患者の発生を少なくするためには,初発患者の発見の遅れを改善することが重要であると考えられた。6カ月以降の二次患者の発生では,年齢のため感染診断をせずに発病した例が多かったため,感染リスクや,発病リスクなどに応じた年齢の設定が今後の課題と考えられた。また,潜在性結核感染症治療を患者が拒否あるいは中断し,発病に至った例が多く,入念な説明が必要と考えられた。

キーワード:接触者健診, 初発患者, 二次患者, 潜在性結核感染症, 感染診断, 発見の遅れ

緒 言

大阪市の2008年の患者発見率は,一般住民における結核健診では0.03% (14/52583)であったが,接触者健診では0.47% (37/7937)であった¹⁾。接触者健診で発見された結核患者の中には初発患者の発見の遅れが著明であった例や,接触者健診において感染診断が不要と診断されその後発病した例や,潜在性結核感染症と診断されたが治療を拒否あるいは中断後に発病した例が含まれていた²⁾。振り返ってみれば発病予防が可能であったと考えられる例が少なくない。しかし,これまで接触者健診における発病例を詳細に検討した報告は見当たらなかった。

今回,大阪市の接触者健診において発見された結核発病例を分析・評価することにより若干の知見を得たので

報告する。

対象と方法

2005～2008年,大阪市の結核接触者健診で二次患者が発生したと考えられた事例における初発患者と二次患者を対象とした。初発患者と二次患者の遺伝子型別解析 (Variable number of tandem repeats, VNTRあるいはRestriction fragment length polymorphism, RFLP)を実施した例で不一致であった例は除外した。接触者健診は大阪市保健所作成の結核対策マニュアルに基づいて,各区保健福祉センターあるいは保健所の医師らによって行われた。すなわち,感染源と考えられる初発患者の感染性の高さと,接触者の発病リスクや接触状況の濃厚度から接触者健診の要否を判定した。感染診断はツベルクリン反

¹大阪市保健所, ²結核予防会結核研究所

連絡先: 松本健二, 大阪市保健所, 〒545-0051 大阪府大阪市阿倍野区旭町1-2-7-1000
 (E-mail: ke-matsumoto@city.osaka.lg.jp)
 (Received 12 Jul. 2011/Accepted 10 Sep. 2011)

応（ツ反），あるいはQuantiFERON®-TB 2nd Generation（QFT）が行われた。QFTは2007年より，一部の接触者に検査され，2008年5月より本格導入となった。潜在性結核感染症の対象年齢は2005年から2007年までは原則として39歳以下で，2008年より49歳以下と拡大した。発病の有無は胸部エックス線検査（胸部XP）によって行われ，必要に応じて喀痰検査や胸部CT検査が追加された。胸部XPは原則として接触者健診直後，6カ月後，1年後，2年後に行われた。

主な調査項目は，①初発患者：病型，菌検査結果，発見の遅れ，②二次患者：初発患者との最終接触から発病までの期間，病型，菌検査結果，感染診断の有無と行わなかった理由，潜在性結核感染症（Latent tuberculosis infection, LTBI）治療状況であった。

要因の比較は連続量についてはt検定，離散量については χ^2 検定あるいはFisherの直接法を用い，5%未満を有意差ありとした。

結 果

（1）初発患者の状況：接触者健診において二次患者を伴った初発患者は131例であった。このうち複数の二次患者を伴った者は22例であった。平均年齢は50.1±18.2歳であった。症状では咳を認めた例は92.4%（121/131）であった。病型では空洞を認めた例は67.7%（88/130）

と高率であった。喀痰培養検査は全例陽性であり，喀痰塗抹陰性は3.1%（4/130）と少なく，喀痰塗抹3+は51.5%（67/130）と半数を超えた。初発患者の発見の遅れ（発病から診断まで3カ月以上）は50.4%（66/131）であった。また，複数の発病例を伴った22例では，喀痰塗抹3+は77.3%（17/22）で，発見の遅れは77.3%（17/22）と高率に認めた。2007年新登録の二次患者を伴わなかった菌陽性肺結核患者との比較では平均年齢で有意に若く，空洞あり，喀痰塗抹量，発見の遅れの割合がいずれも有意に高かった（Table 1）。

（2）二次患者の状況：二次患者は177例であり，このうち6カ月未満に107例，6カ月後から2年後健診までに70例が発見された。平均年齢は40.7±18.5歳であった。肺結核は153例で，肺外結核は24例であり，そのうち17例が胸膜炎であった。肺結核のうち，病型で空洞を認めなかった例は85.0%（130/153）であった。喀痰塗抹陰性は81.1%（137/169），塗抹3+は3.0%（5/169）のみであった。初発患者と遺伝子型別の一致を確認できたのは42例であった（Table 2）。なお，今回の研究で遺伝子型別が不一致で除外したのは5例であった。

（3）6カ月後から2年後健診における発病例の検討：接触者健診の6カ月後から2年後健診で二次患者は70例が発見された。このうち年齢のため感染診断を行わなかった者は50%（35/70）であり，内訳は40歳代が11例，

Table 1 Comparison of characteristics between index cases (2005–2008) with and without secondary cases

	No. of index cases with secondary cases (%)	No. of index cases with multiple secondary cases (%)	No. of cases without secondary cases** (%)
Sex			
Male	102 (77.9)	16 (72.7)	702 (77.4)
Female	29 (22.1)	6 (27.3)	205 (22.6)
Total	131 (100)	22 (100)	907 (100)
Age (years)			
Mean	50.1*	43.6	61.5
SD	18.2	14.2	17.0
Cough			
No	10 (7.6)	0 (0)	
Yes	121 (92.4)	22 (100)	
Cavity			
Absent	42 (32.3)*	7 (31.8)	511 (57.7)
Present	88 (67.7)	15 (68.2)	375 (42.3)
Degree of smear positivity			
—	4 (3.1)*	0 (0)	255 (30.1)
1+	21 (16.2)	3 (13.6)	287 (33.8)
2+	38 (29.2)	2 (9.1)	195 (23.0)
3+	67 (51.5)	17 (77.3)	111 (13.1)
Interval between onset and diagnosis (months)			
Mean	4.8*	5.4	2.3
SD	8.5	3.7	4.5
3 months or longer	66/131 (50.4)*	17/22 (77.3)	155/728 (21.3)

* $P < 0.01$, tested by χ^2 test or t-test

**bacillary (+) pulmonary TB cases (2007)

50歳代が8例, 60歳以上が16例であった。年齢以外の理由で感染診断を行わなかった者は13例(18.6%)で, 主治医が不要と判断した者が6例, 患者が拒否した者が5例, 保健所における接触者健診検討会で不要とした者が2例であった。すなわち発病70例のうち感染診断を行わなかった者は68.6%(48/70)と多くを占めた。

その他では, 感染診断を行い感染なしと診断したが発病した者は8例(11.4%)であった。内訳はQFT陰性が1例, QFT検査を行わずツ反のみで診断した者では, ツ

反発赤径30mm未満が4例, 30mm台が1例, 50mm台が2例で, それぞれ感染リスクが総合的に検討され, 感染なしと診断された。

感染ありと診断されたが, LTBI治療を拒否あるいは中断し発病した者が12例(17.1%)あった。服薬中断までの期間はいずれも2カ月以内であり, 発病までの期間は6~21カ月であった。このうち1例はQFT陰性であったがツ反発赤径61mm, 水疱ありのためLTBIの適用となったが治療を拒否した。LTBI治療中あるいは完遂し

Table 2 Characteristics of the secondary cases

	The period from contact with an index case to onset (months)		
	<6 N=107 (%)	6-24 N=70 (%)	Total N=177 (%)
Age (years)			
Mean	39.0	43.8	40.7
SD	18.0	19.1	18.5
Cavity (Pulmonary TB)			
Absent	85 (88.5)	45 (78.9)	130 (85.0)
Present	11 (11.5)	12 (21.1)	23 (15.0)
Degree of smear positivity			
—	81 (80.2)	56 (82.4)	137 (81.1)
1+	13 (12.9)	5 (7.4)	18 (10.7)
2+	5 (5.0)	4 (5.9)	9 (5.3)
3+	2 (2.0)	3 (4.4)	5 (3.0)
Case-finding delay of index cases (months)			
Mean	5.3	4.3	4.9
SD	7.4	7.6	7.5
3 months or longer	67/107 (62.6)	35/70 (50.0)	102/177 (57.6)
Pulmonary TB	96	57	153
Extra-pulmonary TB	11	13	24
No. of case with isolate of the identical DNA fingerprint* with index case's strain	25	17	42

*Variable number of tandem repeats or Restriction fragment length polymorphism

Table 3 Analysis of factors possibly related to clinical development of disease in the secondary cases during 6-24 months after the last contact with index cases

	No. (%)	No.	
Neither TST nor QFT was done because of old ages	35 (50.0)	Age of secondary cases	
		40-49 (years)	11
		50-59	8
		60-	16
Neither TST nor QFT was done for the reasons other than old ages	13 (18.6)	Health center's instruction	2
		Instruction of physician in charge	6
		The patient's refusal	5
Diagnosed as infection-free by TST and/or QFT	8 (11.4)	QFT-negative	1
		TST (erythema diameter)	
		<30 (mm)	4
		30-39	1
		50-59	2
LTBI treatment refused/discontinued	12 (17.1)		
LTBI treatment completed or still continued	2 (2.9)		
Total	70 (100)		

TST: tuberculin skin test, QFT: QuantiFERON-TB Gold, LTBI: Latent tuberculosis infection treatment

たが発病した者が2例(2.9%)であった(Table 3)。

考 察

接触者健診の二次患者の発生は、対策上2つの型に分けることができる。1つは、感染源と考えられる初発患者を発見後、感染診断を行う時間的余裕がなく二次患者が発生する場合である。通常、初発患者の感染性期間が長いことが多い。2つ目は、感染診断を行い発病対策などができる場合である。感染ありと診断した場合は、適応があればLTBI治療を行い、発病を予防する。あるいは胸部XPなどで発病の早期発見に努める。

1つ目の、直後に二次患者を発生させないためには、感染源患者の咳の期間が3カ月以上で集団感染が多かったという報告³⁾があるように、発見の遅れを防ぐことが重要であると考えられた。今回の研究では、初発患者の発見の遅れを半数程度に認め、二次患者を発生しなかった2007年の菌陽性肺結核患者の発見の遅れより有意に高率であった。また、複数の二次患者を伴った初発患者の発見の遅れは一段と高率であった。しかし、二次患者を直後に認めた初発患者と、6カ月以降に認めた初発患者では有意差はなく、ともに発見の遅れは高率であった。これまで多くの報告^{4)~7)}があるように、今回の検討でも二次患者を伴う初発患者は空洞ありや喀痰塗抹量が有意に多かった。特に複数の二次患者を伴った場合その傾向はいっそう明らかとなった。受診の遅れなど発見の遅れのある患者ではより高感染性で見つかるという報告⁸⁾⁹⁾があるように、発見の遅れを防ぐことが重要であると考えられた。

2つ目の感染診断を行う時間的余裕がある場合であるが、通常、接触者の感染リスクや発病リスクを評価し、リスクの高い者に感染診断を行う。大阪市保健所では、感染リスクの評価を、感染源と考えられる初発患者の感染性、接触者との接触状況、接触時間や接触した場所の環境などの感染リスクを総合的に評価し、感染診断の必要性の有無を検討してきた¹⁰⁾。今回、6カ月後から2年後健診までに二次患者が70例発見された。これらは感染診断を行い、LTBI治療を行うことが可能であった症例である。

年齢のため感染診断をせず発病に至った症例は50%(35/70)であった。大阪市保健所では2005年から2007年までは原則として39歳以下の接触者に感染診断を行ってきた。しかし、2007年4月に結核予防法が廃止され感染症法に統合され、この時にLTBI治療の年齢制限が撤廃された。大阪市ではこれを受けてこれまで39歳以下であった感染診断の年齢制限を2008年より49歳以下と拡大した。本研究では、年齢制限により感染診断を行わなかった接触者で二次患者が数多く発生した。したがっ

て、感染リスクや発病リスクの高い者では年齢にかかわらず感染診断を行い、感染があればLTBI治療によって発病予防することが望ましいと考えられた。ただし、年齢が高くなるほど既感染率が高くなるため、感染ありと診断しても今回の感染であるかどうかの判断は慎重に行う必要がある。ATS/CDCの声明では、最近感染した可能性が高い者など、発病のリスクが高い者に感染診断を行うべきである¹¹⁾となっているが、これは主として副作用との損益バランスによるものである。また、感染があり、発病のリスクが高い者にLTBI治療を行う場合でも、主たる治療薬であるisoniazidは30歳以上では29歳以下に比べて肝障害が明らかに多いという報告¹²⁾など、年齢が高い者で副作用が多いという報告¹³⁾が見られたため、高齢者ではLTBI治療も慎重に行う必要があると考えられた。しかし、2010年6月の結核の接触者健診の手引き(改訂第4版)において「ハイリスク接触者や濃厚接触者などに対しては、50歳以上の場合でもQFT検査による結核感染のスクリーニング検査を従来よりも積極的に実施することを推奨する」と報告¹⁴⁾されたように、年齢の上限を設けることなく感染診断を行うべきかどうかを検討する必要があると考えられた。ただし、これまで高齢の者に対するLTBI治療の利益や不利益は十分に検討されてこなかったため、感染リスクや、発病リスクなどに応じた年齢の設定が今後の課題と考えられた。

本研究では、年齢以外の理由で感染診断せず、13例(18.6%)の接触者が発病した。このうち5例は接触者が感染診断を拒否したが、残る8例は主治医あるいは接触者健診検討会で感染診断は不要と判断したものであった。二次患者が発生したことより、感染診断不要の判断は適切でなかった可能性がある。すなわち、感染リスクや発病リスクの評価、初発患者や接触者、接触したときの情報などが十分でなかったと考えられた。

また、感染診断したが、感染なしと診断した二次患者が8例(11.4%)いた。このうち1例はQFT陰性で、残る7例はQFTを行わず、ツ反のみで診断された。ツ反で感染なしと診断された7例ではツ反発赤30mm未満が4例含まれているが、いずれも感染リスクなどが総合的に評価されたものである。大阪市保健所では、QFTは2007年より一部の接触者に検査され、2008年5月より本格導入となった。QFTが行われていれば、より精度の高い感染診断が行えたと考えられた。すなわち、QFTは、感染のgold standardがないため活動性結核が対象であるが、感染診断における感度が89%、特異度が98%とMoriらが報告¹⁵⁾している。

一方、今回の研究でLTBI治療の適応と診断したものは1231例であった。このうち治療完遂数は不明であるが、拒否あるいは中断し、発病した者が12例いた。われ

われの2006年の個別接触者健診における調査では治療完遂率は75%にとどまった²⁾ようにLTBI治療の治療完遂率は決して高くはないと考えられた。LTBI治療が発病予防に有効であることが明らかである^{2) 16) 17)}にもかかわらず、治療を拒否あるいは中断する者が多い。症状がなく、胸部XPでも活動性結核を認めないLTBIでは、患者に対して「結核における感染と発病の違い」「LTBI治療の有効性」「治療期間と薬の種類・量」「薬の副作用」など入念な説明が必要と考えられた。

ま と め

二次患者の発生を少なくするためには、初発患者の発見の遅れを改善することが重要であると考えられた。6カ月以降の二次患者の発生では、年齢のため感染診断をせずに発病した例が多かった。感染リスクや、発病リスクなどに応じた年齢の設定が今後の課題と考えられた。また、年齢が理由でなく、感染診断は不要であると誤った判断を行った例が少なくなく、適切な感染リスクや発病リスクの評価、ならびに十分な疫学調査が必要と考えられた。LTBI治療を患者が拒否あるいは中断し、発病に至った例が多く、入念な説明が必要と考えられた。

謝 辞

本報告は厚生労働科学研究費補助金「新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業」主任研究者 石川信克、結核予防会結核研究所「地域における効果的な結核対策の強化に関する研究」の一環として行われました。石川信克先生のご指導に深謝いたします。

文 献

- 1) 大阪市保健所：「大阪市の結核 2008 H19年結核発生動向調査年報集計結果」。
- 2) 松本健二，三宅由起，有馬和代，他：潜在性結核感染症治療状況の検討。結核。2010；85：791-797。
- 3) 青木正和：第62回総会特別講演「結核感染をめぐる諸問題（1）」。結核。1988；63：33-38。
- 4) 下内 昭，甲田伸一，廣田 理，他：大阪市の結核集団接触者健診の評価。結核。2009；84：491-497。
- 5) 井上武夫：結核集団感染109事例における初発患者の特徴。結核。2008；83：465-469。
- 6) Grzybowski S, Barnett GD, Styblo K: Contacts of cases of active pulmonary tuberculosis. Bull Int Union Tuberc. 1975；50：90-106。
- 7) Sepkowitz KA: How contagious is tuberculosis? Clin Infect Dis. 1996；23：954-962。
- 8) 松本健二，福永淑江，門林順子，他：「受診の遅れ」に関する検討。結核。2009；84：523-529。
- 9) 山本孝吉，杉本千佳子，辻 君代，他：結核集団感染とその対応について。CAMPUS HEALTH. 2001；37：268-271。
- 10) 松本健二，辰巳朋美，神谷教子，他：結核集団接触者健診におけるツベルクリン反応とQFTを用いた感染のリスクの検討。結核。2010；85：547-552。
- 11) ATS/CDC: Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. Am J Respir Crit Care Med. 2000；161 (Supple)：S221-247。
- 12) 中園智昭，手塚直子，田川斉之，他：潜在結核感染症治療中に発生した肝機能障害。結核。2011；86：51-55。
- 13) Saukkonen JJ, Cohn DL, Jasmer RM, et al.: An official ATS statement: hepatotoxicity of antituberculosis therapy. Am J Respir Crit Care Med. 2006；174：935-952。
- 14) 石川信克監修，阿彦忠之，森 亨編：「感染症法に基づく結核の接触者健康診断の手引きとその解説」。平成22年度改訂版，結核予防会，東京，2010，22-26。
- 15) Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, et al.: Specific Detection of Tuberculosis Infection with an Interferon-gamma Based Assay Using New Antigens. Am J Respir Crit Care Med. 2004；170：59-64。
- 16) Ferebee S, Mount FW, Anastasiades A: Prophylactic effects of isoniazid on primary tuberculosis in children; a preliminary report. Am Rev Tuberc. 1957；76：942-963。
- 17) Kats J, Kunofsky S, Damijonitis V, et al.: Effect of isoniazid upon the reactivation of inactive tuberculosis. Preliminary report. Am Rev Respir Dis. 1962；86：8-15。

Original Article

EXAMINATION OF ONSET CASES IN CONTACT INVESTIGATION

¹Kenji MATSUMOTO, ¹Yuki MIYAKE, ¹Kazuyo ARIMA, ¹Jun KOMUKAI,
¹Katsura DANNO, ¹Hideki YOSHIDA, ¹Satoshi HIROTA, ¹Shinichi KODA,
¹Kazuhiko TERAOKA, and ²Akira SHIMOCHI

Abstract [Objectives] To analyze and evaluate onset cases of tuberculosis detected in contact investigations and to apply the results to future countermeasures.

[Methods] Index and secondary cases in contact investigations in which the secondary cases occurred in Osaka City between 2005 and 2008 were enrolled. The tuberculin skin test or QFT (QuantiFERON-TB Gold) was conducted to diagnose whether the contacts were infected with tuberculosis. X-ray examination of the chest was conducted to determine whether tuberculosis had developed, immediately or 6 months, 1 year or 2 years after the contact investigation.

[Results] (1) Index cases: Index cases followed by secondary cases numbered 131 patients. Regarding the chest X-ray findings, a cavity was observed in 67.7% of the index cases, and a sputum smear of 3+ was observed in 51.5% of the index cases. A 3-month or longer delay in index case-finding was noted in 50.4% of the index cases. (2) Secondary cases: Secondary cases numbered 177 patients, consisting of 107 patients who showed an onset of less than 6 months after their last contact with index cases. Of 70 secondary cases in whom tuberculosis was detected in the investigation conducted 6 months to 2 years after the contact investigation, 50% of them were not tested for infection due to their older age, consisting

of 11 patients in their 40's, 8 in their 50's, and 16 in their 60's or over, and 17.1% of them refused or discontinued the treatment for latent tuberculosis infection, leading to onset.

[Discussion] Many secondary cases were detected immediately after the contact investigation, suggesting the importance of reducing the delay in index case-finding. Regarding the onset of secondary cases who showed an onset 6 months after the last contact with index cases, many cases showed an onset without being tested for infection due to their older age. More attention should be paid to the cases who refused or discontinued the treatment for latent tuberculosis infection, leading to onset.

Key words: Contact investigation, Index case, Secondary case, LTBI, Infection diagnosis, Delay in case-finding

¹Osaka City Public Health Office, ²Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association (JATA)

Correspondence to: Kenji Matsumoto, Osaka City Public Health Office, 1-2-7-1000, Asahimachi, Abeno-ku, Osaka-shi, Osaka 545-0051 Japan.

(E-mail: ke-matsumoto@city.osaka.lg.jp)

薬剤耐性結核菌の遺伝子型と薬剤感受性検査成績（平成22年度）

向川 純, 山本 宣和, 三宅 啓文, 福田 貢, 貞升 健志, 甲斐 明美

Genotyping and Drug Sensitivity of Drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Tokyo (Fiscal 2010)

Jun MUKAIGAWA, Nobukazu YAMAMOTO, Hirofumi MIYAKE, Mitsugu FUKUDA,
Kenji SADAMASU and Akemi KAI

薬剤耐性結核菌の遺伝子型と薬剤感受性検査成績（平成22年度）

向川 純^a, 山本 宣和^a, 三宅 啓文^a, 福田 貢^a, 貞升 健志^a, 甲斐 明美^b

平成22年度に薬剤耐性結核菌監視事業で当センターに搬入された薬剤耐性結核菌27株（多剤耐性菌6株, SM耐性菌9株, INH及びSM耐性菌8株等）の遺伝子型並びに薬剤感受性について調査を実施した。27株はRFLP法による遺伝子型解析で17のパターンに分類された。最大クラスターはSM耐性を示す6株で, VNTR解析ではアリルプロファイルはほぼ同一で, 過去に分離されたSM耐性菌34株ともほぼ同一の特徴であった。2番目に大きなクラスターはINHとSM両剤に耐性の4株で, VNTR法ではほぼ同一の遺伝子型であったが, 過去に分離された14株とは異なるアリルプロファイルを示す株もあった。

キーワード：薬剤耐性結核菌監視事業, 遺伝子型, RFLP法, VNTR法, 薬剤感受性試験

はじめに

かつて「国民病」, 「不治の病」と恐れられた結核は, 医療技術の進歩, 栄養事情の向上, 国をあげての結核対策により, 着実に減少し「過去の病気」として関心が薄れてきた。またストレプトマイシン (SM) をはじめとする有効な抗結核薬の開発によって, 化学療法は各段に進歩し, 結核は治療しうる疾病となった。しかしながら, 不規則な薬剤の服用や不適切な処方等による単剤治療, また治療脱落などによって生じた耐性菌は時に治療を困難にし, 集団感染を起こした時には社会的に大きな脅威となっている。

このような薬剤耐性結核菌の遺伝子型, 蔓延状況を調査し, 感染拡大阻止対策の資料とするため, 平成18年より東京都福祉保健局の事業として, 都内における薬剤耐性結核菌監視事業を開始した。今回は平成22年4月から23年3月までに当センターに薬剤耐性監視事業で搬入された結核菌の遺伝子型並びに薬剤感受性についてまとめたので報告する。

実験方法

1. 材料

平成22年4月から23年3月までに, 薬剤耐性結核菌監視事業で搬入された結核菌27株を用いた。その内訳は, イソニアジド (INH), リファンピシン (RFP) 両剤に耐性の多剤耐性菌6株, INH耐性菌4株, SM耐性菌9株, INH及びSM耐性菌8株である。

2. 薬剤感受性試験

液体培地に接種した菌を, McFarland No.1の濃度まで培養し, プロスミック MTB-I 法 (極東製薬) を用いて最小発育阻止濃度 (MIC 値) を調査した。使用した薬剤は, SM, エタンプトール (EB), カナマイシン (KM), INH, リファンピシン (RFP), リファブチン (RBT), レボフロ

キサシン (LVFX), スパフロキサシン (SPFX), シプロフロキサシン (CPFX) である。なお平成22年12月より, SPFXはRBTに変更した。

3. DNAの抽出

DNA抽出は, 既報¹⁾の通りに行った。すなわち, 結核菌を小川培地から回収し, 80°Cで20分間加熱殺菌後, プロテナーゼ K・SDS・フェノール・クロロホルム法でDNAを抽出した。

4. RFLP分析

RFLP法は, 高橋ら⁴⁾の方法に従い, 1.5 µgの抽出DNAを制限酵素 *PvuII* で切断後, 0.8%アガロースゲル電気泳動で分離し, サザンプロット法でメンブレンに転写・固定後, ビオチン化 IS6110 プローブとハイブリダイゼーションを行い, アビジン化アルカリフォスファターゼとルミフォス530を反応させ, CCDカメラで映像を撮影し, バンドの検出を行った。

5. VNTR法

各菌株のゲノム遺伝子を鋳型に, 多重反復配列領域のうち, MIRUの8領域 (4, 10, 16, 23, 26, 31, 39, 40)⁵⁾, ETRの2領域 (A, C)⁶⁾, QUBの9領域 (11a, 11b, 15, 18, 26, 1895, 3232, 3336, 4156)⁷⁾, Mtubの7領域 (04, 16, 21, 24, 30, 38, 39)⁸⁾, そしてVNTR2372, VNTR3820, VNTR4120⁹⁾の計29領域について, それぞれのプライマーと *Taq* DNA polymeraseを用いたPCR法で領域を増幅し, PCR産物のDNAサイズから, 反復数を測定した。

結果及び考察

1. 薬剤感受性試験の結果

^a 東京都健康安全研究センター微生物部病原細菌研究科
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

^b 東京都健康安全研究センター微生物部
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

図1に示すように、各菌株を薬剤感受性のみで分類すると、SM 単独耐性が 9 株、INH 単独耐性が 4 株、SM と INH の両剤耐性が 8 株であった。また多剤耐性結核菌株は 6 株あり、1 株は INH, RFP, SM の 3 薬剤に耐性、4 株は主要 4 薬剤すべてに耐性、1 株はさらにニューキノロン (NQ) 系の薬剤にも耐性であった。

これらの結果は、既報の都内で分離された薬剤耐性結核菌の耐性パターン^{10, 12)}の調査結果、すなわち、単独耐性では SM、次に INH 耐性が多く、複数の薬剤に耐性の株は、INH と他の薬剤の組み合わせの株が多かった事と同様の傾向である。以上の 27 株について、遺伝子型の観点からのクラスター分類を試みた。

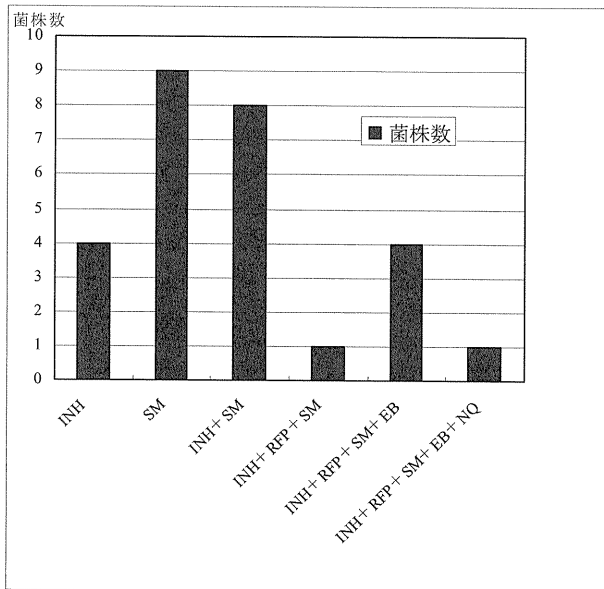
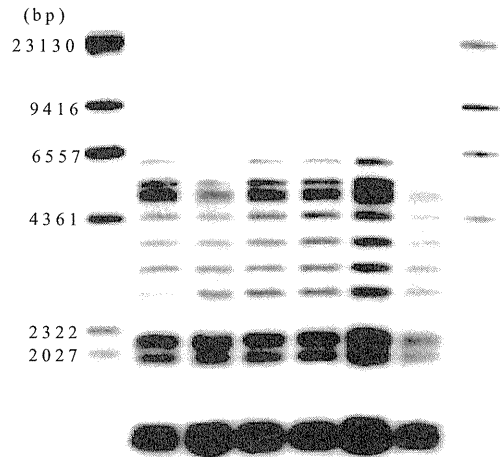


図1. 搬入菌株の薬剤感受性パターン

2. 遺伝子型別検査と薬剤感受性の結果

27 株は RFLP 法で 17 のパターンに分類された。

最大クラスター1 は図 2、表 1 に示した R672, R673, R702, R704, R708, R716 の 6 株で、これらはすべて SM 耐性であり (表 2)、過去にも多数分離されてきた遺伝子型である¹⁰⁾。表 1 に示したとおり、VNTR 法の解析では 29 領域中 1~2 領域の相違であり、それ以外はすべて一致していた。これは昨年までに当センターに搬入された SM 耐性類似の 34 株と同様で、感染事例が異なっても、VNTR 法でのアليلプロファイルの相違がほとんどなく、あっても 1 領域であった事と一致している¹⁰⁾。この遺伝子型の結核菌はいわゆる「M 株」とも称されており、本菌による感染事例は、異なる事例間では接触者関係が不明の場合が多く、昔から都内各地でも多数分離されており、検査総数の 5%を占めている。また、都内のみならず国内各地からも同様の RFLP 型で SM 耐性の株が多数分離されていることが報告されており¹¹⁾、これらも VNTR 法での遺伝子型は変異に乏しく、どの地域から分離された株もほぼ同じアليلプロファイルとされている。



R672 R673 R702 R704 R708 R716

SM 耐性

図2. クラスター1の RFLP 法による解析

表1. クラスター1の VNTR 法による解析

locus	alias	菌株名					
		R672	R673	R702	R704	R708	R716
580	MIRU4	2	2	2	2	2	2
960	MIRU10	3	3	3	3	3	3
1644	MIRU16	3	3	3	3	3	3
2531	MIRU23	5	5	5	5	5	5
2996	MIRU26	7	7	7	7	7	7
3192	MIRU31	5	5	5	5	5	5
4348	MIRU39	3	3	3	3	3	3
802	MIRU40	3	3	3	3	3	3
2165	ETR-A	4	4	4	4	4	4
577	ETR-C	4	4	4	4	4	4
2163a	QUB11a	8	8	8	8	8	8
2163b	QUB11b	8	8	8	8	8	8
3155	QUB15	4	4	4	4	4	4
1982	QUB18	8	8	8	8	8	8
4052	QUB26	8	8	6	8	8	8
1895	QUB1895	4	4	4	4	4	4
3232	QUB3232	9	14	14	14	14	14
3336	QUB3336	7	7	7	7	7	7
4156	QUB4156	3	3	3	3	3	3
424	Mtub04	4	4	4	4	4	4
1442	Mtub16	2	2	2	2	2	2
1955	Mtub21	4	4	4	4	4	3
2074	Mtub24	3	3	3	3	3	3
2401	Mtub30	4	4	4	4	4	4
3663	Mtub38	1	1	1	1	1	1
3690	Mtub39	3	3	3	3	3	3
2372	VNTR2372	5	3	3	3	3	3
3820	VNTR3820	14	14	14	12	14	14
4120	VNTR4120	9	9	9	9	10	9

網掛け部分:異なる反復数

表 2. クラスター1の薬剤感受性

薬剤	菌株					
	R672	R673	R702	R704	R708	R716
SM	>128	>128	>128	>128	>128	>128
EB	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
KM	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
INH	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125
RFP	≤0.03	≤0.03	≤0.03	≤0.03	≤0.03	≤0.03
RBT						0.008
LVFX	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	
SPFX	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125	0.25
CPFX	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25

網掛け部分:薬剤耐性

次に大きなクラスター2は、図3、表3に示した R663, R690, R695, R699 の 4 株で、これらはすべて SM, INH 両剤に耐性であり (表 4), いずれも多摩地区で分離された株であった。また、表3に示したとおり R690, R699 は VNTR 法で 29 領域が完全一致、R633, R695 は R690, R699 とそれぞれ 1~2 領域ずつ相違があったがきわめて類似していた。これらと似た株は過去に 14 株検出され、多摩地区で分離された株の中には VNTR 法でこれらと完全に一致する株もあったが、他の地域で分離された株には複数の相違領域がある株も存在した。

クラスター3は、図3の R681 と R732 で、RFLP パターンが完全に一致し、表3に示すとおり VNTR 法も 29 領域すべてが一致した。この両株は、表4のとおり多剤耐性結核菌であり、主要 4 薬剤にすべて耐性、R732 はさらに NQ 系の薬剤である LVFX, SPFX, CPFX などにも耐性で、近接した地域で分離された株であった。

クラスター4は、図3の R682 と R689 で、RFLP パターンが 1 本バンドが異なるのみで類似し、表3に示すとおり VNTR 法でも Mtub39 が一ヶ所異なっていた。一方、薬剤感受性は、表4のとおり R682 が INH 不完全耐性であったのに対し、R689 は INH 完全耐性、SM にも耐性であった。これらと類似した RFLP パターンを示す株は過去に 22 株検出され、感染事例ごとに VNTR のアレルプロファイルが異なり、薬剤感受性も様々であったが、R689 と同じ地域で平成 18 年に分離され、VNTR が完全一致、薬剤感受性も完全に一致した株が 1 株存在した。

図4に示すとおり、その他の RFLP パターンを示す株は 13 株あった。R651, R674, R727 はいずれも INH 耐性菌、R679, R686, R696 は SM 耐性菌、R652, R656, R661 は INH と SM の両薬剤に耐性であった (表 5)。RFLP パターンも VNTR のアレルプロファイルもそれぞれの株ごとに多様であった (表 6)。また、薬剤感受性において、同じ SM 耐性または INH 耐性であっても MIC 値の異なる株があり、耐性の程度が異なっていた。

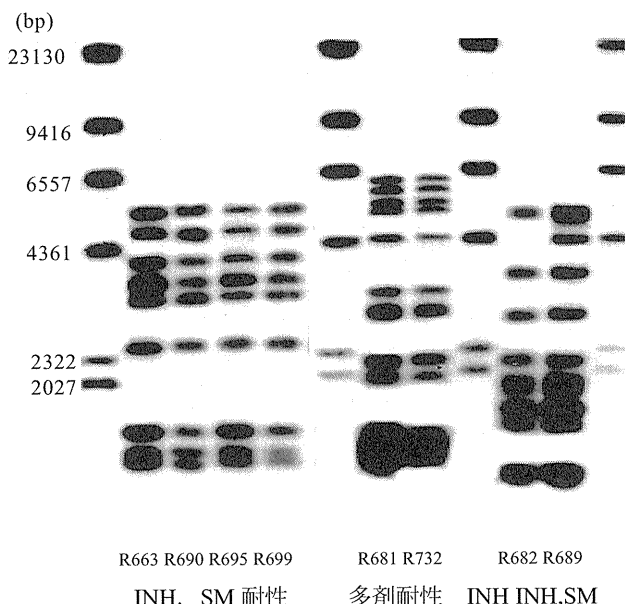


図 3. クラスター2, 3, 4の RFLP 法による解析

表 3. クラスター2, 3, 4の VNTR 法による解析

locus	alias	菌株名							
		クラスター2				クラスター3		クラスター4	
		R663	R690	R695	R699	R681	R732	R682	R689
580	MIRU4	2	2	2	2	2	2	2	2
960	MIRU10	3	3	3	3	3	3	3	2
1644	MIRU16	3	3	3	3	3	3	3	3
2531	MIRU23	5	5	5	5	5	5	6	6
2996	MIRU26	7	7	7	7	7	7	5	5
3192	MIRU31	5	5	5	5	4	4	3	3
4348	MIRU39	3	3	3	3	2	2	1	1
802	MIRU40	3	3	3	3	3	3	1	1
2165	ETR-A	4	4	4	4	4	4	3	3
577	ETR-C	4	4	4	4	4	4	4	4
2163a	QUB11a	8	8	8	8	8	8	2	2
2163b	QUB11b	5	5	5	5	6	6	4	4
3155	QUB15	2	2	2	2	4	4	4	4
1982	QUB18	10	10	10	10	8	8	5	5
4052	QUB26	6	8	6	8	8	8	4	4
1895	QUB1895	4	4	4	4	2	2	4	4
3232	QUB3232	12	11	11	11	14	14	5	5
3336	QUB3336	10	10	10	10	7	7	10	10
4156	QUB4156	4	4	4	4	3	3	3	3
424	Mtub04	3	3	3	3	4	4	2	2
1442	Mtub16	2	2	2	2	2	2	1	1
1955	Mtub21	3	3	3	3	4	4	1	1
2074	Mtub24	3	3	3	3	3	3	3	3
2401	Mtub30	4	4	4	4	4	4	2	2
3663	Mtub38	1	1	1	1	1	1	3	3
3690	Mtub39	3	3	3	3	2	2	7	8
2372	VNTR2372	3	3	3	3	3	3	2	2
3820	VNTR3820	7	7	7	7	14	14	5	5
4120	VNTR4120	8	8	8	8	6	6	2	2

網掛け部分:異なる反復数

表 4. クラスター 2, 3, 4 の薬剤感受性

薬剤	菌株							
	クラスター-2				クラスター-3		クラスター-4	
	R663	R690	R695	R699	R681	R732	R682	R689
SM	4	8	8	4	>128	>128	0.5	128
EB	1	1	1	0.5	4	4	0.5	1
KM	1	2	2	2	0.5	2	0.5	1
INH	1	1	1	1	1	2	2	8
RFP	≤0.03	≤0.03	≤0.03	≤0.03	>32	>32	≤0.03	≤0.03
RBT					8	8		
LVFX	0.25	0.5	0.5	0.5	0.25	2	0.5	0.5
SPFX	0.125	0.25	0.25	0.25	0.125	2	0.25	0.25
CPFX	0.25	0.5	0.5	0.5	0.25	2	0.5	0.5

網掛け部分: 薬剤耐性

図 5 にクラスター 2 の R681, R732 以外の多剤耐性結核菌の RFLP パターンを示した. 表 7 に示すように, VNTR のアリルプロファイルも多様であった. 表 8 の薬剤感受性では, R733 は INH, RFP, SM の 3 剤に耐性, 残りの 3 株はさらに EB にも耐性であった.

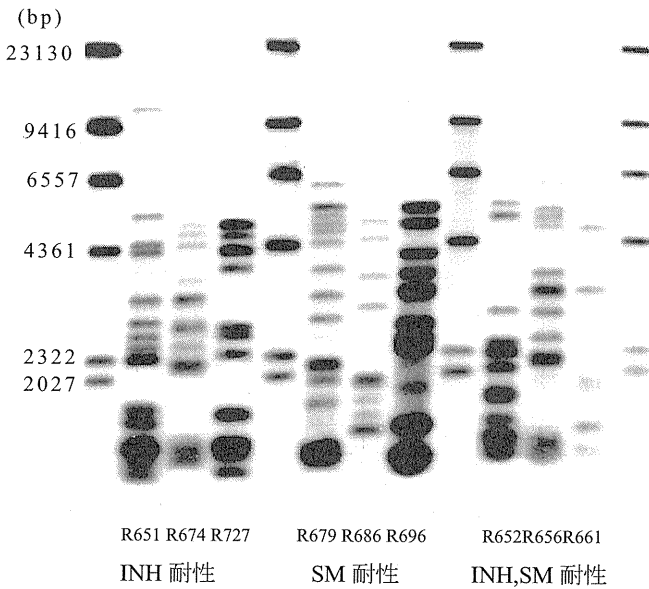


図 4. その他の株の RFLP 法による解析

表 5. その他の株の薬剤感受性

薬剤	菌株								
	R651	R674	R727	R679	R686	R696	R652	R656	R661
SM	2	1	1	>128	8	8	8	>128	>128
EB	1	0.5	2	0.5	1	1	1	1	1
KM	1	2	2	0.5	1	2	1	1	2
INH	2	2	1	0.125	0.125	0.125	8	1	1
RFP	≤0.03	≤0.03	≤0.03	≤0.03	≤0.03	≤0.03	≤0.03	≤0.03	≤0.03
RBT			0.008						
LVFX	0.25	0.25	0.5	0.25	0.25	0.5	0.5	0.25	0.25
SPFX	0.125	0.125		0.125	0.125	0.25	0.25	0.125	0.125
CPFX	0.25	0.25	0.5	0.25	0.125	0.5	0.5	0.25	0.25

網掛け部分: 薬剤耐性

表 6. その他の株の VNTR 法による解析

locus	alias	菌株								
		R651	R674	R727	R679	R686	R696	R652	R656	R661
580	MIRU4	2	2	2	2	2	5	6	2	2
960	MIRU10	3	3	3	3	3	3	4	3	3
1644	MIRU16	3	3	3	3	2	3	3	4	3
2531	MIRU23	5	5	6	5	3	5	6	5	6
2996	MIRU26	7	7	5	7	5	7	2	7	4
3192	MIRU31	2	5	1	5	2	5	4	5	5
4348	MIRU39	3	3	2	3	2	3	3	3	3
802	MIRU40	3	4	6	3	3	3	2	3	3
2165	ETR-A	4	4	2	4	3	4	4	4	3
577	ETR-C	4	4	4	5	3	4	4	4	4
2163a	QU B11a	3	8	4	>20	10	8	10	8	8
2163b	QU B11b	3	7	2	8	5	5	8	7	6
3155	QUB15	4	5	2	4	4	2	4	6	2
1982	QUB18	10	10	2	8	6	10	10	9	9
4052	QUB26	5	2	7	8	4	6	7	2	8
1895	QUB1895	4	2	4	4	2	4	4	2	1
3232	QUB3232	12	13	5	14	18	14	1	10	5
3336	QUB3336	4	7	9	7	6	10	7	7	10
4156	QUB4156	4	5	3	3	4	4	2	5	4
424	Mtub 04	2	3	2	4	1	3	1	3	2
1442	Mtub 16	2	2	1	2	2	2	2	2	2
1955	Mtub 21	3	3	2	4	2	3	7	3	3
2074	Mtub 24	3	4	3	3	4	3	3	5	3
2401	Mtub 30	2	4	1	4	4	4	2	4	4
3663	Mtub 38	1	1	2	1	2	1	2	1	1
3690	Mtub 39	3	3	2	3	3	3	2	3	2
2372	VNTR2372	3	3	5	3	3	3	2	3	3
3820	VNTR3820	16	12	5	14	3	7	11	17	7
4120	VNTR4120	11	7	4	9	4	9	4	9	9

網掛け部分: 異なる反復数

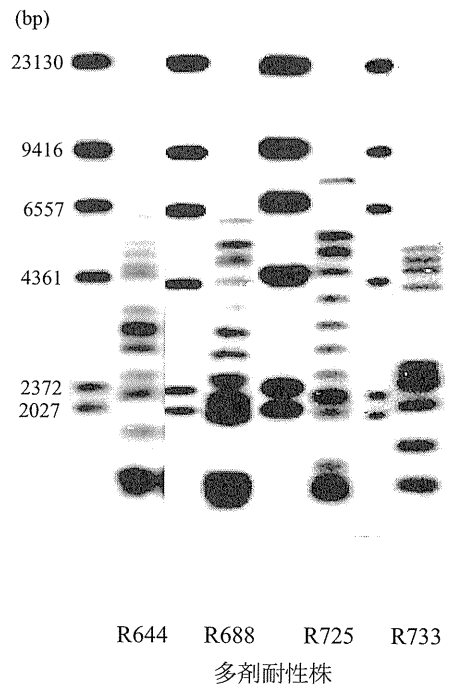


図 5. 多剤耐性株の RFLP 法による解析

表 7. 多剤耐性株の VNTR 法による解析

locus	alias	菌株			
		R644	R688	R725	R733
580	MIRU4	2	2	2	2
960	MIRU10	3	3	3	4
1644	MIRU16	3	3	3	2
2531	MIRU23	5	5	5	6
2996	MIRU26	7	7	7	4
3192	MIRU31	5	5	5	4
4348	MIRU39	3	3	3	2
802	MIRU40	3	3	3	1
2165	ETR-A	4	4	4	2
577	ETR-C	4	4	4	4
2163a	QU B11a	5	8	8	4
2163b	QU B11b	7	6	6	3
3155	QUB15	4	4	4	3
1982	QUB18	10	7	6	2
4052	QUB26	7	8	7	2
1895	QUB1895	2	4	4	4
3232	QUB3232	13	13	13	12
3336	QUB3336	7	7	7	8
4156	QUB4156	5	3	3	3
424	Mtub 04	4	4	3	3
1442	Mtub 16	2	2	2	1
1955	Mtub 21	3	4	4	2
2074	Mtub 24	3	3	3	3
2401	Mtub 30	4	4	4	1
3663	Mtub 38	1	1	1	2
3690	Mtub 39	1	3	3	2
2372	VNTR2372	3	3	3	2
3820	VNTR3820	12	14	13	5
4120	VNTR4120	13	10	9	3

網掛け部分:異なる反復数

表 8. 多剤耐性株の薬剤感受性

	菌株			
	R644	R688	R725	R733
SM	128	>128	>128	64
EB	4	4	8	2
KM	2	1	32	1
INH	4	2	16	8
RFP	>32	>32	>32	>32
RBT			8	2
LVFX	0.25	0.25	0.25	0.25
SPFX	0.125	0.125		
CPFX	0.25	0.25	0.25	0.25

網掛け部分:薬剤耐性

ま と め

平成22年度に当センターに搬入された27株の薬剤耐性菌についてまとめた。2010年に報告したSM耐性でRFLP法およびVNTR法でほぼ同一の遺伝子型を持つ株¹⁰⁾が6株検出された。これらは過去にも都内のみならず国内各地から多数分離されていることから、同一感染源による同時多発感染と考える研究者もいたが、接触関係がないあるいは不明な場合が多く、同じ感染源から感染拡大・伝播した感染事例というより、この株の遺伝子型が安定していて変化しにくい、あるいは未分化でこれから変異が生じるため極めて

類似しており、これらが日本各地に定着し、小規模感染を繰り返してきた可能性が強いと考えられる。集団感染疑い事例でこの型の菌が検出されたときは、同一感染源による感染かどうかは接触関係を含めて慎重に調査すべきであろう。2番目に大きいクラスターでINH, SM両剤耐性の株はVNTR法でも類似した株であったが、過去に分離された同様の株では、RFLP法では同一遺伝子型であってもVNTR法では異なる株も存在した。

また、4番目のクラスターの株 (INH耐性) も過去に類似株が多数分離されているが、VNTR法の結果は感染事例ごとに異なっており、上記の1番目のクラスターであるSM耐性株は多様性が低い点で特殊な株と考えられた。

今回、3番目のクラスターで、多剤耐性菌で同一遺伝子型の2株が発見され、これらが近接した地域で分離されたことから、同一感染源による感染の可能性も否定できないため、接触者関係等のさらなる調査が必要と考えられる。

今回の結果や過去の株との照合で、RFLP法では同一パターンであっても、事例が異なるとVNTR法でかなり異なる場合があり、株間・事例間の正確な分別には少なくとも24領域以上の検査による詳細なVNTR法による解析が必要と我々は考えている¹⁰⁾。結核蔓延阻止のための分子疫学的情報提供のため、東京都内におけるVNTR法による結核菌データベースを構築・充実し、新たに分離された株の由来、感染源調査を継続かつ積極的に行っていく必要がある。

文 献

- 1) 向川 純, 柳川義勢, 山田澄夫: 東京健安研七 年 報, **57**, 55-58, 2006.
- 2) 向川 純, 三宅啓文, 柳川義勢, 他: 東京健安研七 年 報, **58**, 57-61, 2007.
- 3) 向川 純, 三宅啓文, 吉田 勲, 他: 東京健安研七 年 報, **59**, 53-57, 2008.
- 4) 高橋光良, 安部千代治: 日細誌, **49**(5), 853-857, 1994.
- 5) Supply, P., Lesjean, S., Savine, E., et al.: *J. Clin. Microbiol.*, **39**, 3563-3571, 2001.
- 6) Frothingham, R. and Meeker-O'Connell, W. A.: *Microbiology*, **144**, 3563-3571, 2002.
- 7) Roring, S., Scott, A., Brittain, D., et al.: *J. Clin. Microbiol.*, **40**, 1189-1196, 2002.
- 8) Le Fleche, P., Fabre, M., Denoed, F., et al.: *BMC Microbiology*, **2**, 37, 2002.
- 9) Smittipat, N., Billamas, P., Palittapongarnpim, M., et al.: *J. Clin. Microbiol.*, **43**, 5034-5043, 2005.
- 10) 向川 純, 山本宣和, 三宅啓文, 他: 東京健安研七 年 報, **61**, 111-116, 2010.
- 11) 岩本朋忠, 藤山理世, 白井千香, 他: 結核, **85**, 411, 2010.
- 12) 向川 純, 遠藤美代子, 柳川義勢, 他: 感染症雑誌, **79**, 388-396, 2005.

Genotyping and Drug Sensitivity of Drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Tokyo (Fiscal 2010)

Jun MUKAIGAWA^a, Nobukazu YAMAMOTO^a, Hirofumi MIYAKE^a, Mitsugu FUKUDA^a,
Kenji SADAMASU^a and Akemi KAI^a

We report genotyping and drug sensitivity of 27 *Mycobacterium tuberculosis* samples, isolated in Tokyo from April 2010 to March 2011. Samples were collected as a part of a drug-resistant tubercle bacillus monitoring project of the Tokyo Metropolitan government.

Twenty-seven strains were classified into 17 clusters, using restriction-fragment length polymorphism (RFLP). In the largest cluster, the allelic profile of variable number tandem repeats (VNTR) indicated that the streptomycin tolerance is approximately the same in 6 strains. Similar strains were previously isolated, and the allelic profile of VNTR was approximately the same as these strains. The strains in the second largest cluster were resistant to both isoniazid and streptomycin. These strains were approximately equivalent when genotyped using the VNTR method, but were different from previously isolated strains.

Keywords: Drug-resistant tubercle bacillus monitoring project, Genotyping of tuberculosis, Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) method, Variable Numbers of Tandem Repeats (VNTR) method, Drug sensitivity test

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan

