

大阪府における多剤耐性結核菌の分子疫学

大阪府立公衆衛生研究所 細菌課 田丸亜貴

【目的】化学治療の困難な多剤耐性結核（MDR-TB）および超多剤耐性結核（XDR-TB）の感染による発生増加は公衆衛生上大きな問題となる。本研究では、本邦で最も結核蔓延率の高い大阪府を含む大阪湾岸地域での MDR-TB 菌（MDR-Mtb）の薬剤感受性と分子疫学による感染状況の調査を行った。

【対象と方法】2000年3月から2012年3月までに大阪府立公衆衛生研究所（公衛研）に搬入された大阪府および近隣地域の MDR-Mtb 110 株を対象とした。搬入後も発育が見られた 93 株については MrothMIC MTB I（極東）を用いて薬剤感受性試験を実施し、MDR-Mtb のうちカナマイシン（KM）耐性かつニューキノロン剤のいずれかに耐性の株を XDR-TB 菌（XDR-Mtb）とした。遺伝子型別は、26loci の多型配列挿入部位を用いた Variable number of tandem repeats（26loci-VNTR）型別法で実施した。MDR-Mtb とその他の結核菌の遺伝子型別の比較には、これまで公衛研で遺伝子型別を実施した大阪府由来非 MDR-Mtb 1021 株のデータを用いた。

【結果と考察】

○MDR-Mtb の薬剤感受性（表 1）：薬剤感受性試験を実施した 93 株のうち、40 株（43.0%）が XDR-Mtb であった。本邦の MDR-Mtb に占める XDR-Mtb の割合（XDR/MDR 比）は初回治療例・再治療例ともに約 31%（結核療法研究協議会、2007 年）で、世界平均の 10%（WHO/IUATLD、2007 年）に比べて高いと報告されているが、大阪府および近隣地域の XDR/MDR 比は日本での報告値より高かった。MDR-Mtb のうちイソニアジド（INH）とリファンピシン（RFP）の 2 剤のみに耐性の株は 14 株（15.1%）で、その他の MDR-Mtb は XDR-Mtb にはなっていないが他の薬剤にも耐性を持っていた。被験 93 株のうち 31 株（33.3%）、XDR-Mtb 40 株のうち 13 株（32.5%）が初回治療例由来、すなわち感染により発生したものであった。

○MDR-Mtb の分子疫学：MDR-Mtb 間で遺伝子型の一致したクラスター（MDR クラスター）が 9 群みられた。MDR クラスターの内訳は、2 株のクラスターが 6 群、3 株のクラスターが 1 群、4 株のクラスターが 1 群、12 株のクラスターが 1 群であった。MDR-Mtb のクラスター形成率は 29.1%で、大阪府の非 MDR-Mtb 株でのクラスター形成率 39.3%と比べると低かった（表 2）。MDR-Mtb のクラスター形成率は、大阪府や他府県の高齢患者の多い地域で分離された結核菌のクラスター形成率（20%以下、今回のデータには示していない）に比べると高く、MDR-Mtb の感染率が非 MDR-Mtb より低いわけではなかった。MDR クラスターのうち、5 群（表 3：V02, V03, V04, V06, V07）は MDR-Mtb だけから形成されていた。これらの MDR クラスターのうち、V02 群、V03 群のすべての株および V04 群のうち 2 株については、遺伝子型だけでなく、薬剤耐性遺伝子変異が共通しており（表 3）、同一感染源由来であることが強く示唆された。このなかでも V02 群は 12 株から成る大きなクラスターであることから病原性が強い菌株であることが疑われた。V02 群の 12 株中 9 株と V03 群の 4 株中 3 株が XDR-Mtb であったことから、XDR-Mtb の感染による発生が大阪府と近隣地域の XDR/MDR 比の高さの一因になっていると考えられた

【まとめ】

- 大阪府および近隣地域の XDR/MDR 比は日本全体より高い。
- MDR-Mtb も非 MDR-Mtb と同様に感染していると考えられた。

○MDR-Mtb だけから形成され、遺伝子型だけでなく薬剤耐性遺伝子変異も一致するクラスターがあり、その中でも大きなクラスターである V02 群は病原性の強い株と疑われた。

【提言】

化学療法も潜在性感染治療も困難な MDR-TB, XDR-TB については感染経路を把握し、感染拡大防止に務める必要がある。現在、各自治体で JATA(12)-VNTR 型別による結核菌遺伝子型別が実施されつつあるが、MDR-Mtb に関しては追加 loci を加えたより詳細な VNTR 型別を実施し、分子疫学調査からの感染経路解明が望まれる。各自治体での MDR-Mtb の発生数は年間数株なので、追加ローカスを加えた VNTR 型別が可能な施設に菌株を集約しデータベース化するのが望ましい。現在、MDR-Mtb は三種特定病原体であるため輸送が困難である。今後の特定病原体区分の見直しが望まれる。

表1. 多剤耐性結核93株の薬剤耐性パターン

MDR or XDR	Total number of isolates	Drug sensibility pattern									Number of isolates (%)*	new cases	
XDR	40 (43.0%)	INH	RFP	KM	SM	EB	LVFX	CPFX	SPFX		27	(29.0%)	10
		INH	RFP	KM		EB	LVFX	CPFX	SPFX		8	(8.6%)	1
		INH	RFP	KM			LVFX	CPFX	SPFX		2	(2.2%)	1
		INH	RFP	KM	SM		LVFX	CPFX	SPFX		1	(1.0%)	
		INH	RFP	KM	SM			CPFX	SPFX		1	(1.0%)	1
		INH	RFP	KM	SM	EB	LVFX	CPFX			1	(1.0%)	
MDR	53 (57.0%)	INH	RFP		SM	EB	LVFX	CPFX	SPFX		3	(3.2%)	
		INH	RFP			EB	LVFX	CPFX	SPFX		5	(5.4%)	3
		INH	RFP		SM		LVFX	CPFX	SPFX		1	(1.0%)	1
		INH	RFP		SM			CPFX	SPFX		1	(1.0%)	
		INH	RFP		SM	EB		CPFX			1	(1.0%)	
		INH	RFP	KM	SM	EB					8	(1.0%)	6
		INH	RFP	KM		EB					2	(2.2%)	
		INH	RFP		SM	EB					4	(4.3%)	
		INH	RFP				LVFX	CPFX	SPFX		1	(1.0%)	
		INH	RFP					CPFX	SPFX		1	(1.0%)	
		INH	RFP			EB					7	(7.5%)	2
		INH	RFP		SM						4	(4.3%)	
		INH	RFP	KM							1	(1.0%)	
INH	RFP								14	(15.1)	6		

*Percentage of MDR-TB isolates determined drug sensitivity.

表2 多剤耐性結核菌とその他の結核菌のクラスター形成率

	Total number of isolates	The number of clusters	included in any clusters
MDR-Mtb	110	9	31 (29.1%)
non MDR-Mtb	1021	65	216 (39.3%)

表3 多剤耐性結核にのみみられた同一遺伝子型クラスターに属する菌株の薬剤耐性変異部位

cluster	MDR or MDR	mutations				
		<i>rpoB</i>	<i>katG</i>	<i>inhA</i>	<i>rrs</i>	<i>gyrA</i>
OM-V02	XDR	Asp 516 Val	Ser 315 Thr	none	A 1400 G	Asp 94 Ala
	XDR	Asp 516 Val	Ser 315 Thr	none	A 1400 G	Asp 94 Ala
	XDR	Asp 516 Val	Ser 315 Thr, G 944 C	none	A 1400 G	Asp 94 Ala, Thr 95 Thr/Pro
	XDR	Asp 516 Val	Ser 315 Thr	none	A 1400 G	Asp 94 Ala
	MDR	Asp 516 Val	Ser 315 Thr	none	A 1400 G	none
	MDR	Asp 516 Val	Ser 315 Thr	none	A 1400 G	none
	XDR	Asp 516 Val	Ser 315 Thr	none	A 1400 G	Asp 94 Ala
	XDR	Asp 516 Val	Ser 315 Thr	none	A 1400 G	Asp 94 Ala
	XDR	Asp 516 Val	Ser 315 Thr	none	A 1400 G	Asp 94 Ala
	XDR	Asp 516 Val, Leu 533 Pro	Ser 315 Thr	none	A 1400 G	Asp 94 Ala
	XDR	Asp 516 Val	Ser 315 Thr	none	A 1400 G	Asp 94 Ala
OM-V03	XDR	Ser 531 Leu	Ser 315 Thr	none	A 1400 G	Asp 94 Gly
	XDR	Ser 531 Leu	Ser 315 Thr	C -15 T	A 1400 G	Asp 94 Gly/Asp
		Ser 531 Leu	Ser 315 Thr	none		Asp 94 Gly
	XDR	Ser 531 Leu	Ser 315 Thr	none	A 1400 G	Asp 94 Gly
OM-V04	MDR	Ser 531 Leu	none	C -15 T	none	Asp 94 Ala, Thr 95 Thr/Pro
	MDR	Ser 531 Leu	none	C -15 T	none	Asp 94 Ala
	MDR	His 526 Arg	none	C -15 T	A 1400 G	none
OM-V06	XDR	His 526 Ser	none	none	none	Asp 94 Gly
	XDR	Ser 531 Leu	none	none	none	none

京都市における LTBI の発生動向について

京都市保健所 伊藤 正寛

[要旨]

京都市の新規登録肺結核，喀痰塗抹陽性肺結核の届出数と罹患率は過去 5 年間は年によって変動はあるが減少傾向を示している。一方 LTBI の届出数は 2008 年-2010 年は 44-48 例であったが，2011 年は 152 例，2012 年は 157（速報値）と増加した。これは全国的な傾向である。疫学的にこの理由を明らかにすることを試みた。

LTBI の過去 5 年間の平均年齢は 30 代で変動がない。2011 年の年齢分布は 10-40 代は LTBI が結核を上回り，50 代以上は結核が多い。LTBI の約 88%は接触者健診によって発見されていた。2011 年の LTBI は 90%が接触者健診によって発見されており，医療従事者の入職時検診発見は 3%，免疫抑制剤使用者は 5%であった。2011 年の接触者健診によって発見された 137 例の初発者との接触場所は約 60%が医療機関内であり 40%は施設，職場，家族，友人であった。職業別では医療従事者が最も多く，医療従事者の中では看護師が最も多い。2011 年の LTBI 例の 152 例に QFT 検査が行われていた。QFT 検査の結果を把握できた 129 例中陰性は 1 例，判定保留は 2 例，陽性は 126 例であった。QFT 検査の値の平均は 2.1 であった。京都市では 2011 年 2012 年は結核の集団発生は認めていない。

以上のことから LTBI の増加は医療施設の雇用時の検査数の増加や，免疫抑制剤使用者への適応拡大は主な要因ではない。また QFT 検査の陰性や判定保留例を LTBI と診断した例は少なかった。京都市としては保健センターでの接触者健診対象者の判定に同等の接触度であれば 50 歳以上に QFT 検査を行っているが，特に年齢対象を高くしていない。医療機関や社会福祉施設での接触者健診対象者の拡大が主な原因と考えられた。

資料 2-2

結核菌バンク事業推進に向けた保健師の取り組みについて

山下 真理子¹⁾、松林 恵介¹⁾、水尻 節子¹⁾、藤山 理世^{1) 2)}、白井 千香¹⁾、伊地智 昭浩¹⁾、岩本 朋忠³⁾

神戸市保健所¹⁾、神戸市中央区保健福祉部²⁾、神戸市環境保健研究所³⁾

【目的】

神戸市では平成 14 年から結核菌の分子疫学調査（VNTR 法による遺伝子型別分析）を実施してきた。平成 24 年 4 月末現在で 1845 株の遺伝子型別分析が終了し、クラスター形成の情報が集積されてきている。この結核菌バンク事業にどのように関わり、分子疫学調査結果を実地疫学とリンクさせて活用しようとしているかについて、保健師の取り組みとその効果を報告する。

【方法】

1. **事業目的の共有** 事業目的について職員・医療機関が対象の研修会の機会に繰り返し勉強し理解を共有している。
2. **従来の疫学調査の充実** 遺伝子型別分析結果を疫学調査及び対策に活用するために、各区保健センター（以下、区）保健師は、国籍・職業（退職前の職業を含む）・受診経過（喀痰検査実施医療機関の把握）等実地疫学情報の把握が重要であることを再認識し、患者に聞き取りを行うように努めた。また保健所の保健師は、診査会諮問の際に各区から送付される結核登録票の記載内容での聞き漏れや接触者健診の必要項目を再確認している。
3. **菌株収集の協力依頼** 区保健師が患者及び医療機関に菌バンク事業へ協力依頼する統一した口頭説明文を作成し活用した。
4. **VNTR 情報の還元・疫学調査への利用** 保健所から新規菌株分析リストと新規クラスター形成リストを迅速に区保健師に還元し、感染経路把握に活用している。

【結果】

結核登録票の受診経過、喀痰検査実施の有無、職業の記載内容が充実した。初回面接時に菌株提供に関し患者・主治医へ説明する機会が増え、これまで菌株提供がない医療機関でも、区保健師が医師へ連絡し菌株の保存について依頼できるようになった。結果、菌株分析数の増加へとつながっている（平成 19 年分離株 155 件→平成 23 年 251 件）。

【考察】

患者の基本的情報の整理は実地疫学調査として重要である。保健師が菌株分析の流れやクラスター形成状況を知ることで、患者との関わりの中で把握した情報がクラスター形成時に個の情報を線をつないでいく貴重な資源になることを認識でき、より充実した実地疫学調査につながる。結果、内服確認等の患者管理だけでなく疫学的視点も含めた結核対策が期待できる。これまでも VNTR 情報は多剤耐性結核や集団感染疑い事例等の感染経路把握に活用してきたが、今後は未知の感染経路把握や結核対策の評価にも活用していきたい。

入院患者から看護師への感染事例

藤野 由佳里

大阪市保健所感染症対策課

【初発患者の概要】 50歳 男性、無職、生活保護、過去の結核治療歴なし、家族歴なし、感染源不明

【初発患者登録時の状況】 診断名：肺結核、病型：bIII2、喀痰塗抹 3+、薬剤感受性 全剤あり、発見方法：医療機関受診、発病～初診：不明、初診～診断：137日

【初発患者の経過】（入院期間中は、咳（-）痰（+）寝たきり状態 抗がん剤投与なし）

H21.9.14 口腔底癌でA病院口腔外科受診 胸部 X-P 異常なし
 H21.10.8 口腔底癌でA病院 総室に入院
 H21.10.15 口腔底癌手術 気管切開
 H21.12.14 誤嚥により胃ろう造設 胸部 X-P 陰影あり
 H22.1.29 リハビリ目的でB病院 総室転院 胸部 X-P：III2（主治医は異常なしと判断）
 H22.2.3 胸部 CT 撮影
 H22.2.6 胸部 CT 読影後結核疑いで喀痰検査指示
 H22.2.8 喀痰検査実施
 H22.2.9 喀痰検査結果 喀痰塗抹 1+
 H22.2.10 PCR（+）判明 個室に転室 N95 マスク対応開始
 H22.2.13 C 結核専門病院転院

(表 1) 病院ごとの接触状況

		A病院	B病院
入院期間		113日 総室入院	16日（総室12日間）
接触 状況	看護師	吸引10回/日 気管切開部分のガーゼ交換、吸入 接触時間 240～300時間	吸引5回/日 気管切開部分のガーゼ交換 接触時間 2～4時間
	医師	診察・処置、接触時間 0.5～1時間	診察、接触時間 2時間40分
	その他	歩行、嚥下訓練等、接触時間 15時間	歩行、嚥下訓練、口腔ケア、接触時間 1～4時間
接触環境		病室 32.76㎡ 換気量 5回/h、ナースステーション	病室 19.59㎡ 自然換気

【集団接触者健診検討会結果（A病院）】

H22.3.31 第1回検討会実施

第1グループ 吸引実施した看護師23人に QFT 検査を4月初旬に実施

H22.5.19 第2回検討会実施

第1グループの QFT 検査結果 陽性7人 判定保留1人 陰性15人（陽性率30.4%）
 （陽性の看護師1名が発病）

第2グループ 医師、その他スタッフ、同室者19人に QFT 検査を実施

H22.6.23 第3回検討会実施

第2グループの QFT 検査結果 陽性1人（同室者） 陰性18人（職員）（陽性率5.2%）

○今後の健診の方針

- ・LTBI 治療適応：1グループの陽性、判定保留の看護師8人 2グループ陽性の同室者1
- ・2年間レントゲンフォロー：1グループ陰性の看護師15人 50歳以上の同室患者4人

・健診終了：2グループ医師、その他スタッフ (QFT-2G：49歳以下対象)

【集団接触者健診検討会結果 (B病院)】

H22.3.31 第1回検討会実施

第1グループ 吸引を実施した看護師14人にQFT検査を4月中旬から下旬に実施

H22.6.16 第2回検討会実施

QFT検査結果 陽性2人、陰性12人 (陽性率14.3%)

対象者の拡大不要

○今後の健診の方針

- ・LTBI治療適応：陽性2人
- ・2年間レントゲンフォロー 50歳以上の同室患者1人
- ・健診終了 陰性の看護師12人

(表2) 接触者健診 (2か月後) の結果

		対象者	発病	LTBI治療適応	異常なし
A病院	1グループ (看護師)	23人	1人	7人	15人
	2グループ (医師・同室患者)	19人	0人	1人	18人
B病院 (看護師)		14人	0人	2人	12人
計		56人	1人	10人	45人

(表3) 2年間の接触者健診の状況

健診	A病院			B病院		
	対象者	健診状況		対象者	健診状況	
		異常なし	未受診		異常なし	未受診
6ヶ月後健診	17	17	0	1	1	0
1年後健診	16	16	0	1	1	0
2年後健診	16	15	1	0	0	0

【接触した看護師の発病】

女性 23歳 看護師、過去の結核治療歴なし、家族歴なし

(接触状況) 初発患者のH21.10.8入院当初から患者の副担当看護師としてケアに従事 (吸引、吸入、入浴介助、創部処置)

(登録時の状況) 診断名：肺結核 病型：III2 菌検査 塗抹 (±) 培養 陽性

(発病経過)

H22.4.1 胸痛 (+)

H22.4.26 (最終接触から12週目) 接触者健診でQFT陽性 (Nil:0.37, ESAT-6:2.01, CFP-10:0.96, Mitogen:13.91)

H22.4.28 発熱 A病院受診 胸部X-P異常なし

H22.5.1 咳 (+)

H22.5.26 リンパ節腫脹 A病院受診 胸部X-P、CT 陰影 (+)、気管支鏡検査実施 S(+) PCR (+)

本人は、QFT 検査結果陽性を受診するまで知らず

H22.5.28 A 病院入院

H22.5.31 結核専門病院入院

H22.12.6 初発患者と VNTR 一致判明

【感染・発病が起こった要因】

1 診断の遅れ

発病時期は入院時の平成 21 年 10 月～12 月、診断は平成 22 年 2 月 13 日

2 感染性のあった期間の頻回な喀痰吸引

A病院では 1 日 10 回、サージカルマスクで喀痰吸引

【事例を通しての今後の院内感染対策、留意点（疫学調査時伝えること）】

1 初発患者の早期診断

- ・胸部レントゲン検査は比較読影を実施
- ・胸部レントゲン検査は複数の医師による読影を実施
- ・胸部レントゲン検査に陰影がある場合は、すみやかに 3 連続の喀痰検査を実施

2 初発患者の隔離

- ・疑わしい場合は、個室に移す
- ・疑わしい場合は、職員は N95 マスクで対応

3 結核の知識の普及

結核患者には特徴的な呼吸器症状がない場合等もあること、がん患者等、免疫力が低下している患者は、急激に結核を発病する可能性があることを伝える

4 接触者健診実施後の管理徹底

- ・健診実施者は、健診受診者にすみやかに健診結果を伝える
- ・QFT 検査結果陽性時は、レントゲン検査を確認し、LTBI 治療を速やかに開始する必要性を伝える
- ・有症状時の受診勧奨や健診の受診勧奨を行う
- *有症状受診時には、結核患者との接触があったことを伝えるように、接触者には助言しておく

5 院内感染マニュアルの厳守

- ・1、2に関しては、院内感染対策マニュアルに記載している病院は多い
- ・院内感染マニュアルの厳守を実施するために、事例が起こったときに、職員でマニュアル項目をチェックし、今後の感染対策に生かすことも必要

あいらん地域で登録されたホームレス肺結核患者の重症度に関する検討

○小向 潤¹⁾ 松本 健二¹⁾ 森河内 麻美¹⁾ 青木 圭子¹⁾ 廣田 理¹⁾
 吉田 英樹¹⁾ 甲田 伸一¹⁾ 寺川 和彦²⁾ 下内 昭³⁾
¹⁾大阪市保健所 ²⁾大阪市健康局 ³⁾結核予防会結核研究所

【目的】 あいらん地域において登録されたホームレス肺結核・胸膜炎患者の結核重症度を分析し、あいらん地域における結核健診の有用性について検討する。

【方法】 2009年から2011年にあいらん地域のホームレス結核患者211名のうち、肺結核および結核性胸膜炎と診断された204名を対象とした。あいらん地域における結核健診（あいらん健診）を1年以内に受診しているか否かで2群に分け、年齢、糖尿病の有無、発見方法、症状の有無、胸部X線（空洞の有無、拡がり）および喀痰塗抹検査について、年齢は一元配置分散分析、他は χ^2 検定を用いて分析した。

【結果】 対象はすべて男性であり、平均年齢±標準偏差は59.8±9.4歳であった。1年以内のあいらん健診受診歴のある群（受診歴あり群）は68名（33%）、受診歴のない群（受診歴なし群）は136名（67%）であった。受診歴あり群は受診歴なし群と比べ（受診歴あり群対なし群）、救急搬送される者は有意に少なく（3%対29%、 $P<0.001$ ）、胸部X線検査上拡がり1および2の割合は有意に多かった（92%対69%、 $P<0.001$ ）（表）。

【結論】 1年以内にあいらん健診を受診したことのあるホームレス肺結核・結核性胸膜炎患者は、救急搬送により発見される例が有意に少なく、より軽症で発見される傾向にあった。1年ごとのあいらん健診受診が結核の早期発見に寄与していたと考えられた。

(表) あいらん健診受診歴別の患者背景

1年以内のあいらん健診受診	あり n=68 (33%)		なし n=136 (67%)		合計 n=204 (100%)		P value
年齢	mean±SD range		mean±SD range		mean±SD range		
	59.0±8.4 32-78		60.2±9.8 33-87		59.8±9.4 32-87		0.404
糖尿病							
なし	61	90%	119	88%	180	88%	0.645
あり	7	10%	17	13%	24	12%	
発見方法							
健診	50	74%	34	25%	84	41%	<0.001
医療機関	16	24%	63	46%	79	39%	
救急搬送	2	3%	39	29%	41	20%	
症状							
なし	24	36%	33	26%	57	30%	0.173
あり	43	64%	92	74%	135	70%	
胸部X線検査(性状)							
空洞なし	50	74%	88	65%	138	68%	0.204
空洞あり	18	26%	48	35%	66	32%	
胸部X線検査(拡がり)							
1および2	59	92%	87	69%	146	76%	<0.001
3	5	8%	40	31%	45	24%	
喀痰塗抹検査							
—	43	63%	75	56%	118	58%	
1+	17	25%	30	22%	47	23%	
2+	6	9%	17	13%	23	11%	
3+	2	3%	12	9%	14	7%	

連続量はt検定、離散量は χ^2 検定

分担研究報告書

N. 大都市圏における分子疫学調査の有効性に関する研究

分担研究者

貞升 健志 東京都健康安全研究センター

研究要旨

日本における結核罹患率は漸次減少傾向にあるものの、都市部における減少は鈍化傾向にあり、東京都の結核罹患率は全国平均に比べ高い状況にある。東京都は人口密度が高く、多種多様な施設が密集して存在していることから、通常の疫学調査や接触者健診では明らかにならない感染事例も数多く存在していると考えられている。そのため、従来の接触者健診に加え、結核菌の効果的な収集ならびに分子疫学手法を用いた解析手法により、関連が不明であった事例を関連付けていくことが、罹患率減少に向けた具体策の一つとして重要と考えられる。

今年度、都内において分離された薬剤耐性結核菌株 34 株を収集し、VNTR 法（24 領域）を用いた比較検討を実施した結果、耐性株内で遺伝子学的に同一のクラスタが存在していることが明らかとなった。また、VNTR の標準化を目指し、関東甲信静支部地方衛生研究所に VNTR 用蛍光プライマーセット（24 領域）および結核菌 DNA を送付した。

背景

東京都における結核罹患率は年々減少しているものの、平成 11 年度以降、全国平均に比べて高い状況が続いている。そのため、抜本的かつ継続的な結核対策の実施が重要である。

東京都では住宅が密集し、多くの繁華街をかかえ、外国人も多く、簡易宿泊施設も多数存在している。そのため、通常の疫学調査では明らかにならない広域な感染事例も多く存在していることが懸念されている。

そこで、このような事例の疫学調査を実施し、効果的な接触者健診に繋げていくためには、分子疫学手法を用いた結核菌の解析が重要なキーとなると考えられる。

東京都では 2012 年 9 月より結核菌遺伝子解析を Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) 法から Variable Numbers of Tandem Repeat (VNTR) 法（24 領域）に変更し、通常検査で使用している。

A. 研究目的

大都市圏における有効な結核菌分子疫学調査の実施を目的として、VNTR 法を中心とした分子疫学解析をスタンダード化し、広く実用化することを目的とする。加えて、都内で分離された薬剤耐性結核菌について薬剤感受性検査ならびに VNTR 検査を実施し、VNTR 法の有効性を検証していくとともに、都内で流行している結核菌の遺伝子学的調査を継続的に実施することを目的とする。

B. 研究方法

1. 薬剤耐性結核菌株の収集と VNTR 解析

(1) 薬剤耐性結核菌の収集

都内保健所より東京都健康安全研究センターに、薬剤耐性結核菌の解析を目的として搬入された菌株 32 株について、VNTR 法を用いた遺伝子型検査および薬剤感受性検査を実施した。

(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、ブロスミック MTB-1 法（極東製薬）を用いて最小発育阻止濃度（MIC 値）を調べた。使用した薬剤はストレプトマイシン（SM）、エタンブトール（EMB）、カナマイシン（KM）、INH（イソニアジド）、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（CPF）である。

(3) DNA の抽出

結核菌を小川培地から回収し、80°Cで20分間加熱処理後、プロテインナーゼ K・SDS・フェノール・クロロフォルム法で各菌株から DNA を抽出した。

(4) VNTR 法

多重反復配列領域のうち、MIRU の 6 領域（4、10、16、26、31、40）、ETR の 2 領域（A、C）、QUB の 8 領域（11a、11b、15、18、26、3232、3336、4156）、VNTR2372、VNTR3820、VNTR4120、Mtub の 5 領域（04、21、24、30、39）の計 24 領域について、それぞれの領域特有のプライマーを用いた PCR 法で増幅後、Applied Biosystems genetic analyser3130 を用い PCR 産物の DNA サイズを確認した。

各領域における反復数の計測は、和田らの方法（結核，85，845-852，2010）に準拠し、24 領域同様のパターンを示す菌株は同一クラスタと判定した。

2. VNTR 法の標準化に向けた取組

VNTR 法の分解能は 12 領域（JATA12）よりも 24 領域（VNTR24）の方が高いことが判明している。感染症発生動向調査における菌型別では JATA12 程度の分解能で問題ないが、保健所における接触者健診には有効な手段とは言えず、菌の同一性を問うため

には、24 領域以上を利用した VNTR 型別が重要である。

一方で、高度変異領域を含む分子量の多い領域はアガロースゲル電気泳動では解析が困難な場合があるため、シーケンサーを用いた正確な定量値の測定が重要と考えられる。

そこで、2011 年末に関東甲信静支部の地方衛生研究所 22 ヶ所に呼びかけ、VNTR プライマーの配布を希望した 11 地方衛生研究所を対象に、再度、VNTR 精度管理への参加希望の有無を調査した。参加を希望した地方衛生研究所には 24 領域の遺伝子増幅のサイズを問う精度管理を実施する目的で、各領域の蛍光プライマーペアおよび H37Rv 株を含む結核菌 DNA（4 株）を配布した。

（倫理面への配慮）

本研究活動では患者の個人が特定される資料検討は行わないため、倫理委員会に諮ることは不要と考えた。

C. 研究結果

1. 薬剤耐性結核菌株の VNTR 解析

2012 年に都内保健所より搬入された薬剤耐性株 32 株について、薬剤感受性試験を実施した結果、SM 耐性 14 株、INH+SM 耐性 7 株、INH 耐性 4 株、INH+RFP+SM+EMB 耐性 1 株、薬剤感受性は 6 株であった（図 1）。

SM 耐性 9 株のうち 3 株については VNTR24 法で完全に一致し、それ以外の 6 株では MIRU26、ETR-C、Mtub21、QUB11b、VNTR4120 領域で 1 あるいは 3 ヶ所異なる結果が得られた。その他の 5 株については 2 株は同じ遺伝子型を示し、それ以外の 3 株は異なる遺伝子型であった。

INH+SM 耐性株では 7 株のうち、VNTR 法による同一型が 2 組あった。

INH 単独耐性株 4 株については、遺伝子型で関連性は認められなかった。

2. VNTR 法の標準化に向けた取組

11ヶ所の関東甲信静支部の地方衛生研究所の結核検査担当者にアナウンスした結果(図2)、9ヶ所の地方衛生研究所がプライマーの配布および精度管理の参加を希望した。計9地方衛生研究所に24領域の蛍光プライマーペア(図3)およびH37Rvを含む4菌株のDNAを送付した(2013年3月18日)。結果については24領域の各遺伝子増幅サイズを問う形式とし、2013年4月末を期限とし回収予定である。

D. 考察

今回、都内保健所より搬入された薬剤耐性結核菌について、薬剤感受性検査ならびに遺伝子型別検査を実施した。その結果、各薬剤耐性株の中で遺伝子学的に同様のクラスタが存在することが明らかになった。今後も継続して調査を実施し、都内における分布状況を明らかにしていく必要がある。

東京都においては、2012年9月にRFLP法からVNTR24を用いた遺伝子解析に変更した。VNTRの利点としては、デジタルデータであるため、近隣県とのデータの交換が容易である点が挙げられる。

一方で、VNTR基準法としては、わずかにVNTRハンドブック(地域保健推進事業「地方衛生研究所の検査研究機能の強化及び疫学情報連携ネットワークの構築」)が昨年出ているのみであり、各施設間のデータ交換のためには、同等の精度に基づいた試験検査が重要である(図4)。

今回、同じプライマー、結核菌DNAを配布し、増幅サイズを調査する精度管理の実施を計画した。結果の集計はまだできていないが、同様の結果が出て初めてVNTR検査情報の共有化、相互利用、データベース化等の方向性が見えてくるものと考えている。

E. 結論

都内において分離された薬剤耐性結核菌株32株を収集し、薬剤感受性検査およびVNTR法(24領域)を用い解析した結果、耐性株内で遺伝子学的に同一のクラスタが存在していることが判明した。

G. 研究発表

学会発表

三宅啓文、向川 純、貞升健志、藤田明：結核疑い患者におけるクオンティフェロンTBゴールドとELISPOT法の比較検討、第87回日本結核病学会総会、2012(広島)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

特許取得、実用新案登録なし

研究協力者：

向川 純、山本 宣和、

岩越 一之、甲斐 明美、住友 眞佐美

(東京都健康安全研究センター)

横山 栄二、蜂巢 友

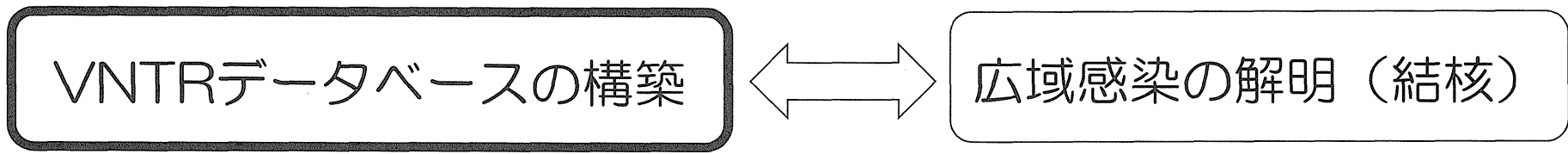
(千葉県衛生研究所)

- ・ 関東甲信静支部の地研（11地研）にアナウンス
- ・ 2013年3月18日
9地研に菌DNA（4種類）、蛍光プライマーペアを送付
- ・ 各地研から結果返送（4月末予定）
対象領域（24領域）の分子量測定
- ・ 結果収集解析（5月末予定）

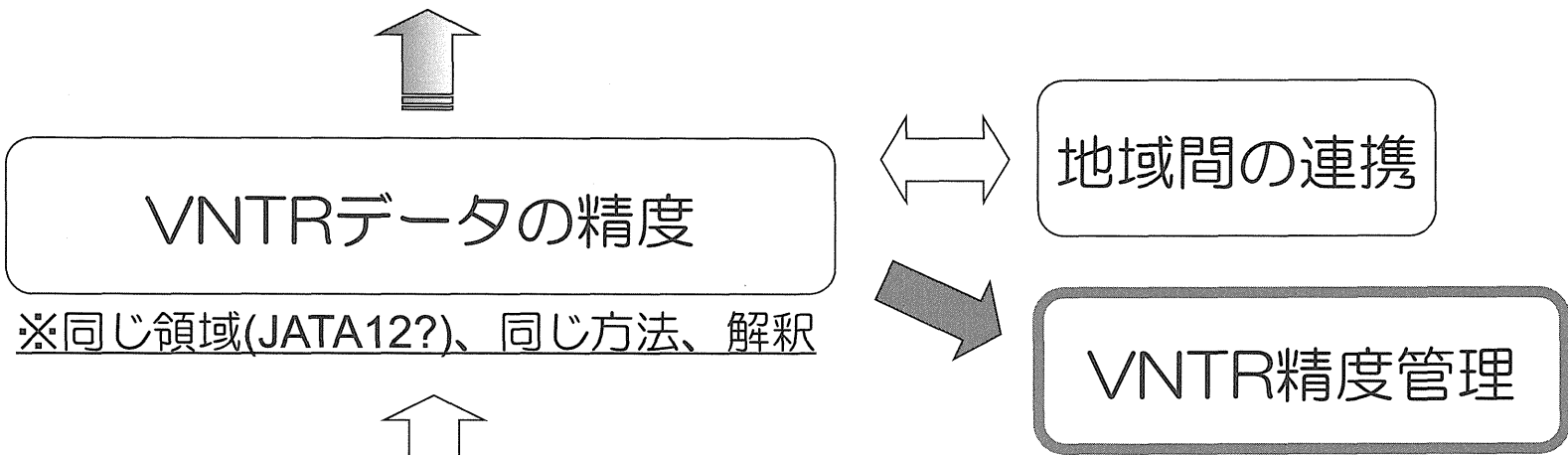
図2 VNTR精度管理の実施スケジュール
（関東甲信静支部）

	プライマー名	蛍光色素	塩基配列	プライマー名	塩基配列
1	miru4-F	FAM	GTCAAACAGGTCACAACGAGAGGAA	miru4-R	CCTCCACAATCAACACACTGGTCAT
2	miru10-F	VIC	ACCGTCTTATCGGACTGCACTATCAA	miru10-R	CACCTTGGTGATCAGCTACCTCGAT
3	miru16-F	NED	CGGGTCCAGTCCAAGTACCTCAAT	miru16-R	GATCCTCCTGATTGCCCTGACCTA
4	miru26-F	PET	GCGGATAGGTCTACCGTCGAAATC	miru26-R	TCCGGGTCATACAGCATGATCA
5	miru31-F	FAM	CGTCGAAGAGAGCCTCATCAATCAT	miru31-R	AACCTGCTGACCGATGGCAATATC
6	miru40-F	VIC	GATTCCAACAAGACGCAGATCAAGA	miru40-R	TCAGGTCTTTCTCTCACGCTCTCG
7	ETR-A-F	NED	AAATCGGTCCCATCACCTTCTTAT	ETR-A-R	CGAAGCCTGGGGTGCCCGCGATTT
8	ETR-C-F	PET	GTGAGTCGCTGCAGAACCTGCAG	ETR-C-R	GGCGTCTTGACCTCCACGAGTG
9	Mtub04-F	FAM	GTCCAGGTTGCAAGAGATGG	Mtub04-R	GGCATCCTCAACAACGGTAG
10	Mtub21-F	VIC	AGATCCCAGTTGTCGTCGTC	Mtub21-R	CAACATCGCCTGGTTCTGTA
11	Mtub30-F	NED	AGTCACCTTTTCTACCCTCGTAAC	Mtub30-R	ATTAGTAGGGCACTAGCACCTCAAG
12	Mtub39-F	PET	AATCACGGTAACTTGGGTTGTTT	Mtub39-R	GATGCATGTTTCGACCCGTAG
13	QUB11b-F	FAM	CGTAAGGGGGATGCGGGAAATAGG	QUB11b-R	CGAAGTGAATGGTGGCAT
14	QUB26-F	VIC	GAGCCAAATCAGGTCCGG	QUB26-R	GAGGTATCAACGGGCTTGT
15	QUB4156-F	NED	TGGTCGCTACGCATCGTGTGCGGCCCGT	QUB4156-R	TACCACCCGGGCAGTTTAC
16	Mtub24-F	PET	CACTAGCTGCGTCACTGG	Mtub24-R	GCTGATTCCCGACGAAAG
17	QUB11a-F	FAM	CCCATCCCGCTTAGCACATTTCGTA	QUB11a-R	TTCAGGGGGGATCCGGGA
18	QUB15-F	VIC	TACATTCGCGGCCAAAGG	QUB15-R	AGGGTTCTCGGTCACCC
19	QUB18-F	NED	ATCGTCAGCTGCGGAATAGT	QUB18-R	AATACCGGGGATATCGGTTC
20	QUB3232-F	PET	CAGACCCGGCGTCATCAAC	QUB3232-R	CCAAGGGCGGCATTGTGTT
21	QUB3336-F	FAM	ATCCCCGCGGTACCCATC	QUB3336-R	GCCAGCGGTGTCGACTATCC
22	VNTR3820-F	VIC	TGCGCGGTGAATGAGACG	VNTR3820-R	ACCTTCATCCTTGCGCAC
23	VNTR4120-F	NED	GTTACCCGGAGCCAACC	VNTR4120-R	GAGGTGGTTTCGTGGTTCG
24	VNTR2372-F	PET	ACCTCCGTTCCGATAATC	VNTR2372-R	CAGCTTTCAGCCTCCACA

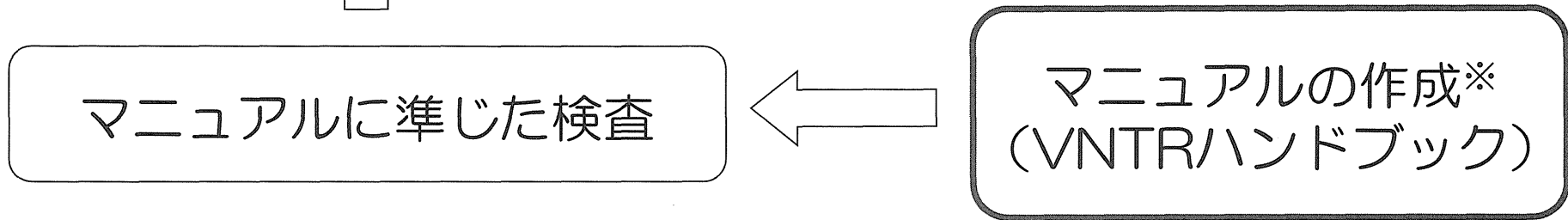
図3 配布した24領域の蛍光プライマーペア一覧



※データベースの規模・管理、セキュリティ、予算（開発、運用）
 ※感染症発生動向調査、積極的疫学調査等、用途により異なる



※同じ領域(JATA12?)、同じ方法、解釈



※地域保健推進事業「地方衛生研究所の検査研究機能の強化及び疫学情報連携ネットワークの構築」（保健情報疫学部会）

図4 VNTRデータベースの構築に向けて

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）

分担研究報告書

対策評価を通じた対策強化手法の確立

研究分担者

下内 昭 （公財）結核予防会結核研究所

研究要旨

目的：外部の専門家が保健所のスタッフとともに、結核対策を結核指標および事業内容によって分析、評価し、新しい対策実施のための助言を行う。その後、どのように問題が改善されるかについて、3年間、介入の結果を観察する。

方法：罹患率の高い大阪府堺市保健所、高齢者結核の多い京都府南丹保健所および相対的に外国人結核の多い滋賀県において、筆者がそれぞれ年間2回ずつ訪問し、県レベルおよび保健所のスタッフと課題について協議し、対策を実施した。

結果：南丹保健所では結核疫学状況を分析し、「高齢者結核中心の低まん延状況」の定義づけを行い、医療従事者及び高齢者施設従事者に対する感染予防対策推進の拡大方法をまとめた。堺市保健所では、対策として「院内感染対策の手引き」案を作成した。滋賀県では過去の経験に基づいて「保健所における外国人患者支援マニュアル」案が作成された。

結論：京都府南丹保健所において、「高齢者中心の結核低まん延地域」を疫学状況による定義づけを行なった。疫学状況および事例検討の分析により、医療従事者及び高齢者施設従事者への感染予防対策パッケージを提案する試みである。京都府の他の保健所で結果を得ることにより、全国にも適用できるモデルを確立することが期待できる。

A. 研究目的

現状

全国的に徐々に低まん延化に向かうに従い、従来の集団結核検診などの一律の対策を推進する方針から、各地域独自の結核疫学の分析に基づいた対策を実施することが重要になってきている。

目的

外部の専門家が保健所等のスタッフとともに、結核対策を結核指標および事業内容によって分析、評価し、新しい対策実施のための助言を行う。その後、どのように問題が改善されるかについて、3年間、介入の結果を観察する。

B. 研究方法

結核罹患率が高い堺市保健所、高齢者結核の多い京都府南丹保健所および相対的に外国人結核の多い滋賀県の保健所を筆者が年に2回ずつ訪問した。各保健所では結核指標および患者情報を分析し、今後の活動計画を毎回、約2時間、議論した。

なお、本研究活動では患者の個人が特定される資料発表は行わないため、倫理委員会に諮ることは不要と考えた。

C. 研究結果

1. 京都府南丹保健所における結核対策の分析および評価

1) 京都府南丹保健所の結核疫学的状況
保健所管内の過去3年間の結核疫学の特徴は以下のとおりである。

- 1 登録率 人口10万対20未満
- 2 65歳以上の患者の占める割合：70%以上
- 3 19歳以下患者登録ゼロ
- 4 治療失敗・中断ゼロ
- 5 多剤耐性結核患者新規登録ゼロ
- 6 LTBI治療対象者に占める医療従事者あるいは高齢者施設従事者の割合が半数以上かつ、LTBI治療対象者に占める19歳以下の患者家族の割合が4分の1以下である。

年齢群	合計	肺結核				肺外結核	別掲 潜在性
		小計	塗抹陽性	塗抹陰性 その他の菌陰性	菌陰性		
0-9	0	0	0	0	0	0	4
10-19	0	0	0	0	0	0	0
20-29	1	1	1	0	0	0	5
30-39	1	1	0	0	1	0	11
40-49	0	0	0	0	0	0	5
50-59	2	1	1	0	0	0	0
60-69	1	1	1	0	0	0	1
70-79	4	3	2	1	0	1	0
80-89	7	6	3	1	2	1	0
90-	2	2	2	0	0	0	1
70以上	13	11	7	2	2	2	1
合計	18	15	10	2	3	2	27

2) 地域における結核感染および患者支援の状況

「19歳以下患者登録ゼロ」

小児結核(14歳以下)患者の登録は過去数年間なく、15-19歳の患者の発生のない年も多い。小児の潜在性結核感染(LTBI)治療対象者はあっても、結核患者が過去何年も発生していないということは、その地域において、同居の父母や祖父母が結核と診断されずに何ヶ月も経過し、家族が発病するような事例はもうないということである。これは、健康教育が浸透し、保健医療サービ

スも利用しやすい環境にあるため、一般地域住民においては重症の塗抹陽性肺結核患者の長期の受診の遅れ、診断の遅れが非常に少なくなっているためと考えられる。

また、「治療失敗・中断ゼロ」および「多剤耐性結核患者新規登録ゼロ」から、患者支援は個別に実施され成果が上がっていると判断される。さらに、LTBI対象者は医療従事者あるいは高齢者施設従事者の割合が大きいことは、未診断の患者あるいは治療中の患者から家族へ感染し発病するという状況がなくなり、むしろ、高齢者が最も濃厚なサービスを受ける医療従事者および高齢者施設従事者への感染事例が相対的に増加していることを表している。このような状況では、高齢者患者から医療従事者および高齢者施設従事者への感染予防対策に全力を注ぐことが最も肝要であると考えられる。

3) 高齢者結核の診断の遅れの課題

塗抹陽性肺結核患者のすべての事例について、診断の遅れの事例を分析し、改善方法を検討した。診断の遅れの分析で明らかになったことは、入院患者および通院患者に対して(1)「有症状であっても胸部X線検査を実施していなかった。」あるいは(2)「胸部X線検査で肺炎と診断したが、喀痰検査を実施していなかった。」などであった。また、これらの事例については、その間、高齢者施設通所サービスを利用しており、施設従事者の接触者健診を実施しなければならなかった。

特に、何例かでは、多くの医療従事者や高齢者施設従事者が接触者健診を受け、患者発生は認められなかったが、LTBI治療を受

ける者が多数を占めた。このような事例を分析し報告することにより、今後、どのようにすれば、同様の感染事例を予防できるかという観点から、結核感染対策を推進するための動機付けとなる。

この結果を関係機関に周知し、結核感染対策を強化するために、管内の医療機関および高齢者施設に対して、院内あるいは施設内結核感染対策を実施しているかどうかについてアンケート調査を行い、現状を把握し、院内感染対策を推進するきっかけとした。

4) 医療機関に対する具体的対策の実施

現状・調査結果

発病ハイリスク（糖尿病患者等）者の胸部 X 線検査実施時期の基準がある医療機関は半数以下であった。

また、結核菌検査の実施基準がある医療機関は 36%にしか過ぎなかった。

吸引や胃液採取時に N95 マスクを使用する医療機関はなかった。

診断の遅れ事例について、診断にいたる経過について、詳しく記述し、医療機関に対して、情報を提供し、改善方法を議論する。

提言

1. 実際に診断の遅れのあった医療機関に分析結果を知らせする。
2. 医師研修および医師会報などを通じて、できるだけ多くの医療機関に対して、問題事例を提議し、改善方法を提案する。すなわち、結核に見られる症状を有する場合に結核を疑って胸部 X 線検査を行い、何らかの陰影があった場合に喀痰抗酸菌検査を行うことである。

5) 高齢者施設に対する具体的対策の実施 現状

結核検診に関して、具体的に、入所者に対しては、通常、定期胸部 X 線検査および日常的に症状の有無を確認し、症状がある場合には、医療機関受診を勧めている。課題は、通所者の健康管理であり、南丹保健所管内においては、サービス開始時に胸部 X 線検査を実施している施設は 61%(11/18)であるが、それ以降、毎年の検診実施率については不明である。

提言

通所者の定期検診については、介護サービス更新時に行う案も提案されたが、実際には実施困難であるという意見であった。その代わりに、施設自身が通所者に対して、胸部 X 線検査実施を条件づける方が妥当であるという議論がなされた。これは、利用者の健康管理および施設職員の感染予防という観点からも、重要と考えられる。

6) 今後の計画

上記の対策が進捗しているかどうかについて、各指標を設定し、少なくとも 3 年間は動向を観察する。同時に京都府の他の保健所に対して、上記の仮説があてはまるかどうかを検討する。その際に添付の対策ガイドを試用する。

すなわち、各保健所管内の結核疫学状況について、過去 3 年間に次の指標をすべて満たす場合を「高齢者中心の結核低まん延地域」と定義する。

(1)登録率 人口 10 万対 20 未満

(2) 65 歳以上の患者の占める割合が 70%
以上

(3) 19歳以下患者登録ゼロ

(4) 治療失敗中断ゼロ

(4) 多剤耐性結核患者新規登録ゼロ

(5) LTBI 治療対象者に占める医療従事者あるいは高齢者施設従事者の割合が半数以上である。あるいは、LTBI 治療対象者に占める19歳以下の患者家族の割合が4分の1以下である。

もし、この条件を満足する疫学状況であり、かつ、保健所の同意が得られれば、南丹保健所と同様の活動の必要性について議論し、活動を実施する。

その活動を通して、本方法、即ち、結核疫学状況进行分析し、一定の指標の組み合わせにより特徴が把握でき、高齢者対策に重点を置くべきであると判断された場合に、特定の対策を実施することが有効であるかどうかをさらに数年かけて、観察し評価する。

2. 堺市保健所

過去5年間の20-30歳代の女性看護師の患者数は13名であるが、同年代女性患者(105名)の12.4%を占め、高い割合である。

この状況を改善するためには、院内、施設内感染対策の強化が必要である。この議論および助言を踏まえて、8月に「堺市結核院内感染対策の手引き」案が作成された。

3. 滋賀県甲賀保健所

東近江保健所において、外国人集団接触者健診の相談事例があった。また、最近の事例に適切に対応するために、滋賀県での個別相談方法について、過去の経験に基づいて保健所における外国人患者支援マニュアル案が作成された。

D. 考察

京都府南丹保健所においては、結核疫学分析、事例分析の両方の結果に基づき、医療機関と高齢者施設に対する事業に活動を絞り込むことが出来た。このモデルを試行することにより、各保健所のスタッフが自らデータを分析し、新しい事業を検討するというサイクルが確立することが期待できる。異なる保健所で実施することにより、さらに本研究が目指す方法論が確認されることを期待する。滋賀県では外国人結核対策のマニュアル等を順次、作成しているところである。堺市保健所では、院内感染対策の実施状況をまず評価し、今後さらに効果的事业を実施していく必要がある。

E. 結論・提言

京都府南丹保健所において、「高齢者中心の結核低まん延地域」を定義づける疫学状況を作成することができた。疫学状況の分析により、実施すべき対策パッケージを提案するという試みである。京都府の他の保健所で結果を得ることにより、全国にも適用できるモデルを確立することが期待できる。

G. 研究発表

京都府調査研究発表会：「地域結核対策の今日的課題と対策～医療機関及び高齢・障害福祉施設の結核対策アンケート調査を通じての介入～」

宮本ちひろ、栗屋明子、土井秀樹、細野幸代、辻村美春、繁田正子（南丹保健所）

下内 昭（公財）結核予防会結核研究所

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし