

## 結核菌の核酸増幅法による診断用試薬の検討

川合 常明 大木 忠士 佐藤 泰昌  
菊地 由生子 今井 直木\*

### 要 旨

核酸増幅法による結核菌検体直接検出診断用試薬である Amplicor Mycobacterium kit (AMP) および Mycobacterium Tuberculosis Direct Test (MTD) が市販された。

今回、従来法の塗抹・培養と2種類の診断用試薬について比較検討した。

感度はAMP 85.7%, MTD 90.9%, 特異度はAMP 96.2%, MTD 90.6%で大きな差は認められず、良好な結果が得られた。また検査結果の迅速性の点からも有用性が高いと考えられた。

しかし、核酸増幅法は細菌の死滅後であっても目標DNAが残っていれば検出してしまうので診断に際しては臨床症状、所見、検査成績を総合して決定すべきである。

### 1. 緒 言

結核菌検査における分離同定法は従来の塗抹・培養、生化学的性状試験によるものからDNAプローブ<sup>1,2)</sup>による分離菌の同定と変わり、さらに喀痰など臨床材料から直接核酸増幅法により迅速に検出・同定可能な診断用試薬が開発され、保険の適用が認められた。

近年、核酸増幅法による結核菌検体直接検出用試薬である Amplicor Mycobacterium kit<sup>1)</sup> 日本ロッシュ<sup>2)</sup> および Mycobacterium Tuberculosis Direct Test 「中外」<sup>3)</sup> が市販された。

AMPは臨床検体中の抗酸菌由来のDNA(16S rRNAをコードしているDNA)を標的遺伝子としてDNA合成酵素およびPrimerによりDNAを増幅するPCRを用いた方法である。

一方、MTDは臨床検体中の抗酸菌由来のrRNAを標的遺伝子として逆転写酵素およびRNA合成酵素によりRNAを増幅するTranscription Mediated Amplificationを用いた方法である。

今回市販された2種類の診断用試薬について、従来法の塗抹・培養と比較検討した。

### 2. 方 法

試料は国立療養所札幌南病院より提供を受けた。試料の内容は喀痰64検体(血痰3検体を含む)、咽頭ぬぐい液4検体、胃液2検体、胸水2検体、膿1検体、気管支洗浄液1検体、髄液1検体の計75検体について行った。

検査はAMPについては当所で行い、塗抹、培養およびMTDについては国立療養所札幌南病院で行った。

検査方法については培養は小川培地を用い、AMP、MTDはそれぞれの操作方法により行った。

### 3. 結 果

塗抹、培養とも陽性の検体ではAMP、MTD共に陽性で完全に一致した(表1)。

塗抹陰性で培養陽性は10検体であったが、AMPでは陽性が6検体、陰性が3検体、またMTDでは陽性が8検体、陰性が2検体であった(表1)。

一方、培養法で陰性は53検体であったが、AMPでは陰性が51検体、陽性が2検体、またMTDでは陰性が48検体、陽性が5検体であった(表1)。

培養法では陽性であったが、AMPおよびMTDで陰性となった検体の内訳は喀痰1検体、胸水1検体、膿1検体であった(表2)。

表1 培養およびAMP, MTDの結核菌検査結果

培養および塗抹		AMP*		MTD	
		+	-	+	-
培養+ / 塗抹+	12	12	0	12	0
培養+ / 塗抹-	10	6	3	8	2
培養- / 塗抹-	53	2	51	5	48
培養- / 塗抹+	0	0	0	0	0

\* 検査不能1検体を除く

表2 結核菌培養陽性におけるAMP, MTD陰性例

材料	塗抹	培養, コロニ-数	AMP	MTD
喀痰	-	1個	-	-
胸水	-	1個	-	-
膿	-	30個	-	+

#### 4. 考 察

今回培養法と比較したところ感度はAMP 85.7%, MTD 90.9%, 特異度はAMP 96.2%, MTD 90.6%と両者には大きな差は認められず良好な結果が得られた。

塗抹培養陽性検体においてはAMP, MTDともに陽性であり偽陰性例はなかった。

塗抹陰性で培養陽性検体において, AMP, MTDが陰性となったのは, 菌数が少なく検体の均一化が十分でなかったことが原因と考えられたが, 今後検体中の微量の抗酸菌を確実に集菌する方法の検討が望まれる。また, AMPで膿の検体が陰性となったのは蛋白等によって核酸の抽出が阻害されたものと考えられた。

一方, 培養陰性検体で両者に陽性例があったが, MTD 5検体のうち2検体はAMPにおいても陽性であった。このことは, 死菌であったものが検出されたものと考えられた。従って, 診断に際しては臨床症状, 所見, 検査成績を総合して決定すべきである<sup>5)</sup>。

#### 5. 結 語

結核菌検体直接検出用診断薬について, 喀痰など75検体を用いて塗抹・培養法との比較検討を行った。

感度はAMP 85.7%, MTD 90.9%, 特異度はAMP 96.2%, MTD 90.6%と両者には大きな差は認められず良好な結果が得られた。

しかし, 菌数の少ない検体ではAMP, MTDとも陰性例があり, 今後検体中の微量な結核菌を確実に集菌できる方法の検討が必要と考えられた。

#### 6. 文 献

- 1)Goto,M. et al: J.Clin.Microbiol., 29, 2473-2479, 1991.
- 2)Kusunoki,S. et al: J.Clin.Microbiol., 29, 1596-1603,1991.
- 3)青木正和ら:結核, 6, 97-19, 1994.
- 4)Abe,C. et al: J Clin.Microbiol., 31, 3270-3274, 1993.
- 5)渡辺 彰:日本医事新報, 727, 111-112, 1995.

## Examination of Diagnostic Reagents of Tubercle Bacillus

# Using the Nucleic Amplification Method

Tsuneaki Kawai, Tadashi Oki, Yasumasa Sato,  
Yuko Kikuchi, and Naoki Imai\*

Amplicor Mycobacterium kit(AMP) and Mycobacterium Tuberculosis Direct Test(MTD), both of which are direct detection and diagnostic reagents of tubercle bacillus specimens, are commercially available. This paper compared the conventional smear culture method and the 2 above-mentioned diagnostic reagents. Sensitivity was 85.7% for AMP and 90.9% for MTD and specificity was 96.2% for AMP and 90.6% for MTD, both showing no significant differences, and achieving favorable results. It was thought that AMP and MTD were very useful in obtaining immediate examination results. However, diagnoses must be conducted by comprehensively considering clinical symptoms, findings and examination results, as even after bacteria has died, the nucleic acid amplification method can detect any remaining targeted DNA.

---

\* Clinical Examination Laboratory, South National Hospital