

[原 著]

結核菌検出におけるコバス TaqManMTB 法とコバス
アンプリコア法の比較検討吉多仁子¹⁾・松本智成²⁾

大阪府立独立行政病院機構大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター

¹⁾臨床検査科・²⁾臨床研究部

(平成 20 年 5 月 19 日受付, 平成 20 年 9 月 22 日受理)

〔目的〕コバス TaqManMTB (TaqMan 法, Roche) とコバス アンプリコア (コバス法, Roche) の比較および TaqMan 法の判定無効 (invalid) 発生原因についての検討。

〔対象・方法〕2007 年 5 月～7 月の 3 カ月間, 肺結核患者 70 例および非結核性肺疾患患者 30 例から採取した喀痰 100 検体を対象に塗抹・培養と上記 PCR を同時に施行した。

〔結果〕コバス法と TaqMan 法ともに陽性が 53 例, とともに陰性は 44 例で一致率は 97% であった。不一致はコバス法陽性・TaqMan 法陰性の 1 例, コバス法陽性と陰性に TaqMan 法 invalid が各 1 例あった。肺結核例 70 検体は, 塗抹陽性・培養陽性 41 例, 塗抹陰性・培養陽性 19 例, 塗抹陰性・培養陰性 10 例であった。結核菌培養陽性 60 検体中, コバス法陽性が 55 例, TaqMan 法陽性は 53 例であり, 結核菌培養陽性に対する感度はコバス法が 91.7%, TaqMan 法は 88.3% となった。非結核性肺疾患由来の検体で TaqMan 法に invalid が 1 例あり, その他はともにすべて陰性であり, 非結核疾患での特異度は 100% となった。

〔考察〕TaqMan 法の培養陽性検体での感度はコバス法と同程度であり, 増幅・測定が同時に行われ迅速な結核の診断に寄与すると考えられた。TaqMan 法の invalid は阻害物質ではなく, 混和不良による不反応が原因と考えられた。

序 文

結核の統計 2007 によれば, 2006 年の新登録肺結核患者の 73% は臨床検体の結核菌培養陽性で診断されていた¹⁾。培養検査は液体培養法の導入により検査時間が短縮されたが, それでも結果報告までには約 2 週間が必要である^{2)~4)}。1990 年代に登場した結核菌遺伝子核酸増幅検査は塗抹検査に比べ感度が高い。塗抹陽性例での結核菌と非結核性抗酸菌の鑑別や塗抹陰性・培養陽性例の早期検出にも有用であり, その迅速性から結核の診断に不可欠な検査法となっている^{5), 6)}。

結核菌の遺伝子核酸増幅検査としてアンプリコアマイコバクテリウム法 (アンプリコア法, Roche)^{7), 8)}, MTD 法 (Gen-Probe)^{9), 10)}, コバス アンプリコア法

(コバス法, Roche) が開発され, 特にコバス法は多数検体の迅速処理が可能のため広く普及した^{11), 12)}。近年, 迅速リアルタイム PCR 法を用いたコバス TaqManMTB 法 (TaqMan 法, Roche)¹³⁾ が開発され, その基礎的検討結果が報告されている^{14)~16)}。そこで, 筆者らは TaqMan 法を導入するにあたりコバス法との比較検討 (〔研究 A〕), ならびに TaqMan 法が判定無効 (invalid) となった原因について検討を行った (〔研究 B〕) ので報告する。

〔研究 A〕 TaqMan 法とコバス法の比較検討

I) 対象

2007 年 5 月～7 月の 3 カ月間に, 結核治療開始前もしくは治療開始後 1 週間以内の肺結核患者 70 例および非結核性肺疾患患者 30 例から臨床診断目的で提出された喀痰 100 検体を用いた。

II) PCR 法の測定方法

喀痰の前処理には結核菌検査指針 2007¹⁾ 記載のニチビー前処理法の CCE 液 (日本日本ビーシージーサプライ) を用いた。喀痰溶解剤にて均質化された検体

著者連絡先: (〒588-8588) 羽曳野市はびきの 3-7-1
大阪府立独立行政法人大阪府立呼吸器・ア
レルギー医療センター 臨床検査科
吉多仁子
TEL: 072-957-2121 (内) 2577
FAX: 072-957-8021
E-mail: yoshidahi@opho.jp

と CCE 液との反応時間は木下らの報告¹⁷⁾に従い 7 分 30 秒～10 分とした。その後、リン酸緩衝液で検体を希釈し、次いで 3,000G・15 分の冷却遠心を行い、その沈渣をリン酸緩衝液 1 ml に浮遊させたものをコバス法と TaqMan 法の測定に用いた。

前処理された検体 100 μ l からアンプリコア マイコバクテリウム処理試薬セット II で処理して DNA を抽出した。コバス法は A リング、TaqMan 法は K チューブにそれぞれの増幅試薬 50 μ l を添加後に、DNA 溶液 50 μ l を加え PCR 法を実施した。リアルタイム PCR 法は蛍光強度を定量測定するため、増幅試薬は遮光保存した。TaqMan 法の一部は翌日に測定し、その場合用いた DNA 溶液の保存は凍結とした。

III) PCR 法測定原理

コバス法は、全自動遺伝子装置コバス アンプリコア (Roche) を用い、専用試薬を用いて 2.5 時間の Polymerase Chain Reaction (PCR) 増幅後に測定を行った。

TaqMan 法は、コバス TaqMan48 (Roche) を用いた。50 サイクル核酸増幅を行い各サイクルの PCR 産物を、TaqMan プローブを用いてリアルタイムにモニターしながら結核菌群 DNA を検出した。

IV) 塗抹検査・培養検査の方法

塗抹検査は、喀痰溶解剤で均質化して、3,000G・15 分遠心後の沈渣をスライドに塗布し、蛍光法およびチール・ネールゼン法を実施した。

結核菌の液体培養には BBL MGIT 法 (MGIT: 日本ベクトン・デッキンソン)^{2), 11)} を用い、PCR 法と同じ前処理検体を 0.5 ml 接種した。小川培養は次のように行った。喀痰溶解剤で均質化し遠心後、沈渣に等量の抗酸菌喀痰処理液のスプーターメントゾル液 (極東製薬) を加え混和、15 分室温放置後、0.1 ml を極東小川 K 培地 (小川培地、極東製薬) に接種した。MGIT と小川培養の培養法のいずれかの選択は医師の指示に従い、いずれかの方法で結核菌が検出されたものを培養陽性とした。

〔研究 B〕 TaqMan 法 invalid 発生原因の検索検討

I) 対象

対象は 2007 年 9 月～10 月の間、コバス法を行った結果が invalid でなかった DNA 溶液 48 例を無作為に抽出し用いた。DNA 溶液の保存は凍結とした。

II) 検討の内容と方法

1) 増幅試薬と検体の混和不十分のため、2) 増幅試薬調製には増幅試薬はマスターミックス試薬にマグネシウム試薬 (Mg^{2+}) 200 μ l、内部コントロール試薬

(IC 試薬) 50 μ l を添加し調製する際、3) 増幅試薬調製から検体に添加までの試薬保存の時間の違いかの三つの可能性を考えて検討した。

1) K チューブ内の TaqMan 法の増幅試薬 50 μ l に検体 50 μ l 添加時に、①検体と試薬の混和なし、②ピペット操作による吸引と排出の反復 3～4 回の混和の 2 通りの方法を 24 検体で行った。

2) 使用前の試薬は転倒混和し使用するが、添加前の試薬がよく混和されず増幅試薬の濃度が不均質となり、低濃度の部分を吸引した場合にリアルタイム PCR 法に必要な試薬量が不足するため invalid の結果が発生するのではないかと考え検討を行った。① 3 種類の試薬を混和なし、② Mg^{2+} 試薬混和あり、③ IC 試薬混和あり、④ Mg^{2+} と IC 試薬の混和ありの 4 通りの方法を 12 検体で行った。

3) invalid の結果が発生するかを検討した。① 30 分間遮光保存、② 2 時間遮光保存、③ 3 時間遮光保存、④ 6 時間遮光保存、その後例を添加し PCR 法を測定する 4 通りの方法を 12 検体で行った。

なお、3) 以外は、増幅試薬調製約 30 分で添加し PCR 法を行い、quality standard (QS) の増幅を確認した。

結 果

〔研究 A〕

I) 対象症例の臨床診断

対象症例の内訳を表 1 に示した。肺結核 70 例で、非結核性肺疾患は細菌性肺炎 9 例、気管支喘息 6 例、非結核性抗酸菌症 4 例、肺癌 4 例、気管支拡張症 2 例、肺アスペルギルス症 2 例、その他 3 例の計 30 例であった。

非結核性抗酸菌症の 4 検体は、塗抹陽性、抗酸菌培養陽性で *M. kansasii* 1 例、*M. intracellulare* 3 例で

表 1. 症例の内訳

n=100 (例)	
肺結核	70
結核以外の症例	
細菌性肺炎	9
気管支喘息	6
非定型抗酸菌症	4
肺 癌	4
気管支拡張症	2
肺アスペルギルス症	2
その他	3
合 計	30

表 2. PCR 法の結果

n=100

			TaqMan			合計
			+	-	Invalid	
非結核患者由来の 結核菌培養陰性検体 n=30	Amplacor	+	0	0	0	0
		-	0	29	1*	30
		Invalid	0	0	0	0
結核患者由来の塗抹陽性 結核菌培養陽性検体 n=41	Amplacor	+	40	0	1*	41
		-	0	0	0	0
		Invalid	0	0	0	0
結核患者由来の塗抹陰性 結核菌培養陽性検体 n=19	Amplacor	+	13	1*	0	14
		-	0	5	0	5
		Invalid	0	0	0	0
結核患者由来の 結核菌培養陰性検体 n=10	Amplacor	+	0	0	0	0
		-	0	10	0	10
		Invalid	0	0	0	0

2 法の一一致率 97/100=97.0% * = 不一致例

あった。他の非肺結核性肺疾患の 26 検体は、塗抹・抗酸菌培養がすべて陰性であった。

肺結核 70 例は男性 45 名と女性 25 名で、平均年齢はそれぞれ 61.4 歳と 50.3 歳であった。治療歴別は未治療 53 例、再治療 16 例と不明 1 例であった。

II) 塗抹検査・培養検査・PCR 法の結果

肺結核 70 例は、塗抹陽性・結核菌培養陽性が 41 例、塗抹陰性・結核菌培養陽性は 19 例、塗抹陰性・結核菌培養陰性は 10 例であった。

上記結核菌培養陽性の計 60 検体は、MGIT・小川培養の両者陽性が 59 例で、MGIT 陽性・小川培養雑菌汚染が 1 例あった。小川培養陽性 59 例で結核菌 10 コロニー以下の微量排菌は 8 例あり、これらはすべて塗抹陰性であった。

PCR 法の結果を表 2 に示す。コバス法と TaqMan 法の結果が一致したのは 97 例、ともに陽性が 53 例、陰性は 44 例であり、コバス法と TaqMan 法の一一致率は 97% となった。不一致は、コバス法陽性・TaqMan 法陰性が 1 例、コバス法陽性・TaqMan 法 invalid が 1 例、コバス法陰性・TaqMan 法 invalid が 1 例で合計 3 例であった。非結核性肺疾患患者 30 例から採取した検体は、コバス法と TaqMan 法ともに陰性であった。

結核菌培養陽性 60 検体全体のコバス法陽性は 55 例、TaqMan 法陽性は 53 例で、結核菌培養陽性を基準としたときの感度は、コバス法が 91.7%、TaqMan 法は 88.3% であった。上記 60 検体中塗抹陰性の 19 例では、コバス法陽性が 14 例、TaqMan 法陽性は 13

例で、塗抹陰性・結核菌培養陽性検体の感度はコバス法が 73.7%、TaqMan 法は 68.4% であった。結核菌培養陽性でコバス法と TaqMan 法がともに陰性になった 5 例とコバス法陽性で TaqMan 法陰性 1 例の計 6 例はすべて小川培養の微量排菌例で、結核菌は平均 4.2 コロニーであった。

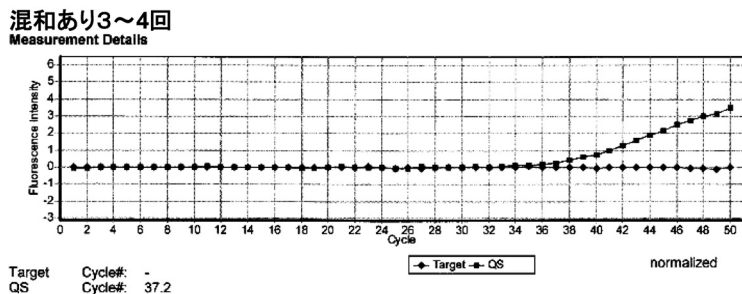
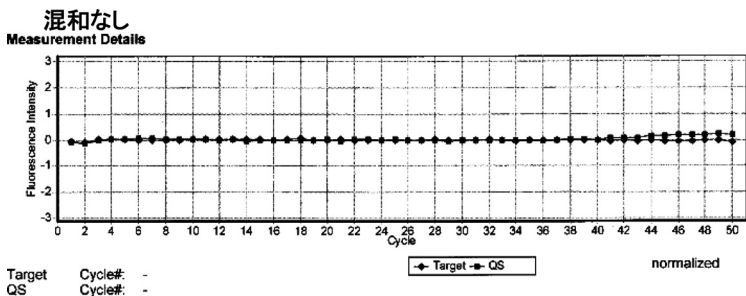
非結核性肺疾患の 30 例は、TaqMan 法で invalid が 1 例ありそれ以外はすべてコバス法、TaqMan 法ともに陰性であり、非結核性肺疾患での特異度はともに 100% であった。

【研究 B】TaqMan 法の invalid 発生原因の検討 結果

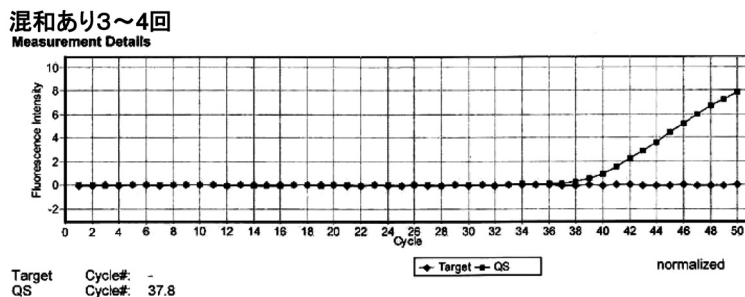
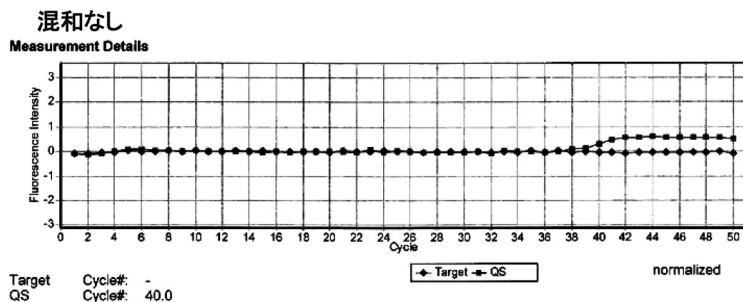
1) 検体への増幅試薬を添加する際の混和に関する検討は、混和ありで invalid が認められなかった。混和なしで 24 例中 1 例が invalid (図 1-1)、3 例は QS の増幅が明らかに減少 (図 1-2) していた。

2) 増幅試薬の各試薬混和が不十分なため、試薬が低濃度となり invalid が生じるか否かを検討したが、① 3 種類の試薬を混和なし、② Mg^{2+} 試薬混和あり、③ IC 試薬混和あり、④ Mg^{2+} と IC 試薬の混和ありの 4 通りのいずれでも invalid と QS の減少は認められなかった。

3) 試薬調製から検体添加し増幅開始までの時間の違いによる検討で、invalid が① 30 分後 0 例 (0%)、② 2 時間後 0 例 (0%)、③ 3 時間後 4 例 (33.3%)、④ 6 時間後 12 例 (100%) に認められた。調製増幅試薬を 2 時間以内に使用し増幅開始を行った場合、invalid



1-1) 内部標準液 (QS) が混和不良で陰性となった例



1-2) 内部標準液 (QS) が混和不良のため明らかに増幅が減少した例

図 1. TaqMan 法の invalid 発生原因の検索検討
増幅試薬と検体の混和についての検討。1-1) は内部標準液 (QS) が陰性となり invalid になった例。1-2) は QS の増幅が明らかに減少した例。

は認められなかった。

考 察

〔研究 A〕

I) アンプリコ法とコバス法と TaqMan 法の感度

結核菌標準菌株を用い希釈系列を作成した基礎的研究で、樋口ら¹⁴⁾は TaqMan 法の検出感度は 2×10^2 cfu/ml であり、コバス法と同等の感度であったと報告している。同じく、渡邊ら¹⁶⁾は検出感度 2.3×10^1 cfu/ml 以上で、アンプリコ法と TaqMan 法が同等の感度であり、TaqMan 法で 1 件の invalid を認め、一致率は 98.4% であったと報告している。これらのことから、上記三つの PCR 法の感度は同程度と考えられる。

結核菌培養陽性に対するアンプリコ法と TaqMan 法の検出感度比較した渡邊ら¹⁶⁾や布施川ら¹⁸⁾によると、両法の PCR 法は小川培養と同等もしくは、PCR 法がやや高い結果であったと報告している。

また、高嶋ら¹⁹⁾は、結核菌培養陽性に対するアンプリコ法の感度が 86.4% であったと報告している。この報告は、喀痰塗抹結果が Gaffky 7~8 号にもかかわらずアンプリコ法が陰性であった例が含まれていた。著者らは、アンプリコ法が低感度であった結果は、アンプリコ法の偽陰性が原因であり、偽陰性例の喀痰は粘性が強く DNA 抽出が不十分である場合や、増幅阻害物質の存在を示唆している。しかし、本報告では塗抹陽性および培養陽性に PCR 法の陰性はなく偽陰性はなかった。結核菌培養陽性でコバス法と TaqMan 法がともに陰性であった 5 例は塗抹陰性で、小川培養の微量排菌例であり、コバス法および TaqMan 法は、検出感度が結核菌培養法よりも低いと考えられた。結核菌培養陽性例に対するコバス法と TaqMan 法の陽性率は、それぞれ 91.7% (55/60 例)、88.3% (53/60 例) であり、Rajalahti ら¹⁹⁾は肺結核患者の喀痰培養陽性例でのコバス法陽性は 91% と報告している。TaqMan 法もコバス法と同様に、培養陽性例に対する感度は培養法に比較しやや劣ることが確認された。

〔研究 B〕 TaqMan 法の invalid 発生原因の検索 検討

血液による濁りやタンパク質による白濁のある検体は、PCR 法一般の増幅阻害の原因となることが知られている^{18), 19), 21)}。そのため当センターでは前処理後血液成分や白濁が認められる検体は、上清が透明になるまで前処理を 2~3 回行っている。この処理によってコバス法による当センターの 2006 年度の増幅阻害

の発生率は 0.3% (4/1,265 例) であった。しかし、本報告ではコバス法に invalid は認められず、TaqMan 法で 2 件 (2.0%) 認められた。コバス法に比べ TaqMan 法の invalid が高率なため、その発生原因について検討を行った。結果から、TaqMan 法はコバス法に比べ増幅試薬の粘性が高く、検体との十分な混和がない場合、本来の inhibition (増幅阻害) によるものではなく、検体と増幅試薬が反応しないことを原因とし invalid を生じる可能性があることがわかった。本検討では極端に混和されない状況をつくるため、K チューブ内で増幅試薬に触れないように検体を添加した。検討 1) で 24 検体中 1 例が invalid、2 例は QS の増幅が明らかに減少していた。このことより、検体の添加時にはピペット操作による吸引と排出の反復 3~4 回の混和が必要であると考えられた。現在、Roche のコバス アンプリコン アプリケーションコース研修会では、確実に PCR 反応を成立させるため、検体添加時のピペット操作による混和を推奨している。

コバス法は DNA 抽出試薬 (Neutralization) に Mg^{2+} が添加してあり、TaqMan 法も同じ DNA 抽出試薬を使用する。リアルタイム PCR 法である TaqMan 法はコバス法に比べ核酸増幅時の反応により多くの Mg^{2+} を必要とし、マスターミックス試薬に再度 Mg^{2+} を添加し増幅試薬として用いる。そこで、試薬の濃度が高く、混和不良により invalid 生じるのではないかと考え検討 2) を実施したが、増幅試薬の各試薬の混和が不十分でも invalid に影響しなかった。ただし、前述しているように正しく検査を行うためには、各試薬は使用前に混和しスピンドウンしなければならない。検討 3) からは、TaqMan 法の能書の記載どおり、コバス法とは異なり試薬調製から検体を添加し測定開始まで 2 時間以内でなければならないことがわかった。

上記の結果から、TaqMan 法の invalid は、検体と増幅試薬の混和不良に一因があると考えた。TaqMan 法の結果から invalid を除くとコバス法と TaqMan 法の一致率は 99.0% となり、結核菌検査指針 2007¹³⁾ に解説されている感度 99.4% と同程度で、岡崎ら¹⁵⁾の 99.2%、渡邊ら¹⁶⁾の 98.4% と比べても遜色はなかった。

また、今回の検討対象ではなかったが、能書によると各試薬を測定前 30 分以上 15~20°C に戻し検査に用いないと、各試薬の温度が低い場合反応が十分でない記載されている。これは、増幅試薬と検体との反応が十分でなければ、QS の増幅低下や invalid となる場合もあるため各試薬を箱から必ず出し、常温に

戻すことにも留意する必要がある。

TaqMan 法の能書に検体の前処理に *N*-アセチル-L-システイン・NaOH 法 (NALC-NaOH 法)¹³⁾ を推奨しているが、NALC-NaOH 法を用いた渡邊らの報告¹⁶⁾では invalid が 62 例中 1 例あり本報の 100 例中 2 例と差はなかった。このことから、CCE 液の反応時間 7 分 30 秒~10 分を用いる前処理は NALC-NaOH 法に遜色なく TaqMan 法に用いることができることがわかった。NALC-NaOH 液は安定時間が 24 時間と短い、CC-E 液は室温保存で長期安定し日常検査で使いやすい方法である¹⁷⁾。

ま と め

TaqMan 法はアンプリコア法やコバス法と同様に偽陰性防止に内部コントロール¹²⁾である QS、偽陽性防止に dUTP と uracil-*N*-glycosylase⁷⁾を搭載している。今後、検体の前処理と DNA 抽出法が改良され、TaqMan 法測定までの時間がより短縮されることが期待される。

1999 年の厚生省の結核非常事態宣言後、検査の迅速性が求められてきた。かかる遺伝子による診断や、液体培養・感受性試験が結核減少に大きく寄与してきたのは事実である²²⁾。TaqMan 法はリアルタイム PCR 法を用いることで増幅・測定を同時に行い測定開始から結果報告までが 2.5 時間と短時間である。コバス法は増幅 2.5 時間後にさらに測定時間が必要であり、検体数・測定項目により測定時間は延長される。操作性においても TaqMan 法は、K チューブ内に試薬と DNA 抽出液を 50 μ l ずつ混和させコバス TaqMan48 にセットするだけという簡単な操作法であり、コバス法で必要であった他の多くの試薬・洗浄液の管理、廃液の処理、コバス アンプリコアへの試薬の登録、機種メンテナンスなどが不要である。以上から、TaqMan 法は操作手技の簡便性と迅速性を兼ね備え、コバス法より臨床検査の現場でより有用と考えられ^{15), 16)}、結核診断に大きく寄与するものと期待される。

文 献

- 1) 財団法人結核予防会. 2007. 結核の統計. 財団法人結核予防会.
- 2) 阿部千代治. 1996. 酵素反応性蛍光センサーを用いた新しい抗酸菌迅速培養システムの検討. 感染症雑誌 70: 360-365.
- 3) 三浦隆雄, 長谷川直樹, 鈴木喜久雄, 他. 2000. MGIT (Mycobacteria Growth Indicator Tube) 抗酸菌検査システムの検出率と迅速性の評価. 日

本臨床微生物学会雑誌 10: 125-131.

- 4) 田沢庸子, 石川さより, 古畑由紀江, 他. 1998. BACTEC MGIT 960 の使用経験および臨床的有意性. JARMAN 9(2): 59-65.
- 5) Kolk, A. H. J., A. R. J. Schuitema, S. Kuijper, et al. 1992. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical samples by using polymerase chain reaction and nonradioactive detection system. J. Clin. Microbiol. 30: 2567-2575.
- 6) Abe, C., K. Hirano, M. Wada, et al. 1993. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical specimens by polymerase chain reaction and Gen-Probe amplified *Mycobacterium tuberculosis* Direct Test. J. Clin. Microbiol. 31: 3270-3274.
- 7) 青木正和, 片山 透, 山岸文雄, 他. 1994. PCR 法を利用した抗酸菌 DNA 検出キット (アンプリコア マイコバクテリウム) による臨床例からの抗酸菌迅速検出. 結核 69: 593-605.
- 8) 阿部千代治, 齊藤由美子, 本山禎二, 他. 1997. アンプリコア マイコバクテリウムキットの評価に関する共同研究. 結核 72: 201-206.
- 9) 阿部千代治, 森 亨, 藤井英治, 他. 1995. 結核菌の迅速検出のための MTD の評価に関する共同研究. 結核 70: 467-472.
- 10) 宮本潤子, 橋本敦郎, 水兼隆介, 他. 1999. MTD 検査における偽陽性および偽陰性例についての臨床的検討. 結核 74: 611-616.
- 11) 清水香代子, 小林芳夫. 1999. コバス アンプリコアによる抗酸菌検出試薬の検討. 臨床と微生物 26: 861-866.
- 12) 大島利夫, 宮地勇人, 増川敦子, 他. 1996. 全自動遺伝子装置コバス アンプリコアによる結核検査の評価. 臨床機器・試薬 19: 483-490.
- 13) 日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会. 2007. 結核菌検査指針 2007. 財団法人結核予防会.
- 14) 樋口武史, 丹羽紀実, 前田重隆, 他. 2006. コバス TaqMan MTD 法の基礎的検討. 臨床微生物学会雑誌 16: 73.
- 15) 岡崎充宏, 福川陽子, 米谷正太, 他. 2007. コバス TaqManMTB による結核菌群 DNA 検出の比較検討. 臨床と微生物 34: 443-448.
- 16) 渡邊あゆみ, 林 英子, 長田智美, 他. 2007. 結核菌群核酸増幅同定試薬コバス TaqMan MTB の基礎的検討及びアンプリコア マイコバクテリウムとの比較検討. 医学と薬学 58(2): 331-337.
- 17) 木下幸保, 富田元久, 鈴木克洋, 他. 2002. 蛋白膨潤作用を有する抗酸菌前処理液 (液) の評価. 結核 77: 155.
- 18) 布施川久恵, 宮地勇人, 大島利夫, 他. 1995. 胸水, 胃液からの PCR 法による結核菌検出—IS 6110 遺伝子とアンプリコア™ マイコバクテリウムの比較—. 臨床病理 43: 941-947.
- 19) 高嶋千恵, 根ヶ山 清, 藤田次郎, 他. 1996. 未治療症例における AMPLICOR *Mycobacterium*

- 偽陰性例についての検討. 臨床微生物学会雑誌 6: 27-30.
- 20) Rajalahti, I., P. Vuorinem, M. Nieminen, et al. 1998. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in sputum specimens by the automated Roche Cobas Amplicor Mycobacterium tuberculosis test. J. Clin. Microbiol. 36: 975-978.
- 21) A. H. J. Kolk, G. T. Noordhoek, O. De Leeuw, et al. 1994. *Mycobacterium smegmatis* strain for detection of *Mycobacterium tuberculosis* by PCR used internal control for inhibition of amplification and quantification of bacteria. J. Clin. Microbiol. 32: 1354-1356.
- 22) 高嶋哲也. 2002. 迅速診断の有用性. 結核 77: 220.

Comparison of the Cobas TaqMan MTB (TaqMan) and COBAS AMPLICOR (COBAS) for the Detection of *Mycobacterium tuberculosis*

Hiroko Yoshida, Tomoshige Matsumoto

Osaka Prefectural Medical Center for Respiratory and Allergic Diseases,
3-7-1 Habikino, Habikino-shi, Osaka 583-8588, Japan

The efficiency of the COBAS TaqMan MTB (TaqMan) and COBAS AMPLICOR (COBAS) for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* has been compared. A total of 100 sputum specimens were submitted from 100 patients to our laboratory from May to July 2007. Among them, 70 and 30 were pulmonary tuberculosis and other pulmonary diseases, respectively. Fifty-three were positive and 44 were negative for both methods. The sensitivity of TaqMan and COBAS for smear positive specimens was 91.7% and 88.3%, respectively. Twenty-nine specimens from 30 patients other than tuberculosis were negative by TaqMan, and one specimen was invalid. These 30 specimens were all negative by COBAS. Then, the specificity of two methods was 100%. The agreement ratio of those methods was 97%. The results of those methods highly agreed. TaqMan showed a shorter turn around time than COBAS. TaqMan amplification method will be useful as a routine clinical test for the detection of *M. tuberculosis*.