

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, エタンブトール (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・クロロフォルム法で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 *Pvu*II で切断後, 0.8%アガロースゲル電気泳動で分離し, サザンブ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の調査結果^{10, 12)}、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。

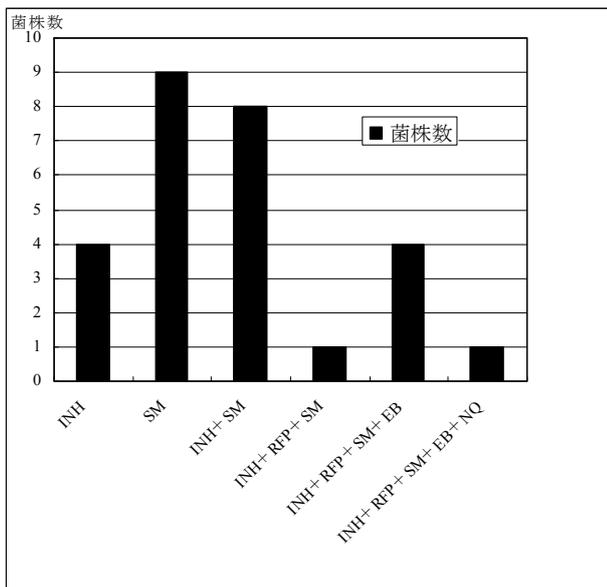


図1. 搬入菌株の薬剤感受性パターン

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いるも、VNTR 法でのアリル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リルプロファイルとされている。

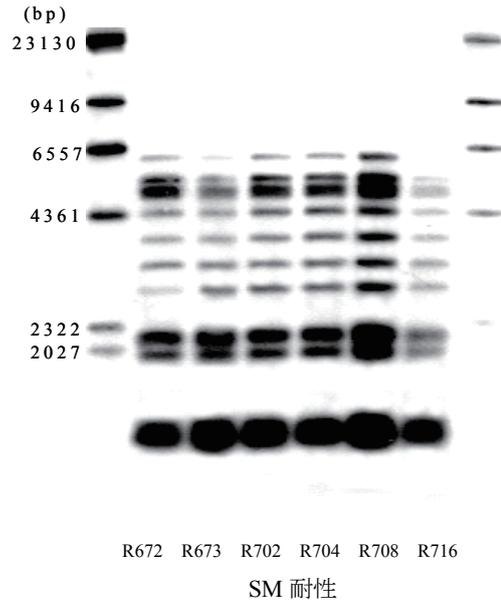


図2. クラスター1のRFLP法による解析

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	VNTR372	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

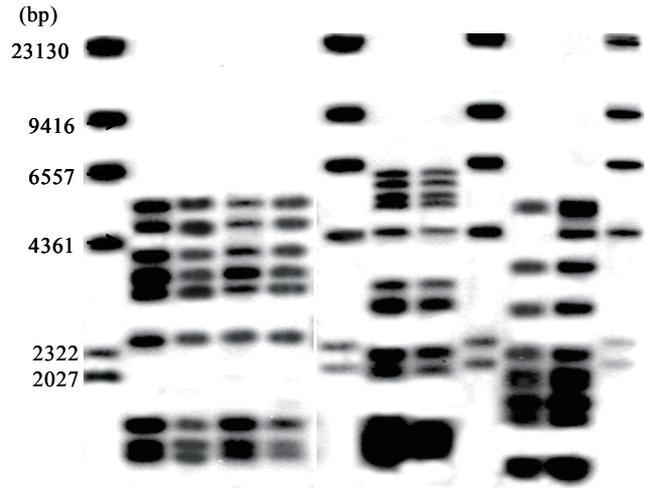
網掛け部分: 薬剤耐性

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ليل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ليل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。



R663 R690 R695 R699 R681 R732 R682 R689
INH, SM 耐性 多剤耐性 INH INH, SM
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	QU B11b	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.

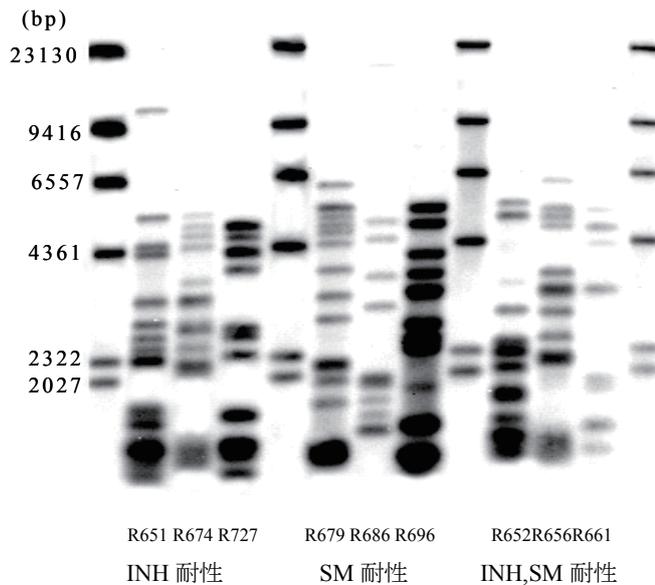


図 4. その他の株の RFLP 法による解析

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	QUB11a	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	Mtub04	2	3	2	4	1	3	1	3	2	
1442	Mtub16	2	2	1	2	2	2	2	2	2	
1955	Mtub21	3	3	2	4	2	3	7	3	3	
2074	Mtub24	3	4	3	3	4	3	3	5	3	
2401	Mtub30	2	4	1	4	4	4	2	4	4	
3663	Mtub38	1	1	2	1	2	1	2	1	1	
3690	Mtub39	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

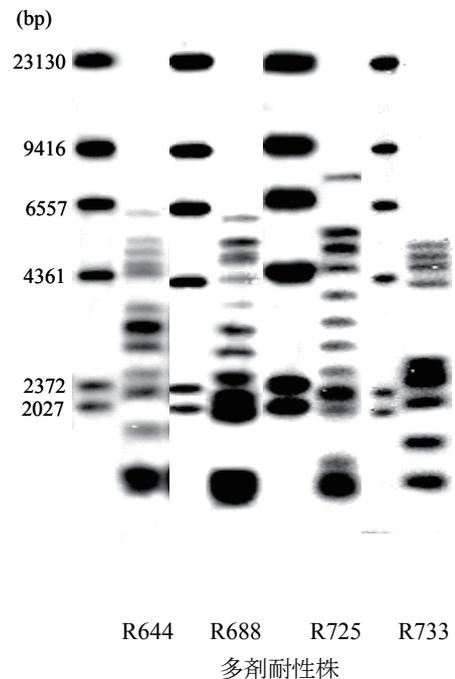


図 5. 多剤耐性株の RFLP 法による解析

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	QUB11a	5	8	8	4
2163b	QUB11b	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	Mtub04	4	4	3	3
1442	Mtub16	2	2	2	1
1955	Mtub21	3	4	4	2
2074	Mtub24	3	3	3	3
2401	Mtub30	4	4	4	1
3663	Mtub38	1	1	1	2
3690	Mtub39	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