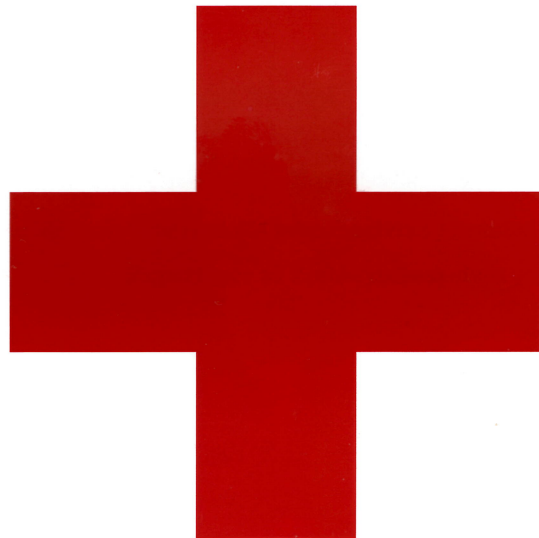


日本赤十字社臨床検査技師会誌

日 赤 検 査

The Journal of Japanese Red Cross Medical Technology

—— 2022 —— 第 55 卷 第 1 号 ——



人間を救うのは、人間だ。Our world. Your move

日本赤十字社
JAPANESE RED CROSS SOCIETY
臨床検査技師会

The Journal of Japanese Red Cross Medical Technology

Vol.55 No.1 2022

ISSN 1343-2311 Nisseki Kensa

CONTENTS

Articles

- P11. Fundamental study of ID NOW™ COVID-19 test kit
Junya Osagawa, *et al.*
- P17. Analysis of 12 cases pure red cell aplasia experienced in our hospital
Yasunori Moriyama, *et al.*
- P22. A case of the cholangitis caused by *Lactococcus garvieae* occurred in an octogenarian male-patient
Takayuki Akahane, *et al.*
- P27. Evaluation of the Interleukin-6 Measurement Reagent "Elecsys IL-6"
Tomoki Itohara, *et al.*
- P33. Three cases of acid-fast bacilli (non-tuberculosis mycobacteria) isolated from blood culture
Experience of Ziehl-Neelsen stain resistance
Mai Hirai, *et al.*
- P40. Effect of introducing computer-crossmatch
Ayano Nishikawa, *et al.*
- P45. Study for the usefulness of Mediace RPR
Noriko Nishiyama, *et al.*
- P50. Efforts by hepatitis coordinator to promote consultation with hepatologists
for hepatitis C virus antibody-positive patients
Takeshi Ochiai, *et al.*

目次

【巻頭言】

日本赤十字社臨床検査技師会 事務局長 葛西 俊二

【お知らせ】

- ・第23回 日赤検査学術大会開催のご挨拶 村住 敏伸
- ・日本赤十字社臨床検査技師会 HP 案内
- ・日赤検査投稿規定

【研究】

1. ID NOW™新型コロナウイルス2019の基礎的検討 P11
長川 隼也. 他 (大阪赤十字病院)
2. 当院で経験した赤芽球癆12症例の解析 P17
森山 保則. 他 (松山第一赤十字病院)
3. 胆管炎の患者の胆汁培養より *Lactococcus garvieae* が検出された一例 P22
赤羽 貴行. 他 (安曇野赤十字病院)
4. インターロイキン-6測定試薬「エクルーシス試薬IL-6」の基礎的検討 P27
糸原 智生. 他 (松江赤十字病院)
5. 血液培養より抗酸菌を検出した3症例 P33
チール・ネールゼン (Ziehl-Neelsen) 染色の難染色性を経験して
平井 舞. 他 (福井赤十字病院)
6. コンピュータクロスマッチ導入による効果の検討 P40
西川 文乃. 他 (深谷赤十字病院)
7. メディエースRPRの有用性の検討 P45
西山 記子. 他 (松山赤十字病院)
8. C型肝炎に対する啓発と肝疾患コーディネーターの関わり P50
落合 剛史. 他 (芳賀赤十字病院)

巻頭言

「千載一隅」



日本赤十字社臨床検査技師会
事務局長 葛西 俊二（芳賀赤十字病院）

会員の皆様におかれましては、ますますご清栄のこととお慶び申し上げます。また平素より日本赤十字社臨床検査技師会活動に対しまして格別のご支援、ご協力を賜り厚く御礼申し上げます。今年度もおかげ様で日本赤十字社臨床検査技師会誌「日赤検査」を、会員の皆様には貴重な研究論文をご投稿いただき、またメーカー様には広告協賛をいただき発刊することができました。ありがとうございます。私は山口会長をはじめ理事の皆様、会員の皆様の多大な協力を得ながら、歴史ある日赤技師会の事務局を先輩理事から引き継ぎ、微力ながらも事務局業務を担当させていただいております。これからも少しでもお役に立てますよう、尚一層の努力を重ねてまいりますので何卒よろしく願いいたします。

さて、2020年2月に端を発した新型コロナウイルス感染拡大は、オミクロン株により、世界的にさらに蔓延し、日本でも第6波として毎日のように過去最高の感染者数が報道されております。本年度もその影響で、業務研修会が中止、総会はホームページを利用した郵送による議決権行使という苦肉の開催方法が2年目になってしまいました。また、第23回日赤検査学術大会も再延長となるなど、世の中の終息に対する期待は叶わず大きな影響を受けつづけています。会員の皆様も新型コロナウイルス検査に昼夜ご尽力されていることと思います。

このような状況になる前の2015年4月1日より、法改正にて臨床検査技師においても検体採取が認められました。また医師の働き方改革の一環として、臨床検査技師へのタスク・シフト/シェアについて2021年10月1日付で施行されました。新たに10行為が認められ、また、現行法でも可能とされた14行為も具体的に示されました。テレビを中心とした報道では毎日のようにPCR検査という文言が登場し、臨床検査が一気に世間に認識されるようになりました。臨床検査技師や救急救命士が条件付きではありますが新型コロナワクチンの打ち手として認められ座学と実技講習後に実際に施行した臨床検査技師も誕生しました。

我々臨床検査技師にとって、いままさに「千載一隅」のタイミングととらえ、将来に向けて職域拡大を進めることが重要であると考えます。新たな業務を行うことは、研修だけでは不十分であり、臨床医との信頼関係のもと体制構築や実践的な訓練も必要です。実際には精度管理業務やISO取得に向けての業務等繁忙でとても厳しい状況にあると思います。しかし、過去を振り返ると採血業務や超音波検査、病理細胞検査等医師や看護師中心の業務を我々は時間をかけて取り入れてきました。今はこれらの業務のほとんどを臨床検査技師が担っております。まさに我々にはその能力が十分あることの証明です。

私が臨床検査技師になった時代は、臨床検査技師の働きをよく「縁の下の力持ち」と評されておりましたが、今は患者を中心としたチーム医療の考え方が一般的です。他の医療職も業務拡大を模索していますので、与えられた業務をこなすだけではなく、チーム内またはその施設の需要を見極め、どう動くかが重要です。

毎年皆様にご協力いただいておりますアンケート調査で、本年はタスク・シフト/シェアリングに関する内容といたしまして現在鋭意集計中です。集計結果がまとまり次第皆様に報告いたします。赤十字病院92施設のネットワークを生かし、情報共有をしながら各施設にあった分野から進めていければと考えております。

末筆ですが、新型コロナウイルス感染症の猛威が鎮静化し、皆様と研修会や学術大会でお会いできることを祈念いたしております。日赤検査技師会員二千余名は同じ釜の飯を食う仲間です。このスケールメリットを生かし、今後とも皆様の積極的な技師会活動への参画とご協力を賜り、赤臨技と皆様の業務が益々発展を遂げることを願っています。

第23回 日赤検査学術大会 開催のご挨拶



第23回日赤検査学術大会

大会長 神戸赤十字病院 村住 敏伸

2020年初頭に端を発した新型コロナウイルス感染症。いまだ世界全体がパンデミックの渦中にあり、我々の生活様式も大きな変化を余儀なくされました。

ベータ、デルタと変異株が出現し、昨年秋には一旦収束を迎えましたが、現時点では新たなオミクロン株が猛威を奮い、連日感染者数の最多更新を続けています。

一方、服用治療薬の開発と、我々医療従事者では3回目のワクチン接種も進み、その効果も期待され、ウイルスとの攻防は正に端倪すべからざる状況となっています。

会員の皆様には病床稼働の増加とスタッフの感染防止対策など日々奮闘されている事と思います。どうか早くピークアウトを迎え、桜咲く頃には収束する事を願ってやみません。

さて、第23回日赤検査学術大会は全国の日赤より会員が一堂に会し、学術・親睦交流を図る事こそが最も有意義であるとの赤臨技本来の趣意を貫き、会場はメルパルク京都で2022年9月10日(土)11日(日)へと一年延長し、感染拡大の防止に十分な対策を取りながら、従来の集合型式による開催を目指す事としました。

大会テーマは「伝統と挑戦 知と技のクロス ～古都で考える現代とこれからの医療～」と題し、よき伝統は引き継がれながらも、未来に向けてより質の高い検査が提供できるよう、新たな知識と技術の向上に挑戦しつづけ、未来の検査室を担う若い人たちにも希望がもてる大会にしたいと考えております。

教育講演は、半世紀に亘り臨床検査技師の教育に携われてこられた、鈴鹿医療科学大学の長村洋一先生に「臨床検査技師、この魅力的な職種の教育を振り返って期待すること」と題し、タスク・シェア／シフトを考える時代、担うべき職域なども含め、私たちの将来に向けたご講演をお願いしております。

特別講演は、認知症の人と家族の会の鷺巣典代先生に「認知症になっても安心な社会～誰も取り残さない医療のために～」と題し、人生100年と言われる時代、いかに質の高い人生をおくる事が大切なのか、そのために医療現場で何が求められているのか、と言った内容でご講演をお願いしております。

また一日目はランチョンセミナーとして、京都百味会いもぼう平野家本家14代当主 北村眞純先生に京の食文化に因んだ興味深いお話をお願いしております。

京都は言わずと知れた、世界が認めた歴史と文化の観光都市でもあります。この大会の前後にでも是非足を延ばし、秋の京文化に触れていただけたらと思います。

しかしながら、今後も感染の流行状況によっては政府や本社も含め関係諸機関との連携を鑑み、運営再考しなければならない状況も考えられます。その際は参加会員の皆様にはご迷惑をお掛けするかもしれませんが何卒ご理解・ご協力をお願い申し上げます。

最後に、近畿ブロックスタッフ一同、多く皆様のご来訪いただける事を心より願っております。

第23回日赤検査学術大会開催概要

【開催日】 2022年9月10日(土)・11日(日)

【会場】 学術大会・意見交換会

メルパルク京都

〒600-8216 京都府京都市下京区東洞院通七条下ル東塩小路町676番13

TEL 075-352-7444(代)

【テーマ】 「伝統と挑戦 知と技のクロス」 ～古都で考える現代とこれからの医療～

【教育講演】 「臨床検査技師、この魅力的な職種の教育を振り返って期待すること」

講師 鈴鹿医療科学大学 教授 長村 洋一 先生

【特別講演】 「認知症になっても安心な社会 ～誰も取り残さない医療のために～」

講師 認知症の人と家族の会 鷺巣 典代 先生

【ランチョンセミナー】 京都百味会

いもぼう平野家本家14代当主 北村 眞純 先生

【一般演題】 優秀賞として3題選出し表彰予定 (赤臨技企画)

【会費】 10,000円

〈連絡先・担当者〉

大会長 : 村住 敏伸 (神戸赤十字病院)

実行委員長 : 真下 照子 (京都第二赤十字病院)

副実行委員長 : 小藺 治久 (京都第一赤十字病院)

大会事務局 京都第二赤十字病院 検査部内

担当 井上 政昭

TEL : 075-231-5171 (内線 : 8238)

FAX : 075-256-3451 (代表)

e-mail : inouem@kyoto2.jrc.or.jp

研究

ID NOW™新型コロナウイルス2019の基礎的検討

長川 隼也¹⁾, 市村 佳彦¹⁾, 高橋 晃史¹⁾, 三浦 一陽¹⁾
田崎亜矢子¹⁾, 山田美智子¹⁾, 佐藤 信浩²⁾, 武呂 誠司³⁾

¹⁾大阪赤十字病院 臨床検査科部 微生物学的検査室

²⁾大阪赤十字病院 臨床検査科部

³⁾大阪赤十字病院 糖尿病・内分泌内科

Fundamental study of ID NOW™ COVID-19 test kit

要旨

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) が蔓延している中, 病床の逼迫をなんとか食い止めるためには, 24時間体制で検査を実施できる体制を構築することが急務である。当院では Ampdirect™2019-nCoV 検出キット (SHIMADZU) を用いた RT-PCR 検査 (BIO-RAD: CFX™Real-Time System) を日勤帯と休日 (10時) に実施している。今回, より迅速で簡便な ID NOW™新型コロナウイルス2019 (Abbott) を導入し24時間体制での検査を確立するために RT-PCR 検査と比較検討を行った。結果は感度83.7%, 特異度99.3% (全体) であった。ID NOW の使用はその特性を熟知し限定的に運用をする必要がある。

Junya Osagawa, *et al.*: ISSN 1343-2311 Nisseki Kensa 55: 11-16, 2022(2021.10.15 受理)

KEYWORDS

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2), ID NOW, Near 法, COVID-19

はじめに

2020年より新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) が急速に世界で蔓延し日本でもしばしば感染者数の著しい増加を経験し¹⁾, ワクチンや治療薬の開発は進められてはいるものの, いまだ終息の見込みはたっていない。臨床では早く正確に COVID-19 を診断する手法の確立が急がれる。

COVID-19 は, 感染が疑われる場合に鼻咽頭ぬぐい液を用いた RT-PCR 法による遺伝子検査を実施して陽性となった場合に確定診断される²⁾。当院で使用している試薬は 1Step RT-PCR 法であり RNA の抽出作業が不要であるが, 専門的な設備と人員を要する。臨床側からは感染状況と病床の逼迫から24時間体制での検査が要望された。しかし, 専門的な知識を有した人員を育成するには膨大な時間が必要であることと, 他の検査業務も同時並行

で実施しなければならないため困難である。このため, 簡便かつ迅速で他の検査とも同時に行える検査が求められた。

このような背景から結果判定が陽性の場合には約5分, 陰性の場合には13分と迅速に結果を得ることができ米国における多施設臨床試験の中間報告で陽性一致率93.3%, 陰性一致率98.4%の成績が報告された³⁾ ID NOW™新型コロナウイルス2019 (以下: ID NOW) の導入を目的とし, 我々はPCR検査 (BIO-RAD: CFX™Real-Time System) と ID NOW (Abbott) を比較検討した。

【機器・試薬】

(1) 基準法 RT-PCR

機器: BIO-RAD: CFX™Real-Time System

試薬: Ampdirect™2019-nCoV 検出キット (SHIMADZU)

(2) 比較法 ID NOW

機器：ID NOW インストゥルメント

試薬：テストカートリッジ (BASE)

サンプルカートリッジ (RCVR)

分注カートリッジ (CARTRDG)

【対象と方法】

対象は2020年12月1日から2021年1月31日までに当院、発熱外来を受診（保健所からの紹介も含む）し RT-PCR 検査が必要と診断され RT-PCR 検査を実施した1851検体のうち陽性検体全49件、ランダムで選んだ陰性検体135件の計184検体を用いて実施した。

今回の検討では検体採取者の暴露時間の軽減、採取手技によるウイルス量の差を無くすために同一検体を使用し比較を行った。

方法

基準法

- ① 滅菌生理食塩水1mLに採取した検体（鼻咽頭ぬぐい液）を入れ、ボルテックスミキサーで5秒攪拌後、静置し反応チューブに処理液（2019-nCoV Sample Treatment Reagent）5 μ L 及び検体5 μ L を添加しキャップをする。
- ② ボルテックスミキサーで5秒攪拌後、スピンドウンする。
- ③ 90℃の恒温装置で5分間加熱処理を行う。
- ④ スピンドウン後、氷冷する。
- ⑤ 反応試薬を検体数分調整する。必要量は1テスト分
 反応液A（2019-nCoV Reagent A）6.5 μ L
 反応液B（2019-nCoV Reagent B）6.5 μ L
 反応液C（2019-nCoV Reagent C）2.0 μ L
 総量15 μ L
- ⑥ 調整後、ボルテックスミキサーで5秒間攪拌する。
- ⑦ ⑤で調整した試薬を新たな反応チューブに分注し④で氷冷していた検体を10 μ L 添加しキャップをする。
- ⑧ ボルテックスミキサーで5秒攪拌後スピンドウンし直ちに RT-PCR（BIO-RAD：CFX™Real-Time System）で測定を行う。

比較法

- ① ID NOW インストゥルメントの電源を入れログインしホーム画面を立ち上げる。

- ② ホーム画面で“テスト実行”を選択する。
 - ③ “COVID-19”を選択する。
 - ④ 患者IDをスキャンする。
 - ⑤ カバーを開き、オレンジ色のテストカートリッジをオレンジ色のテストカートリッジホルダーに挿入する。
 - ⑥ 青色のサンプルカートリッジを青色のサンプルカートリッジホルダーに挿入する。
 - ⑦ サンプルカートリッジが加温（3分間）されるのを待つ。加温中は取り出さない。
 - ⑧ 画面で指示が表示されたら、ホイルシールをはがし、検体採取後の綿棒をサンプルカートリッジの液体中で10秒間混ぜる。綿棒を側面に押し付けて溶液をしぼりながら綿棒を取り除き“OK”を押す。
 - ⑨ サンプルカートリッジに分注カートリッジを押し込む。正しく押し込まれた場合は分注カートリッジ上面のインジケーターが上がる。オレンジ色のインジケーターが上がっていない場合は、上がるまで分注カートリッジに押し込む。
 - ⑩ 分注カートリッジを持ち上げてテストカートリッジに押し込んで接続する。分注カートリッジがテストカートリッジに正しく接続されると、オレンジ色のインジケーターが下がる。オレンジ色のインジケーターが下がらない場合は下がるまで分注カートリッジを押し込む。
 - ⑪ カバーを30秒以内に閉じる。
- RT-PCR で結果が判明した検体について当日中に ID NOW（Abbott）でも測定した。RT-PCR の Ct 値は 0 もしくは 40 以上を陰性としそれ以外の値を陽性とした。ID NOW は測定後、結果が表示（陽性 or 陰性）されるため、それを結果とした。

測定原理

基準法：Ampdirect™2019-nCoV 検出キット（SHIMADZU）

1Step RT-PCR法により SARS-CoV-2 遺伝子を検出する。検体に処理液を加えて加熱することでウイルスが溶解し、核酸を遊離させる。次に、逆転写酵素により逆転写反応を行い、SARS-CoV-2 の RNA に相補的な逆転写 DNA (cDNA) を合成した後、蛍光プローブを用いたリアルタイム PCR を行う。プライマー及び蛍光プローブは、SARS-CoV-2 特異的な

配列2か所 (N1 及び N2) に設計されている⁴⁾。また、PCRの増幅工程が問題ないことを確認するための内部コントロール (IC) DNA およびそれに相補的な配列をもつプライマー及び蛍光プローブを含んでいる。反応液中に SARS-CoV-2 の cDNA 及び IC の DNA がある場合、それに相補的な配列を持つプライマー及び蛍光プローブにより、特異的な PCR が繰り返されることでそれぞれの核酸配列が増幅される。この増幅工程において、相補的な配列に結合した蛍光プローブが DNA ポリメラーゼの5'-3'エキソヌクレアーゼ活性により分解されることで、消光物質 (クエンチャー色素) からレポーター色素が乖離し、蛍光が発せられる。この蛍光強度を PCR の1サイクルごとに測定し、各蛍光強度の値を線で結んだものが、増幅曲線となる。核酸増幅に伴い、蛍光強度が検出できる量に達すると増幅曲線が立ち上がることを利用し、検体中の SARS-CoV-2 遺伝子及び IC DNA の核酸増幅を検出する。

比較法 ID NOW

等温核酸増幅法の1つである NEAR (Nicking Enzyme Amplification Reaction) 法を原理としている⁵⁾。標的配列を挟むような2つのテンプレートを使用する。テンプレートには2本鎖を安定化する安定化領域、ニッキングエンドヌクレアーゼ (切断酵素) 結合・切断部位、標的配列に相補的な領域 (認識領域) の3つが存在する。安定化領域と切断酵素結合・切断部位は標的に相補的な配列は持たない。反応液中の RNA はまず逆転写酵素により DNA に逆転写される。その後、2つのテンプレート、DNA ポリメラーゼ、切断酵素により、まず標的配列を含み、両末端に安定化領域、切断酵素結合・切断部位が付加された2本鎖生成物 Amplification Duplex が得ら

れる。切断酵素がこの Amplification Duplex の切断酵素結合・切断部位の片鎖に切れ目 (ニック) を入れ、その部分を起点にして、DNA ポリメラーゼがすでにある相補鎖を乖離させながら、新しい相補的な配列を伸長させることで、標的領域を含む特異的な生成物が増幅する。この切断、および伸長は一定温度で繰り返し行われ、結果として特異的な生成物は幾何級数的に増幅する。

核酸増幅の検出には、リアルタイム蛍光標識モレキュラービーコン検出システムを使用している。モレキュラービーコンはヘアピンループ構造をもつ一本鎖 DNA 配列であるが、増幅された標的配列へ結合することで、DNA の両末端に結合した蛍光物質と消光物質の距離が物理的に乖離し、蛍光シグナルが発せられる。そして、反応液中の蛍光強度が専用機器で経時的に測定されることにより、サンプル中の SARS-CoV-2 RNA が検出され、判定結果が専用機器画面に表示される。

【結果】

RT-PCR の結果が陽性となった検体49件のうち ID NOW で陽性が41件、陰性となった検体が8件で感度83.7%、RT-PCR の結果が陰性となった検体135件のうち ID NOW で陰性が134件、陽性が1件で特異度99.3%となった (Table1)。両結果が陽性となった検体の Ct 値と症状の有無を Table2 に示し、RT-PCR の結果が陽性、ID NOW が陰性となった検体の Ct 値と症状の有無を Table3 に示す。

RT-PCR 陽性・ID NOW 陽性の41検体のうち無症状の患者は3名のみで92.6%で発熱、味覚・嗅覚異常などの何らかの症状が認められた。RT-PCR 陽性・ID NOW 陰性は9検体で2名が有症状であり22.2%であったが原疾患での症状である可能性も示唆された。

Table1 成績(全体)

		ID NOW		合計
		陽性	陰性	
RT-PCR	陽性	41	8	49
	陰性	1	134	135
合計		42	142	184

感度: 83.7%(41/49)

特異度: 99.3%(134/135)

Table2 成績(全体)

PCR陽性・ID NOW陽性

No	性別	入・外	検査理由	SHIMAZU PCR結果	SHIMAZU N1 Ct	SHIMAZU N2 Ct	ID NOW 結果	症状 有無	発症から 検査まで の日数
1	男	入院	COVID疑い	陽性(+)	14.39	14.45	陽性(+)	有	5
2	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	17.71	16.57	陽性(+)	有	3
3	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	12.18	11.38	陽性(+)	有	1
4	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	14.91	14.9	陽性(+)	有	2
5	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	26.79	31.1	陽性(+)	有	4
6	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	18.36	20.39	陽性(+)	有	6
7	男	外来	COVID疑い	陽性(+)	25.74	24.07	陽性(+)	有	1
8	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	24.45	17.88	陽性(+)	有	1
9	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	13.68	11.9	陽性(+)	有	3
10	男	外来	COVID疑い	陽性(+)	29.28	23.59	陽性(+)	有	7
11	男	外来	COVID疑い	陽性(+)	35.84	0	陽性(+)	有	1
12	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	27.43	21.7	陽性(+)	有	6
13	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	0	35.82	陽性(+)	有	11
14	男	外来	COVID疑い	陽性(+)	32.39	29.07	陽性(+)	無	10
15	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	13.08	14.2	陽性(+)	有	4
16	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	15.85	16.01	陽性(+)	有	1
17	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	25.17	25.34	陽性(+)	有	2
18	男	外来	濃厚接触者	陽性(+)	19.21	17.5	陽性(+)	無	3
19	男	外来	COVID疑い	陽性(+)	20.03	16.42	陽性(+)	有	4
20	男	外来	COVID疑い	陽性(+)	25.42	24.55	陽性(+)	有	1
21	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	13.72	16.89	陽性(+)	有	1
22	男	外来	COVID疑い	陽性(+)	18.37	18.87	陽性(+)	有	2
23	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	16.41	16.6	陽性(+)	有	1
24	女	外来	陰性化確認	陽性(+)	0	35.32	陽性(+)	無	14
25	男	外来	COVID疑い	陽性(+)	22.27	21.64	陽性(+)	有	1
26	男	外来	COVID疑い	陽性(+)	13.56	12.88	陽性(+)	有	1
27	男	外来	COVID疑い	陽性(+)	22.64	22.65	陽性(+)	有	3
28	男	外来	COVID疑い	陽性(+)	13.23	13.46	陽性(+)	有	1
29	男	外来	COVID疑い	陽性(+)	34.28	34.47	陽性(+)	有	6
30	男	外来	COVID疑い	陽性(+)	17.06	14.53	陽性(+)	有	2
31	男	外来	COVID疑い	陽性(+)	28.44	27.61	陽性(+)	有	2
32	男	外来	COVID疑い	陽性(+)	15.34	14.25	陽性(+)	有	1
33	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	24.98	23.87	陽性(+)	有	2
34	男	外来	COVID疑い	陽性(+)	19.79	20.76	陽性(+)	有	2
35	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	31.37	31.56	陽性(+)	有	13
36	男	外来	COVID疑い	陽性(+)	33.42	28.97	陽性(+)	有	13
37	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	34.28	43.28	陽性(+)	有	14
38	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	26.95	26.9	陽性(+)	有	12
39	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	9.31	35.06	陽性(+)	有	3
40	男	入院	COVID疑い	陽性(+)	24.47	21.3	陽性(+)	有	3
41	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	26.46	28.98	陽性(+)	有	2

Table2 成績(全体)

PCR陽性・ID NOW陰性

No	性別	入・外	検査理由	SHIMAZU PCR結果	SHIMAZU N1 Ct	SHIMAZU N2 Ct	ID NOW 結果	症状 有無	発症から 検査まで の日数
1	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	34.53	35.44	陰性(-)	有	10
2	女	外来	陰性化確認	陽性(+)	32.57	34.77	陰性(-)	無	21
4	女	外来	COVID疑い	陽性(+)	33.71	33.32	陰性(-)	有	11
5	女	入院	術前スクリーニング	陽性(+)	37.13	33.77	陰性(-)	無	2
6	男	外来	COVID疑い	陽性(+)	34.78	35.79	陰性(-)	無	5
7	男	外来	陰性化確認	陽性(+)	35.8	39.4	陰性(-)	無	6
8	女	入院	陰性化確認	陽性(+)	36.75	0	陰性(-)	無	10
9	男	入院	濃厚接触者	陽性(+)	34.26	36.75	陰性(-)	無	10

【考察】

ID NOW 陰性となった9検体ではID NOWの検出感度である500copies/mL(検体抽出液中)以下である可能性があったため、RT-PCRにて陽性コントロールを500copies/mLに調整し測定した平均値がN1:31.86, N2:33.99であり、検出感度以下の場合、偽陰性で報告をしてしまう可能性のある結果であった。しかし検出感度以上の検体であれば非常に良好な結果であった。

検査が必要であると判断される患者は感染初期の場合や、発症してから時間が経過している場合も多く必ずしも検出感度以上のウイルスが体内に存在しているとは限らない。そのため、当院ではID NOWを使用した検査を24時間対応で実施はするが対象は限定的とした。

当院でRT-PCR検査を実施する基準は、基準A 必須項目として病歴に過去2週間以内にRT-PCR陽性者との接触履歴があるか海外渡航歴がある。症状に発熱(37.3℃以上)、咳嗽、呼吸困難、強い倦怠感の1つ以上が4日以上続く。検査で胸部CT上、両側肺野に異常陰影(スリガラス影、浸潤影等)がある。基準B 必須項目として病歴に発症前2週間以内に3名以上で密な環境で過ごした(カラオケ、居酒屋、ライブハウスなど)。医療従事者である。過去にSARAS-Cov-2-PCR検査の陽性歴がある。症状に発熱(37.3℃以上)、咳嗽、呼吸困難、強い倦怠感のいずれかの症状がある。味覚・嗅覚異常がある。検査でリンパ球減少(1000/ μ L以下)、プロカルシトニン(PCT)<0.5ng/ML、胸部CT上、肺炎を認める。A項目の1つ以上、もしくはB項目の2つ以上としている。外来にて前述の基準を満たしCOVID-19が疑われ帰宅が可能である時はPCR用検体を採取し翌日に結果を連絡することとした。入院が必要な患者で病歴、症状とも積極的にCOVID-19が疑われない(熱源が原疾患で説明可能な場合)、画像検査で肺炎像がない場合はID NOWの検査を実施し陽性の場合は専門病棟(全部屋個室)へ、陰性の場合は一般病棟へ入院することとした。RT-PCRの基準を満たしたCOVID-19が疑われた場合、ID NOWを実施し陰性となったとしても検出感度以下の可能性を考慮し専門病棟の待機病室(個室)でRT-PCRの結

果が判定するまで病室待機とした。

すでに入院中の患者で緊急手術が必要となった場合、以前はクイックナビ™-COVID19 Agを実施していたが検出感度が同等⁶⁾であり院内で検査を統一するため全件ID NOWを実施することとした。

ID NOWは検査時間も短く、スペースもあまり必要としないためPCR検査を導入するよりもコストと検査時間を抑えることができ、検出感度以上の検体であればRT-PCRに相当しメリットはあるが、検出感度以下は偽陰性となり感染が拡大する原因の1つといえる。特に入院施設がある病院では検査をID NOWのみに頼ってしまえば、院内クラスターを発生させかねない。あくまでID NOWはRT-PCRが実施できない場合の補助的な役割であり今回の検討でRT-PCRの代用として運用することは困難な結果となった。

【結語】

RT-PCRとID NOWの結果を比較した。検出感度以上の検体ではRT-PCR相当の非常に有意義な結果を得ることができたが日常検査のすべてをID NOWのみで運用することは困難である。特に入院施設を有する病院での使用機会は限定的であり、使用の際もID NOWの特性を熟知し運用をする必要がある。

【文献】

- 1) 厚生労働省：新型コロナウイルス感染症の現在の状況について。
http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/houdou_list_202003.html
- 2) 厚生労働省新型コロナウイルス感染症対策推進本部：新型コロナウイルス感染症COVID-19診療の手引き第1版。
<http://www.mhlw.go.jp/content/000609467.pdf>
- 3) Coronavirus (COVID-19) Update : FDA informa "Public About Possible Accuracy Concerns with Abbott ID NOW Point-of-Care Test".
<http://fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fda-informs-public-about-possible-accuracy-concerns-abbot-id-now-point>

- 4) Center for Disease Control and Prevention Research Use Only 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-time RT-PCR Primer and Probe Information June6, 2020
 - 5) Nie S *et al.*: Evaluation of Alere I influenza A&B for rapid detection of influenza viruses A and B, J Clin Microbiol.2014, 52(9), 3339-3344
 - 6) Takeuchi Y *et al.*: "The evaluation of newly developed antigen test (QuickNavi™-COVID19 Ag) for SARS-CoV-2: A prospective observational study in Japan," J Infect Chemother, 2021; 27: 890-894.
-

研究

当院で経験した赤芽球癆12症例の解析

森山 保則, 杉原 崇大, 森岡 薫乃, 多和 拓未
大西志保美, 田原 綾, 土手内 靖, 高橋 志津

松山赤十字病院 検査部

Analysis of 12 cases pure red cell aplasia experienced in our hospital

要旨

当院で5年間に経験した12症例のPRCAを解析した。特発性3例, 続発性9例で, 続発性で最も多いといわれる胸腺腫はみられなかったが, その他の原因は従来報告されているものであった。治療の基本は免疫抑制剤であり, 今回の対象症例では比較的早く効果が現れたが, 投薬中止すると再発するものも多いため長く経過を追う必要がある。またPRCAの診断は比較的容易であるが, 原因検索には苦慮することがあり, 追加検査の提案など検査技師が積極的に関与していく必要がある。

Yasunori Moriyama, *et al.*: ISSN 1343-2311 Nisseki Kensa 55: 17-21, 2022(2021.10.27 受理)

KEYWORDS

特発性PRCA, 続発性PRCA, 赤芽球, 網状赤血球, 免疫抑制剤

はじめに

赤芽球癆 (Pure red cell aplasia: PRCA) は, 様々な原因で赤血球造血のみが抑制され, 正球性貧血, 網状赤血球および骨髓赤芽球の著減を特徴とする症候群である。年間罹患率は再生不良性貧血の約7%と推定され, 人口100万人あたり約0.3人と非常にまれな疾患である¹⁾。そのためエビデンスレベルの高い臨床研究はあまりないとされている。今回, 当院で5年間に12例のPRCAを経験したので, その解析結果を報告する。

I. 対象

2016年9月~2021年8月の5年間に骨髓検査が行われたPRCA12症例を対象とした。男:女=4:8, 平均年齢68.3歳(10~93), 男性50.3歳(10~79), 男性成人のみ63.7歳(50~79), 女性77.4歳(64~93)であった。

II. 方法

対象12症例の原因(診断結果), 末梢血所見, 骨髓所見, その他の検査所見, 治療, 網状赤血球上昇までの期間などについて, 電子カルテ記事および検査結果を検索した。

III. 結果

1. PRCAの原因 (table.1a, figure1,2)

12症例のPRCAに至った原因は, 特発性3例(うち1例は自己免疫性溶血性貧血〔Autoimmune hemolytic anemia: AIHA〕を合併), 続発性が9例(顆粒リンパ球増多症2例, MDS2例, パルボウイルス感染1例, 薬剤性〔疑い〕1例, TAFRO症候群に合併した急性腎不全によるエリスロポエチン〔Erythropoietin: Epo〕低下1例, 肝細胞癌1例, Epo不応性1例)であった。

table.1a 12症例のデータ (その1)

	年齢	性	診断結果 (PRCAの原因)	治療	網赤上昇までの日数	CBC					網赤 (%)
						WBC ($\times 10^2/\mu\text{L}$)	RBC ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	Hb (g/dL)	MCV (fL)	PLT ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	
A	85	F	特発性	他院でCyA導入	転院のため不明	43.0	252	7.2	88.9	14.2	2.2
B	85	F	特発性	他院でCyA導入	転院のため不明	43.0	167	5.7	102.4	31.5	1.0
C	72	F	特発性PRCA+AIHA	無治療で網赤増加したがPSL導入	無治療で31日目	43.8	170	5.5	100.6	16.5	3.0
D	50	M	パルボウイルス感染	抗生物質	11日目	17.4	451	13.6	89.1	8.5	2.8
E	69	F	薬剤性(疑い)	ST合剤中止、免疫抑制不可	10日目	103.0	253	8.1	94.9	21.3	2.1
F	77	F	顆粒リンパ球増多症	CyA+PSL	10日目	42.1	206	7.0	101.5	19.0	5.4
G	74	F	顆粒リンパ球増多症	CyA+PSL	13日目	36.2	276	9.4	97.1	16.4	6.6
H	10	M	TAFRO症候群に伴う急性腎不全	PSL	9日目	122.6	314	8.8	87.6	17.4	2.9
I	79	M	MDS with erythroid hypoplasia	輸血のみ→AML発症後アザンチン	PRCAの治療なし	71.7	215	6.9	94.9	3.9	7.3
J	62	M	MDS with erythroid hypoplasia	次女よりPBSCハプロ移植	PRCAの治療なし	28.7	94	3.5	112.8	3.3	2.0
K	93	F	肝細胞癌	治療適応なし	PRCAの治療なし	64.3	204	6.1	89.2	39.6	1.9
L	64	F	Epo不応性(特発性?)	免疫抑制不可で輸血のみ	PRCAの治療なし	67.1	245	7.3	89.0	26.4	2.1

table.1b 12症例のデータ (その2)

	骨髓検査					胸腺腫	パルボIgM	Epo (mIU/mL)	抗核抗体(倍)	直接 クームス	血清鉄 ($\mu\text{g/dL}$)	フェリチン (ng/mL)
	細胞数 ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	M系(%)	E系(%)	その他(%)	M/E							
A	3.3	69.8	1.4	28.8	49.86	ND	ND	ND	$\times 640$	高感度(+)	194	1908
B	12.1	84.6	0.2	15.2	423.00	(-)	(-)	1148.1	$\times 160$	ND	204	941
C	0.6	75.4	1.6	23.0	47.13	(-)	(-)	ND	$\times 80$	(+)	ND	ND
D	4.8	67.6	4.2	28.2	16.10	ND	(+)	ND	ND	ND	131	451
E	2.2	70.8	0.4	28.8	177.00	ND	(-)	365.3	$\times 1280$	ND	178	259
F	3.4	66.2	0.4	33.4	165.50	ND	ND	ND	$\times 1280$	ND	179	172
G	2.6	51.4	0.2	48.4	257.00	(-)	(-)	ND	ND	ND	224	602
H	8.1	88.4	0.4	11.2	221.00	(-)	(-)	3.6	(-)	ND	ND	ND
I	27.0	88.2	2.6	9.2	33.92	ND	(-)	2271.9	ND	ND	187	1110
J	2.0	71.2	1.4	27.4	50.86	ND	(-)	6156.3	$\times 40$	ND	ND	ND
K	1.7	66.4	0	33.6	---	(-)	(-)	ND	(-)	ND	233	602
L	14.6	75.4	0.6	24.0	125.67	ND	(-)	74.9	(-)	ND	273	919

ND : 未検査

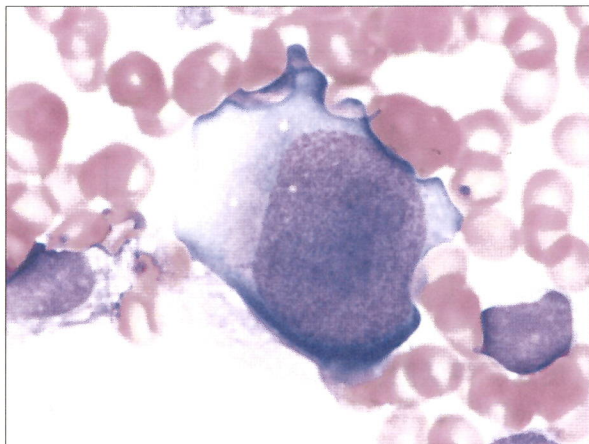


figure 1. 症例Dの骨髄にみられた
巨大前赤芽球

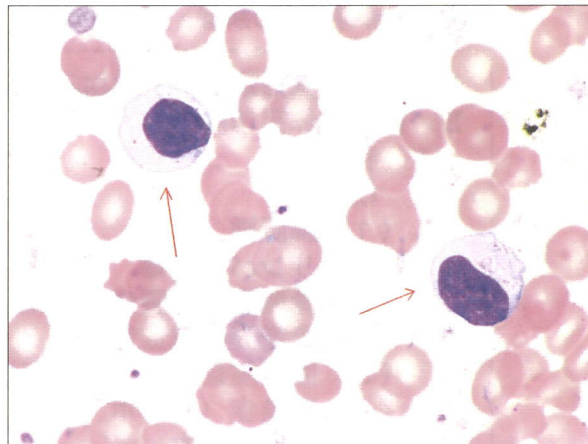


figure 2. 症例Fの骨髄にみられた
large granular lymphocyte

2. 末梢血所見 (table.1a)

Hbはパルボウイルス感染例 (13.6g/dL) の1例を除いた11例が10g/dL以下, 平均6.9g/dLであった. 白血球はパルボウイルス感染例が $17.4 \times 10^2/\mu\text{L}$ と減少していた. 血小板はパルボウイルス感染例とMDS 2例が $10 \times 10^4/\mu\text{L}$ 以下であった. MCVは100fL以上の大球性が4例あったが, 疾患特異性はみられなかった. 網状赤血球は平均3.7% (1.0~7.3) と全例低値であった.

3. 骨髄所見 (table.1b)

骨髄有核細胞500カウントの結果, 赤芽球系割合の平均は1.1% (0.0~4.2), ME比の平均は142.5 (16.10~423.00, 赤芽球皆無で計算不能の1例は除く) と, 全例赤芽球割合は極低値であった.

4. その他の所見 (table.1b)

胸腺腫の検索は12例中5例でされていたが該当例はなかった. Epoは6例で測定されており, 5例は高値, 1例が低値であった. 血清鉄, フェリチンは9例で測定されており, 全例が高値であった. 抗核抗体は9例で測定されており, うち6例が陽性で, 特発性3例は全例陽性であった. また直接抗グロブリン試験は特発性3例中2例が陽性であった.

5. 治療 (table.1a)

特発性2例はシクロスポリンA (Cyclosporine A: CyA) 単独投与, AIHA合併の特発性1例とTAFRO症候群1例はプレドニゾロン (Prednisolone: PSL) 単独, 顆粒リンパ球増多症2例はCyA + PSL, パルボウイルス感染例は対処的に抗生物質, 薬剤性はST合剤中止, MDSは1例が子から末梢血幹細胞

移植, 1例が当初輸血のみでAML移行後はアザシチジン投与, Epo不応例は既に免疫抑制されておりこれ以上の抑制は難しく, 肝細胞癌例は高齢および有癌のため治療適応がなかった.

6. 治療反応性 (table.1a)

特発性3例のうち2例は転院後にCyA導入されたため反応性不明, あとの1例は無治療で31日目に網状赤血球が上昇したが, AIHA合併のためその後PSL療法を開始した. パルボウイルス感染例は11日目, 薬剤性は10日目, 顆粒リンパ球増多症は10日および13日目, TAFRO症候群は9日目に明らかな網状赤血球上昇を確認した.

IV. 考察

PRCAは先天性と後天性に分かれ, 先天性はDiamond-Blackfan Anemiaとして知られている. 後天性は原因不明の特発性と, 基礎疾患を有する続発性に分かれる. 続発性の原因は様々であり, 胸腺腫, 造血器腫瘍, 固形腫瘍, 各種感染症, 自己免疫性疾患, 薬剤, 妊娠, 重症腎不全, 重症栄養失調, その他がある. (table.2) 当院の症例では, 続発性の中で頻度が高いといわれる胸腺腫はみられなかったが, 続発性9例の原因はすべて診療の参照ガイド¹⁾に示されたものであった. ただし顆粒リンパ球増多症2例については, 末梢血の顆粒リンパ球増加がなく, 骨髄の細胞表面マーカーにてCD3(+) CD4(-) CD8(+)のリンパ球が優位であったことは確認しているが, 1例はTCR再構成(-), 1例は未確認であり単クローン性の証明ができていない

table.2 赤芽球癆の病型・病因分類

- | |
|---|
| <p>I. 先天性低形成性貧血 (Diamond-Blackfan Anemia)</p> <p>II. 後天性赤芽球癆</p> <p>1. 特発性</p> <p>2. 続発性</p> <p>(1) 胸腺腫</p> <p>(2) リンパ系腫瘍</p> <p>(3) 骨髄増殖性腫瘍 (CML、PMF、ET)</p> <p>(4) 骨髄異形成症候群</p> <p>(5) 固形腫瘍 (胃、乳、胆道、肺、皮膚、甲状腺、腎など)</p> <p>(6) 感染症 (パルボ、HIV、ATL、EB、CMVほかウイルス感染症など)</p> <p>(7) 溶血性貧血</p> <p>(8) 膠原病および類縁疾患 (SLE、RA、その他膠原病)</p> <p>(9) 薬剤、化学物質</p> <p>(10) 妊娠</p> <p>(11) 重症腎不全</p> <p>(12) 重症栄養失調</p> <p>(13) その他 (ABO不適合輸血後、自己免疫性内分泌機能低下など)</p> <p>(14) EPO 治療後の内因性抗 EPO 抗体</p> |
|---|

文献1) より改編

ため腫瘍性とは断定できない²⁾³⁾ものの、主治医の判断で顆粒リンパ球増多症として治療を行った。

顆粒リンパ球増多症に伴うPRCAは、原因細胞がkiller cell inhibitory receptor (KIR)を発現していることが示されている。KIRはNK細胞と一部のT細胞に発現し、自己のHLA class I抗原をリガンドとする受容体で、標的細胞が抑制性KIRと特異的に結合するHLA class I抗原を発現するとき、細胞障害機構は抑制される。ヒト赤芽球は成熟するにつれてHLA class I抗原が低下するが、顆粒球や巨核球は成熟に伴う低下はみられないため、赤芽球だけが障害を受けると考えられている⁴⁾。

本邦における後天性PRCAの原因として、固形癌が185例中3%を占めたとあり¹⁾、当院でも肝臓癌が1例認められた。しかしその発症機序は明らかでなく、固形癌とPRCAに関する論文は我々の検索では非常に古いものしか見出せなかった⁵⁾⁶⁾⁷⁾。それらもステロイド治療が有効であったという記述が多く、単に特発性PRCAと癌が合併しただけとも考えられる。長沢ら⁸⁾も、免疫抑制療法が有効とされているものの、赤芽球造血の抑制因子は明らかではなく、癌とPRCAの因果関係に

ついては疑問視するという意見もあると述べている。

また、MDSとPRCAの合併が2例認められたが、このような例はS Parkらの検討⁹⁾では360人中6名(1.6%)と非常に稀で、MDSの予後不良因子とされ、この6例中3例は1年以内に死亡している。当院例は、1例(MDS EB-2)は診断から3か月後に子から末梢血幹細胞移植を受けたがその半年後に永眠、もう1例(MDS-MLD)も発見から3か月後にAMLに移行し、その後アザシチジンが投与されるも5か月後に永眠された。

Epo不応例については、リウマチ科から難治性貧血で血液内科に紹介され、骨髄検査でPRCAの診断となった。Epo74.9mIU/mLで貧血の代償がされていないと判断され、腎性貧血としてエリスロポエチン製剤を投与されるも反応せず、他の製剤に変更しても効果がなかった。抗Epo抗体による可能性もあるが、抗体価の測定は行っていない。リウマチ治療で免疫抑制剤が使用されているためこれ以上の抑制はできず、以後輸血での対応となっている。

特発性PRCAは約15%が自然治癒するといわれているため、通常診断から1ヶ月は無治療で経過観察するのが望ましいとされ、その

間に原因検索のための検査を施行して特発性か続発性かの判断を行う¹⁾。今回の検討では、網状赤血球は全例測定されていたが、胸腺腫の有無、鉄、フェリチン、抗パルボウイルスIgM、エリスロポエチン、抗核抗体、直接抗グロブリン試験の実施率は様々であった。PRCAの原因検索をする際、これらの検査が未実施であれば検査を行うよう臨床側に提案することも技師の務めかと思われる。また以前当院リウマチ科病棟において数名同時にパルボウイルス感染が発生したことがある。免疫抑制している患者には中和抗体産生が不十分で慢性感染を起こすことがあるので、抗パルボウイルスIgMだけでなくPCRによるパルボウイルスDNAの検索も必要となる¹⁾¹⁰⁾。

PRCAの治療は、免疫抑制療法が古くから行われているが、稀な疾患であることから薬剤に関する前向き介入試験は行われておらず、それぞれの優劣について確固たるエビデンスがあるわけではない¹⁾。通常、CyA、PSL、シクロフォスファミドなどが選択されるが、シクロフォスファミドは発癌の可能性を考慮しなければならず、当院でもCyA、PSLが選択されていた。今回、免疫抑制剤を使用した3例の反応性は良好であり、10日前後で明らかな網状赤血球の増加をみた。しかし免疫抑制は根本原因を除去するわけではないため、免疫抑制剤を減量、中止すると再発することも少なくなく、治療後も一定期間は通院継続が必要である。またリウマチなど自己免疫疾患の合併も多く、既に免疫抑制剤が使用されている症例もある。このような症例にはそれ以上の免疫抑制ができないため輸血で対応していくしかなく、何か新しい治療法の発見が待たれるところである。

VI. 結語

PRCAは様々な原因で起こる症候群であり、診断は比較的容易だが、原因は様々であるためその究明には検査に携わる技師の力も大いに必要である。1日でも早く原因検索が完了して適切な治療ができるよう、臨床側との密なコミュニケーションが必要である。

参考文献

- 1) 特発性造血障害に関する調査研究班：赤芽球癆，診療の参照ガイド令和1年度改訂版第6版，
<http://zoketsushogaihan.umin.jp/file/2020/03.pdf> (2021年8月28日アクセス)
- 2) 鈴宮淳司：T細胞性大顆粒リンパ性白血病，WHO分類改訂第4版による白血病・リンパ系腫瘍の病態学，第1版，383-388，中外医学社，東京，2019
- 3) 押味和夫：顆粒リンパ球増多症と単クローン性増殖，*medicina*，30(4)：618～619，1993
- 4) 平山泰生：顆粒リンパ球増加症を伴う慢性赤芽球癆，別冊 日本臨床 新領域別症候群シリーズNo.21 血液症候群（第2版）(1)，第2版，55～57，日本臨床社，大阪市，2013
- 5) A.B.S.Mitchell, et al：Pure red cell aplasia and Carcinoma, *Blood*, 37(5)：594～597, 1971
- 6) T.H.Guthrie Jr, et al：Pure red cell aplasia obscured by a diagnosis of carcinoma, *South Med J*, 76(4)：532～534, 1983
- 7) 前川清明ほか：腎細胞癌を合併した pure red cell aplasia の1例，*日本内科学会誌*，78(7)，104～105，1989
- 8) 長沢正之，矢田純一：PRCAの免疫学的機序，*Jpn.J.Clin.Immun.*，15(3)：215～223，1992
- 9) S Park et al：Pure red cell aplasia associated with myelodysplastic syndrome, *Leukemia*, 14：1709～1710，2000
- 10) 牧野茂義：ヒトパルボウイルスB19感染による急性赤芽球癆，別冊 日本臨床 新領域別症候群シリーズNo.21 血液症候群（第2版）(1)，第2版，62～64，日本臨床社，大阪市，2013



胆管炎の患者の胆汁培養より

Lactococcus garvieae が検出された一例

赤羽 貴行¹⁾, 村山 範行¹⁾
名取 達矢²⁾, 堀内 一樹²⁾, 新井恵理子²⁾

¹⁾安曇野赤十字病院 検査部

²⁾信州大学医学部附属病院 臨床検査部

A case of the cholangitis caused by *Lactococcus garvieae*
occurred in an octogenarian male-patient

要旨

Lactococcus garvieae は、養殖魚類のレンサ球菌症を引き起こす原因菌と知られているが臨床微生物学の現場ではまだまだ認知度が低く、*Enterococcus* 属や *Streptococcus* 属との鑑別が困難である。今回、胆管炎の患者の胆汁培養から *L. garvieae* が分離された症例を経験した。症例は87歳、男性。当院受診前日に心窩部痛が出現し、翌日の当院透視受診後、入院時血液検査所見で白血球増多、CRP 高値の炎症所見を認め当院入院となった。胸腹部造影CT検査で総胆管結石性胆管炎を疑う所見を認めたため、入院翌日には内視鏡的逆行性胆管膵管造影 (ERCP) が施行され、吸引した胆汁培養からは、*Enterococcus* 様の灰白色のコロニーが観察され、Vitek2およびMALDIバイオタイパーにより *L. garvieae* と同定された。ERCP 終了後からはCPZ/SBTの抗菌薬が投与され、腹部症状の消失、検査値の改善により抗菌薬終了後の第8病日に退院となった。

L. garvieae は養殖魚の感染症を引き起こす原因菌と知られているが、ヒトの心内膜炎や敗血症の起原菌としての症例も報告されている。類似菌に誤同定されている可能性も否定できず国内からの症例報告が少ないが、既存の自動機器による同定、生化学的性状による鑑別試験、さらに質量分析法により、今回、高齢で基礎疾患を持つ胆管炎の患者の胆汁培養から本菌を分離した症例であった。

Takayuki Akahane, et al.: ISSN 1343-2311 Nisseki Kensa 55: 22-26, 2022(2021.11.25 受理)

KEYWORDS

Lactococcus garvieae, 胆汁, 胆管炎

はじめに

Lactococcus garvieae は、乳酸菌 (*Lactococcus* 属) の一種で1950年代に日本のニジマスから分離された菌種で、1981年にはウシの乳腺炎から分離され¹⁾、その後DNAハイブリダイゼーションにより *Streptococcus garvieae* と命名され²⁾、1985年には *Streptococcus* 属から

Lactococcus 属に属名が変更された³⁾。養殖魚類のレンサ球菌症を引き起こす原因菌と知られている^{4,5)}が、近年はヒトの心内膜炎、敗血症、尿路感染症の起原菌として国内外からの症例報告されている⁶⁻²¹⁾。また、*L. garvieae* は臨床微生物学の現場ではまだまだ認知度が低く、形態学的、生化学的性状においても

Enterococcus 属や *Streptococcus* 属との鑑別が困難であり、同定に際しては判定不能や *L. garvieae* 以外の菌種に誤判定され処理されている可能性もあり、症例集積による疫学的な解析の遅れも現状では考えられる。

今回、胆管炎の患者の胆汁培養から *L. garvieae* が分離された症例を経験した。

【症例】

患者：87歳，男性。

主訴：心窩部痛。

既往歴：慢性腎臓病（G5D，2か月半前より週3回透析中），骨髓増殖性疾患，耐糖能障害，左下肢静脈瘤，膵腫瘍，末梢循環不全と左母指壊疽，左白内障術後，緑内障，表在性食道癌（経過観察状況），高血圧，心嚢水貯留。

現病歴：当院受診前日に心窩部痛が出現し，翌日の当院透析受診。透析時の腹痛は改善していたが，血液検査で肝胆道系酵素の上昇を認め精査加療目的で当院入院となった。

アレルギー：特になし。

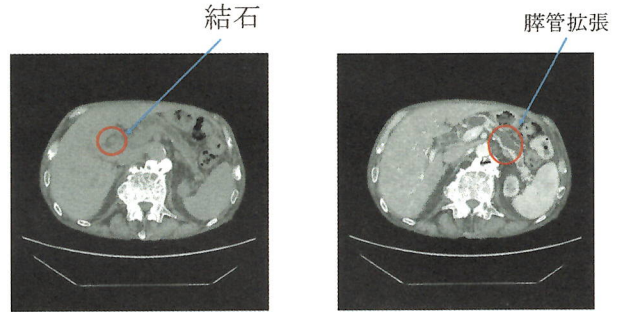
入院時身体所見：身長164cm，体重49kg，体温36.9℃，血圧136/71mmHg，脈拍69回/分。

胸腹部造影CT所見（図1,2）：胆嚢緊満，肝内胆管拡張，多房性膵嚢胞，膵管拡張，両腎萎縮を認め，総胆管結石性胆管炎が疑われた。

入院時検査所見（表1）：血液検査所見はWBC22,800/ μ L（Neu.90.0%），CRP4.49 mg/dLと炎症所見を認め，AST380IU/L，ALT181IU/L，LDH304IU/L，ALP1516IU/L， γ -GTP307IU/Lと肝胆道系酵素の上昇を認めた。

臨床経過：入院時血液検査所見で白血球増多，CRP高値の炎症所見を認め，胸腹部造影CT検査で総胆管結石性胆管炎を疑う所見を認めたため，入院翌日には内視鏡的逆行性胆管膵管造影（ERCP）が施行された。総胆管内に15mm径の結石を認め，膵管内乳頭腫瘍が確認され，吸引した胆汁が細菌培養として提出された。

ERCP終了後からは抗菌薬（CPZ/SBT；1g \times 2回/day）が7日間投与され，腹部症状の消失，検査値の改善により抗菌薬終了後の第8病日に退院となった。



単純CT

単純CT

図1 CT画像-1

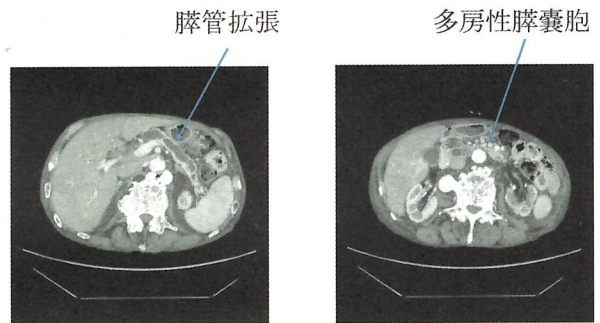


図2 CT画像（造影）-2

表1 入院時検査所見（透析前）

生化学検査			
AST	380IU/L	T-bil	3.8 mg/dL
ALT	181IU/L	D-bil	3.1 mg/dL
LDH	304IU/L	T-cho	100 mg/dL
ALP	1516IU/L	HDL-C	48 mg/dL
γ -GTP	307IU/L	TG	31 mg/dL
Na	134mEq/L	BUN	35 mg/dL
K	4.3mEq/L	UA	9.0 mg/dL
Cl	100mEq/L	Cre	3.11 mg/dL
TP	6.5g/dL	Glu	121 mg/dL
Alb	3.1g/dL		
血液検査			
WBC	22,800/ μ L		
neutrophils	90.0%		
RBC	506 \times 10 ⁴ / μ L		
Hb	12.7 g/dL		
Ht	41.9%		
PLT	34.3 \times 10 ⁴ / μ L		
免疫血清検査			
CRP	4.49 mg/dL		

【微生物学的検査】

ERCP 施行時に採取された胆汁培養からは、翌日 *Enterococcus* 様の灰白色の1~2mmのコロニー (α溶血) が観察され、グラム染色所見では陽性球菌となった (表2)。Vitek2 GP カード (バイオメリュー・ジャパン株式会社) による同定では *L. garvieae* (99%.4.87h) となり、

また、MALDI バイオタイパー (Bruker) でも *L. garvieae* (スコア2.169) と同定された。生化学的性状では PYR 陽性、6.5% NaCl 陽性、45°Cでの発育を認めた。微量液体希釈法 (栄研化学, ドライプレート DP34) による薬剤感受性検査では多くの薬剤に感性を示した (表3)。なお、嫌気性菌の発育は認められなかった。

表2 培養および検体外観の所見

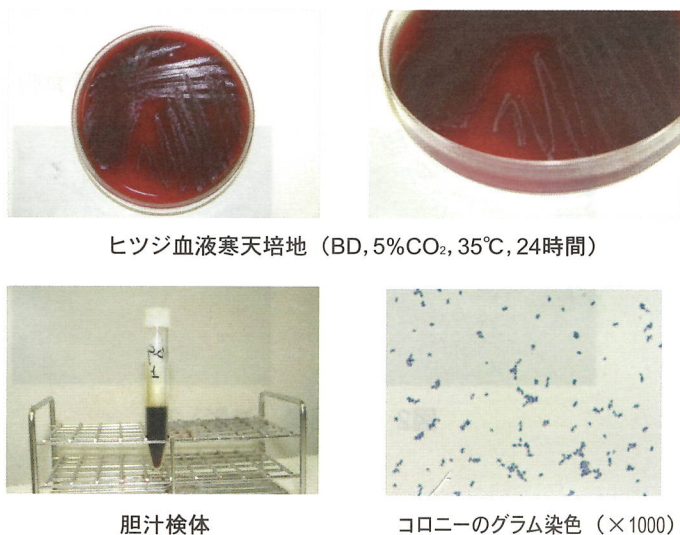


表3 薬剤感受性検査成績

Antimicrobial agents	DP34 (栄研化学)	
	MIC (μg/mL)	category*
Benzyle penicillin (PCG)	0.5	S
Ampicillin (ABPC)	0.25	S
Ceftriaxone (CTRX)	0.5	S
Cefepime (CFPM)	0.25	-
Meropenem (MEPM)	≤ 0.06	S
Clarithromycin (CAM)	≤ 0.12	-
Azithromycin (AZM)	0.5	-
Clindamycin (CLDM)	> 0.5	S
Levofloxacin (LVFX)	≤ 1	S
Gatifloxacin (GLFX)	0.5	-
Vancomycin (VCM)	0.5	S

*:薬剤感受性カテゴリーはCLSI M45の *Lactococcus* spp. 判定基準を用いた。

表4 *L. garvieae* と類似菌属の性状比較

Bacteria	Vancomycin susceptibility	Phenotypic characteristic (% positive)							
		PYR	LAP	NaCl (6.5%)*	Bile-escrin reaction	Growth at		α-Hemolysis**	
						10°C	45°C		
<i>Streptococcus</i> spp.	Viridans	100	0	98	0	20	1	19	70
	S.bovis	100	0	100	0	100	0	100	80
<i>Enterococcus</i> spp.	Vancomycin susceptible	100	90	90	100	10	96	96	80
	Vancomycin resistant	0	100	100	100	100	100	100	80
<i>Lactococcus</i> spp.		100	83	95	70	98	90	43	40

* NaCl growth in broth containing 6.5% NaCl, ** α-hemolysis on Tyrticase soy agar containing 5% sheep blood

Species	Test result *					
	MAN	SBL	ARA	RAF	TEL	PYU
<i>E. faecalis</i>	+	+	-	-	+	+
<i>E. faecium</i>	+	v	+	v	-	-
<i>E. durans</i>	-	-	-	-	-	-
<i>E. hirae</i>	-	-	-	+	-	+
<i>Lactococcus</i> sp.	+	-	-	v	-	-

* MAN, mannitol ; SBL, sorbitol ; ARA, arabinose ; RAF, raffinose ; TEL, 0.04% tellurite ; PYU, pyruvate
+, >90% positive ; -, <10% positive ; v, variable reaction (10 to 90% of strains positive)

【考察】

L. garvieae はヒトの感染症より養殖魚の感染症として重要視されており、周辺を海に囲まれて魚介類の生食文化としている本邦では、魚介類を通じて *L. garvieae* に接触する機会が多いことが予想される。しかし、*L. garvieae* による感染症例は、海外を中心に心内膜炎、骨髄炎、敗血症、憩室炎、腹膜炎等からの分離例⁶⁻²¹⁾が多くあるが国内からの症例は稀である。その一因としては本菌が稀な菌種であり認知度が低いことに加え、形態学的、生化学的性状に関して *Enterococcus* 属や *Streptococcus* 属に似ている点からも誤同定されている可能性も否定できない。*L. garvieae* と類似菌属の性状比較を表4に示したが、検査室に常備してある簡易的な検査法や自動機器内の生化学的性状により、形態的に類似している他の菌種との鑑別も推定可能である。また今回の症例では当院で使用している Vitek2 では高確率、短時間で同定可能であったことから、一度 *L. garvieae* を分離培養する経験を得れば、本菌の検出症例の増加も予想され、国内での分離例蓄積も期待できるのでは考えられる。

本菌のヒトへの感染症の病原因子があまり判明していない点も含め症例報告では死亡例は少ない。薬剤耐性菌の報告も認められず、さらに本症例でも薬剤感受性は良好であり、日和見感染患者として約1週間で退院できたことを考えると、適切な抗菌薬治療は十分期待できる感染症ではないかと思われる。

本菌の特性から、本症例の感染源を推定するため主治医から患者への聞き取りを行ったが、患者は養殖業とは無関係であり、また食生活においても特に魚介類を好食することもないとのことで、今回の感染源の推定には至らなかった。しかし、内山らは健常人の36.3%から本菌が遺伝子検査で陽性だったと報告しており²²⁾、腸管内の粘膜表面の感染防御破壊を通じて血流中またはリンパ流中へのアクセスによる感染の可能性も考えられる。

今回、高齢で基礎疾患を有し、さらに透析実施中の胆管炎の患者の胆汁培養から本菌を分離した症例であった。

本内容は第69回日本医学検査学会（2020年9月：千葉市）で発表した。

【結語】

L. garvieae は養殖魚の感染症を引き起こす原因菌と知られているが、ヒトの心内膜炎や敗血症の起原菌としての症例も報告されている。本菌は、形態的に *Enterococcus* 属や *Streptococcus* 属に似ている点からも誤同定されている可能性も否定できないが、既存の自動機器による同定、生化学的性状による鑑別試験、さらに質量分析法により、今回、高齢で基礎疾患を持つ胆管炎の患者の胆汁培養から本菌を分離した症例であった。

【文献】

- 1) Garvie E.I., Farrow J.A., Phillips B.A. : A taxonomic study of some strains of streptococci which grow at 10°C but not at 45°C including *Streptococcus lactis* and *Streptococcus cremoris*. Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene (I. Abteilung, Originale C). 2 : 151-165, 1981
- 2) Collins M.D., Farrow J.A., Phillips B.A., et al. : *Streptococcus garvieae* sp.nov. and *Streptococcus plantarum* sp.nov. J Gen Microbiol. 129 : 3427-3431, 1983
- 3) Schleifer K.H., Krans J., Dvorak C., et al. : Transfer of *Streptococcus lactis* and related streptococci to the genus *Lactococcus* gen nov. Syst Appl Microbiol. 6 : 183-195, 1985
- 4) Kusuda R., Kawai F., Salati C.R., et al. : *Enterococcus seriolicida* sp. nov., a fish pathogen. Int J Syst Bacteriol 41 : 406-409, 1991
- 5) 吉田照豊：レンサ球菌感染症およびラクトコッカス感染症。魚病研究 51 : 44-48, 2016
- 6) Fefer J.J., Ratzan K.R., Sharp S.E., et al. : *Lactococcus garvieae* endocarditis. Report of case and review of the literature. Diagn Microbiol Infect Dis 32 : 127-130, 1998
- 7) James P.R., Hardman S.M., Patterson D.L., et al. : Osteomyelitis and possible endocarditis secondary to *Lactococcus garvieae*. A first case report. Postgrad Med J 76 : 301-303, 2000

- 8) Mofredj A., Baraka D., Kloeti G., *et al.* : *Lactococcus garvieae* septicemia with liver abscess in an immunosuppressed patient. *Am J Med* 109 : 513-514, 2000
 - 9) Fihman V., Raskine L., Barrou Z., *et al.* : *Lactococcus garvieae* endocarditis. Identification by 16S rRNA and *sodA* sequence analysis. *J Infect* 52 : e3-e6, 2006
 - 10) Vinh D.C., Nichol K.A., Rand F., *et al.* : Native-valve bacterial endocarditis caused by *Lactococcus garvieae*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 56 : 91-94, 2006
 - 11) Yiu K.H., Siu C.W., To K.K., *et al.* : A rare cause of infective endocarditis ; *Lactococcus garvieae*. *Int J Cardiol* 114 : 286-287, 2007
 - 12) Wang C.Y., Shie H.S., Chen S.C., *et al.* : *Lactococcus garvieae* infections in humans : possible association with aquaculture outbreaks. *Int J Clin Pract* 61 : 68-73, 2007
 - 13) Li W.K., Chen Y.S., Wann S.R., *et al.* : *Lactococcus garvieae* endocarditis with initial presentation of acute cerebral infarction in a healthy immunocompetent man. *Intern Med* 47 : 1143-1146, 2008
 - 14) Wilbring M., Alexiou K., Reichenspurner H., *et al.* : *Lactococcus garvieae* causing zoonotic prosthetic valve endocarditis. *Clin Res Cardiol* 100 : 545-546, 2011
 - 15) Aubin G.G., Bemer P., Guillouzouic A., *et al.* : First report of a hip prosthetic and joint infection caused by *Lactococcus garvieae* in a woman fishmonger. *J Clin Microbiol* 49 : 2074-2076, 2011
 - 16) Chan J.F., Woo P.C., Teng J.L., *et al.* : Primary infective spondylodiscitis caused by *Lactococcus garvieae* and a review of human *L. garvieae* infection. *Infection* 39 : 259-264, 2011
 - 17) Watanabe Y., Naoto T., Kikuchi K., *et al.* : Infective endocarditis with *Lactococcus garvieae* in Japan : A case report. *J Med Case Report* 5 : 356, 2011
 - 18) Tariq E.F., Irshad Y., Khalil H.B., *et al.* : Urinary tract infection caused by the novel pathogen, *Lactococcus garvieae* ; A case report. *Cureus* 12 : 9462, 2020
 - 19) 渡部由希子、内藤俊夫、甘利 悠、他 : 腎梗塞、脳梗塞、感染性脳動脈瘤を合併した国内初の *Lactococcus garvieae* 感染性心内膜炎の1例. *感染症誌*83(5) : 591-592, 2009
 - 20) 曲渕裕樹、福岡麻美、草場耕二、他 : 健康人に発症した *Lactococcus garvieae* による感染性心内心内膜炎の1例. *感染症誌*83(3) : 297, 2009
 - 21) 川端 厚、朝枝由紀子、杉本賢文、他 : *Lactococcus garvieae* が起因菌と考えられた腰椎椎体炎の1例. *感染症誌*83(2) : 172, 2009
 - 22) 内山成人、木村弘之、上野友美、他 : *Lactococcus garvieae* の食品中からの検出およびヒト腸管内常在性. *腸内細菌学雑誌*21 : 221-225, 2007
-



インターロイキン-6測定試薬

「エクルーシス試薬IL-6」の基礎的検討

糸原 智生, 木佐 純笑, 柳樂 治希, 岩田 祐紀, 錦織 昌明

松江赤十字病院 検査部

Evaluation of the Interleukin-6 Measurement Reagent "Eleclys IL-6"

要旨

電気化学発光免疫測定法 (ECLIA) を原理とするエクルーシス試薬 IL-6 の導入を目的に基礎的検討を行った。日差再現性の高濃度コントロールにおいて、日数の経過と共に測定値の低下が確認されたので、必要に応じて再度キャリブレーションをする必要がある。また、IL-6 の安定性は室温で 8 時間までは安定していたが、冷蔵保存であっても採取翌日から測定値の若干の変動が確認された。そのため、翌日以降に IL-6 を測定する場合は、検体を冷凍保存するのが望ましい。その他の検討項目において問題は確認されなかったため、日々の精度管理と検体の保管方法についてきちんと対応すれば、院内導入しても問題はないと考えられる。

Tomoki Itoharu, *et al.*: ISSN 1343-2311 Nisseki Kensa 55: 27-32, 2022(2021.11.27 受理)

KEYWORDS

IL-6, 電気化学発光免疫測定法 (ECLIA), cobas e 801

はじめに

感染症や外傷などにより身体が侵襲されると、生体反応の制御に関与する炎症性サイトカインが各種の免疫細胞から産生される。その中でもインターロイキン-6 (IL-6) は炎症反応の進行と共に血中濃度が上昇することが知られている。IL-6 の他にも、炎症性疾患の場合に血中濃度が上昇する物質としてプロカルシトニン (PCT) と C 反応性蛋白 (CRP) が挙げられるが、PCT の上昇ピークは 24 時間、CRP は 48 時間とされている。しかし、IL-6 のピークは 2 時間とされており、より早期に血中濃度が上昇する^{1,2)}。そのため、IL-6 を測定することで炎症反応が今後どのように推移するか予測できると考えられる。

侵襲の程度が大きい場合、炎症性サイトカインやホルモンが過剰産生されてサイトカイン

ストームと呼ばれる高サイトカイン血症を生じ、各種臓器の組織が損傷することで臓器障害へと至る。IL-6 は障害臓器数と比例して高値を示し、集中治療を必要とする患者の重症度判定の補助に有用であることが判明している³⁾。

新型コロナウイルス感染症においても IL-6 が上昇することが報告されている⁴⁾。IL-6 は新型コロナウイルス感染症の重症化指標に含まれており⁵⁾、米国では人工呼吸器の必要性の判断指標として 2020 年 5 月に緊急使用承認された。

また、新型コロナウイルス感染症は小児で重症化することは極めてまれであるが、感染 2~6 週間後に多臓器に渡る強い炎症を起こす小児多系統炎症性症候群が海外では多数報告されている⁶⁾。その病態にはサイトカイン

ストームや血管内皮障害等が深く関わっていると考えられている。

IL-6を測定することで、集中治療を必要とする患者の病態の予測に繋がり、障害臓器数と比例し高値になるので、重症度の評価が可能となる。また、新型コロナウイルス感染症において、重症度評価や小児における小児多系統炎症性症候群の鑑別に繋がる。当院ではIL-6を外部委託検査で行ってきたが、院内導入することで迅速な結果報告を目指し、試薬の基礎的検討を行った。

【機器・試薬および試料】

1. 機器・測定試薬

1) 検討法：ECLIA

機器：cobas e 801 (ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社)

試薬：エクルーシス試薬IL-6 (ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社)
エクルーシスIL-6キャリブプレート (ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社)

エクルーシスプレチコントロールMM (ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社)

エクルーシス希釈液MA(S) (ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社)

2) 対照法：ECLIA

・対照法は株式会社SRLでの外部委託検査で、機器・試薬は検討法と同一である。

3) その他

干渉チェック・Aプラス (シスメックス株式会社)

干渉チェック・RFプラス (シスメックス株式会社)

2. 試料

検体は2021年4月～9月に当院でIL-6の測定依頼があった患者血清3件と、同時期に炎症マーカーのCRP, PCTを測定した患者血清6件を用いた。

【方法】

1. 同時再現性

2濃度のコントロールを2チャンネルで連続10回測定し、同時再現性を検討した。

2. 日差再現性

2濃度のコントロールを間欠的に2チャンネルで測定し、日差再現性を検討した。

3. コントロールの安定性

2濃度のコントロールを8日間のうち6回測定し、コントロール値の変動を検討した。測定時以外は冷蔵庫で保存した。

4. 検体の安定性 (冷蔵)

患者検体2例を8日間のうち6回測定し、測定値の変動を検討した。測定時以外は冷蔵庫で保存した。

5. 検体の安定性 (室温)

患者検体2例を遠心処理後と室温で8時間静置後の2回測定し、測定値の変動を調べた。

6. 希釈直線性

患者検体を用手法で13段階に希釈し、直線性を検討した。検体の希釈にはエクルーシス希釈液MA(S)を用いた。

7. 共存物質の影響

干渉チェック・Aプラスと干渉チェック・RFプラスを使用し、遊離型ビリルビン、抱合型ビリルビン、溶血ヘモグロビン、乳び、リウマトイド因子の5項目について段階希釈し、共存物質の影響を検討した。

8. 検討法と対照法の相関性

検討法と対照法において患者血清3例を比較し、相関係数と回帰式を求めた。

【結果】

1. 同時再現性

同時再現性は、低濃度のコントロールではチャンネル1においてCV:0.97%、チャンネル2においてCV:0.77%、高濃度のコントロールではチャンネル1においてCV:1.21%、チャンネル2においてCV:0.59%であった(表1)。

2. 日差再現性

日差再現性は、低濃度のコントロールではチャンネル1においてCV:1.49%、チャンネル2においてCV:1.14%であった(図1-1)。高濃度のコントロールではチャンネル1においてCV:1.71%、チャンネル2において

CV：2.09%であった（図1-2）。ただし、1日目と比較した場合、高濃度コントロールのチャンネル2において、14日目から約5%程度の測定値の低下が見られた。

3. コントロールの安定性

低濃度・高濃度のコントロール共に8日目まで測定したが、3%以上の変動は確認できなかった（図2-1、図2-2）。

表1 同時再現性

IL-6 (pg/mL)	低濃度コントロール		高濃度コントロール	
	チャンネル1	チャンネル2	チャンネル1	チャンネル2
1	37.1	37.8	238.0	242
2	37.7	37.3	240.0	239
3	37.5	37.7	241.0	240
4	36.9	37.7	240.0	241
5	36.8	37.6	239.0	238
6	36.9	37.9	239.0	240
7	37.7	38.0	237.0	241
8	37.3	37.6	239.0	240
9	37.5	37.1	246.0	240
10	37.7	38.0	245.0	243
Mean	37.3	37.7	240.4	240.4
SD	0.36	0.29	2.91	1.43
CV(%)	0.97	0.77	1.21	0.59

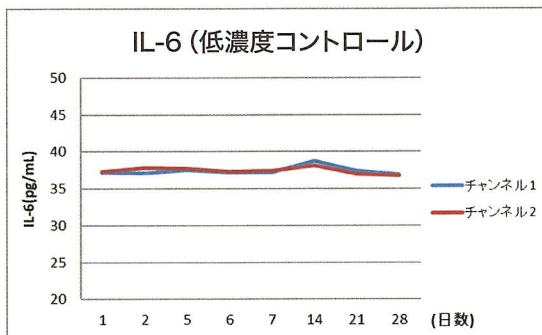


図1-1 日差再現性（低濃度コントロール）

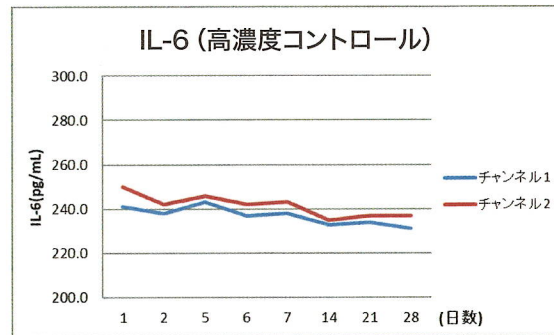


図1-2 日差再現性（高濃度コントロール）

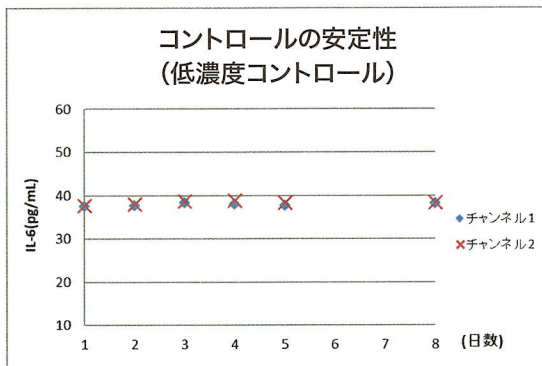


図2-1 コントロールの安定性（低濃度コントロール）

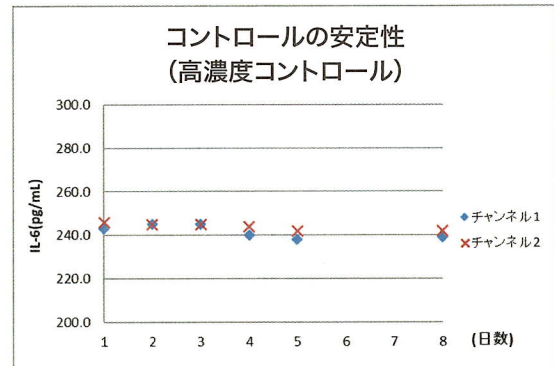


図2-2 コントロールの安定性（高濃度コントロール）

4. 検体の安定性 (冷蔵)

患者Aにおいては、2日目に+5.2%、8日目には+15.2%の変動が確認された(図3-1)。患者Bにおいては8日目まで3%以上の変動は確認されなかった(図3-2)。

時間静置後において、測定値の変動は確認されなかった(図4)。

6. 希釈直線性

患者検体を13段階で希釈し測定したところ、原点に収束し良好な直線性が得られた(図5)。

5. 検体の安定性 (室温)

患者検体2例とも遠心処理後と室温で8

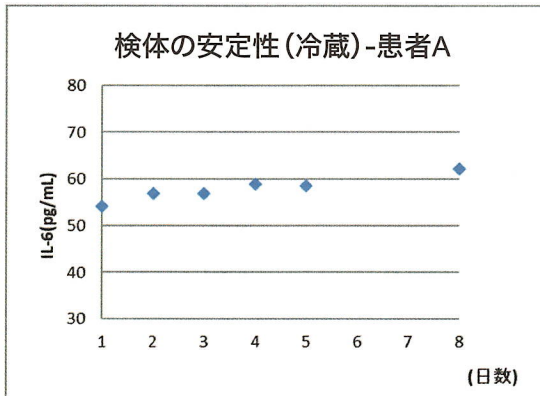


図3-1 検体の安定性 (冷蔵)-患者A

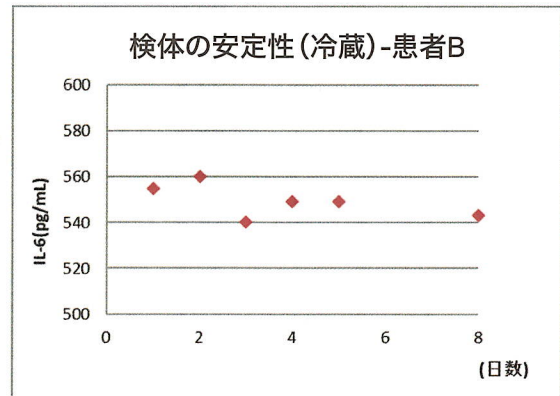


図3-2 検体の安定性 (冷蔵)-患者B

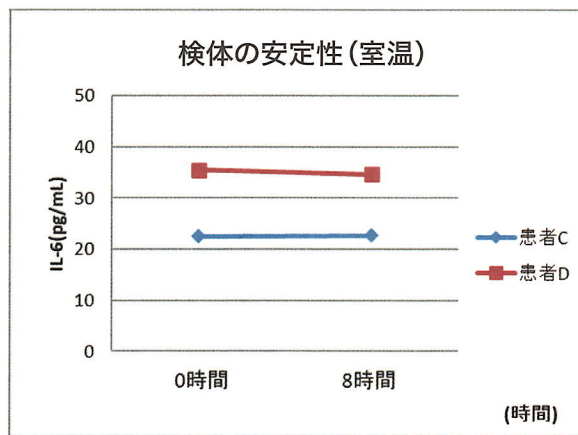


図4 検体の安定性 (室温)

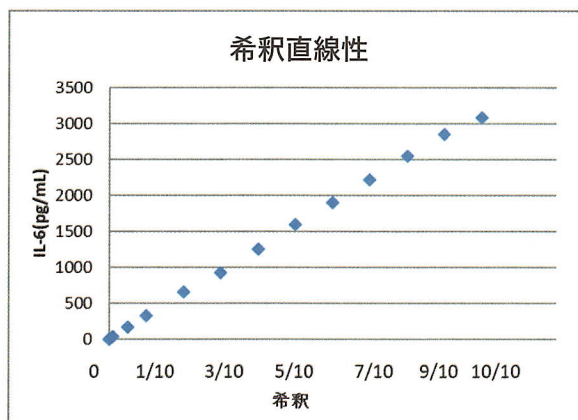


図5 希釈直線性

7. 共存物質の影響

共存物質の影響においては、各物質で最終濃度まで測定値の変動は3%未満であり、共存物質の影響は確認されなかった(図6)。

8. 検討法と対照法の相関性

相関係数 $r=0.9999$ ，回帰式 $y=1.128x - 2.374$ であった(図7)。ただし、検討に用いた検体数は3例でかなり少なかった。

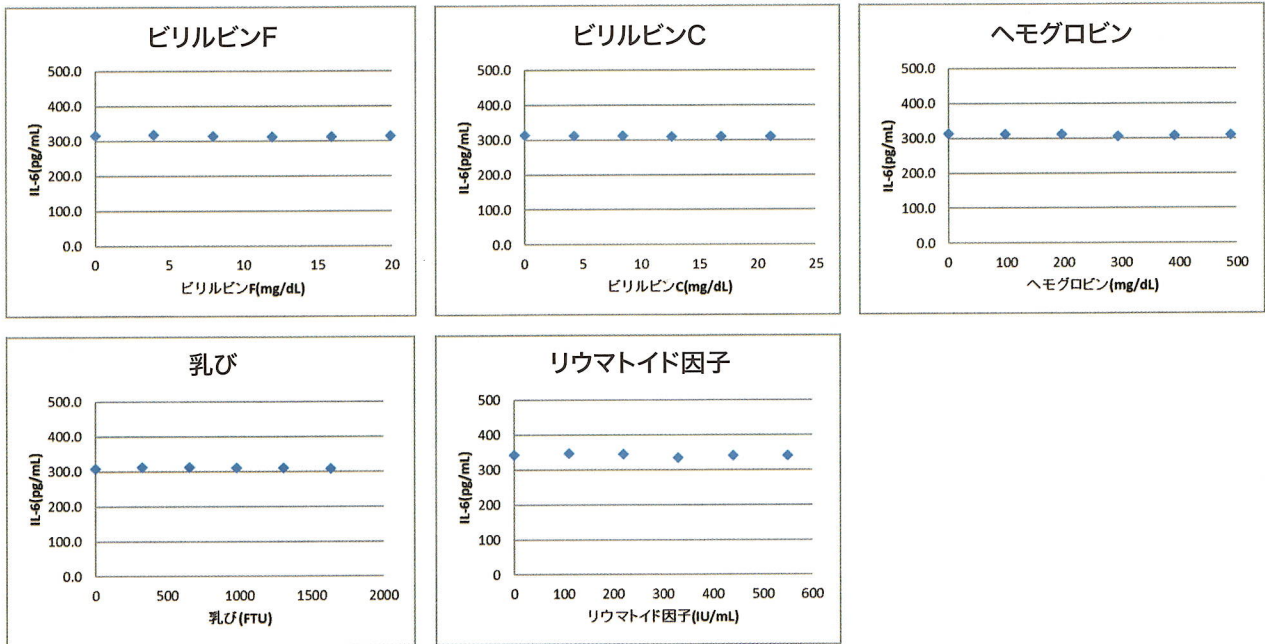


図6 共存物質の影響

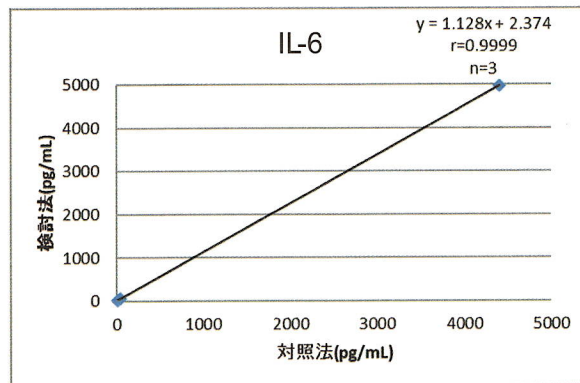


図7 検討法と対照法の相関性

【考察】

同時再現性は、低濃度のコントロールではチャンネル1においてCV:0.97%，チャンネル2においてCV:0.77%，高濃度のコントロールではチャンネル1においてCV:1.21%，チャンネル2においてCV:0.59%であり、ばらつきが少なく良好な結果だった。

日差再現性は、低濃度・高濃度のコントロール共にどちらのチャンネルにおいてもCVは3%未満であり、良好な結果となった。

ただし、高濃度のコントロールのチャンネル2において1日目と比較した場合、14日目から約5%程度の測定値の低下が見られた。チャンネル1においても28日目において約4%の測定値の低下が確認されており、徐々に測定値が低下している。そのため、初回のキャリブレーション実施後はコントロールの値を注視し、測定値の低下が確認された際は再度キャリブレーションする必要がある。

コントロールは粉末乾燥された物を精製水で溶解し使用する。コントロール溶解後に同一のコントロールで8日目まで測定を行ったが、低濃度・高濃度コントロール共に3%以上の変動は確認できなかった。そのため、コントロールは安定性が高く、1週間程度なら同一のものを連続使用しても問題はないと考えられる。

検体の安定性（冷蔵）において、患者Aは徐々に測定値の上昇が確認された。これは検体の濃縮の可能性も考えられるが、ある程度高濃度の患者Bにおいては測定値の上昇が確認されなかったもので詳細は不明である。以上より、検体の保管には注意を払い、翌日以降にIL-6を追加し測定する場合には予め検体を凍結保管しておくか、測定値の上昇が起きる可能性を理解して測定する必要がある。

検体の安定性（室温）において、患者C・D共に8時間経過後においても、測定値の変動が確認されなかったことから、室温保管で当日中に追加測定しても問題がないと考えられる。

希釈直線性においてエクルーシス希釈液MA(S)で検体の希釈を行ったが、原点に収束し良好な直線性が得られた。試薬の性能として5,000pg/mLまで測定可能だが、測定上限を超えた検体においても希釈液を用いることで、最終値まで報告が可能となる。

共存物質の影響は確認されなかったことから、日常検査において検体の性状に関係なく使用することが可能である。

対照法との相関は良好な結果であったが、検討に用いた検体数は3例であったため、今後検体数を増やし、更なる検討の必要がある。

【結語】

日差再現性の高濃度コントロール・チャンネル2において、時間経過と共に測定値の低下が確認された。そのため、日々コントロールの値を注視し低下傾向が確認されたら、再度キャリブレーションを行い、測定値の改善しなければならない。また、IL-6は室温で8時間までは安定しているので、通常業務内であれば室温保存でも問題なく追加検査可能であると考えられる。しかし、冷蔵保存であっても採取翌日から測定値の若干の変動が確認されたので、検体を保管する際は冷凍保存が

望ましい。その他の検討項目において問題は確認されなかったため、院内導入しても問題はないと考えられる。

【文献】

- 1) 新井 隆男. プロカルシトニン. モダンメディア. 52巻. 12号. 2006.
- 2) E. S. Nylén and A. A. Alarifi. Humoral markers of severity and prognosis of critical illness. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 15 : 553-573, 2001.
- 3) ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社. エクルーシス試薬 IL-6 添付文書. p3. 2020.
- 4) Sugiyama M, *et al.* Serum CCL17 level becomes a predictive marker to distinguish between mild/moderate and severe/critical disease in patients with COVID-19. 766. *Gene*. 2021.
- 5) 厚生労働省. 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 診療の手引き・第5.2版. 2021.
- 6) 日本小児科学会. 小児 COVID-19 関連多系統炎症性症候群 (MIS-C/PIMS) 診療コンセンサスステートメント (改定第1版). 2021.

研究

血液培養より抗酸菌を検出した3症例

チール・ネールゼン(Ziehl-Neelsen)染色の難染色性を経験して

平井 舞, 平井 英誉, 勝木 佑佳, 米倉 久剛, 近藤 朝衣, 加藤 幸久

福井赤十字病院 検査部

**Three cases of acid-fast bacilli (non-tuberculosis mycobacteria) isolated from blood culture
Experience of Ziehl-Neelsen stain resistance**

要旨

血液培養より抗酸菌を検出した症例を3例経験した。いずれも易感染者のカテーテル感染が疑われるものであった。3症例のうち1例は、グラム染色所見等から抗酸菌を疑ったものの、チール・ネールゼン染色において難染色性であり判定に苦慮した。チール・ネールゼン染色において、石炭酸フクシン染色時の加温を3分毎に3回実施することにより、明瞭な染色像を得ている。この血液培養陽性液を用いた追加検討では、加温と冷却を繰り返す毎に、より染色性が良くなったが、加温し間隔をとらない場合(冷却なし)の染色性は前者に劣った。

抗酸菌の中には抗酸性が不安定な菌が存在することを念頭におき、染色法の選択や染色操作に工夫が必要であると考えた。

Mai Hirai, *et al.*: ISSN 1343-2311 Nisseki Kensa 55: 33-39, 2022(2021.12.27 受理)

KEYWORDS

非結核性抗酸菌, チール・ネールゼン染色, 迅速発育抗酸菌, 抗酸性, 加温染色

はじめに

迅速発育抗酸菌は、非結核性抗酸菌のうち7日以内にコロニー形成が認められるものでRunyonのIV群菌に分類される¹⁾。血液寒天培地等、一般的な培地にも発育し、抗酸菌用ではない血液培養ボトルからも検出されうる。土壌や水中など自然界に存在し、易感染患者のカテーテル感染の起因菌となることが多いとされ、近年では、質量分析法を利用した同定法の普及もあり、その報告も多く菌種も多様である。一般的にグラム陽性桿菌に分類されているが、染色性は不安定で、過去の血液培養からの分離報告ではグラム陰性・不明瞭・陽性など多彩である。加えて、当院で経験した3例のうち1例は、グラム染色の染色性や形態などから抗酸菌を疑ったものの、抗酸

菌染色の染色性が不明瞭で判定に苦慮した。今回、血液培養から抗酸菌を検出した3症例を、その染色性を中心に、追加検討交え報告する。

【細菌学的検査に使用した機器および試薬類】

血液培養装置：症例1 BACTEC 9120 (日本BD)
症例2,3 BACTEC FX (日本BD)
血液培養ボトル：症例1 BD BACTEC 92F 好気用
レズンボトル (日本BD)
BD BACTEC 93F 嫌気用
レズンボトル (日本BD)
症例2,3 BD BACTEC 23F
好気用レズンボトル (日本BD)
症例2,3 BD BACTEC 22F
嫌気用レズンボトル (日本BD)

サブカルチャー用培地：5%羊血液寒天培地
(日水製薬)

小川培地：1%小川培地 (極東製薬)

染色液：チール・ネールゼンカルボールフクシン
染色液 (メルク)

レフレルメチレンブルー染色液 (メルク)

アクリステインmAO液, WB液, CS液
(極東製薬)

フェイバーG「ニッスイ」染色液A (ビク
トリアブルー), 染色液B (フクシン)

(日水製薬)

グラム染色液neo-B&Mフコクリスタ
ルバイオレット溶液, ヨウ素溶液, パイ
フェル液 (富士フィルム和光純薬)

同定試薬：DDHマイコバクテリア (極東製薬)

【症例1】

患者：60歳代, 女性.

既往歴：乳癌.

現病歴：急性骨髄性白血病で化学療法のため
入院中であった。発熱, 倦怠感を認めたた
め, 血液培養2セット採取後にCZOPの投
与が開始されている。翌日には解熱してい
る。発熱等の症状は改善されていたが, 菌
名判明後にはLVFXとCAMでの治療がな
された。

細菌学的検査：培養3日目でCVルートより
採取した好気ボトルが陽性になり, グラム
染色では不鮮明な桿菌を認めた (図1)。追
加でチール・ネールゼン (Ziehl-Neelsen) 染
色を行ったところ, 赤色の菌体を認め (図2),
抗酸菌を推定し, 担当医師にその旨の報告
を行った。結核菌否定の為, 血液を検体と
した結核菌PCR, MAC-PCR検査が追加さ
れたが, 何れも陰性であった。培養5日目
には末梢より採取した好気ボトルが陽性と
なり, 同様の菌を認めている。サブカル
チャーは, 羊血液寒天培地, 35℃, 通常大気下
で行い, 培養3日目に微小なコロニー, 培
養6日目に白くわずかに艶のある直径1mm
程度のコロニーが発育した。小川培地にも
サブカルチャーを実施し, 発育を認めてい
る (図3)。DDH法にて, *Mycobacterium*
fortuitum (旧菌名: *Mycobacterium fortuitum*)
と同定された。

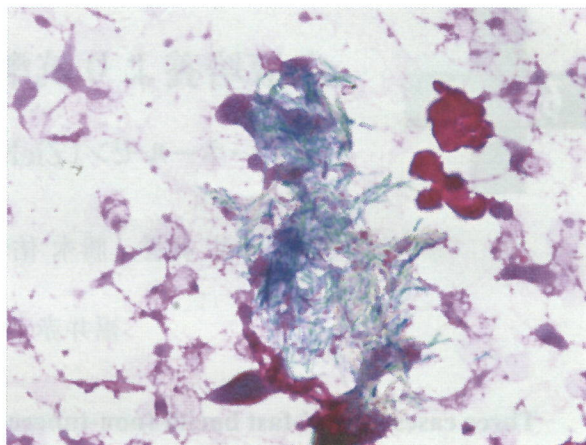


図1 グラム染色(西岡法)×1000倍

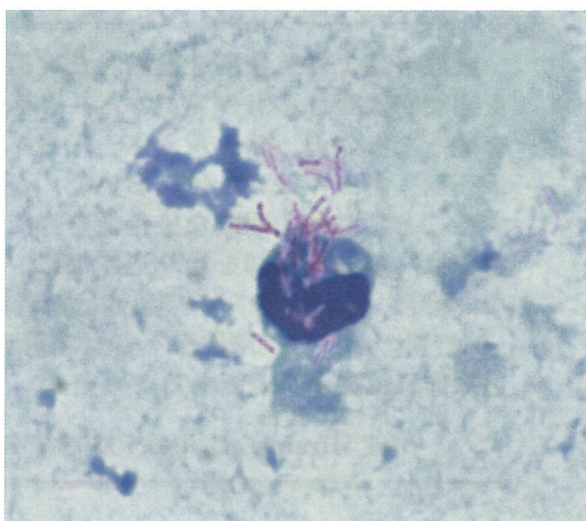


図2 チール・ネールゼン染色×1000倍



図3 培養6日目 コロニー像
羊血液寒天培地と
1%小川培地

【症例2】

患者：70歳代，女性。

現病歴：ホジキン病と診断され，化学療法目的で入院となった。その際，PICC（末梢挿入中心静脈カテーテル）を右上肢に留置している。約3カ月後の一時退院明けの再入院時（第88病日）に，PICC挿入部の疼痛の訴えあり。穿刺部に発赤はあるが，出血や腫脹はなく，固定位置も変化はなかった。消毒およびドレープ交換を行い経過観察となっている。第89病日，発熱を認め血液培養2セット採取後にCTR_Xの投与が開始されている。血液検査ではCRPが4.3mg/dlと軽度上昇を認めている。CTR_X3日間投与後にMINOとBIPMで1週間の抗菌薬治療がなされた。さらに1カ月後（第108病日）にはPICC挿入部の掻痒感の訴えあり。PICC留置から，約4カ月後（第121病日）に退院に向けてPICCを抜去し，PICC先端培養および血液培養1セットが提出された。退院時にSTFXが2週間処方されている。

細菌学的検査：第89病日に採取された血液培養は，培養5日目に好気ボトル1セットが陽性となり，グラム染色にて集塊性のあるグラム陽性桿菌を認めた。グラム染色（西岡法）では染まりが不良で僅かにグラム陽性と判定できる程度だったのに対し（図4），グラム染色（BM法）では明瞭にグラム陽性桿菌に染色された（図5）。抗酸菌を強く疑い，チール・ネールゼン染色を追加し，赤色の菌体を認めた（図6）。サブカルチャーは，

羊血液寒天培地，35℃，通常大気下で行い，翌日微小集落の発育を認めた。培養3日目で，白色，ラフ型のコロニーが発育した（図7）。DDH法では同定出来ず，質量分析法により，*Mycolicibacterium mucogenicum*と同定された。第121病日に採取された血液培養およびPICC先端培養からも同菌を認めている。

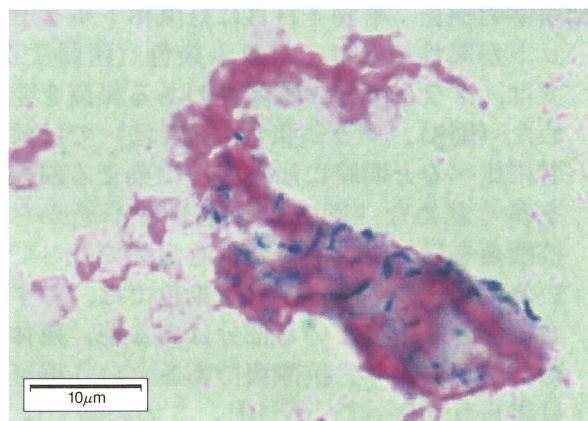


図5 グラム染色(BM法)×1000倍

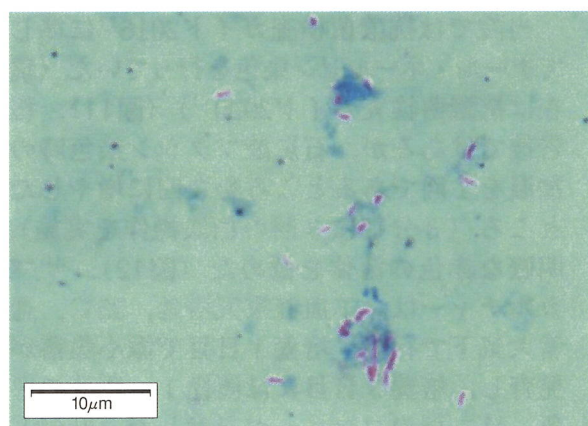


図6 チール・ネールゼン染色×1000倍

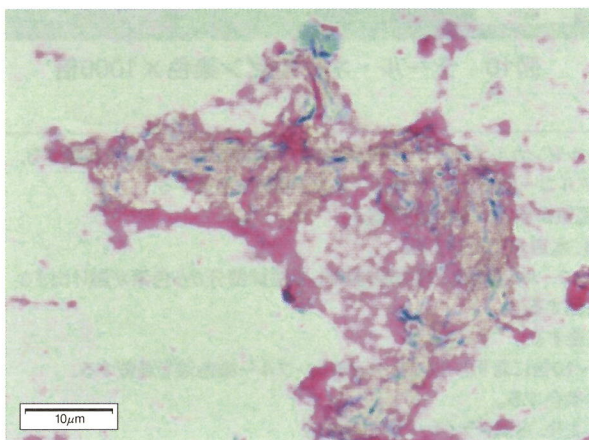


図4 グラム染色(西岡法)×1000倍

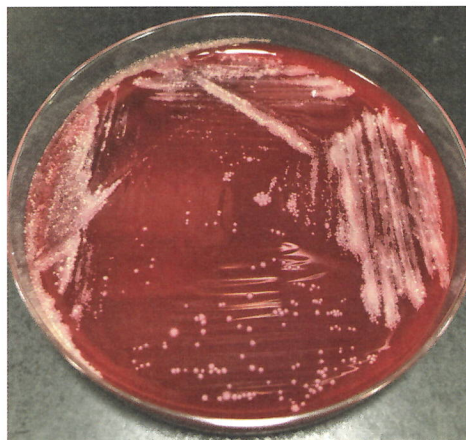


図7 培養3日目 コロニー像 羊血液寒天培地

【症例3】

患者：60歳代，男性。

現病歴：進行噴門部胃癌で化学療法の為入院中であった。3日間の微熱が続いた後，38℃台の発熱を認めたため，血液培養2セット採取後にMEPMの投与が開始されている。血液培養採取の3日後には，CVカテーテルを抜去し解熱した。MEPM5日間の投与で，抗菌薬投与は終了している。

細菌学的検査：培養4日目に好気ボトル2セットが陽性になり，グラム染色（西岡法）では，グラム不定の集塊性のある桿菌を認めた（図8）。グラム染色（BM法）では前者に比べると明瞭に陽性桿菌に染まる部分を多く認めた（図9）。染色性や形態から抗酸菌を疑い，抗酸菌染色を追加で行っている。チール・ネールゼン染色では，わずかに赤みを帯びている部分はあるが，菌体は不明瞭であり，抗酸菌であるという確証は得られなかった（図10）。この段階では，グラム不定の桿菌を認めたとの担当医師への報告を行っている。

当院では抗酸菌検査ガイド2016²⁾に準じてチール・ネールゼン染色を行っていた（現在は抗酸菌検査ガイド2020¹⁾）（図11）。報告後ではあるが，石炭酸フクシン染色時の加温を1回であるところを3回に増やしたところ（3分毎に3回の加温操作を実施），明瞭な赤色の菌体を認めた（図12）。サブカルチャーは，羊血液寒天培地，35℃，通常大気下で行い，培養1日目で微小集落が発育し，培養3日目には直径1mm程度の白色，ラフ型のコロニーが発育した（図13）。コロニー染色においても培養液と同様に，グラム染色ではグラム不定の桿菌で，チール・ネールゼン染色に難染色性であった。こちらも同じように，石炭酸フクシンの加温回数を増やすことで，明瞭な赤色の菌体を確認している。コロニー染色において，蛍光染色（アクリジンオレンジ染色）を実施しているが，黄緑色に光る菌体を認め（図14），抗酸菌とする黄色～赤橙色の染色性とは少し異なった。DDH法では同定できず，16sリボソームRNA遺伝子解析により *Mycolicibacterium brisbanense* と同定された。

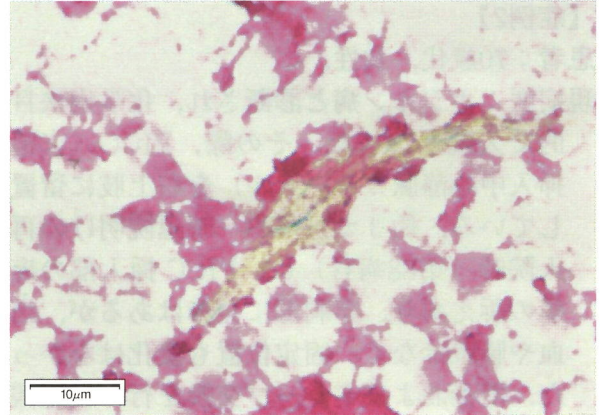


図8 グラム染色(西岡法)×1000倍

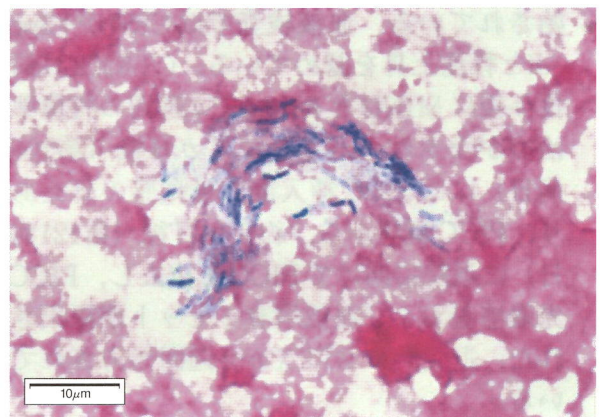


図9 グラム染色(BM法)×1000倍

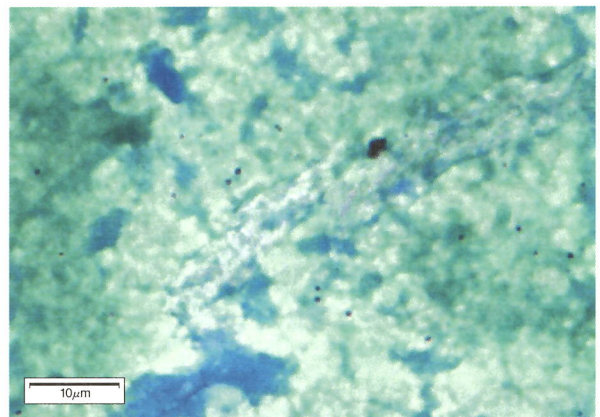


図10 チール・ネールゼン染色×1000倍

- ①チール・ネールゼンカルボールフクシン染色液(石炭酸フクシン液)を満載する。
- ②火をつけたアルコール綿で，スライドガラスの下面から加温する。
(しっかりと湯気が出ていることを確認。)
- ③10分放置後，水道水で水洗する。
- ④3%塩酸アルコールを満載し，軽く揺り動かして塗抹部分から色素が融け出さなくなるまで脱色する。
- ⑤水道水で水洗する。
- ⑥蒸留水で5～10倍に希釈したレフレブルメチレンブルー染色液を満載する。
- ⑦室温で30秒染色する。
- ⑧水道水で水洗後，冷風ドライヤーで乾燥する。
- ⑨1000倍拡大(油浸系)で顕微鏡観察する。

図11 当院のルーチンにおけるチール・ネールゼン染色手順(抗酸菌ガイド2016準拠)

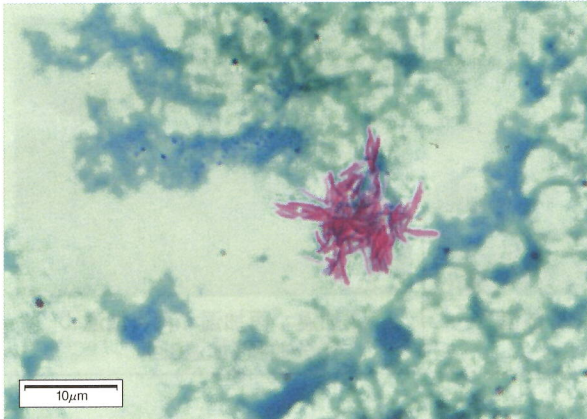


図12 チール・ネールゼン染色×1000倍
(石炭酸フクシン加温時の手順を変更し、
3分毎に3回の加温操作を実施した.)

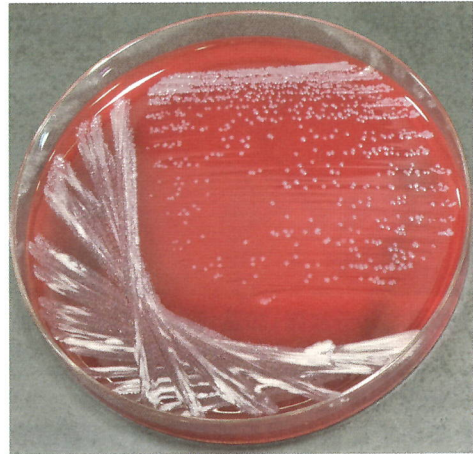


図13 培養3日目 コロニー像 羊血液寒天培地

【症例3；染色性の追加検討】

血液培養陽性液を用い、加温条件によるチール・ネールゼン染色の染色性の検討を行った。

第一の検討として、石炭酸フクシンの加温後に時間をおき、一旦冷却させた後に、再加温を複数回行う。3分毎に再加温を行うこととし、計10分間の染色時間になるよう設定した。その後、ルーチンの方法で脱色・後染色を行ったときの染色性を比較した。加温1回に比べ2回、2回に比べ3回が良く染まり、加温回数を増やすことにより染色性がより良くなった(図15)。

第二の検討として、時間をおかずに加温を複数回行い(加温後の放置時間を無くし、湯気が消えたら直ちに次の加温を行う)その後10分間放置後、ルーチンの方法で脱色・後染色を行ったときの染色性を比較した。再加温により染色性が良くなったが、加温後3分放置したもの(第一の検討)と比べるとその染

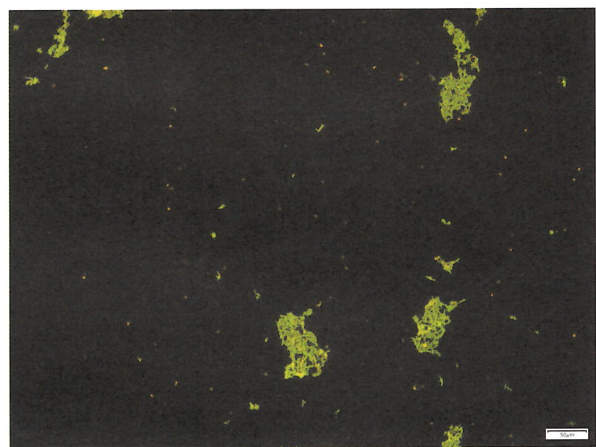


図14 コロニーを検体としたアクリジンオレンジ染色×200倍

色性は劣っている(図16)。なお、加温回数1回、放置時間の延長のみでは染色性はルーチン法での染色所見と変化はなかった。

また、羊血液寒天培地に発育したコロニーを用い、第一の検討を実施したところ、血液培養陽性液と同様の結果を得ている(図17)。

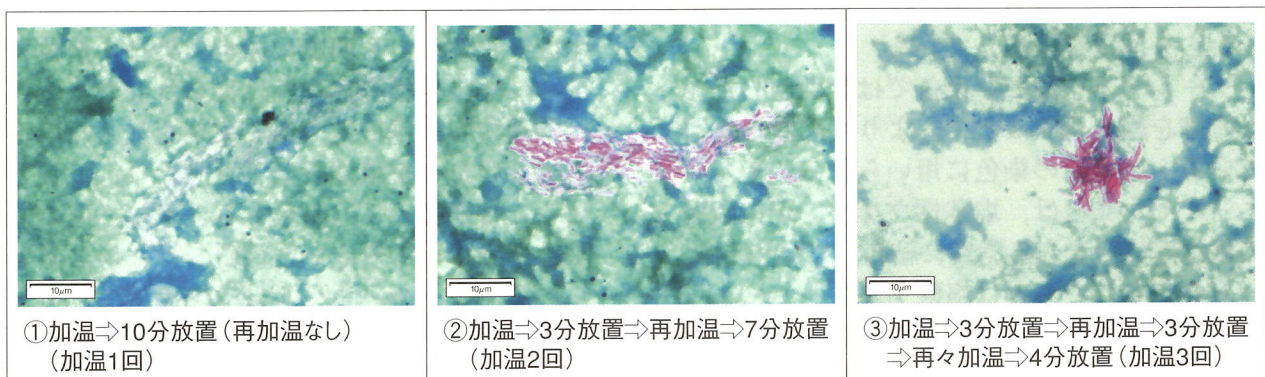


図15 加温条件による染色性の検討1

時間を置いて(冷却後)に再加温を複数回行う；3分毎に再加温を行い計10分間の染色時間になるよう設定⇒その後ルーチンの方法にて脱色、後染色を行った。
標本は全て×1000倍。

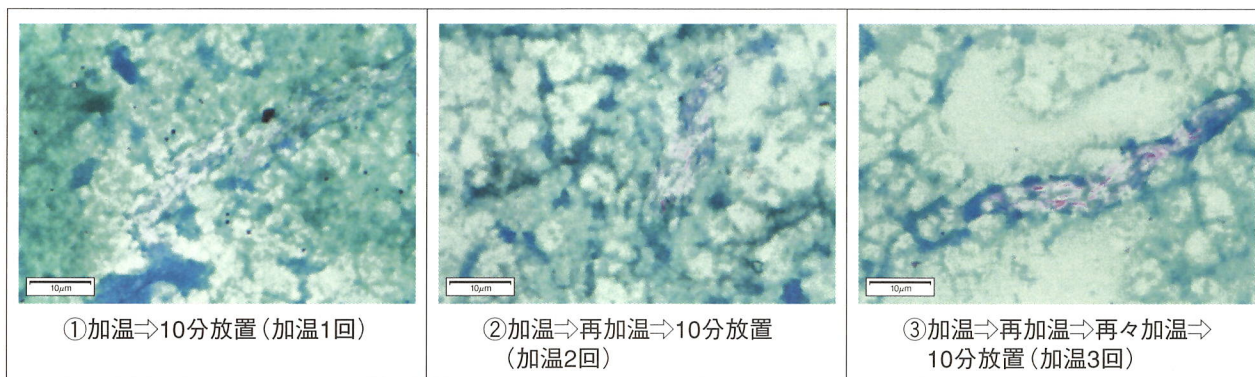


図16 加温条件による染色性の検討2

時間をおかずに再加温を複数回行う(染色液追加なし)⇒その後10分間放置し、ルーチンの方法にて脱色、後染色を行った。
標本は全て×1000倍。

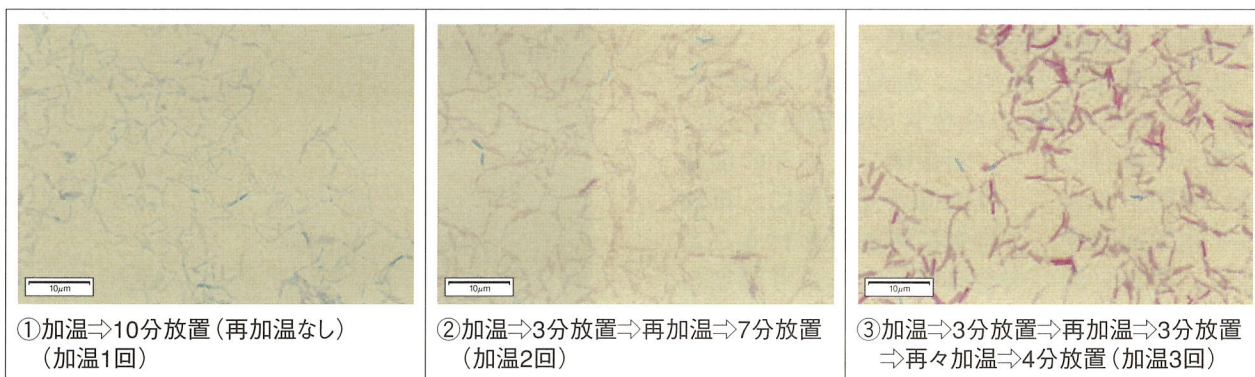


図17 加温条件による染色性の検討1 コロニー染色

時間を置いて(冷却後)に再加温を複数回行う; 3分毎に再加温を行い計10分間の染色時間になるよう設定⇒その後ルーチンの方法にて脱色、後染色を行った。
標本は全て×1000倍。

【考察】

血液培養からの抗酸菌(迅速発育菌群)検出例の大半は、血管内カテーテルが侵入門戸であるといわれている³⁾。今回我々が経験した3例も全てカテーテル関連の感染が疑われるものであり、うち2例は抜去後のカテーテルからも同菌を検出している。

チール・ネールゼン染色では複数回の加温と冷却を繰り返すことで、より明瞭な像を得ている。抗酸菌の染色に用いられるチール・ネールゼン染色は、塩基性フクシンが抗酸菌の細胞壁に含まれる脂質に結合して染色され、一度染色されたものは塩酸アルコールによっても脱色されにくい抗酸性の性質を用いている。今回の症例3において、抗酸性の減弱もしくは消失を認めた菌が加温と冷却を繰り返すことでより明瞭な染色性を得られたのは、加温することにより菌体内に取り込まれた色

素が、冷却によってより強く保持され、それらを繰り返すことで、後の脱色段階で脱色されず残る菌が相対的に増加したのではと推測する。

染色性の検討として後日、継代した菌株で行った再検証ではルーチンの方法(加温回数1回)においても明瞭に赤色に染まる菌体を認め、難染色性の再現性は得られなかった。抗酸菌でも飢餓培地やある薬剤を加えた培地で培養すると抗酸性を低下させたり、消失させることができる¹⁾ともあるように、菌の抗酸性は必ずしも安定した性質ではないと考えられる。チール・ネールゼン染色における手順は抗酸菌検査ガイドや過去の結核菌検査指針¹⁾²⁾⁴⁾⁵⁾では1回加温であるが、他の微生物学の教本では複数回加温を勧めるものも存在する⁶⁾⁷⁾。

蛍光染色(アクリジンオレンジ染色)では、

抗酸菌の活性状態で黄色～赤橙色の蛍光色調に幅が生じる。酵母様真菌や弱抗酸性を有する菌種では、黄緑色の非特異蛍光を発する場合があるとされ¹⁾、本症例でも黄緑色の蛍光を認めており、この所見からも抗酸性が減弱していたことが伺える。五十嵐らは、迅速発育抗酸菌は蛍光染色で染まりにくく、その原因として蛍光色素が菌体内に浸透しないことや、脱色されやすいことを挙げている⁸⁾。ATS/IDSAのドキュメントでは、結核菌やNTMの染色はチール・ネールゼン染色よりも、蛍光染色が推奨されているが、とりわけ迅速発育抗酸菌は脱色プロセスに弱く、偽陰性となる可能性も書かれている⁹⁾。吉田らは、分離された*M. fortuitum*の61.9%で蛍光法（AR法，AO法）における抗酸性が乏しくチール・ネールゼン染色で良好であり、液体培養陽性の場合に、蛍光法で抗酸菌の確認を行うと見逃すケースが生じると報告している¹⁰⁾。迅速発育抗酸菌に対し、チール・ネールゼン染色に比べ、蛍光染色が劣るのはこれらの報告から確かであるが、今回我々が経験した症例3ではチール・ネールゼン染色においても染色性は不良であった。

結核菌の抗酸性は安定しているが、その他の抗酸菌については変化しやすいと言われていることから¹¹⁾、非結核性抗酸菌、特に迅速発育抗酸菌においては、その抗酸性は不安定な性質であることを念頭に置き、染色法の選択や、加温回数を増やす等の染色手順の工夫をすることも一つであると考え。抗酸性が減弱するということは、酸により脱色されやすくなるということであり、脱色プロセスでの検討も必要であったのであろうが今回はできていない。

【まとめ】

我々は血液培養より抗酸菌を検出した症例を3例経験した。うち1例は、チール・ネールゼン染色の染色性が不良で判定に苦慮したが、石炭酸フクシンの加温と冷却を複数回繰り返すことで、チール・ネールゼン染色陽性に染まる菌を認めた。安定した抗酸性を持つとされる結核菌検査の為のチール・ネールゼン染色であれば、加温回数は1回のみで十分

であろう。抗酸菌の中には迅速発育抗酸菌をはじめとした抗酸性が不安定な菌が存在することを念頭におき染色法の選択や染色操作に工夫が必要であると考え。

なお、本論文の要旨は、第68回日本医学検査学会（2019年5月，下関）において発表した。

【参考文献】

- 1) 日本結核・非結核性抗酸菌症学会：抗酸菌検査ガイド2020，南江堂，2020，33-38
- 2) 日本結核・非結核性抗酸菌症学会：抗酸菌検査ガイド2016，南江堂，2016，33-38
- 3) 日本臨床微生物学会：血液培養検査ガイド，2013，84-88
- 4) 日本結核病学会 抗酸菌検査法検討委員会：結核菌検査指針2007．財団法人 結核予防会，東京，2007，31
- 5) 財団法人日本公衆衛生協会：結核菌検査指針1979，1979，16-18
- 6) 岡田淳，設楽政次，森田耕司ほか：臨床検査学講座第2版 微生物学/臨床微生物学，2007，368
- 7) 医歯薬出版株式会社：染色法のすべて，1990
- 8) 五十嵐ゆり子，近松絹代，占野昭男ほか：臨床検体における改良型アクリジンオレンジ蛍光染色液の抗酸菌染色性品価及び抗酸菌基準株に対する染色像の比較．日本臨床微生物学雑誌29：12-16，2019.
- 9) Griffith DE, Aksamit T, Brown — Elliott BA, *et al.* : An official ATS/IDSA statement : diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2007 ; 175 : 367-416
- 10) 吉田志緒美，露口一成，鈴木克洋ほか：Mycobacterium fortuitumを対象としたZiehl-Neelsen染色法と蛍光染色法における抗酸性の比較検討．結核 Vol88, No.5：461-467，2013
- 11) James H. Jorgensen, Michael A. Pfaller *et al.* : Manual of Clinical Microbiology 11th edition. 2015, 321-322



コンピュータクロスマッチ導入による 効果の検討

西川 文乃, 持田 和紀, 高橋 美枝子, 野瀬 幸子, 野瀬 和彦

深谷赤十字病院 検査部

Effect of introducing computer-crossmatch

要旨

コンピュータクロスマッチとはあらかじめ検査された結果および製剤情報に基づき、システム上で適合性を確認する方法のことである。当院でコンピュータクロスマッチを導入してから一年が経過し、導入の効果を検討した。コンピュータクロスマッチの導入前後を比較した結果、赤血球製剤廃棄率と臨時の赤血球製剤納品回数の減少、当直技師の負担軽減が達成されたことがわかった。コストはやや増加したものの、廃棄製剤薬価の減少により収支は改善した。さらに輸血の安全性向上、業務の大幅な省力化も図ることができたと考えられる。今後もコンピュータクロスマッチをより有効的に使用し、更なる輸血の安全と適正使用の推進に努めていきたい。

Ayano Nishikawa, *et al.*: ISSN 1343-2311 Nisseki Kensa 55: 40-44, 2022(2021.12.30 受理)

KEYWORDS

コンピュータクロスマッチ, 輸血システム, 不規則抗体スクリーニング, 赤血球製剤廃棄率

【はじめに】

コンピュータクロスマッチ (Computer Cross-match: 以下C.C.) とはあらかじめ検査された結果および製剤情報に基づき、システム上で適合性を確認する方法のことである。従来のクロスマッチでは、クロスマッチの依頼に対して赤血球製剤を確保し製剤セグメントと患者検体を用いてクロスマッチを実施するが、C.C.では先に患者検体の検査を実施し出庫依頼が来た段階で製剤を確保、C.C.を用いて適合性の確認をする。C.C.はシステムを用いることでヒューマンエラーによるABO型不適合輸血の防止を目的とし開発されたが、血液製剤準備時間の短縮や廃棄製剤の減少も見込め、近年導入が進んでいる¹⁾。当院では輸血の安全性向上と廃棄率削減を目的とし、2020年3月よりC.C.を導入した。今回導入か

ら1年が経過し、C.C.導入による効果を検討したので報告する。

【対象および方法】

1. 対象期間

2019年3月から2020年2月までをC.C.導入前、2020年4月から2021年3月までをC.C.導入後と定義した。なお2020年3月はC.C.導入期間のため除いた。

2. 検査方法

1) 輸血検査

血液型検査および不規則抗体スクリーニング検査はVISION (オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス) を用い、カラム凝集法で実施した。不規則抗体スクリーニング検査は、LISS-抗グロブリン法 (IgGカセット) とフィシン法 (ニュートラルカセット) の二法

を用い判定した。

2) コンピュータクロスマッチ

システムは輸血システム（テクノラボ）を用い、以下の4つの条件を満たした時に適合と判断した。①結果の不一致や製剤の選択が誤っている際には警告すること ②患者の血液型が2回以上異なる検体により確認されていること ③製剤の血液型が再確認されていること ④患者が臨床的に問題となる不規則抗体を保有していないこと²⁾

不規則抗体スクリーニング検査は3日に1回の検査が推奨されており^{3,4)}、当院でもC.C.の際は3日に1回の不規則抗体スクリーニング検査と交差日が変わるごとの血液型検査を必須としている。クロスマッチの依頼に対し最新の検査結果が検索され、C.C.適合・不適合が画面に表示される。C.C.適合の時に赤血球製剤を登録すると出庫が可能となる。

3. 検討内容

1) 日勤帯、当直時間帯の検査数

当院は8:30～17:00が日勤帯、17:00～翌8:30

が当直時間帯として定められている。C.C.導入前、C.C.導入後それぞれで実施した検査数を算出した。

2) 赤血球製剤廃棄率

赤血球製剤の廃棄数を調査し、それぞれ1年間の赤血球製剤使用数における割合を算出し比較した。また、廃棄に至った理由と有効期限廃棄の内訳を調査した。

3) 検査に関わるコスト

クロスマッチおよび不規則抗体スクリーニング検査で用いた試薬数から費用を算出し、検査に関わるコストを比較した。

4) 当直時間帯における赤血球製剤納品回数

当直時間帯における血液センターからの赤血球製剤納品回数を調査し比較した。

5) アンケート調査

現在当院検査部・病理部に所属する臨床検査技師29名のうち、現在当直業務に従事している、かつC.C.導入前から当直業務に従事している21名に、アンケートを実施し集計した（図1）。

コンピュータクロスマッチ導入後 アンケート

1. コンピュータクロスマッチ（以下C.C.）の導入前後を比較して、当直中の輸血の業務はどう変わりましたか。
 - ① 楽になった
 - ② 大変になった
 - ③ とくに変化はない
2. 1で「楽になった」と答えた方にお聞きします。どのような点で楽になったと感じますか。（複数回答可）
 - ① 追加のオーダーの際、クロスマッチが不要になった
 - ② セグメントの準備が不要になった
 - ③ 赤血球製剤の在庫数が増えた
 - ④ 血液センターからの納品回数が減った
3. 1で「大変になった」と答えた方にお聞きします。どのような点で負担になったと感じますか。（複数回答可）
 - ① C.クロス導入前の方法と混ざり混乱する
 - ② 病棟や医師からクロスマッチに対する問い合わせが増えた
 - ③ 当直中の業務内容が増えて負担になった（製剤の血液確認など）
4. C.C.を導入後、C.C.に慣れる（マニュアルを見ずに操作ができるようになる）までの期間はどのくらいでしたか。
 - ① 3カ月以内
 - ② 3～6カ月
 - ③ 6カ月～1年
 - ④ 1年以上
5. C.C.導入から1年半が経過しましたが、C.C.に対しどう思いますか。
 - ① C.C.を導入して良かったと思う
 - ② 導入しない方が良かったと思う

図1 検査技師を対象としたアンケート本文

【結果】

C.C.導入前のクロスマッチ実施数は日勤帯で2988件、当直時間帯で524件であり、赤血球製剤使用数は日勤帯で6500単位、当直時間帯で1924単位であった。C.C.導入後のクロスマッチ実施数は日勤帯で2750件、当直時間帯で385件であり、赤血球製剤使用数は日勤帯で6248単位、当直時間帯で1454単位であった。導入後のクロスマッチ実施数と比較したC.C.の割合は、日勤帯で82%、当直時間帯で88%であった。

赤血球製剤廃棄率はC.C.導入により0.42%から0.05%まで大幅に減少した(図2-1)。製剤の廃棄理由は有効期限切れが多く、C.C.導入前の廃棄製剤36単位のうち26単位とC.C.導入後の廃棄製剤4単位のうち2単位で、残りは顛末であった。有効期限切れ廃棄の内訳は、C.C.導入前は廃棄製剤26単位の7割にあたる18単位が手術準備のために納品した製剤の期限切れ、3割にあたる8単位が在庫補充のため納品した製剤の期限切れであった。一方C.C.導入後は手術準備のため納品した当日期限のB型Rh(D)陰性製剤2単位のみであった。1ヶ月あたりの検査に関わる平均コストは試薬使用増加に伴い約1万円増加した(図2-2)。

当直時間帯における血液センターからの臨時の赤血球製剤納品回数は188回から73回に半減した(図2-3)。

アンケート調査において(回収率100%)、21名(100%)の技師が「C.C.導入によって業務が楽になった。」「C.C.を導入してよかった。」と回答した。業務の負担軽減の理由を問う設問(複数回答可)においては、「追加のオーダーの際、クロスが不要になった」と答えた技師が20名(95%)、「セグメント準備が不要になった」と答えた技師が11名(52%)、「赤血球製剤の在庫数が増えた」と答えた技師が15名(66%)、「血液センターからの納品回数が減った」と答えた技師が10名(48%)であった(図3-1)。一方、C.C.を導入して業務は楽になったと答えたものの、「製剤の血液型確認が負担になった」と回答した技師が3名(14%)、「臨床からの問合せに苦渋する」と回答した技師が1名(5%)であった。C.C.導入に伴い変化した業務の習得速度についての設問では、3ヶ月以内と回答した技師が14名(67%)、半年以内と回答した技師が4名(19%)、1年以内と回答した技師が3名(14%)で、検査技師の8割以上が半年以内に習得できたと回答した(図3-2)。

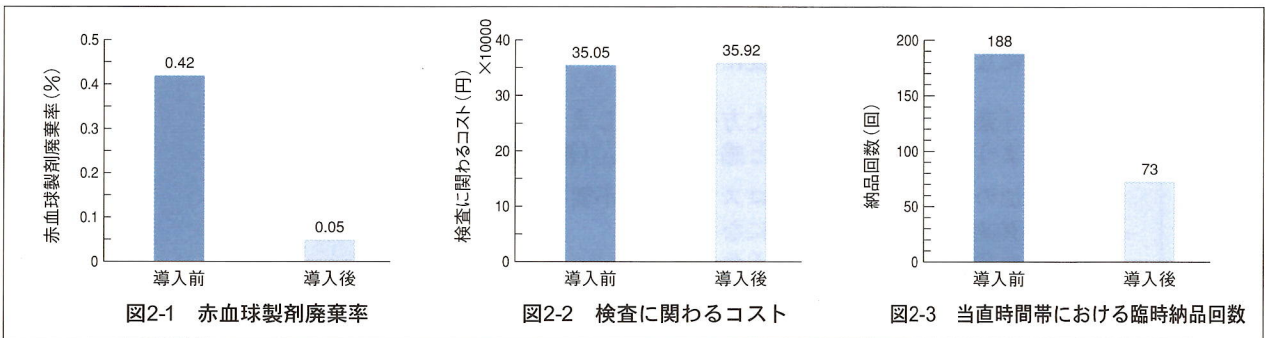


図2 C.C.導入前後の検討項目の比較

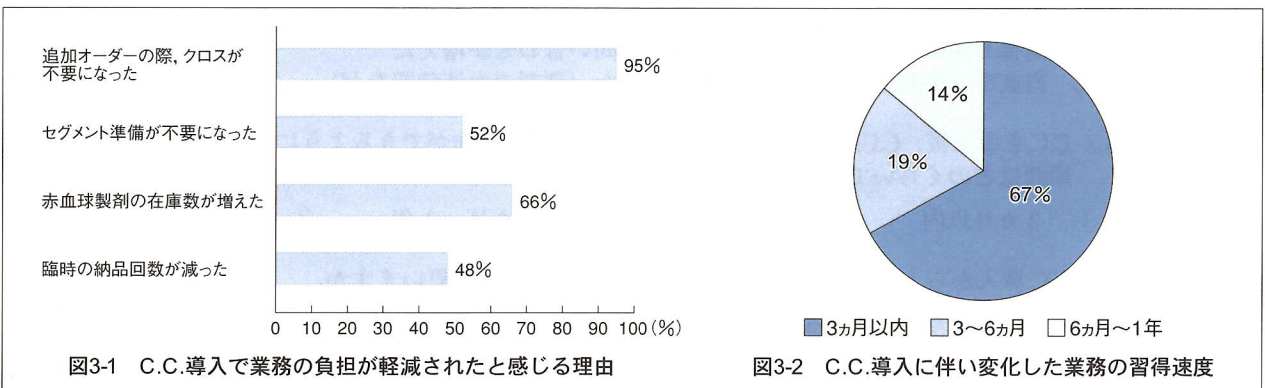


図3 当直担当技師を対象としたアンケート結果

【考察】

クロスマッチはドナーである赤血球製剤の投与によってレシピエントに副作用が生じないか調べることを目的としている。クロスマッチで防止することが可能な副作用は血液型不適合輸血による急性溶血性輸血副反応 (Acute hemolytic transfusion reactions : AHTR) と、不規則抗体による抗原抗体反応で生じる遅発性溶血性輸血副反応 (Delayed hemolytic transfusion reactions : DHTR) がある。C.C.では製剤の適合性をシステムが判定するため、ヒューマンエラーによるAHTR防止に有用である¹⁾。またDHTRを防止するために、従来のクロスマッチは製剤セグメントと患者検体を用い直接反応させることで適合性を確認する。一方C.C.では不規則抗体スクリーニング検査を用い、臨床的に有用となる不規則抗体が検出されなければ適合の条件を満たすことができる⁵⁾。従来のクロスマッチでは抗体価が8倍以下の弱陽性の抗体に対し、量的効果のある抗原がヘテロ接合体である細胞を用いると抗原抗体反応が弱く適合となる可能性があった。しかし不規則抗体スクリーニング検査ではホモ接合体の細胞も含めた3種類のスクリーニング血球と反応させるため、抗体価が2倍の不規則抗体も高感度で検出可能となる⁶⁾。C.C.導入により全てのクロスマッチで不規則抗体スクリーニング検査を実施することが可能となり、輸血の安全性は向上したと考えられる。

C.C.導入前はクロスマッチを実施する際に

全ての依頼に対し製剤の割り当てが必要であった。そのため手術準備で多くの製剤の確保が必要となるが、すでに手術準備で割り当てられた製剤は他の依頼には使用できないため、それ以外に使用可能な製剤を常備する必要があった。これにより過剰な在庫を抱えることとなったほか、追加の製剤出庫依頼に対して有効期限の長い製剤を先に使用するといった状況が起き、製剤の有効期限切れ廃棄は少なからず発生していた。しかしC.C.導入後は、製剤の出庫依頼に対し期限の短いものから順次使用できるようになったため、製剤の期限切れ廃棄を防止することができ、廃棄率は大幅に減少した。C.C.導入後は不規則抗体の陽性歴がないクロスマッチでは不規則抗体スクリーニング検査を実施するため、試薬の使用数は増加し検査代はやや増加した。しかし廃棄製剤の大幅な減少により廃棄製剤薬価はC.C.導入前の234,702円から18,054円と大幅に減少し、結果的に収支は改善し病院経営に貢献できた。

C.C.ではクロスマッチに製剤セグメントを用いないため、クロスマッチ前のセグメント準備が不要となる。また、従来のクロスマッチでは製剤ごとのクロスマッチが必要だったため追加のクロスマッチ依頼のたびに検査を実施していたが、C.C.では同一交差日でのクロスマッチ依頼に対する追加の検査は不要となる。従ってC.C.導入により業務は大幅に省力化され、追加のオーダーへの製剤提供は30分程度早くなった (図4)。

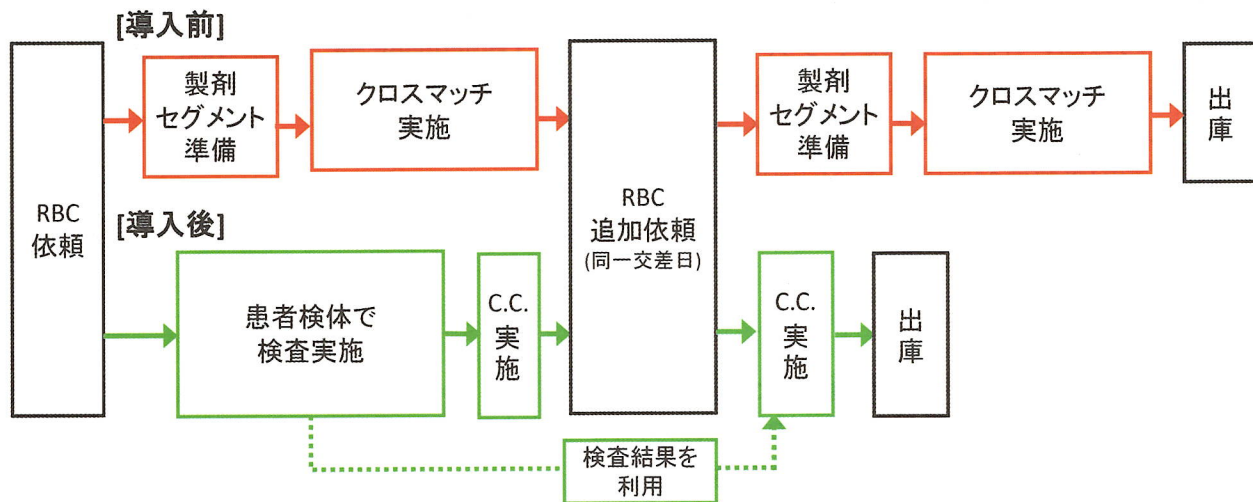


図4 赤血球製剤依頼に対する対応の比較

当院は赤血球製剤依頼の約27%が外科からの依頼であり、C.C.導入前は手術準備のために多くの製剤確保が必要となっていた。そのため常備されている追加のクロスマッチで使用可能な製剤在庫数はA型10単位、O型10単位、B型6単位、AB型2単位であり、在庫数が切迫することが多々発生していた。さらに当直時間帯は血液センターからの定期発注がないため、在庫数が切迫した際は当直担当技師が臨時で発注し納品する必要がある。C.C.は出庫依頼があるまで製剤の確保が不必要なため、手術依頼による製剤も在庫数として含まれるようになり、使用可能な製剤在庫数はA型20単位、O型20単位、B型12単位、AB型6単位と大幅に増加した。これにより当直時間帯における臨時的赤血球製剤納品回数を減らすことができ、輸血担当技師のみならず当直担当技師の負担も減少したと考える。

当直時間帯に発生した緊急のクロスマッチは、通常輸血業務に従事していない他部門の検査技師も含めた当直担当技師が1人で行う。年間クロスマッチ実施数の約15%が当直時間帯に発生したものであり、当直担当技師の負担軽減は大きな課題となっている。アンケート調査により、C.C.導入で100%の技師が業務において負担の軽減を感じていることがわかった。またC.C.導入に伴い業務の一部やシステムの使用方法は変更となったが、多くの技師が短期間で習得できたと回答していることから、導入に際した当直担当技師の負担は比較的少なく済んだと考えられる。しかし未だ臨床からの問い合わせや細かいシステムの使用方で戸惑う検査技師がいるのも事実である。C.C.をより有効的に活用するためにも、マニュアルの再検討や院内勉強会の開催など、更なるサポートを実施していく必要があると考える。

【結語】

今回、C.C.導入による効果を検討した。C.C.の導入により当初の目的である輸血の安全性向上と赤血球製剤の廃棄率削減が達成できたほか、収支の改善や業務の省力化・負担軽減も図ることができた。今後は業務の省力化に

よって得た時間で院内勉強会の開催や不規則抗体カードの患者への説明の充実化などに励み、更なる輸血の安全と適正使用の推進に努めていきたい。

【参考文献】

- 1) 湯本浩史 他, 「コンピュータクロスマッチの導入効果 —交差適合試験で抗グロブリン法を省略した利点とリスクの検討—」: 日本輸血細胞治療学会誌, 第52巻 第6号: 669-677, 2006
- 2) 厚生労働省医薬食品局血液対策課, 「輸血療法の実施に関する指針」(改定版): 2, 11-12, 日本赤十字社, 2020
- 3) Narvios AB. *et al.*: Thirty-day typing and screening for patients undergoing elective surgery: experience at a large cancer center: *Transfusion* 46: 348-51, 2006
- 4) 奥田 誠 他, 「赤血球型検査(赤血球系検査)ガイドライン(改訂3版)」: 日本輸血細胞治療学会誌, 第66巻 第6号: 695-717, 2020
- 5) Marrisa J. *et al.*: The Evolution of Perioperative Transfusion Testing and Blood Ordering: *Anesthesia Analgesia*: 1196-203, 2015
- 6) Christian P. *et al.*: False-negative compatible antiglobulin crossmatches in samples with alloantibodies to cognate red blood cell antigens: *Transfusion* 58: 2022-2026, 2018

研究

メディエースRPRの有用性の検討

西山 記子, 高橋 諭, 二宮 早苗, 神岡 良助
西岡 幸満, 高橋 辰典, 元野 睦美

松山赤十字病院 検査部

Study for the usefulness of Mediace RPR

要旨

梅毒検査のSTS法は従来の用手法であるRPRカード法（カード法）から近年自動化法へとシフトしているが、カード法と自動化法の結果が異なることも散見する。そこで筆者らは直近5年間のカード法と自動化法であるメディエースRPR（RPR-LA）の結果を用い、有用性を後ろ向きに検討した。その結果、RPR-LAの梅毒スクリーニング検査としての有用性を確認した。特に梅毒の診断、治療中の経過観察においてカード法より有用であった。しかし、炎症高値の病態においては結果が陽性になる場合があり、病態と照らし合わせて、別方法で確認することが必要である。

Noriko Nishiyama, *et al.*: ISSN 1343-2311 Nisseki Kensa 55: 45-49, 2022(2022.1.18 受理)

KEYWORDS

梅毒, RPRカード法, メディエースRPR

はじめに

梅毒は感染症法により5類感染症に指定され、新規患者は届出が義務付けされている¹⁾。患者報告数は2011年の827例から増加し続け2018年には7,007例となり、2019年、2020年は減少したものの、2021年は第1週から47週までの報告数が6,940例と再び増加がみられる²⁾。症状は典型的な皮疹から非典型的、無症状と多彩を呈し、適切な検査を行うことが重要になる。

梅毒の血清学検査はカルジオリピンを抗原とした抗体を検出するSTS (Serological test for syphilis) とトレポネーマ (*Treponema pallidum*: TP) を抗原とするTP抗体検査法の2種類を組み合わせて行われる。STSに対する抗体は梅毒に対して非特異的であるが、診断や治療効果判定に用いられる。従来この検査は用手法で行われていたが、近年自動化が進んでいる。しかし、結果については用手法と自動化法が乖離する例が報告されている³⁾。

今回、筆者らはSTSとして使用しているメディエースRPR（積水メディカル株式会社）の有用性を直近5年間の結果を用い後ろ向きに検討したので報告する。

【対象と方法】
1) 対象
2016年6月から2021年5月までの5年間に梅毒検査STS、TP抗体法の依頼があった41,519件のうちSTS、TP抗体法2法とも陰性40,850件を除いた507例669件を対象とした（表1）。

表1 対象

		カード法		計
		陽性	陰性	
RPR-LA	陽性	284	310	594
	陰性	75	*****	75
計		359	310	669

試薬はメディエース RPR (以下 RPR-LA), メディエース®TPLA® (以下 TPLA) を用い, 1法でも陽性の場合には RPR テスト “三光” (以下カード法) (3 試薬とも積水メディカル株式会社), セロデア TPHA (以下 TPHA: 富士レビオ株式会社) またはアーキテクト・TPAb・アボット, Alinity TPAb・アボット (アボットジャパン合同会社) も測定した. 判定は各試薬の添付書に従った. 機器は RPR-LA および TPLA は Cobas6000, ZS-050, アーキテクト・TPAb アボットはアーキテクト i2000, Alinity TPAb・アボットは Alinity を用いた.

2) 方法

診療情報から梅毒診断時 (以下梅毒), 梅毒治療中 (以下治療中), 既往, 移行抗体, BFP, その他に分類し RPR-LA とカード法を比較した. 検査結果による既往の判断は複数回測定の場合は STS, TP 抗体法の測定値の推移より, 単回測定の場合は TPLA 陽性かつ TPHA または TPAb・アボットまたは Alinity TPAb・アボット陽性の条件を満たす場合とした.

また, 梅毒診断時における症状を確認した.

【結果】

カード法のみ陽性は75件あり, そのうち既往は70件, 治療中は4件, 母親からの移行抗体が1件であった (表2). 治療中4例は治療開始後2.5か月から3か月にカード法に先立ち RPR-LA が陰性化した.

表2 カード法のみ陽性の内訳

カード法抗体価	既往	治療中	移行抗体	計
1	42	1		43
2	21	2	1	24
4	5	0		5
8	2	1		3
計	70	4	1	75

2法とも陽性284件のうち梅毒は15例でそのうち13例が16.0R.U.以上であった (表3). RPR-LA が4.1UR.U.であった症例はカード法抗体価も4倍と低値であった. 治療中は28件で, RPR-LA が1.0から1.9R.U.の2例 (カード法は

表3 2法共陽性の内訳

RPR-LA	陽性	治療中	既往	BFP	その他	計
1.0-1.9		2	64	11	8	85
2.0-3.9		1	60	14	6	81
4.0-7.9	3	6	34	6	7	56
8.0-15.9	1	4	7	3	0	15
16.0-	13	15	12	4	3	47
計	17	28	177	38	24	284

8倍, 16倍) は梅毒と診断された時点の抗体価が8.1R.U., 7.2R.U.で, 治療開始後1か月で1.9R.U.以下に低下した. 図1に治療経過例を示す. 既往, BFP, その他はそれぞれ177件, 38件, 24件で, 7.9R.U.以下の割合は89.3% (158/177), 81.6% (31/38), 87.5% (21/24) あった.

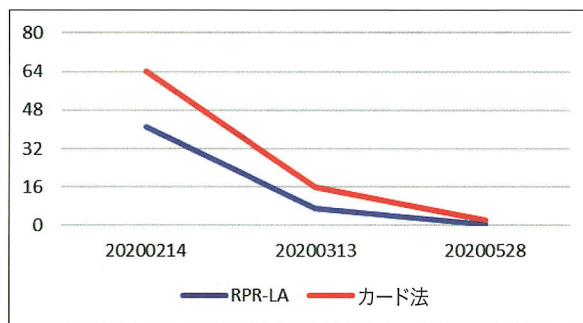


図1-1 治療経過例1

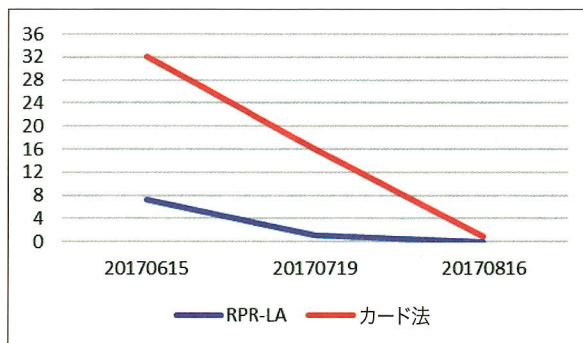


図1-2 治療経過例2

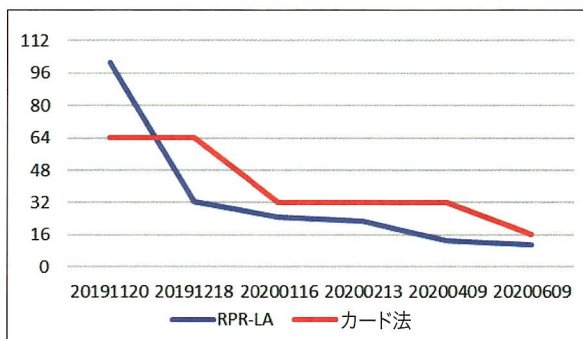


図1-3 治療経過例3

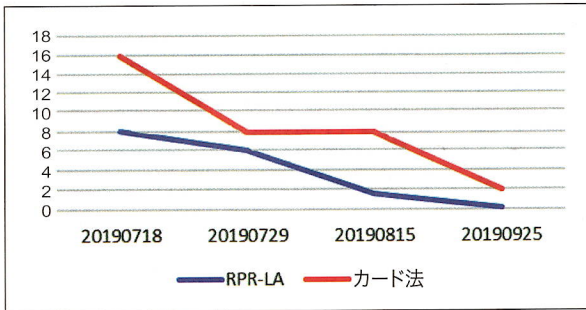


図1-4 治療経過例4

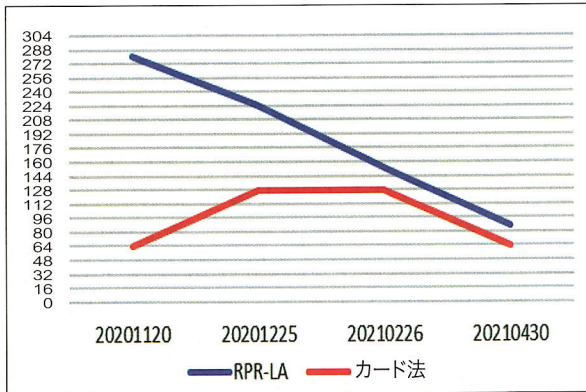


図1-5 治療経過例5

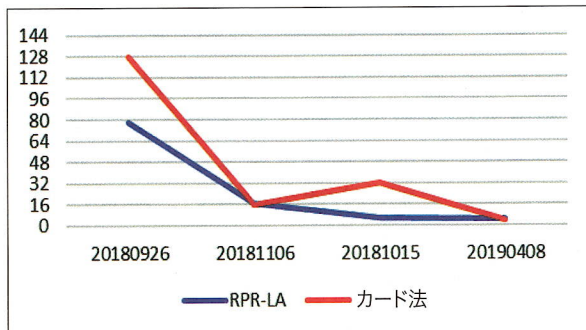


図1-6 治療経過例6

RPR-LAのみ陽性310件のうち既往，BFPは43例で全て7.9R.U.以下であった。その他は224件ありそのうち1.0R.U.から1.9R.U.以下が67.4% (151/224) を占めた。その中には骨折，歯の治療で受診した10歳以下の小児16例が含まれていた (表4)。8.0R.U.以上の3件の内1件は複数回測定のうち急性胆嚢炎で非特異的に上昇したものだ。同様に複数回測定し非梅毒と考えられた4例が一過性にRPR-LAが陽性となり，病態は蜂窩織炎1例，M蛋白1例，骨折2例であった。また単回のみの測定ではあるが，急性胆嚢炎，イレウス，骨折等，炎症が高値の病態41件におけるRPR-LAは1.0R.U.から5.1R.U.であった。RPR-LA，カード法の2法とも陽性であった

相関を図2に示した。回帰式 $Y = 1.15x - 0.77$ 相関係数 $R^2 = 0.7$ であった。

梅毒と診断された時点の症状を表5に示した。皮膚の発疹が6例と最も多かったが，ブドウ膜炎，多発性リンパ節腫脹，関節炎，急性肝障害，発熱，無症状など多彩な症状を認めた。

表4 RPR-LAのみ陽性の内訳

RPR-LA	既往	BFP	その他	計
1.0-1.9	25	29	151	205
2.0-3.9	10	12	54	76
4.0-7.9	8	2	16	26
8.0-15.9			2	2
16.0-			1	1
計	43	43	224	310

表5 梅毒診断時の症状

症状	例数
眼 (ブドウ膜炎)	1
神経症状	1
無症候性	2
鼠径リンパ節腫脹	2
粘膜から皮膚に発疹 (びらん・潰瘍・硬結・粘膜斑)	2
陰嚢腫脹	2
多発性リンパ節腫脹	1
皮膚に発疹 (紅斑・丘疹)	6
関節炎	1
急性肝障害	1
発熱	1

(重複あり)

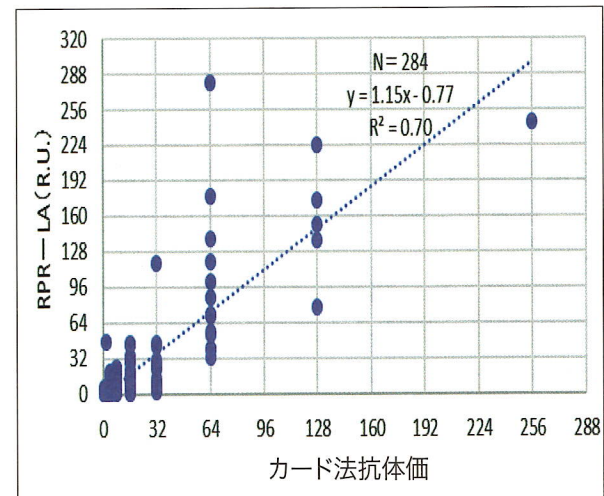


図2 カード法抗体価とRPR-LAとの相関 (2法陽性)

【考察】

近年、梅毒患者の報告数が急増しており、これを防御するためには適切に梅毒と診断されることが重要になる。すなわち梅毒の症状の理解と梅毒検査における梅毒、非梅毒の区別、梅毒の治療効果の判定が明確にされることである。検査においては近年自動化法が進み、梅毒届け出基準も2014年にカルジオリピン、2019年には *T.Pallidum* を抗原とする検査に自動化法が記載された。当院においても2013年から自動化法であるRPR-LAとメディエース®TPLA®でスクリーニング検査を行っており今回直近5年間のデータを用い、RPR-LAの有用性を検証した。

梅毒と診断された15例は全てRPR-LA、カード法ともに陽性となったが、1例は2法とも4.1R.U.、4倍と低値で抗体産生が乏しかった。しかし、症状があり梅毒の診断に問題はなかった。また、2例は無症候性であったがRPR-LA値は16.0R.U.以上で梅毒の届け出基準で無症状病原体保有者の条件【カルジオリピンを抗原とする検査で16倍以上又はそれに相当する抗体価を保有する者】の条件を満たしていた。

治療中においてはRPR-LA単独で陽性になった例はなく、梅毒の治療経過においてRPR-LAはカード法より速やかに抗体価が低下し、RPR-LAはIgMとの反応が強く従来のSTS法より早く陰性化する可能性を示唆した千葉ら⁴⁾と同様の結果であった。

RPR-LAとカード法抗体価の相関は $R^2=0.70$ と山本らの報告⁵⁾と比較し低かった。この原因として当院ではカード法は目視判定で複数の技師で行うため、図1-5,6の治療経過例に示したように後方的に見れば測定者間差が生じており、相関が低くなったと考える。以上のことより、梅毒の判定、治療経過の観察にはIgMの反応が強く、客観的判定が可能で、連続した値が報告出来るRPR-LAが適していた。

既往のうち、陽性の割合はカード法85.2% (247/290)、RPR-LA75.9% (220/290)で、ややRPR-LAが低かったが、43例がRPR-LAのみ陽性になったことより、カード法との反応の差はIgMのみではなくその他の要因が関与していると思われる。

BFPの疾患は2法とも陽性38例、RPR-LA

単独陽性が43例あり、カード法の陽性率46.9% (38/81)に対しRPR-LAは全例陽性となり、今川らの報告⁶⁾と異なっていた。この原因として、今川らはBFPの対象疾患としてリウマトイド因子100IU/ml以上、抗核抗体160倍以上と定義しているのに対し、筆者らは臨床診断名（関節リウマチ、SLEなどの自己免疫性疾患、担癌状態、妊娠など）のみで判断したことが影響していると考えられる。BFPとしてのSTS抗体価は低いと言われており⁷⁾、RPR-LAのみ陽性になった全例とも7.9R.U.以下と低く、また、2法とも陽性とRPR-LAのみ陽性になった疾患に差異は認めなかった。

RPR-LAのみ陽性310件のうち、その他は224件ありそのうち1.0R.U.から1.9R.U.以下が67.4% (151/224)を占めた。その中には非梅毒である10歳以下の小児16例が含まれており、偽陽性が考えられた。また、複数回測定中5例が一過性にRPR-LA値が上昇した病態は急性胆嚢炎、蜂窩織炎、M蛋白、骨折で、炎症が高値であった。筆者らはIgMの関与が示唆される未感作ラテックスの凝集が急性炎時に惹起、増強された例を経験しており、断定はできないものの炎症が強い場合にRPR-LA値が上昇する可能性があると考えられる。免疫反応の解釈には非特異反応を常に念頭におき、必要に応じて別の方法で確認し、患者に不利益をもたらさないように注意すべきである。

梅毒初診時の症状は皮膚の発疹が6例と最も多かったが、ブドウ膜炎、多発性リンパ節腫脹、関節炎、急性肝障害、発熱、無症状など多彩の症状を呈していた。玉城らは先天性梅毒の一例として生後3か月に全身浮腫、肝脾腫、肝機能障害を発症したことを報告している⁸⁾。梅毒による症状はアレルギー反応であるため、全身にわたる症状を呈することに注意が必要である。

【結語】

メディエースRPRの有用性を直近5年間の結果を用い後ろ向きに検討した結果、梅毒のスクリーニングとして有用であり、特に診断、治療中の経過観察においてはRPRカード法より有用であった。しかし、非梅毒で一部の病態においては結果が陽性になる場合があり、病態と照らし合わせて、別方法で確認することが必要である。

【文献】

- 1) 厚生労働省：感染症法に基づく医師および獣医師の届け出について
https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kannsennsyou_11/01-05-11.html
(2021年11月18日アクセス)
 - 2) IDWR 2021年第41号〈注目すべき感染症〉梅毒
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/syphilis-m-3/syphilis-idwrc/10744-idwrc-2141.html>
(2021年12月20日アクセス)
 - 3) 高坂仁美, 他：ラテックス凝集比濁法による梅毒脂質抗体検査改良試薬の評価, 医学検査57：276-281, 2008
 - 4) 千葉正志, 他：ラテックス粒子をコーティングした梅毒検査試薬の汎用自動分析装置での測定と反応特異性解析, 医学検査53：1217-1221, 2004
 - 5) 山本啓裕, 他：梅毒抗体検査法におけるメディエース TPLA およびメディエース RPR と用手法の関係：日本性感染症学会誌27：91-95, 2016
 - 6) 今川英里, 他：梅毒検査試薬「メディエース RPR」および「メディエース TPLA」の基本性能に関する検討, JJCLA 36：374-379, 2011
 - 7) 大里和久：梅毒の臨床像, 診断と治療, 臨床検査62：168-175, 2018
 - 8) 玉城渉, 他：妊婦検診で母親の梅毒血清反応が陰性であった先天梅毒の一例：小児感染免疫21：357-362, 2009
-



C型肝炎に対する啓発と 肝疾患コーディネーターの関わり

落合 剛史¹⁾, 大橋 有香¹⁾, 阿部 睦¹⁾, 葛西 俊二¹⁾, 安田 是和²⁾

¹⁾芳賀赤十字病院 医療技術部 臨床検査課 ²⁾同 外科

**Efforts by hepatitis coordinator to promote consultation with hepatologists
for hepatitis C virus antibody-positive patients**

要旨

肝炎ウイルス検査は、術前及び侵襲的検査前にスクリーニング検査として医療機関で行われることが多い。肝炎対策基本指針や手術前医学管理料では、肝炎ウイルス検査の結果に関わらず、受検者に適切な結果説明を行うよう説明実施の促進が求められている。しかし、実際の現場では十分な結果説明が受検者にされていない事が報告されている。当院の取り組みとして、C型肝炎に対する啓発を目的としたDAA治療や肝発癌リスクに関する研修会を開催した。また、電子カルテのアラート及びメール機能を活用した肝臓専門医受診勧奨システムを構築し、受検者に適切な結果説明及び治療を提供することが可能となった。

Takeshi Ochiai, *et al.*: ISSN 1343-2311 Nisseki Kensa 55: 50-54, 2022(2022.1.28 受理)

KEYWORDS

肝疾患コーディネーター, HCV, 肝発癌, 受診勧奨, 院内連携

はじめに

C型肝炎ウイルス (hepatitis C virus: HCV) の持続感染は、肝に慢性炎症とそれに伴う肝線維化を惹起し、結果として肝硬変へ移行し、肝細胞癌を発症する可能性がある。近年では、インターフェロンを使用しない直接作用型抗ウイルス薬 (direct acting antivirals: DAA) による治療が開始され、持続感染するHCVを高率に排除することが可能となった¹⁾。また、副作用が少ないことから高齢者での治療も容易となった。わが国では2009年に肝炎対策基本法が成立し、その中で定められた肝炎対策基本指針の一つとして肝疾患コーディネーターの育成が推奨され、医師や看護師、臨床検査技師等、様々な職種が認定され、多くの

肝疾患コーディネーターが活躍している。肝疾患コーディネーターの活動は、肝炎患者等が適切な医療や支援を受けられるように、医療機関、行政機関、企業及び団体等の関係者間の橋渡しを行い、肝炎対策が円滑に行われるようにすることを基本的な役割としている。また、所属する機関に応じて、肝炎ウイルス検査の受検推奨、検査陽性者を適切な治療へ導くためのアドバイス及び肝疾患患者やその家族の相談等を担っている。HCV抗体陽性者に対する受診勧奨の施策としては、電子カルテのアラート機能を用いたシステムが普及している²⁾³⁾。そこで、当院における肝疾患コーディネーターの取り組みを検討したので報告する。

【当院の概要】

当院は、栃木県の県東地区（1市4町）を医療圏とする二次救急医療機関及び僻地医療拠点病院、肝疾患専門医療機関である。病床数は364床（一般病床360床、感染症病床4床）。内科、脳神経内科、リウマチ科、腎臓内科、呼吸器内科、アレルギー科、消化器内科、循環器内科、血液内科、小児科、外科、小児外科、形成外科、乳腺科、心臓血管外科、消化器外科、整形外科、脳神経外科、耳鼻咽喉科、リハビリテーション科、皮膚科、泌尿器科、産婦人科、眼科、放射線科、麻酔科、救急科、精神科、歯科、歯科口腔外科の30の診療科で構成されている。肝疾患コーディネーターは、臨床検査技師5名、看護師6名、社会福祉士3名、薬剤師1名、臨床工学技士3名、合計18名が取得している。消化器内科医は5名、肝臓専門医は1名在籍している。

【当院における肝疾患コーディネーターの取り組み】

1) 院内研修会の開催

院内職員向けに、「栃木県肝疾患コーディネーターの養成と活動について」、「C型肝炎の検査について～当院の現状と課題～」、「C型肝炎の治療について」をテーマとした研修会を開催した。肝疾患コーディネーターの取得方法や役割、C型肝炎に対する啓発を目的としたDAA治療や肝発癌リスクに関する講義と電子カルテアラートシステムに関する内容を実施した。参加者は54名、研修会は1時間行った。研修会終了後にはアンケートを実施した。アンケート内容は、①職種、医師、看護師、コメディカル、事務職、その他、②経験年数、1～5年、6～10年、11～20年、20年以上、③C型肝炎やその治療について理解できたか、大変理解できた、理解できた、少し難しかった、とても難しかった、④研修会の時間について、長い、丁度良い、短い、⑤肝疾患コーディネーターの資格を知っていたか、知っていた、知らなかった、⑥肝疾患コーディネーターを取得したいか、取得したい、機会があれば取得したい、取得は考えていない、について実施した。

アンケートの内訳は、

① 職種

医師4人（8.3%）、看護師25人（52.0%）、コメディカル15人（31.3%）、事務職3人（6.3%）、その他1人（2.1%）であった（図1）。

② 経験年数

1～5年 14人（29.2%）、6～10年 10人（20.8%）、11～20年 7人（14.6%）、20年以上 17人（35.4%）であった（図2）。

③ C型肝炎やその治療について理解できたか

大変理解できた16人（36.4%）、理解できた23人（52.3%）、少し難しかった4人（9.1%）、とても難しかった1人（2.3%）であった（図3）。

④ 研修会の時間について

長い5人（10.9%）、丁度良い41人（89.1%）、短い0人（0.0%）であった（図4）。

⑤ 肝疾患コーディネーターの資格を知っていたか

知っていた18人（38.3%）、知らなかった29人（61.7%）であった（図5）。

⑥ 肝疾患コーディネーターを取得したいか

取得したい2人（4.5%）、機会があれば取得したい21人（47.7%）、取得しない21人（47.7%）であった（図6）。

その他の意見として、「とても良くわかりました」、「肝疾患コーディネーターという資格を初めて知りました」、「肝炎や治療などについて理解できた」などの意見が寄せられた。

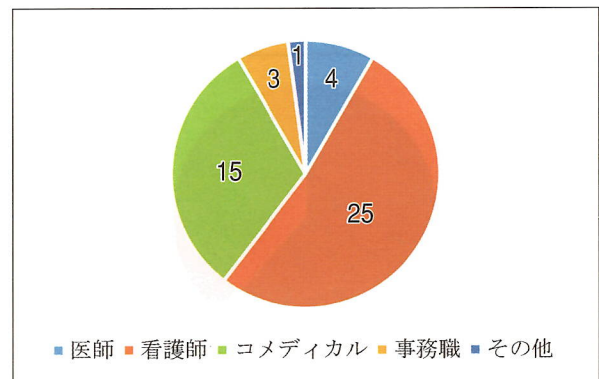


図1. 職種

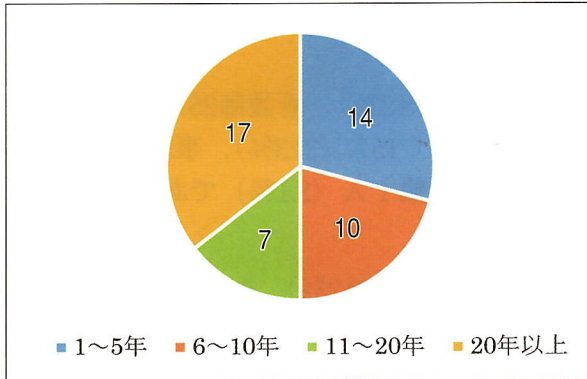


図2. 経験年数

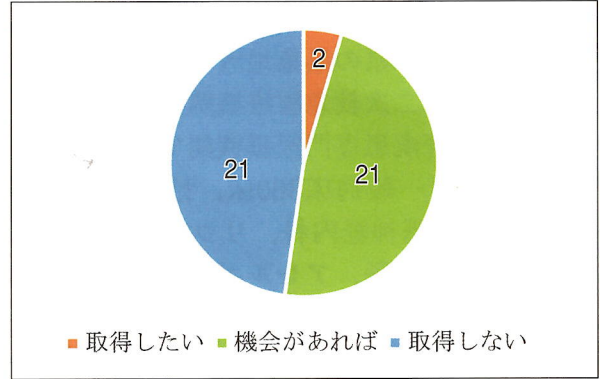


図6. 肝疾患コーディネーターの取得について

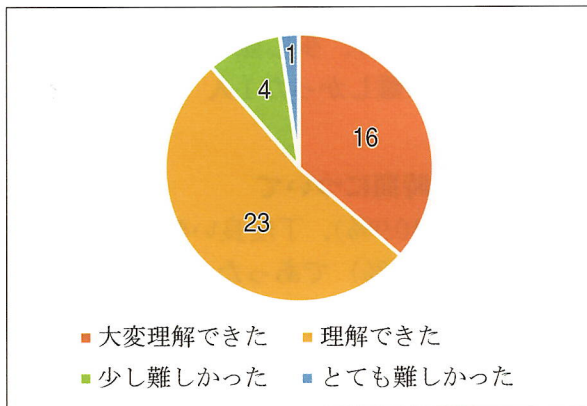


図3. C型肝炎や治療について

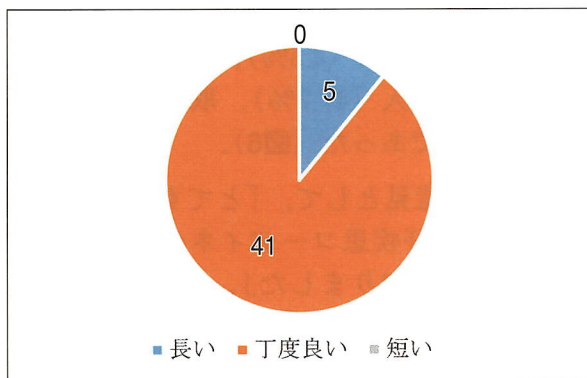


図4. 研修会の時間について

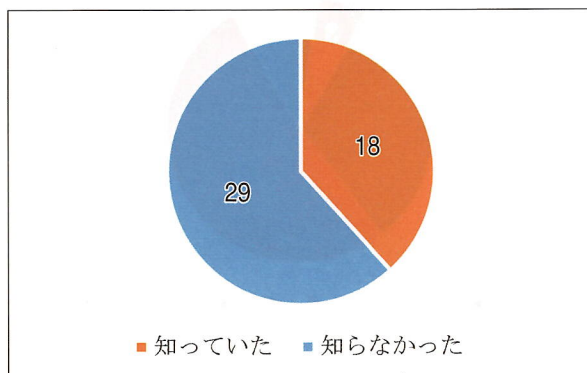


図5. 肝疾患コーディネーターについて

2) 受診勧奨システムの構築

肝炎ウイルス検査は、術前及び侵襲的検査前にスクリーニング検査として、医療機関で行われることが多い。肝炎対策基本指針や手術前医学管理料では、肝炎ウイルス検査の結果に関わらず、受検者に適切な結果説明を行うように示されている。しかし、実際の現場では、十分な結果説明がされていない事が報告されている²⁾³⁾。そこで当院では、2020年2月よりC型肝炎に関連し、電子カルテのアラート機能を用いた受診勧奨システムの運用を開始した。検査課の肝疾患コーディネーターが中心となり、HCV抗体陽性患者の拾い上げを行い、HCV抗体陽性の全患者をリスト化した。リスト化する項目は、検査日、カルテ番号、氏名、年齢、性別、診療科、主治医、HCV抗体価、前回値、治療歴、臨床経過、メール連絡及び電子カルテのアラートの有無、院内フォローアップないし他院フォローアップの有無である。電子カルテで治療歴の有無を確認し、治療歴の記載が無いまたは不明の場合は、治療歴確認と肝臓専門医紹介受診を推奨する内容を電子カルテにアラート表示し、担当医にメール連絡を行った。内容は肝臓専門医への受診推奨とHCVの肝発癌の危険性が伝わるような内容にした。アラート表示とメールを行っても治療歴の記載が無いまたは肝臓専門医への紹介が無い場合は肝疾患コーディネーターと肝臓専門医で対象患者の電子カルテを確認し、治療介入の必要性を肝炎ミーティングで検討している。肝炎ミーティングは、月に1回、第2週の火曜日に定例化し、肝疾患コーディネーターと肝臓専門医が連携しやすい環境を整備した。

HCV抗体陽性時の対応

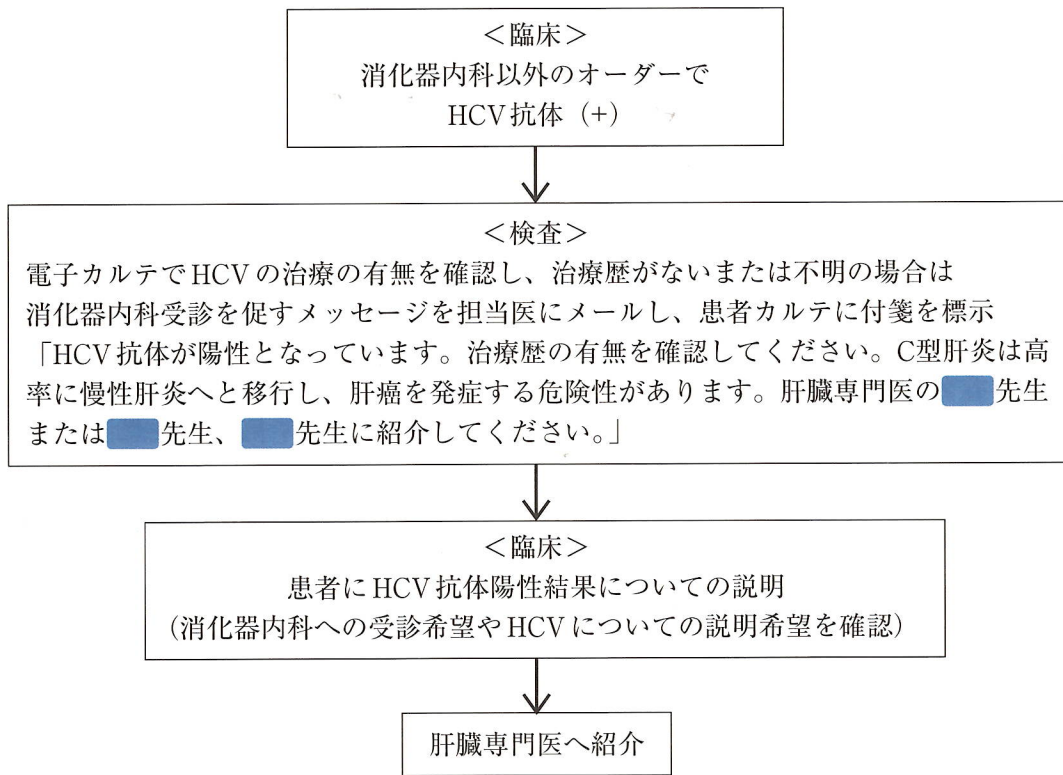


図7. 受診勧奨のフローチャート

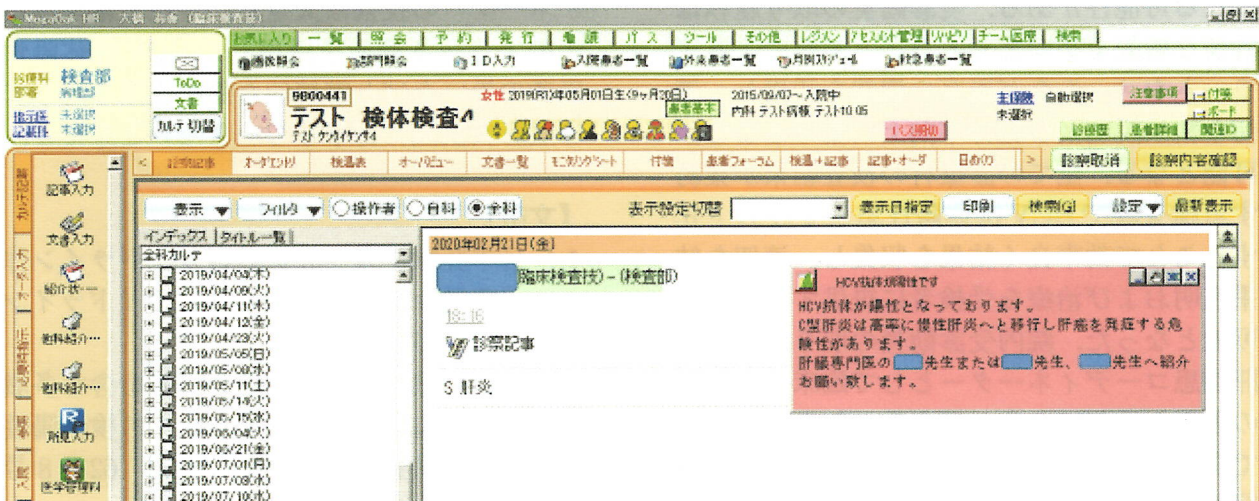


図8. 電子カルテのアラート機能

【考察】

栃木県では、2020年11月1日現在、696名が肝疾患コーディネーターとして認定を受けている。肝疾患コーディネーター養成研修会では、肝炎治療助成制度や肝炎の基礎から臨床までの講習を受け、特にB型、C型肝炎に対する治療、経過観察には特に重点が置かれた教育がなされている。肝疾患コーディネーターについての考え方の概要は、①予防、②受検、③受診、④受療からなり、肝硬変・肝癌への移行者を減らすことを目標としている。1人ですべての役割を担うのではなく、様々な職種や領域の肝疾患コーディネーターがそれぞれの強みを活かして患者（国民）をみんなでサポートし、肝炎医療が適切に促進される様に調整（コーディネーター）する活動が重要である。当院でも、院内研修会を開催し肝疾患コーディネーターの普及及び取得促進、C型肝炎の知識向上に努めている。院内の肝疾患コーディネーターも増加し、多職種連携の活動も模索していきたいと考える。

また、検査課では、全診療科のHCV抗体結果を得ることができ、結果抽出が可能である。全国的にHCV抗体の検査数は医療機関が占めているが、患者への説明漏れや診療記録の記載漏れは患者の不利益となり訴訟問題になる可能性がある。受診勧奨の取り組みは特別な機能を必要とせず電子カルテによるアラートやメールなど既存の機能を活用し、適切な結果説明及び紹介率向上に繋げることが可能となる。全ての診療科の検査結果が集約する検査課でHCV抗体陽性患者をリスト化することで効率良く結果を収集し、適切な結果説明および治療を受検者に提供することが可能となった。院内受診勧奨の取り組みは、肝疾患コーディネーターとして臨床検査技師の重要な役割であると考えられる。しかし、一部で担当医に連絡をしたものの肝臓専門医への紹介受診に繋がらない患者も認められた。HCVは肝発癌リスクがあり、様々な合併症を併発することが知られている。肝炎ミーティングでは、HCV抗体の測定値だけではなく、血液検査での肝酵素の値や血小板数、画像検査（CT検査や超音波検査）でHCV合併症の有無（肝硬変、胃・食道静脈瘤、腹水な

ど）も確認し、治療の必要性を肝臓専門医と連携を取り検討している。また、受診予定のない患者は直接患者に連絡をとり肝臓専門医の外来受診に繋げている。また、電子カルテに病名が登録されているか、当院から他施設入所患者には当該施設に感染症情報が報告されているかを確認するなど、患者の状況や状態に合わせた対応を行っている。肝疾患コーディネーターと肝臓専門医が連携を取り、患者の年齢や通院状況、ADL（Activities of daily life）に合わせて治療の必要性を検討することで、HCV抗体陽性患者を漏れなく対応することが可能となった。HCVの治療後にSVR（sustained virological response）が得られたとしても肝発癌のリスクがあるため、血液検査や画像検査などの継続的なフォローアップが必要である。肝疾患コーディネーターは、HCV抗体陽性患者に継続的なサポートを行い、HCVおよび合併する肝発癌撲滅への継続的努力が必要であると考えられる。

【結語】

院内研修会を開催することは、C型肝炎の肝発癌の危険性を再認識させ、受診勧奨システムの構築にも有用であった。また、肝臓専門医が少ない医療圏において、肝疾患コーディネーターの役割は大きく、今後も電子カルテのアラート機能を活用したHCV抗体陽性患者の拾い上げと継続的な臨床支援を通してC型肝炎撲滅に寄与していきたいと考える。

【文献】

- 1) 日本肝臓学会 肝炎診察ガイドライン作成委員会 編：C型肝炎治療ガイドライン（第8版）
- 2) 日高 勲，他：臨床検査技師を含む多職種連携による院内肝炎ウイルス検査陽性者受診勧奨の取り組み 肝臓 62巻8号 448-455（2021）
- 3) 谷 丈二，他：肝炎医療コーディネーターを中心とした多職種で構成された「チーム肝炎」による中規模病院でのウイルス肝炎患者の拾い上げの取り組みとその評価 肝臓 62巻6号 337-348（2021）

編 集 後 記

細胞検査士愛用だったクラスターが、(例:「このクラスター見て!」「悪いんじゃない!」的な)夜の街クラスター、会食クラスター…。私たち細胞検査士のアイドル的存在だったクラスターは(そこまでじゃない?)新型コロナウイルスの登場で、もはや全国区の言葉となって、はや2年が過ぎようとしています。どの施設におかれても、状況が変わるたびに新たなマニュアル作成、変更を余儀なくされ、いまだに新型コロナに翻弄されている日々が続いていることと思います。早い収束を願うばかりです。

さて今年度より、福井赤十字病院 杉本、金沢赤十字病院 中澤が日赤検査の編集を担当することになりました。私事ですがはじめて個人メールアドレスをもらい浮かれていたら、まさかのメールデビューが、全国の理事様たちでありまして、つたないおかしな文章にもかかわらず、親切に返信していただいて感謝の気持ちでいっぱいです。なんとか発行することができました。これからも二人で協力してまいります。不手際があるかもしれませんが、どうぞご容赦をよろしくお願いいたします。そして福井赤十字病院の加藤技師長、9年もの間、私たちに日赤検査を届けてくださってありがとうございました。

(中澤 有希)

日本赤十字社臨床検査技師会会誌査読委員 (順不同)

加藤 康男	(福岡)
佐藤多佳子	(秋田)
山崎 明	(長岡)
小林 利美	(福島)
青木 晋爾	(旭川)
小園 治久	(京都第一)
杉本 正雄	(福井)
中澤 有希	(金沢)

日本赤十字社臨床検査技師会会誌 日 赤 検 査

第55巻 第1号

令和4年3月30日 印刷

令和4年3月30日 発行

発行所/日本赤十字社臨床検査技師会

発行者/山口佳美 (武蔵野)

編集者/杉本正雄 (福井)・中澤有希 (金沢)

山口佳美 (武蔵野)

制 作/マルト株式会社

〒923-0941 石川県小松市城南町 126

TEL 0761-21-1223、FAX 0761-20-1155