令和2年6月1日発行　通巻第250号

ISSN-2435-2713

医療検査と自動化

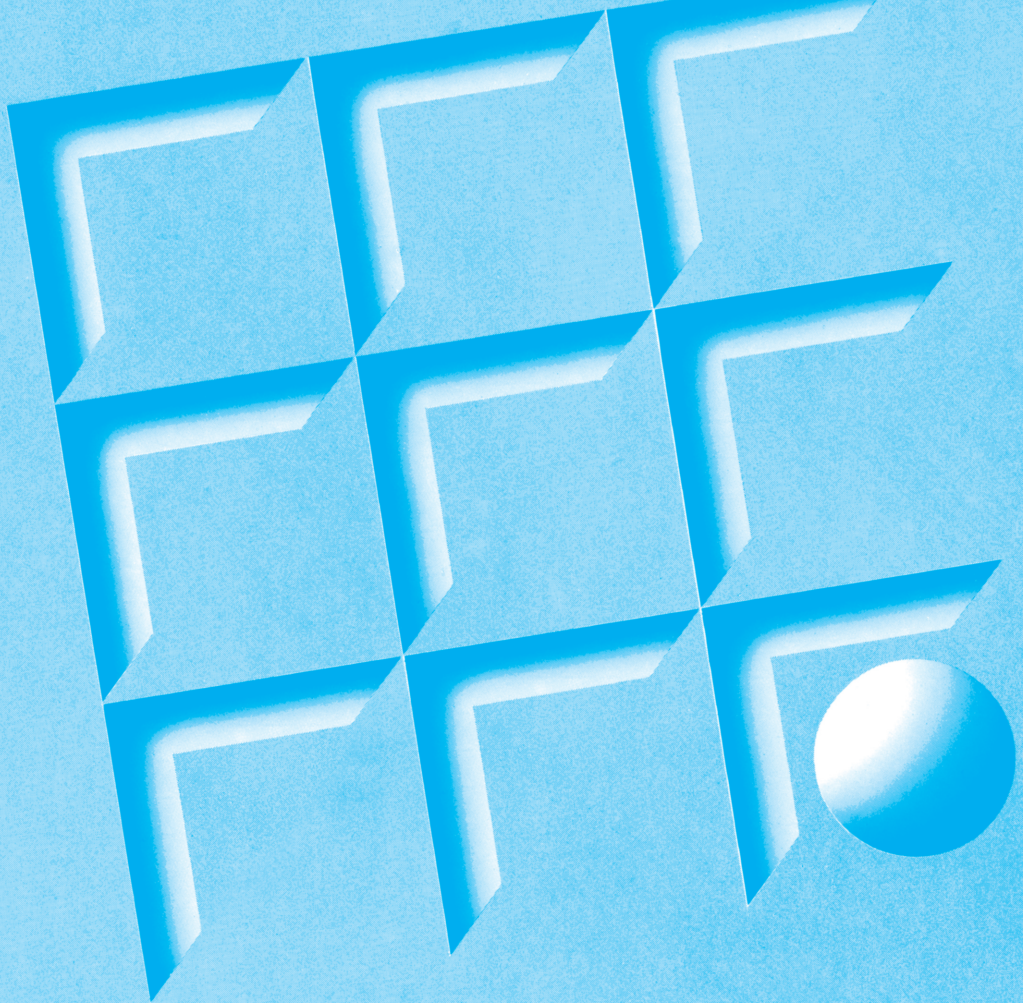
（日本医療検査科学会誌）

Clinical Laboratory Science Journal

第52回大会公告（第4報）

第52回大会技術セミナー開催案内

総説：微生物検査における自動化…木村由美子，柳原克紀



一般社団法人
日本医療検査科学会
The Japan Association for Clinical Laboratory Science
JCLS

2020
VOL.45
3
通巻第250号

薬剤耐性（AMR）対策

ICUでいち早く薬剤耐性遺伝子を検出し、
伝播リスクへの早期対策につなげる

敗血症
抗菌薬選択の
早期決定*が可能に

mecA　vanA　vanB　CTX-M　KPC
NDM　VIM　IMP　OXA

*血液培養試験で陽性判定後、2・5時間以内で細菌と薬剤耐性遺伝子を同時に検出。

院内感染
対策の一手

自動多項目同時遺伝子関連検査システム

Verigene®システム
敗血症パネル

保険点数 1,700点　2017年6月より 保険適用

製品情報はこちらから

Verigene® リーダー　Verigene® プロセッサー SP
製造販売届出番号：22B3X10009000001

Verigene® 血液培養グラム陽性菌・薬剤耐性核酸テスト（BC-GP）
承認番号：22900EZX00040000

Verigene® 血液培養グラム陰性菌・薬剤耐性核酸テスト（BC-GN）
承認番号：22800EZX00025000

株式会社 日立ハイテク

本　社　〒105-6409 東京都港区虎ノ門一丁目17番1号 虎ノ門ヒルズ ビジネスタワー
お客様サポートセンタ　(03)3504-7211
www.hitachi-hightech.com/jp/science/

北海道（札幌）(080)8021-5427　東　北（仙台）(080)8438-0969　中　部（名古屋）(080)8420-6408
関　西（大阪）(080)8020-3544　九　州（福岡）(080)9564-0285

株式会社日立ハイテクノロジーズは2020年2月12日より株式会社日立ハイテクに社名変更、および、本社を上記へ移転しました。

日本医療検査科学会

第 52 回大会 大会公告（第 4 報）

会　　期：2020 年 9 月 24 日（木）～ 26 日（土）

会　　場：パシフィコ横浜
（横浜市西区みなとみらい 1-1-1
TEL：045-221-2155）

大　会　長：横田　浩充
（慶應義塾大学病院 臨床検査技術室 室長）

大会事務局：日本医療検査科学会
TEL：03-3813-6635　FAX：03-3813-6679
E-mail：office@jcls.or.jp

大会テーマ：「これからの臨床検査のあり方
― 日本医療検査科学会の幕開け ―」

—— プログラム大綱 ——

特　別　講　演：「診療における AI 活用（仮題）」

永井 良三（自治医科大学学長）

記 念 講 演 Ⅰ：「2020 年　臨床検査を新生させ、未来を拓く」

宮島 喜文（参議院議員、日本臨床衛生検査技師会会長）

記 念 講 演 Ⅱ：「これからの臨床検査技師のあり方」

大澤　　進（国際医療福祉大学成田保健医療学部）

教 育 講 演 Ⅰ：「臨床検査の原点・・・検体は宝の山」

藤田 清貴（群馬パース大学保健科学部）

教 育 講 演 Ⅱ：「個別検体管理の AI 化に向けて」

1）質管理総論：採血時チェック・検体鮮度管理・QC 試料による測定ライン管理と検体測定値の妥当性チェック」

桑　　克彦（臨床検査基準測定機構）

2）「検体測定値の妥当性チェック：Na，K，Ca の高値 / 低値症例」

戸枝 義博（筑波メディカルセンター病院診療技術部）

シンポジウム 1：「分子病理検査と検体検査の連携」

企画座長　郡司 昌治（名古屋第一赤十字病院細胞診分子病理診断部）

共同座長　村上 正巳（群馬大学大学院医学研究科）

1）造血器腫瘍診断のための病理・血液検査室の連携

桝谷 亮太（大阪医科大学附属病院中央検査部）

2）病理分野からみる遺伝子解析と精度管理

郡司 昌治（名古屋第一赤十字病院細胞診分子病理診断部）

3）造血器腫瘍診断における遺伝子検査、検体検査の役割（仮題）

松岡 亮仁（坂出市立病院血液内科）

4）造血器腫瘍における遺伝子診断の実際

伊藤 雅文（名古屋第一赤十字病院病理部）

シンポジウム 2：「将来を見据えた卒前臨床検査技師教育の改革」

企画座長　三村 邦裕（千葉科学大学危機管理学部）

企画座長　坂本 秀生（神戸常盤大学保健科学部）

1）臨床検査技師教育の歩み

三村 邦裕（千葉科学大学危機管理学部）

2）これからの臨床検査技師教育

奥村 伸生（信州大学医学部保健学科）

3）臨床検査技師教育における臨地実習のあり方
横地 常広（日本臨床衛生検査技師会）
4）Society5.0 時代を生き抜くための臨床検査技師教育
片岡 浩巳（川崎医療福祉大学医療技術学部）

シンポジウム 3：「国際的なハーモナイゼーション時代を迎えたわが国の酵素活性測定法」

企画座長　前川 真人（浜松医科大学医学部臨床検査医学講座）
企画座長　山舘 周恒（人間総合科学大学人間科学部）
1）臨床化学会としての取り組み
前川 真人（浜松医科大学医学部臨床検査医学講座）
2）ALP 測定法変更開始後の状況と今後の取り組み
山崎 浩和（山梨大学医学部附属病院検査部）
3）LD 測定法変更開始後の状況と今後の取り組み
荒木 秀夫（日本大学病院臨床検査部）
4）ALP・LD 測定法変更に伴うアイソザイム検査の対応
星野　忠（東邦大学理学部）

シンポジウム 4：「これからの生理学的検査」
生理学的検査における検体検査データの活かし方

企画座長　古川 泰司（帝京大学）
共同座長　日高　洋（大阪大学）
1）心電図検査（仮題）
本間　博（日本医科大学）
2）呼吸機能検査（仮題）
東條 尚子（三楽病院）
3）脳・神経検査（仮題）
代田 悠一郎（東京大学医学部附属病院）

シンポジウム 5：「これからの血液学検査」

企画座長　通山　薫（川崎医科大学）
企画座長　常名 政弘（東京大学）
1）自動血球計数装置がもつビッグデータからの新知見発掘
片岡 浩巳（川崎医療福祉大学医療技術学部）
2）AI を駆使した血液形態診断研究
田部 陽子（順天堂大学大学院次世代血液検査医学）
3）血液細胞形態の自動判定に向けたシステム開発
松井 啓隆（熊本大学大学院臨床病態解析学）
4）APTT―波形解析の有用性とさらなる展開
下村 大樹（天理よろづ相談所病院臨床検査部）

シンポジウム６：「国際交流に向けた各国の活動紹介」

企画座長　康　　東天（九州大学）
企画座長　萩原三千男（株式会社エスアールエル）
Chairperson: Ryunosuke Ohkawa, Ryosuke Kikuchi

１）Introduction of committee on international activities
Michio Hagihara, Vise-chair SRL, Inc.

２）Education at university for international activities
Prof. Ryunosuke Ohkawa, Member, Tokyo Medical and Dental University.

３）International activities in Thailand and AACLS
Prof. Palanee Ammaranond, Faculty of Allied Health Sciences, Chulalongkorn University.

４）International activities in Myanmar and AASMT
Prof. Aye Aye Khin, Department of Medical Laboratory Technology, University of Medical Technology.

５）Explorations and Challenges of laboratory intelligence and big data mining in China.
Prof. Qiu Ling, Department of Laboratory Medicine, Peking Union Medical College Hospital

学会共同開催講演
日本医用マススペクトル学会との共催シンポジウム
病院検査部で活躍する質量分析技術 ―現状と展望―

座長　野村 文夫（千葉大学病院マススペクトロメトリー検査診断学）
　　村田　　満（慶應義塾大学医学部臨床検査医学）

１）ビタミン D 測定から見た臨床化学における質量分析
佐藤　　守（千葉大学病院マススペクトロメトリー検査診断学）

２）尿ステロイド代謝物 GC-MS 一斉分析：先天性および後天性副腎疾患診断における意義
本間 桂子（慶應義塾大学病院臨床検査科）

３）先天性代謝異常症検査の受託体制の構築と運用
岡崎 亮太（島根大学医学部附属病院検査部）

４）救急医療における質量分析を用いた薬毒物検査の実際
間瀬 浩安（東海大学医学部付属病院診療技術部臨床検査技術科）

５）質量分析技術による血液培養陽性ボトルからの微生物直接同定の現状と課題
土田 祥央（日本大学医学部臨床検査医学）

私立医科大学臨床検査技師会共催シンポジウム

演者未定

検査値を読むトレーニング　ー「考える臨床検査」徹底討論ー検査の奥深さを知るー

企画座長・症例呈示　松尾 収二(天理よろづ相談所病院臨床検査部)
司会　上岡 樹生(天理よろづ相談所病院臨床検査部)
解読者　今田 昌秀(川崎医科大学附属病院中央検査部)
藤田 宜子((株)兵庫県臨床検査研究所)
佐々木 克幸(東北大学医学部附属病院検査部)
ディスカッサント　吉川 直之(東京大学医学部附属病院検査部)
政元 いずみ(鹿児島大学病院 検査部)
坂本 美佐(シスメックス株式会社)
コメンテーター　米川　修(聖隷浜松病院臨床検査科)
菊池 春人(慶應義塾大学医学部臨床検査医学)

モーニングセミナーⅠ：日常検査(検体検査)におけるピットフォール

企　画　科学技術委員会
座　長　大久保 滋夫(文京学院大学保健医療技術学部)
1)院内検査室におけるピットフォールーピットフォールを埋めるー
清宮 正徳(国際医療福祉大学成田保健医療学部)
2)検査センターにおけるピットフォール～要因解析と診療側への対応～
藤本 一満(倉敷芸術科学大学生命科学部)

モーニングセミナーⅡ：血液検査におけるピットフォール：検査現場での留意点～血液検査学領域

企　画　血液検査機器技術委員会
座　長　稲葉　亨(京都府立医大)
1)血算「異常値の解釈と対処法」
今田 昌秀(川崎医科大学附属病院)
2)凝固線溶　下村 大樹(天理よろづ相談所病院)

技術セミナー　＊科学技術セミナー

＊遺伝子・プロテオミクス技術セミナー（要予約）
＊ POC セミナー（要予約）
＊血液検査機器技術セミナー
＊医療情報技術セミナー（要予約）
＊微生物検査・感染症技術セミナー（要予約）
＊生理検査技術セミナー

機器・試薬セミナー・ランチョンセミナー・サテライトセミナー

日本医療検査科学会第52回大会 日程表（一般演題は予定）

日時＼会場	第1会場（503号室）	第2会場（501号室）	第3会場（502号室）	第4会場（301号室）	第5会場（302号室）	第6会場（303号室）
第1日目（9月24日／木） 13:00						
14:00	シンポジウム1 分子病理	POCセミナー【講習】		微生物検査・感染症セミナー【講習】（JACLaS共催）		
15:00						
15:05	シンポジウム5 血液		POCセミナー【実技】		微生物検査・感染症セミナー【実技】（JACLaS共催）	遺伝子プロテオミクスセミナー【講習】
16:00						
16:30						
17:00						
18:00	サテライトセミナー（近隣のホテル）				サテライトセミナー 日本電子	
20:00						
第2日目（9月25日／金） 8:00	モーニングセミナーI 生化学・免疫					
8:50	開会式					
9:00	教育講演I			一般演題	一般演題	一般演題
9:55						
10:00	特別講演	シンポジウム4 生理				
10:50						
11:00	記念講演I		一般演題	一般演題	一般演題	一般演題
11:25						
11:30	記念講演II					
11:50						
11:55						
12:00	ランチョンセミナー①	ランチョンセミナー②	ランチョンセミナー③	ランチョンセミナー④	ランチョンセミナー⑤	ランチョンセミナー⑥
12:50						
13:00	機器・試薬セミナーII（特別セッション）	機器試薬セミナーI（従来セッション）		POC コーディネーター 更新セミナー		
15:00						
16:00	臨時社員総会					
16:20	会員総会 委員会報告					
17:30	論文賞、優秀演題賞、JACLaS Award 表彰式					
18:00						
第3日目（9月26日／土） 8:00	モーニングセミナーII 血液					
8:50						
9:00						
9:10	シンポジウム3 臨床化学	一般演題	一般演題	一般演題	血液検査機器技術セミナー	一般演題
10:00		シンポジウム2 臨床検査教育	一般演題	一般演題		一般演題
10:50						
11:00	教育講演II		一般演題	一般演題		一般演題
11:50						
12:00	ランチョンセミナー⑫	ランチョンセミナー⑬	ランチョンセミナー⑭	ランチョンセミナー⑮	ランチョンセミナー⑯	ランチョンセミナー⑰
12:50						
13:00	科学技術セミナー【講習】	シンポジウム 日本医用マススペクトル学会 共催シンポジウム	シンポジウム 私立医科大学共催 シンポジウム	検査値を読む トレーニング 考える臨床検査	一般演題	一般演題
14:00					一般演題	一般演題
15:00						
15:30						

日時	会場	第7会場 (304号室)	第8会場 (311+312号室)	第9会場 (313+314号室)	第10会場 (315号室)	第11会場 (414+415号室)	展示会場
第1日目（9月24日／木）	13:00						
							JACLaS EXPO 2020 13:00～17:00
	16:00	遺伝子プロテオミクスセミナー 【実技】					
	17:00						
	17:30						
第2日目（9月25日／金）	9:00	一般演題	一般演題	一般演題	JACLas Award 受賞講演		JACLaS EXPO 2020 9:00-17:00
	10:00						
	11:00	一般演題	一般演題	一般演題	一般演題		
	11:50						
	12:00	ランチョンセミナー⑦	ランチョンセミナー⑧	ランチョンセミナー⑨	ランチョンセミナー⑩	ランチョンセミナー⑪	
	12:50						
	13:00				JACLaS共催 IVD-MD マーケティングセミナー		
	15:00						
	17:00						
	18:00						
第3日目（9月26日／土）	9:00	一般演題	一般演題	一般演題	一般演題		JACLaS EXPO 2020 9:00-14:00
	10:00	一般演題					
	10:30	生理検査技術セミナー	一般演題	一般演題	一般演題		
	11:00		一般演題	一般演題	一般演題		
	11:50						
	12:00	ランチョンセミナー⑱	ランチョンセミナー⑲	ランチョンセミナー⑳	ランチョンセミナー㉑		
	12:50						
	13:00	一般演題	一般演題	一般演題	シンポジウム6 国際		
	14:00	一般演題	一般演題	一般演題			
	15:00						

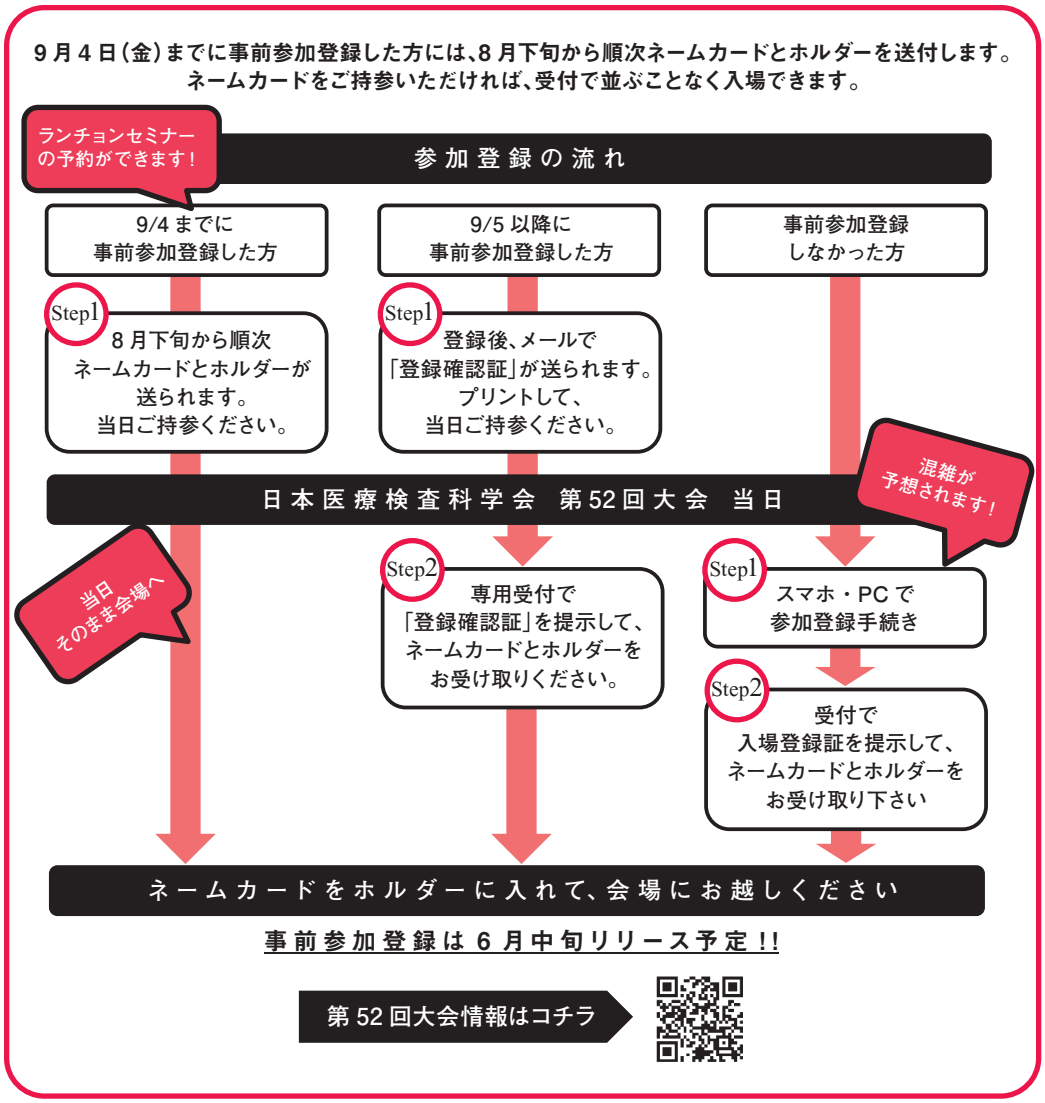
会議室使用一覧

		316号室	317号室	511号室	512号室	513号室
第1日目（9月24日／木）	10:00			パシフィコ・サンプラ・JACLaS・JCLS会議		
	10:50					
	11:00			理事会		
	12:20			プログラム委員会		
	13:00			血液検査機器委員会		
	14:30			医療情報委員会		
	16:00			国際交流委員会		
	17:30					
第2日目（9月25日／金）	9:00			拡大編集委員会		シンポジウム4 控室
	10:00	IVD-MDマーケティング セミナー会議	遺伝子・プロテオミクス 委員会WG1			遺伝子・プロテオミクス 委員会WG2
	10:30					
	11:00	ランチョンセミナー 控室	ランチョンセミナー 控室	科学技術委員会		ランチョンセミナー 控室
	11:50					
	13:00			機器試薬セミナー控室		
	14:00			委員長会議		
	15:30			遺伝子プロテオミクス技術委員会		生理検査委員会
第3日目（9月26日／土）	9:00					
	10:30			微生物検査・感染症委員会		
	11:00			POC委員会		
	11:50	ランチョンセミナー 控室	ランチョンセミナー 控室			ランチョンセミナー 控室
	12:00					
	12:50					
	13:00			医療情報セミナー		
	14:00					
	14:50					
	15:00			認定POCC試験会場		
	17:00					

		514号室	2F　ホワイエ	クローク（318 号室）
第1日目（9月24日／木）	11:30 12:00 13:00 14:00 15:00 16:30	シンポジウム1 控室 シンポジウム5 控室	◇総合受付 11:30-16:30（予定） ◇PC受付 12:00-16:30（予定）	
第2日目（9月25日／金）	7:00 7:30 8:00 9:00 10:00 10:30 11:00 14:00 17:00 17:30	モーニングセミナーI 控室 教育講演I 控室 特別講演 控室 記念講演I　控室 記念講演II　控室 ランチョンセミナー 控室	◇総合受付 7:00-17:00（予定） ◇PC受付 7:30-17:00（予定）	◇クローク 7:30-17:30（予定）
第3日目（9月26日／土）	7:00 7:30 8:00 9:00 10:00 11:00 14:00 15:30	モーニングセミナーII 控室 シンポジウム3 控室 シンポジウム2 控室 教育講演2 控室 ランチョンセミナー 控室	◇総合受付 7:00-14:00（予定） ◇PC受付 7:30-13:00（予定）	◇クローク 7:30-15:30（予定）

日本医療検査科学会第 52 回大会事前登録のご案内

第 52 回大会より大会参加事前登録を開始いたします。
当日は受付に並ぶことなくご入場いただけます。
また、9 月 4 日（金）までに事前登録された方にはランチョンセミナーの事前予約（整理券付き）が可能です。
6 月中旬にリリース予定です。
詳細は大会ホームページよりご確認ください。
https://jcls.or.jp/



機器・試薬セミナーのお知らせ

日　　時：令和２年９月25日(金)　13：00 ～ 15：00
各メーカーに機器・試薬に関する最新情報が提供されます。

機器・試薬セミナーⅠ(従来セッション)

座長：未定

1．株式会社テクノメディカ
演題名：血液ガス分析におけるデータ解析補助機能の有用性
演　者：星島　康(株式会社テクノメディカ 研究開発本部)

2．デンカ株式会社
演題名：汎用自動分析装置向けフェリチン測定試薬のご紹介
演　者：山本 裕之(大阪赤十字病院 臨床検査科部)
平川 優貴(デンカ株式会社 試薬開発部)

3．セラビジョン・ジャパン株式会社
演題名：血液像自動分析装置 CellavisionDC-1 の細胞識別能力評価検討
演　者：筑比地 隆史(公立昭和病院 LSI メディエンス検査室)

4．株式会社スクラム
演題名：ピペットチップの洗浄・再利用を可能にし、コスト削減
―自動チップウォッシャー TipNovus シリーズのご紹介―
演　者：小見山 和也(株式会社スクラム)

5．株式会社カイノス
演題名：全自動輸血検査装置 Erytra Eflexis のご紹介
演　者：中島 康裕(株式会社カイノス 営業部拡販課)

機器・試薬セミナーⅡ(特別セッション)

サーモフィッシャーダイアグノスティックス株式会社 / 株式会社 CGI
演　題：精度管理
演者１：菊池 春人(慶應義塾大医学部 臨床検査科)
演者２：未定
座　長：未定

ランチョンセミナーのお知らせ

日　時：令和２年９月 25 日（金）　11 テーマ（12：00 ～ 12：50）
令和２年９月 26 日（土）　10 テーマ（12：00 ～ 12：50）
検査の最前線の情報をお届けいたします。（整理券を配布します）

大会２日目（9 月 25 日 / 金）

1．富士レビオ株式会社
演題名：臨床検査を活用したリンパ腫の診断
演　者：佐藤 康晴（岡山大学医学部保健学科 病態検査学講座（病理学））
座　長：松下 弘道（国立がん研究センター中央病院 臨床検査科）

2．デンカ株式会社
演題名：輸血後鉄過剰症－その病態と診断・治療－
演　者：鈴木 隆浩（北里大学医学部 血液内科学）
座　長：生田 克哉（日本赤十字社 北海道赤十字血液センター）

3．シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社
テーマ：検査室の効率化がもたらす医療貢献の進化
演題１：検体検査業務のさらなる自動化と他部門へのタスクシフティング
～気送管システムと検体搬送処理システム Aptio のダイレクト接続による効率化～
演　者：加賀谷 範芳（湘南鎌倉総合病院 臨床検査部）
演題２：生化学免疫統合機 Atellica Solution 導入による業務の効率化
演　者：櫛引 健一（和泉市立総合医療センター）
座　長：渡辺 清明（慶應義塾大学 / 東京臨床検査医学センター）

4．富士フイルム株式会社 / 富士フイルムメディカル株式会社
演題名：迅速・高感度な感染症検査に基づく院内感染対策（仮）
演　者：宮地 勇人（東海大学医学部基盤診療学系臨床検査学）
座　長：横田 浩充（慶應義塾大学病院 臨床検査技術室）

5．東ソー株式会社
演題名：心不全診療における BNP 値の解釈
演　者：中川 靖章（京都大学医学部附属病院 循環器内科）
座　長：錦見 俊雄（わかくさ竜間リハビリテーション病院 / 京都大学）

6．アボットジャパン合同会社

テーマ：業務効率だけでいいですか？ ～更なる医療貢献を上げる検査室の作り方

演題１：検査室の業務効率化から生まれる医療貢献(仮)

演者１：可児 一斗(岐阜県立多治見病院 臨床検査科)

演題２：小さな検査室、大きな医療貢献

演者２：横山 一紀(済生会横浜市東部病院 臨床検査部)

座　長：中山 智祥(日本大学医学部附属板橋病院 臨床検査医学科)

7．株式会社エイアンドティー

演題名：検査室改善へのアプローチ 20 －臨床検査情報システム(LIS)による試薬管理、検査の質の保証とその先－(仮)

演　者：加藤 龍二(株式会社エイアンドティー)

座　長：諏訪部 章(岩手医科大学医学部 臨床検査医学講座)

8．株式会社テクノメディカ

演題名：診察予約時間に合わせた採血室の運用について

演　者：服部　桜(慶應義塾大学病院 臨床検査技術室 臨床検査科)

座　長：小野 佳一(東京大学医学部附属病院 検査部)

9．シスメックス株式会社

演題名：未定

演　者：未定

座　長：未定

10. 積水メディカル株式会社

演題名：未定

演　者：未定

座　長：未定

11. 株式会社カイノス

演題名：未定

演　者：未定

座　長：未定

大会２日目(９ 月 26 日 / 土)

12. シスメックス株式会社

演題名：未定

演　者：未定

座　長：未定

13. 富士フイルム和光純薬株式会社 / 三洋化成工業株式会社
演題名：甲状腺の専門診療へのアプローチ　－アキュラシードと臨床の連携効果－
演者１：山崎 永輔（神甲会隈病院 臨床検査科）
演者２：河合 岳郎（神甲会隈病院 臨床検査科）
座　長：日高　洋（大阪大学大学院医学系研究科 病院臨床検査学）

14. ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
演題名：未定
演　者：未定
座　長：未定

15. 栄研化学株式会社
演題名：未定
演　者：未定
座　長：未定

16. 株式会社日立ハイテク
演題名：検査データの品質保証に向けた取り組み
～反応過程データを利用した検査データの精度管理～
演　者：酒井 昭嘉（社会医療法人蘇西厚生会 松波総合病院）
座　長：前川 真人（浜松医科大学 臨床検査医学）

17. ニットーボーメディカル株式会社
演題名：尿中アルブミン測定の臨床的意義と尿蛋白検査との関連
～日本人でのエビデンスを踏まえて～
演　者：渡辺　毅（地域医療振興協会 東京北医療センター 総合診療科 /
福島県立医科大学附属病院）
座　長：風間 順一郎（福島県立医科大学附属病院 腎臓・高血圧内科）

18. オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社
演題名：未定
演　者：未定
座　長：未定

19. シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社
演題名：全自動尿統合型分析システム「Atellica1500」の使用経験～導入効果と症例画像～
演　者：二宮 早苗（松山赤十字病院 検査部）
座　長：實原　正明（飯田市立病院 診療技術部臨床検査科）

20. 塩野義製薬株式会社

演題名：未定

演　者：未定

座　長：未定

21. 株式会社 CGI

演題名：新型コロナウィルスに関する CAP サーベイのインターナショナルガイドライン（仮）

・SARS-CoV-2, PCR 検査（COV2）サーベイ

・SARS-CoV-2, 抗体検査（COVS）サーベイ

演　者：北澤 淳一（青森県立中央病院）

座　長：未定

サテライトセミナーのお知らせ

日　　時：令和２年９月 24 日(木)　18：00 ～ 20：00
検査の最新情報をお知らせいたします。

1．株式会社テクノメディカ
　　演題名：未定
　　演　者：未定

2．株式会社エイアンドティー
　　演題名：未定
　　演　者：未定

3．株式会社日立ハイテク
　　演題名：未定
　　演　者：未定

4．日本電子株式会社
　　テーマ：第 12 回 BionMajesty セミナー
　　演　者：中川 央充(慶應義塾大学大学院医学研究科 臨床検査医学)
　　座　長：山崎 真一(広島大学病院診療支援部 臨床検査部門)

5．ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
　　演題名：未定
　　演　者：未定

第 21 回　科学技術セミナー参加のお誘い

日　　時：令和 2 年 9 月 26 日（土）　13：00 ～ 15：30（講演）
会　　場：パシフィコ横浜・第 1 会場（503）

テーマ：自動分析装置における反応タイムコースの基礎と活用事例
（科学技術マニュアル第 18 集より）

司会・進行：藤本 一満（倉敷芸術科学大学 生命科学部 生命医科学科）
大久保 滋夫（文京学院大学 保健医療技術学部）

導入 5 分

講演（1. は 20 分、2. ～ 5. は 25 分、質疑応答を含む）

1．自動分析装置における反応タイムコースの基礎　（20 分）
藤本 一満（倉敷芸術科学大学 生命科学部 生命医科学科）
2．ユーザーにおけるタイムコースの活用事例 ―検体由来―　（25 分）
藤田　孝（藤田医科大学病院 臨床検査部）
3．ユーザーにおけるタイムコースの活用事例 ―検体由来―　（25 分）
和田　哲（和歌山県立医科大学附属病院 中央検査部）

休憩　10 分

4．ユーザーにおけるタイムコースの活用事例 ―装置由来―　（25 分）
春田 昭一（社会福祉法人恩賜財団 済生会熊本病院 中央検査部）
5．ユーザーにおけるタイムコースの活用事例 ―試薬・メンテナンス由来―（25 分）
山口 純也（埼玉県済生会川口総合病院 診療技術部 臨床検査科）

討論およびまとめ　15 分

参加定員：400 名（事前予約不要）
参加費用：大会登録料に含まれます（当日第 52 回大会の参加登録手続きをお願い致します）。

テキスト：日本医療検査科学会ホームページに掲載しますので、各自プリントアウトして当日持参してください。
修 了 証：希望者（会員）にセミナー終了後に配布します。

第 21 回　遺伝子・プロテオミクス技術セミナー参加のお誘い

日　　時：令和 2 年 9 月 24 日（木）　15：00 ～ 17：30（講演・実技）
場　　所：パシフィコ横浜・第 6・7 会場（303・304）

本技術セミナーは日本医療検査科学会遺伝子･プロテオミクス技術委員会が企画しています。委員会には、白血病関連遺伝子検査 WG、MALDI-TOF MS WG、がんゲノム検査の評価と規制に関する基本的考え方 WG、遺伝学的検査における外部精度管理としてのクロスチェックに関する WG が設置されています。これらの WG の活動に関連して遺伝子・プロテオミクス検査に用いられる技術・機器をテーマとしていますが、今回は新型コロナウイルス COVID-19 RNA 検査を取り上げます。奮ってご参加ください。

テーマ：新型コロナウイルス COVID-19 RNA 検査の基礎から実践まで

第 1 部　講演会編

司　　会：村上 正巳（群馬大学大学院医学系研究科 臨床検査医学）
　　糸賀　栄（かずさ DNA 研究所）
講　　師：宮地 勇人（東海大学医学部 基盤診療学系臨床検査学）
　　「新型コロナウイルス COVID-19 RNA 検査の課題と対応」（予定）
講　　師：村田 正太・石毛 崇之・松下 一之（千葉大学医学部附属病院 検査部）
　　「新型コロナウイルス COVID-19 RNA 検査の実際」（予定）

新型コロナウイルス COVID-19 RNA 検査に関して、現状の課題や検査室における対応についての講演と討論を予定しています。

第 2 部　実習編

司　　会：南木　融（筑波大学附属病院 検査部）
実習機器：サーモフィッシャー・栄研化学・プロメガ・リコー（予定）

COVID-19 RNA 検査を含む遺伝子関連検査の自動化機器を直接体験していただける参加型の実習を企画しています。事情により内容が変更になる場合がありますが、ご了承ください。

参加定員：100 名（事前予約が必要です）
参加費用：大会登録料に含まれます（当日第 52 回大会の登録手続きをお願いいたします）。
参加申込：参加者の事前予約は学会ホームページ（http://www. jcls.or.jp/）の所定フォームよりお申し込みください。定員になり次第締め切ります。

テキスト：学会ホームページに掲載しますので、各自プリントアウトして当日持参してくださるようお願いいたします。
修 了 証：希望者（会員）にセミナー終了後に配布します。

本セミナーは日本遺伝子分析化学同学院遺伝子分析学認定士の更新単位および日本遺伝子診療学会ジェネティックエキスパート認定制度の学会活動の単位として認められています。

弁当は用意しておりません。18 時から開催されるサテライトセミナーは食事付きですので、事前予約をして参加されることをお勧めいたします。

第 76 回　POC セミナー参加のお誘い

日　　時：令和 2 年 9 月 24 日（木）　13：00 ～ 17：00（講演・実技）
場　　所：パシィフィコ横浜・第 2・3 会場（501・502）

テーマ：検証！新型コロナウイルス感染症に POCT は活用できたか？
～診療・検査現場の知られざる裏側～

【特別講演】
司　会：三好 雅士（徳島大学病院）
演　題：新型コロナウイルス感染～報道と現場のギャップ～
講　師：上岡 樹生（天理よろづ相談所病院）

【測定技術講演】
司　会：木下 真紀（天理よろづ相談所病院）
演題 1：これだけは知っておきたい！コロナ診断に求められる検査
講　師：福岡 京子（りんくう総合医療センター）

その他、新型コロナウイルス感染症の診断に必要なイムノクロマト法を利用した検査に関する企業講演を 2 演題予定

【ワークショップ】
司　会：木下 陽介（山陰労災病院）
　　福岡 京子（りんくう総合医療センター）

テーマ：アフターコロナで POCT はどう変わる？

基調講演：COVID-19 の経験を未来に活かす
講　　師：松本 久幸（神戸大学医学部附属病院）

＊基調講演の後、参加者の皆さんと総合討論を行います。

参加定員：70 名（事前予約が必要です）
参加費用：大会参加費用に含まれます（第 52 回大会の登録手続きをお願いします）
参加申込：参加者の事前予約は学会ホームページ（http://www. jcls.or.jp/）の所定フォームよりお申し込みください。定員になり次第締め切ります。

テキスト：学会ホームページに掲載しますので、各自プリントアウトして当日持参してくださるようお願いいたします。
修 了 証：希望者（会員）にセミナー終了後に配布します。
取得単位：総論 1 単位、測定技術論 1 単位、運用技術論 1 単位

弁当は用意しておりません。18 時から開催されるサテライトセミナーは食事付きですので、事前予約をして参加されることをお勧めいたします。

第 11 回 POC 更新セミナー

日　　時：令和 2 年 9 月 25 日（金）　13：00 ～ 15：00（講演）
会　　場：パシフィコ横浜・第 4 会場（301）

本年の更新セミナーは、4 月に発足しました認定 POC コーディネーター制度について、その目的、取得方法、更新方法、今後の認定 POC コーディネーターが活躍する場は？などを中心に開催致します。

開催形式：座学

テーマ：認定 POC コーディネーター資格制度発足に際し目指すこと

司　会：坂本秀生（POC 技術委員会）
　　福田篤久（POC 技術委員会委員長）

講演 1：認定 POC コーディネーター資格制度発足までの経緯（30 分）
講　師：福田篤久（POC 技術委員会　委員長）

講演 2：認定 POC コーディネーター資格取得に向けて（25 分）
講　師：後藤慎一（POC 技術委員会　事務局）

講演 3：認定 POC コーディネーターとしての活躍の場は？（25 分）
講　師：POC 技術委員会　技師委員

講演 4：今後の POC 更新セミナーの進め方（あり方）について（25 分）
講　師：坂本秀生（POC 技術委員会）

総合討論

参加定員：250 名（事前予約不要）
参加費用：大会登録料に含まれます（当日第 52 回大会の登録手続きをお願いいたします）。

テキスト：なし
修 了 証：希望者（会員）にセミナー終了後に配布します。
取得単位：更新セミナー参加単位、総論 1 単位

2020年4月吉日

会員各位

一般社団法人 日本医療検査科学会
理事長　萱場 広之
POC技術委員会　担当理事　康 東天
同 委員会　委員長　福田 篤久

認定POCコーディネーター資格制度について

2003年4月に初代松尾収二委員長(天理よろづ相談所病院)のもと「POC推進委員会」が設立され、2015年4月には松尾先生の後を引き継いだ〆谷直人委員長(国際医療福祉大学熱海病院)時代に委員会名称を学会意向を含め「POC技術委員会」へ改名しました。また“POCTガイドライン”は初版から第4版へと改訂し、さらにPOCセミナーは、全国で73回開催し、POCTの啓発及びPOCコーディネーターの育成に尽力をそそいで参りました。

この度POC技術委員会では、現福田篤久委員長(大阪医科大学三島南病院)を中心に、本学会の所定の条件を満たし、POCT対応機器・試薬の選択、保守管理、測定者の教育訓練および検査結果の精度保証に関する優れた知識と技能を有している者を、“認定POCコーディネーター（略称：認定POCC)”として認定するPOCコーディネーター資格制度を、2020年4月1日付で開始し、第1回の認定試験を本年9月に実施する予定にしています。

認定資格制度及び特別移行措置の詳細につきましては、以下及び学会ホームページに掲載しますので、ご確認ください。

・認定POCコーディネーター資格制度規程・細則
・POCコーディネーター研修修了書取得者の移行措置ついて
・第1回認定POCコーディネーター試験について

問い合わせ先：一般社団法人　日本医療検査科学会
POC技術委員会事務局
後藤 慎一
goto_lab@hospital.kasugai.aichi.jp

「POC コーディネーター研修修了書」取得者の移行措置ついて

【対象者】2020 年 4 月までに POC コーディネーター研修修了証取得者(学会ホームページにて公開)については以下のスケジュールにおいて移行措置を実施します。

2020 年 4 月　対象者へ移行措置案内を通知
2020 年 5 月　移行措置希望者の申請開始
2020 年 6 月　申請者へ移行レポート課題の案内
2020 年 8 月　移行レポート課題の提出
2020 年 9 月　移行レポート課題の判定
2021 年 1 月　合格発表
2021 年 2 月　認定証発行申請
2021 年 4 月　認定証発行

＊詳細については学会ホームページをご参照ください。

「第 1 回 認定 POC コーディネーター試験」について

日本医療検査科学会認定 POC コーディネーター受験資格(認定 POC コーディネーター資格制度規程・細則を参照)を満たした者を対象に、第 1 回認定 POC コーディネーター試験を以下のスケジュールにて実施します。

2020 年 4 月　第 1 回 POC コーディネーター試験案内
2020 年 6 月　受験申請開始
2020 年 8 月　受験票発送
2020 年 9 月　認定試験(日本医療検査科学会第 52 回大会最終日午後)
2021 年 1 月　合格発表
2021 年 2 月　認定証発行申請
2021 年 4 月　認定証発行

＊詳細については学会ホームページをご参照ください。

第 10 回　血液検査機器技術セミナー参加のお誘い

日　　時：令和 2 年 9 月 26 日（土）　9：10 ～ 11：40（講演）
会　　場：パシフィコ横浜・第 5 会場（302）

テーマ：「自動血球分析装置におけるスキャッターから判る異常細胞 2020」

座　長：藤巻 慎一（東北大学病院 診療技術部検査部門 / 検査部）
　　井上 まどか（群馬大学医学部附属病院 検査部）

講演 1　9：10 ～ 10：10
「各メーカー自動血球分析装置の測定原理および特徴」
演　者：各メーカー担当者（6 社）

講演 2　10：10 ～ 10：55
「自動分析装置におけるスキャッターから判る異常細胞　～症例解析～」
演　者：井上 まどか（群馬大学医学部附属病院 検査部）

講演 3　10：55 ～ 11：30
「未定」
演　者：増田 亜希子（虎の門病院分院 臨床検査科）

まとめ　11：30 ～ 11：40
演　者：藤巻 慎一（東北大学病院 診療技術部検査部門 / 検査部）

参加定員：200 名（事前予約不要）
参加費用：大会登録料に含まれます（当日第 52 回大会の参加登録手続きをお願い致します）。

テキスト：日本医療検査科学会ホームページに掲載しますので、各自プリントアウトして当日持参してください。

第３回　微生物検査・感染症技術セミナー参加のお誘い

日本臨床検査機器・試薬・システム振興協会（JACLaS）共催企画

日　　時：令和２年９月 24 日（木）　14：00 ～ 16：30（講演・実技）
会　　場：パシフィコ横浜・第４・５会場（301・302）

タイトル：「新型コロナウイルス感染症の検査と感染管理」

司　会：高橋　　聡（札幌医科大学医学部 感染制御・臨床検査医学講座）
　　木村 由美子（長崎大学病院 検査部）

＜ 講演 ＞　14：00 ～ 16：30

1．「新型コロナウイルス感染症の検査について」
　　演　者：柳原 克紀 先生（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 病態解析・
　　診断学分野）

2．「新型コロナウイルス感染症における遺伝子検査装置の使用経験および対応」
　　①札幌医科大学附属病院
　　②東邦大学
　　③京都大学医学部附属病院

＜ 実技（製品の情報提供や操作説明など）＞

検討中

参加定員：100 名（事前予約が必要です）
参加費用：大会登録料に含まれます（当日第 52 回大会の登録手続きをお願い致します。）
参加申込：参加者の事前予約は学会ホームページ（http://jcls.or.jp）の所定フォームよりお申し込みください。定員になり次第締め切ります。

テキスト：日本医療検査科学会ホームページに掲載しますので、各自プリントアウトして当日持参してください。

弁当は用意しておりません。18 時から開催されるサテライトセミナーは食事付きですので、事前予約をして参加されることをお勧めいたします。

第２回　医療情報技術セミナー参加のお誘い

日　　時：令和２年９月 26 日（土）　13：00 ～ 14：50（講演・実技）
会　　場：パシフィコ横浜（511+512 号室）

テーマ：知っておきたい臨床検査データ解析のテクニック

学会発表や論文投稿において、データの解析は不可欠です。その解析にフリーウェアである「R」を使ってみませんか。R はフリーウェアながら学術発表等において認められており、是非ともマスターしておきたいツールの一つです。

今回のセミナーでは、R を使用して検査データ解析を行うための手法について、体験していただくために、前回よりも更に実用性を重視した内容にブラッシュアップし、多数のサポート要員を確保して開催いたします。なお、**受講される方は事前準備を済ませたノートパソコンを持参されることを必須とします。**なお、受講ご希望の方には環境設定に関する事前課題をクリアしていただき、パスした方のみ受講を許可するものとします。これは昨年開催したセミナーの改善策の一つである点をどうぞご了承ください。

講演・演習

講　師：瀬戸山大樹（九州大学病院）
演　題：「臨床検査リアルデータ解析の技術」
～ R を用いた解析の基本操作と実用テクニック～

参加定員：60 名（事前予約が必要です）
参加費用：大会登録料に含まれます（当日、第 52 回大会の登録手続きをお願いいたします）
参加申込：参加者の事前予約は学会ホームページ（http://jcls.or.jp）の所定フォームよりお申し込みください。定員になり次第締め切ります。なお、空席のある場合は当日参加もできますがノートパソコン持参が必須となります。

テキスト：日本医療検査科学会ホームページに掲載しますので、各自プリントアウトして当日持参してください。
事前準備：予め事前準備が必要となります。資料等を学会ホームページに掲載しますので参加当日までに準備を済ませておいてください。なお、環境設定の確認方法や環境設定に関する質問窓口を準備する予定です。
修 了 証：希望者（会員）にセミナー終了後に配布します。
単　　位：日本医療情報学会 医療情報技師更新ポイント１ポイント（予定）

～サポートスタッフ募集～
医療情報委員会では本セミナーにお手伝いいただけるサポートスタッフを募集しています。
具体的にはハンズオン参加者が PC 操作等で困った際の支援や統計処理における支援です。
ご参加、お問い合わせは医療情報委員会事務局（nagahara-knz@umin.ac.jp）まで。

第１回　生理検査セミナー参加のお誘い

日　　時：令和２年９月 26 日（土）　10：30 ～ 11：50（講演・アンケート）
会　　場：パシフィコ横浜・第７会場（304）

タイトル：「ISO 15189 認定施設に求められる生理機能検査の精度管理」
～認定取得施設の現状とこれからの生理機能検査へ向けて～

司会・進行：古川 泰司（帝京大学医学部）

＜ 講演 ＞　10：30 ～ 11：30

1．日本医療検査科学会・生理検査アンケートについて
　講　師：古川 泰司
　内　容：生理検査アンケートの説明と共通分野の結果開示
2．（仮）認定４分野の精度管理の現状
　内　容：各認定分野の結果開示
　（１）呼吸機能検査
　　講　師：東條 尚子（三楽病院）（予定）
　（２）心電図検査
　　講　師：大村 直子（帝京大学医学部附属病院）（予定）
　（３）超音波検査
　　講　師：竹内 正明（産業医科大学）（予定）
　（４）脳波検査
　　講　師：湯本 真人（東京大学）（予定）
3．今後の展開について
　外部精度管理の代替えアプローチ構築に向けて

＜アンケート記載と質疑応答＞　11：30 ～ 11：50

1．アンケート記載時間
　アンケート記載用紙は当日お渡しします。講演終了後に記載をお願いします。
2．質疑応答

参加定員：200 名（事前予約が必要です）
参加費用：大会登録料に含まれます（当日第 52 回大会の登録手続きをお願い致します。）
参加申込：参加者の事前予約は、学会ホームページ（http://jcls.or.jp）の所定フォームにて実施してください。定員になり次第締め切ります。

アンケートを記入された方には、結果のフィードバックを行う予定です。

SEKISUI

体外診断用医薬品

承認番号 23000EZX00014000

健保適用

液状試薬だからこそ
検査をスムーズにする

PT-Liquid

プロトロンビン時間キット

コアグピア® PT−Liquid

特　徴

- 溶解操作が不要な液状試薬です。
- ISI≒1.0であり、正常検体の秒数は12秒前後です。
- オンボード安定性は約2週間です。
- ヘパリンの影響を受けにくい試薬です。

製造販売元　積水メディカル株式会社

本社: 〒103-0027 東京都中央区日本橋二丁目1番3号
TEL 03(3272)0681(代表)

www.sekisuimedical.jp/

CC04　201904JBA

より迅速に、より精度良く、より簡単に

AIA®-CLシステム

全自動化学発光酵素免疫測定装置

AIA®-CL1200

製造販売届出番号 13B3X90002000020

スループット 最大120テスト/時
最大640テスト設置可能

全自動化学発光酵素免疫測定装置

AIA®-CL2400

製造販売届出番号 13B3X90002000018

スループット 最大240テスト/時
最大1280テスト設置可能

化学発光酵素免疫測定試薬

AIA-パックCL®試薬

モノテスト方式 & **凍結乾燥技術** ＋ **化学発光検出法**

【特長】
- ► 新たな化学発光基質DIFURAT®使用による高感度測定と検体量低減
- ► 結果報告時間15分（TRAb結果報告時間25分）
- ► 2ステップ法採用による測定レンジ拡大
- ► 較正試薬、検体希釈試薬の凍結乾燥カップ化
- ► 日常点検の予約実行機能搭載

TOSOH
東ソー株式会社
バイオサイエンス事業部

東京本社営業部 ☎(03)5427-5181 〒105-8623 東京都港区芝3-8-2
大阪支店バイオサイエンスG ☎(06)6209-1948 〒541-0043 大阪市中央区高麗橋4-4-9
名古屋支店バイオサイエンスG ☎(052)211-5730 〒460-0008 名古屋市中区栄1-2-7
福岡支店 ☎(092)781-0481 〒810-0001 福岡市中央区天神1-13-2
仙台支店 ☎(022)266-2341 〒980-0014 仙台市青葉区本町1-11-1
カスタマーサポートセンター ☎(0467)76-5384 〒252-1123 神奈川県綾瀬市早川2743-1
ホームページ https://www.diagnostics.jp.tosohbioscience.com/

C2005GD.A

医療検査と自動化

第45巻　第3号
2020年　6月

日本医療検査科学会誌

目　　次

学会ニュース

総説

微生物検査における自動化……木村由美子，柳原克紀…(201)

原著

翼状採血針における製品別の溶血率調査……市村　直也…(208)

液状プロトロンビン時間測定試薬「コアグピア® PT-Liquid」の性能評価……佐藤　有紗…(213)

VITEK MSで*Neisseria meningitidis*と誤同定された
*Neisseria polysaccharea*と*Neisseria meningitidis*との鑑別法
およびVITEK MSの同定精度の検証……服部佳奈子…(222)

技術

全自動エンザイムイムノアッセイ装置AIA-900を用いた
Eテスト「TOSOH」II（Presepsin）によるプレセプシン測定の基礎的検討……久保　嘉志…(230)

改良型PIVKA-Ⅱキット「ルミパルスプレストPIVKAⅡ-N」の
基礎性能評価……松井亜理沙…(235)

ルミパルスL2400とARCHITECT i2000SRを用いた
HBVマーカーの比較検討……米澤　仁…(240)

自己血糖測定器「アキュチェックガイド」の基礎的検討……増田あゆみ…(244)

JSCC法およびIFCC法におけるLD_1とLD_5の反応性の相違に関する検討……田中満里奈…(250)

質量分析装置Matrix-assisted laser desorption/
ionization time-of-flight mass spectrometryの細菌同定における
内部精度管理実施要領の検討……曽川　一幸…(255)

症例

改良されたACMIA法による血中タクロリムス濃度測定試薬の性能の評価……北原陽一郎…(260)

Fabry病における尿沈渣検査の重要性……大江弓起子…(264)

第51回大会機器・試薬セミナー要旨

BNP測定試薬の精度管理を目的とする
「BNPコントロールシオノギ」の発売について……船附　賢三…(269)

次世代生化学・免疫検査統合型分析装置コバスproのご紹介……岸　孝明…(271)

次世代生化学・免疫検査統合型分析装置コバスproの試薬ご紹介……藤井　隆行…(274)

TRCReadyシステムの紹介―マイコプラズマとCT／NG検出試薬について―……東田　悟…(277)

CLSJ VOL. 45 NO. 3
June 2020
Clinical Laboratory Science Journal

CONTENTS

JCLS News

Review

Automation in Clinical Microbial Testing. ····· Yumiko KIMURA, Katsuhiko YANAGIHARA··· (201)

Originals

Survey of Hemolysis Rate in Butterfly Needles Produced by Different Manufacturers ····· Naoya ICHIMURA··· (208)

Basic Performance Evaluation of a Liquid-type Prothrombin Time kit, "Coagpia® PT-Liquid" ····· Arisa SATO··· (213)

Neisseria meningitidis Identified with VITEK MS Requires further Tests for Accurate Diagnosis ····· Kanako HATTORI··· (222)

Reports

Fundamental Study of Presepsin Measurement using Reagent TOSOH II (Presepsin) on AIA-900. ····· Yoshiyuki KUBO··· (230)

Evaluation of the Clinical Performances of LUMIPULSE Presto Ⅱ, the improved Reagent for PIVKA-Ⅱ ····· Arisa MATSUI··· (235)

Comparison of HBV Markers Measured by LumipulseL2400 and ARCHITECT i2000SR ····· Hitoshi YONEZAWA··· (240)

Evaluation of a Self-monitoring of Blood Glucose Meter 'Accu-chek Guide' ····· Ayumi MASUDA··· (244)

Evaluation of the Difference in Reactivity of LD_1 and LD_5 between JSCC Method and IFCC Method ····· Marina TANAKA··· (250)

Examination of Conditions for Internal Quality Control in Identification of Microorganism from Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-flight Mass Spectrometry ····· Kazuyuki SOGAWA··· (255)

Case Reports

The Performance Evaluation of Revised Affinity Column Mediated Immuno-Assay (ACMIA) for Tacrolimus Concentration ····· Yoichiro KITAHARA··· (260)

Importance of Urine Sediment Analysis in Fabry Disease ····· Yukiko OE··· (264)

Seminar to the 51st Congress (2020)

BNP Control Shionogi: a New Product for Quality Control of BNP Measurement Reagents ····· Kenzo FUNATSUKI··· (269)

Introduction of Next Gen. integrated Clinical Chemistry-Immunochemistry Analyzer <cobas pro> ····· Takaaki KISHI··· (271)

Introduction of Next Gen. Integrated Clinical Chemistry-Immunochemistry Analyzer <cobas pro> reagents ····· Takayuki Fujii··· (274)

Introduction of TRCReady System and New Reagents ····· Satoshi TODEN··· (277)

総説

微生物検査における自動化

Automation in Clinical Microbial Testing

木村由美子[1)]，柳原克紀[1,2)]

はじめに

微生物検査は2000年頃より同定・薬剤感受性検査に関しては自動機器が普及し始めたが，検体搬送から測定，測定後の検体保管まで自動化された生化学検査，血液検査，免などの検体検査に比して，臨床検査技師の個人的な手技や経験に依存してきた歴史があり迅速性および自動化の面でやや遅れをとっていた。このような中，2016年に日本政府より薬剤耐性（AMR）アクションプランが提唱され，各施設にて抗菌薬適正使用支援チーム（Antimicrobial Stewardship Team：AST）が発足，感染症診療においても早期の適切な診断・治療が求められ，微生物検査のより迅速な結果報告が望まれている。このようなニーズに応えるべく，近年，検体処理装置の開発や質量分析，遺伝子検査などの新しい技術を取り入れた検査機器が次々に開発され，微生物検査の自動化が飛躍的な進歩を遂げようとしている。

1．塗抹検査

グラム染色には，フェイバー法やバーミー法があり，標本の厚さや脱色時間などで染色性の影響を受けやすく，経験を含めた個人的な手技に左右される。染色技術の統一化が難しく，染色者による品質の差が潜在的に存在していると考えられ，自動化することにより熟練度による差が解消できる。グラム染色の自動装置としては，POLY STAINER（関東化学株式会社）とPREVI™カラーグラム（ビオメリュー・ジャパン株式会社）がある。POLY STAINERは検体固定（火炎固定またはメタノール固定）後の染色から乾燥までを行う装置で，一度にスライドグラスが20枚まで染色が可能である。また，染色方法や染色液に合わせて浸透時間や上下動時間などの設定，複数の染色プログラムを登録することができ，血液検査や病理検査でも使用可能な装置である[1)]。PREVI™カラーグラムは，固定から乾燥までを行う装置でスライドグラス12枚用と30枚用がある。検体の厚さなど特徴に従った，固定（オフ/普通/高），脱色（1～9），染色（低/中/高）の強度のカスタマイズが可能で多様な検体に対して染色結果のばらつきを防止する機能がある。このように染色の自動化には，品質面での均一化が可能であり，また，用手的な時間の節約，担当者不在の時間帯でのグラム染色の実施という利点もある。

Yumiko KIMURA[1)]，Katsuhiko YANAGIHARA[2)]
〒852-8501　長崎市坂本1-7-1
[1)] 長崎大学病院 検査部
[2)] 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 病態解析・診断学分野（臨床検査医学）
[1)] Department of Laboratory Medicine, Nagasaki University Hospital, 1-7-1 Sakamoto, Nagasaki 852-8501, Japan.
[2)] Department of Laboratory Medicine, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, 1-7-1 Sakamoto, Nagasaki 852-8501, Japan.
TEL：095-819-7415（生理機能検査室）
　　095-819-7574（臨床検査医学）
E-mail：y-kimura@nagasaki-u.ac.jp

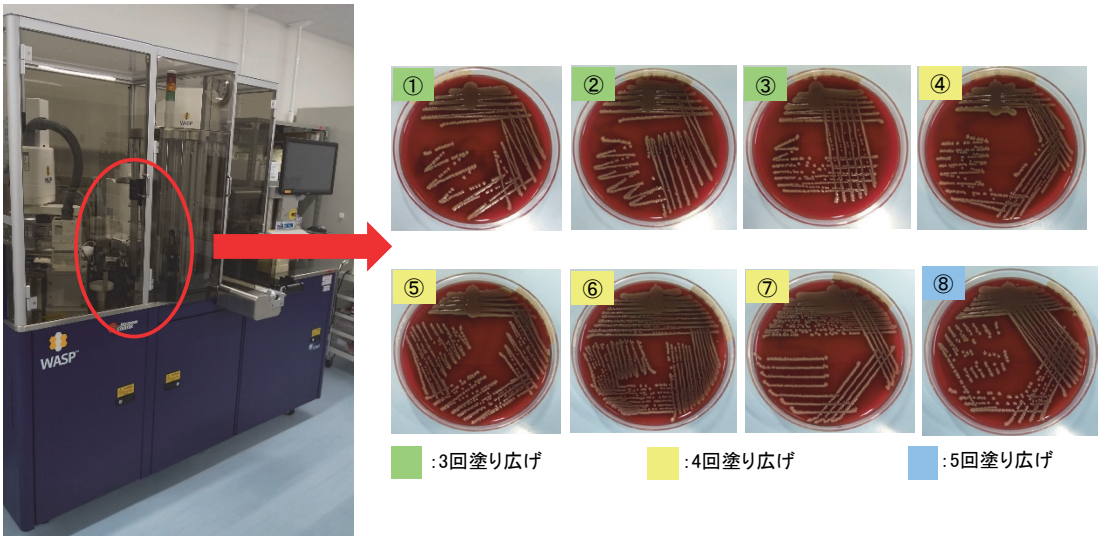


図1 WASP微生物検体処理システムと検体塗布パターン例

図2 BDキエストラ™ イノキュラ＋™全自動塗布装置（赤矢印：インキュベーター）

図3 全自動血液培養装置 バクテアラートVIRTUO™ 赤矢印に培養ボトルを置くと自動で装置の中へ装填、自動登録が行われる。

2. 培養検査

培養検査には，提出された検体の種類や目的菌を考慮して判断し培地への検体を塗布する作業が含まれ，微生物検査室業務の中で最も長い時間を割く工程である[2]。よって，この工程における自動化は，日常業務を行う上で大幅な時間の節約につながる。近年，海外では微生物検査の集約化が進んでいることもあり，検体塗布を自動で行う装置が先行して利用されてきている。この自動装置としては，WASP微生物検体処理システム（ベックマン・コールター株式会社）やBD キエストラ™ イノキュラ＋™全自動塗布装置（日本ベクトン・ディッキンソン株式会社）があり，主に検体の前処理から培地へ塗布する工程が自動化されている。WASP微生物検体処理システムは，最大9種類の培地を配置することが可能であり，分画培地にも対応している。検体の塗布量は1μl，10μl，30μlのいずれかのループ（白金耳）で調整可能であり，塗布法も様々なパターンがある（**図1**）。また，培地1枚あたり約20秒で塗布可能となっており，ループ中の検体を内蔵カメラでモニターすることで確実な塗布が保証されている。

オプション機能としては，塗沫標本の作製，感受性ディスクの接種，接種検体の増菌ブロスへの接種等もでき，搬送ラインを繋ぐことによりインキュベーターへの培地搬送も可能である。BD キエストラ™ イノキュラ＋™全自動塗布装置は，WASPのループによる塗布と異なり，磁気ビーズで検体塗布を行う。そして，5枚同時の検体塗布が可能である。この磁気ビーズでの検体塗布は通常の検体塗布に比して，3〜5倍単独コロニーが得やすいと言われている[3]。また，セミオートモードがあり，液状検体やスワブ検体，粘稠度の高い検体など幅広い検体での対応が可能である。この装置もオプション機能として塗抹標本の作成，撮影機能付きインキュベーターの増設が可能である（**図2**）。また，培養後のコロニーを観察できるシステムもあり，検体塗布から培養，釣菌までの工程がこの1台で可能となるなど拡張性のあるデザインとなっている。

血液培養に関しては，これらの装置とは別に独自の進化を遂げている。血液培養装置としては，BDバックテック™ FXシステム（日本ベクトン・ディッキンソン株式会社），全自動血液培養装置VersaTREK®システム（ベックマン・コールター株式会社），バクテアラートシリーズ（ビオメリュー・ジャパン株式会社）がある。BDバックテック™ FXシステムは，ER（救命救急室）やICU（集中治療室）などにも設置可能な40本タイプの小型の装置から400本培養可能な大型の装置があり，培養ボトルも臨床のニーズに合わせ選択可能なボトルラインナップ（好気用ボトル，嫌気用ボトル，小児用ボトル，真菌・抗酸菌用ボトル）となっている。測定原理としては，真菌・抗酸菌用ボトル以外はCO_2の変化を蛍光法で10分毎に測定し，陽性解析を行なっている。陽性ボトルがある場合は，警報音や画面のインジケータで知らせることとなっている。全自動血液培養装置VersaTREK®システムは96本のタイプから144本，240本，そして最大528本の装置展開となっている。ボトルの種類は好気用ボトル，嫌気用ボトルの2種類，ただし，適用採血量が0.1mlからと小児など採取血液量が少ない場合でも検査が可能で測定原理としては，O2の消費やCO2以外のガス圧を検知し，CO2非産生や産生量の少ない微生物であっても検出可能となっている。バクテアラートシリーズでは，バクテアラート3D™に新しくバクテアラートVIRTUO™が加わった。このVIRTUO™は，ボトルの自動装填，自動登録，自動取り出し（廃棄を含む）をはじめて実現した全自動血液培養分析装置となっている（**図3**）。

3. 同定検査・薬剤感受性検査

同定・薬剤感受性検査は，微生物検査の中ではいち早く自動化および迅速化が進んだ分野でもある。近年，質量分析装置（Matrix-assisted laser desorption / ionization time-of-flight mass spectrometry: MALDI-TOF MS）の登場により（**図4**），同定検査においては生化学的同定法に比して短時間で結果が得られ，同定結果の報告時間が一日程度短縮した。この技術は，2002年にノーベル化学賞を受賞した田中耕一先生が大きく貢献したことでも広く知られている。MALDI-TOF MSは，主に同定する菌が保有するリボソームタンパク質の質量パターンを測定したのち，データベース中の既知の菌種特有のパターンと照合し，マッチ率を利用して機器が菌種を自動判定する[4]。そして，一般的な生化学的同定法との一致率は種レベルで約85%，属レベルで約95%と報告されている[5]。また，生化学的同定法では同定できなかった菌に関してMALDI-TOF MSを用いることにより同定できることがしばしば経験され，一般細菌以外の真菌菌や抗酸菌，発育の遅い嫌気性菌の同定も可能である。このように従来法では同定できなかった菌が判明することによって新しい疾患群の確立や病態解明につながるなど，感染症診療および学問的発展にも貢献できるものと考える。

薬剤感受性検査は，一定濃度の抗菌薬を含ませたディスクを用い原因微生物の発育をどの程度阻止したかを計測するディスク拡散法とプレートを用い段階的に希釈した抗菌薬のどの濃度が原因微生物の発育を阻止したかを測定する微量液体希釈法がある。1990年代初めまではディスク法が主流であったが，2000年代に入り微量液体希釈法での検査の導入が進み，現在90%以上の施設で実施されている（**図5**）。これは，全自動細菌同定感受性システムであるマイクロスキャンWalkAway（ベックマン・コールター株式会社）やBD フェニックス™（日本ベクトン・ディッキンソン株式会社），バイテック2（ビオメリュー・ジャパン株式会社），RAISUA（日水製薬株式会社）などが普及したためである。これらの装

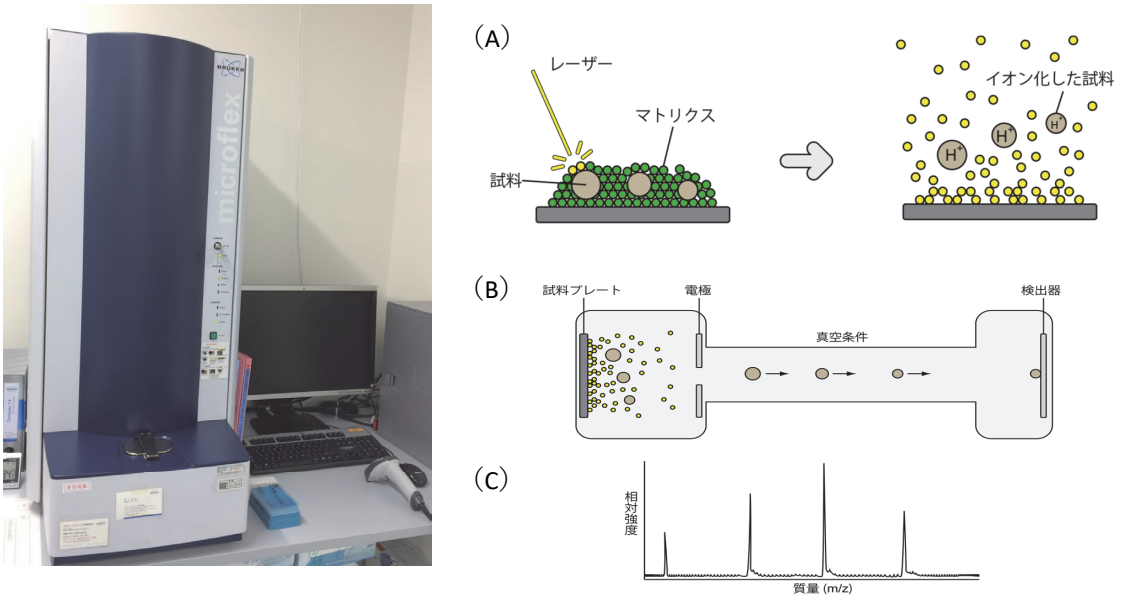


図4 質量分析装置 MALDI-TOF MS
レーザーでイオン化した高分子を飛散させ(A), 真空管の中での飛行時間を測定して(B) マススペクトルを作成する（C）ことにより，主にタンパク質の質量を分析する。

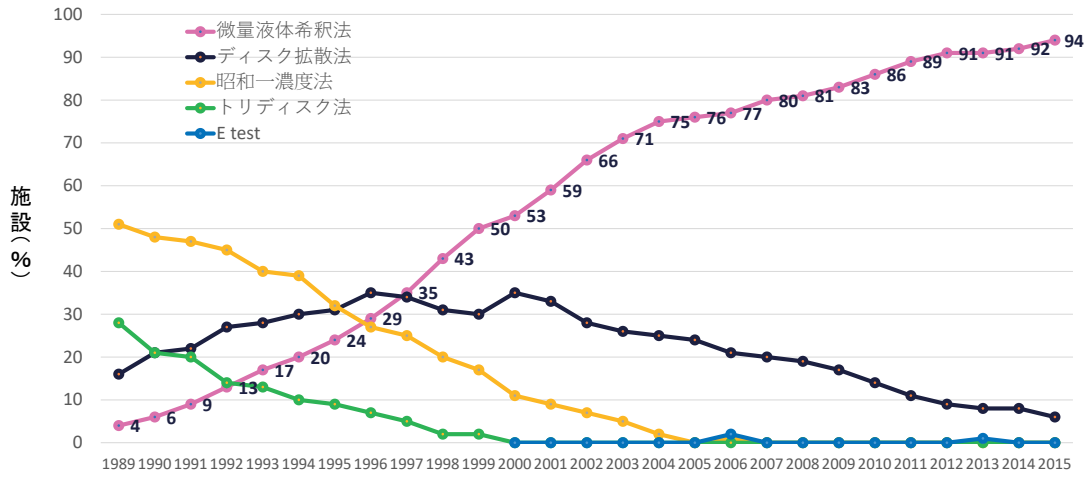
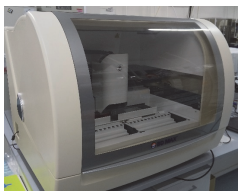
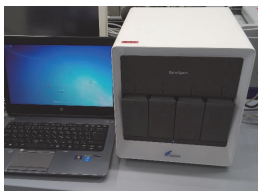
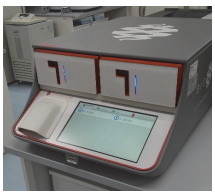


図5 本邦における薬剤感受性検査法の推移（日本臨床検査技師会臨床検査精度管理調査より改変）
1990年代初めまではディスク法が主流であったが，2000年代に入り微量液体希釈法での検査の導入が進み，現在90%以上の施設で微量液体希釈法が実施されている 。

表1　代表的な全自動核酸増幅検査機器

検査機器	BD-MAX	GeneXpert®システム	FilmArray®システム	Verigene®システム
				
測定時間	約120分	約60～90分	約120～150分	約120分
主な測定項目	*C. difficile* トキシンB MRSA CRE（*bla*KPC、*bla*OXA-48、*bla*NDM） 腸管感染症	結核菌群とリファンピシン耐性遺伝子 CRE（KPC、NDM、VIM、OXA-48、IMP-1） VRE（VanA、VanB）	呼吸器パネル（インフルエンザウイルス、マイコプラズマ、ヒトメタニューモウイルス、コロナウイルスやヒトライノウイルス/エンテロウイルス、クラミジア・ニューモニエ、百日咳菌） 血液培養パネル（グラム陽性菌・陰性菌、酵母用真菌、薬剤耐性遺伝子） 髄膜炎・脳炎パネル（脳脊髄中の細菌、ウイルス、酵母用真菌）	血液培養カートリッジ ・グラム陽性菌薬剤耐性核酸テスト（BC-GP） ・グラム陰性菌薬剤耐性核酸テスト（BC-GN） *C. difficile*カートリッジ トキシンA・B、Binary toxin

～参考文献10～13を改変（黒字は体外診断用医薬品）～

置の登場により，結果報告までの時間の短縮。試薬の管理が簡便となったほか，薬剤感受性の客観的な評価が可能となった[6]。

また，MALDI-TOF MSによる薬剤耐性菌の検出は今後の課題である。方法としては，抗菌薬を分解する酵素の一つであるカルバペネマーゼそのものを検出するのではなく，菌が抗菌薬を分解するか否かを識別することで耐性菌か否かの判断が可能となる[7]。より検討を重ね臨床応用されることを期待する。

4. 遺伝子検査

薬剤耐性菌の急速な増加と多様化に伴い，いかに抗菌薬を適正に使用し，薬剤耐性菌の蔓延を防ぐかが重要視されている。そして，薬剤感受性結果のより迅速な報告が求められている。この迅速な報告を可能とする検査法として，遺伝子検査に注目が集まっている。従来から遺伝子検査は微生物検査の新しい方法として注目されてはいたが，核酸抽出やプライマーやポリメラーゼ等の試薬の調整など労力とコストの問題があった。また，精度管理も難しく，大々的な普及には至らなかった。しかしながら，ここ数年，病原微生物や薬剤耐性遺伝子などを同時に多項目検出できる全自動核酸増幅検査機器が登場してきた。検体あるいは菌株を装置にセット後，核酸抽出から増幅，判定までが1台で完結，自動化されており，手間や時間が大幅に軽減されている。また，操作者の技術によらず精度が担保され，コンタミネーションのリスク回避が可能である。

代表的な全自動核酸増幅検査機器として，BD-MAX（日本ベクトン・ディッキンソン株式会社），GeneXpert®システム（ベックマン・コールター株式会社），FilmArray®システム（ビオメリュー・ジャパン株式会社），Verigene®システム（日立ハイテク株式会社）などがある。これらの装置は，測定時間や測定項目の設定など機器それぞれで特徴がある（**表1**）[8-11]。

特にFilmArray®システムとVerigene®システムは血液培養にて陽性となったボトルの培養液から直接，病原微生物と薬剤耐性遺伝子の検出が可能である。FilmArray®システムでは，細菌19項目（グラム陽性菌8菌種，グラム陰性菌11菌種），酵母様真菌5項目および薬剤耐性遺伝子3項目の計27項目を検出，Verigene®システムでは，グラム陽性菌12項目と薬剤耐性遺伝子3項目の計15項目，グラム陰性菌9項目と薬剤耐性遺伝子6項目の計15項目の検出が可能となっている。検出時間としてはFilmArray®システムが1時間程度，Verigene®システムでは2

時間半程度と両システムとも迅速性に優れ，血流感染症の診断，治療に大きく貢献できると思われる。また，FilmArray®システムでは，ウイルスや培養困難な細菌を含む呼吸器感染症に特化したものや髄膜炎の原因微生物である細菌や真菌，ウイルスが検出できるものもある。よって，これまでの微生物検査では診断に至らなかった感染症の一部が診断できる可能性が考えられる。

BD-MAX，GeneXpert®システム，GENECUBE®では，単独の病原微生物の検出が充実している。検出できるものとしては，クロストリジオイデス・ディフィシルトキシンB，結核菌，非結核性抗酸菌，マイコプラズマ・ニューモニエ，MRSA，性感染症としてのクラミジアならびに淋菌などがある。また，研究用として耐性遺伝子が検出できるものもあり感染対策面で活用が期待できるものも多い。

このような遺伝子検査を診療に活用するために，日本感染症学会感染症遺伝子検査委員会および日本臨床微生物学会感染症領域新規検査検討委員会の合同チームが，2017年3月に「敗血症などの重症感染症に対する遺伝子関連検査の実施指針」を作成，その後，2018年4月に「多項目遺伝子関連検査の実施指針」と名称を変更して内容を改訂した。この実施指針では，推奨される医療機関，対象患者群ならびに結果の解釈等に関して記載されている。そして，日本感染症学会が遺伝子検査の現状や要望を把握するためアンケート調査を実施，感染症関連の遺伝子検査について専門医・非専門医に関係なく多くの医師がその必要性・重要性を認識していたが，コストや保険適用の問題から院内で実施していない施設が多かった。また，感染症関連の遺伝子検査は感染症診療および感染制御に貢献できる検査であると認識しているが，海外に比して日本では導入が遅れている，などの意見が明らかとなった。この海外とのギャップについては行政とも連携し解決していく課題の一つである[12]。

2019年に発生した新型コロナウイルス（Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2）の世界的アウトブレイクは，深刻な問題となっている。本ウイルスの検出には遺伝子検査が大きな役割を果たしており，自動化が進むことで検査数の増加に貢献できることが期待される。

5. 抗原検査

イムノクロマト法を原理とする抗原検査には，インフルエンザウイルス検査，RSウイルス検査，ヒトメタニューモウイルス検査，アデノウイルス検査などや便検体を用いたロタウイルス・アデノウイルス検査，クロストリジオイデス・ディフィシル検査などがある。一般的にこれらの検査は，スワブに採取した検体を用いて試薬と反応させ，キットに滴下し，一定時間での反応後，目視で判定を行っている。簡便かつ迅速なため，クリニックなどを含め多くの施設で幅広く利用されている。特にインフルエンザウイルス抗原検査は，臨床検査技師の他にも医師，看護師などが行うことが比較的多い。そして，目視判定には個人差もあり，反応時間の厳守や判定の統一化が難しく，判定時間を超過した際の偽陽性など精度保証の観点からは問題も多い。そのため，イムノクロマト法においても装置を用いた自動判定が必要である。近年，インフルエンザウイルス，マイコプラズマウイルス，RSウイルス/アデノウイルス，A群溶連菌の他，尿中抗原の肺炎球菌やレジオネラなども専用の装置が登場している[13]。検体処理と各キットへの添加までは用手的におこない，装置で判定の読み取りを行う。装置を用いるため，陽性・陰性コントロールなどの精度管理を実施する必要はあるが，検査を専門としていない施行者でも客観的に判定することができ，より正確な結果報告につながるものと思われる。

おわりに

自動機器が導入されることにより微生物検査を効率よく実施することができる。そして，迅速な結果報告，結果報告の均一化が図られるなどメリットも多い。また，近年，ICTやASTに関する業務，ISO15189に関連する業務拡大など，求められている業務が拡大しており，限られた人的資源を知識や技量が必要な過程に配置するためにも自動化は重要である。ただ，新しい検査法の有用性や限界を正しく把握し，導入することが望まれる。

本論文の発表に関連して，開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文　献

1）湖城明子：改良グラム染色液 neo-B&Mワコーと自動染色装置PORY STAINERを用いたグラム染色検査の実用性について　医療と検査機器 試薬 25, 455-465, 2002

2）Dauwalder O, Landrieve L, Laurent F, et al. Does bacteriology laboratory automation reduce time to results and increase quality management? Clin Microbiol Infect. 2016 Mar;22(3):236-43.

3）Mutters NT, Hodiamont CJ, de Jong MD, et al. Performance of Kiestra total laboratory automation combined with MS in clinical microbiology practice. Ann Lab Med. 2014 Mar;34(2):111-7.

4）東山智宣，中西豊文，田窪孝行：質量分析法（MALDI-TOF MS）を用いた臨床微生物同定と感染症迅速診断への応用　Mycotoxins, 63 (2), 209-216 (2013)

5）van Veen SQ, et al . High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted lasor desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. J Clin Microbiol. 2010 Mar;48(3):900-7.

6）Brisse S, Stefani S, Verhoef J, et al. Comparative evaluation of the BD Phoenix and VITEK 2 automated instruments for identification of isolates of the Burkholderia cepacia complex. J Clin Microbiol. 2002 May;40(5):1743-8.

7）Kawamoto Y, et al .Performance evaluation of the MALDI Biotyper Selective Testing of Antibiotic Resistance-β-Lactamase (MBT STAR-BL) assay for the detection of IMP metallo-β-lactamase activity in Enterobacteriaceae. Diagn Microbiol Infect Dis. 27 Jun 2018, 92(4):275-278

8）Hofko M, Mischnik A, Kaase M, et al. Detection of carbapenemases by real-time PCR and melt curve analysis on the BD Max system. J Clin Microbiol. 2014 May;52(5):1701-4.

9）Ulrich MP, Christensen DR, Coyne SR, et al. Evaluation of the Cepheid GeneXpert system for detecting Bacillus anthracis. J Appl Microbiol. 2006 May;100(5):1011-6.

10）Loeffelholz MJ, Pong DL, Pyles RB, et al. Comparison of the FilmArray Respiratory Panel and Prodesse real-time PCR assays for detection of respiratory pathogens. J Clin Microbiol. 2011 Dec;49(12):4083-8.

11）Sullivan KV, Turner NN, Roundtree SS, et al. Rapid detection of Gram-positive organisms by use of the Verigene Gram-positive blood culture nucleic acid test and the BacT/Alert Pediatric FAN system in a multicenter pediatric evaluation. J Clin Microbiol. 2013 Nov;51(11):3579-84.

12）柳原克紀，ほか　感染症遺伝子検査に関するアンケート調査　感染症誌　92:331-338, 2018

13）小暮政雄，長井健祐，宮田光紀，他：イムノクロマトグラフィーを原理としたA群ベータ溶血連鎖球菌抗原キット「クイックチェイサー(R) Auto Strep A」の臨床的有用性の検討　医学と薬学 72(2):339-344, 2015.

翼状採血針における製品別の溶血率調査

Survey of Hemolysis Rate in Butterfly Needles Produced by Different Manufacturers

市村直也[1)]　萩原三千男[1)]　東田修二[1)]

Abstract　Butterfly needles from different manufacturers have different specifications. For example, the diameter of their needles and tubes influences flow volumes through the flow passage. Therefore, flow velocities may vary when different types of needles are used in venipunctures. High flow velocity damages red blood cells due to shear stresses; therefore, there is risk of hemolysis. Few studies, however, have examined the association between various butterfly needles produced by different manufacturers and hemolysis rates. In this study, we aimed to examine whether hemolysis rates are different for various butterfly needles produced by different manufacturers. A significant difference in hemolysis rates was observed among the blood samples dispensed using the three test needles. The highest hemolysis rate was observed for samples dispensed using a needle that had the fastest flow rate when aqueous glycerol solution was used in this study. Moreover, after discontinuing use of a test needle from one of two manufacturers in our blood sampling room, the hemolysis rate in venipunctures reduced significantly. Our study showed that there is a difference in the hemolysis rate between butterfly needles produced by different manufacturers. It is important to verify the performance of butterfly needles in each clinical setting considering manufacturer differences.

Key words　venipuncture, butterfly needle, Hemolysis, pre-analytical process

1. はじめに

溶血は，血球から漏出した成分の測り込みやヘモグロビンによる吸光度の干渉，また遊離したプロテアーゼによる測定対象物の分解などにより，臨床検査値を変動させる[1)]。溶血が生じる要因として採血器具の影響が検討されており，例えば，採取方法がシリンジ採血か真空採血か，採血管容量の大小，採血量が容器容量に対して半分以下かそれ以上かといった条件で，溶血率に差があることが示されている[2)]。採血針に関連する報告には，針のゲージ数が，その大小と溶血頻度の間に相関は見出されていないものの，一般に23G以下の使用が勧められている[3)]ことや，直針または翼状採血針（以下，翼状針）がカテーテル針よりも溶血率が低かったとする報告がある[4,5)]。

翼状針は複数の部品からなり，針管刺入部の外径と長さ以外は規格が製品で異なる。特に針管やチューブの内径の違いは流路での血液の流速に影響する。流路を流れる血球には，血液の粘性と流れの速度勾配に比例するズリ応力が作用し，流れの方向に血球を歪ませる。

ズリ応力 $\tau = \mu \frac{dv}{dr}$　μ：粘度，v：流速，r：壁からの距離

この歪みが血球の変形能を超えると，血球が破断して溶血となる。このことから，翼状針の製品規格の違いが溶血率の差として現れる可能性があるが，製品間で溶血率を比較した報告は見当たらない。

Received Nov. 12, 2019; Accepted Nov. 27, 2019
Naoya ICHIMURA[1)], Michio HAGIHARA[1)], Shuji TOHDA[1)]
[1)]東京医科歯科大学医学部附属病院検査部
東京都文京区湯島1-5-45
Clinical laboratory, Medical Hospital of Tokyo Medical and Dental University 1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo, Japan
Corresponding author：市村直也
TEL：03-5803-5624（直通）　FAX：03-5803-5618
E-mail：naoya.mlab@tmd.ac.jp

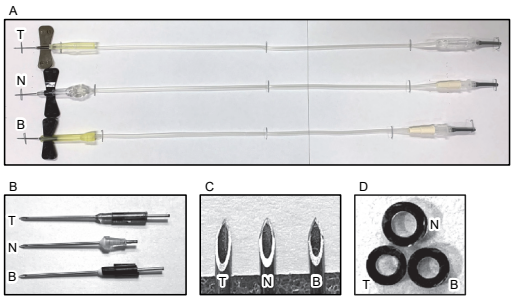


Fig. 1 Images of butterfly needles.
A)Whole images, B)Needles, C)Needle tips, D)Cross sections of tubes. In this picture, cross sections were painted black.

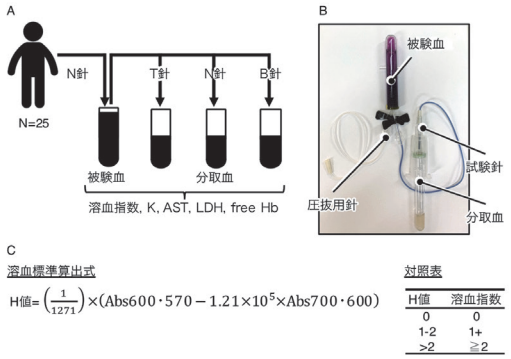


Fig. 2 Experimental verification of hemolysis by butterfly needle phlebotomy.
A)Donor blood was taken from volunteers, and then dispensed using three test needles. Hemolysis index and some laboratory tests in donor and dispensed blood were measured, B)Aliquot method from donor blood to dispensed blood, C)Hemolysis index determination.

本研究は，製品規格の違いがズリ応力を変動させて溶血率に影響するという仮説のもとに，翼状針採血での溶血率の製品間差の有無を検証することを目的とした。

2. 材料および方法

1）翼状針

検討はシュアシールド®翼付き採血セット（MN-SVS22BS，テルモ社，以下T針），ルアーアダプター付きセーフタッチ®PSVセットホルダー付（32-385，ニプロ社，以下N針），バキュテイナ®セーフティロックウイングコレクションセット　ルアーアダプター付き（34341，BD社，以下B針）の3種類，いずれも22G翼状針を試験針とした(**Fig. 1**)。製品規格について，長さ，内径やベベル面の吸引口面積を計測し，T針の計測値を1としたときの各社の値を算出した。なお，内径と吸引口面積の計測は，同時に撮影した製品画像を画像処理ソフト（Gimp version 2.10.4）でトレースし，そのピクセル数を計測値とした。

2）流路内の平均流速

試験針でグリセリン水溶液50w/w%を採血容量2mLの真空採血管（VP-H052K，テルモ社）で吸引した。グリセリン水溶液が針先端からチューブ途中までの30cmを通過する時間を目視計測し，距離30cmを流れる間の平均流速を算出した（N=10）。

3）実験的検証

健常人ボランティア(25名)からN針で被験血(N=25)を採血した（**Fig. 2**）。この被験血から容量6mLの真空採血管（VP-AL076K，テルモ社）に試験針で各3mL分取した（**Fig. 2A**）。この被験血と分取血の溶血指数（Hemolysis Index，以下HI），カリウム，AST，LDHをLabospect008（日立ハイテクノロジーズ社），free Hbを用手法（DIHB-250，BAS社）により測定した。被験血と分取血の測定値の比を算出して，分取による検査値の変動の大きさ比較した。分取血は，被験血の入った採血管に試験針と被験血管内の圧を逃すための圧抜用針を穿刺して分取した（**Fig. 2B**）。HIはLabospec008の標準設定によりH値を算出し，対照表により判定した（**Fig. 2C**）。なお本研究は，東京医科歯科大学医学部の倫理審査委員会の承認を受けて実施した（承認番号：M2018-218）。

4）臨床検体での検証

当院中央採血室では，翼状針をT針とN針の併用から，移行期間を経てT針の使用を中止した。この経過における2017年4月から2018年9月までの生化学検体での溶血率を集計した。また同時に採取した血算の測定値を用いて，溶血率をヘマトクリット値（以下，Hct）で層別化した。

5）統計

統計処理はR version 3.4.4で行った。製品間の平均流速の比較はTukey-Kramer 検定，溶血頻度における製品間差の有無はχ^2検定で検討した。また臨床検査値の変動の大きさの製品間比較はSteel-Dwass法で検討した。いずれも有意確率$p<0.01$を統計学的に有意と判断した。

Table 1. Summary of specifications of test needles.

Parts	Property	T	N	B
針管	全長	1.00	0.78	0.94
	内径	1.00	0.96	1.00
	吸込口面積	1.00	0.87	0.85
チューブ	全長	1.00	0.92	0.93
	内径	1.00	1.21	1.02
全体	全長	1.00	1.00	0.94

Table 2. Frequency of hemolysis in the experimental verification.

	Hemolysis Index				
Needle	0	1+	≧2+	total	p value
被験血					
T	25	0	0	25	
分取血					
T	13	12	0	25	< 0.01
N	25	0	0	25	
B	25	0	0	25	

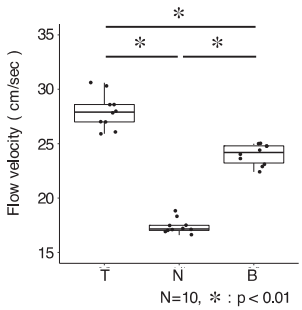


Fig. 3 Flow velocity through flow passage of butterfly needles.

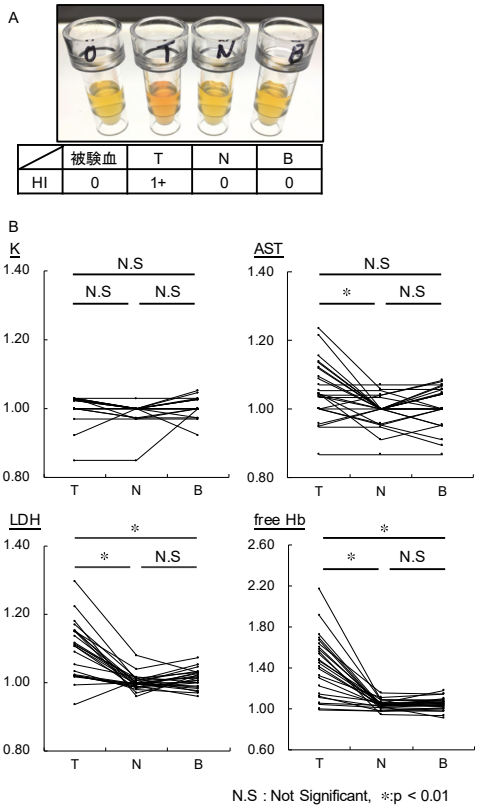


Fig. 4 Influence of hemolysis on clinical laboratory tests in the experimental verification.
A)Optical observation of hemolysis by products, B) Change of test results by dispensing using butterfly needles.

3. 成績

1）製品規格の比較

試験針の針管とチューブの規格をまとめた(**Table 1**)。T針との比較で10%以上の差を認めた規格は，N針の針管全長が22%短く，N針とB針の吸引口面積がそれぞれ13%，15%小さかった。またN針のチューブの内径が21%大きかった。

2）流路内の平均流速の比較

翼状針流路内を流れるグリセリン水溶液の流速を測定した（**Fig. 3**)。グリセリンが距離30cmを流れる間の平均流速について統計学的検定を実施した結果，すべての試験針間の比較で有意な差を認めた。平均流速の中央値は，T針が28cm/secで最大，B針が24cm/sec，N針が17cm/secで最小であった。

3）溶血率の実験的検証

被験血から試験針で採取した分取血の溶血率を調査した（**Table 2**)。分取血のうちT針でのみ，HI 1+の頻度が25件中12件（48%）であり，統計学的に有意な差を認めた。HI 1+の肉眼的溶血所見は，T針の血漿が他社よりも僅かに褐色を呈していた（**Fig. 4A**)。

分取前後の臨床検査値の変動を試験針間で比較した（**Fig. 4B**)。検査値の変動の大きさについて統計学的検定を実施した結果，ASTではT針とN針との間のみ，またLDHとfree HbではT針と他2社との間で有意な差を認めた。一方，N針とB針の比較では有意な差を認める項目はなかった。

4）臨床検体での溶血率

当院中央採血室でのHI 1+の発生率を検証した（**Fig. 5A**)。HI 1+の割合は，T針とN針の併用期間では平均

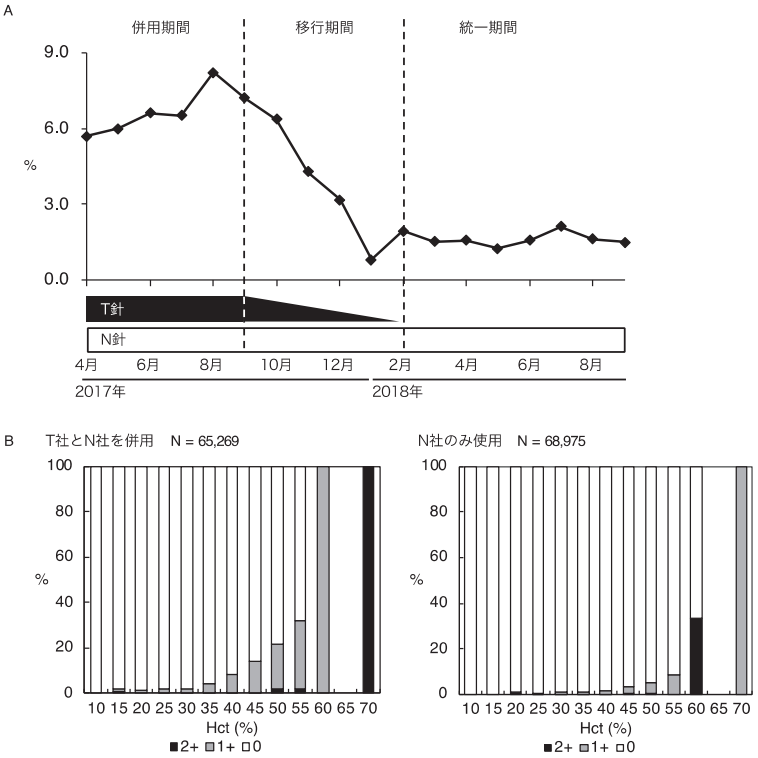


Fig. 5　Change of hemolysis rate in blood sampling room.
A)Change of the percentage of HI 1+ after discontinuing use of the T needle, B) Hematocrit based stratification of hemolysis rates. left panel : both T needle and N needle were used, right panel : N needle was used alone.

Table 3.　Frequency of hemolysis in venipuncture after discontinuing use of the T needle.

	Hemolysis Index				
Needle	total	0	1+	2+	p value
N+T	65,269	60,786	4,385	98	< 0.01
N	68,975	67,800	1,100	75	

6.7%であったが，T針中止の移行期間で漸減をはじめ，N針統一後の2018年2月以降では平均1.6%で推移した。T針中止前の2017年4月から9月までと，中止後の翌年同期間における溶血頻度について統計学的検定を実施した結果，有意な差を認めた（**Table 3**）。また，この期間でのHI 1+の発生率をHctで層別化したところ，併用期間ではHctの増大に伴ってHI 1+の割合が増加する傾向を認めたが，N針統一後はその傾向が著明に減少していた（**Fig. 5B**）。

4. 考察

本研究では，翼状針の使用が溶血の原因となりうることを示した。実験的な検討では，HI 1+の発生率に3社の22G翼状針のうちT針で差を認め，溶血に対して感受性が高い検査項目では，検査値が10%以上変動する例があることを示した。また実際の患者採血においても，HI 1+の発生率がT針の使用中止で顕著に減少したことを示した。これらの結果から，翼状針の製品には，溶血率が他社に比べて大きい製品があることが明らかとなった。

溶血量は，ズリ応力（粘性と速度勾配の積）とその曝露時間の２つのパラメータからなるモデル式が提案されている[6]。

$$\text{溶血量}\frac{\Delta Hb}{Hb}=C\cdot\tau^{\alpha}\cdot t^{\beta}$$ C: 係数, τ : ズリ応力, t: 曝露時間

今回の検討では，グリセリン溶液の平均流速と溶血率がT針で最大であったことは，上述のモデル式とも符合する。さらに血液粘性の最大要因はHctであり[7]，Hct依存的な溶血率上昇は，翼状針で生じる溶血にズリ応力が関与することを支持する。T針とB針の規格の比較では，ベベル面の吸込口面積がおよそ15%ほど大きい以外はほぼ同じであった。このことから溶血率がT針で最大となった原因は，吸込口面積が最大かつN針よりもチューブ内径が細いために，流路内の流速とそれによるズリ応力が比較した3社のなかで最大となったためであると考える。

本研究では，22G針と6mL採血管の組み合わせによる検討で溶血を起こしやすい製品があることを実験的に示した。流路内の流速は，流体が円管内を層流で流れる場合の流量を算出するハーゲン・ポアズイユの式の変形から，患者要素を考慮しない場合，流路の内径と長さ，および圧力差すなわち採血管容量により変動する。

$$\text{流速 } v=\frac{r^2\Delta p}{8\mu l}$$

r: 管半径, Δp: 管両端の圧力差, μ: 粘度 l: 管長

したがって本研究の翼状針と採血管の組み合わせ以外では，流路内の流速が変わることが想定され，溶血率の再現性は不明である。ただし容量の大きな採血管の使用は，その大きな圧力差により流路内の流速が増加するために溶血のリスクとなる。これは，採血管容量が10mLよりも5mLで溶血率が有意に低いとする報告とも一致する[8]。また抜針後にチューブに残った血液を採血管の残圧で回収する手技は，流路内の流速を瞬間的に増加させることになり，溶血リスクを高めるため中止すべきである。しかし，どの程度の吸引圧であれば溶血を抑えられるのかは，翼状針と採血管の組み合わせによると考えられ，施設ごとの検証が必要である。

5. 結論

翼状針には，その使用により溶血の発生頻度に製品間差が存在し，溶血を起こしやすい製品が存在する。翼状針の採用にあたっては，施設で使用する採血管の組み合わせを考慮した検証が必要である。

なお本論文の要旨は，日本臨床検査自動化学会第51回大会（2019年10月）にて発表した。

本論文の発表に関連して，開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文 献

1) Lippi G, Blanckaert N, Bonini P, et al. Haemolysis: An overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories. Clin Chem Lab Med. 2008;46(6):764–772.
2) McCaughey EJ, Vecellio E, Lake R, et al. Key factors influencing the incidence of hemolysis: A critical appraisal of current evidence. Crit Rev Clin Lab Sci. 2017;54(1):59–72.
3) 日本臨床検査標準協議会，標準採血法ガイドライン，GP4–A3, 学術広告社; 東京，2019;32–35.
4) Wollowitz A, Bijur PE, Esses D, et al. Use of butterfly needles to draw blood is independently associated with marked reduction in hemolysis compared to intravenous catheter. Acad Emerg Med. 2013;20(11):1151–1155.
5) Grant MS. The effect of blood drawing techniques and equipment on the hemolysis of ED laboratory blood samples. J Emerg Nurs. 2003;29(2):116–121.
6) Ostadfar A. Hemolysis in Medical Devices. Int J Biosens Bioelectron. 2018;2(5):166–167.
7) 前田信治. 血液のレオロジーと生理機能第2回：血液粘度に影響する要因と解析. 日本生理学雑誌. 2004;66(9):287–297.
8) Cox SR, Dages JH, Jarjoura D, et al. Blood samples drawn from IV catheters have less hemolysis when 5-mL (vs 10–mL) collection tubes are used. J Emerg Nurs. 2004;30(6):529–533.

液状プロトロンビン時間測定試薬「コアグピア® PT-Liquid」の性能評価

Basic Performance Evaluation of a Liquid-type Prothrombin Time kit, "Coagpia® PT-Liquid"

佐藤有紗[1)]　藤岡恵子[1)]　古徳久美子[1)]　大西健悟[2)]　小森満理絵[2)]　池田　聡[1)]

Abstract　The performance of Coagpia® PT-Liquid Reagent（PT-L, SEKISUI MEDICAL）, a novel, ready-to-use prothrombin time reagent was evaluated. PT-L was accurate, had good within-run precision, a satisfactorily low limit of quantitation, and linearity in interference studies. PT-L had a lower sensitivity for unfractionated heparins than Coagpia® PT-N Reagent（SEKISUI MEDICAL）and Thromborel S（Th-S, SYSMEX）, which are lyophilized reagents. In the evaluation of 179 plasma samples, the PT-L results were correlated with those of PT-N（r=0.983, y=1.01x+0.12）and Th-S（r=0.958, y=1.06x－0.786）. In plasma samples from 20 healthy donors, the mean normal PT and international sensitivity index, which are used in vitamin K antagonist therapy, were approximately 12 s and 1.0, respectively. The performance and precision results support the routine clinical use of PT-L. Lyophilized reagents require reconstitution prior to their use and are likely to cause differences in performance between vials. The study results indicate that PT-L would improve PT assay performance and its usability.（166 words）

Key words　prothrombin time, PT, PT-Liquid, Liquid-type PT, CP3000

1. はじめに

プロトロンビン時間（PT）は凝固時間法を原理とする基本的な凝固系スクリーニング検査であり，主に内因系凝固因子が関与する凝固異常を反映する活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）に対し，PTは外因系および共通系凝固因子が関与する凝固異常を反映する。PT試薬には組織因子（TF）および凝固反応の場となるリン脂質と反応に必要なカルシウムイオンが含まれており，検体へPT試薬を添加することで外因系凝固反応が開始される。検体中の凝固第Ⅱ，第Ⅴ，第Ⅶ，第Ⅹ因子およびフィブリノゲンの量的質的異常や反応阻害要因の存在は凝固時間の延長として反映される。経口抗凝固薬ワルファリンは肝臓でのビタミンK（VK）依存性凝固因子（第Ⅱ，第Ⅶ，第Ⅸ，第Ⅹ因子）の生合成において不可逆的にVKと拮抗し，凝固活性を持たない不完全な凝固因子（protein induced by vitamin K absence：PIVKA）を生成することで抗凝固作用を発揮[1)]する。

Received Aug. 29, 2019; Accepted Jan. 20, 2020
Arisa SATO[1)], Keiko FUJIOKA[1)], Kumiko KOTOKU[1)], Kengo ONISHI[2)], Marie KOMORI[2)], Satoshi IKEDA[1)]
[1)]総合病院 土浦協同病院 臨床検査部
[2)]積水メディカル株式会社 研究開発統括部
[1)]Department of Clinical Laboratory, Tsuchiura Kyodo General Hospital
[2)]Research & Development, SEKISUI MEDICAL CO., LTD.

[1)]〒300-0028　茨城県土浦市おおつ野4-1-1
[2)]〒103-0027　東京都中央区日本橋2-1-3
[1)]4-1-1 Otsuno, Tsuchiura-shi, Ibaraki, 300-0028, JAPAN
[2)]1-3, Nihonbashi 2-chome, Chuo-ku, Tokyo 103-0027 Japan
Corresponding author：Arisa Sato（佐藤有紗）
TEL：029-830-3711
E-mail：clinical_laboratory@tkgh.jp

PIVKAⅡ，Ⅶ，Ⅹによる凝固能低下をよく反映するPTはワルファリン投与量調節のモニタリング検査として定着し，本用途においてのみ国際標準化比（international normalized ratio：INR）という指標で標準化がなされている。INRはWHOの標準トロンボプラスチンを基準として各試薬の感度を国際感度表示（international sensitivity index：ISI）により標準化したもので，INR=（PT比＝被検血漿（秒）/対照（秒））^{ISI}で計算される。従って，測定誤差が最小限となるISI≒1.0となる試薬であることが望ましい[2]。「コアグピア®PT-Liquid」はISI≒1.0の液状PT試薬であり，本検討により良好な基礎性能が確認された，日常検査に有用なPT試薬である。PT試薬の主成分である組織トロンボプラスチンは不安定な物質であるため，PT試薬の液状化は困難とされており，従来より凍結乾燥試薬が広く用いられてきた。調製操作を要しない液状試薬となることで，溶解量誤差や溶媒取り違え等，バイアル毎に用時調製を要することに起因する課題に加え，使用前の調製操作を要する手間と30分間以上の溶解時間がかかるというユーザビリティへの課題が解決されるものと期待されている。本試薬の基礎的検討の結果を報告する。

2. 材料および方法

1）試薬・測定機器

試薬は，凝固時間法を測定原理として以下のPT試薬を用いた。被検試薬には液状試薬であるコアグピア® PT-Liquid（積水メディカル，Lot 180524OC-Z，ISI = 1.11，以下PT-L），対照試薬にはいずれも凍結乾燥試薬であるコアグピア® PT-N（積水メディカル，Lot 205RDO，ISI = 1.00，以下PT-N）およびトロンボレルS（シスメックス，Lot 562846，ISI = 1.03，以下Th-S）を用い，測定には血液凝固自動分析装置CP3000™（積水メディカル）を使用した。

試料は，PT-LおよびPT-Nの専用コントロール（2濃度）であるコアグピア®用コントロールP-N（積水メディカル）のほか，正常域試料として正常プール凍結血漿（CRYOcheck Pooled Normal Plasma：PNP，Precision BioLogic），高度異常域試料としてワルファリン服用患者凍結血漿（Access Biologicals）を用いた。共存物質およびヘパリンの影響の検討には，干渉チェック・Aプラス（シスメックス）およびヘパリンナトリウム注 N（エイワイファーマ）を用いた。

検体は，院内健常人ボランティア新鮮血漿20例および当院検査部へPT測定依頼のあった179例の残余検体を用いた。なお，検体は3.2%クエン酸ナトリウム採血管を用いて採血したクエン酸加血漿である。本研究は土浦協同病院倫理委員会および積水メディカル株式会社研究開発倫理委員会の承認を受け，2017年版医学系倫理指針[3]に従い，連結不可能匿名化した試料を使用して実施した。また，本検討に用いる検体等は凝固検査検体取扱いに関するコンセンサス[4]に従い適切に取り扱った。

2）方法

正確性試験は，コアグピア®用コントロール P-N（Ⅰ）（以下，正常域コントロール）およびコアグピア®用コントロール P-N（Ⅱ）（以下，異常域コントロール）を用いて，各試料を3回ずつ測定し，表示値（PT-LおよびPT-Nに対して付与された特性値）に対する各測定値の相対比（%）を求め，正確性（%）とした。

同時再現性試験は，正常域コントロールおよび異常域コントロールを各10回連続測定し，その変動係数C.V.（%）を求めた。

定量限界（LOQ）は，PT活性10%付近の高度異常域試料を10段階系列希釈した測定試料を，各10回連続測定し，CP3000で未検出とならず，添付文書[5]に記載の同時再現性性能規格であるC.V. 5%以内を満たす最小のPT活性値（%）を求めた。

希釈直線性は，測定上限のPT活性130%を超える活性高値試料を作製し，系列希釈（10/10，8/10，6/10，4/10，2/10，1/10）した測定試料を2重測定した平均値について，PT活性100%付近の測定試料を基準に理論値を求め，対理論値の正確性（%）が添付文書[5]に記載の正確性性能規格を満たす80～120%となる区間において直線性が成立することとした。また，直線性の成立を認めた区間において最大のPT活性値（%）を認めた測定試料につき，同時再現性が添付文書[5]に記載の同時再現性性能規格を満たしていることを確認した。活性高値試料は，PNPを限外濾過により濃縮して作製した。

共存物質の影響は，ベース血漿にPNP（正常域）およびPT活性20%付近の高度異常域試料（異常域）を，添加物質に干渉チェック・Aプラスを用い，遊離型ビリルビンおよび抱合型ビリルビン，ヘモグロビン，乳びについて，対ベース測定値に対する相対比が添付文書[5]に記載の正確性性能規格を満たす80～120%となる最大添加物濃度を，測定値への影響のない濃度とした。

ヘパリンの影響は，ベース血漿にPNP（正常域）およびPT活性20%付近の高度異常域試料（異常域）を，添加する未分画ヘパリンとしてヘパリンナトリウム注を用い，対ベース測定値に対する相対比が80～120%となる範囲を測定値への影響のない濃度とし，各試薬に対するヘパリンの影響について検討した。

健常人PTは，凝血学的に異常を認めない院内健常人

Table 1. Accuracy.

（%）

試薬	PT-L						PT-N					
試料	正常域コントロール			異常域コントロール			正常域コントロール			異常域コントロール		
表示値（PT活性）	103			39.0			94.0			35.0		
測定値（PT活性）	95.9	102.3	97.4	36.2	37.3	37.1	99.1	93.0	97.5	35.1	35.6	34.3
正確性	93.1	99.3	94.6	92.8	95.6	95.1	105.4	98.9	103.7	100.3	101.7	98.0

Table 2. Precision.

		（PT活性：%）			（PT：秒）			（PT INR）		
	試薬	PT-L	PT-N	Th-S	PT-L	PT-N	Th-S	PT-L	PT-N	Th-S
正常域コントロール	測定値	95.9	99.1	93.0	12.8	12.3	11.9	1.04	1.01	1.03
		102.3	93.0	93.0	12.4	12.7	11.9	1.00	1.04	1.03
		97.4	97.5	93.0	12.7	12.4	11.9	1.03	1.02	1.03
		100.6	97.5	93.0	12.5	12.4	11.9	1.01	1.02	1.03
		104.0	93.0	91.4	12.3	12.7	12.0	0.99	1.04	1.04
		99.0	94.5	93.0	12.6	12.6	11.9	1.02	1.03	1.03
		100.6	93.0	93.0	12.5	12.7	11.9	1.01	1.04	1.03
		102.3	93.0	94.7	12.4	12.7	11.8	1.00	1.04	1.02
		102.3	93.0	93.0	12.4	12.7	11.9	1.00	1.04	1.03
		99.0	93.0	94.7	12.6	12.7	11.8	1.02	1.04	1.02
	Average	100	94.7	93.2	12.5	12.6	11.9	1.01	1.03	1.03
	S.D.	2.52	2.41	0.944	0.155	0.160	0.0568	0.0155	0.0114	0.00568
	C.V.(%)	2.52	2.54	1.01	1.24	1.27	0.477	1.53	1.11	0.551
異常域コントロール	測定値	36.2	35.1	36.0	23.1	23.3	20.5	1.99	1.91	1.80
		37.3	35.6	35.7	22.6	23.1	20.6	1.95	1.89	1.81
		37.1	34.3	35.7	22.7	23.7	20.6	1.96	1.94	1.81
		36.2	36.0	36.3	23.1	22.9	20.4	1.99	1.88	1.79
		38.3	34.3	35.2	22.2	23.7	20.8	1.91	1.94	1.82
		38.6	36.7	35.5	22.1	22.6	20.7	1.90	1.85	1.82
		36.0	35.6	35.7	23.2	23.1	20.6	2.00	1.89	1.81
		36.0	36.4	35.7	23.2	22.7	20.6	2.00	1.86	1.81
		38.3	34.5	36.0	22.2	23.6	20.5	1.91	1.93	1.80
		36.4	33.9	35.7	23.0	23.9	20.6	1.99	1.96	1.81
	Average	37.0	35.2	35.8	22.7	23.3	20.6	1.96	1.91	1.81
	S.D.	1.04	0.969	0.299	0.443	0.453	0.110	0.0403	0.0369	0.00919
	C.V.(%)	2.81	2.75	0.835	1.95	1.94	0.534	2.06	1.93	0.508

ボランティア新鮮血漿20例（20～50歳台，男性8名，女性12名）の幾何平均を求め，mean normal PT（MNPT）とした。なお，健常人の定義は日本臨床衛生検査技師会に準じた[6]。

既存法との相関性は，被検法PT-Lと既存法である対照試薬PT-NおよびTh-Sとの相関性について，179例の検体を各試薬で測定し，求めた。

試薬安定性の評価として，日差再現性を求め，開封後の試薬の安定性を評価した。測定試料には正常域コントロールおよび異常域コントロールを用い，試薬は測定後に閉栓保存した。

3. 結果

1）正確性

正常域コントロールでは93.1～99.3%（PT-L）、98.9～105.4%（PT-N）、異常域コントロールでは92.8～95.6%（PT-L）、98.0～101.7%（PT-N）であった（**Table 1**）。

2）同時再現性

正常域コントロールの変動係数C.V.（%）は，PT活性（%）の結果においては2.52%（PT-L），2.54%（PT-N），1.01%（Th-S），PT（秒）では1.24%（PT-L），1.27%（PT-N），0.477%（Th-S），PT INRでは1.53%（PT-L），1.11%（PT-N），0.551%（Th-S）であった。異常域コントロールにおいては，PT活性（%）では2.81%（PT-L），2.75%（PT-N），0.835%（Th-S），PT（秒）では1.95%（PT-L），1.94%（PT-N），0.534%（Th-S），PT INRでは2.06%（PT-L），1.93%（PT-N），0.508%（Th-S）であった（**Table 2**）。

3）定量限界（LOQ）

PT活性10%付近の高度異常域検体を希釈した測定試料のうち，5倍（2/10）以上の希釈をした測定試料においては200秒を超えたためCP3000上で未検出となり測定値を得られなかった。3/10倍希釈の測定試料においてPT活性4.3%のLOQを認め（**Table 3**），PT-L添付文書[5]記載の測定範囲下限であるPT活性5%の測定が可能であることを確認した。

4）希釈直線性

PT活性130%以上の濃縮試料を用い，PT-Lの希釈直

Table 3. Limit of Quantitation.

	PT-L					
希釈倍率	2/10	3/10	4/10	5/10	6/10	10/10
測定値（PT活性：%）	−	4.3	5.7	6.5	7.1	10.9
	−	4.3	5.6	6.3	7.0	11.2
	−	4.3	5.8	6.2	6.9	11.3
	−	4.2	5.8	6.3	7.1	11.4
	−	4.4	5.8	6.3	6.8	11.3
	−	4.3	5.7	6.3	6.9	11.3
	−	4.2	5.7	6.3	6.9	11.2
	−	4.3	5.7	6.1	6.7	11.3
	−	4.4	5.6	6.2	6.7	11.3
	−	4.2	5.6	6.2	6.7	11.3
Average		4.3	5.7	6.3	6.9	11.3
S.D.		0.074	0.082	0.11	0.15	0.135
2.6 S.D.		0.19	0.21	0.29	0.39	0.351
C.V.(%)		1.7	1.4	1.7	2.2	1.19

＊表中の"−"はCP3000上での"ミケンシュツ"を示す。

Table 4. Measured value of sample for dilution linearity

希釈倍率	PT-L 測定値（PT活性：%）		理論値	相対値
10/10	153.4 / 149.7	151.6	170.5	88.91%
8/10	127.8 / 127.8	127.8	136.4	93.70%
6/10	104.0 / 100.6	102.3	102.3	100.0%
4/10	68.9 / 71.3	70.1	68.2	103%
2/10	36.0 / 36.2	36.1	34.1	106%
1/10	17.7 / 17.6	17.7	17.1	104%

線性の成立を認めた（**Table 4**，**Fig. 1**）。また，本試料の同時再現性C.V.は0.779％と良好であり（掲載なし），PT-L添付文書[5]記載の測定範囲上限であるPT活性130％の測定が可能であることを確認した。

5）共存物質の影響

PT-L，PT-N，Th-Sいずれにおいても，遊離型ビリルビン 20 mg/dL，抱合型ビリルビン 20 mg/dL，ヘモグロビン 500 mg/dL，乳び 3000 FTUまで，正常域および異常域ともに測定値に影響を与えないことを確認した（**Fig. 2**）。

6）ヘパリンの影響

今回の検討においては，PT-Lは正常域および異常域ともに1.00 U/mLまで，PT-Nの正常域は0.50 U/mL，異常域は0.25 U/mLまで，Th-Sの正常域は0.50 U/mL，異常域は0.25 U/mLまで，測定値に影響を認めなかった（**Fig. 2**）。Th-Sの異常域ではヘパリン1.00 U/mLの測定値は200秒を超えたためCP3000上で未検出となり測定値を得ることができなかった。

7）健常人PT

今回の検討における院内健常人ボランティア20例のPTは，凝固時間12.4 秒（PT-L），11.7秒（PT-N），PT活性103.9％（PT-L），102.1％（PT-N），PT INR 0.98（PT-L），0.99（PT-N），であった（**Table 5**）。

Table 5 Mean normal PT (MNPT).

	PT-L			PT-N		
検体No.	PT（秒）	PT活性（%）	PT INR	PT（秒）	PT活性（%）	PT INR
1	14.6	75.3	1.16	13.2	80.1	1.13
2	12.7	98.4	1.01	11.6	103.9	0.98
3	12.0	110.9	0.95	11.2	112.2	0.94
4	12.0	110.9	0.95	11.2	112.2	0.94
5	12.4	103.4	0.98	12.0	96.7	1.02
6	12.3	105.2	0.98	11.7	102.0	0.99
7	13.5	87.1	1.07	13.6	75.8	1.17
8	11.2	129.8	0.89	10.8	122.0	0.91
9	11.7	117.3	0.93	10.9	119.4	0.92
10	12.6	100.0	1.00	11.9	98.4	1.01
11	12.1	108.9	0.96	11.5	105.8	0.97
12	14.1	80.3	1.12	13.3	79.0	1.14
13	13.4	88.4	1.07	12.4	90.5	1.05
14	11.4	124.5	0.90	10.8	122.0	0.91
15	11.6	119.6	0.92	11.1	114.5	0.93
16	11.4	124.5	0.90	10.9	119.4	0.92
17	12.8	96.8	1.02	12.0	96.7	1.02
18	13.3	89.7	1.06	12.9	83.7	1.10
19	12.4	103.4	0.98	11.6	103.9	0.98
20	11.3	127.1	0.89	10.6	127.5	0.89
MNPT	12.4	103.9	0.98	11.7	102.1	0.99

8）既存法との相関性

PT-Lと，対照試薬PT-NおよびTh-Sとの相関性を，179検体のそれぞれの測定値を用いて直線回帰式および相関係数（r）を算出し，評価した。PT活性（％）について，PT-Nとの相関はy=1.01x+0.121，r=0.983，Th-Sとの相関はy=1.06x − 0.786, r=0.958であった。PT（秒）については，対PT-Nはy=0.880x+1.97，r=0.984，対Th-Sはy=1.18x − 1.39，r=0.970，PT INR（キットISI値使用）については，対PT-Nでy=0.993x+0.0144，r=0.985，対Th-Sでy=1.29x − 0.242，r=0.989となり，いずれにおいても対照試薬との相関関係を認めた。（**Fig. 3**）

9）試薬安定性

日差再現性は14日間，同一バイアルを14回測定した結果，PT-Lは正常域コントロールでC.V.1.29％（PT活性：％），C.V.0.91％（PT：秒），C.V.0.80％（PT INR），異常域コントロールでC.V.1.87％（PT活性：％），C.V.0.97％（PT：秒），C.V.0.86％（PT INR）であった。PT-Nは正常域コントロ

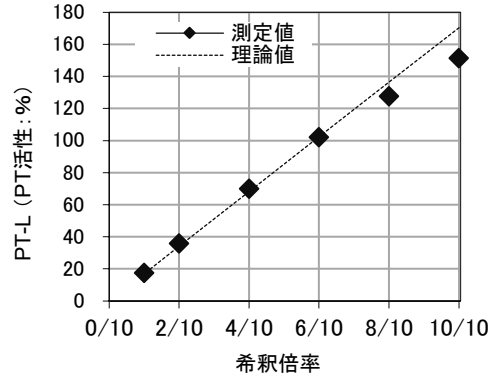


Fig. 1 Dilution linearity of PT activity high sample.

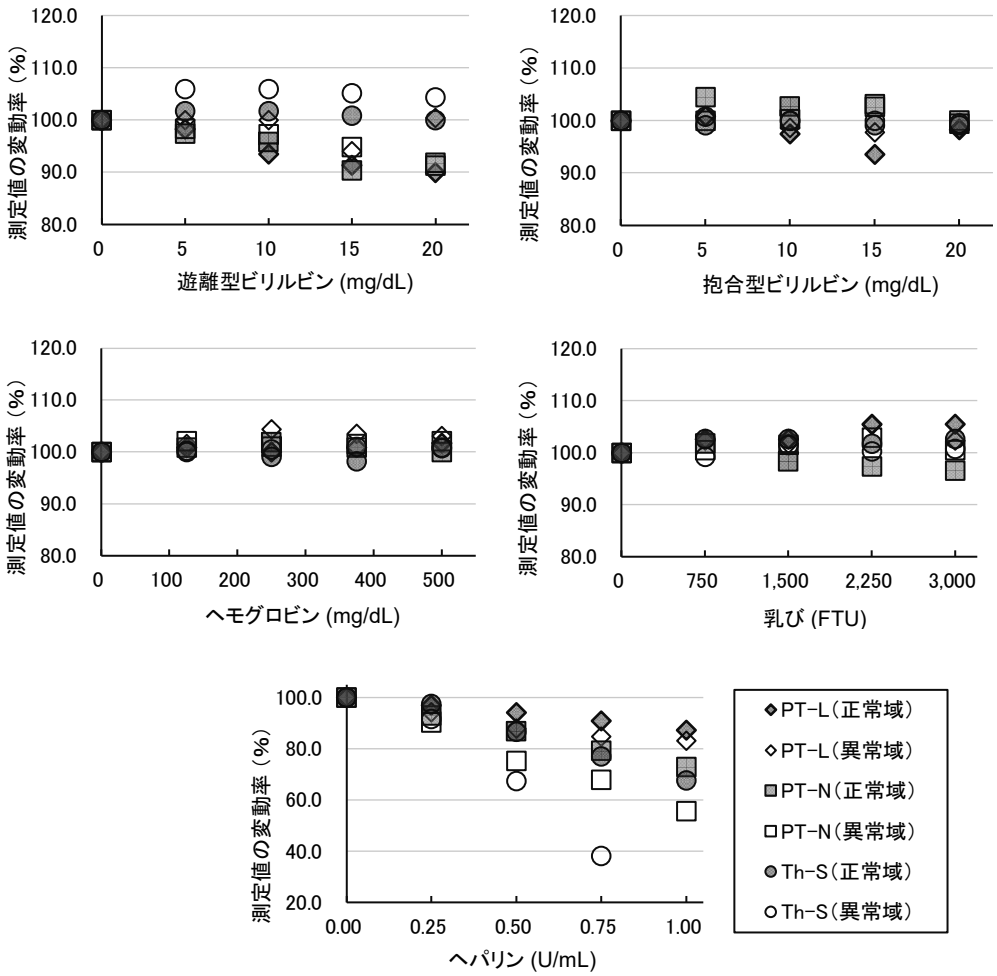


Fig. 2 Effect of interfering substances.

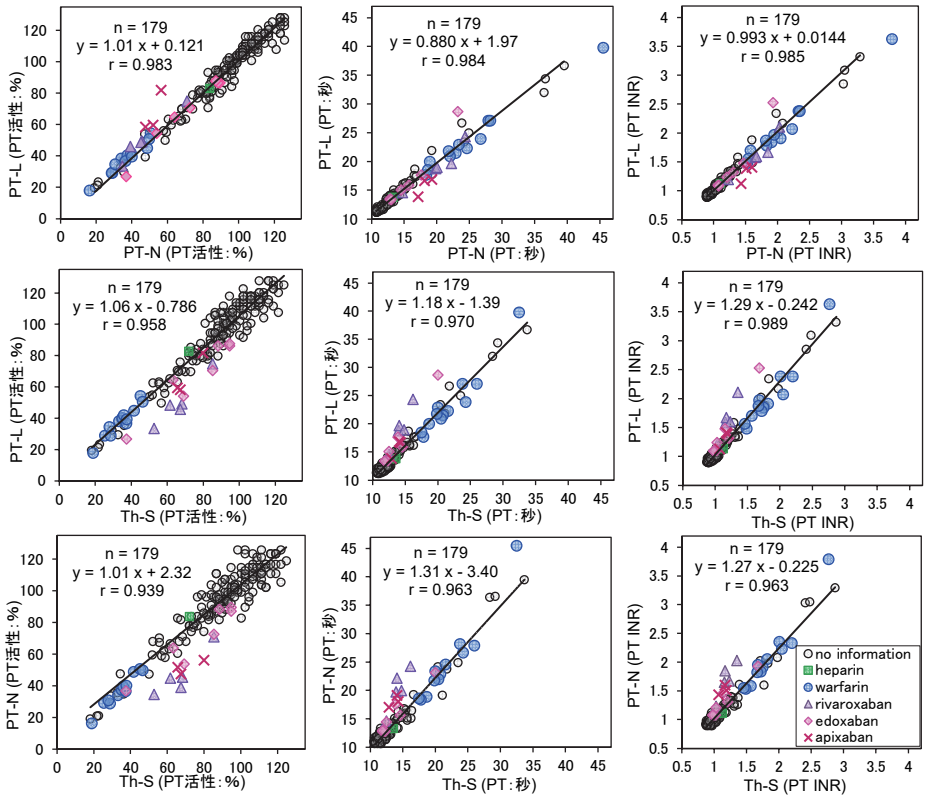


Fig. 3 Correlation.

Table 6. Daily precision.

C.V.(%)

	PT-L			PT-N		
	PT活性(%)	PT(秒)	PT INR	PT活性(%)	PT(秒)	PT INR
正常域コントロール	1.29	0.91	0.80	3.31	1.65	1.94
異常域コントロール	1.87	0.97	0.86	3.93	2.95	3.30

ールでC.V.3.31%（PT活性：%），C.V.1.65%（PT：秒），C.V.1.94%（PT INR），異常域コントロールでC.V.3.93%（PT活性：%），C.V.2.95%（PT：秒），C.V.3.30%（PT INR），であった（**Table 6**，**Fig. 4**）。これにより，試薬の安定性が確認された。

考察

本基礎的検討において，PT-Lの正確性は対表示値10%以内，同時再現性はC.V.3%以内と，正確性および精度は良好であった。また，測定範囲である5%～130%[4]が十分に測定可能であることを確認した。共存物質の影響は，今回検討した全ての項目（遊離型ビリルビン，抱合型ビリルビン，ヘモグロビン，乳び）について，検討した濃度域の範囲内で測定値への影響を認めなかった。一方ヘパリンについては，対照試薬PT-Nおよび対照試薬Th-Sとやや異なる傾向を示した。抗凝固剤であるヘパリンには凝固時間を延長させるはたらきがあり[7]，凝固時間法を原理とする検査項目はヘパリンをはじめとする抗凝固剤の影響を少なからず受ける可能性が高い。今回の検討においては，PT-Lは正常域試料でヘパリン濃度が0.75 U/mLを超えたあたりからPT活性で変動10%程度の測定値低下（凝固時間は+0.65秒）が認められたが，PT-NおよびTh-Sではヘパリン濃度0.75 U/mLで変動約20～25%前後のPT活性測定値低下（PT-N:

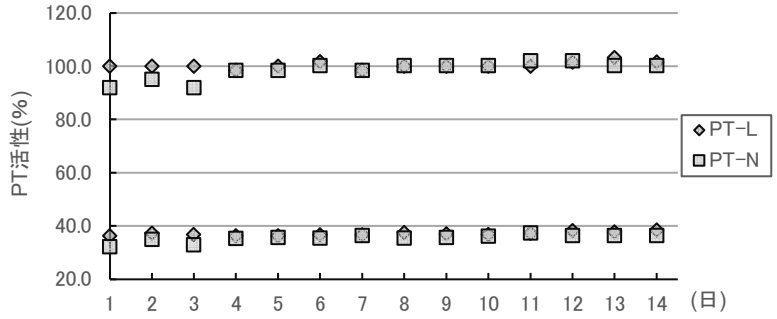


Fig. 4-1 Reagent stability.(PT activity:%)

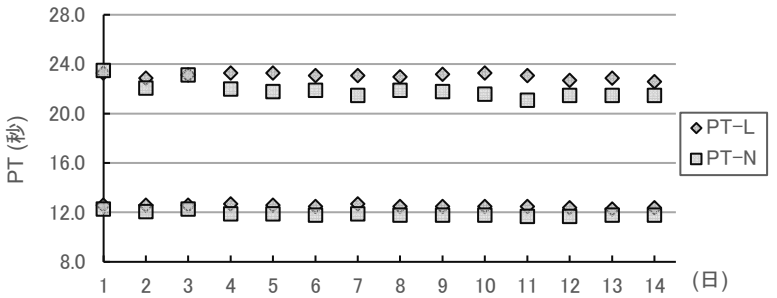


Fig. 4-2 Reagent stability.(PT:sec)

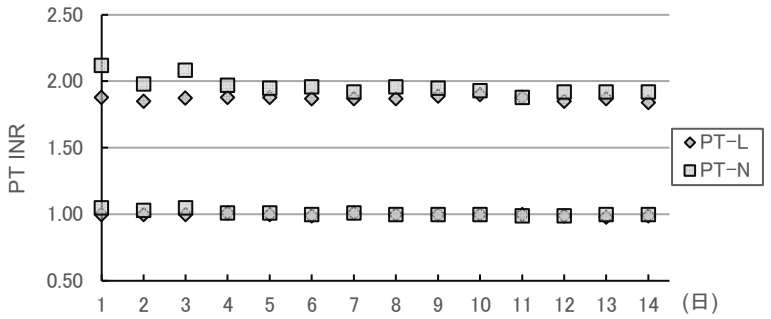


Fig. 4-3 Reagent stability.(PT INR)

Fig. 4 Reagent stability.

+1.55秒，Th-S：+1.75秒）を認め，ヘパリン濃度依存的なPT活性低下（凝固時間延長）が認められた。異常域試料においてはこの傾向がさらに顕著に見られ，PT-Lがヘパリン濃度1.0 U/mLでも20%強（+1.55秒）の変動にとどまっているのに対し，PT-Nではヘパリン濃度0.5 U/mLで約25%（+10.55秒），Th-Sでは30%強（+12.05秒）のPT活性測定値低下を認めた。使用する試料や試薬間，また検体中のAT活性によってもヘパリンの影響度合いは異なり，今回検討した濃度範囲内においては，PT-Lは比較的ヘパリンの影響を受けにくい性質があると考えられる。

PT-Lの健常人凝固時間は12.4秒であり，PT-Nの11.7秒とおおよそ同等の結果であった。今回の検討に用いた院内健常人ボランティアは20例と少ないものの，国内の主要なPT試薬は健常人凝固時間がおおよそ12秒のものが多いとされており，今回認められたPT-Lの秒数は日常使用においてスクリーニング試薬として使いやすい試薬であると考えられる。PT活性やPT INRについても，PT-Nとほぼ同等の結果であった。

対照法2法との相関性については，PT活性（%），PT（秒）およびPT INRにおいて良好な相関性が確認され，(PT INR) = (PT-L, PT-N, Th-S) = (3.63, 3.79, 2.77)となったワルファリン服用1検体を除き，臨床上問題となる大きな乖離は認められなかった。フィブリン形成による血漿の性状変化を時間で評価するPTはバイオアッセイの特性があり，凝固時間の測定値の単純比較は難しいと考えられている。今回の相関検討においても一次回帰式の傾きは，秒数および秒数の結果を反映するINRにおいて，3試薬の凝固時間(秒)測定値の傾向をそのまま反映したものとなった（**Fig. 3**）。一方，標準血漿による検量を行う活性%の結果においては，回帰式の傾きは対PT-Nおよび対Th-Sともに約1.0であった。検体群には一部，経口抗凝固薬やヘパリン等の投与例も含まれており，今回の検討ではそれら投与薬剤による大きな影響は見受けられなかったものの，薬剤によっては多少傾向が見受けられた。今回相関性検討に用いた179検体中，ヘパリン投与検体は1件，ワルファリン投与検体は12件，リバーロキサバン投与検体は5件，エドキサバン投与検体は7件，アピキサバン投与検体は3件であった。今回の検討においては，この他の投与薬剤や基礎疾患，患者背景等についての情報は得ていない。ワルファリンについてはPT-LとPT-Nで良好な相関が認められた。PT INRはビタミンK拮抗型経口抗凝固薬を服用する患者のモニタリングに標準的検査として用いられる評価方法であり，これにはISIが1.0に近いPT試薬であることが求められる[2]が，本試薬はISI ≒ 1.0であり，ワルファリンのモニタリング指標として問題なく使用できる試薬であると考える。リバーロキサバンについては，PT-LとPT-Nの相関は良好で，PT-LおよびPT-NはTh-Sよりも凝固時間が延長する（PT活性低値化）傾向が見受けられた。エドキサバンについても，リバーロキサバンよりも程度が若干小さいものの，同様の傾向が見受けられた。アピキサバンについては，PT-NがPT-LおよびTh-Sよりも凝固時間が延長する傾向が見受けられ，PT-LとTh-Sではほぼ同様の傾向であった。リバーロキサバンやエドキサバン，アピキサバンのような抗Xa阻害剤は基本的に，FXaおよびFVaから構成されるprothrombinase complexへはたらきかけるため，PTに反映されやすい性質があり[8]，今回の検討においてもこれを確認することができたといえる。ただし，これら投与薬剤毎の傾向に関しては各群に対して十分な検体数を用いた検討とは言えず，今回の検討の中で得られた情報のみによる考察であることにご留意いただきたい。

試薬安定性の評価として日差再現性により開封後の試薬の安定性を評価し，今回の検討においては測定を継続した14日目までにおいての良好な安定性が確認された。今回はより負荷の高い試験条件として同一バイアルでの測定継続を実施したが，実際には多くの検査室と同様に当院ではPT試薬（10 mL，100テスト相当）を1日以内に使い切っている。従って実運用同様に1 バイアル／日にて日差再現性を検討した場合には，凍結乾燥試薬であるPT-Nにおいては溶解誤差の影響が加味され，今回の結果よりC.V.が大きくなる可能性が推測される。本検討においては検証を実施していないが，実運用において液状試薬であるPT-Lは精度管理の面においても，検査業務への貢献度は高いと考えられる。

従来よりPT試薬は，溶液中での組織トロンボプラスチンが不安定なため，長らく凍結乾燥試薬が用いられてきたが，調製操作を要しない液状試薬となったことで，試薬調製の手間や時間が不要となり，併せて試薬の溶解誤差等といった凍結乾燥試薬の課題を解消している。凝固検査の中で最も使用頻度の高いPT試薬が開封直後にそのまま使用可能となったことで，よりユーザビリティが高く，より正確な検査へと大きく寄与することが期待される。

結語

今回コアグピア® PT-Liquidについて基礎的検討（正確性，同時再現性，測定範囲の確認，共存物質およびヘパリンの影響，健常人PT，既存法との相関性，試薬安

定性）を行い，従来品と同等以上の性能を認める良好な結果が得られた。本品は液状試薬となったことでよりユーザビリティと検査の信頼度の向上が期待され，日常検査での使用に有用なPT試薬であると考えられる。

文　献

1）エーザイ株式会社．ワーファリン錠 0.5 mg/1 mg/5 mg添付文書，第27版，2019
2）福武勝幸：凝固検査の標準化の現状：プロトロンビン時間（PT）．生物試料分析2009；32 (5)：357-364.
3）文部科学省 厚生労働省：人を対象とする医学系研究に関する倫理指針．平成26年12月22日（平成29年2月28日一部改正）．
4）日本検査血液学会標準化委員会凝固検査標準化ワーキンググループ：凝固検査検体取扱いに関するコンセンサス．日本検査血液学会雑誌2016；17 (2).
5）積水メディカル株式会社．コアグピア® PT-Liquid添付文書，第1版，2018
6）Yamamoto Y, Hosogaya S, Osawa S, et al. Nationwide multicenter study aimed at the establishment of common reference intervals for standardized clinical laboratory tests in Japan. Clin Chem Lab Med 2013；51 (8)：1663-72.
7）Lindahl AK, Abildgaard U, Staalesen R. The anticoagulant effect in heparinized blood and plasma resulting from interactions with extrinsic pathway inhibitor. Thromb Res 1991；64 (2)：155-168.
8）Ieko M, Naitoh S, Yoshida M, et al. Profiles of direct oral anticoagulants and clinical usage－dosage and dose regimen differences. J Intensive Care. 2016；4：19.

VITEK MSで*Neisseria meningitidis*と誤同定された*Neisseria polysaccharea*と*Neisseria meningitidis*との鑑別法およびVITEK MSの同定精度の検証

Neisseria meningitidis Identified with VITEK MS Requires further Tests for Accurate Diagnosis

服部佳奈子[1)]　木部泰志[1)]　諸熊由子[1)]　清祐麻紀子[1)]
西田留梨子[1)2)]　下野信行[2)]　堀田多恵子[1)]　康東天[1)3)]

Abstract　We isolated and identified three strains of *Neisseria meningitidis* from respirator specimens by VITEK MS. Further examination of 16SrRNA gene sequencing showed one of them was non-pathogenic *Neisseria polysaccharea*. Then, firstly we tried to distinguish *N. meningitidis* and *N. polysaccharea* by biochemical methods and/or capsular polysaccharide gene PCR. We could distinguish *N. meningitidis* and *N. polysaccharea* based on biochemical properties with commercially available biochemical identification kits but the PCR method could not because the two strains of *N. meningitidis* were non-capsulated. Next we investigated the effects of various culture conditions on the accuracy of VITEK MS. The two strains of *N. meningitidis* were rightly identified under any conditions examined. On the other hand, the *N. polysaccharea* strain was identified as various *Neisseria* species depending on the culture conditions. These results indicate *N. polysaccharea* can be misidentified as *N. meningitidis* with VITEK MS alone. Therefore, additional tests, for example 16SrRNA gene sequencing or biochemical identification, are necessary for accurate identification of *N. meningitidis*. And it is important to consider the presence of non-capsulated strains.

Key words　*Neisseria meningitidis*, Non-capsulated *Neisseria meningitidis*, *Neisseria polysaccharea*, MALDI-TOF MS, VITEK MS, Misidentification

はじめに

*Neisseria meningitidis*はヒトの鼻咽頭粘膜に定着し，咳やくしゃみなどの飛沫や接触によってヒトからヒトへと伝播する。多くは無症状のまま菌が消失するが，敗血症や髄膜炎などを発症し重症感染症を引き起こす場合がある。また無症状で保菌者となる場合もあり，田中らの調査では本邦における*N. meningitidis*の保菌者の割合は0.4%（25/5886）と報告されている[1)]。発症者だけでなく保菌者も感染源となる可能性があり，本邦において

Received Dec. 26, 2019; Accepted Jan. 14, 2020
Kanako HATTORI, Yasushi KIBE, Yuiko MOROKUMA, Makiko KIYOSUKE, Ruriko NISHIDA, Nobuyuki SHIMONO, Taeko HOTTA, Dongchon KANG
[1)]九州大学病院 検査部
[2)]九州大学病院グローバル感染症センター
[3)]九州大学大学院医学研究院臨床検査医学分野
福岡県福岡市東区馬出3-1-1
[1)]Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Kyushu University Hospital
[2)]Center for the Study of Global infection, Kyushu University Hospital
[3)]Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Kyushu University Graduate School of Medical Sciences
3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka, Japan
連絡責任者：服部　佳奈子
TEL：092-642-5757
E-mail：khattori@med.kyushu-u.ac.jp

も高校の学生寮における集団感染の報告事例[2)3)]があることから，治療に加えて感染管理の点からも*N. meningitidis*の菌種同定を行うことは重要である。

近年，微生物検査領域において同定検査に質量分析装置が使用されるようになり，従来の同定検査と比較して臨床への迅速な結果報告が可能となった。しかし質量分析装置では一部の菌種において類縁菌と鑑別出来ない場合や誤同定する場合があり，*Neisseria*属についても非病原性*Neisseria*属を*N. meningitidis*と誤同定するという報告がある[4)5)6)]。

これまで当院では，呼吸器系検体において，質量分析装置VITEK MS（ビオメリュー・ジャパン株式会社）で*N. meningitidis*と同定された株を3株分離した。しかし，16SrRNA遺伝子解析の結果，1株が*Neisseria polysaccharea*，2株が*N. meningitidis*と同定され，1株はVITEK MSの誤同定であった。

そこで今回，VITEK MSで*N. meningitidis*と同定された3株について，生化学的性状検査および遺伝子検査を実施し，*N. meningitidis*と非病原性*Neisseria*属である*N. polysaccharea*を各検査法で鑑別可能であるか検証した。さらに，培養条件および測定条件の違いによるVITEK MSの同定精度への影響についても検証した。

対象および方法

1. 対象

当院でVITEK MSを導入した2013年から2017年の期間に，咽頭粘液より分離した*N. polysaccharea* 1株，喀痰より分離した*N. meningitidis* 1株，鼻腔粘液より分離した*N. meningitidis* 1株を対象とし，それぞれ菌1，菌2，菌3とした。陽性コントロールとして*Neisseria meningitidis* ATCC35561を使用した。

2. 培地および培養条件

培地は羊血液寒天培地とチョコレート寒天培地の分画培地である極東バイタルメディアTWINプレート47（羊寒天＋HPチョコ）（極東製薬工業株式会社，以下TWIN培地）とチョコレートⅡ寒天培地（日本BD株式会社，以下BDチョコレート培地）を使用し，5% CO_2，35℃，18–24時間の条件で培養を実施した。

3. 方法

3–1 同定検査法

同定検査として質量分析装置による測定，生化学的性状検査および遺伝子検査を実施した。16SrRNA遺伝子解析で得られた菌名を最終同定菌名とし，各検査法で*N. polysaccharea*と*N. meningitidis*を鑑別可能であるか検証した。ATCC株については生化学的性状検査および遺伝子検査を実施した。

1）質量分析装置による測定

VITEK MS Myla Ver.2.0（ビオメリュー・ジャパン株式会社）を使用し，TWIN培地を用いて検体から分離した1コロニーの測定を行った。ダイレクトスメア法にてVITEK MS–CHCA マトリックス（ビオメリュー・ジャパン株式会社）を使用した。

2）生化学的性状検査

同定キットはIDテスト・HN–20ラピッド「ニッスイ」（日水製薬株式会社，以下HN–20）とアピNH（ビオメリュー・ジャパン株式会社），自動同定機器はバイテック2のNH同定カード（ビオメリュー・ジャパン株式会社，以下NHカード）を使用し，添付文書に従い測定を行った。HN–20についてはTWIN培地を用いて検体から分離し，BDチョコレート培地に増菌したコロニーを用いて測定した。アピNHとNHカードについてはマクロバンクに－80℃で凍結保存した株（以下，凍結保存株）をBDチョコレート培地で2回継代したコロニーを用いて追加測定を行った。

3）遺伝子検査

凍結保存株を用いて*N. meningitidis*に特異的な莢膜多糖体合成遺伝子である*ctrA*遺伝子と莢膜血清型関連遺伝子のうち血清型Aに関連する*orf2*遺伝子，それぞれ血清型B，C，W135，Yに関連する*siaD*（*B*，*C*，*W135*，*Y*）遺伝子の計6つの遺伝子についてPCR法を行った。BDチョコレート培地で2回継代したコロニーを滅菌蒸留水0.2mLに溶解後，95℃5分加温，氷中で2分急冷し10000rpm 4℃で5分遠心して得られた上清をPCR用のDNA templateとした。使用したプライマーを**Table 1**に示す[7)8)]。*siaD(B)*遺伝子 についてはsiaD(B1)とsiaD(B2)の2種類のプライマーを使用した。TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice Touchを使用し，*ctrA*とsiaD(B1)プライマーを用いた*siaD(B)*のPCR反応の条件はinitial denaturation stepを95℃1分，95℃20秒，63℃20秒，72℃40秒を計38サイクル，final elongation stepを72℃5分とした。*orf2*，*siaD(C)*，*siaD(W135)*とsiaD(B2)プライマーを用いた*siaD(B)*のPCR反応の条件は94℃3分，55℃30秒，72℃20秒を計2サイクル，94℃40秒，55℃30秒72℃20秒を計35サイクルとした。*siaD(Y)*については両方のPCR反応の条件で実施した。PCR産物は1.5%アガロースゲルで電気泳動を行い，バンドの有無を確認した。

4）MLST（Multilocus Sequence Typing）解析

*N. meningitidis*である菌2と菌3は国立感染症研究所へ依頼しMLST解析を実施した。

Table 1. Primer and amplicon size

Target gene	Primer	Sequence (5'－3')	Amplicon size
ctrA	ctrA-1	GCTGCGGTAGGTGGTTCAA	111bp
	ctrA-2	TTGTCGCGGATTTGCAACTA	
orf2 (A)	orf2-1	CGCAATAGGTGTATATATTCTTCC	400bp
	orf2-2	CGTAATAGTTTCGTATGCCTTCTT	
siaD (B)	siaD(B1)-1	CTCTCACCCTCAACCCAATGTC	457bp
	siaD(B1)-2	TGTCGGCGGAATAGTAATAATGTT	
siaD (B)	siaD(B2)-1	GGATCATTTCAGTGTTTTCCACCA	450bp
	siaD(B2)-2	GCATGCTGGAGGAATAAGCATTAA	
siaD (C)	siaD(C)-1	TCAAATGAGTTTGCGAATAGAAGGT	250bp
	siaD(C)-2	CAATCACGATTTGCCCAATTGAC	
siaD (W135)	siaD(W135)-1	CAGAAAGTGAGGGATTTCCATA	120bp
	siaD(W135)-2	CACAACCATTTTCATTATAGTTACTGT	
siaD (Y)	siaD(Y)-1	CTCAAAGCGAAGGCTTTGGTTA	120bp
	siaD(Y)-2	CTGAAGCGTTTTCATTATAATTGCTAA	

3-2．培養条件および測定条件の違いによる質量分析装置の同定精度の検証

質量分析装置はバージョンアップに伴いVITEK MS Myla Ver.3.0（ビオメリュー・ジャパン株式会社）を使用した。凍結保存株をBDチョコレート培地に増菌後，TWIN培地に継代し，継代培養後6時間，24時間，48時間のタイミングでTWIN培地の羊血液寒天培地とチョコレート寒天培地に発育したコロニーをそれぞれダイレクトスメア法とギ酸抽出法で4重測定し，培養時間や培地，測定方法によって同定精度に違いがあるか検証を行った。マトリックス試薬はVITEK MS-CHCA マトリックス，ギ酸抽出にはVITEK MS-FA試薬（ビオメリュー・ジャパン株式会社）を使用した。

結果

1．質量分析装置，生化学的性状検査および遺伝子検査による同定結果の検証

16SrRNA遺伝子解析，質量分析装置による測定，生化学的性状検査およびMLST解析より得られた被検菌3株とATCC株の同定結果をTable 2に示す。

16SrRNA遺伝子解析により，菌1は*Neisseria polysaccharea*，菌2と菌3は*Neisseria meningitidis*と同定された。この同定結果を基準として，質量分析装置による測定，生化学的性状検査，遺伝子検査の結果について確認を行った。

1-1．質量分析装置による測定

検体よりTWIN培地に分離した被検菌3株のコロニーを直接VITEK MSで測定したところ，3株全てが*Neisseria meningitidis*（信頼値99.9%）と同定された。

1-2．生化学的性状検査

HN-20，アピNH，NHカードによる測定で得られた被検菌3株とATCC株の同定菌名および生化学的性状と一般的な*N. meningitidis*の性状[8)9)]をTable 3に示す。

99%以上の確率で正しい同定菌名が得られたのは菌2と菌3のアピNH，ATCC株のアピNH，HN-20による測定結果であり，全て*N. meningitidis*であった。アピNHは*N. meningitidis* 3株を全て正しく同定できていた。菌1においてもアピNHで*Neisseria* spp.(99.8%)となり*N. meningitidis*以外の*Neisseria*属と同定された。しかしアピNHは同定可能菌種に*N. polysaccharea*が含まれるにも関わらず，正しい菌名は得られなかった。

2菌種が候補に挙がった菌1，菌2，菌3のHN-20の測定結果を確認すると，菌1は*N. gonorrhoeae*と*N. subflava*

Table 2. Identification results of genetic test, mass spectrometry and biochemical properties tests

	No.1	No.2	No.3	*Nmeningit idis* ATCC35561
16SrRNA	*N. polysaccharea*	*N. meningitidis*	*N. meningitidis*	nt
VITEK MS (Myla Ver.2.0)	*N. meningitidis* (99.9%)	*N. meningitidis* (99.9%)	*N. meningitidis* (99.9%)	nt
api NH	*Neisseria* spp. (99.8%)	*N. meningitidis* (99.9%)	*N. meningitidis* (99.9%)	*N. meningitidis* (99.9%)
ID test HN-20	*N. gonorrhoeae* (70%) *N. subflava* (27%)	*N. meningitidis* (61%) *N. subflava* (40%)	*N. meningitidis* (61%) *N. subflava* (40%)	*N. meningitidis* (99%)
VITEK HN ID card	Low Discrimination	Low Discrimination	*N. meningitidis* (93%)	Low Discrimination
MLST	nt	*N. meningitidis* (ST-11026)	*N. meningitidis* (ST-11026)	nt

nt : not tested

Table 3. Identification results and biochemical properties measured with HN-20,api NH and HN card

			Glucose	Maltose	Lactose	Sucrose	Fructose	γ-GA
No. 1 (*N. polysaccharea*)	api NH	*Neisseria* spp. (99.8%)	+	+	nt	+	+	−
	ID test HN-20	*N. gonorrhoeae* (70%) *N. subflava* (27%)	+	+	−	−	−	−
	VITEK HN ID card	Low Discrimination						
No. 2 (*N. meningitidis*)	api NH	*N. meningitidis* (99.9%)	+	+	nt	−	−	+
	ID test HN-20	*N. meningitidis* (61%) *N. subflava* (40%)	+	+	−	−	−	+
	VITEK HN ID card	Low Discrimination						
No. 3 (*N. meningitidis*)	api NH	*N. meningitidis* (99.9%)	+	+	nt	−	−	+
	ID test HN-20	*N. meningitidis* (61%) *N. subflava* (40%)	+	+	−	−	−	+
	VITEK HN ID card	*N. meningitidis* (93%)	+	+	nt	−	nt	+
ATCC 35561 (*N. meningitidis*)	api NH	*N. meningitidis* (99.9%)	+	+	nt	−	−	+
	ID test HN-20	*N. meningitidis* (99%)	+	+	−	−	−	+
	VITEK HN ID card	Low Discrimination						
General characteristics of *Neisseria meningitidis*			+	+	−	−	−	+

nt : not tested

γ-GA : γ-glutamyl aminopeptidase

Table 4. Identification results of No.1 ,No.2,No.3 and ATCC strain measured with VITEK MS (Myla Ver.3.0)

culture times	medium	method	No. 1 (*N. polysaccharea*)			No. 2 (*N. meningitidis*)			No. 3 (*N. meningitidis*)			ATCC35561 (*N. meningitidis*)		
			N. m	N. p	others	N. m	N. p	others	N. m	N. p	others	N. m	N. p	others
6	Sheep Blood agar	Direct smear	0/4	0/4	4/4*a	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4
		Formic acid extraction	0/4	0/4	4/4*a	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4
	Chocolate agar	Direct smear	0/4	0/4	4/4*b	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4
		Formic acid extraction	1/4	0/4	3/4*c	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4
24	Sheep Blood agar	Direct smear	0/4	0/4	4/4*d	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4
		Formic acid extraction	1/4	2/4	1/4*e	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4
	Chocolate agar	Direct smear	0/4	0/4	4/4*f	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4
		Formic acid extraction	1/4	0/4	3/4*g	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4
48	Sheep Blood agar	Direct smear	0/4	1/4	3/4*h	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4
		Formic acid extraction	0/4	0/4	4/4*f	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4
	Chocolate agar	Direct smear	3/4	0/4	1/4*i	2/4	0/4	2/4*k	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4
		Formic acid extraction	1/4	0/4	3/4*j	0/4	0/4	4/4*l	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4

N. m : *Neisseria meningitidis*
N. p : *Neisseria polysaccharea*

*a : *N. meningitidis*(50%)/*N. polysaccharea*(50%) 3/4, *N. meningitidis*(33.3%)/*N. polysaccharea*(33.3%)/*N. lactamica*(33.3%) 1/4
*b : *N. meningitidis*(50%)/*N. polysaccharea*(50%) 1/4, *N. meningitidis*(33.3%)/*N. polysaccharea*(33.3%)/*N. lactamica*(33.3%) 3/4
*c : *N. meningitidis*(50%)/*N. polysaccharea*(50%) 1/4, *N. meningitidis*(33.3%)/*N. polysaccharea*(33.3%)/*N. mucosa/sicca*(33.3%) 1/4, No identification 1/4
*d : *N. meningitidis*(50%)/*N. polysaccharea*(50%) 2/4, *N. meningitidis*(33.3%)/*N. polysaccharea*(33.3%)/*N. lactamica*(33.3%) 2/4
*e : *N. meningitidis*(50%)/*N. polysaccharea*(50%) 1/4
*f : *N. meningitidis*(33.3%)/*N. polysaccharea*(33.3%)/*N. lactamica*(33.3%) 4/4
*g : *N. lactamica*(99.9%) 1/4, *N. meningitidis*(50.0%)/ *N. lactamica*(50.0%) 1/4, No identification 1/4
*h : *N. meningitidis*(50%)/*N. polysaccharea*(50%) 2/4, *N. meningitidis*(33.3%)/*N. polysaccharea*(33.3%)/*N. lactamica*(33.3%) 1/4
*i : *N. meningitidis*(50.0%)/ *N. lactamica*(50.0%) 1/4
*j : *N. lactamica*(99.9%) 1/4, Not identification 2/4
*k : *Haemophilus haemolyticus*(99.9%) 1/4, Not identification 1/4
*l : Not identification 4/4

が候補に挙がり，*N. meningitidis*は含まれなかった。菌2と菌3は*N. meningitidis*と*Neisseria subflava*が候補に挙がり，*N. meningitidis*が含まれる結果となった。さらにHN-20の測定で得られた生化学的性状を確認すると，糖からの酸産生性は3株全てで*N. meningitidis*の一般的な性状と一致したが，γ-glutamyl aminopeptidaseについては菌1が陰性を示した。菌2と菌3は陽性を示し一般的な*N. meningitidis*の性状と一致した。

1-3. *N. meningitidis*特異的PCR法

PCR法では*N. meningitidis*であった菌2，菌3を含め3株全てで莢膜多糖体合成遺伝子である*ctrA*遺伝子および莢膜血清型関連遺伝子である*orf2*遺伝子，*siaD*遺伝子は検出されなかった。

1-4. MLST解析

16SrRNA遺伝子解析で*N. meningitidis*と同定された菌2と菌3について国立感染症研究所へ精査を依頼した。その結果，MLST解析において*N. meningitidis* ST-11026（ST-32complex）と同定された。菌2，菌3ともに莢膜多糖体非産生株であった。

2. 培養条件および測定条件の違いによる質量分析装置の同定精度の検証

培養時間や培地，測定方法を変えて行った被検菌3株およびATCC株の測定結果を**Table 4**に示す。菌1はいずれの培養時間，培地，測定方法においても4重測定の結果が全て一致した条件はなく，*N. meningitidis*，*N. polysaccharea*，*Neisseria lactamica*と同定されるか，*Neisseria mucosa/sicca*を含む4菌種が様々な組み合わせで候補に挙がった。菌2は6時間，24時間の測定は全て*N. meningitidis*と同定された。48時間では血液寒天培地からの測定は全て*N. meningitidis*と同定されたが，チョコレート寒天培地からの測定ではダイレクトスメア法で4回測定のうち1回は*Haemophilus haemolyticus*と同定され*Neisseria*属以外の菌名となり，1回は同定結果が得られなかった。ギ酸抽出法では4回測定全てで同定結果が得られなかった。菌3，ATCC株は全ての測定条

件で*N. meningitidis*と同定された。

考察

*N. meningitidis*は飛沫により伝播し重症感染症を引き起こすため，迅速で正確な菌種同定が重要であるが，質量分析装置による*Neisseria*属の誤同定の報告がある[4)5)6)]。そこで今回呼吸器系検体から分離され，VITEK MSで*N. meningitidis*と同定された*N. polysaccharea* 1株と*N. meningitidis* 2株について生化学的性状検査および遺伝子検査を実施し，各検査法で*N. polysaccharea*と*N. meningitidis*を鑑別可能であるか，さらに質量分析装置の培養条件および測定条件による同定精度への影響について検証を行った。

質量分析装置VITEK MS Myla Ver.2.0を用いた測定では，菌2と菌3は正しく*N. meningitidis*と同定できていたが，*N. polysaccharea*である菌1は*N. meningitidis*と誤同定された。*N. polysaccharea*を*N. meningitidis*と誤同定するという報告[4)5)6)]はMALDI Biotyper（ブルカージャパン株式会社）を用いた測定において報告されていたが，今回VITEK MSにおいても認められた。誤同定の原因としてVITEK MS Myla Ver2.0のデータベースに*N. polysaccharea*が含まれていなかったことや培養条件および測定条件の影響を考慮し，*N. polysaccharea*がデータベースに含まれるVITEK MS Myla Ver3.0を使用し，培養時間やターゲットスライドへの塗布方法を変えて追加検討を行った。しかし追加検討においても菌1は培養条件や測定条件に関わらず様々な*Neisseria*属が候補に挙がり，結果にばらつきが認められた。よって*N. polysaccharea*の誤同定は培養や測定条件の影響ではなく，現在のVITEK MSでは正しく同定できない可能性が高いことが示唆された。このことから今後も更なるデータベースの充実が望まれる。一方*N. meningitidis*では安定して高い信頼値で同定可能であった。よってVITEK MSでは*N. meningitidis*については正しく同定可能であるが，*N. polysaccharea*は*N. meningitidis*を含む様々な*Neisseria*属と誤同定されることが考えられる。ただし*N. meningitidis*である菌2において48時間培養後のチョコレート寒天培地からの測定で誤同定や同定結果が得られない場合があった。MALDI Biotyperを用いて培養時間の違いによる*Neisseria*属の同定精度を比較した報告[6)]では，*N. meningitidis*は24時間培養より48時間培養の方が菌種レベルで同定できた株が多いという報告であるが，本検討においては異なる結果となった。本検討では6時間，24時間培養では*N. meningitidis*と同定できていたことや血液寒天培地では48時間培養においても正しく同定できていたことから，血液寒天培地と比較して栄養成分が多く含まれるチョコレート寒天培地では菌の発育が早く，菌株によっては自己融解などの影響を受ける可能性も考えられた。そのためVITEK MSを用いた*N. meningitidis*の同定においては培養後24時間以内の測定が望ましいと考えられる。

本邦ではVITEK MSに加えてMALDI Biotyperが主に一般の微生物検査室で同定検査に使用されている。前述の通り，MALDI Biotyperについても*Neisseria*属の誤同定の報告[4)5)6)]があり，菌種レベルで信頼性が高いとされるScore Value2.0以上で非病原性の*Neisseria*属が*N. meningitidis*と同定されている。よって2機種ともに同定精度が高い結果でも誤同定の可能性があり結果の判断には注意が必要である。データベースやライブラリの違いによって同定精度は異なることが考えられるが，質量分析装置だけで*N. meningitidis*の同定を行うことは誤った検査結果の報告へつながる可能性があり，他の検査方法による確認が必須である。

質量分析装置で*N. meningitidis*と同定された場合や*N. meningitidis*を疑った場合の追加試験として同定キットや機器，遺伝子検査が挙げられる。遺伝子検査では莢膜多糖体合成遺伝子および莢膜血清型関連遺伝子をターゲットとしたPCR法を行ったが，*N. meningitidis*であった菌2，菌3において本来検出されるはずの莢膜多糖体合成遺伝子および莢膜血清型関連遺伝子が検出されず，16SrRNA遺伝子解析の結果と矛盾した。これは2株がともに莢膜多糖体非産生株であったことが原因であった。莢膜多糖体非産生株は日本では報告が少ないものの海外では健康な保菌者から分離されており，その割合はGasparini ら[10)]は34.4%（11/32），Claus ら[11)]は16.4%（136/830）と報告している。一方で侵襲性感染症については世界でも報告例が少なく，保菌者からのみ一定の割合で分離されている。これは莢膜が病原性に関与しているため，莢膜を持たないことで発症に至らない場合が多いことが原因のひとつと考えられる。菌2，菌3についても臨床では保菌と判断された。そのため侵襲性感染症で分離された株と比較して髄膜炎症状がなく呼吸器系検体から分離された株については遺伝子検査だけでは判断を誤る可能性が高く注意が必要である。莢膜多糖体合成遺伝子や莢膜血清型関連遺伝子が陽性であれば*N. meningitidis*であると考えられるが，陰性を示した場合に*N. meningitidis*を否定せず，莢膜多糖体非産生株の可能性を考える必要がある。また割合は低いものの本邦においても莢膜多糖体非産生株による侵襲性感染症の報告[12)]があることから，莢膜多糖体非産生株についても感染管理や治療を考慮して正しく同定検査を行うことが

重要である。

生化学的性状検査では99%以上の確率で*N. meningitidis*と同定された場合に誤同定はなく，信頼性の高い結果が得られた。またHN-20は複数菌が候補に挙がったものの，*N. meningitidis*である菌2，菌3では候補に*N. meningitidis*が含まれており，生化学的性状を確認することで非病原性*Neisseria*属との鑑別が可能であった。特にγ-glutamyl aminopeptidaseは*N. meningitidis*で陽性を示すことがその他の*Neisseria*属との鑑別点であり，菌2，菌3およびATCC株は全て陽性を示し正しく鑑別できていた。一方，菌1についてはアピNHにおいて99.8%の確率で同定結果が得られたが，正しく*N. polysaccharea*と同定できていなかった。またHN-20には*N. polysaccharea*が同定可能菌種に含まれていないため，*N. polysaccharea*以外の*Neisseria*属が候補に挙がった。このことから同定キットや機器によっては*N. polysaccharea*が同定可能菌種に含まれないために異なる同定菌名が得られる場合や，正しく同定できない可能性も考えられる。ただしγ-glutamyl aminopeptidaseを含む生化学的性状を確認することで*N. meningitidis*を否定することは可能であると考えられる。これらのことから，同定キットや機器を使用する際は同定菌名だけでなく生化学的性状を確認することで複数菌が候補に挙がった場合や同定可能菌種に含まれない菌である場合にも，*N. meningitidis*とその他の*Neisseria*属を鑑別する一助になると考えられる。

本検討では*N. meningitidis* 2株について国立感染症研究所に依頼しMLST解析でST型の精査を行った。本邦では侵襲性感染症および保菌のいずれにおいても*N. meningitidis*の分離例は少なく，さらに届け出対象となるのは侵襲性感染症のみであることから，保菌者の疫学解析の報告は少ないのが現状である。今回解析を行った2株はともにST-32 complexとなった。このST-32 complexは本邦において保菌および侵襲性感染症の両方から分離の報告[13]があるST型であった。MLST解析は一般の検査室では実施が難しいものの，専門機関に依頼し保菌者から分離された株についても積極的に解析を行うことで，伝播した経路の把握だけでなく*N. meningitidis*の地域分布や経年的な分離株の遺伝子型の違い，侵襲性感染症を起こす株と保菌であった株の差異などの解明につながることが期待される。

今回の検討では遺伝子検査において，莢膜多糖体関連遺伝子以外の検証を行っていない。また*N. polysaccharea* 1株，*N. meningitidis* 2株と株数が少ないため，今後も質量分析装置で*N. meningitidis*と同定される株については追加検証を行いデータの蓄積が必要である。

結語

本検討および過去の報告のとおり質量分析装置では非病原性*Neisseria*属を*N. meningitidis*と誤同定する可能性がある。*N. meningitidis*の同定には16SrRNA遺伝子解析や同定キットを用いた生化学的性状の確認が有用であり，各検査室で実施可能な検査法を把握し，検査手順を決めておくことで臨床への迅速な報告につながると考えられる。また呼吸器系材料では特に莢膜多糖体非産生株の可能性もあるため，菌種同定においては各検査法の特徴を知り総合的に判断を行うことが重要である。さらに*N. meningitidis*の疫学的な背景を考慮してMLST解析など分子疫学解析を積極的に行うことも重要である。

本論文に関連して，開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

謝辞

本検討にあたりご協力いただきました国立感染症研究所　細菌第一部　高橋英之先生，細菌第一部部長・副所長　大西真先生に深謝いたします。

文　献

1）田中博，黒木俊郎，渡辺祐子ほか．わが国の健康者における髄膜炎菌の保菌状況．感染症学雑誌 2005;79:527-533
2）黒木真理子，吉野修司，河野喜美子ほか．高校生の髄膜炎菌集団感染事例“*Neisseria meningitidis*の細菌学的検討”．宮崎県衛生環境研究所年報　2012;23:77-81
3）国立感染症研究所：宮崎県における髄膜炎菌感染症集団発生事例．AISR月報 2011;32:298-299（https://idsc.niid.go.jp/iasr/32/380/kj3802.html 2019年12月2日現在）
4）Cunningham S, Mainella J, Patel R. Misidentification of *Neisseria polysaccharea* as *Neisseria meningitidis* with the Use of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. Journal of Clinical Microbiology 2014;52:2270-2271
5）Kawahara-Matsumizu M, Yamagishi Y, Mikamo H. Misidentification of *Neisseria cinerea* as *Neisseria meningitidis* by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS). Japanese Journal of Infectious Diseases 2018;71:85-87
6）Morel F, Jacquier H, Desroches M. Use of Andromas and Bruker MALDI-TOF MS in the identification of Neisseria. European Journal of Clinical Mi-

crobiology and Infectious Diseases 2018;37:2273-2277
7) Taha M, Alonso J, Cafferkey M, et al. Interlaboratory comparison of PCR-based Identification and genogrouping of *Neisseria meningitidis*. Journal of Clinical Microbiology 2005;43:144-149
8) 高橋英之，黒木俊郎．V試薬と器材 11)血清群別用抗血清，髄膜炎菌 *N. meningitidis* 検査マニュアル（一部 淋菌 *N. gonorrhoeae* を含む）．2011:14-16（http://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/neisseria_meningitidis_2011.pdf 2019年12月2日現在）
9) Elias J, Frosch M, Vogel U, *Neisseria*, In : Jorgensen J.H, Pfaller A, Carroll K.C, et al. ed. Manual of clinical microbiology, 11th ed. American Society for Microbiology ; Washington,D.C. 2015:635-651
10) Gasparini R, Comanducci M, Amicizia D, et al. Molecular and Serological Diversity of *Neisseria meningitidis* Carrier Strains Isolated from Italian Students Aged 14 to 22 Years. Journal of Clinical Microbiology 2014;52:1901-1910
11) Claus H, Mauden M, Maag R, et al. Many carried meningococci lack the genes required for capsule synthesis and transport. Microbiology 2002;148:1813-1819
12) Kurose S, Onozawa K, Yoshikawa H, et al. Invasive meningococcal disease due to a non-capsulated *Neisseria meningitidis* strain in a patient with IgG4-related disease BMC Infectious Disease 2018;18:1-6
13) Takahashi H, Kuroki T, Watanabe Y, et al. Characterization of *Neisseria meningitidis* isolates collected from 1974 to 2003 in Japan by multilocus sequence typing. Journal of Medical Microbiology 2004;53:657-662

全自動エンザイムイムノアッセイ装置AIA-900を用いたEテスト「TOSOH」II（Presepsin）によるプレセプシン測定の基礎的検討

Fundamental Study of Presepsin Measurement using Reagent TOSOH II (Presepsin) on AIA-900.

久保嘉志[1)]　大坂圭司[1)]　小嶺誠也[1)]　内田弘行[1)]
田地功忠[1)]　小林清子[1)]　池淵研二[2)]　海老原康博[1)]

要旨　プレセプシン測定試薬Eテスト「TOSOH」II（Presepsin；東ソー（株））の基礎的検討を，全自動エンザイムイムノアッセイ装置 AIA-900を用いて実施した。その結果，同時再現性，日差再現性，感度試験，希釈試験，共存物質の影響試験の成績は概ね良好であった。また，対照であるパスファーストPresepsin（(株)LSIメディエンス）との相関は，相関係数r=0.997，回帰式y=0.911x+45.919（n=140）であった。以上の結果より，本測定法は日常検査に導入可能と考えられた。

Key words　Presepsin，AIA，FEIA

1. はじめに

プレセプシンは，マクロファージの貪食に関与するCD14のN末端部からなる分子量13kDaのタンパク質である。CD14が消化酵素による細胞内消化を受け，プレセプシンとして血中に放出されると考えられている[1)]。敗血症患者の血中で高値となり，また，敗血症の病態とよく相関することが報告され，臨床現場での重篤な感染症の早期診断，救命救急や新生児医療における有用性が検討されている[2)~4)]。敗血症診断に用いられる他のバイオマーカーであるCRP，IL-6，プロカルシトニン等と比較して，敗血症の発症から血中濃度上昇までの時間が早い上，感染に起因しない炎症では血中濃度が上昇しないことから敗血症の早期の正確な診断に有用であると考えられている[5)]。日本版敗血症診療ガイドラインでは，重症患者の敗血症診断時の補助的検査におけるバイオマーカーとして推奨されている[6)]。このため，今後も重症患者ではプレセプシンの測定ニーズが高まることが予想される。

今回，蛍光酵素免疫測定法を測定原理とした全自動エンザイムイムノアッセイ装置 AIA-900を用いて，プレセプシン測定試薬Eテスト「TOSOH」II（Presepsin；東ソー（株））以下，本法とする）の基礎的性能を検討した。

2. 材料および方法

1）対象

当院において，プレセプシン測定依頼のあった患者検

Received May. 31，2019；Accepted Nov. 5，2019
Yoshiyuki KUBO[1)]，Keiji OSAKA[1)]，Seiya KOMINE[1)]，Hiroyuki UCHIDA[1)]，Yoshitada TAJI[1)]，Kiyoko KOBAYASHI[1)]，Kenji IKEBUCHI[2)]，Yasuhiro EBIHARA[1)]
[1)]埼玉医科大学国際医療センター中央検査部
〒350-1298 埼玉県日高市山根1397-1
Department of Clinical Laboratory，Saitama Medical University International Medical Center
1397-1，Yamane，Hidaka-shi，Saitama，350-1298

[2)]埼玉医科大学中央検査部
〒350-0495 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38
Department of Clinical Laboratory，Saitama Medical University Hospital
38，Morohongo，Moroyama-machi，Iruma-gun，Saitama，350-0495
Corresponding author：久保嘉志
Tel：042-984-4384
E-mail：y_k0501@saitama-med.ac.jp

体（EDTA-2Na）を用いた。なお，本研究は埼玉医科大学国際医療センターIRB委員会の承認（15-227）を得て施行した。

測定検体は，EDTA-2Na加採血管（テルモ（株））を用いて採血し，当院での臨床検体取り扱いと同様に，1700g×10分で遠心を行い（遠心機），その上清血漿を複数の容器に小分けして，－80℃で冷凍保存（冷凍庫）したのち，プレセプシン測定を行った。

2）測定機器

蛍光酵素免疫測定法（FEIA法）を測定原理とする全自動エンザイムイムノアッセイ装置 AIA-900を用いた。

3）測定原理

プレセプシン測定は，抗プレセプシンマウスモノクローナル抗体とアルカリ性ホスファターゼ標識抗プレセプシンウサギモノクローナル抗体を用いた1ステップサンドイッチFEIA法を測定原理としている。試薬カップ内の凍結乾燥された磁性ビーズ固定化抗プレセプシンマウスモノクローナル抗体とアルカリ性ホスファターゼ標識抗プレセプシンウサギモノクローナル抗体に分注水と検体が加えられ，10分間，37℃でインキュベートされる（抗原抗体反応）。その後，洗浄水によるB/F分離が行われ，蛍光基質4-メチルウンベリフェリルリン酸が添加され，酵素による基質分解で生じる蛍光物質の生成速度（Rate）を測定することによりプレセプシン濃度を求める。

4）対照試薬および機器

対照として，パスファーストPresepsin（(株）LSIメディエンス）と移動式免疫発光測定装置パスファースト（以下，対照法とする）を用いた。

3. 成績

1）同時再現性

2濃度の専用コントロール（Lv.1およびLv.2）を用いて連続10回測定し，平均値および標準偏差(SD)から変動係数（CV）を求めた。本法のCVは2.6～3.2%であった（**Table 1**）。

2）日差再現性

同時再現性と同一の2濃度の専用コントロールを用いて10日間測定し，CVを求めた。本法のCVは3.1～3.2％であった（**Table 2**）。

3）希釈試験

対照法にて，プレセプシン値4,000 pg/mL以上であった3名の患者検体（検体#1：4,565.5 pg/mL，検体#2：11,695.6 pg/mL，検体#3：15,621.2 pg/mL）を用いて，専用希釈液にて5段階希釈系列を作製し，プレセプシン値を測定した。いずれの検体においても良好な直線性が認められた(**Fig. 1**)。

4）感度試験

専用標準品を専用希釈液にて段階希釈して調製した低濃度サンプルを，各5重測定した。低濃度サンプルの測定値の平均値-2SDが0濃度+2SDと重ならない最小濃度

Table 1　Within-Run reproducibility

	control low(Lv.1;pg/mL)	control high(Lv.2;pg/mL)
1	780.8	6625.5
2	762.9	6892.4
3	704.6	6976.2
4	727.7	6834.5
5	718.3	6671.9
6	718.2	6741.5
7	742.7	6588.8
8	732.8	6698.2
9	717.7	7121.4
10	716.9	7003.1
Mean	732.3	6815.4
SD	23.6	179.0
CV(%)	3.2	2.6

Table 2　Between-Day reproducibility

days	control low(Lv.1;pg/mL)	control high(Lv.2;pg/mL)
1	802.3	7057.4
2	795.4	6836.7
3	809.8	6365.2
4	808.9	7010.1
5	754.1	6862.7
6	772.4	6795.2
7	745.8	6829.1
8	794.1	6873.2
9	820.3	7171.0
10	784.9	6703.6
Mean	788.8	6850.4
SD	24.6	219.2
CV(%)	3.1	3.2

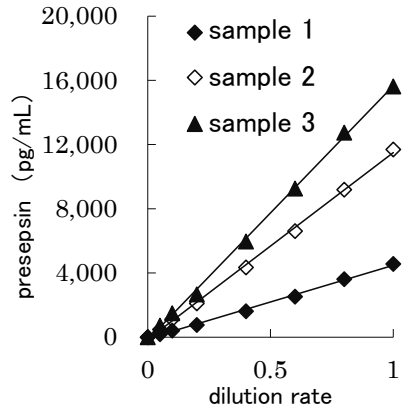


Fig. 1　Dilution linearity test

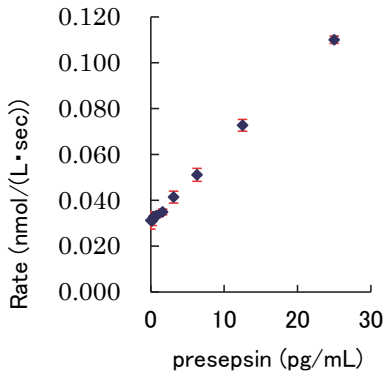


Fig. 2 Limit detection test

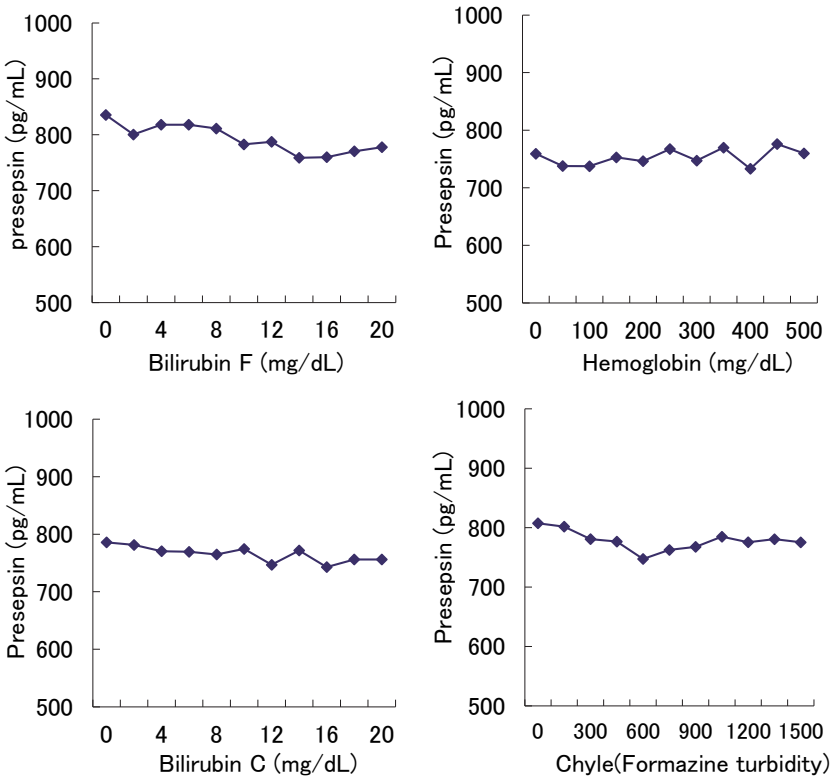


Fig. 3 Effects of interfering substances

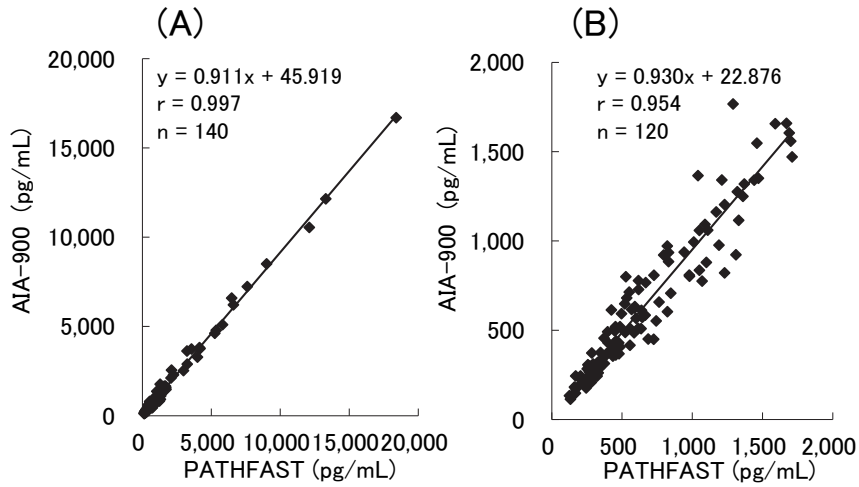


Fig. 4 Correlation between PATHFAST and AIA-900
(A) Correlation analysis of all samples (n=140). (B) Correlation analysis using samples of less than 2,000 pg/mL of presepsin levels (n=120).

を検出下限値としたところ，検出下限値は3.1 pg/mLであった（**Fig. 2**）。

5）共存物質の影響試験

プール血漿に，「干渉チェック・Aプラス（シスメックス（株））」を用いてビリルビンF，ビリルビンC，溶血ヘモグロビン，乳びをそれぞれ添加し，プレセプシン値を測定した。共存物質の添加により測定値が共存物質を添加していない検体の測定値±10%以上変動した場合に共存物質の影響ありとした[7),8)]。各々の共存物質を添加して測定すると，ビリルビンFは約20mg/dL，ビリルビンCは約20mg/dL，溶血ヘモグロビンは約500mg/dL，乳びは約1,500ホルマジン濁度までの検査値は共存物質を添加していない検体の測定値±10%以内であるため，共存物質の影響はないと考えられた（**Fig. 3**）。

6）相関試験

140名の患者検体を用いて対照法（x）と本法（y）の相関関係を評価すると，測定値が2倍以上異なる乖離検体が4検体認められた（乖離1：989.3pg/mL（本法），442pg/mL（対照法），乖離2：1006.2pg/mL（本法），283pg/mL（対照法），乖離3：191.7 pg/mL（本法），549 pg/mL（対照法），乖離4：1305.8pg/mL（本法），646 pg/mL（対照法））。別容器に小分けし凍結保存していた検体で再測定を実施したところ，乖離は確認されなかった（乖離1：771.7pg/mL（本法），727pg/mL（対照法），乖離2：743.3 pg/mL（本法），617pg/mL（対照法），乖離3:234.4 pg/mL（本法），323pg/mL（対照法），乖離4:926.0pg/mL（本法），822pg/mL（対照法））。再測定結果を含めて評価したところ，相関係数r=0.997，回帰式y=0.911x+45.919と相関性は良好であった（**Fig. 4A**）。また，多くの症例（120例）はプレセプシン測定値が2,000 pg/mL以下であったため，プレセプシン測定値が2,000 pg/mL以下に限定して相関関係を検討すると，相関係数r = 0.954，回帰式y = 0.930x + 22.876と良好な相関関係が認められた（**Fig. 4B**）。

4. 考察

基礎的性能に関しては，同時再現性はCVが2.6～3.2%，日差再現性はCVが3.1～3.2%と良好であり，感度試験においても対照法の測定下限の50pg/mLを下回る，3.1pg/mLまで検出可能であった。希釈直線性も認められ，共存物質の影響は認められなかった。対照法との相関性も低濃度を含めて得られたことから対照法と比較しても遜色ない性能を有すると考えられた。また，全自動エンザイムイムノアッセイ装置AIA-900では，1時間あたり90検体の測定が可能であるため，迅速性を重視する施設でのプレセプシンの測定ニーズに十分対応可能であると考えられた。

本法は対照法と良好な相関を示した一方で，乖離検体が4例確認された。別容器に凍結保存していた検体による再測定ではそれらの乖離が確認されなかったことから，検体の取り扱い方法が関与していると推定される。Eテスト「TOSOH」II（Presepsin）添付文書には，強い撹拌等の検体の取り扱い方法に起因してプレセプシン測定値が変動

する可能性があるとの記載がある。本報告に用いた検体は上述したように小分けして冷凍保存していた検体を用いて測定しているため,一部の検体測定時に激しい攪拌など何らかの物理的なストレスがかかり,測定値に変動を来したものと推察される。今後は，検体の取り扱い方法に注意しながらプレセプシンの有用性を検討する必要があると思われた。

5. 結論

Eテスト「TOSOH」Ⅱ（Presepsin）の基礎的性能評価では十分な結果が得られた。よって，本法は日常検査に導入可能と考えられた。全自動エンザイムイムノアッセイ装置 AIA-900を用いることで，重篤な感染症の迅速な診断が求められる医療現場のニーズに十分貢献できると考えられた。

本論文の内容は日本臨床自動化学会第48回大会（横浜）にて発表した。

本論文の発表に関連して，開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文　献

1）岡村佳和．トピックス：イムノアッセイの進歩（3）新規敗血症マーカー「プレセプシン」の測定意義について．臨床病理 2015;63:62-71.
2）Shozushima T, Takahashi G, Matsumoto N, et al. Usefulness of presepsin (sCD14-ST) measurements as a marker for the diagnosis and severity of sepsis that satisfied diagnostic criteria of systemic inflammatory response syndrome. J Infect Chemother 2011;17:764-769.
3）Endo S, Suzuki Y, Takahashi G, et al. Usefulness of presepsin in the diagnosis of sepsis in a multicenter prospective study. J Infect Chemother 2012;18:891-897.
4）Poggi C, Bianconi T, Gozzini E, et al. Presepsin detection of late-onset sepsis in preterm newborns. Pediatrics 2015;135:68-75.
5）遠藤重厚，高橋学，佐藤正幸ほか．新規に保険収載された検査法：敗血症診断マーカーとしてのプレセプシンの意義．モダンメディア 2014;60:299-305.
6）日本版敗血症診療ガイドライン 2016．日本集中治療医学会・日本救急医学会合同日本版敗血症診療ガイドライン 2016作成特別委員会　日本集中治療医学会・日本救急医学会；東京．2017:31-38.
7）中嶋清美，藤井咲枝，岩井美翔ほか．表面プラズモン共鳴励起増強蛍光分光法（SPFS法）を原理とした高感度小型システムによる高感度トロポニンI測定の性能評価．日本臨床検査自動化学会誌 2017;42:31-37.
8）本多弘子，赤羽あゆみ，萩原三千男ほか．全自動化学発光酵素免疫測定システム「ルミパルスL2400」プロトタイプ機の性能評価．日本臨床検査自動化学会誌 2017;42:76-82.

改良型PIVKA-Ⅱキット「ルミパルスプレストPIVKA Ⅱ-N」の基礎性能評価

Evaluation of the Clinical Performances of LUMIPULSE Presto Ⅱ, the improved Reagent for PIVKA-Ⅱ

松井亜理沙[1)]　下坂浩則[1)]　佐藤智明[1)]　蔵野　信[1)2)]　矢冨　裕[1)2)]　飛田明子[1)]

要旨　ルミパルスPresto Ⅱを用いて，化学発光酵素免疫測定法を原理とするPIVKA-Ⅱ測定試薬「ルミパルスプレスト®PIVKA Ⅱ-N」の基礎的性能評価を実施した。結果は良好であり，日常検査で使用するにあたり十分な性能を有していると考えられた。

Key words　PIVKA-Ⅱ，LUMIPULSE Presto Ⅱ，CLEIA

はじめに

PIVKA-Ⅱ（Protein induced by vitamin K absence or antagonist Ⅱ）とは，ビタミンK依存性因子であるプロトロンビンのN末端領域にあるγ-カルボキシグルタミン酸（Gla）が，ビタミンK欠乏等によりカルボキシル化されずグルタミン酸（Glu）残基のまま血中に出現したものであり[1)]，肝細胞癌患者の血清中に検出されるため，肝細胞癌の腫瘍マーカーとして日常診療に汎用されている。肝細胞癌で産生されるPIVKA-ⅡはGla残基が少ないことが報告されている[2)]。肝細胞癌患者血清でのPIVKA-Ⅱ陽性率は50%程度であるが，AFP上昇との間に相関がみられないことから，PIVKA-Ⅱ，AFPを組み合わせることにより感度の向上が期待される[3)4)]。また，PIVKA-Ⅱはワルファリン等のビタミン拮抗薬や抗菌薬の投与により上昇することがある。

今回，化学発光酵素免疫測定法（以下　CLEIA法）を原理とする「ルミパルスプレスト®PIVKA Ⅱ エーザイ」（積水メディカル株式会社）の標識抗体をポリクローナル抗体からモノクローナル抗体に改良した「ルミパルスプレスト®PIVKA Ⅱ-N」（積水メディカル株式会社）が開発された。この試薬は1次抗体としてGla残基と反応性が強いMU-3抗体が使用されている。MU-3抗体は，1）プロトロンビンのGlaドメイン（1-41）のうち，19，20，25番目のGluを認識する，2）19，20番目のGluのうちどちらか一方がGla化されるとGla残基を認識しない，3）25番目のGluがGla化するとGla残基との結合力が弱くなる，4）S-S結合が還元されるとGla残基を認識しないという特徴がある[5)]。この新たに改良された試薬の基礎性能評価を実施したので報告する。

対象および方法

1．対象

残余検体162例及び市販品コントロール（積水メディカル株式会社），ルミパルスプレスト®PIVKA Ⅱ-N専用キャリブレータを使用した。なお本検討は東京大学大学院医学系研究科医学部倫理委員会の承認を得て実施した（承認番号：3333-114）。なお，本検討は積水メディカル株式会社との受託研究契約に基づき実施した。

Received Dec. 18, 2019; Accepted Dec. 26, 2019
Arisa MATSUI[1)], Hironori SHIMOSAKA[1)], Tomoaki SATO[1)], Makoto KURANO[1)2)], Yutaka YATOMI[1)2)], Akiko TOBITA[1)]
[1)]東京大学医学部附属病院　検査部
Department of Clinical Laboratory, The University of Tokyo Hospital
[2)]東京大学大学院医学系研究科内科学専攻病態診断医学講座臨床病態検査医学
Department of Clinical Laboratory Medicine, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo
〒113-8655　東京都文京区本郷7-3-1
7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655
Corresponding author：松井　亜理沙
Tel：03-3815-5411（代表）　内線：35024
E-mail：DATEA-LAB@h.u-tokyo.ac.jp

2．測定機器及び試薬

測定試薬はルミパルスプレスト®PIVKA Ⅱ-N，測定機器はルミパルスPresto Ⅱ（富士レビオ株式会社）を使用した。

対照試薬はLBA-EATA（Liquidphase Binding Assay and Electrokinetic Analyte Transport Assay）法を原理としたミュータスワコーPIVKA-Ⅱ（富士フィルム和光純薬株式会社），測定機器はミュータスワコー i30（富士フィルム和光純薬株式会社）を使用した。

3．測定原理

2ステップサンドイッチ法に基づいたCLEIA法である。①抗PIVKA-Ⅱマウスモノクローナル抗体を結合させたフェライト粒子（固相）に検体中のPIVKA-Ⅱを反応させる。②洗浄後，アルカリホスファターゼ標識抗プロトロンビンマウスモノクローナル抗体を反応させると，検体中のPIVKA-Ⅱを介した3者のサンドイッチ複合体が形成される。③未反応の酵素標識抗体をB/F分離後，化学発光基質（AMPPD；3-(2'-Sproadamantane)-4-methoxy-4-(3"-phosphoryloxy)phenyl-1,2-dioxetane disodium salt）を加えて酵素反応を行う。固相に結合した検体中のPIVKA-Ⅱ量はAMPPDの分解に伴う発光量に反映されるので，発光量を測定することによりPIVKA-Ⅱ濃度を求めることができる。

4．方法

1）再現性

同時再現性については，市販品コントロール及び患者血清2例をそれぞれ10重測定した結果を平均値，標準偏差（SD），変動係数（CV）で評価した。

日差再現性については，市販品コントロール及び患者血清2例をそれぞれ小分け後凍結し，各試料を2重測定で5日間測定した結果を平均値，SD，CVで評価した。

2）希釈直線性

高濃度（25,000mAU/mL以上）の患者血清13例を用いて，専用検体希釈液で希釈系列を作成し，2重測定した平均値から希釈直線性を評価した。

3）共存物質の影響

3濃度の患者プール血清を対象に干渉チェック・Aプラスおよび RFプラス（シスメックス株式会社）を用いて，乳糜，溶血，遊離型ビリルビン，抱合型ビリルビンおよびリウマトイド因子についてそれぞれPIVKA-Ⅱ濃度への影響を評価した。

4）分析感度

キャリブレータ（50mAU/mL）を試料の原液として，専用検体希釈液を用いて6段階の試料を作成し，各試料を10重測定した発光カウントから，平均値，SDを求めた。専用検体希釈液を0mAU/mLの試料とし，0mAU/mLの発光カウント＋2SDとそれぞれの試料の発光カウント－2SDが重ならない試料の濃度を検出限界とした。

5）実効感度

低濃度（1～30mAU/mL程度）の患者血清13例をそれぞれ小分け後凍結し，10日間測定後，precision profileにおいてCV　20%となる濃度を実効感度とした。

6）相関性

患者血清を用いて，低濃度域0～40mAU/mLを35例，中濃度域40～1,000mAU/mLを50例，高濃度域1,000～100,000mAU/mLを27例について，ミュータスワコーPIVKA-Ⅱとの相関性を評価した。

7）ロット間差の検証

下記2つの内容について，試薬ロットの比較検討を実施した。

a）同時再現性

市販品コントロール2濃度を用いて，試薬2ロット間で1）の同時再現性に準じて実施した。

b）相関性

患者血清20例を用いて，試薬2ロット間での相関性を評価した。またPIVKA-Ⅱ低濃度域については試薬3ロット間で検証を行った。なお解析方法は6）の相関性に準じる。

結果

1）再現性

同時再現性についてCVは1.6～4.0%（**Table 1**），日差再現性についてCVは3.0～4.8%であった（**Table 2**）。

2）希釈直線性

原点を通る良好な希釈直線性が得られた（**Fig. 1**）。

3）共存物質の影響

乳糜は1,660ホルマジン濁度，溶血は510mg/dL，遊離型ビリルビンは19.1mg/dL，抱合型ビリルビンは19.8mg/dL，リウマトイド因子は450IU/mLまで影響は認められなかった（**Fig. 2**）。

4）分析感度

2SD法で求めた分析感度は0.5mAU/mLであった（**Fig. 3**）。

5）実効感度

CV 20%以下となる濃度を算出すると0.7mAU/mLであった。

6）相関性

ミュータスワコーとの回帰式において，低濃度域，中濃度域，高濃度域いずれにおいても良好な結果が得られた（**Fig. 4**）。

Table 1 Within run precision (n=10).

	Control Ⅰ	Control Ⅱ	Serum 1	Serum 2
Mean (mAU/mL)	56.8	233.5	16.4	1019
SD (mAU/mL)	1.2	5.6	0.7	15.9
CV (%)	2.2	2.4	4.0	1.6

Table 2 Between-day precision (n=5).

	Control Ⅰ	Control Ⅱ	Serum 3	Serum 4
Mean (mAU/mL)	56.3	235.2	26.6	1075
SD (mAU/mL)	2.3	11.3	0.8	38.7
CV (%)	4.1	4.8	3.0	3.6

Table 3 Variation between kits of different lots (within run) (n=10).

	Lot.7022		Lot.7043	
	Control Ⅰ	Control Ⅱ	Control Ⅰ	Control Ⅱ
Mean (mAU/mL)	56.8	233.5	54	223.5
SD (mAU/mL)	1.2	5.6	3.1	5.1
CV (%)	2.2	2.4	5.7	2.3

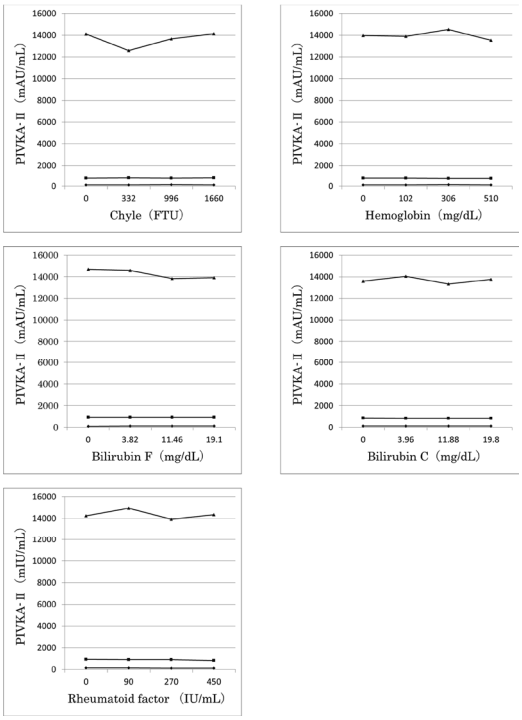


Fig. 2 Effect of interference substances.

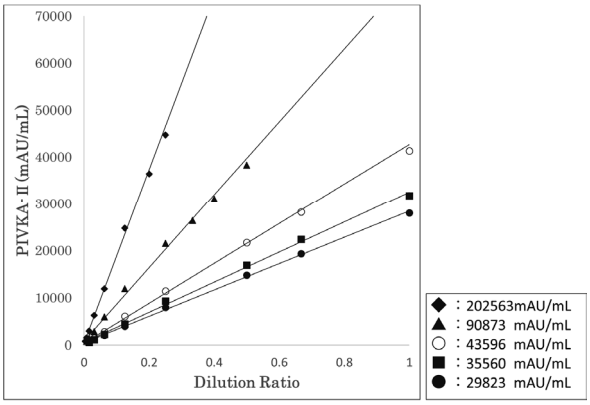


Fig. 1 Linearity of dilution.

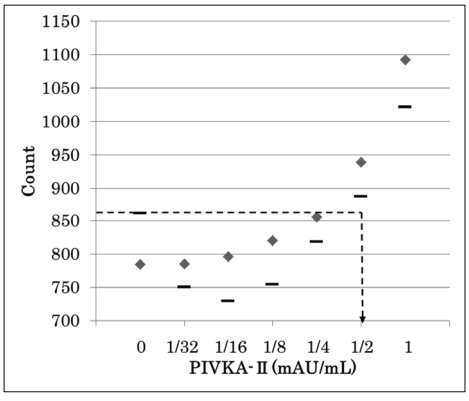


Fig. 3 Analytical sensitivity.

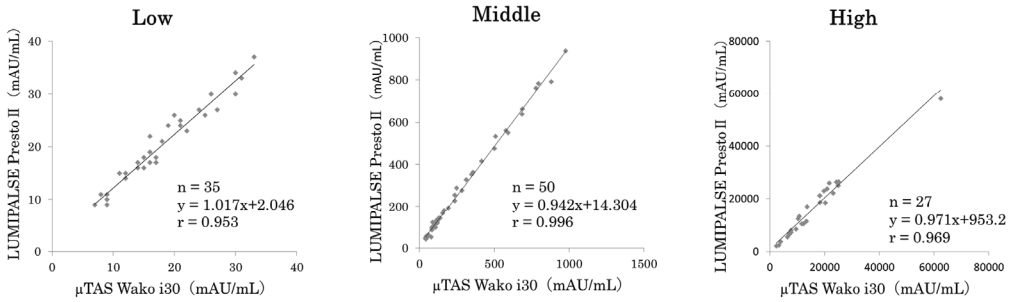


Fig. 4 Correlation between PIVKA-II concentrations determined with μTAS Wako i30 (x) and those with Lumipulse Presto Ⅱ (y).

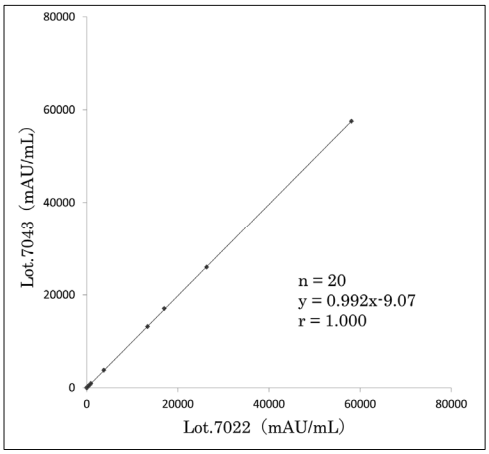


Fig. 5 Correlation between PIVKA-II concentrations determined with μTAS Wako i30 (x) and those with Lumipulse Presto Ⅱ (y).

7）ロット間差の検証

a）同時再現性

2ロット間におけるCVは2.2～5.7%であった(**Table 3**)。

b）相関性

2ロット間におけるPIVKA-Ⅱ濃度の相関性は全濃度域で良好であった（**Fig. 5**)。低濃度域は臨床的意義が高いと考え3ロット間で検証を行った結果，それぞれのロットで良好な結果であった（**Fig. 6**)。

考察

本試薬のPIVKA-Ⅱ測定上限値は添付文書において75,000ｍAU/ｍLとされている。今回，希釈直線性の検討に使用した患者血清のPIVKA-Ⅱ値は最大60,274mAU/mLであったが，測定上限近くの値で良好な結果を得ることができた。肝癌診療ガイドラインではPIVKA-Ⅱのカットオフ値は40mAU/mL[6]，肝移植における拡大適応基準ではPIVKA-Ⅱ値はKyoto基準の場合には400mAU/mL[7]，Kyushu基準の場合には300mAU/mL[8]と定められていることから，本試薬は希釈直線性について，臨床上重要な測定範囲において十分な性能を有していると考えられる。肝細胞癌以外でPIVKA-Ⅱ高値となる要因として，薬剤による影響，その他病態・疾患による影響が考えられる。薬剤についてはビタミンKの代謝に必要とされるビタミンKエポキシドレダクターゼ，ビタミンKキノンレダクターゼの阻害作用を示すワルファリン[9]，腸内細菌叢の抑制によるビタミンKの産生障害及びビタミンK酸化還元サイクルの阻害を引き起こすセフェム系抗菌薬の長期投与[10]，ビタミンKエポキシドレダクターゼを阻害するとされる抗結核薬[11]，血管新生抑制により腫瘍部の血流量低下が誘発されるソラフェニブ[12]などが挙げられる。その他病態・疾患については小腸内の胆汁が減少しビタミンKの吸収が阻害される肝内胆汁うっ滞[9]，ビタミンKの摂取不良を引き起こすアルコール性肝障害[13]，肝細胞癌以外の悪性腫瘍[14][15]などが挙げられる。このようにPIVKA-Ⅱ高値の要因は様々考えられるので，測定結果は患者背景を考慮して報告しなければならない。

ロット間差については同時再現性においてCV6.0%未満と良好であった。さらに相関性についてもy=0.992x-9.07，r=1.000と良好な結果が得られ，臨床的意義の高いカットオフ値付近についても3ロット間の比較においてそれぞれy=0.967x+0.645（r=0.989)，y=1.037x-0.213（r=0.991)，y=1.010x+0.256（r=0.994）と良好な相関が得られた。本試薬は，ロット間差が小さいことにより，一貫した測定結果の報告が見込まれる。

希釈直線性は原点を通る良好な直線が得られた。さらに共存物質についてはビリルビンF，ビリルビンC，溶

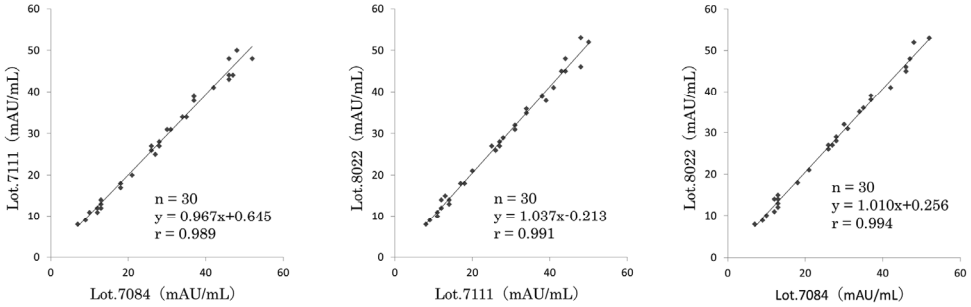


Fig. 6 Variation among kits of different lots at low PIVKA-II level.

血ヘモグロビン，乳び，リウマトイド因子いずれも今回検討した濃度までは影響を認められず，再現性試験においても同時再現性，日差再現性ともにCV5.0％未満であることを踏まえ，結果は概ね良好であるといえる。

測定時間については患者検体がルミパルスPrestoⅡに搬入されてから結果報告までに27分要するが，ルミパルスPrestoⅡは搬送ラインに接続可能であること，自動希釈による測定が可能であることから，検査の効率性，有用性は高いと考えられる。

結語

本試薬の基礎性能を実施した結果，日常検査で使用するにあたり十分な性能を有していると考えられた。

本論文の発表に関連して，開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文　献

1）Liebman HA, Furie BC, Tong MJ, et al. Des-γ-carboxy (abnormal) prothrombin as a serum marker of primary hepatocellular carcinoma. N Engl J Med 1984;310:1427-1431
2）Uehara S, Gotoh K, Handa H, et al. Distribution of the heterogeneity of des-gamma-carboxyprothrombin in patients with hepatocellular carcinoma. J Gastroenterol Hepatol. 2005;10:1545-1552
3）Fujiyama S, Morishita T, Hashiguchi O, et al. Plasma abnormal prothrombin (des-gamma-carboxy prothrombin) as a marker of hepatocellular carcinoma. Cancer 1988;61:1621-1628
4）Yoon YJ, Han KH, Kim do Y. Role of serum prothrombin induced by vitamin K absence or antagonist Ⅱ in the early detection of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B virus infection. Scand J Gastroenterol 2009;44:861-866
5）Naraki T, Kohno N, Saito H, et al. Gamma-Carboxyglutamic acid content of hepatocellular carcinoma-associated des-gamma-carboxy prothrombin. Biochim Biophys Acta. 2002;1586:287-298
6）日本肝臓学会編，科学的根拠に基づく肝癌診療ガイドライン，第3版，金原出版；東京，2013.
7）Fujiki M, Takada Y, Ogura Y, et al. Significance of des-gamma-carboxy prothrombin in selection criteria for living donor liver transplantation for hepatocellular carcinoma. Am J Transplant 2009;9:2362-2371
8）Soejima Y, Taketomi A, Yoshizumi T, et al. Extended indication for living donor liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma. Transplantation 2007;83:893-899
9）藤山重俊，森下愛文，伊津野清徳ほか.〔肝臓とビタミン代謝〕肝細胞癌とPIVKA. 肝胆膵1989;18:599-608
10）崎園賢治，相馬正幸，前田義久ほか．モノクローナル抗体を用いた異常プロトロンビン(PIVKA-2）測定法の基礎的検討および臨床応用．衛生検査1990;39:92-95
11）石井史，飯塚文瑛，中西敏己．抗結核剤によるビタミンK欠乏症に関する研究．日本消化器病学会雑誌1997;94:389-397
12）上嶋一臣，工藤正俊．PIVKA-IIはSorafenibの治療効果予測因子になりうる．肝臓2010;51:681-683
13）丸山勝也.【アルコールと臨床検査】PIVKA-IIとアルコール．臨床検査2003;47:659-663
14）服部信．肝細胞癌における異常プロトロンビンの臨床的評価．臨牀と研究 1988;65:941-950
15）工藤正俊，高峰義和，中村寛治，PIVKA-2およびAFP産生2c型早期胃癌の1例．癌の臨床1993;39:320-326

ルミパルスL2400とARCHITECT i2000SRを用いたHBVマーカーの比較検討

Comparison of HBV Markers Measured by LumipulseL2400 and ARCHITECT i2000SR

米澤　仁[1)]　山田浩司[1)]　村井良精[1)]　淺沼康一[1)]　柳原希美[1,2)]　高橋　聡[1,2)]

要旨　B型肝炎のスクリーニング検査として測定が推奨されているHBs抗原，HBs抗体およびHBc抗体検査についてルミパルスL2400とARCHITECT i2000SRで比較した。

HBs抗原では78例中64例で判定が一致し，その一致率は82.1％であった。また，HBs抗体とHBc抗体ではそれぞれ85.5％，96.8％と高い一致率であった。ただし，HBs抗体では陽性と陰性の判定は一致したものの，測定値が乖離する症例の存在を確認した。以上より，ルミパルスL2400とARCHITECT i2000SRの判定一致率は良好であったが，項目によっては感度の差や反応性の違いによる測定値の乖離を認めた。

Key words　Lumipulse L2400，ARCHITECT i2000SR，HBV

1. はじめに

B型肝炎のスクリーニング検査は診断，病態把握，術前検査，血液・体液を介した針刺し・粘膜曝露時などに使用されている。なかでもHBs抗原陽性はHBV感染を意味しており，以前よりその定量検査が用いられてきた[1,2)]。最近,免疫抑制剤の使用，また，抗がん剤療法によるHBVの再活性化によって発症するB型肝炎（de novo肝炎）が問題となっており，その予後は極めて不良であることが知られている。それを防ぐため，B型肝炎治療ガイドラインver.3[3)]では免疫抑制剤の使用・抗がん剤療法開始前にHBs抗原のみならず，HBs抗体およびHBc抗体を測定しHBVキャリアや既感染の有無を確認することが推奨されている[3-5)]。

このようなHBV再活性化のリスクを回避するため，スクリーニング検査の実施は不可欠となっており，それに伴い試薬の高感度化，特異度の上昇が望まれている。現在，HBs抗原に関しては従来と比較して高感度の試薬が開発され，治療効果判定における有用性が注目されている。また，HBs抗体は試薬に用いられている抗原サブタイプの違いによって反応性が異なり，測定値の乖離が報告されている[6,7)]。そこで今回，新たにB型肝炎治療ガイドラインに記載されたHBs抗原の高感度測定が可能な化学発光酵素免疫測定法（Chemiluminescent Enzyme Immunoassay：CLEIA法）を原理とした，ルミパルスL2400を用いて，従来より記載されている化学発光免疫測定法（Chemiluminescent Immunoassay：CLIA）を原理とするARCHITECT i2000SRと，スクリーニング時の測定項目であるHBs抗原，HBs抗体およびHBc抗体測定値の比較検討を行った。

2. 材料および方法

1）対象

札幌医科大学附属病院の入院および外来患者血清を用

Received May. 16，2019；Accepted Nov. 18，2019
Hitoshi YONEZAWA，Koji YAMADA，Ryosei MURAI，Kouichi ASANUMA，Nozomi YANAGIHARA，Satoshi TAKAHASHI
[1)]札幌医科大学附属病院検査部
[2)]札幌医科大学医学部感染制御・臨床検査医学講座
〒060-8543　札幌市中央区南1条西16丁
[1)]Division of Laboratory Medicine，Sapporo Medical University Hospital，
[2)]Department of Infection Control and Laboratory Medicine，Sapporo Medical University School of Medicine.
South 1，West 16，Chuo-ku，Sapporo 060-8543
Tel：011-611-2111，Fax：011-615-3646
E-mail：yonehito@sapmed.ac.jp

いた。なお，本検討においては札幌医科大学附属病院臨床研究審査委員会の承認を得て行った（整理番号；272-121）。

2）試薬および測定機器

「ルミパルスプレストHBsAg-HQ」（カットオフ値0.005 IU/mL），「ルミパルスプレストHBsAb-N」（カットオフ値10.0 mIU/mL），「ルミパルスプレストHBcAb-Ⅲ」（カットオフ値1.0 C.O.I.）を使用し，ルミパルスL2400（いずれも富士レビオ（株））で測定を行った。

比較対照には「ARCHITECT HBsAg QT」（カットオフ値0.05 IU/mL），「ARCHITECT オーサブ」（カットオフ値10.0 mIU/mL），「ARCHITECT HBcⅡ」（カットオフ値1.0 S/CO）を用い，ARCHITECT i2000SR（いずれもアボットジャパン（株））で測定した。

3）HBs抗原の抑制試験

抑制試験には「HBsAg-HQ抑制試薬」（富士レビオ（株））を用い，検体に10分の1量のHBs抗体液あるいは対照液を加えたものを用意し，30分インキュベート後，それぞれの値を測定した。抑制率が50%以上で陽性と判定した。

Table 1 The comparison of reactivity of Lumipulse and ARCHITECT in measuring HBs antigen.

		Lumipulse	
		−	+
ARCHITECT	−	0	14
	+	0	64

Table 2 Analysis of the Discrepancy example of result between Lumipulse and ARCHITECT in measuring HBs antigen.

S.No.	Lumipulse(IU/mL)	ARCHITECT(IU/mL)	Inhibition rate (%)
1	0.041 (+)	0.01 (-)	90.5 (+)
2	0.007 (+)	0.01 (-)	89.2 (+)
3	0.048 (+)	0.02 (-)	81.5 (+)
4	0.032 (+)	0.01 (-)	84.1 (+)
5	0.012 (+)	0.00 (-)	92.4 (+)
6	0.023 (+)	0.01 (-)	86.3 (+)
7	0.006 (+)	0.02 (-)	92.1 (+)
8	0.213 (+)	0.04 (-)	90.2 (+)
9	0.119 (+)	0.03 (-)	85.6 (+)
10	0.007 (+)	0.01 (-)	88.6 (+)
11	0.014 (+)	0.01 (-)	88.3 (+)
12	0.024 (+)	0.01 (-)	90.8 (+)
13	0.010 (+)	0.01 (-)	89.4 (+)
14	0.178 (+)	0.04 (-)	85.6 (+)

4）HBs抗体の吸収試験

「ルミパルスプレストHBsAb-N」を用いた吸収試験では，検体にadr，adw，aywの3種の主要なHBs抗原サブタイプ陽性検体を10分の1量ずつ加えインキュベート後に測定した。

3. 結果

1）HBs抗原測定値の比較

「ルミパルスプレストHBsAg-HQ」で陽性と判定された78例を用いて「ARCHITECT HBsAg QT」と比較した。その結果，判定の一致率は82.1%であり，14例が「ARCHITECT HBsAg QT」では検出できなかった（**Table 1**）。

2）HBs抗原判定不一致例の解析

HBs抗原の比較で判定不一致となった14例について解析を行った。14例は全て「ルミパルスプレストHBsAg-HQ」でのみ陽性であったため，ルミパルスでの抑制試験を実施した。その結果，全例で抑制効果が確認できた（**Table 2**）。

3）HBc抗体測定値の比較

HBs抗原の検討とは異なる患者血清62例を用いて「ルミパルスプレストHBcAb-Ⅲ」と「ARCHITECT HBcⅡ」でHBc抗体を測定した。その結果，62例中60例で判定が一致し，その一致率は96.8%であった（**Table 3**）。不一致となった2例の測定値は「ルミパルスプレストHBcAb-Ⅲ」でいずれも1.1 C.O.I.と陽性で，「ARCHITECT HBcⅡ」では0.85 S/COあるいは0.89 S/COと陰性であった。

4）HBs抗体の比較

HBc抗体の比較で用いた血清62例を用いてHBs抗体を同様に比較した。その結果62例中53例で判定が一致

Table 3 The comparison of reactivity of Lumipulse and ARCHITECT in measuring HBc antibody.

		Lumipulse	
		−	+
ARCHITECT	−	8	2
	+	0	52

Table 4 The comparison of reactivity of Lumipulse and ARCHITECT in measuring HBs antibody.

		Lumipulse	
		−	+
ARCHITECT	−	11	7
	+	2	42

Table 5 Discrepancy example of result between Lumipulse and ARCHITECT in measuring HBs antibody.

No.	Lumipulse (mIU/mL)	ARCHITECT (mIU/mL)
1	22.5 (+)	4.92 (-)
2	7.20 (-)	10.63 (+)
3	7.70 (-)	12.28 (+)
4	590.3 (+)	0.23 (-)
5	22.8 (+)	5.09 (-)
6	21.3 (+)	6.43 (-)
7	31.5 (+)	4.08 (-)
8	157.8 (+)	7.32 (-)
9	1000.0 (+)	5.50 (-)

し，一致率は85.5％であり，9例の不一致がみられた（**Table 4**）。

5）HBs抗体判定不一致例の解析

判定が一致しなかった9例のHBs抗体量を**Table 5**に示す。この中で一番乖離の大きかった症例（No.9）を用いて吸収試験を行った。その結果，adr添加時に一番高い吸収効果が得られた（**Table 6**）。

6）HBs抗体の相関性の確認

不一致例において極端な測定値の乖離がみられたため，62例全ての相関性を調べた。その結果，相関係数rは0.777で，回帰式はy＝0.679x+0.076と「ARCHITECTオーサブ」で低く測定される傾向があった（**Fig. 1**）。また，判定一致例の中にも測定値に差を認める検体があることがわかった。

4. 考察

今回我々は，ルミパルスL2400とARCHITECT i2000SRを用いB型肝炎スクリーニング検査で推奨されているHBs抗原，HBs抗体およびHBc抗体の測定値を比較した。

Table 6 The effect on measurement values of HBs antibody by addition of three kinds of antigens in discrepancy example of result between Lumipulse and ARCHITECT.

	Not added	Absorptive antigen		
		adr	adw	ayw
measured value (mIU/mL)	979.9	268.4	737.9	987.7
Inhibition rate (%)	-	72.6	24.7	0

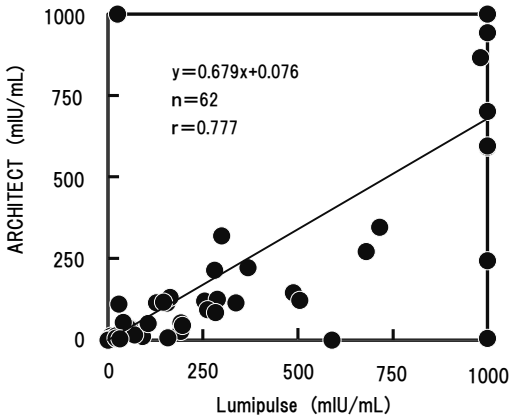


Fig. 1 Correlation of measured value between Lumipulse and ARCHITECT in measuring HBs antibody.

HBs抗原の比較では両試薬には感度差があることを考慮し「ルミパルスプレストHBsAg-HQ」で陽性だったもので検討したため，「ARCHITECT HBsAg QT」陽性，「ルミパルスプレストHBsAg-HQ」陰性のものはなかったが，「ルミパルスプレストHBsAg-HQ」で陽性だった78例のうち14例で「ARCHITECT HBsAg QT」は陰性であった。HBs抗体を用いた抑制試験を行ったところ全例で80％以上の高い抑制率を示し，HBs抗原の存在が確認できた。両試薬には10倍の感度差があるが，「ルミパルスプレストHBsAg-HQ」では，前処理により高感度化するだけではなく，ウイルス表面とその内側をも露出させて測定するよう設計されており，変異抗原への対策も施されている。そのため，両試薬の判定の乖離は感度のみならず変異抗原に対する反応性の差もある可能性が示唆された．

HBc抗体では2例の不一致例がみられたが，いずれもカットオフ値近辺であり，測定値の差は非常にわずかなものであった。

また，HBs抗体では9例の不一致が確認できた。HBs

抗体測定試薬に使用している抗原サブタイプの選択は各メーカーで異なるため，その反応性の差による測定値の乖離が報告されている[6]。「ルミパルスプレストHBsAb-N」では国内で感染例が多いサブタイプのadrを使用しているのに対し，「ARCHITECT オーサブ」ではrとwを切断し，幅広く抗体を検出するためにadとayを試薬抗原として採用している。そこで実際に，「ルミパルスプレストHBsAb-N」で1000mIU/mLと高力価であったが「ARCHITECT オーサブ」では陰性と判定された症例にadr，adw，aywの3種類の抗原陽性検体を用い吸収試験を行ったところ，adr添加時に最も高い72.6％の抑制率が得られた。adw添加時と比べるとrとwの違いにより抑制率に50％あまり差があった。本症例ではrに対する反応性が高く，抗原サブタイプにrを使用していない「ARCHITECT オーサブ」では捕捉できなかったと考えられた。また，使用抗原の違いが，測定値に及ぼす影響を検討するため，測定した全例で相関性を確認した。その結果，「ARCHITECT オーサブ」で測定値が低くなる傾向があったが，症例によっては「ARCHITECT オーサブ」と鋭敏に反応するものも見られた。HBs抗体では陰陽性の判定は一致しているが，その抗体力価は試薬間で互換性のない症例の存在が確認された。

以上の結果より，ルミパルスL2400とARCHITECT i2000SRの判定一致率は比較的良好であったが，測定項目によっては感度の差や反応性の違いによる測定値の乖離がみられた。しかし測定機器が違えども，B型肝炎治療ガイドラインで必須とされているHBs抗原，HBs抗体，HBc抗体の3項目測定を遵守することで既往感染の見逃しを防ぐことが可能と考えられる。

本論文の発表に関連して，開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文　献

1）西口修平．HBs抗原の測定法と臨床的意義．肝臓 2014;55:310-324.
2）松田親史，森山英彦，竹谷健ほか．S領域の変異株によるHBs抗原（EIA法）偽陰性の1例とHBs抗原関連試薬の反応性．感染症誌 2011;85:21-25.
3）一般社団法人日本肝臓学会　B型肝炎治療ガイドライン（第3版） 2017年（最終閲覧日2018年11月6日）
https://www.jsh.or.jp/files/uploads/HBV_GL_ver3__Sep13.pdf
4）山内恵，伊佐和貴，山根誠久ほか．脂質エンベロープ可溶化処理を組み合わせた高感度HBs抗原定量試薬の測定精度の評価．医学と薬学 2013;69:993-999.
5）Noboru S, kentaro M, Fuminaka S, et al. Application of a Newly Developed High-Sensitivity HBsAg Chemiluminescevt Enzyme Immunoassay for Hepatitis B Patients with HBsAg Seroclearance. J Clin Microbiol 2013;51:3484-3491.
6）津川和子，太田志保，横埼典哉ほか．
新規試薬Elecsys Anti-HBsⅡの基礎的検討と他試薬との相関．医学と薬学 2016;73:1037-1045.
7）山田みゆき，阿部知世，佐藤直仁ほか．全自動免疫測定装置HISCL-2000iによるHBs抗原測定の基礎的検討．医学検査 2016;65:98-102.

自己血糖測定器「アキュチェックガイド」の基礎的検討

Evaluation of a Self-monitoring of Blood Glucose Meter 'Accu-chek Guide'

増田あゆみ　服部　桜　山方純子　大野明美　柴田綾子　菊池春人　村田　満

要旨　ロシュDCジャパン株式会社より発売されたアキュチェックガイドについて，基本性能および操作性を評価した。機台間差，日間精密度，試験紙ロット間差，干渉物質およびヘマトクリット値の影響，そして対照機器であるGA09（株式会社エイアンドティー）との相関性といった基本性能は，ほぼ良好であった。操作性は，試験紙の取り出しやすさ，そして血液点着エリアが広く全方向から点着が可能である点が使いやすい特徴であると考えられた。他機種においてこれらの操作が不得手な患者にとって，有用な自己血糖測定機器であると考えられた。

Key words　self-monitoring of blood glucose：SMBG，ACCU-CHECK® Guide，FAD-GDH

1. はじめに

糖尿病は持続的な高血糖状態の結果，微小血管が障害され合併症を発症する病態である。特にインスリン使用患者では，本人による継続的な自己血糖測定（SMBG）が合併症予防に有用であるため，高性能かつ簡便なSMBG機器が求められる。

今回，新たに発売されたロシュDCジャパン株式会社のSMBG機器「アキュチェックガイド」の基本性能および操作性を検討，評価したので報告する。

2. 材料および方法

本検討は慶應義塾大学医学部倫理委員会の承認を得て行った（承認番号20170223）。

1）材料

健常人ボランティアから採取したヘパリン加静脈血を室温で解糖後，40%グルコース溶液（大塚製薬）を添加して作製した，低濃度（約70mg/dL），中濃度（約120mg/dL），高濃度（約400mg/dL）の調製血を用いた。また相関性の検討においては当院の包括同意に不同意でない連結不可能匿名化した入院および外来患者のEDTA-2K加全血残余検体180検体，日間精密度および試験紙ロット間差の検討にはアキュチェックガイド専用コントロール液1（メーカー管理範囲：30-60mg/dL），2（252-342mg/dL)を用いた。

2）測定機器

検討機器としてアキュチェックガイド（フラビンアデニンジヌクレオチド-グルコースデヒドロゲナーゼ酵素電極法，ロシュDCジャパン株式会社），対照機器としてGA09（グルコースオキシダーゼ固定化酵素酸素電極法，株式会社エイアンドティー）を用いた。また相関性の検討において，メディセーフフィットプロⅡ（グルコースオキシダーゼ比色法，テルモ株式会社）を用いた。ヘマトクリット値の影響におけるヘマトクリットは多項目自動血球計数装置 XN-9000（シスメックス株式会社）で測定した。

3）測定原理

アキュチェックガイドはフラビンアデニンジヌクレオチド-グルコースデヒドロゲナーゼ（以下，FAD-GDH）酵素電極法を採用している。FAD-GDHを用いた測定系の特徴は血液中の溶存酸素やマルトースの影響を受けないことである。この測定系では試験紙に含まれるFAD-GDHの作用により，血液中のグルコースを酸化する。酸化によって発生した酵素内の電子が電子伝達体を通して電極に供与され，これを電流として捉える。得られる電流値は血液中のグルコース濃度と相関するた

Received Oct. 11，2019；Accepted Nov. 13，2019
Ayumi MASUDA，Sakura HATTORI，Junko YAMAGATA，Akemi OHNO，Ayako SHIBATA，Haruhito KIKUCH，Mitsuru MURATA
慶應義塾大学病院　東京都新宿区信濃町35
Keio University Hospital 35 Shinanomachi，Shinjuku-ku，Tokyo
Tel：03-3353-1211
E-mail：ayumi.masuda@adst.keio.ac.jp

め，血漿グルコース値に換算して表示する。

4）方法

⑴ 機台間差

低濃度（約70mg/dL），中濃度（約120mg/dL），高濃度（約400mg/dL）の3濃度の調製血を用いた。アキュチェックガイド5台を用いて，各調製血を10回ずつ測定した。調製後または測定後すぐ氷冷し，遠心した上清をGA09で測定し，調整した血糖値に変化がないことを確認した。各機台の平均値，標準偏差(SD)，変動係数(CV)を算出し，平均値について一元配置分散分析を用いて検定した。

⑵ 日間精密度

アキュチェックガイド専用コントロール液2種類を連続5日間測定し，平均値，SD，CV（%）を算出した。

⑶ 試験紙ロット間差

検討に用いたロット番号100214と異なるロット番号100123の試験紙を用いて，専用コントロール液2種類をそれぞれ20回ずつ測定した。平均値，SD，CV（%)を算出し，平均値についてWelchの t 検定を用いて検定した。

⑷ 干渉物質の影響

a. アスコルビン酸の影響

中濃度の調製血に，アスコルビン酸を終濃度0，4，8，12，16，20mg/dLとなるように段階的に添加しアキュチェックガイドで測定した。測定直後に氷冷し，遠心した上清をGA09で測定した。結果はGA09の測定値で除した回収率（%）で評価した。

b. マルトースの影響

中濃度の調製血にマルトース溶液0，50，100，200，300，500mg/dLを段階的に添加し，測定した。測定直後に氷冷し，遠心した上清をGA09で測定した。結果はGA09の測定値で除した回収率（%）で評価した。

⑸ ヘマトクリット（Ht）値の影響

低濃度（約60mg/dL），中濃度（約120mg/dL），高濃度（約300mg/dL）の調製血で7段階のHt値の検体を作製し，XN-9000でHt値を測定した。アキュチェックガイドで測定後，直ちに氷冷し，遠心した上清をGA09で測定した。

⑹ 相関性

a. 対照法GA09との相関：匿名化した患者のEDTA-2K加全血残余検体180検体およびボランティアから採取したヘパリン加血に40%グルコース溶液を添加した調製血19検体を用いた。アキュチェックガイドで測定後，すぐ氷冷し，遠心した上清をGA09で測定した。

b. POCT対応機器メディセーフフィットプロⅡとの相関：匿名化した患者のEDTA-2K加全血残余検体46検体および，ボランティアから採取したヘパリン加血に40%グルコース溶液を添加した調製血19検体を用いた。同一の検体をアキュチェックガイドおよびメディセーフフィットプロⅡで連続して測定した。

結果はいずれも標準主軸回帰およびPassing-Bablok回帰により回帰式および相関係数を求めた。

⑺ 操作性の評価

上記⑴から⑹の検討を行う中で，本体および試験紙の操作性について評価した。

3. 結果

⑴ 機台間差

低，中，高濃度いずれの濃度の調製血においても有意な機台間差はみられなかった（**Table 1**，**Fig. 1**）。これ以降の検討はNo.4の機台を用いて行った。

⑵ 日間精密度

Table 1 The difference between equipment.

(mg/dL)

	Low					Middle					High				
Device No.	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5
1	61	61	61	61	63	120	119	121	119	125	418	419	418	418	422
2	64	64	61	60	61	122	120	118	120	123	414	408	410	411	411
3	61	62	63	63	62	122	119	119	120	120	409	410	416	407	414
4	66	63	64	62	61	120	120	119	117	121	402	413	411	410	414
5	62	62	65	62	63	120	117	118	120	121	415	405	400	400	409
6	61	62	63	64	62	121	119	121	118	116	402	397	397	393	399
7	64	64	63	61	62	118	120	121	120	121	406	417	412	406	422
8	62	65	61	63	61	119	122	120	120	120	397	398	405	403	399
9	62	60	63	59	62	122	123	119	120	119	384	398	401	393	398
10	62	62	61	61	62	116	116	117	121	118	407	412	419	408	407
Mean	62.5	62.5	62.5	61.6	61.9	120	119.5	119.3	119.5	120.4	405.4	407.7	408.9	404.9	409.5
SD	1.65	1.51	1.43	1.51	0.74	1.94	2.07	1.42	1.18	2.50	9.96	8.00	7.81	7.89	8.91
CV(%)	2.6	2.4	2.3	2.4	1.2	1.6	1.7	1.2	1.0	2.1	2.5	2.0	1.9	1.9	2.2
p value	p=0.465					p=0.684					p=0.680				

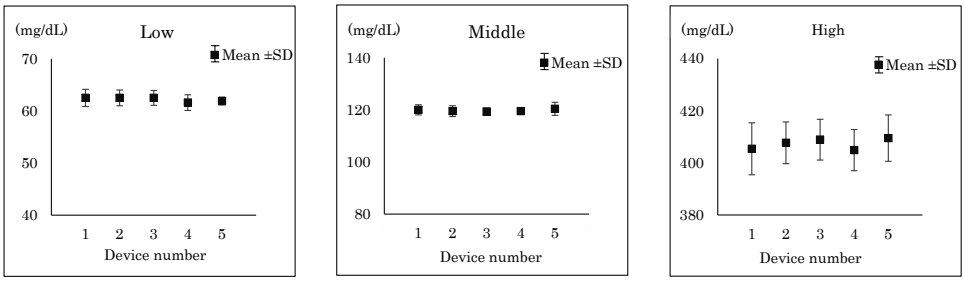


Fig. 1 The difference between equipment.

Table 2 The daily accuracy.

(mg/dL)

	Level 1	Level 2
Day 1	46	299
Day 2	46	299
Day 3	46	307
Day 4	45	299
Day 5	46	311
Mean	45.8	303
SD	0.45	5.66
CV(%)	1.0	1.9

Table 3 The difference between the lot number of test sensor.

Low (mg/dL)

	Lot. 100214	Lot. 100123
1	47	42
2	46	45
3	54	43
4	47	44
5	46	42
6	44	43
7	46	43
8	46	44
9	45	42
10	46	44
11	43	44
12	43	45
13	45	42
14	44	44
15	45	43
16	44	43
17	43	41
18	43	41
19	45	42
20	43	43
Mean	45.3	43.0
SD	2.468	1.170
CV(%)	12.3	5.8
p value	p=0.001	

High (mg/dL)

	Lot. 100214	Lot. 100123
1	300	289
2	289	290
3	290	292
4	293	294
5	293	290
6	291	291
7	289	291
8	289	290
9	289	284
10	293	290
11	294	291
12	292	289
13	287	289
14	291	293
15	297	290
16	296	286
17	294	293
18	293	297
19	291	290
20	296	295
Mean	292.4	290.7
SD	3.233	2.904
CV(%)	16.2	14.5
p value	p=0.098	

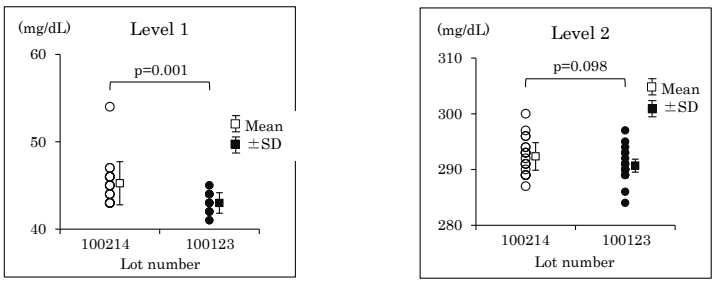


Fig. 2 The difference between the lot number of test sensor.

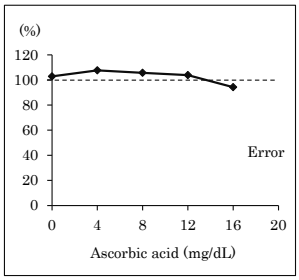


Fig. 3-1 The effect of addition of ascorbic acid.

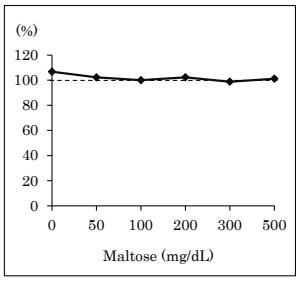


Fig. 3-2 The effect of addition of maltose.

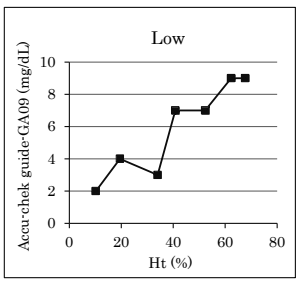


Fig. 4-1 The effects of hematocrit in low glucose concentration blood.

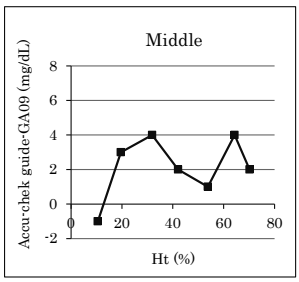


Fig. 4-2 The effects of hematocrit in middle glucose concentration blood.

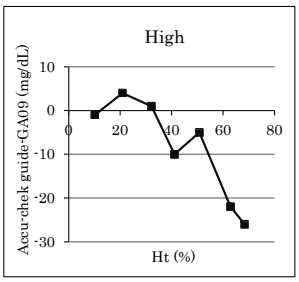


Fig. 4-3 The effects of hematocrit in high glucose concentration blood.

連続5日間測定した平均値，CV(%)は低濃度で45.8 mg/dL，1.0%，高濃度で303.0mg/dL，1.9%であった（**Table 2**）。

(3) 試験紙ロット間差

専用のコントロール液（低濃度，高濃度）を各20回測定したNo. 100214，No. 100123の試験紙の平均値はそれぞれ低濃度で45.3mg/dL，43.0mg/dL，高濃度で292.4 mg/dL，290.7mg/dLであった。Welchのt検定により，低濃度においては，No. 100214の結果がNo. 100123と比較し有意に高かった（p=0.001）。高濃度では両者の結果に有意差は認めなかった（p=0.098）（**Table 3**, **Fig. 2**）。

(4) 干渉物質の影響：

a. アスコルビン酸の影響

アスコルビン酸16mg/dL添加まで回収率は±8%以内と影響はみられず，20mg/dL添加でエラー表示となった（**Fig. 3-1**）。

b. マルトースの影響

マルトース500mg/dLの添加までいずれも回収率±7%以内と影響はみられなかった（**Fig. 3-2**）。

(5) Ht値の影響

低濃度血において，Ht値10.2%から67.7%の範囲において，GA09との測定値の差は±9mg/dL以内であった（**Fig. 4-1**）。中濃度血においては10.5%から70.2%の範囲においてGA09との測定値の差は－1mg/dL～+4mg/dL（GA09濃度の－0.7%～+3.6%）（**Fig. 4-2**），高濃度血においては10.2%から68.4%の範囲において－26mg/dL～+4mg/dL（GA09濃度の－9.0%～+1.3%）であった（**Fig. 4-3**）。低濃度血，高濃度血においては，SMBG装置が備えるべき国際規格ISO 15197:2013[1]の基準である，基準Ht値（42±2%）での測定値に対して±10 mg/dL（100mg/dL未満），または±10 %（100mg/dL以上）の基準を満たしていた。しかし中濃度血においては，70.2%においてこの基準から逸脱する結果であった。

(6) 相関性

a. 対照法GA09との相関

標準主軸回帰式はy=0.96x+2.95，相関係数r=0.999，Passing-Bablok解析による回帰式はy=0.97x+1.55，相関係数r=0.991と良好であった（**Fig. 5-1**）。ISO 15197:2013で定める，「基準機に対して100mg/dL以上±15%以内，100mg/dL未満±15mg/dL以内に95%が入ること」という基準を100%満たす結果となった。

b. POCT対応機器メディセーフフィットプロⅡとの相関

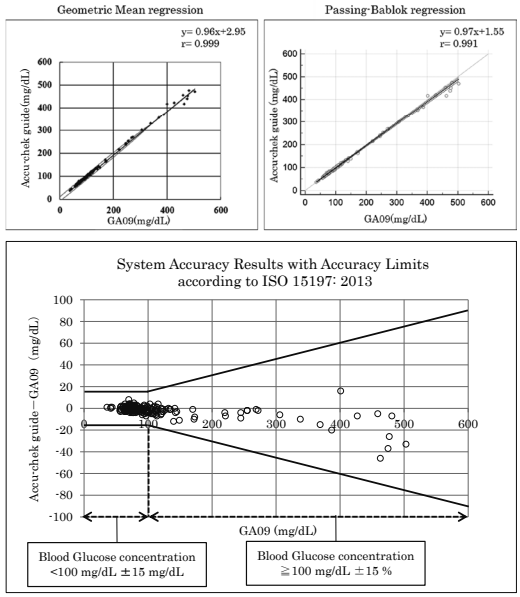


Fig. 5-1 The correlation with GA09.

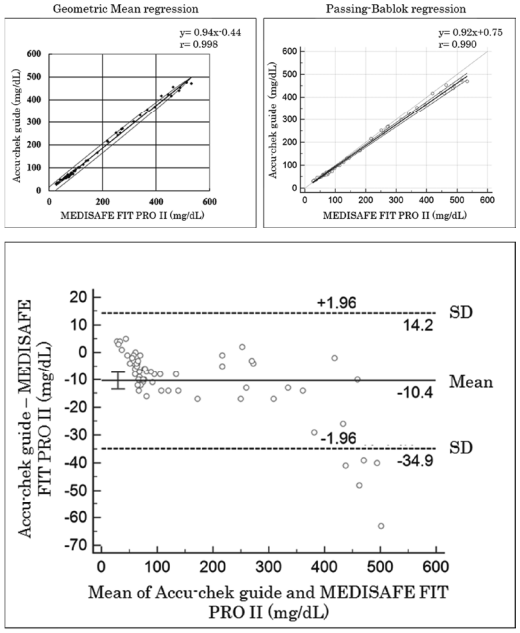


Fig. 5-2 The correlation with MEDISAFE FIT PRO II.

標準主軸回帰式y=0.94x－0.44，相関係数r=0.998，Passing-Bablok解析による回帰式はy= 0.92x+0.75，相関係数r=0.990と良好であった（**Fig. 5-2**）。しかし一方で100mg/dL以上の検体においては，高値ほどアキュチェックガイドでの測定値が低い傾向が見られた。

⑺ 操作性の評価

アキュチェックガイドの本体はコンパクトであり，試験紙と一緒に専用ケースに入れても，外出先への携帯に便利な大きさであった。また，試験紙先端の血液点着エリアの幅が広いことにより，全方向からの血液吸引が可能である点が使いやすい。

従来の試験紙は専用ケースから取り出す際に，複数枚を同時に取り出してしまったり，試験紙同士がひっついて取り出しづらいことが多かったが，アキュチェックガイドの試験紙は専用ケースに整列して収納されており，一枚ずつ取り出しやすい構造になっている。一方で，枚数が減るにつれて複数枚同時に抜けやすくなると感じた。余分に抜けてしまった試験紙は，専用ケースに戻すのが困難なことがあった。測定時に試験紙を挿入後，測定準備画面と血液吸引画面が区別しにくかった。血液吸引画面になる前に血液を点けてしまうと，エラーとなり試験紙が使えなくなってしまうため，指導の際に注意が必要であると感じた。

4. 考察

今回，ロシュDCジャパン株式会社から新たに発売された自己血糖測定器アキュチェックガイドの基礎的検討を行った。

同機種5台の機台間差は低濃度，中濃度，高濃度のいずれの調製血を用いた場合も一元配置分散分析による解析において統計上有意な差はなく，臨床上用いる上で問題が無いと考えられた。日間精密度は2種類のコントロール液（低濃度，高濃度）ともにCVが2%未満と良好であった。

試験紙のロット間差は低濃度コントロール液の測定において2種類のロット間で差が見られた。連続20回測定を行ったが，それぞれのロット内ではバラつきが小さく，平均値の差が日本臨床化学会クオリティマネジメント専門委員会による，生理的変動に基づくグルコース測定の許容誤差限界[2]CV_A 2.9%からするとやや大きいが，SMBG機器であり，低濃度であることを考えると，臨床上問題はないと考えられる。しかし継続的に使用する中で測定値に一定の変化が見られた際には，ロット番号に留意する必要がある。またロット番号が変わるタイミングでの測定値の変化には注意する必要がある。

今回干渉物質として，アスコルビン酸とマルトースの

測定値への影響を検討した。

アスコルビン酸では20mg/dL添加で測定エラーとなった。厚生労働省が推奨するビタミンCの1日摂取量は成人で100mg程度である[3]。村田らが行った検討では，成人男性に250mgのビタミンCを経口投与したところ，血漿中の濃度は最高で2mg/dL程度であった[4]。このことから，通常のビタミンC摂取量では問題ないと考えられる。

本検討では実施していないが，メーカーではゲンチジン酸，尿酸，ガラクトースについてCLSI EP37（Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry）に記載されている血中濃度域（mg/dL）で検討を行い，影響がないとの報告を受けている。

アキュチェックガイドは測定可能なHt値の範囲を10%から65%としている。今回検討に用いた低，中，高濃度の調製血においてHt値は10.2%から70.2%であったが，低濃度血および高濃度血ではISO 15197:2013[1]で定める基準を満たしていた。しかし中濃度血においては70.2%で基準を逸脱していた。また，Ht値が高くなるにつれて対照法であるGA09の測定値と比較し，低濃度血では高値，高濃度血では低値になる傾向が見られた。多血症や脱水による赤血球増多によりHt値が高値となる患者の測定には注意が必要である。

アキュチェックガイドは対照法であるGA09との相関性が非常に良好であった。また当院でPOCTに用いているメディセーフフィットプロⅡとの相関性も同様に良好であった。静脈血の血糖値測定結果との乖離が小さいことは，診療上有用であると考えられる。

これらの結果から，アキュチェックガイドを用いた自己血糖測定は，機台および測定法による測定値の差が少なく，長期間の血糖モニタリングに有用であると考えられる。

アキュチェックガイドはシンプルかつコンパクトである。専用ケースに収納してもスマートフォン程度のサイズで持ち運びに便利であることは，若い世代の利用者に受け入れられやすいと思われた。点着エリアが広いことは細かい作業が困難な高齢の利用者に適している。また血液量が不足の場合には，測定画面に移行せず，画面にわかりやすいエラー表示が出た。これらの点から幅広い世代の患者にとって使いやすい仕様であると考えられる。

また，試験紙は一枚ずつ取り出しやすい構造になっている一方で，枚数が減るにつれて複数枚抜けてしまうことがあった。機器本体に試験紙を装着すると電源は自動で入るが，血液吸引画面への移行が分かりにくい。使用方法を指導する際には，これらの点を踏まえた上で，その患者に適切な機種であるかを見極める必要があると考えられた。

5. 結論

今回検討を行ったロシュDCジャパン株式会社社のアキュチェックガイドは，SMBG機器としての基本性能を満たしていた。患者の特性や操作性において留意する点はあるが，特に他機種において試験紙の取り出しや血液の点着が不得手な患者にとって，より使いやすさが実感できるSMBG機器である。

本論文の発表に関連して，開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文　献

1）ISO 15197:2013　In vitro diagnostic test systems — Requirements for blood-glucose monitoring systems for self-testing in managing diabetes mellitus
2）日本臨床化学会クオリティマネジメント専門委員会、生理的変動に基づいた臨床化学検査36項目における測定の許容誤差限界．臨床化学　2006;35:144-153
3）厚生労働省，日本人の食事摂取基準(2015年版)の概要
4）村田　晃　他．健康成人男性にビタミンC製剤を経口投与した後のビタミンCの血漿濃度および尿中排泄．ビタミン　1989;63:133-139。

JSCC法およびIFCC法における LD1とLD5の反応性の相違に関する検討

Evaluation of the Difference in Reactivity of LD1 and LD5 between JSCC Method and IFCC Method

田中満里奈[1)]　山口奈摘美[1)]　巖崎達矢[2)]　松下　誠[1)]

要旨　LD活性測定は，現在のJSCC法からIFCC法への変更が決定している。今回，両測定法におけるLD1およびLD5の反応性の相違を明らかにする検討を行った。その結果，両アイソザイム試料を用いた場合，IFCC法のLD1およびLD5活性は，JSCC法のそれらに比べ，それぞれ，4.7%高値および23.7%低値となった。またこの反応性の差を利用して，LD1およびLD5高値血清のJSCC法によるLD活性をIFCC法の活性値に補正したところ，その活性値はIFCC法のLD活性とほぼ一致した。これらの結果から，患者血清中のLD1およびLD5もアイソザイム試料と同程度の反応性の差が認められるものと結論づけられた。

Key words　JSCC method，IFCC method，LD1，LD5

1. はじめに

乳酸デヒドロゲナーゼ（LD）は，全身のあらゆる臓器に存在し，その損傷により血中に逸脱することから，心筋梗塞，白血病，急性肝炎などの疾患のスクリーニング検査として有用とされている。また，LDには５種類のアイソザイムが存在し，それぞれが臓器特異性をもつことから，各アイソザイムの活性値は，障害された臓器の推定に有用とされている。

酵素の活性測定は，測定値が測定条件による影響を受けやすいという問題点があり，LDの活性測定においても，基質の種類やその濃度，緩衝液のpHなどの測定条件を統一する必要があった[1)]。日本では，1989年にJSCC勧告法[2)]が設定されたことから，現在，JSCC法による活性測定が広く普及している。しかし国際的には，1994年にIFCC勧告法が設定され[3)]，現在の主流となっている。このような背景から，JSCC法はIFCC法とは異なる条件となり，治験等の需要に対応できない問題も生じている[4)]。また，近年のグローバルハーモナイゼーションにより，臨床検査の分野でも検査値の国際的な統一化が求められていることを受け，日本の勧告法についても海外で広く普及しているIFCC法へ変更することが決定している[4)]。LDは５種類のアイソザイムを有し，pHがアルカリ側または基質濃度が低濃度であるほどLD1優位，反対にpHが酸性側または基質濃度が高濃度であるほどLD5優位な測定条件になることが知られている[2)]。JSCC法では，全てのアイソザイムに対して最大活性の95%以上の測定が可能となる条件に設定した[2)]のに対し，IFCC法では，pHおよび基質濃度がいずれもLD1に優位な条件に設定されていることから，JSCC法に比べLD1の活性値は高値に，またLD5の活性値は低値に測定されることが予想される。最近の報告では，特にLD5高値血清において両測定法の活性値に最も乖離が認められることが報告されている[5-8)]が，実際に両方法に

Received Nov. 14，2019；Accepted Dec. 4，2019
Marina TANAKA[1)]，Natsumi YAMAGUCHI[1)]，Tatsuya IWASAKI[2)]，Makoto MATSUSHITA[1)]
[1)]埼玉県立大学大学院　保健医療福祉学研究科
〒343-8540　埼玉県越谷市三野宮820
[2)]東松山医師会病院臨床検査科
〒355-0021　埼玉県東松山市神明町1-15-10
[1)]Department of Clinical Chemistry, Saitama Prefectural University Graduate School, 820, Sannnomiya, Koshigaya, Saitama 343-8540, Japan
[2)]Department of Laboratory Medicine, Higashimatsuyama Medical Association Hospital, 1-15-10, Shinmeicho, Higashimatsuyama, Saitama 355-0021, Japan
Corresponding author：Marina TANAKA
E-mail：2181504z@spu.ac.jp

おける反応性がどの程度異なるかについては明らかにされていない。

そこで今回，LDアイソザイムのうち最も性質の異なるLD1とLD5を用いて，アイソザイムの反応性がどの程度異なるかについての検討を行った。

2. 試料および方法

1）試料

血清試料は東松山医師会病院から提供を受けた残余血清（健常，LD1高値，LD5高値を含む）30例を用いた。LDアイソザイム試料として，Aviva Systems Biology社製の純度100%のLD1（ヒト赤血球由来）と，純度95%以上のLD5（ヒト肝臓由来）をそれぞれ5g/dLウシアルブミンを含むPBS（pH7.4）に溶解し，それぞれ，約500 U/Lに調整したものを使用した。

なお，本研究は，本学（承認番号19505）および東松山医師会病院（審査番号 18-3）の倫理委員会の承認を得て実施した。

2）試薬および測定機器

JSCC法およびIFCC法によるLD活性測定には，LタイプワコーLD・JおよびLタイプワコーLD・IF（両試薬共に富士フイルム和光純薬）を用い，いずれも自動分析機CA-270 plus（古野電機）で測定した。校正は酵素キャリブレーター（富士フイルム和光純薬）を用い，その校正値は指定されているJSCC法(417 U/L)，およびIFCC法（444 U/L）とした。また，アイソザイム分画はタイタンジェルS-LD試薬（ヘレナ研究所）を用い，エパライザ2Jrを用いるアガロースゲル電気泳動法で実施した。なお，それぞれの分析条件および操作法は取扱説明書に従って実施した。

3）JSCC法およびIFCC法におけるLD1とLD5の反応性

調整したLD1およびLD5のアイソザイム試料についてアイソザイム検査を実施し，それぞれの試料の純度の確認を行った。次に，これらの試料についてJSCC法およびIFCC法での活性測定を実施した。さらに，IFCC法におけるLD1およびLD5のJSCC法に対する相対反応性を調べ比較した。

4）JSCC法とIFCC法によるLD活性の相関関係

2種のアイソザイム試料および血清（30例）を対象に，JSCC法およびIFCC法による活性測定を実施し，これら2法の相関関係を調べた。また，全試料についてLDアイソザイム検査を実施し，相関図において乖離した検体とそのアイソザイム分画との関係を比較した。さらに，3）での両測定法におけるアイソザイム試料の反応性の相違と，全血清試料のアイソザイム検査におけるLD1およびLD5分画値を用いて，JSCC法におけるLD1およびLD5の活性値を補正し，IFCC法との相関関係を調べた。

3. 結果

1）JSCC法およびIFCC法におけるアイソザイム試料の反応性の比較

LD1およびLD5のアイソザイム試料についてのLDアイソザイム検査を実施したところ，それぞれ，LD1およびLD5分画が100%となり，他のアイソザイムは含まれなかった。また，両測定法で３重測定したLD活性の平均値は，LD1ではJSCC法で523 U/L，IFCC法で548 U/Lとなり，IFCC法が4.7%高値，またLD5ではJSCC法で541 U/L，IFCC法で413 U/Lとなり，IFCC法が23.7%低値となった。さらに，JSCC法におけるLD5に対するLD1の相対反応性を1.00とした時のIFCC法におけるそれは1.37であり，IFCC法における相対反応性が37%高値となった（**Table 1**）。

2）JSCC法とIFCC法の相関関係

血清30例のJSCC法(x)とIFCC法(y)のLD活性の相関関係は，y=1.00x − 6.6，r=0.9943であり，一部に乖離する例が認められた（**Fig. 1**）。全血清試料のアイソザイム検査を実施したところ，これらの乖離を認めた例は，IFCC法が3%程度高値に測定された2例，およびIFCC法が10%以上低値に測定された３例であった。これら5例についてLDアイソザイム分画結果と比較したところ，

Table 1 Comparison of relative reactivities of LD_1 and LD_5 samples in two methods

a. Relative reactivity when the reactivity of JSCC method is 1.00

	JSCC method (U/L)	IFCC method (U/L)	(IFCC method−JSCC method)/JSCC method ×100 (%)
LD_1	523	548	4.7
LD_5	541	413	−23.7
LD_1/LD_5	0.97(1.00)[a]	1.33(1.37)[a]	

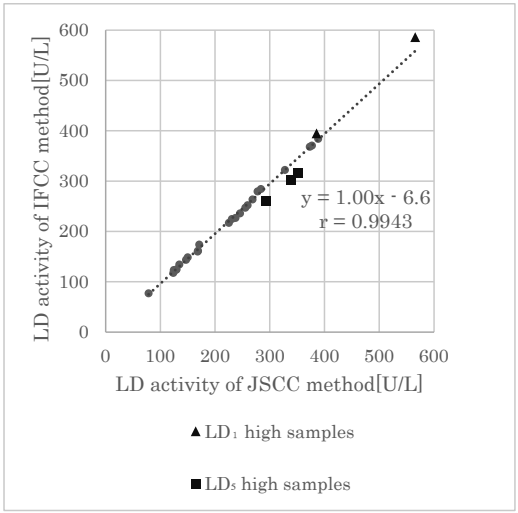


Fig. 1 Correlation of LD activity between JSCC method and IFCC method
Almost all of samples are shows good correlation. But LD_1 or LD_5 high samples shows divergence. Specifically, samples with LD_1 of 50% or more, or samples with LD_5 of 30% or more.

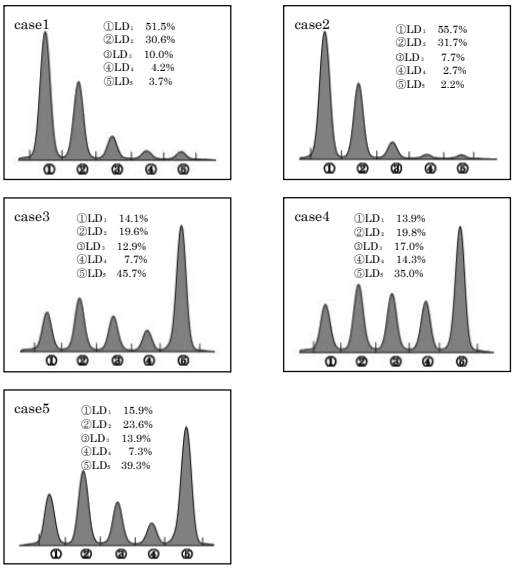


Fig. 2 Electrophoresis images of 5 samples that shows divergence between JSCC method and IFCC method
LD activity of each case is as follows: Case1: 385, 395U/L (JSCC method, IFCC method), Case2: 566, 586U/L, Case3: 340, 301U/L, Case4: 352, 316U/L,Case5: 294, 261U/L.

前者2例では，LD_1分画が最も高く，それぞれ，51.5%，および55.7%，これに対して後者3例では，LD_5分画が最も高く，それぞれ，45.7%，35.0%，および39.3%を占めた（**Fig. 2**）。

3）JSCC法とIFCC法の相対活性とLDアイソザイム分画との関係

30例の血清を対象に，LD_1〜LD_5のアイソザイム分画値(%)とJSCC法とIFCC法の相対活性値(JSCC/IFCC比)との関係を調べた。その結果，各LDアイソザイム分画 値(%) は，LD_1で13.9〜55.7%，LD_2で19.6〜39.5%，LD_3で7.7〜28.0%，LD_4で2.7〜14.3%，およびLD_5で1.9〜45.7%であり，両者の相関係数はLD_1(r=−0.809)，LD_2(r=−0.705)，LD_3(r=0.130)，LD_4(r=0.543)，およびLD_5(r=0.909)，となり，特に，LD_1およびLD_5が他のアイソザイムに比べ相関係数が高値となった（**Fig. 3**）。

4）補正JSCC法とIFCC法との相関関係

そこで，上記の結果1）と結果3）をもとに，JSCC法のLD活性をIFCC法のそれに補正（補正JSCC法）する式を算出した。具体的には，結果3）より，LD_1およびLD_5においてJSCC/IFCC比との相関係数が他のアイソザイムに比べ高値を示したこと，また，結果1）より，

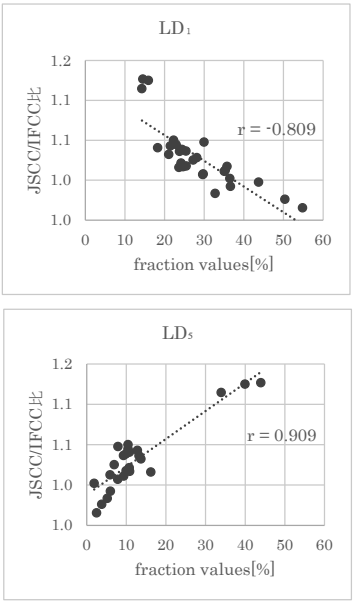


Fig. 3 Correlation between the fraction value of LD_1 and LD_5 isozyme and JSCC/IFCC ratio

JSCC法に対するIFCC法の活性値が，LD_1で4.7%高値に，LD_5で23.7%低値に測定されることを用いて，下記の式のようにJSCC法におけるLD_1の活性値に104.7/100を，同様にLD_5の活性値に76.3/100をそれぞれ乗じることでJSCC法のLD活性を補正した。

LD_1についての補正式：LD活性（JSCC法）×LD_1分画値/100×104.7/100

LD_5についての補正式：LD活性（JSCC法）×LD_5分画値/100×76.3/100

（LD_2，LD_3およびLD_4活性は両測定法で差がないものと仮定）

この補正式にしたがって，30例の血清のJSCC法の活性値を補正し，IFCC法（x）と補正JSCC法（y）のLD活性の相関関係を調べたところ，y=0.99x+5.8，r=0.9995となり，前述したLD_1やLD_5の高値血清における乖離は認められなかった（**Fig. 4**）。

4. 考察

日本のLD活性測定法については，1989年にJSCC勧告法が設定され，現在では，国内の99%以上の施設でこの測定法が採用され[9]，基準範囲の共有化が進められている。しかし，その数年後にIFCC勧告法が設定され，現在ではこの測定法が海外の主流となっている。このような背景から，日本は独自の測定法により活性測定を行っており，国際的な基準範囲の共有化がなされていないのが現状である。近年の，グローバルハーモナイゼーションを受け，酵素の測定法についても国際的に統一することを目的に，日本でも2020年にはALPとLDについて，IFCC法の採用が決定している。いずれの酵素においても，JSCC勧告法とIFCC勧告法では，各アイソザイムに対する反応性の相違が予測されており，ALPについては各アイソザイムの反応性の検討や新たなアイソザイム検査試薬の開発が進められている[10]。一方，LDについては，両測定法におけるLD活性は健常者ではほぼ一致すること，およびLD_5高値血清ではIFCC法が10%以上低値に乖離することが報告[5-8]されているが，両測定法でどの程度各アイソザイムに対する反応性が異なるのかについては報告されていない。今回，私たちは，最も性質の異なるLD_1およびLD_5の2種類のアイソザイム試料と患者血清を用いて，JSCC法とIFCC法における両アイソザイムの反応性の相違を明らかにすることを目的に検討を行った。

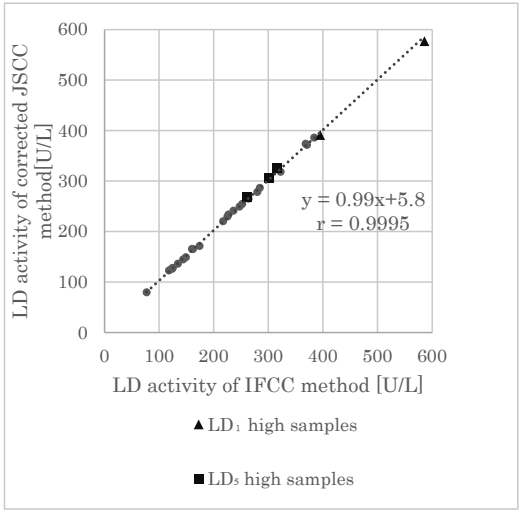


Fig. 4 Correlation with JSCC method when the activity of IFCC is corrected by the difference in reactivity of isozyme

まず，アイソザイム試料についての純度の確認を行ったところ，LD_1およびLD_5アイソザイム試料はいずれも純度100%であることが確認された。そこで，これらの試料について，JSCC法およびIFCC法によるLD活性を測定し，両者の反応性の相違の検討を行ったところ，IFCC法ではJSCC法に対してLD_1では約4.7%高い活性値を，LD_5では約23.7%低い活性値を示した。また，JSCC法に対してIFCC法では，LD_5に対するLD_1の相対反応性は37%高値となった。これらの相違の原因は，両測定法における基質濃度および緩衝液のpHの相違によるところが大きく，IFCC法はよりLD_1に優位，またJSCC法はよりLD_5に優位な条件となっていることに起因しているものと考えられた。

次に，患者血清30例について，JSCC法（x）およびIFCC法（y）の活性値の相関関係の検討を行った。その結果，y=1.00x − 6.6，r=0.9943と良好な相関関係を認めたものの，一部に乖離する例を認めた。全ての血清試料についてのアイソザイム検査を実施した結果，乖離を認めた血清はいずれも，LD_1およびLD_5異常高値血清であった。回帰式のやや上方に乖離した血清2例はいずれもLD_1を50%以上含む血清であり，大きく下方に乖離した血清3例はいずれもLD_5を30%以上含む血清であった。さらに，これらの血清について両測定法のLD活性を比較したところ，LD_1高値血清2例のLD活性の乖離は，3%前後であったのに対し，LD_5高値血清3例のLD活性は10%以上の乖離を示した。これらの結果は，LD_5高値を示す肝疾患患者でIFCC法における活性値が低値を示すという他の報告[6-8]や，日本臨床化学会のプロジェクト報告とも一致する結果となった。

また，2法のLD活性の相違とアイソザイムとの関係性を明らかにするために，30例の患者血清の各LDアイソザイム分画とLD活性のJSCC/IFCC比との相関関係を調べたところLD_1分画ではr=－0.809，LD_5分画 ではr=0.909であり，他のアイソザイムに比べ高い相関関係が認められた。なお，LD_2分画およびLD_4分画についても，比較的高い相関関係が認められたが，LD_2分画が高値の場合はLD_1分画が，またLD_4分画が高値の場合はLD_5分画がそれぞれ高値であったことから，LD_2およびLD_4分画とJSCC/IFCC比との直接的な関連性は低いものと推測された。そこで，JSCC法のLD_1およびLD_5活性をIFCC法の活性に補正した補正JSCC法によるLD活性を算出し，IFCC法のLD活性と比較したところ，y=0.99x+5.8，r=0.9995と極めて高い相関関係が認められ，乖離する例は認められなかった。これらのことから，両測定法における患者血清中のLD_1およびLD_5の反応性の相違は今回検討したアイソザイム試料のそれとほぼ同等であり，LD_1を4.7%程度高値に，LD_5を23.7%程度低値に測定しているものと推測された。

5. 結論

今回，LDアイソザイムで最も性質の異なるとされるLD_1およびLD_5を用いて，JSCC法とIFCC法におけるLDアイソザイムの反応性の相違を明らかにするための検討を行った。その結果，IFCC法ではJSCC法に対し，LD_1を約4.7%高値に，LD_5を約23.7%低値に測定することが確認された。また，患者血清においてもこれとほぼ同様の反応性を示しているものと結論づけられた。

本論文の発表に関連して，開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文 献

1）日本臨床化学会．ヒト血清中酵素活性測定の勧告法総論．臨床化学 勧告法総集編 2012;1-15
2）日本臨床化学会．ヒト血清中酵素活性測定の勧告法－乳酸デヒドロゲナーゼ－．臨床化学 1990;19:228-246
3）Bais R, Philcox M. Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes part 8. IFCC method for lactate dehydrogenase. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1994;32:639-655
4）荒木秀夫．血清乳酸脱水素酵素（LD）活性測定のJSCC勧告法の変更に向けた活動（第一報）．臨床化学 2018;47:156
5）日本臨床化学会 酵素専門委員会．ヒト血清中酵素活性測定の常用基準法－乳酸デヒドロゲナーゼ－．臨床化学 2003;32:81-97
6）梅森祥央，高橋祐輔，浅沼康一ほか．LD活性測定におけるIFCC対応検討試薬の基礎的検討．臨床化学 2018;47:339
7）石﨑早織，清宮正徳，鈴木芳武ほか．LD活性測定におけるIFCC対応検討試薬の性能評価．臨床化学 2018;47:34-40
8）山舘周恒，中山智祥．JSCC常用基準法の課題．臨床病理 2016;46:544-549
9）日本臨床衛生検査技師会．平成29年度 日臨技精度管理調査報告書
10）山崎浩和，星野忠，山舘周恒ほか．血清アルカリホスファターゼ（ALP）活性測定のJSCC勧告法の変更に向けた活動（第二報）．臨床化学 2019;48:112

質量分析装置Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometryの細菌同定における内部精度管理実施要領の検討

Examination of Conditions for Internal Quality Control in Identification of Microorganism from Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-flight Mass Spectrometry

曽川一幸[1)]　清祐麻紀子[2)]　服部佳奈子[2)]　村田正太[3)]　渡　智久[4)]
奥村　元[5)]　関口幸恵[5)]　藤永あずみ[6)]　中山智祥[7)]

要旨　高い迅速性と正確性を有し，しかも低コストの細菌同定手法として，Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry（MALDI-TOF MS）質量分析装置が，2011年に医療機器として認定され，細菌同定のツールとして運用されている。国内における微生物検査ならびにその内部精度管理は主に米国の臨床検査標準協会の基準の基で実施されている。しかしながら，MALDI-TOF MSによる細菌同定の内部精度管理を実施している施設はわずかである。日本臨床検査自動化学会遺伝子・プロテオミクス技術委員会MALDI-TOF MSワーキンググループにおいて，日常業務に適したMALDI-TOF MSによる細菌同定における内部精度管理の実施要領の作成に資する検討を行った。

Key words　identification of microorganism, internal quality control, matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry

Received Oct. 21, 2019; Accepted Dec. 4, 2019

Kazuyuki SOGAWA[1)], Makiko KIYOSUKE[2)], Kanako HATTORI[2)], Syota MURATA[3)], Tomohisa WATARI[4)], Hajime OKUMURA[5)], Sachie SEKIGUCHI[5)], Azumi FUJINAGA[6)], Tomohiro NAKAYAMA[7)]

[1)]麻布大学生命・環境科学部生化学研究室
神奈川県相模原市中央区淵野辺1-17-71

[2)]九州大学病院検査部
福岡県福岡市東区馬出3-1-1

[3)]千葉大学医学部付属病院検査部
千葉県千葉市中央区亥鼻1-8-1

[4)]旭川医科大学医学部微生物学講座
北海道旭川市緑が丘東2条1丁目1-1

[5)]ビオメリュー・ジャパン株式会社
東京都港区赤坂2-17-7赤坂溜池タワー2F

[6)]ブルカージャパン株式会社
神奈川県横浜市神奈川区守屋町3-9

[7)]日本大学医学部病態病理学系臨床検査医学分野
東京都板橋区大谷口上町30-1

[1)]Department of Biochemistry, School of Life and Environmental Science, Azabu University
1-17-71 Fuchinobe, chuo-ku, Sagamihara, Kanagawa, Japan

[2)]Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Kyushu University Hospital
3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka, Japan

[3)]Department of Clinical Laboratory, Chiba University Hospital
1-8-1 Inohana, Chuo-ku, Chiba, Japan

[4)]Department of Medical Laboratory and Blood Center, Asahikawa Medical University Hospital
2-1-1-1 Midorigaoka higashi, Asahikawa, Hokkaido, Japan

[5)]bioMérieux Japan Ltd.
Akasaka Tameike Tower 2F, 2-17-7 Akasaka, Minato-ku, Tokyo, Japan

[6)]Bruker Japan K.K.
3-9, Moriya, Kanagawa-ku, Yokohama-city, Kanagawa, Japan

[7)]Division of Laboratory Medicine, Department of Pathology and Microbiology and Division of Companion Diagnostics, Department of Pathology and Microbiology, Nihon University School of Medicine.
30-1 Ooyaguchi-kamimachi, Itabashi-ku, Tokyo, Japan

Corresponding author：中山智祥
Tel：03-3972-8111（内線　8205）
E-mail：nakayama.tomohiro@nihon-u.ac.jp

1. はじめに

質量分析法はプロテオーム解析における最も重要な手法であるが，質量分析装置を用いた細菌同定は，1975年にAnhaltら[1]によって，ペプチドスペクトルをベースとしたパターンマッチングによる同定が試みられ，*Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Neisseria gonorrhoeae, Salmonella* sp, *Proteus morganii, P. rettgeri*の7菌種の同定が可能であることが報告された。

質量分析装置による細菌同定はサンプル調整が容易で，測定操作も簡便であり，一菌種約5分で同定結果が得られる[2,3]。この特徴を活かして，煩雑な試料前処理を行わず，属や種を容易に識別することのできる手法として注目されている[3-9]。2011年に医療機器として認定され，細菌同定のツールとして運用されている。

2017年6月に検体検査の品質・精度確保に関する医療法等改正法案が可決・公布され，それに伴い改正された厚生労働省令（医療法施行規則，臨検法施行規則）が2018年7に公布，同年12月1日に施行された[10]。この改正により，臨床検査を実施している施設には精度管理の法的基準が導入されることとなった。

近年，臨床微生物検査室を含む臨床検査室認定の国際規格「ISO 15189」（ISO；International Organization for Standardization, 国際標準化機構）の認定を取得する施設が増加している[11]。臨床微生物検査は，測定対象が微生物であるため，菌株，市販生培地，測定方法で変動が生じやすいという特徴がある。内部精度管理として，菌株はEscherichia coliを使用している施設が多い[11]が，Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry（MALDI-TOF MS）の質量の校正として使用するため不適当である。市販生培地は，細菌同定には支障がないが[12]，同定率（Score Value）に影響がある。測定方法は，コロニーを直接測定，コロニーにギ酸を添加し測定，コロニーからタンパクを抽出し測定する3通りある[13,14]。

今回我々は質量分析装置による細菌同定の内部精度管理について，菌株，市販生培地，測定方法に注目し，同定率（Score Value）で評価する実施要領の作成に資する検討を目的とした。

2. 材料および方法

1）対象菌株と菌株の培養法

使用する株はATCC®(American Type Culture Collection)から購入した*Candida albicans*(ATCC2950)，*Enterobacter aerogenes*（ATCC13048)，*Escherichia coli*（ATCC8739)，*Enterococcus faecalis*（ATCC19433）を対象とした。

菌株配送元施設（1世代目の送付：旭川医科大学病院）にて標準菌株のペレットを溶解し，血液寒天培地に接種して一晩培養した。マイクロバンクに血液寒天培地上のコロニーを濃厚接種し，接種日，菌種，ATCC番号をラベリングし，クール宅急便で各施設に配布した。

菌株配送先施設（2世代目の作成：旭川医科大学病院，九州大学病院，千葉大学病院）にてマイクロバンクから血液寒天培地に接種し，*E. aerogenes*，*E. coli*，*E. faecalis*は18～24時間，*C. albicans*は48時間35℃で好気培養した。各種血液寒天培地に発育したコロニーを試験菌株とした。血液寒天培地は栄研化学株式会社のポアメディア羊血液寒天培地（026256627），極東製薬工業株式会社のバイタルメディア羊血液寒天培地（551-05141-4），日本ベクトン・ディッキンソン株式会社のトリプチケースソイ5%ヒツジ血液寒天培地（251239），日水製薬株式会社のニッスイプレート羊血液寒天培地（302510016）を使用した。

2）測定機器

MALDI Biotyper（ブルカージャパン株式会社）およびVITEK MS（ビオメリュー・ジャパン株式会社）を使用し，得られたマススペクトルをそれぞれ専用解析ソフトMALDI Biotyper ver3.0およびMyla ver2.0で同定を行った。

5日間の連続測定を行う直前にMatrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry（MALDI-TOF MS）質量分析装置のファインチューニングを行った。ファインチューニングはブルカージャパン株式会社およびビオメリュー・ジャパン株式会社の担当者が行った。

3）使用試薬

MALDI Biotyperの測定には，HCCA portioned試薬（ブルカージャパン株式会社）と99%ギ酸（富士フイルム和光純薬株式会社：LC-MSグレード）を70%に希釈したもの溶液を，VITEK MSの測定にはMS-CHCAマトリックス試薬（ビオメリュー・ジャパン株式会社）とMS-FA試薬（ビオメリュー・ジャパン株式会社）を使用した。

4）測定方法

血液寒天上のコロニーを爪楊枝で少量かきとり，ターゲットプレートのスポットに薄く均一になるように塗布後，*C. albicans*のみギ酸を1μL添加し乾燥後，専用のマトリックス試薬を1μL添加し，十分に乾燥した後測定を行った。1菌種，血液培養培地1種類につき，5スポ

ットに接種して測定した。

5）同定率・一致率の算出について

同定率は各MALDI-TOF MSの測定で菌種名が得られた割合とし，MALDI Biotyperは信頼性の指標であるScore Valueを用い，菌種レベルの同定は2.000～3.000である。また，VITEK MSは信頼性の指標である同定確率を用い，同定菌種名が1菌種であり，同定確率が99.9%とされるものを菌種レベルの同定である。

3. 成績

C. albicans，*E. aerogenes*，*E. coli*，*E. faecalis*において，千葉大学病院でMALDI Biotyper，旭川医科大学病院および九州大学病院でVITEK MSで5日連続で測定・同定した。

VITEK MSの2施設は4種類の血液寒天培地で発育した*C. albicans*，*E. aerogenes*，*E. coli*，*E. faecalis*のコロニーを同定したところ，信頼性の指標である同定確率はすべて99.9%であった（**Table 1**）。MALDI Biotyperの1施設では，ポアメディア羊血液寒天培地で，信頼性の指標であるScore Valueは，*C. albicans*において2.114～2.256（2.159 ± 0.051），*E. aerogenes*において2.552～2.594（2.566 ± 0.014），*E. coli*において2.288～2.398（2.368 ± 0.041），*E. faecalis*において2.269～2.425（2.354 ± 0.049）であった。バイタルメディア羊血液寒天培地でScore Valueは，*C. albicans*において2.014～2.227（2.124 ± 0.069），*E. aerogenes*において2.534～2.584（2.558 ± 0.016），*E. coli*において2.299～2.391（2.341 ± 0.032），*E. faecalis*において2.265～2.382（2.340 ± 0.041）であった。トリプチケースソイ5%ヒツジ血液寒天培地でScore Valueは，*C. albicans*において2.018～2.197（2.131 ± 0.063），*E. aerogenes*において2.484～2.566（2.514 ± 0.035），*E. coli*において2.291～2.410（2.365 ± 0.040），*E. faecalis*において2.271～2.389（2.353 ± 0.043）であった。ニッスイプレート羊血液寒天培地でScore Valueは，*C. albicans*において2.327～2.383（2.360 ± 0.019），*E. aerogenes*において2.496～2.585（2.531 ± 0.029），*E. coli*において2.316～2.422（2.381 ± 0.037），*E. faecalis*において2.000～2.180（2.073 ± 0.059）であった。

4. 考察・結語

患者診療において，検体検査の結果は，診断の確定と治療方針の決定を左右する。このため，その検査システムの精度保証・精度管理は極めて重要である。国内における微生物検査ならびにその内部精度管理は主に米国の臨床検査標準協会の基準をもとに実施されている。しかしながら，質量分析装置MALDI-TOF MSの細菌同定における精度管理について記載はあるが，実施している施設はわずかである。日本臨床検査自動化学会遺伝子・プロテオミクス技術委員会MALDI-TOF MSワーキンググループにおいて，日常業務に適した実施要領の作成を試みた。

標準菌株として，酵母用真菌の*C. albicans*，グラム陰性桿菌の*E. aerogenes*と*E. coli*，グラム陽性球菌の*E. faecalis*を用いた。*C. albicans*は，4種の血液寒天培地において，Score Valueが2.014～2.383（2.194 ± 0.111），同定確率が99.9%で同定に問題はないが，培養に48時間かかり，測定方法もコロニーにギ酸を添加しなくてはならない。*E. coli*は，4種の血液寒天培地において，Score Valueが2.288～2.422（2.364 ± 0.041），同定確率が99.9%で同定に問題はないが，MALDI Biotyper及びVITEK MSの質量の校正に用いる菌株である。内部精度管理の標準菌株として，構造上ペプチドグリカン層が薄くリボソーム由来タンパクがイオン化されやすいグラム陰性桿菌の*E. aerogenes*[13]と細胞壁に厚みがあり構造が頑丈のためリボソーム由来タンパクがイオン化されにくいグラム陽性球菌の*E. faecalis*[13]が適する。

Valentineらは，*Yersinia enterocolitica*，*Bacillus subtilis*，*Escherichia coli* W3110のATCC®から購入した菌株を用い，4種類の異なる基礎培地で発育させたコロニーをMALDI-TOF MSで同定を行い影響がないこと報告し

Table 1　VITEK MS score rates for different blood agar and bacteria

	Pourmedia Sheep Blood Agar					Vital media Sheep Blood Agar					Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood					Nissui Plate Sheep Blood Agar				
	1day	2day	3day	4day	5day	1day	2day	3day	4day	5day	1day	2day	3day	4day	5day	1day	2day	3day	4day	5day
Asahikawa Medical University Hospital																				
C. albicans	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
E. aerogenes	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
E. coli	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
E. faecalis	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
Kyushu University Hospital																				
C. albicans	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
E. aerogenes	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
E. coli	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
E. faecalis	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9

ている[12]。血液寒天培地はポアメディア羊血液寒天培地，バイタルメディア羊血液寒天培地，トリプチケースソイ5%ヒツジ血液寒天培地，ニッスイプレート羊血液寒天培地の4種類を使用し，*C. albicans*，*E. aerogenes*，*E. coli*，*E. faecalis*を発育させた。4種類の血液寒天培地に発育したコロニーの菌種同定はMALDI BiotyperでScore Valueは，2.000以上，VITEK MSの同定確率はすべて99.9%と種レベルの同定が得られた。しかしながら，Score Valueに影響がある。ニッスイプレート羊血液寒天培地は，他の血液寒天培地に比べて，*C. albicans*においてScore Valueが2.360 ± 0.019と高く，*E. faecalis*において2.073 ± 0.059と低く，$p<0.05$と有意な違いが確認された。内部精度管理には血液寒天培地は1種類を用いる。

Wunschelらは，*E. coli* ATCC 33694を用いて，質量の校正試薬，マトリックス試薬，溶媒を揃えてJohns Hopkins University Applied Physics Laboratory（JHU-APL），National Institute of Standards and Technology（NIST），Pacific Northwest National Laboratory（PNNL）の3施設でVoyager DE-RPのMALDI-TOF MS質量分析装置で測定・同定を行った[15]。3施設において種レベルで同定は出来たが，スペクトルデータ及び同定スコアに問題があった。JHU-APL・PNNLとNISTの間でスペクトルの違いが30%あり，同定スコアにも$p<0.01$と有意な違いがみられた。使用菌株，キャリブレント，マトリックス試薬，溶媒を揃えてもMALDI-TOF MS質量分析装置の状態（レーザー強度，ディテクター感度）も揃えないとスペクトル及び同定スコアに影響が生じる[16]。我々は使用菌株，試薬類だけ揃えるのではなく，5日間の連続測定を行う直前にMALDI-TOF MS質量分析装置のファインチューニングを行った。3施設5日間の菌種同定はMALDI BiotyperでScore Valueは，2.000以上，VITEK MSの同定確率はすべて99.9%と種レベルの同定ができた。さまざまな施設の条件と機器にもかかわらず，ファインチューニングおよび実施要領に従った場合，3施設で種レベル菌種同定と同定確率に問題がなく，同定が可能であった。

最後にMALDI-TOF MSによる細菌同定の実施要領の作成に資する検討より，①使用菌株：*Enterobacter aerogenes*（ATCC13048），*Enterococcus faecalis*（ATCC19433），②培養：マイクロバンクから常に同じ血液寒天培地に接種し，18～24時間培養，③マトリックス試薬：MALDI BiotyperはHCCA porsion試薬，VITEK MSはMS-CHCAマトリックス試薬，④ファインチューニングの期間：ブルカージャパン株式会社およびビオメリュー・ジャパン株式会社の推奨期間であるMALDI Biotyperは6か月～1年，VITEK MSは約2500検体に1回を提案する。今後，MALDI-TOF MSによる細菌同定の内部精度管理実施要領を用いて，8週間の外部精度管理を8施設で行い検討する。

本論文の発表に関連して，開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文　献

1）Anhalt JP, Fenselau C. Identification of bacteria using mass spectrometry. Anal. Chem. 1975;47:219-225.
2）Freiwald A, Sauer S. Phylogenetic classification and identification of bacteria by mass spectrometry. Nature Prot 2009;4:732-742.
3）Seng P, Drancourt M, Gouriet F, et al. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. Clin Infect Dis 2009;49:543-551.
4）van Veen SQ, Claas ECJ, Kuijper Ed J. High-Throughput Identification of Bacteria and Yeast by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry in Conventional Medical Microbiology Laboratories. J Clin Microbiol 2010;48:900-907.
5）Bizzini A, Durussel C, Bille J, et al. Performance of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for Identification of Bacterial Strains Routinely Isolated in a Clinical Microbiology Laboratory. J Clin Microbiol 2010;48:1549-1554.
6）De Bel A, Wybo I, Piérard D, et al. Correct Implementation of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry in Routine Clinical Microbiology. J Clin Microbiol 2010;48:1991-1992.
7）Sauer S, Kliem M. Mass spectrometry tools for the classification and identification of bacteria. Nat Rev Microbiol 2010;8:74-82.
8）Sogawa K, Watanabe M, Sato K, et al. Use of the MALDI BioTyperTM system with MALDI-TOF mass spectrometry for the rapid identification of microorganisms. Anal Bioanal Chem 2011;400:1905-1911.
9）Sogawa K, Watanabe M, Sato K, et al. Rapid identification of microorganisms by mass spectrometry: improved performance by incorporation of in-house spectral data into a commercial database. Anal Bioanal Chem 2012;403:1811-1822.
10）西山宏幸．微生物学的検査．Medical Technology 2018;46:1280-1288.

11）日本適合性認定協会．臨床検査室―品質と能力に関する要求事項―ISO 15189. 2014.
12）Valentine N, Wunschel S, Wunschel D, et al. Effect of culture conditions on microorganism identification by matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry. Appl Environ Microbiol 2005;71:58-64.
13）山下剛永．MALDI-TOF MSによる菌同定向上法（Matrix sandwich method）．JSBMS Letters 2017;42:45-48.
14）花岩洋樹，京都敬祐，成田妙子，加藤匡平，真藤和弘，船島由美子，佐藤謙一，原田哲太，永沢善三，梅村創．微生物同定におけるMALDI-TOF MSの精度について 前処理法，培地，塗布手技，保存方法による影響．JARMAM 2018;28:59-66.
15）Wunschel SC, Jarman KH, Petersen CE, et al. Bacterial analysis by MALDI-TOF mass spectrometry: an inter-laboratory comparison. J Am Soc Mass Spectrom 2005;16:456-462.
16）清祐麻紀子．質量分析装置．Medical Technology 2017;45:1413-1416.

改良されたACMIA法による血中タクロリムス濃度測定試薬の性能の評価

The Performance Evaluation of Revised Affinity Column Mediated Immuno-Assay (ACMIA) for Tacrolimus Concentration

北原陽一郎　青谷真樹　市下和博　川淵靖司

要旨　今回われわれは，シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社から発売されたDimension用「フレックスカートリッジ タクロリムス TAC」の性能の評価を検討した。その結果，併行精度，希釈直線性，相関性について良好であることを確認した。また，ACMIA法（Affinity Column Mediated Immuno-Assay）の弱点とされていた低値の精度として定量限界も検討したが，CV20%点で0.26ng/mLと十分な精度を確保していることを確認した。元来ACMIA法が持つメリットである迅速報告と合わせて，日常のTDMに有用な測定法であると結論づけることができた。

Key words　Tacrolimus，TDM，ACMIA，ECLIA，Dimension

1. はじめに

タクロリムスは，微量で強力な薬理効果を発揮する反面，狭い有効治療域を有する免疫抑制薬の一つであり，カルシニューリン阻害薬として血中薬物濃度モニタリング（TDM）の対象薬物である。免疫抑制療法は，移植される臓器ならびに薬剤に応じて細分化されつつあり，特に周術期においてはTDMの果たす役割は重要性が高く，TDMによってもたらされる測定値と患者の容態を日々観察しながら投薬量の微調整を行うことが多い[1]。そのため，受診日または採血日当日に投薬量を変更し，適正な投薬量を決定できるように適時血中濃度を報告できるようにするなどきめ細かい対応が求められる。また，近年では免疫抑制薬の使用法の進歩によって，多剤併用する事例が急速に増えつつある。これに伴い，個々の薬剤の目標とする血中濃度が低濃度化しており，低濃度の精度が十分に確保された測定法が望ましいとされている[2]。

当院におけるタクロリムスの血中濃度測定は，ほとんどが整形外科外来からの検査依頼であり，関節リウマチの治療を目的として使用されている（**Fig. 1, 2**）。しかし，外注検査にて行っていたため，受診日当日にタクロリムスの投薬量を変更することが不可能であった。また，電気化学発光免疫測定法（以下，ECLIA法）による測定は血球移行性の高い薬剤であるため，血球を溶血しタクロリムスを抽出および除蛋白といった操作が必須とされ，多くの工程を経る必要がある。このことは所要時間延長および全血検体の前処理操作が自動化されていないことによる操作者間誤差などの問題が指摘されている[3]。これらの点を解決するべく開発されたACMIA法は，検体前処理操作が自動化されており，低濃度の精度が改良された試薬キットで，より一層血中濃度測定を院内化することが容易となった。

今回著者らは，このような特性を備えたACMIA法を原理とした「フレックスカートリッジ タクロリムス TAC」の基本性能評価を行ったので報告する。

Received Jul. 1, 2019; Accepted Jan. 17, 2020
Yoichiro KITAHARA, Masaki AOTANI, Kazuhiro ICHISHITA, Yasushi KAWABUCHI
独立行政法人 労働者健康安全機構 大阪労災病院　中央検査部
〒591-8025　大阪府堺市北区長曽根町1179-3
Division of Clinical Medicine , Osaka Rousai Hospital
1179-3, Nagasone-chou, Kita-ku, Sakai city, Osaka pref., Japan
Corresponding author：Yoichiro KITAHARA
TEL：072-252-3561　内線（3665）
E-mail：kitahara@osakah.johas.go.jp

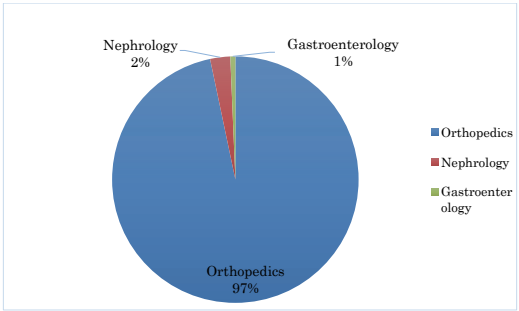


Fig. 1 The ratio of tacrolimus according to the clinical department in a month

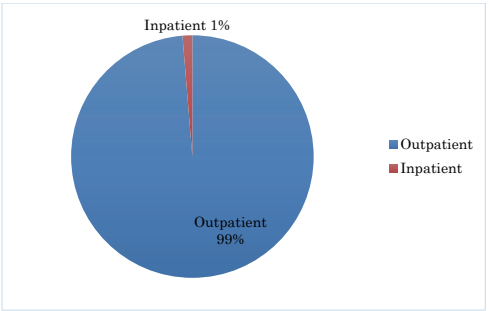


Fig. 2 The ratio of inpatient and outpatient of tacrolimus in a month

Table 1 Precision of ACMIA method and ECLIA method for the measurement of tacrolimus

ACMIA

	Sample1 (ng/mL)	Sample2 (ng/mL)	Sample3 (ng/mL)
Min	4.33	12.06	23.71
Max	4.75	12.72	25.20
Range	0.42	0.66	1.49
Mean	4.75	12.33	24.51
S.D.	0.15	0.28	0.59
C.V.	3.30	2.20	2.40

ECLIA

	Sample4 (ng/mL)	Sample5 (ng/mL)	Sample6 (ng/mL)	Sample7 (ng/mL)	Sample8 (ng/mL)
Min	1.16	1.98	8.92	16.50	30.09
Max	1.40	2.36	10.37	19.77	33.99
Range	0.24	0.38	1.45	3.27	3.90
Mean	1.30	2.20	9.90	18.40	32.30
S.D.	0.06	0.09	0.32	1.00	1.10
C.V.	4.60	4.10	3.20	5.50	3.40

2. 材料および方法

1）対象

当院検査部に日常検査として提出およびタクロリムス血中濃度測定の依頼があった患者検体100例について併行精度，定量限界，希釈直線性，相関性について検討を行った。検体はEDTA-2K加全血を用いた。

2）方法

ACMIA法測定試薬はDimension用「フレックスカートリッジ タクロリムス TAC」(シーメンス社製)を用い，自動分析装置Dimension EXL200（シーメンス社製）で測定した。また，対照として，外注検査で行われる電気化学発光免疫測定法（以下，ECLIA法）「エクルーシス タクロリムス」（ロシュ社製）を用い，自動分析装置cobas e411（ロシュ社製）を使用した。併行精度・定量限界・希釈直線性については，ロシュ社より提供されたデータを元に比較検討を行った。そのため，検討条件はそれぞれ異なっている。

3. 成績

1）併行精度

3濃度（低濃度，中濃度，高濃度）の精度管理物質を連続10回測定し，平均値，標準偏差（SD）から変動係数（CV）を，最大値，最小値からレンジをそれぞれ算出した。その結果，CVは2.20～3.30%であった（**Table 1**）。（ECLIA法 CV：3.20～5.50%）

2）定量限界

低濃度の患者全血検体6種類をそれぞれ6日間測定し，CVが20%に相当する濃度を定量限界として求めた。その結果，0.26ng/mLまで検出可能であった。（ECLIA法では0.47ng/mLであった（**Fig. 3**）。

3）希釈直線性

高濃度既知試料を0濃度キャリブレーターで10段階希釈し，各濃度について2重測定し，その直線性を評価することとした。その結果，添付文書の示す測定範囲内において直線性を示した。（ECLIA法においても同様であった（**Fig. 4**）。

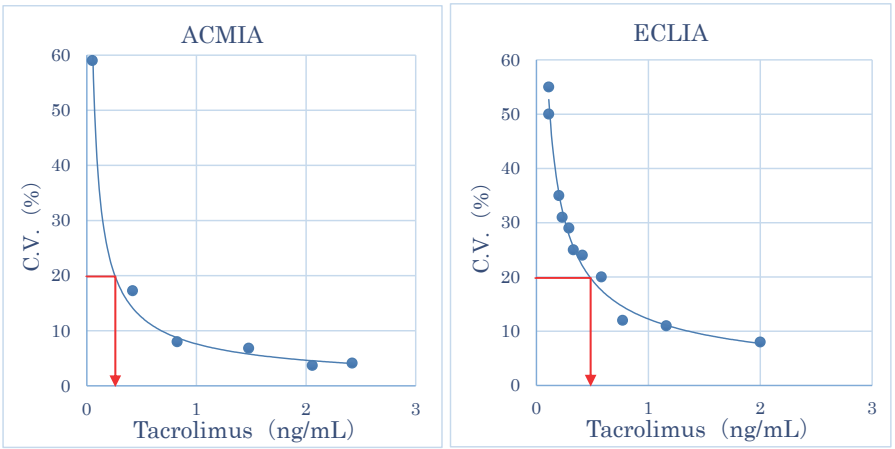


Fig. 3 Functional sensitivity

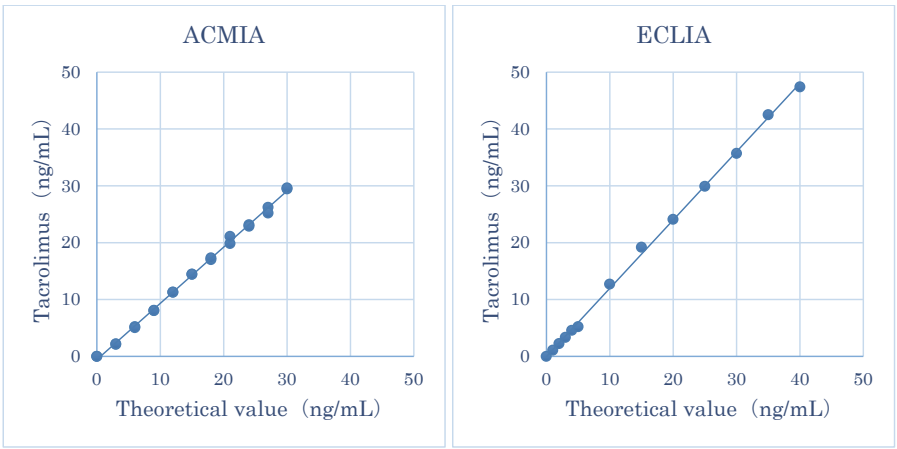


Fig. 4 Dilution linearity

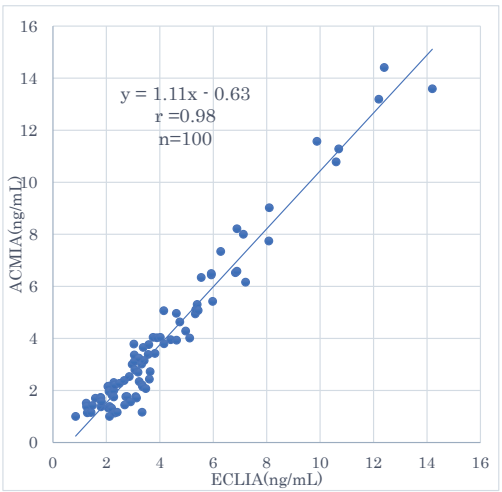


Fig. 5 Correlation between ACMIA method and ECLIA method on Tacrolimus

4）相関性

患者全血検体100例を対象として，ACMIA法とECLIA法との相関をPassing-Bablok法により評価した。その結果，回帰式 y=1.11x − 0.63，相関係数r=0.98であり，相関関係が認められた（**Fig. 5**）。

4. 考察

ACMIA法によるタクロリムス血中濃度測定は，併行精度，定量限界，希釈直線性，相関性において良好な結果が得られ，いずれもECLIA法と同等の性能であった。また，測定所要時間が約15分で，採血，到着確認，結果確定などの分析前後の操作を含めて約20分で完了するため，受診日当日の結果報告が可能となり，患者のよりリアルタイムな血中薬物濃度に即した投薬量の調整を行うことができるようになった。さらに前処理操作が自動化されたことにより，処理操作に費やす手間が省けたことや，検体受付から結果報告までの時間のばらつきを低減できたこともメリットと言える。一方で，測定法間の乖離について指摘する文献等も散見される[4]。ACMIA法において，偽高値を引き起こす物質は血清のみに存在することより，前回値と比較して高値を示す検体は，血球洗浄・血漿成分除去を目的に以下の前処理＊）を行い，測定値の変動を確認することで対応可能と判断した[4]。

＊）前処理：全血検体を生理食塩液にて3回洗浄後，生理食塩液にて全量を復元し洗浄血球とする[4]。

5. 結論

改良前のACMIA法にて指摘されていた低濃度の精度については，今回の改良試薬の検討で十分に改善されたことを確認した。これにより，本来ACMIA法のメリットである，前処理操作の自動化による迅速報告が可能となり，外来患者が多くを占めるタクロリムスのTDMについて診療前報告が可能と考える。

本論文の発表に関連して，開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文　献

1）多田均，佐藤滋，土谷順彦ほか，腎移植患者におけるタクロリムスAUCの日内変動と拒絶反応出現の関連，臨床病理　Jpn J Clin Pharmacol Ther 35(1) Jan 2004
2）一般社団法人 日本TDM学会・一般社団法人 日本移植学会免疫抑制薬TDM標準化ガイドライン[臓器移植編]2018
3）北原隆志，中川博雄，清水千恵子ほか，タクロリムス血中濃度測定機器の比較検討，医療薬学　Jpn. J. Pharm. Health Care Sci.　35(7) 453-457 (2009)
4）阿部正樹，歳川伸一，塩谷美江子ほか，Dimensionによるタクロリムス測定における偽高値の解析，医学検査 Vol.61 No.5 2012

Fabry病における尿沈渣検査の重要性

Importance of Urine Sediment Analysis in Fabry Disease

大江弓起子[1)]　佐藤晃一[2)]　高山知子[1)]　竹本賢一[1)]
大江宏康[1)]　森　三佳[1)]　酒井佳夫[1)]　和田隆志[1)3)]

要旨　尿中有形成分分析装置で尿沈渣成分と認識されなかった成分を，目視鏡検でmulberry bodyと判定したFabry病例を経験した。Fabry病の診断において，日常診療でmulberry bodyを見落とさないことは重要である。尿沈渣検査における目視鏡検の重要性が改めて認識され，尿中有形成分分析装置を使用する際は解析対象にならない重要な尿沈渣成分があることも念頭におき，撮像画像の確認を行うことが示唆された。

Key words　U-SCANNER Ⅱ，Fabry disease，mulberry body，re-examine criteria visual examination

1. はじめに

Fabry病はX連鎖性の遺伝性疾患であり，α-ガラクトシダーゼ（以下α-Gal）の著明な活性低下または欠損により糖脂質グロボトリアオシルセラミド（以下GL-3）やグロボトリアオシルスフィンゴシン（以下Lyso-GL3）が全身の細胞に蓄積する疾患である。その結果，虚血性疾患が多臓器にわたり発症し，多彩な臨床症状を呈する。小児期には四肢末端の疼痛，無汗症，角膜混濁による視力低下，耳鳴りなどが認められ，成人期以降には心機能障害，腎障害，脳血管障害が生じ，臓器不全となり死亡することが多い。検査所見の1つとして尿沈渣中にmulberry bodyやmulberry cellと呼ばれる渦巻状構造の脂肪球が見られる[1)-3)]。

今回我々は，尿中有形成分分析装置で尿沈渣成分と認識されなかった成分を，目視鏡検でmulberry bodyと判定したFabry病を経験した。

2. 症例

1）患者：40歳台，男性。
2）主訴：蛋白尿
3）現病歴：40歳時の健診で蛋白尿を指摘され，精査目的で当院を受診した。
4）既往歴：幼少期より低汗症，手指疼痛を自覚していた。20歳台で突発性難聴と診断され，30歳台にはメニエール病と診断された。
5）家族歴：母はFabry病 と診断され，慢性腎不全（維持透析），軽度心肥大を認める。父と兄は健在，姉は乳癌の既往がある。母方祖父及び祖母は脳梗塞で死亡している。
母方叔父（長兄）は60歳台で，母方叔父（次兄）は50歳台で死亡しており，両者ともFabry病と診断されている（**Fig. 1**）。
6）初診時身体所見：身長172cm，体重54.7kg，BMI 18.5と軽度のるい痩を認める以外，特記すべき異常

Received Sep. 30, 2019; Accepted Nov. 15, 2019
Yukiko OE[1)], Kouichi SATO[2)], Tomoko TAKAYAMA[1)], Kenichi TAKEMOTO[1)], Hiroyasu OE[1)], Mika MORI[1)]) Yoshio SAKAI[1)], Takashi WADA[1)3)]
[1)]金沢大学附属病院検査部
[2)]金沢大学附属病院腎臓内科
[3)]金沢大学大学院腎病態統御学
[1)]Department of Clinical Laboratory, Kanazawa University Hospital
[2)]Department of Nephrology, Kanazawa University Hospital
[3)]Kanazawa University Graduate School of Renal Pathology
〒920-8641　石川県金沢市宝町13-1
13-1, Takara-machi, Kanazawa, Ishikawa 920-8641
Corresponding author：佐藤晃一
TEL：076-265-2499
E-mail：sato.k@staff.kanazawa-u.ac.jp

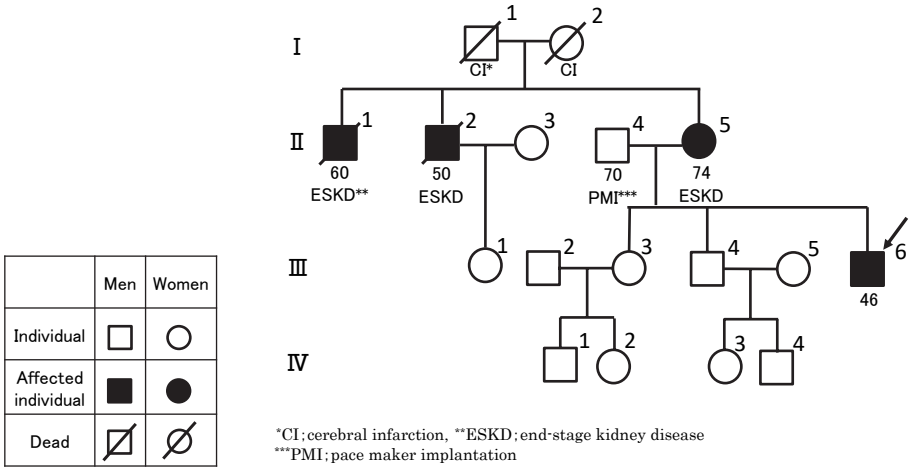


Fig. 1 Family tree

Table 1 Blood and urine test results at first visit

Blood multiplication and coagulation		Biochemistry				Urine qualitative	
WBC	6.26 x 10^3 / μL	CRP	0.1 mg/dL	LD	185 IU/L	COLOR	YELLOW
neutrophil	67.7 %	UN	12 mg/dL	ChE	246 IU/L	CLOUD	−
eosinophil	1.3 %	CRE	0.7 mg/dL	AMY	126 IU/L	pH	6.0
basophil	0.3 %	eGFR	93.2 mL/min./1.73m^2	CK	123 IU/L	S.G.	1.019
lymphocyte	24.8 %	UA	2.7 mg/dL	T-BIL	1.1 mg/dL	PRO	1+
monocyte	5.9 %	Na	144 mEq/L	TP	6.8 g/dL	GLU	−
RBC	4.34 x 10^6 / μL	K	4 mEq/L	ALB	4.1 g/dL	URO	+−
Hg	13.2 g/dL	Cl	108 mEq/L	TC	140 mg/dL	KET	−
Ht	40.2 %	Ca	9.1 mg/dL	TG	77 mg/dL	BLD	−
MCV	92.6 fL	IP	3.5 mg/dL	HDL-C	59 mg/dL	BIL	−
MCH	30.4 pg	Mg	2 mg/dL	BNP	9 pg/mL	NIT	−
MCHC	32.8 %	ALP	260 IU/L	GLU	91 mg/dL	WBC	−
PLT	272 x 10^3 / μL	GGT	11 IU/L	HbA1c	5.5 %	Urine sediment	
		AST	15 IU/L			RBC	<1 /HPF
PT-INR	1.11	ALT	13 IU/L			WBC	1-4 /HPF
APTT	29.8 sec.					squamous epithelial cells	<1 /HPF
Ddimer	0.4 μg/mL					renal tubular epithelial cells	<1 /HPF
						hyaline cast	1+ /WF
						mulberry cell	+ /WF
						mulberry body	+ /WF

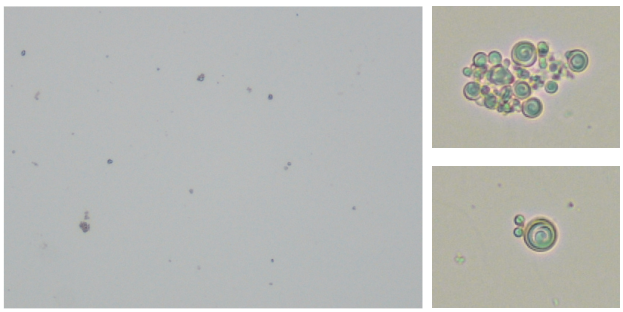
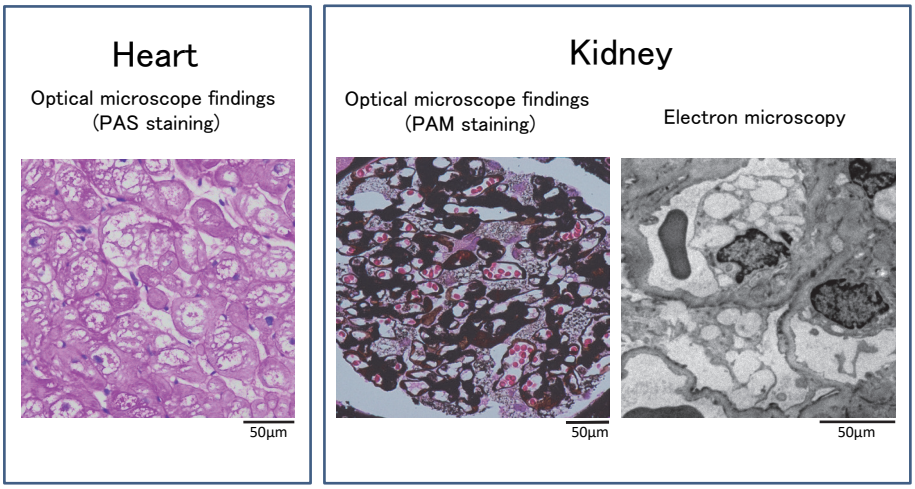


Fig. 2 Sediment image of urine



*PAS staining; Periodic acid-Schiff staining, **PAM staining; Periodic acid-methenamine-silver staining

Fig. 3 Pathological examination (myocardial biopsy, renal biopsy)

所見は認めなかった。

7）初診時検査所見および入院後検査所見

初診時の血液及び尿検査結果を**Table1**に示す。血液・凝固・生化学検査では有意な所見を認めなかった。尿検査は尿定性で蛋白（1+）を示し，目視鏡検でmulberry body及びmulberry cellを認めた(**Fig. 2**)。胸部X線写真，心電図検査で有意な所見は認めなかった。心エコーで軽度左室拡張障害，求心性左室肥大を認めた。

頭部MRIで有意な所見は見られず，眼病変及び皮膚病変も認めなかった。病理検査（心筋生検，腎生検）では心・腎ともに細胞内の空胞構造を認めたが，明らかなzebra bodyは認めなかった（**Fig. 3**)。α-Gal活性は0%と活性を認めず，血中Lyso-GL3は151nmol/Lと高値であり，尿中GL3の免疫染色は陽性であった。遺伝子解析においてIVS3-1G>Aと変異を認めた。以上の結果より，Fabry病と診断された。

3. 考察

1）尿一般検査は検体採取に侵襲を要さず，検査手技も簡便である。また，その検査結果からはさまざまな所見が得られる重要な検査項目であり，ルーチン検査として行われている。近年，検体数の多い施設では，業務の効率化と省力化を実現するために尿沈渣検査に尿中有形成分分析装置が導入されている。尿中有形成分分析装置の測定原理には，サイトメトリー法と画像処理法の2種類がある[4]。前者はフローサイトメトリー技術により前方散乱光，側方蛍光，側方散乱光などの情報から各成分の大きさ，染色性，表面や内部の情報などを読み取り分類する。後者は専用のカバーガラス一体スライドと高速オートフォーカス機能付き顕微鏡を組み合わせ撮像部で画像収集し，これを画像解析プログラムにより自動判定するが，判定できない成分はその他の成分として表示される。

しかし，尿中有形成分分析装置では，無遠心尿を使用しているため，尿沈渣中の少数成分は検出できない可能性があり，臨床的意義は高いが出現頻度が低い成分は検出が困難である[5]。そのため，尿中有形成分分析装置を導入しているほとんどの施設では，成分の見落としを避けるために目視鏡検を併用している[6]。目視鏡検による再検には，尿中有形成分分析装置の測定値及び尿定性検査結果が考慮されている。

当院では，画像処理法であるU-SCANNERⅡ（以下USⅡ，東洋紡績株式会社製）を使用している。尿定性検査結果と尿中有形成分分析装置の測定値から，分析結果を「要確認」と「自動確定」に振り分けて表示する。「要確認」では，尿定性検査結果と尿沈渣検査結果に乖離があるもの，尿蛋白及び尿潜血のどちらか一方が（1+）であるもの，尿中有形成分分析装置の測定値で異常値を認めるもの，どの尿沈渣成分にも判定できない成分があったものを対象と

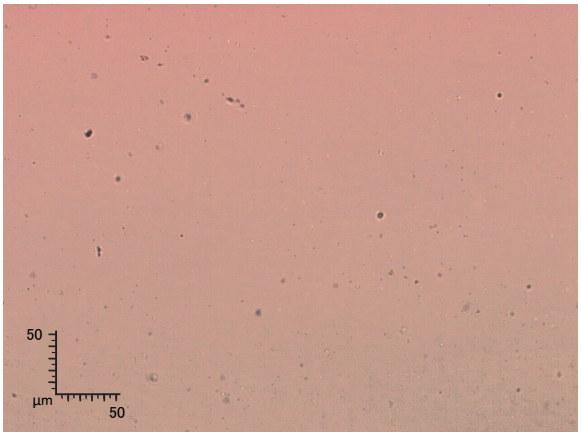


Fig. 4　U-SCANNER Ⅱ synthetic image

している。「要確認」以外に該当するものすべてを「自動確定」としている。

また，運用面では尿沈渣検査の依頼があったものはすべて目視鏡検で再確認している。すなわち，無遠心尿で測定した尿沈渣検査結果を一旦臨床科に報告することで診療前検査に迅速に対応し，「要確認」と表示されたものから優先的に目視鏡検し，必要時は結果の修正を行う。以上の運用では手間を要するが，仮報告までの時間が短縮し，検査の品質を維持することが可能となっている。

2）本症例のUSⅡ画像では，画像全体に小さな粒子が多数撮像されている（**Fig. 4**）。USⅡでは撮像された成分を確認する際，どの尿沈渣成分に判定したかを表示させることができるが，本粒子はどの尿沈渣成分にも判定されていなかった。さらに，判定できない成分とも認識されなかった。この小さな粒子が尿沈渣成分として捉えられておらず，画像解析プログラムで解析されるべき対象にされていないことが示唆された。この小さな粒子のサイズは5 μm以下であり，次に目視鏡検を行い，本粒子は多数の脂肪球であり，内部の形態が渦巻状構造であったことからmulberry bodyとの判定に至った。

Fabry病ではmulberry bodyやmulberry cellが尿沈渣中に多数認められる。mulberry bodyやmulberry cellは上皮細胞に蓄積したGL3が尿中に排出されたものであるため，Fabry病の早期発見に役立つ。

mulberry bodyと鑑別を要する尿沈渣成分としては，脂肪球，赤血球，シュウ酸カルシウム結晶，酵母様真菌などがあげられる。いずれも形態がmulberry bodyと類似しているが，内部の渦巻状構造はmulberry bodyに特徴的である。実際の尿沈渣では，渦巻状構造が一様でないことも念頭におき鏡検することが重要である[7]。

Fabry病は発症初期では尿定性検査結果は正常であることが多い。したがって，尿定性検査結果に基づく再検基準を設定する場合，目視鏡検せずに尿沈渣結果を報告する可能性がある。さらに，尿中有形成分分析装置による測定値の信頼性に基づく目視再検の基準を設定した場合でも，mulberry bodyが解析対象とならない成分であるため，目視鏡検せずに尿中有形成分分析装置の結果で尿沈渣結果を報告する可能性がある。

本症例では，尿沈渣依頼検体全件を目視鏡検で確認するという当院の検査運用で見落としを避けることが可能であった。尿沈渣検査における目視鏡検の重要性が改めて認識され，解析対象にならない重要な尿沈渣成分があることも念頭におき，撮像画像の確認を行うことが示唆された。

本論文の要旨は，第66回日本医学検査学会にて発表した。

本論文の発表に関連して，開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

謝辞

本論文執筆にあたりご協力くださいました金沢大学附属病院循環器内科　田村祐大先生，永田庸二先生，藤野

陽先生，金沢大学附属病院リウマチ・膠原病内科　原怜史先生，鈴木華恵先生，川野充弘先生，金沢大学附属病院病理部　池田博子先生，金沢医科大学医学部腎臓内科学　古市賢吾先生，金沢大学附属病院腎臓内科　坂井宣彦先生に深謝申し上げます。

文　献

1）成田一衛．ファブリー病の症状　腎症状．ファブリー病診断治療ハンドブック編集委員会．ファブリー病診断治療ハンドブック改定第3版．イーエヌメディック；東京2018；12–13
2）中村勝哉，関島良樹，永井琢人ほか．古典型–3，–4，–5．衛藤義勝．ファブリー病症例集Vol.1 早期診断・早期治療のために．メディカルトリビューン；東京．2014；10–17
3）伊藤機一監修．第三部尿沈渣アトラスG.その他．日本臨床衛生検査技師会．尿沈渣検査法2010．日本臨床衛生検査技師会；東京．2011；90
4）久野豊. 尿の自動分析装置. 日本臨床衛生検査技師会. 一般検査技術教本．丸善出版；東京．2017；103–107
5）小林渉，堀田真希．検査室Q＆A一般⑦　臨床検査　2017；61(4)：392–394
6）宿谷賢一，下澤達雄．尿中有形成分分析装置をどう使うか？尿中有形成分分析装置の運用の工夫　医療と検査機器・試薬　2012；35(5)：721–723
7）横山貴，伊藤康，永田智．検尿ノススメ－ファブリー病におけるmulberry bodyおよびmulberry cellのモニタリングの有用性－．Nephrology Frontier　2016；15(1)：56–61

BNP測定試薬の精度管理を目的とする「BNPコントロールシオノギ」の発売について

BNP Control Shionogi: a New Product for Quality Control of BNP Measurement Reagents

船附賢三

1. BNPおよび検査の背景

ヒト脳性ナトリウム利尿ペプチド（以下，BNP）は，1989年，松尾らのグループにより世界で初めて単離された。1994年には，塩野義製薬（以下，塩野義）が国内初となるBNP測定キットである“シオノリアBNP”を発売し，1996年には心不全診断を適応として保険収載された。その後，日本を始め欧州や米国の慢性心不全のガイドラインにも掲載され，多くの臨床家にとってBNP検査は心不全診断のための有益なツールであることが広く知られることになった。日本心不全学会では2013年にBNP値の心不全診断カットオフ値に関するステートメントを発表し，BNP値：18.4，40，100および200pg/mLが診断の目安値として示された。これにより，日常臨床におけるBNP値の意義はより明確化され，心不全スクリーニングや病態のモニターに欠かせない診断指標として活用されている。塩野義はこれまでに，上述の“シオノリアBNP”を含め3製品を市場に投入した。国内初の“シオノリアBNP”はIRMA法を原理とする測定キットであり，後続して発売される国内のBNP測定試薬はすべてこのIRMA法による測定値に準拠している。

現在，日本国内において，各種小型測定機から大型機に搭載可能なBNP測定試薬は計15製品が8メーカーより販売されている。“シオノリアBNP”発売から25年が経過し，BNP検査は心不全診療に欠かせない検査として受け入れられ，広く用いられている。本国では，超高齢社会による「心不全パンデミック」時代の到来が数年後に予見され，心不全患者の急増対策が模索されている。2018年には循環器病対策基本法も制定され，BNP検査の重要性は一層高まるものと考えられる。このような状況にある一方で，近年，国内BNP測定試薬における測定値の試薬間差を指摘する報告も散見されている。BNP測定における精度管理は，「心不全パンデミック」に対峙する医療に資するためにも非常に重要であると言える。

また，2018年12月には改正医療法が施行され，医療機関が自ら実施する検体検査や衛生検査所に業務委託される検体検査について，内部精度管理の実施，および外部精度管理調査の受検が強化された。この改正を受けて，各医療機関において精度管理の体制作りが急務となっていることは周知の通りである。現時点で，これらの精度管理は“努力義務”となっているが，今後，義務化されることも予想される。

2. 新製品：BNPコントロールシオノギについて

今回，本機器・試薬セミナーⅠにて，BNP測定試薬におけるBNP値の精度管理を目的として調製した試薬「BNPコントロールシオノギ」を紹介した。本製品は，

Kenzo FUNATSUKI
塩野義製薬（株）バイオマーカー研究開発部
〒561-0825　大阪府豊中市二葉町3-1-1
TEL：06-6331-8964
E-mail：kenzo.funatsuki@shionogi.co.jp

『コンセプト① 患者検体中におけるBNP（32 アミノ酸残基：BNP-32）とproBNP（108アミノ酸残基）の存在比を模した混合物』，『コンセプト② ヒト血漿をベースとした設計によりマトリックス固有の影響を低減することで臨床検体に近い挙動を再現』，『コンセプト③ 超低温庫を必要としない凍結乾燥製剤（冷蔵品）』，『コンセプト④ 急性・慢性心不全診療ガイドライン（2017）に即した重要なBNP濃度域における精度管理の強化』という4項目の特徴を有する調製されたコントロールである。

3. 各設計コンセプトの実際

BNPの産生機構は次のとおりである。心臓に何らかの障害や負荷がかかった場合，主に心室の心筋細胞内において，BNPの前駆体であるproBNPが形成され，さらに，proBNPの76および77番目のアミノ酸の間に作用する酵素（furin）で切断され，ナトリウム利尿活性を有するBNP-32（77-108アミノ酸残基部）と，非活性型N-terminal proBNP（1-76アミノ酸残基部）が血中に放出される。この時一部はproBNPのまま血中に放出される。BNP測定試薬の新発売当時，血中におけるproBNPの存在は知られておらず，後述の通りBNP分子形に関する多くの知見が得られることになる。

2004年頃から血中において分子量の違うBNPの存在が指摘されるようになった。また，2006年頃からはproBNPの糖鎖修飾に関する研究が活発となり，血中における糖化proBNPの存在が報告された。さらに，重症の心不全患者の血中proBNPの存在比はBNP-32より大きいことも見出されている。このような事実から，塩野義では，独自の試験研究を設計し，各施設の倫理委員会の承認を得て，心不全患者においてBNPに対するpro-BNPの存在の割合を調べた（K. Masuta, et al., Open J. Clin. Diagn., 2019, 9, 51-63）。本研究におけるBNP測定は，すでに終売となっている“シオノリアBNP”（IRMA法）試薬を，当時の処方・製造法を基に再現することによって実施した。また，proBNP測定は，塩野義で独自に開発したproBNP測定キットを用いた。

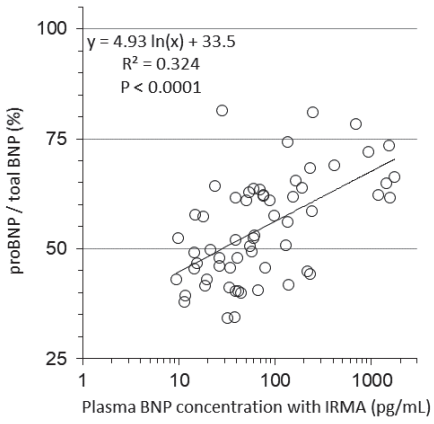


Fig. 1

この結果，**Fig. 1**に示す通り，シオノリアBNPによるBNP値（BNP-32とproBNPの総和）が高くなるにつれてproBNPの存在比が高くなることが確認された。本結果や既報のデータより，患者検体に近似するためにはBNP値ごとに異なるBNP-32：proBNP混合比率を採用すべきであることが示唆された（コンセプト①）。

本品はマトリックス固有の影響を少なくする目的でヒト血漿を用いた2種類の濃度のコントロールを調製した（コンセプト②）。

また，本品は，2－8℃条件下で保管が可能な凍結乾燥製剤であり超低温庫設備を必要としない（コンセプト③）。本品は用時溶解製剤であり，調製後速やかな使用が推奨される。溶解後は－20℃以下で凍結保管すれば，4週間安定であることも確認されているが，凍結融解は1回に限られる。

さらに，2種類の濃度（Level 1，2）は，急性・慢性心不全診療ガイドライン 2017年改訂版（日本循環器学会・日本心不全学会 編）に記載された心不全診断におけるBNPカットオフ値で，重要な臨床判断が行われる可能性の高いレンジ：40および200pg/mL付近を目安とし調製した（コンセプト④）。

本製品のBNP濃度はロットごとにIRMA法により測定され，この値を中心とする一定の幅を持った参考値として同梱の使用説明書に記載されている。

4. 最後に

2018年12月の医療法の改正施行に伴い“内・外部精度管理”の対応が求められる。本製品は測定試薬や機器に依存せず，精度管理に用いることができるBNPのコントロールである。検査の実施場所や時期にかかわらず，互換性のあるBNP値が得られる仕組みを構築・維持することは，患者への良質な医療提供に繋がるものと考えられる。また，心不全パンデミックの懸念される社会情勢下，精度管理による品質保証がされたBNP測定は，病診連携や地域包括ケアを機能させるためのツールとして心不全の一次予防・二次予防に大きく寄与し，医療経済的にも貢献できるものと期待している。

次世代生化学・免疫検査統合型分析装置 コバス pro のご紹介

Introduction of Next Gen. integrated
Clinical Chemistry-Immunochemistry Analyzer <cobas pro>

岸　孝明

1. はじめに

ロシュ・ダイアグノスティックス（株）は，医療環境の変化に伴う検査室の多様なニーズに対応する為に，生化学・免疫統合型分析装置「モジュラーアナリティクス」，「コバス 6000」，「コバス 8000」を発売し，検査室の業務効率化に貢献してきた。

近年，世界的にも臨床検査技師数が減少，管理業務の増加や院内の人手不足等に伴い1人当たりの業務負担が増える一方で，検査室には従来以上に高い業務品質，短時間処理，収益性の向上が求められている。特に国内では，医療法改正や働き方改革等の業界ルールの変更に迅速かつ柔軟に対応していく為に，限られた人数と時間の中で，これまで以上に業務効率性向上の必要性が高まっている。

今回は，こうした背景を受け，「より少ない負担で，より良い結果」をもたらす事を可能とする次世代生化学・免疫統合型自動分析装置「コバス pro」の特徴について紹介する。

2. 機器コンセプト

これまでの分析装置では，“ハイスピード”，“高品質”，“効率性”が主に求められていた。「コバス pro」では，こうしたポイントに加え，従来機とは異なるIntelligent Automationコンセプトを実装している点が大きな特徴である。

Takaaki KISHI
ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
ラボソリューション事業部
〒108-0075　東京都港区港南1-2-70 品川シーズンテラス

本コンセプトは，日々の煩雑なメンテナンス作業や曜日毎に補充内容の異なる試薬・消耗品類のリストアップ，測定前準備等，臨床に直結しない間接的な業務の一部を機械が代替する事で，検査室で働く人々を煩雑な作業から解放し，「より臨床に近い業務」に集中する事を可能とする。その結果として，医療アウトカムや病院収益性等のさらなる向上を実現する事を可能とする。

「より少ない負担で，より良い結果」をもたらす事で，検査室の価値を高めると同時に，検査に関わる人々にも新しい働き方を見つめなおしてもらうきっかけになる事を目指したソリューションが「コバス pro」である。

3. 性能・特長

「コバス pro」は，上述したIntelligent Automationコンセプトを具現化する為の機能を実装しており，特徴的なのは各機能の1つ1つがソリューションとなっている点である。

1）ワンパックシステム試薬+RFID，試薬マネージャー機構

生化学，免疫ともにカセットタイプの試薬を用い，いずれの装置にも試薬の投入口である試薬マネージャー機構を搭載している。また，生化学はR1，R2の組み合わせの考慮が不要，免疫は転倒混和やミキシングが不要となっている。さらに，カセットにRFIDを搭載している為，試薬マネージャーにカセットを架設するだけで，アプリケーション，ロット情報，有効期限や残測定回数等の情報を分析装置が認識し，自動で登録，管理する事が可能である。

本機能により，担当者の経験値や熟練度に大きく左右されることなく測定前準備を進める事ができ，また，事前準備，ミキシング，開栓等の測定前作業の削減が可能

となる事から，業務の標準化及び業務効率性の向上を可能にするソリューションとなっている。

2）試薬架設予測機能

本機能は，24時間以内に必要な試薬及び消耗品の数量を機械自動で算出し，その結果を不足数量も含め画面上で確認する事ができる機能である。

日々のルーチンで使用した試薬や消耗品の消費量等のデータを機器上に蓄積し，一定期間の統計データの平均値に基づき，算出している。

曜日毎に必要な試薬・消耗品のリストアップ作業が不要となる為，担当者の経験値や熟練度を問わず，スムーズな準備対応と準備漏れリスクを軽減する事を可能にするソリューションとなっている。

また，測定中に，試薬の補充や交換するケースが発生しても，前述した試薬マネージャー機構がある事により，装置を止めずに補充，交換対応する事が可能である。

3）Automated maintenance

本機能は，従来は測定終了後に人の手を介して行っていたメンテナンス作業を機械が代替する機能である。生化学モジュールにおいては，弊社の従来機と比較してDailyとWeeklyのメンテナンスの作業が大幅に軽減され，具体的に手を動かす作業は，流路洗浄を目的とした洗浄用ラックを流すだけとなる。代表的なAutomated maintenance機能は，“超音波による検体プローブ洗浄”と“反応系洗浄とセルブランク測定の自動化”である。

4）超音波洗浄（Sonic wash）

生化学モジュールにはSonic washと呼ばれる超音波洗浄機能を搭載している。

弊社従来機では，サンプル間キャリーオーバーリスクを軽減する為に，検体分注後に純水による洗浄を行っている。コバス proでは，従来の洗浄ステップに加えて，一定の条件下で超音波洗浄が入る設計となっている為，さらなるサンプル間キャリーオーバーリスクの軽減を可能にした。さらに，本機能は高い洗浄能力を有している為，検体プローブのDailyの拭き取り作業が不要となる。オペレーション上のリスクを排除すると同時に作業負担を軽減する事ができるソリューションになっている。

5）反応系洗浄とセルブランク測定の自動化

弊社従来機では，1週間に1回，装置を約1時間止めて実施する必要があった反応系洗浄，セルブランク測定といったメンテナンス作業を，コバスproでは装置が自動で実施する設計となっている。本機能により，担当者のメンテナンス作業負担の軽減と同時に，メンテナンス忘れといったリスクを排除する事を可能にしている。

6）Intelligent rack handling

コバス proはコバス8000の機能も継承している。

全世界で5000システム以上ご使用いただいているコバス 8000では，ラック渋滞の回避とスムーズな検体搬送が可能である。

検体の搬送レーンを，測定前検体を運搬するレーンと，測定後検体を運搬するレーンに分けた多重レーン構造を取っており，各モジュールの隣に測定前後の検体/ラック待機用のバッファーを設けている為である。

さらに，検体の投入と取り出し，画面操作は全て装置左側で完結する事が可能で，無駄な作業導線が生じないのもコバス8000の特徴の1つである。

「モジュラーアナリティクス」，「コバス 6000」等のコバス8000以前に発売した機械の経験に基づく改良の結果，こうした設計を確立している。

コバス proでは，上述したコバス8000の特性を継承

	c503(生化学処理用モジュール)	e801(免疫処理用モジュール)
測定原理	比色分析、電解質分析	電気化学発光免疫測定法(ECLIA)
処理能力	最大 1,000 テスト/時(比色) 最大 900 テスト/時(電解質)	最大 300 テスト/時
同時分析項目数	最大 60 項目+電解質項目	最大 48 項目
試薬分注	3.6 秒サイクル(S1)・7.2 秒サイクル(S2)パーマネントプローブ	12 秒サイクル ディスポーザブル分注チップ自動交換方式
試薬容器	一体形成パック （キャップピアッシングボトル）	一体形成パック
試薬保冷	全試薬保冷（5〜15℃）	全試薬保冷（5〜10℃）
試薬架設・排出	自動	自動
試薬認識	RFID	RFID

コバスプロの基本性能

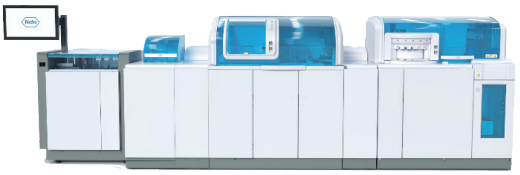
しつつ，また，検査室への事前ヒアリングに基づき，検査室が抱えている課題を解決するソリューション種機能を実装している。

4. おわりに

コバス proのコンセプト及び主要な機能について紹介した。

本装置は，従来のコバスシリーズの良さを継承しつつ，お客様からのリアルなご意見，ご要望を取り入れる事で，Intelligent Automationという新たなコンセプトをベースに検査室の多くの課題を解決する機能を実装した次世代ソリューションとなっている。

コバス proにより，現場の課題や負担を１つでも多く解決し，検査に関わる人々の働き方を見つめなおすきっかけづくりの一助になる事を願うと同時に，今後もより検査室に寄り添った製品開発の為に，皆様からの忌憚のないご意見，ご要望を引き続きご教示頂けると幸いである。



cobas pro < 503 | 801 > +ISE900 外観

次世代生化学・免疫検査統合型分析装置 コバス pro の試薬ご紹介

Introduction of Next Gen. Integrated
Clinical Chemistry-Immunochemistry Analyzer <cobas pro> reagents

藤井隆行

はじめに

ロシュ・ダイアグノスティックス（株）は，医療環境の変化に伴う検査室の多様なニーズに対応する為に，生化学・免疫統合型分析装置「モジュラーアナリティクス」，「コバス 6000」，「コバス 8000」の発売に合わせ，その分析装置に合わせたシステム試薬を開発，ラインナップしてきた。

近年，医療法改正やISOの導入に伴う標準作業書や精度管理，試薬管理など世界基準の医療を目指し臨床検査に求められる期待は増加している。一方で働き方改革など労働環境の変化も著しく，業務の効率化が求められている。このような環境の中，検査の業務改善，検査効率の向上，さらに世界基準の質の高いデータを提供することを目的としてシステム試薬が開発された。今回は，システム試薬の「コバス pro」に採用されている機構を利用した試薬性能への寄与および，適用される試薬ラインナップについて紹介する。

試薬コンセプト

「コバス pro」はIntelligent Automationをコンセプトに掲げ,「より臨床に近い業務」に集中する事を可能とし，医療アウトカムや病院収益性等のさらなる向上を実現する事を可能にすることを目指している。「コバス pro」適用する試薬も機器のコンセプトと同様，医療アウトカムや病院収益性等のさらなる向上を実現する事ができるよう，臨床に直結しない間接的な業務や日々の煩雑な作業を低減させるために，様々な試薬ハンドリングを向上させるような機能を取り入れた。以下に示した様々な機能により，検査室で働く人々を煩雑な作業から解放し，本来臨床検査技師があるべき検査業務を遂行し「より臨床に近い業務」に集中する事を可能とした。

・ワンパックシステム試薬とRFID

生化学：c503モジュール（以下，c503）では，第一試薬，第二試薬（以下，R1R2）を同じパックにして，その試薬パックごとの測定回数を決めておくことにより，試薬注ぎ足し作業をなくし，R1R2の間違いリスクも解消される。免疫：e801モジュール（以下，e801）も同様，試薬のR1R2を同じパックにして，その試薬パックごとの測定回数が決まっている。更に転倒混和やミキシングが必要ないような試薬組成になっている。

試薬管理は，Radio Frequency Identifier(以下，RFID)によりアプリケーション，ロット情報，有効期限や残測定回数等の試薬情報が装置と試薬に記録している。更にインターネットを介して添付文書や精度管理など,試薬，キャリブレータ，コントロール情報などのダウンロードが可能である。

これらの仕組みにより，作業者の経験値や熟練度に左右されることなく，ミキシング，開栓，閉栓，試薬充填，試薬セッティング等の測定前後の準備，終業作業をより効率的に進められる事ができるようになる。

・キャップピアッシング

試薬性能に係わる機構としては，c503では，キャッ

Takayuki Fujii
ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
〒108-0075　東京都港区港南1-2-70 品川シーズンテラス
Roche Diagnostics K.K.
Shinagawa Season Terrace 1-2-70, Konan,Minato-Ku
Tokyo, 108-0075

表 1　各項目のテスト回数とオンボードスタビリティ

項目	テスト回数（回）	オンボード スタビリティ（日）	1 日当たり テスト数（回）
ALP IFCC	1100	56	20
LD IFCC	850	182	5
AST IFCC	800	84	10
ALT IFCC	800	84	10
AMY	750	182	5
Ca	1500	182	9
CHO	2600	182	15
カルバマゼピン	500	182	3
バルプロ酸	200	126	2
ジゴキシン	500	182	3

プピアッシングの機構を採用，e801では，試薬分注直前に開栓，直後に閉栓される機構を採用している。この効果によりオンボードスタビリティが向上し，c503試薬のオンボードスタビリティは最大6か月，e801試薬のオンボードスタビリティは最大4か月安定であることが確認できた。

c503試薬のカセットあたりテスト数は1000回を超える設定になっているものも多くある。例えば，Ca試薬では1500回の設定となっているが，オンボードスタビリティが6か月あるため，一日当たり9テスト以上測定される施設であれば，使用期限内に使い切ることが可能である。その他，主な試薬についても表1に記載の通り，各試薬共にオンボードスタビリティの向上と測定回数の至適化により，試薬交換頻度を低減し，業務効率化の助けになることが期待される。

・Auto cal

c503試薬のキャリブレーションについては，従来試薬ロット変更時に測定していたキャリブレーションが必要なくなる機能（以下，Auto cal）を開発，搭載した。Auto cal適用試薬は，機器設置時にキャリブレーションを行い，この結果を基に機器に由来するファクター，試薬に由来するファクターを求める。そして，次回以降のキャリブレーションは，試薬ロットごとに持っているファクター情報を機器に取り込むだけで，キャリブレーション補正してくれるものである。この機能により，従来手作業で行われていたキャリブレーション取得作業そのものの負担を軽減することが期待できる。現在，一部のc503試薬にしか適用されていないため，順次適用項目を増やす予定である。

e801試薬では，多点検量のマスターキャリブレーションを2点のみで補正することができる。この機能によりe801試薬はキャリブレーションにかかる時間や測定に使用する試薬量を少なくすることにより作業負担を軽減し，業務効率化の助けになることが期待される。

・試薬ラインナップ

c503試薬のラインナップについては，ALPとLD がIFCC標準化対応法に変更するための取り組みが行われているなど，グローバルハーモナイゼーションが進んできた状況を鑑み，IFCC 基準測定操作法に準じた試薬及び多くの試薬項目を「コバス pro」に適用し，試薬ラインナップを充実させた。なお，日本独自で開発され日本市場で求められている項目については，国内処方の試薬ラインナップも揃えた。これらの試薬は，キャップピアッシングや試薬組成の工夫により，オンボードスタビリティを向上させたものになっている。これらの試薬ラインナップは国内の検査室の試薬ニーズに応えるのみならず，グローバルハーモナイゼーションの観点から，今後求められる試薬をご紹介していきたい。

・おわりに

「コバス pro」に適応した試薬のコンセプト及び主要な性能について紹介した。

「コバス pro」のコンセプトを叶えるためには，装置側だけではなく，試薬側からも様々な取り組みが必要であった。上述の通り，従来のコバスシリーズの良さを継承しつつ，お客様からのリアルなご意見，ご要望を取り入

れる事で，Intelligent Automationという新たなコンセプトをベースに検査室の多くの課題を解決する機能を実装した次世代ソリューションとなっている。

「コバス pro」により，現場の課題や負担を1つでも多く解決，低減し，検査に関わる人々の働き方を見つめなおすきっかけづくりの一助になる事を願うと同時に，今後もより検査室に寄り添った製品開発の為に，皆様からの忌憚のないご意見，ご要望を引き続きご教示頂けると幸いである。

c503用試薬及びc801用試薬外観

TRCReadyシステムの紹介 ―マイコプラズマとCT／NG検出試薬について―

Introduction of TRCReady System and New Reagents

東田　悟

1. はじめに

TRCReadyシステムは，核酸の特定の領域を試験管内で人工的に増幅･検出する核酸増幅検査法であるTRC（Transcription Reverse-transcription Concerted reaction）法[1]を原理とし，核酸精製から核酸増幅・蛍光検出までを自動化した装置と試薬からなるシステムである。既に，結核菌群検出試薬および非結核性抗酸菌MAC検出試薬で，その臨床的有用性を示してきた。本稿では，新たに保険収載されたマイコプラズマrRNA検出試薬とクラミジア／淋菌rRNA検出試薬について紹介する。

2. TRC法の原理

TRC法は，46℃の一定温度でRNAを標的に逆転写酵素とRNAポリメラーゼが協奏的に作用し転写RNAを増幅する方法と，標的RNAに対し相補結合を形成することで蛍光増感を示すINAFプローブ（Intercalation Activating Fluorescence probe）による検出を組み合わせた方法である（**Fig. 1**）。標的RNAの増幅と検出を1本のチューブ内で20分以内に実施できる。さらに，専用装置である自動遺伝子検査装置TRCReady-80，TRCR核酸精製キットと組み合わせることにより，核酸精製から検出まで全自動で実施可能である。

Satoshi TODEN
東ソー株式会社バイオサイエンス事業部
第二開発部 遺伝子G
TEL：0467-76-7400
E-mail：satoshi-toden-gw@tosoh.co.jp

3. 特徴

TRCReadyシステムの特徴は，1）迅速性，2）高感度検出，3）簡便性である。

1）迅速性

TRC法は，**Fig. 1**に示す逆転写反応および転写反応が酵素によって連続的に進行する点と，これらの協奏反応がより迅速に進行するように反応温度および試薬を最適化している点から，標的核酸の迅速な検出が可能である。

2）高感度検出

TRC法の標的核酸であるRNAは，一般に1菌当たりの分子数がDNAに比べて多く，DNAを標的する手法に比べ，標的を高感度に検出することが可能である。更に内部コントロールを同時に増幅・モニタリングすることにより偽陰性リスクの低減を図っている。

3）簡便性

TRCReadyシステムは核酸精製工程を自動化し，核酸精製から結果報告まで40～50分で実施することが可能である。また本装置は小型でありながら，一度に精製･検出を8テスト処理することが可能であり，陰性コントロールや陽性コントロール，他項目試薬の同時測定が可能となっている（**Fig. 2**）。

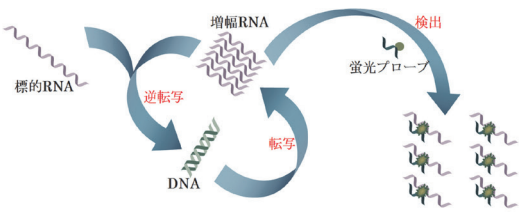


Fig. 1　TRC法原理図

Fig. 2 TRCReady-80外観

4. マイコプラズマrRNA検出試薬（TRCReady MP）

マイコプラズマニューモニエ（*Mycoplasma pneumoniae*, MP）は人に感染すると気管支炎とマイコプラズマ肺炎といった疾患を引き起こす。非定型肺炎の多くがマイコプラズマ肺炎であり重症化・合併症を引き起こすこともあることから迅速・適切な治療が必要である。しかし，MPをはじめとする非定型肺炎起炎菌は通常外来でよく使用されるβ-ラクタム系抗菌薬が効かないという特徴を有する為，MPの迅速・確実な検出は臨床上重要である。TRCReady MPは，咽頭拭い液を使用する場合は前処理が不要であり，核酸精製から結果報告まで40分で実施できる。喀痰を使用する場合は，界面活性剤を用いた簡便な前処理から結果報告まで50分以内で実施可能である。

既承認品との相関性試験の結果，全体一致率が95%，陽性一致率が100%，陰性一致率94%と良好な結果が得られた。TRCReady MPにて陰性となった検体で既承認品陽性となったものは無く，TRCReady MPの感度が高いことが示唆された。

5. クラミジア／淋菌rRNA検出試薬（TRCReady CT／NG）

クラミジアトラコマチス（*Chlamydia trachomatis*, CT）感染症は性感染症の中でも最も罹患率の高い感染症である。女性の場合，感染しても症状を呈しないことも多いため，感染を自覚することが少ない。淋菌（*Neisseria gonorrhoeae*, NG）感染症もまた，クラミジア感染症と並んで頻度の高い性感染症であり，クラミジア感染症との合併頻度は20～30%と非常に高い[2]。また性感染症患者は再診率が低い傾向があり，当日中に治療を開始する必要がある為，院内での迅速・確実な検査であり，CTとNGの同時検出可能な検査が求められている。また両感染症とも，近年咽頭感染例が問題となっている。咽頭は唾液や飲食によって表面が洗浄される部分である為，上皮に存在する菌数は少ないと推察される。よって，咽頭検体においては高感度に菌体を検出する核酸増幅法による検査が推奨される[3]。

TRCReady CT／NGは，子宮頸管擦過物検体，尿道擦過物検体，男性尿検体，咽頭検体の前処理から結果報告まで50分以内で実施することが可能である。既承認品（SDA法試薬，TMA法試薬）との相関性試験の結果，CT・NG共に全体一致率が96%と良好な結果が得られ，高い感度・特異度を有していることが示された。いずれも即日報告が可能であり，迅速な診察および感染予防に有用であると期待される。

6. 結語

TRCReadyシステムは，装置が小型でありつつ，核酸精製工程の自動化による簡便な操作性を有し，高感度かつ迅速な結果報告が可能なTRC法を採用した遺伝子検査システムである。既に上市されている結核菌群検出試薬，非結核性抗酸菌MAC検出試薬に加え，2018年に保険収載されたマイコプラズマrRNA検出試薬，クラミジア／淋菌rRNA検出試薬が新たに利用可能となり，今後の臨床検査の発展に大いに寄与することが期待される。

文　献

1）T.Ishiguro et al., Anal.Biochem. 2003;314(1):77-86.
2）田中 正利，性感染症STD，南山堂 2008.
3）2016ガイドライン委員会，性感染症 治療・診断ガイドライン 2016;27:36-40.

投稿規定

（令和元年10月５日改定）

投稿規定が改定されました。
令和２年１月１日以降の投稿に適用します。

1．医療検査と自動化（日本医療検査科学会誌）に投稿される論文は，臨床検査に関する新知見（自動化に限定せず機器・試薬の検討でも可）のあるもので，他誌に発表されていないものとする。すでにその内容の一部を学会などで発表したものは，その旨を論文末尾に記載する。
2．投稿者（連名者も含む）は本学会の会員に限る。連名者は臨時会員（論文投稿用）でも可とする。
3．投稿論文の種類は，原著，技術，症例，短報とする。
機器・試薬の検討は技術へ投稿されたい。原著は，技術の開発・改良，臨床的評価など一歩進めたオリジナリティーのあるもの，または，他の機器・試薬との比較検討を詳細に行い，臨床検査の進歩に寄与するものとする。症例は検査値が臨床的または技術的に興味ある報告とする。
4．投稿にあたっては，本誌の原稿作成要領に従う。論文投稿に際しては，(一社)日本医療検査科学会「医学研究の利益相反（COI）に関する指針に従って，筆頭著者およびCorresponding author（連絡責任者）は「医療検査と自動化 COI申告書」（様式2-Aまたは様式2-B）を提出しなければならない。また，指定の著者チェックリストを添付する。規定に沿わない場合は，返却あるいは訂正を求めることがある。
5．投稿論文は，いずれも編集委員会の審査により論文の種類(原著，技術など)および採否を決定する。
6．投稿論文の著作権は日本医療検査科学会に帰属するものとする。
7．Corresponding author（連絡責任者）を表紙に明記する。Corresponding authorは論文の審査過程に関わる連絡担当者となるほか，当該論文の責任を負う。
8．研究倫理に関して：ヒトを対象とした臨床研究に関する論文はヘルシンキ宣言に沿ったものであること。また，人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（文部科学省，厚生労働省）を遵守すること。遺伝学的検査に関しては，「ヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針」（文部科学省，厚生労働省，経済産業省）に従うこと。臨床検査を終了した検体を用いた研究に関しては，「臨床検査を終了した残余検体（既存試料）の業務，教育，研究のための使用について―日本臨床検査医学会の見解―」（2018年１月に公表。日本臨床検査医学会ホームページから閲覧可能）を参照のこと。動物実験については，「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」（日本学術会議）に従うこと。必要な際，当該研究が各施設内の倫理委員会等の承認のもとに行われたことを明記する。

原稿作成要領

1．投稿原稿はＡ４判用紙にWordファイルで作成した１行40字×１ページ40行（1600字）の原稿をプリントアウトしたものを原則とする。書体は日本語は明朝体，英語はCentury体を本文の基本書式とし，図表はExcel，WordまたはPowerPointファイルで作成する。欧文と数字は１文字のときは全角，２文字以上は半角で入力する。数字と単位の間には半角スペースを入れて記述する。また，入力ソフト名・タイトル・著者名・所属機関名を明記した電子媒体（CDなど）を提出する。原稿の表紙には次の事項を記載する。
   1） 表題（和文および英文）
   2） 著者名（和文および英文）
   （英文の例：Koki MOTEGI）
   3） 所属機関名とその住所（和文および英文）
   4） 原著，技術，症例，短報いずれを希望かを明記
2．原著原稿は次の順序に配列することが望ましい。
   ⑴表紙（１．参照）⑵本文（ｉ参照），⑶表，⑷図（写真など）とその説明
   ｉ．本文は，要旨（英文で200語以内），キーワード（英文で５項目以内）。
   はじめに，材料および方法(測定機器，測定原理など)，成績，考察，結論，文献の順序に記載する。
   ⅱ．文献は必要最低限にし，引用順に番号をつけ，本文最後に一括して記載する。本文中の引用箇所に肩付きで，右片括弧にいれて記載する。文献の記載法を**別表１**に示す。
3．技術原稿もこれに準ずる，但し英文要旨に替えて和文要旨を要する。
4．原著の規定頁数は原則として１編につき刷り上がり８頁以内，技術および症例は６頁以内とする（１頁分は1600字に相当する）。
   図と表は，あわせて10枚以内とする（図表は１枚，400字に相当する）。
   短報は刷り上がり２頁以内，図と表はあわせて３枚以内とする。

	英文要旨	和文要旨	本文原稿枚数（1枚1600字）	図　表	刷上り頁数
原　著	200語	−	8枚以内	10枚以内	8頁以内
技　術	−	250字	6枚以内	10枚以内	6頁以内
症　例	−	250字	6枚以内	10枚以内	6頁以内
短　報	−	−	2枚以内	3枚以内	2頁以内

上記の規定頁数を超過した場合はその分の実費を徴収する。

5．文章は，口語体，当用漢字，新かな遣いとし，横書き。句読点，括弧は1字分を要し，改行のさいは，冒頭1字分あける。外国人名は原語とし，地名は適宜とする。外来語で日本語化したものはカタカナで，ほかは外国語綴りのままとする。

6．図・表タイトルの内容，説明は英文で，**別紙にまとめて**記載する。原則として原図を送付すること。また，図・表・写真は1枚ごと別紙にして通し番号を入れ，本文原稿の欄外に挿入箇所を明示する。当方でトレースを必要とする場合，あるいはカラー印刷を希望する場合は，実費を徴収する。

7．度量衡の単位は漸次SI単位による表現を採用するが，差し当り**別表2**に示すようにする。

8．HbA1cの表記については，日本糖尿病学会の指針に基づき，NGSP値を用い，HbA1c値の初出にNGSP値であることを明記する。

9．投稿原稿が英文の場合も和文の規定に準ずるが，この際には和文抄録（800字以内）も示す。

10. 別刷は最低50部として実費を請求する。別刷の部数は編集委員会から著者校正時に問い合わせる。

11. 投稿論文は，オリジナル原稿1部，電子媒体（CDなど）を下記に送付する。

〒113-0033　東京都文京区本郷2-31-2（笠井ビル）
「医療検査と自動化」編集委員会宛
Tel．03-3818-3205／Fax．03-3818-6374 E-mail:t-gaku@gk9.so-net.ne.jp

別表1　引用文献

著者名は3名以内の場合は連記，4名以上は第4著者以降をほか（英文の場合はet al.）とする。英文は姓，名（イニシャル）の順とする。雑誌名は略記とする。

〈雑誌〉

著者名．論文タイトル．雑誌名　発行年（西暦）；巻：頁一頁（通巻頁で最初と最後）。

例）奈良信雄，室橋郁夫，松本文枝ほか．マイコプラズマ感染症の診断における DNA プローブ法の有用性に関する研究．感染症誌　1991；65：1527-1532

Thue G, Gordon MK, Gerecke DR, et al. Survey of office laboratory tests in general practice. Scand J Prim Health Care 1994；12：77-83.

〈単行本〉

著者名，論文タイトル，編者名，　書名，版，出版社名；発行地，発行年（西暦）頁－頁.

例）三橋知明，甲状腺ホルモン受容体異常，中井利昭ほか編，遺伝子診断実践ガイド，第1版，中外医学社；東京，1995；185-188.

Goldfin A Adrenal medulla. In：Greenspan FS, Baxter JD, eds, Basic & Clinical Endocrinology, 4th ed, Appleton & Lange；Conneticut，1994；370-389.

別表2　度量衡の単位

a）接頭語には次のものを用いる。

10^{-18}＝a（atto）	10^{-6}＝μ（micro）	10＝da（daca）	10^{9}＝G（giga）
10^{-15}＝f（femto）	10^{-3}＝m（milli）	10^{2}＝h（hecto）	10^{12}＝T（tera）
10^{-12}＝p（pico）	10^{-2}＝c（centi）	10^{3}＝k（kilo）	10^{15}＝P（peta）
10^{-9}＝n（nano）	10^{-1}＝d（deci）	10^{6}＝M（mega）	10^{18}＝E（exa）

b）接頭語を二重に用いない。$\mu\mu$g（$\gamma\gamma$）→pg

c）長さに関する単位はmμ→nm，Å→0.1nm（あるいは100pm），μ→μmなどとする。

d）容量の単位は「L」を用い，dm^3，cc，cm^3などを用いない。dm^3→L，cc→mL，mm^3→μL

e）濃度に関する単位は，モル濃度はmol/Lとし，慣用としてmol/LをMとしてもよい。その他はmg/dL，g/dL，g/Lなどとするが，分母を「L」におきかえることが望ましい。7 g/dL→70g/L，100mg/dL→1 g/L（1,000mg/L）原則として分母に接頭語をつけない。分子量の確定しているものは漸次モル濃度におきかえることが望ましい。

f）mol/min/L→mol/（minL^{-1}），またはmol $min^{-1}L^{-1}$とする。

追記

標準化に関連した用語の定義や意味については「JCCLS 用語委員会：臨床検査関係 ISO国際規格の用語とその邦訳語（ver.1.1）．日本臨床検査標準協議会会誌　18(1)：3-41，2003」を参照する。なお，CLSI(旧NCCLS)のwebsite（http://www.clsi.org）でも検索できる。

（本用紙はコピーして使用してください）

「医療検査と自動化」論文投稿時の著者チェックリスト

1．投稿者は（一社）日本医療検査科学会会員であるか …… □

2．同じ内容の論文を他誌に発表していないか …… □

3．研究倫理に関して投稿規定に沿っているか …… □

4．論文の内容が施設内倫理委員会の承認を必要とする際は、
承認を得ている旨、明記しているか …… □

5．論文の体裁について

(a) 表紙に (1)表題、(2)著者名、(3)所属機関名とその所在地
(4)論文の種類（原著、技術、症例、短報）を明示しているか …… □

(b) 原稿の字数は原稿作成要領に沿っているか …… □
（原著：本文は A4 判用紙（40 字×40 行=1600 字）8 枚以内、図表は 10 枚以内、技術・症例：本文は 6 枚以内、図表は 10 枚以内、短報：本文は 2 枚以内、図表は 3 枚以内）

(c) 論文の体裁（配列）は原稿作成要領に沿っているか …… □

(d) 原著の場合、要旨は英文で記載されているか …… □

(e) 図表のタイトル、説明文は英文で記載されているか …… □

(f) 本文中に図表の挿入箇所を明示しているか …… □

(g) 引用文献の記載方法は原稿作成要領に沿っているか …… □

(h) 度量衡の単位は原稿作成要領に沿っているか …… □

(i) 原稿にページ数を記載しているか …… □

(j) Corresponding author（連絡責任者）および連絡先を記載しているか …… □

6．全著者は本論文投稿への関与を確認し、自署して下さい。

著　者　名	会員番号 または臨時会員

著　者　名	会員番号 または臨時会員

付記 1. 論文の内容は臨床検査に関する新知見のあるもので、他誌に未発表のものに限ります。
2. 掲載された論文の著作権は全て(一社)日本医療検査科学会に帰属します。
3. 論文の表紙にCorresponding author(連絡責任者)および連絡先を記載すること。
4. 会員または臨時会員の登録手続き中の場合は、その旨記載して下さい。

様式 2-A（論文投稿用）

医療検査と自動化（日本医療検査科学会誌）ＣＯＩ申告書
(筆頭著者・Corresponding author(連絡責任者)が企業に属さない場合)

著者名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

（共著者を含む）

論文題名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

（筆頭著者・Corresponding author(連絡責任者)について、投稿時から遡って過去２年間以内での論文内容に関係する企業・組織または団体との COI 状態を記載）

項目	該当の状況	有であれば著者名：企業名などの記載
① 本人あるいは配偶者、一親等の親族の営利を目的とする企業・法人組織・団体の社員，役員，顧問職への就任 1 つの企業・組織や団体からの報酬額が年間 100 万円を超えた場合.	有 ・ 無	
② 株式の利益 1 つの企業から年間 100 万円を超えた場合，あるいは当該株式の 5%以上保有	有 ・ 無	
③ 特許使用料 1 つにつき年間 100 万円を超えた場合	有 ・ 無	
④ 講演料 1 つの企業・団体からの年間合計 100 万円を超えた場合	有 ・ 無	
⑤ 原稿料 1 つの企業・団体から年間合計 100 万円を超えた場合	有 ・ 無	
⑥ 研究費・助成金などの総額 1 つの企業・団体からの研究経費を共有する所属部局（講座，分野あるいは研究室など）に支払われた年間総額が 100 万円を超えた場合	有 ・ 無	
⑦ 奨学（奨励）寄付金などの総額 1 つの企業・団体からの奨学寄付金を共有する所属部局(講座,分野あるいは研究室など)に支払われた年間総額が 100 万円を超えた場合	有 ・ 無	
⑧ 企業などが提供する寄付講座 （企業などからの寄付講座に所属している場合に記載）	有 ・ 無	
⑨ 旅費，贈答品などの受領 1 つの企業・団体から年間 5 万円を超えた場合	有 ・ 無	

（本 COI 申告書は論文掲載後２年間保管されます）

（申告日）　　年　　月　　日

筆頭著者・Corresponding author(連絡責任者)（署名）＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿ ㊞

（何れかに○）

＊筆頭著者、Corresponding author(連絡責任者)は各々記載すること

様式 2-B（論文投稿用）

医療検査と自動化（日本医療検査科学会誌）ＣＯＩ申告書
(筆頭著者・Corresponding author(連絡責任者)が企業に嘱する場合)

著者名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

（共著者を含む）

論文題名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

私は（○○株式会社）の社員であり、本研究に関わる費用等は所属企業の経費等にて支払われています。
（上記を参考に記載）

（本 COI 申告書は論文掲載後２年間保管されます）

（申告日）　　年　　月　　日

筆頭著者・Corresponding author(連絡責任者)（署名）＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿　㊞

（何れかに○）

＊筆頭著者、Corresponding author(連絡責任者)は各々記載すること

特別賛助会員

アークレイマーケティング(株)	160-0004	東京都新宿区四谷1-20-20 大雅ビル 3F
富士フイルム和光純薬(株)	103-0023	東京都中央区日本橋本町2-4-1 日本橋本町東急ビル 6F

賛助会員

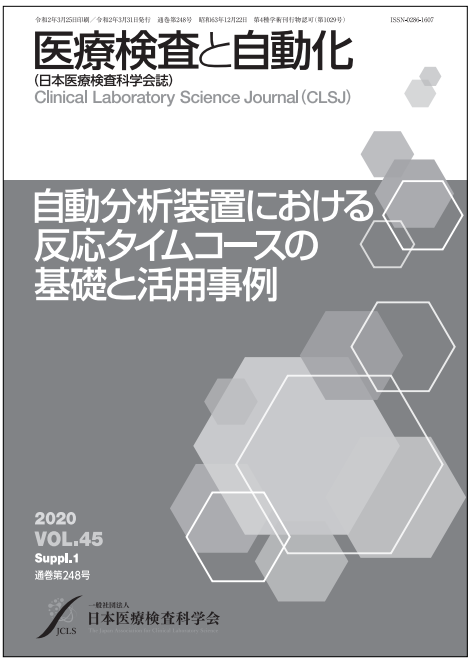
アイ・エル・ジャパン(株)	108-0073	東京都港区三田1-3-30 三田神田ビル
(株)アイディエス	150-0011	東京都渋谷区東2-22-14 ロゼ氷川 4F
アボットジャパン(同)	108-6305	東京都港区三田3-5-27 住友不動産三田ツインビル西館
アルフレッサファーマ(株)	540-8575	大阪府大阪市中央区石町2-2-9
(株)エイアンドティー	221-0056	神奈川県横浜市神奈川区金港町2-6 横浜プラザビル
栄研化学(株)	110-8408	東京都台東区台東4-19-9 山口ビル7
(株)エクセル・クリエイツ	542-0081	大阪府大阪市中央区南船場1-16-13 堺筋ベストビル 5F
(株)LSIメディエンス	101-8571	東京都千代田区内神田1-13-4 THE KAITEKIビル
オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス(株)	141-0032	東京都品川区大崎1-11-2 ゲートシティ大崎イーストタワー
(株)カイノス	113-0033	東京都文京区本郷2-38-18
関東化学(株)	103-0022	東京都中央区日本橋室町2-2-1
キヤノンメディカルシステムズ(株)検体検査システム営業部	212-0015	神奈川県川崎市幸区柳町70-1
極東製薬工業(株)	103-0024	東京都中央区日本橋小舟町7-8
合同酒精(株)酵素医薬品研究所	271-0064	千葉県松戸市上本郷字仲原250
シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス(株)	141-8673	東京都品川区大崎1-11-1ゲートシティ大崎ウェストタワー
シスメックス(株)	651-2241	兵庫県神戸市西区室谷1-3-2
(株)シノテスト	101-8410	東京都千代田区神田駿河台3-7-9
(株)CGI	106-0041	東京都港区麻布台1-7-3 神谷町スクエアビル 8F
積水メディカル(株)	103-0027	東京都中央区日本橋2-1-3
セラビション・ジャパン(株)	220-0004	神奈川県横浜市西区北幸1-11-5 相鉄KSビル 9F
(株)テクノメディカ	224-0041	神奈川県横浜市都筑区仲町台5-5-1
テルモ(株)	163-1450	東京都新宿区西新宿3-20-2 東京オペラシティタワー 49F
デンカ(株)	103-8338	東京都中央区日本橋室町2-1-1
東京貿易メディシス(株)	191-0052	東京都日野市東豊田1-14-21
東ソー(株)	105-8623	東京都港区芝3-8-2
東洋鋼鈑(株)技術研究所	744-8611	山口県下松市東豊井1296
日水製薬(株)	110-8736	東京都台東区上野3-24-6 上野フロンティアタワー 20F
ニットーボーメディカル(株)	102-0083	東京都千代田区麹町2-4-1 麹町大通りビル
ニプロ(株)	531-8510	大阪府大阪市北区本庄西3-9-3
日本光電工業(株)	161-8560	東京都新宿区西落合1-31-4
日本電子(株)	100-0004	東京都千代田区大手町2-1-1 大手町野村ビル 13F
ノバ・バイオメディカル(株)	108-0073	東京都港区三田3-13-16 43 MTビル7F
バイオ・ラッド ラボラトリーズ(株)	140-0002	東京都品川区東品川2-2-24 天王州セントラルタワー
ビオメリュー・ジャパン(株)	107-0052	東京都港区赤坂2-17-7 赤坂溜池タワー 2F
日立化成ダイアグノスティックス・システムズ(株)	104-6004	東京都中央区晴海1-8-10
(株)日立製作所	110-0015	東京都台東区東上野2-16-1 上野イーストタワー 8F
(株)日立ハイテク	105-8717	東京都港区虎ノ門1-17-1 虎ノ門ヒルズビジネスタワー
富士フイルムメディカル(株)	106-0031	東京都港区西麻布2-26-30 富士フイルム西麻布ビル
富士フイルム和光純薬(株)三重工場	510-1222	三重県三重郡菰野町大強原2613-2
富士レビオ(株)	163-0410	東京都新宿区西新宿2-1-1 新宿三井ビル
古野電気(株)	662-0934	兵庫県西宮市西宮浜2-20
平和物産(株)	550-0012	大阪府大阪市西区立売堀1-3-13
ベックマン・コールター(株)	135-0063	東京都江東区有明3-5-7 TOC 有明ウエストタワー 13F
(株)ベリタス	105-0013	東京都港区浜松町1-10-14 住友東新橋ビル3号館 5F
(株)ヘレナ研究所	330-0061	埼玉県さいたま市浦和区常盤9-21-19
(株)堀場製作所	601-8510	京都府京都市南区吉祥院宮の東町2
(株)ミズホメディー	841-0048	佐賀県鳥栖市藤木町5-4
メルク(株)メルクミリポア事業本部	153-8927	東京都目黒区下目黒1-8-1 アルコタワー 5F
ラジオメーター(株)	140-0001	東京都品川区北品川4-7-35
ロシュ・ダイアグノスティックス(株)	105-0075	東京都港区港南1-2-70 品川シーズンテラス

(令和2年5月1日現在)

医療検査と自動化 Vol.45 Suppl.1

自動分析装置における反応タイムコースの基礎と活用事例

自動分析装置に搭載された
反応タイムコース機能を活用し
測定法の拡大と精度保証を行う
ノウハウをまとめた一冊！



■主な目次

Ⅰ．総論
1．タイムコースの概要
2．タイムコースによってわかること
3．タイムコース異常の検索の進め方
Ⅱ．各論
1．試薬メーカーにおけるタイムコースの利用法
2．生化学自動分析装置機器メーカーにおける
タイムコースの利用法
3．臨床検査現場（ユーザー）におけるタイム
コース活用事例

科学技術委員会 編

価格：2,000円＋税　送料別

一般社団法人　日本医療検査科学会
〒113-0033 東京都文京区本郷 4-2-5 MA ビル 6F　Tel. 03-3813-6635　Fax. 03-3813-6679
ホームページ　https://www.jcls.or.jp　e-mail : office@jcls.or.jp

編集後記

第45巻3号には，総説1編，原著3編，技術6編，症例2編が掲載されております。

総説は「微生物検査における自動化」です。安心・安全な医療の実践に不可欠な存在であるICTやAST活動を支援する微生物検査の迅速化を取り上げています。国際感染症対策，薬剤耐性（AMR）そしてCOVID-19が猛威を振るう今，大変タイムリーな総説です。

この「微生物検査の迅速化」の一翼を担う質量分析装置による同定検査における留意すべき点とその対策を服部らはその原著論文で述べています。質量分析装置による非病原性*Neisseria*属と*N.meningitidis*との誤同定は既に話題となっておりますが，本論文では改めて自験例により検討するとともに，各検査法の特徴を知り，その組み合わせにより総合的に判断する手順を病院検査室で整えることの重要性を説いています。質量分析装置に関する報告のもう一つは，日本臨床検査自動化学会遺伝子・プロテオミクス技術委員会MALDI-TOF MSワーキンググループから技術論文として掲載されています。この報告はMALDI-TOF MSによる日常業務での細菌同定における内部精度管理実施要領作成に繋がるとても濃い内容であります。

「翼状採血針における製品別の溶血率調査」は，検査前工程の重要な部分の一つである「採血」に使用する「翼状採血針」に関する原著論文です。製品規格に起因する製品間のズリ応力の違いが溶血に影響するとの仮説の下，臨床的検討に留まらず基礎的検討をも加えた研究であり，得られた知見は大変示唆に富んでいます。さらに，新たな機器試薬の性能評価に関する研究5編と第51回大会機器・試薬セミナー講演要旨4編には，その有用性と新規性が述べられておりますので是非ご一読ください。

最後に，この第45巻3号の順調な発行に携わって頂いた「医療検査と自動化」編集委員会事務局の皆さまに深謝いたします。

（盛田俊介）

「医療検査と自動化」編集委員会

編集委員長　高橋 聡
副編集委員長　石井潤一
編集幹事　村上正巳，盛田俊介，横田浩充
編集委員　阿部正樹，池田勝義，石井良和，磯部和正，渭原 博，氏家真二，大久保滋夫，岡野芳幸，長田 誠，萱場広之，栢森裕三，康 東天，澤部祐司，静 怜子，澁谷和俊，〆谷直人，白井秀明，清宮正徳，千本松孝明，竹越一博，通山 薫，中山智祥，永井正樹，南木 融，野村文夫，萩原三千男，春木宏介，菱沼 昭，日高 洋，藤巻慎一，松尾収二，松原朱實，三島清司，三橋知明，宮下徹夫，行正信康，和田隆志
英文校閲　S. Bernice Miwa

医療検査と自動化（日本医療検査科学会誌）

－Clinical Laboratory Science Journal－

第45巻　第３号（通巻 第250号）　2020年６月１日発行

発　行　一般社団法人 日本医療検査科学会
発行人　萱場広之
事務所　〒113-0033　東京都文京区本郷4-2-5
Tel.03-3813-6635　Fax.03-3813-6679
ホームページ　https://jcls.or.jp　　e-mail：office@jcls.or.jp

制　作　「医療検査と自動化」編集委員会
〒113-0033　東京都文京区本郷2-31-2
Tel.03-3818-3205　Fax.03-3818-6374
e-mail：t-gaku@gk9.so-net.ne.jp

送付先変更等の手続きのご案内
入会・送付先変更・退会のご用命は，本学会ホームページに記載しております「会員マイページ」より手続きが行えます。
補冊購入のご注文は上記学会事務所までE-mal・Fax・郵送にてご連絡下さい。