



cobas® pure integrated solutions
コンパクトなハイブリッドが、あなたの働き方を変えていく。



検査室により多くのことが求められるようになったいま、ロシユは検査における、あらゆる過程をシンプルにする新たなソリューションを開発。生化学・免疫検査をわずか2m²の設置面積に集約したcobas® pureは、生化学モジュールで最大42項目、免疫モジュールで最大28項目の同時測定を可能に。cobas® proとの標準化も実現したコンパクトなハイブリッドシステムが、スピーディで正確な診断に貢献し、あなたの働き方を変えていきます。

生化学・免疫統合型分析装置
cobas® pure integrated solutions 登場



製品の詳細はこちら



販売名: コバス pure 製造販売届出番号: 13B1X00201000087
販売名: コバス pro 製造販売届出番号: 13B1X00201000081

COBAS is a trademark of Roche.
©2022 Roche

ロシユ・ダイアグノスティクス株式会社
〒108-0075 東京都港区港南1-2-70
http://www.roche-diagnostics.jp
カスタマーソリューションセンター ☎0120-600-152

Find out more on
diagnostics.roche.com



一般社団法人 千葉県臨床検査技師会

千臨技会誌

Journal of Chiba Association of Medical Technologists

2024年号

通巻 144

目次

会費納入手続きのお願い

[会長あいさつ]	千臨技会誌発刊にあたって	綿引 一成	1
[総説]	検査室の災害対策への取り組み	小林 健	2
[研究班活動]	血液培養検査の基礎 虚血性心疾患の12誘導心電図3症例について	佐藤 万里	8
	血液型トラブルシューティング～予期せぬ反応を認めた場合～	飯塚 信義	20
		丹 麻美	25
[研究 学術奨励賞]	成人型顆粒膜細胞腫3例の細胞学的検討 「レボヘム™APTT SLA」の基礎的性能評価および 導入に伴うアドバイスサービスの変化	羽田 桃子	31
		荒井 祐香	37
[研究]	在宅医療廃棄物の廃棄と回収に関する施設間差の現状 －国立大学病院における「自己血糖などの針の廃棄に関する アンケート」調査の結果－	青木 杏未	46
	血液培養から <i>Dialister pneumosintes</i> が分離された一症例	土田 知央	51
	交通外傷を契機とした骨髄炎患者から <i>Fusarium falciforme</i> を検出した1例	深田 結妃	54
	パピニコロウ染色細胞診標本からのDNA抽出の試み	鈴木 宏	59
[編集後記]	64		

2024年号 通巻 144



一般社団法人 千葉県臨床検査技師会

新たなネットワークソリューション

Caresphere™

近年、病院などの医療機関では、世界的な情報化の進展などを背景に加速する効率化と品質強化への要求に応えるとともに、患者さんの多様なニーズに応える新しいサービスの創出が求められています。

シスメックスはヘルスケアテスティング企業としてCaresphere™を通じたシームレスなソリューションと蓄積された情報やノウハウを活用することで、新たなアプリケーションやサービスを展開し、世界中のお客さまが抱える課題の解決に貢献します。

Further Together ~この先も共に歩むために~

製造販売元

シスメックス株式会社

本社 神戸市中央区臨浜海岸通1-5-1 〒651-0073

(お問い合わせ先)

支店 仙台 022-722-1710 北関東 048-600-3888 東京 03-5434-8550 名古屋 052-957-3821 大阪 06-6337-8300 広島 082-248-9070 福岡 092-687-5380
営業所 札幌 011-700-1090 盛岡 019-654-3331 長野 0263-31-8180 新潟 025-243-6266 千葉 043-297-2701 横浜 045-640-5710 静岡 054-287-1707
金沢 076-221-9363 京都 075-255-1871 神戸 078-251-5331 高松 087-823-5801 岡山 086-224-2605 鹿児島 099-222-2788

日本東アジア地域本部 03-5434-8565

www.sysmex.co.jp



注：活動及びサイトの適用範囲は規模により異なります。
詳細は www.tuv.com の ID 0910589004 を参照。
Note: Scopes of sites and activities vary depending on the standard.
For details, refer to the ID 0910589004 at www.tuv.com

FUJIFILM

Value from Innovation

全項目反応時間 **10分** を実現

免疫検査は新たなステージへ



特長

- 全項目反応時間 10分
- サンプル量 10 μ L ~ 35 μ L
- 最大 24 項目ランダムアクセス処理
- 処理能力 180 テスト / 時間
- モノテスト試薬

医療機器届出番号 27B3X00024000015

Accuraseed

自動化学発光酵素免疫分析装置 Accuraseed

【製造販売元】

富士フイルム 和光純薬株式会社

〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号

【問い合わせ先】

臨床検査薬 カスタマーサポートセンター

Tel: 03-3270-9134 (ダイヤルイン)

会費納入手続きのお願い

会員の皆さまへ

一般社団法人 千葉県臨床検査技師会

- ★ 年会費の有効期間は4月から翌年の3月までです。
- ★ 会費は振替口座の登録により自動引き落としされます。

1. 継続会員の方

既に、振替口座を登録されている方は、本年度の年会費（日臨技 10,000 円＋千臨技 4,000 円）が自動引き落としされます。併せて、保険料を日臨技が負担し、「臨床検査技師賠償責任保険」ならびに「会務中（技師会に関連する行事を含む）の傷害保険」が、すべての会員の皆さまに付与されます。自動引き落としは例年2月末日前後になります。

未だ振替口座の登録をされていない会員は、日臨技ホームページから登録の手続きをお願いします。

2. 入会・退会・会員情報の変更

入会・退会・会員情報の変更をされる方は、日臨技・会員専用ページから行ってください。同ページから申請できない方は申請用紙をダウンロードして日臨技へ郵送ください。

①新入会・再入会の方

新入会、再入会を希望される方は、日臨技で手続きください。

入金確認をもって、登録完了となります。詳細は日臨技ホームページにて確認ください。

②退会される方

退会を希望される方は、会員異動届（退会届）を日臨技へ提出ください。令和7年1月下旬までに退会申請がされない場合、令和7年度会費が口座から引き落とされます。

JAMTIS（日臨技会員管理システム）上での申請も可能です。また、退会申請については期日の指定（例：令和6年度末、令和7年3月31日など）も可能です。

③会員情報の変更をされる方

JAMTIS の情報が千臨技会員名簿に反映されますので、氏名・自宅住所・勤務先・所属技師会・口座など変更があった場合は、必ず手続きください。（郵送物等が届かなくなることがあります）

3. 領収書について

領収書が必要な方は日臨技ホームページへアクセスして各自で発行ください。

4. 各種手続きの申請

各種手続きの申請は、日臨技または千臨技ホームページから行ってください。

日臨技：<https://www.jamt.or.jp/information/official/shinsei/taikai.html>

〈会費・退会手続き〉

千臨技：https://www.chiringi.or.jp/?page_id=962 〈千臨技とは⇒各種手続き〉

〈書類の郵送先〉 〒143-0016 東京都大田区大森北4丁目10番7号

一般社団法人 日本臨床衛生検査技師会 宛

5. お問い合わせ先

各種手続きについて：一般社団法人 日本臨床衛生検査技師会 03-3768-4722

口座登録等について：株式会社 メディックプランニングオフィス 0120-61-0020

その他について：一般社団法人 千葉県臨床検査技師会 043-265-9644

（千臨技事務局の対応は月～金曜日、10時～13時です）

千臨技会誌発刊にあたって

一般社団法人 千葉県臨床検査技師会
会長 綿 引 一 成

会員の皆様には、平素より一般社団法人 千葉県臨床検査技師会の運営・活動に対し、格別のご理解とご協力を賜り、心より感謝を申し上げます。

令和6年度（通巻144）千臨技会誌の発刊にあたり、ご挨拶を申し上げます。

昨年度に引き続き、会員の皆様の実務に直結する有益な情報をお届けすることを目指し、より一層充実した内容で本誌を発刊する運びとなりました。近年、臨床検査技術や医療現場の動向は日々進化しており、技術革新や新しい研究成果が次々と発表される中で、知識の共有と連携の重要性がますます高まっております。本会誌は、[総説] [研究] [症例報告] [研究班活動報告]などの学術的内容を柱としておりますが、本誌の大きな特徴のひとつは、特定のテーマに限定せず、多様な視点や幅広い内容を積極的に受け入れる姿勢にあります。医療現場で日々直面する課題や新たな発見、教育・指導の現場での工夫、さらには倫理的問題に至るまで、臨床検査技師として必要となる幅広い知識を網羅することを目指しております。会員の皆様が抱える疑問や発見を共有することで、技術や知識の蓄積が進み、会としての成長にもつながると確信しております。

これからも多くの皆様からの積極的な論文投稿や寄稿を心よりお待ちしております。加えて、長く続いた新型コロナウイルス感染症の影響が、感染症法上の5類へと移行したことで、社会全体が新たな段階へと進んでおります。当会でも、この動きを受けて対面での学会や研修会の開催を進めております。対面での交流は、単なる情報の伝達にとどまらず、人と人とが直接触れ合い、互いに刺激し合う場として、非常に意義深いものです。特に若手技師の皆様にとっては、多様な視点や知見を吸収する貴重な機会となり、臨床検査技術の深化とさらなる成長を促すものと考えております。こうした機会に積極的に参加いただき、未来の臨床検査分野を担う皆様の力を育てていくことが、会の発展にとって重要であると考えております。

本会は職能団体としての役割と学術団体としての活動を両立させ、これからも発展を目指します。そのためには会員・賛助会員の皆様のご理解とご支援が不可欠でございます。今後も当会の活動をともに支えていただけますようお願い申し上げます。

最後に、千臨技会誌の発刊にあたり多大なご協力をいただきました会誌編集委員会の皆様、貴重な論文を投稿いただいた会員の皆様、そして本誌の作成に携わったすべての方々に、心より感謝を申し上げます。

(令和6年12月)

検査室の災害対策への取り組み

安房地域医療センター 医療技術部臨床検査室
小 林 健

【はじめに】

2023年度の学術セミナーで発表した、当検査室の災害対策についての取り組みをご報告します。少しでも参考になれば幸いです。

内容に入る前に、千葉県臨床検査技師会 災害対策委員会について、少しご紹介させていただきます。千臨技災害対策委員会は2021年に発足しました。有事の際、被災された各施設の検査室稼働状況の把握や必要物資の援助など、千臨技として対応できることを検討し、運用化するため、現在千臨技災害対策マニュアルの作成に取り組んでいます。

【災害モードについて】

当院の災害モードのレベル分けは0から3までの4段階に設定しています。

- ・災害モードの発令（図1）

院長（またはその代行者）は、災害の程度、病院の被災状況を考慮し災害モードを発令。

- ・当院の災害モード（定義）

病院の倒壊やライフラインの状況を見てから、病院診療が継続可能であると判断された場合に発令されます。

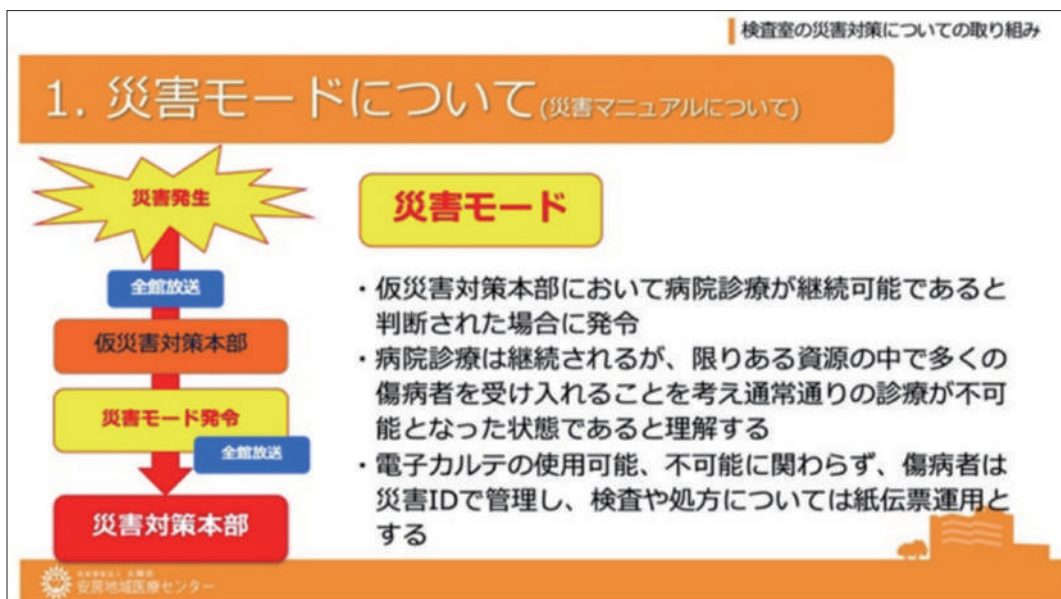


図1 災害モード

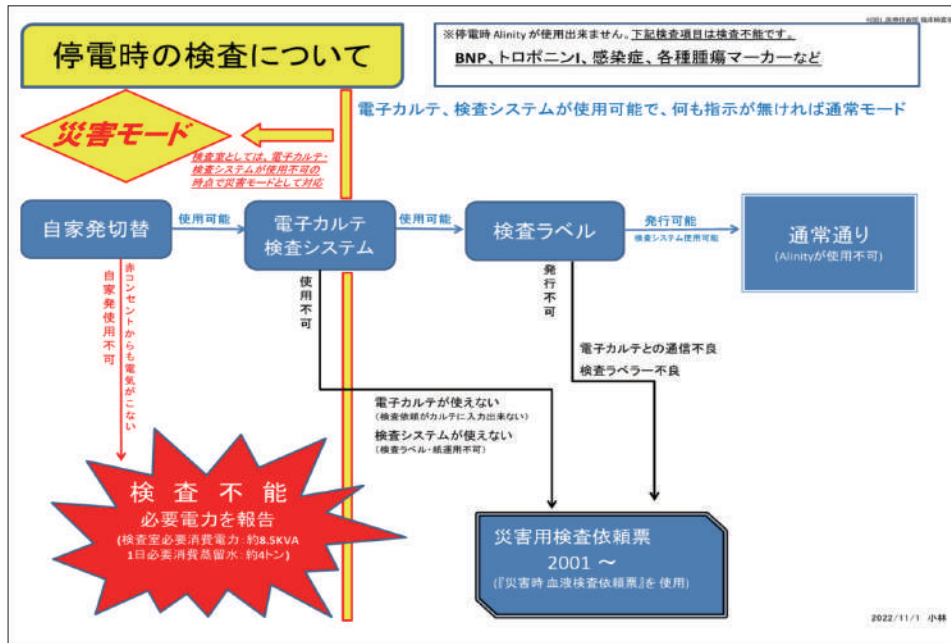


図2 当検査室の災害モード

・当検査室の災害モード（定義）（図2）

電子カルテ、検査システムが使用できない時点で発令。基本は当院の災害モード発令に準ずるが、検査室のローカルルールとして電子カルテ、検査システムが使用できない時点で、検査室の災害モード（紙運用）として対応します。

院内の災害モードを発令することで、災害対策本部が設置され、災害時の対応に切り替わります。この時点で、通常とは異なる災害時の意識が生まれます。

しかし全館放送や災害モードが発令されなければどうでしょうか？病院内にいても外の状況も分かりません。実際には被災状況に陥っていても、気づけない場合もあります。

災害と思わなければ、災害対応マニュアルも開きませんし、ちょっとした雨風くらいにしか感じないかもしれません。災害対応マニュアルを開けば、たとえ災害モードの発令がなくても、書かれてある通りに行うことで有事対応が行えます。

2019年の被災時にも、検査室の災害対応マニュアルは、作成されていました。そんな重要な

マニュアルを、災害時に活用できなかった事を反省点とし、まずはどういう時にマニュアルを開くのかを再検討しました。

- ・自宅周辺やテレビで見た被害を見て意識をもつ。
- ・通勤時に電柱や家の倒壊を目の当たりにして災害時という意識をもつ。

「災害時」という意識を持つきっかけはなんでも良いです。とにかく、今は災害時であり、日常とは違うという意識を持つことが大事です。そこで、有事の際に、災害対応マニュアルを開くということが、自分の意識を切り替えるには一番簡単で大事なツールだと考えました。普段から災害のことを考える必要はなく、どこに災害対応マニュアルがあって、どのタイミングで災害対応マニュアルを開くかだけを忘れないようにすれば、有事の際に「災害モード」としての意識を切り替えるスイッチとして役立てる訳です。

【災害対応マニュアルについて】

基本は病院の災害対応マニュアルに沿って記載してありますが、検査室に特化した内容が追記さ

られています。当検査室の災害対応マニュアルを紹介します。

- ・発災時から30分以内に行う即時行動。
 - ・発災時から60分以内に行う緊急行動。
- 災害時の行動として何を行えば良いかわかるよ

うにまとめられた、アクションカードがあります。災害時は、このアクションカードに書かれている内容に従って行動します。

まずは自分自身の安全確保を行い即時行動に移ります。(図3)

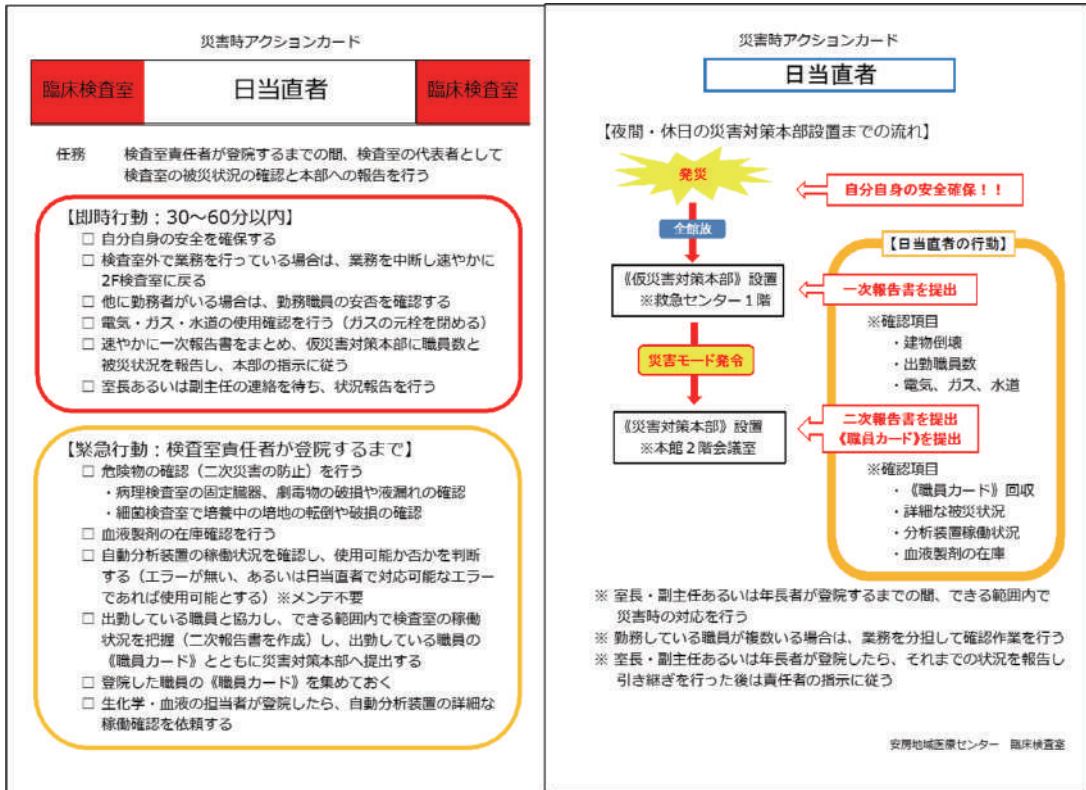


図3 アクションカード

・即時行動（災害発生の全館放送から30分以内にとるべき行動）

各スタッフは担当リーダーに職員カードを渡し、フロアの被災状況を報告します。

担当リーダーはスタッフから集めた被災状況と、出勤しているスタッフの数を、検査室責任者に報告します。検査室責任者は各担当リーダーから得た情報をまとめ、一次報告書を仮災害対策本部に報告します。責任者が仮災害対策本部に報告に行っている間に、残ったスタッフは、ホワイトボードを検査室中央に設置します。

・緊急行動（災害発生の全館放送から60分以内にとるべき行動）

災害モードが発令されれば、そのままホワイトボードを使用し、アクションカードに記載がある緊急行動を行います。避難の場合は、全て放置し避難を開始します。自動分析装置の稼働状況の確認、測定出来る検体数の確認、血液製剤の在庫数などを確認し、担当リーダーに報告を行います。報告を受けた担当リーダーは検査室責任者に報告します。(図4)

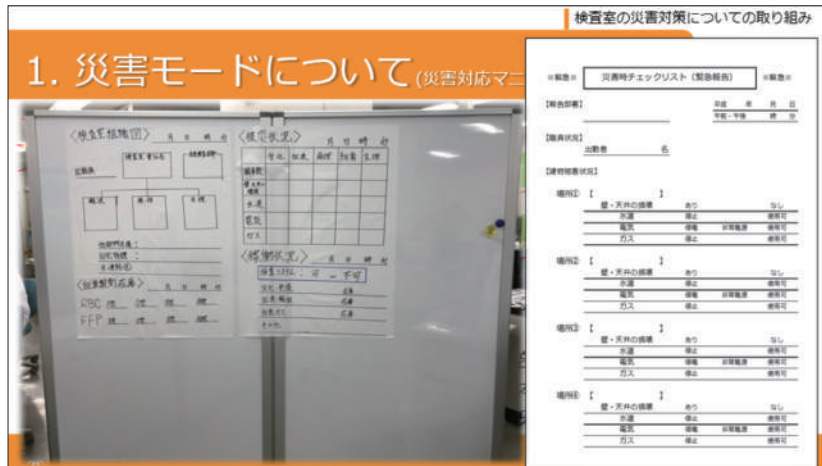


図4 状況確認

検査室の災害対応マニュアルには、院内災害マニュアルに沿った、災害時に何をすればよいのが記載されています。災害対応マニュアルに基づいた行動をとれば、災害時に何をすればよいかを覚えてなくても、考えなくてもよいです。(図5)

大事なものは、「災害対応マニュアル」がどこに

あって、利用するタイミングをみんなが周知しているか。」ということです。

【室内勉強会】

検査室の災害対策の取り組みとして、災害を経験した2019年より、「災害対策」をテーマに、毎年検査室内勉強会を開催しています。被災経験を

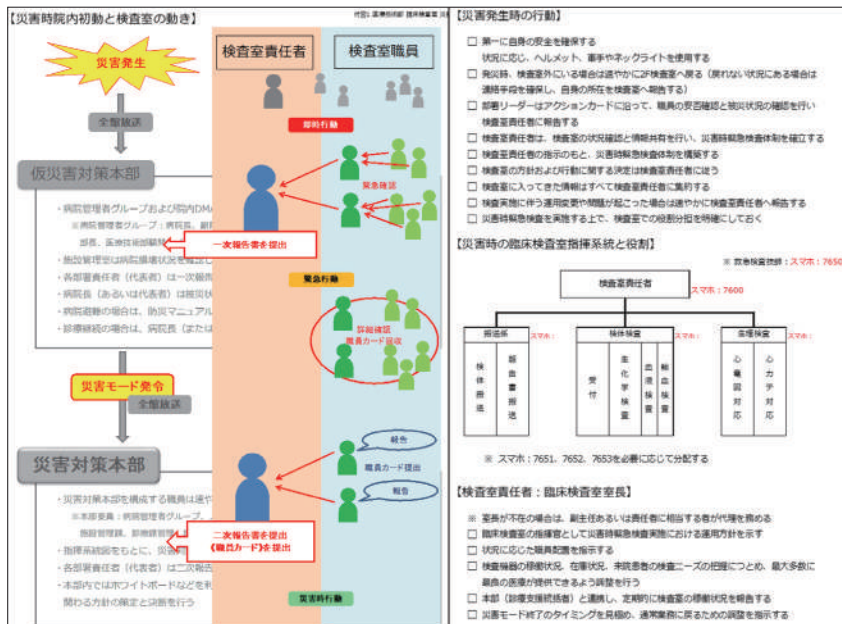


図5 災害マニュアル

経ても、年月が経てば人は必ず忘れます。毎年、災害対策の勉強会を開催することで、災害時の対応を忘れないように心がけています。

2019年：台風15号被災時の夜勤対応についての振り返りについて。

時系列で被災時の経験を共有しました。

2020年：コロナ禍ということもあり、動画での研修会を3回開催しました。

「基礎編」として、災害対応の原則CSCA（メディカルマネジメント）について。「実践編」として検査室の災害対応マニュアルについて。

そして最後に「応用編」として、「基礎編」と「実践編」の内容に基づいたクイズ形式で、視聴しているスタッフにも一緒にクイズを考えてもらえるような形を実施しました。（図6）

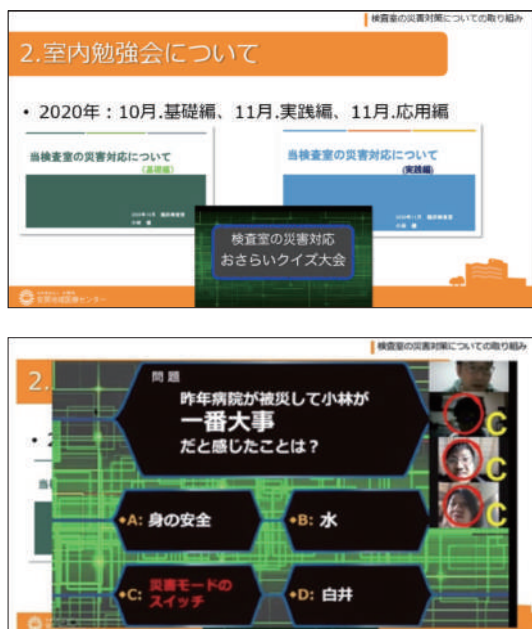


図6 室内勉強会

2021年：検査室の災害対応マニュアル改訂について。こちらも動画研修会で、前年度に災害対策についてスタッフからいただいた意見をもとに、検査室の災害対応マニュアルを改訂し、その改訂

内容を情報共有し、災害対応の原則CSCAの復習を行いました。

2022年：院内災害訓練について。動画研修会ではなく、久しぶりに集まって開催できました。院内災害訓練（机上訓練）の内容を、ドキュメンタリー形式の動画で振り返り、課題や問題点から災害対応マニュアルの改訂を行いました。

そして2023年度は、コロナ禍前のようにDMATの協力や行政との連携など、院内全体連携の災害訓練を実施できたので、その振り返りの話をしようと思っています。

2023年度の災害訓練は、毎年勉強会を実施している効果がでているのか、検査室の訓練は問題なく終わりました。

細かい部分での修正や変更点なども見つかり、今年度も災害対応マニュアルの改訂を行うところです。

【おわりに】

検査室の災害対応マニュアルを作成し、毎年改訂しています。毎年勉強会や災害訓練などで出た意見や課題を検討し取り入れています。災害対応マニュアルを開けば、何をすれば良いのか分かるようにしました。「災害対策について」の室内勉強会を毎年開催しています。「有事の際には災害対応マニュアルを開けば良い。」と、いったことを忘れないようにしています。

災害訓練には積極的に参加しています。

院内災害訓練の振り返りや反省点、今後の改善点などを参加者で話し合い、その内容はDMAT隊員が評価し、検査室内で内容が共有されるようにしています。

当検査室の災害対策として一番意識していること

- ・「災害モード」の切り替え

どれだけ訓練しても、どれだけ優れた災害対応マニュアルがあっても、活用できなければ意味がありません。

とにかく、今は災害時であり「日常とは違う」という意識を持たなければ、災害マニュアルを開くこともありません。

災害モードの発令がなくても、電子カルテが止まってしまったら、災害マニュアルを開くようにしています。(図7)

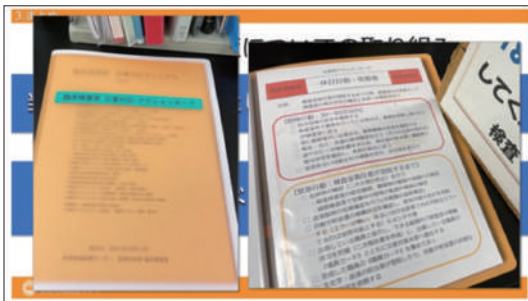


図7 災害マニュアルを開く

災害対応マニュアルを開けば、今は通常業務ではなく、災害時の対応を行なっている意識をもつようになります。そんな切り替えのスイッチとして、「災害マニュアルを開く」タイミングを検査室で決め、気持ちを切り替えるよう、毎年勉強会でも発信しています。

災害はいつ起きるか分かりません。

今日や明日にでも起きるかもしれません。来年、5年後、10年後。そんなにずっと災害のことばかり考えてられません。

災害対応マニュアルがどこにあって、どのタイミングで開くのかだけ覚えておけば、有事の際に「災害モード」に切り替わり、マニュアルを見ながら対応できると信じています。

完璧な災害対応マニュアルや災害対応に正解を

求めるのは難しいと思います。

被災経験から、災害対応マニュアルは、有事の際の「気持ちの切り替え」としては最適のツールだと考えています。

今回の私の話を聞いて、少しでも災害対策について興味が湧いたら、自施設の災害対応マニュアルを見返してみてください。どこにあって、どのタイミングで開くものなのか、確認していただくと幸いです。(図8)

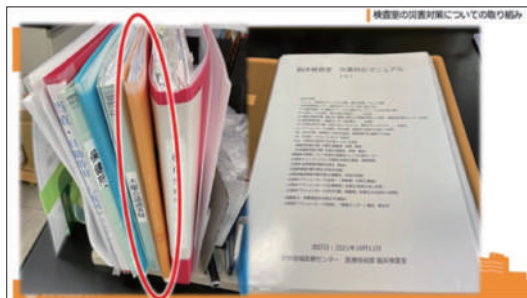


図8 災害マニュアルの場所

千葉県災害対策委員会としては、調整を重ね、段階を踏みながら進めていますが、今後は、千葉県臨床検査技師会として訓練の実施も考えています。その際は是非ともご協力のほど、よろしくお願いいたします。(2024年度：メールでの訓練を2回実施。ご協力ありがとうございました。)

最後に、2019年の台風で被災した際には、近隣の病院、千臨技理事の皆さま、そして多くの方から応援の物資や励ましの言葉をいただき、大変心強く感じました。

この場を借りて、感謝申し上げます。

本当にありがとうございました。

令和6年度第2回微生物検査研究班研修会

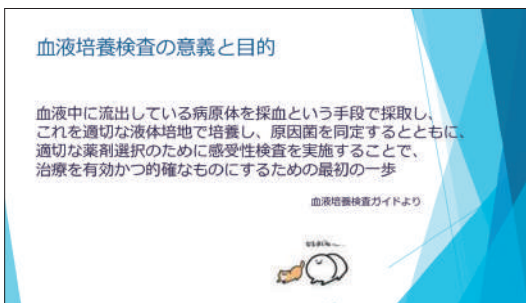
血液培養検査の基礎

千葉県こども病院 検査科
佐藤 万里



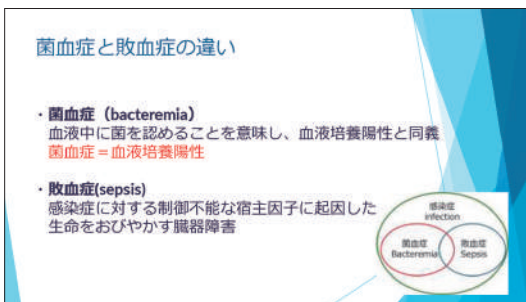
今年度9月14日～15日に開催された令和6年度第2回微生物検査研究班研修会（一泊研修）の内容を一部改訂して掲載します。

今回は血液培養の基礎について説明していきたいと思います。



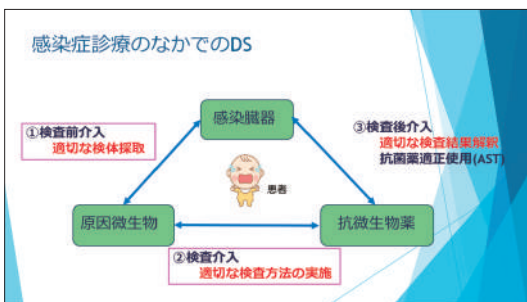
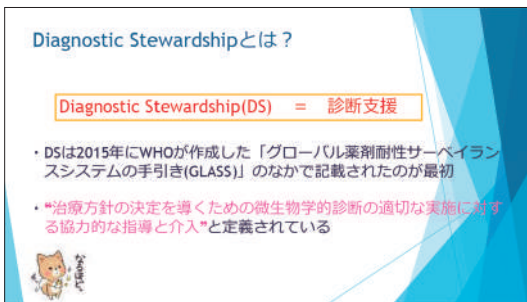
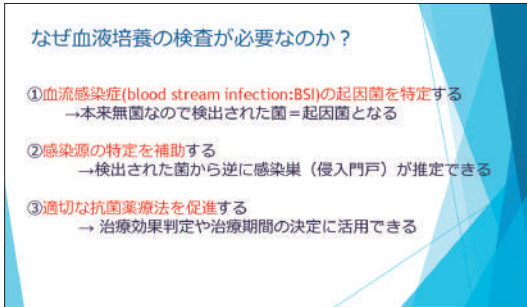
まず、血液培養検査の意義と目的です。

血液培養検査ガイドラインには、血液培養とは、血液中に流出している病原体を採血という手段で採取し、これを適切な液体培地で培養し、原因菌を同定するとともに、適切な薬剤選択のために感受性検査を実施することで、治療を有効かつ確なものにするための最初の一步と定義されています。



基本的な事項のおさらいですが、菌血症と敗血症は全く別の概念です。

菌血症とは、一過性あるいは持続性にかかわらず、血液培養で菌が検出され、血液中に菌が存在する状態で、血液培養陽性＝菌血症と考えます。敗血症とは、感染症に対する生体反応が調節不能な状態となり、重篤な臓器障害が引き起こされる状態を言います。



なぜ血液培養検査が必要なのか見ていきます。

1つ目が血流感染症の起因菌を特定するためです。

2つ目が原因菌の特定を補助するためで、特に、感染巣からの培養が難しい場合（蜂窩織炎、骨髄炎など）、唯一の起因菌を知る手掛かりとなる場合があります。

3つ目が適切な抗菌薬療法を促進するためで、患者の予後にも大きく影響します。

今回、DSに絡めて進めていきたいと思います。

まず、Diagnostic Stewardship (DS) とは診断支援と訳されます。近年、薬剤耐性菌による感染症が問題となっており、その対策として抗菌薬の適切な使用が必須とされ、Infection Control Team (ICT：院内感染対策チーム)に加え、Antimicrobial Stewardship Team (AST：抗菌薬適正使用支援チーム)による活動が実施されるようになりました。ASTを成功に導くためには、正確な病原体の検出など診断精度が重要であり、DSの実践も必要となります。DSは2015年にWHOが作成した「グローバル薬剤耐性サーベイランスシステムの手引き」のなかで記載されたのが最初で、治療方針の決定を導くための微生物学的診断の適切な実施に対する協力的な指導と介入と定義されています。

DSの主な目的は、適時に微生物学検査結果に基づいた、安全で効果的かつ効率的な治療の提供および、治療ガイドラインと薬剤耐性菌制御のための正確な疫学データの提供にあります。

DSにおける介入は検査前・検査・検査後の3つに大別されます。

まず1つ目が検査前プロセスの管理、介入です。正確な検査結果を得るために、最も重要なことは、検体採取の対象となる患者の選定と適切な検体採取です。

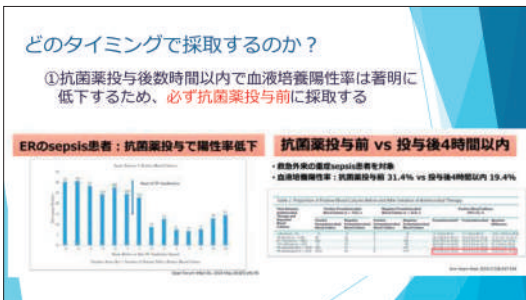
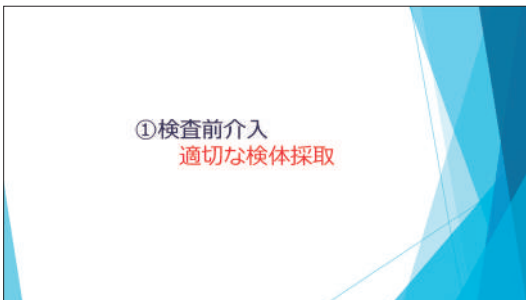
2つ目は、検査プロセスの管理、介入で、検査室内における検査の質の担保があり、検査個々の精度管理と迅速な検査方法の活用がこれに該

当します。

3つ目が、検査後プロセスの管理、介入で、随時、適切なタイミングで診療側に報告することが重要です。また、その報告内容に関しても、受け手側が理解しやすく抗菌薬の選択に有用なものになればなりません。

今回は、①の検査前介入、②の検査介入について説明していきます。

はじめに、検査前介入の適切な検体採取について説明していきます。



血液培養を採取するタイミングについて、まず1つ目が血液培養に限ったことではありませんが、検体採取は抗菌薬投与前に行うことが大原則です。

A slide titled "②発熱時・非発熱時でも菌血症を示唆する所見があるとき". It contains a list of symptoms and signs:

- 菌血症を示唆する症状
- 高熱、低体温(36℃以下)
- 悪寒、寒戦、悪寒、寒気
- 頻脈
- 低血圧
- 頻呼吸
- 意識障害、不穏、興奮
- 白血球増加(左方移動)、説明のつかない顆粒球減少
- 説明のつかない代謝性アシドーシス
- 体調の変化をきたした高齢者
- 腎不全、糖尿病、免疫抑制患者の発熱や変動時

Below the list is the heading "③感染臓器が明らかでも重篤な局所感染症の時" followed by examples: "ex)髄膜炎、心内膜炎、肺炎、腎盂腎炎、腹腔内膿瘍など".

2つ目がスライドに示したような、菌血症を示唆する所見があるときです。

3つ目が感染臓器が明らかでも、髄膜炎や心内膜炎などの重篤な局所感染症の時です。

どこから採取する？

- ①通常は皮膚常在菌の少ない末梢静脈穿刺を推奨
- ②下肢、特に鼠径部からの採取はできるだけ避ける
- ③CV（中心静脈）カテーテルからの採血はコンタミ率が高いので単独は避ける
- ④CVカテーテル感染を疑うときは、カテーテルから1セット、末梢から1セット採取する

採取する部位については、通常は皮膚常在菌の少ない末梢静脈穿刺が推奨されています。動脈血からの穿刺でも検出感度に差はないとされています。

CVカテーテル単独の採血はコンタミネーション率が高いため、カテーテルと末梢からそれぞれ1セットずつ採取します。

* 主な皮膚消毒薬 *

消毒薬	利点	欠点	消毒効果持続時間
クロルヘキシジン グルコン酸塩アルコール	持続性+即効性	高コスト	◎
ポビドンヨード	持続性	乾燥するまで時間がかかる	○
消毒用アルコール	即効性	迅速な穿刺が必要	×

血液の汚染を避けるため、各消毒薬の特徴を理解し、適切な方法で消毒を行う必要がある

血液の汚染を避けるために、注射や血液検査目的の穿刺時よりも厳格に皮膚を消毒しなければなりません。各消毒薬によって、血液培養の汚染率に違いがあるため、消毒薬の選択には十分な検討が求められます。

必要な採血量は？（成人）

- ・成人では**1セットあたり20mL**
(好気ボトル1本10mL+嫌気ボトル1本10mL)
- ・採血量の管理
血液量 (mL) = (接種後の重量 (g) - 接種前の重量 (g) - 患者ラベL0.2g + キャップ0.4g) ÷ 1.050 (標準的な血液比重)
- ・分注は**嫌気ボトル→好気ボトルの順**に行う
- ・十分量が採取出来なかった場合、**好気ボトルに最適分量注し**培養を行う

陽性率向上にはボトルに接種する血液量が重要で、成人の場合の必要な採血量は、1セットあたり20~30mL必要になります。血液量の測定はスライドに示した式で求めることができます。

嫌気ボトルに空気がたくさん入ると、酸素の存在を嫌う偏性嫌気性菌の発育が阻害される可能性が増大するため、嫌気ボトルに空気が入らないよう、血液を分注するときは嫌気ボトルから好気ボトルの順で行います。

十分量が採取出来なかった場合、好気ボトルに最適分量注し培養を行います。これは嫌気性菌の血流感染は5%前後と少なく、嫌気性菌以外の真菌も含めた起因菌の多くは好気ボトルで培養が可能ためです。

必要な採血量は？（小児）

小児の場合、体重から推測される**全血量の2.5～4%**、**循環血液量の1%以内を目安にすることが推奨される**

表3 Casbachゴイロラインで示されている採血量

年齢	年齢別採血量 (ml)	1歳未満	2歳未満	3歳未満	4歳未満	5歳未満	6歳未満	7歳未満	8歳未満	9歳未満	10歳未満
0歳	100-200	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
1歳未満	200-300	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
1歳～2歳	300-400	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
2歳～3歳	400-500	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
3歳～4歳	500-600	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
4歳～5歳	600-700	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
5歳～6歳	700-800	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
6歳～7歳	800-900	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
7歳～8歳	900-1000	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
8歳～9歳	1000-1100	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
9歳～10歳	1100-1200	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

表4 Mono Clonin の文獻で示されている採血量

年齢	年齢別採血量 (ml)	1歳未満	2歳未満	3歳未満	4歳未満	5歳未満	6歳未満	7歳未満	8歳未満	9歳未満	10歳未満
<1歳	100	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
1歳～2歳	200	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
2歳～3歳	300	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
3歳～4歳	400	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
4歳～5歳	500	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
5歳～6歳	600	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
6歳～7歳	700	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0
7歳～8歳	800	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0
8歳～9歳	900	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
9歳～10歳	1000	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0

小児や乳幼児の場合、体重から推測される全血量の2.5～4%を目安に採取することが推奨されます。

BACTEC 血液培養ボトル (日本BD)

ボトルの種類	培養液	接種可能な血液量	検出対象菌	特徴
22F 好気用レズンボトル	30mL	0～10mL	3～10mL	菌性好気性菌・嫌気性菌・真菌
22F 嫌気用レズンボトル	30mL	0～10mL	3～10mL	菌性好気性菌・嫌気性菌・真菌 レズン粒の感知により、抗菌薬などの毒害、検出率の向上、検出時間の短縮に効果
20F 小児用レズンボトル	40mL	1～3mL	0.5～5mL	菌性好気性菌・嫌気性菌・真菌 少量の採血量で培養可能
21F 溶血タイプ哺乳用ボトル	40mL	0～10mL	3～10mL	菌性好気性菌・嫌気性菌・真菌 血液を溶血させることで、白血球に貪食された細菌を培養液中に遊離させ、検出率の向上や検出時間の短縮に効果
真菌・抗酸菌用ボトル (マイコフ)	40mL	3～5mL	1～5mL	真菌・抗酸菌 抗酸菌用培養剤の Middlebrook 7H11 増強と BrainHeart 抽出液を生成分とした増強剤。菌球を増強させることで、白血球に貪食された菌を培養液中に遊離させる。検出率の向上や検出時間の短縮に効果

各メーカーごとのボトルを見ていきます。日本BDのBACTEC用ボトルです。

ボトルに含まれたレズンは、血液中に残存する抗菌薬を吸着し、微生物の検出能を向上させています。溶血タイプの嫌気ボトルは、ボトルに含まれるサポニンにより血液を溶血させることで、菌の発育促進が期待できます。

BACT/ALERT 3D・VIRTUO 血液培養ボトル (バイオメリュー)

ボトルの種類	培養液	最大接種可能な血液量	検出対象菌	特徴
SA 培養ボトル (好気用)	40mL	10mL	10mL	菌性好気性菌・嫌気性菌・真菌 トリゾラーズゾイ増強剤をベースとした組成
SR 培養ボトル (嫌気用)	40mL	10mL	10mL	菌性好気性菌・嫌気性菌・真菌
FA Plus 培養ボトル (好気用)	30mL	10mL	10mL	菌性好気性菌・嫌気性菌・真菌 カゼインペプトンを主成分とした組成。増強剤がポリマービーズが凝集剤の中心として含有されており、微生物の検出率を向上させる
FN Plus 培養ボトル (嫌気用)	40mL	10mL	10mL	菌性好気性菌・嫌気性菌・真菌 増強剤の中心として含有されており、微生物の検出率を向上させる
PF Plus 培養ボトル (小児用)	30mL	4mL	4mL	菌性好気性菌・嫌気性菌・真菌 ペプトンを主成分とした組成。増強剤がポリマービーズが凝集剤の中心として含有されており、微生物の検出率を向上させる

バイオメリューのBACT/ALERT用のボトルです。吸着ポリマービーズは抗菌薬の中和剤として含有されており微生物の検出率を向上させます。

Versa TREK 血液培養ボトル (バックマン・コールター)

ボトルの種類	培養液	接種可能な血液量	検出対象菌	特徴
Radxa 1好気用ボトル	80mL	10mL	0.1～10mL	菌性好気性菌・嫌気性菌・真菌 培養液の高い増強剤で、トルネード増強剤の採用により広範囲の微生物を検出可能。0.1mL～10mLの採血量の小児用・真菌用ボトルを必要とし、血液と増強剤の比率を1:1にすることでより着効効果で培養の促進を促す
Radxa 2嫌気用ボトル	80mL	10mL	0.1～10mL	菌性好気性菌・嫌気性菌・真菌
	40mL	5mL	0.1～5mL	菌性好気性菌・嫌気性菌・真菌
	40mL	5mL	0.1～5mL	菌性好気性菌・嫌気性菌・真菌

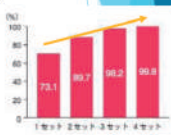
バックマン・コールターのVersa TREK用のボトルです。

他社との大きな違いは、採血量が0.1mlから対応可能なため、小児・真菌用ボトルを必要としません。

抗菌薬吸着材入りボトルも用意されていませんが、血液接種量が少ないため培養液での希釈効果により抗菌薬の影響を抑えています。

必要なセット数は？

- ・2セット以上で血流感染症診断の感度が高い
→診断および結果の解釈に影響する
- ・菌血症は間欠的で常時血液中に菌がいるわけではない
→1セット採取だと見逃す可能性がある
- ・1セットのみの場合、培養された菌が
コンタミor真の感染かどうかの判断が困難
- ・感染性心内膜炎や血栓性静脈炎などの持続性菌血症
の可能性が高いときは、3セット以上必要



血液中の細菌の検出感度を上げること、起因菌がコンタミネーションかの判断材料になるため、血液培養検査は2セット以上の採取が原則です。感染性心内膜炎など持続性菌血症の可能性が高いときは24時間以内に3セット以上の採取が推奨されています。

②検査介入 適切な検査方法の実施

次に、検査介入の適切な検査方法の実施について説明していきます。

①BACTEC FX システム（日本BD）



測定原理 CO₂蛍光センサー（一般細菌用ボトル）

微生物の増殖により発生したCO₂により、培養液のpHが中性→弱酸性に変化
ボトル底部のセンサーがpHの変化を感知し、センサーから蛍光が励起される
蛍光検出センサーが感知し、陽性サインを発する

各メーカーごとの機器の原理を見ていきます。日本BDのBACTEC FXシステムは一般細菌用ボトルでは、CO₂センサーが採用されています。ボトル内の微生物の増殖により発生したCO₂量によりセンサーの蛍光量が増加し、蛍光の強度を10分ごとに測定し、経時的変化を数値解析し、アルゴリズムにより陽性・陰性の判定を行います。

②BACT/ALERT 3D・VIRTUO（バイオメリュー）



測定原理 CO₂センサー

微生物の増殖により発生したCO₂により、培養液のpHが酸性に変化
ボトル底部のセンサーのpHを変化させる（灰緑→黄）
LEDと光検出器により測定される反射光量により陽性サインを発する

バイオメリューのBACT/ALERTでは、すべてのボトルで、CO₂センサーが採用されています。微生物の増殖によってCO₂が産生されると、ボトルの底部に取り付けられたガス透過性センサーの色が変化し、反射率が増加します。ボトルの反射率を10分ごとにモニタリングし、これらのボトル測定が最初のセンサー測定値と比較されアルゴリズムを使って分析され、陽性・陰性の判定を行っています。

③Versa TREK (ベックマン・コールター)

測定原理
ボトル内ヘッドスペースによるガス圧の測定

ボトル内で微生物が増殖するとO₂が消費されCO₂、N₂、H₂が産生される。このガス圧の変化をヘッドスペースのセンサーで感知し、陽性ボトルを検知する。



ベックマン・コールターのVersa TREKです。前の2つの機器が菌発育に伴うCO₂産生による培養液のpH変動により陽性を検知していましたが、Versa TREKは菌が発育する際に消費するO₂や、産生するCO₂、N₂、H₂に伴うボトル内ヘッドスペース部分の圧力変動を感知します。好気ボトルでは12分ごと、嫌気ボトルでは24分ごとにガス圧を測定し、独自のアルゴリズムにより陽性・陰性の判定を行っています。

適切な血液培養検査の実施

- 検査件数や2セット採取率、血液量、陽性率、コンタミネーション率の定期的なモニタリングが重要
- 部署別に集計して毎月報告するなど、フィードバック方法も重要

血液培養が適切に実施されているかどうかを評価する指標として、検査件数や陽性率などが用いられます。また、集計結果を部署ごとにフィードバックすることが重要でその方法も重要となります。

<検査件数>

1,000 patient-daysあたりの提出数
 = 各年度の全採取セット数 ÷ 在院患者延数 × 1000

推奨値：103~188件 ⇒ 日本だと25.2(10.4~64.2)が目安

新入院数1,000人あたりの提出数
 = 各年度の全採取セット数 ÷ 新入院数 × 1,000

推奨値：587.1~1,071.6件

図 56 1,000患者日あたりの血液培養検査提出数の分布

1000 patient-dayあたりの提出数は、血液培養が必要な患者からもれなく採取しているかを評価する指標です。推奨値は米国微生物学会のガイドラインでは103~188件となっていますが、日本では在院日数が米国よりも3倍長いとされており、推奨値から大きく乖離してします。日本では本邦6施設の2019年の数値が10.4~64.2、国公立大学2020年の数値が13.0~55.3となりこの辺りが参考値となります。

<複数セット採取率>

血流感染症の正確な診断に寄与する精度管理としての指標
 ※小児は除く

複数セット採取率
 = (全採取セット数 - 1セット採取数) / 全セット数 × 100 (%)

図 57 血液培養複数セット率の分布

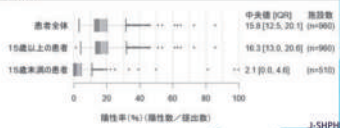
複数セット採取率は血流感染症の正確な診断に寄与する指標になります。ただし、小児では採取セット数よりも採血量が優先されるため除外されます。複数セット採取率が90%を超える医療機関では、臨床評価によるコンタミネーション率と大差ないことが報告されています。

<陽性率>

陽性率は、血液培養の採取のタイミングに関する適正さを測る指標
血液培養ガイドラインでは陽性率5～15%が適切とされている

$$\text{陽性率} = \frac{\text{陽性セット数}}{\text{全採取セット数}} \times 100 (\%)$$

図 59. 血液培養陽性率の分布



J-SHPHC 年報2022より

陽性率は、血液培養の採取のタイミングに関する適正さを測る指標で、5～15%が適切とされています。陽性率5%以下の場合、過剰に検査を実施している、また陽性率が15%以上の場合、かなり疑わしい症例のみしか実施していない、つまり見逃されていると評価します。

<汚染率>

汚染率は、血液培養を採取するスタッフの教育や採血環境の整備などを評価する指標

これは血液培養の複数セット採取率が90%以上の時に有効とされる血液培養ガイドラインでは汚染率2～3%が適切とされている

$$\text{汚染率} = \frac{\text{汚染菌1セットのみ陽性検体数}}{\text{全採取セット数}} \times 100 (\%)$$

図 59. 血液培養汚染率の分布



J-SHPHC 年報2022より

汚染率は、血液培養の採取するスタッフの教育や採血環境の整備などを評価する指標で、2～3%が適切とされています。汚染率が高い場合は皮膚消毒薬の見直しなどの対策が必要になります。

培養日数は何日必要？

・血液培養では多種多様な菌種が発育するため、**最低5～7日の培養期間が必要**

・臨床重要な細菌のうち、5日間で検出できなかったのは、わずか0.5%に過ぎなかったとの報告がある

・施設の装置のキャパシティと検体数の関係で培養日数を検討する

Cadarette PFPL et al. Clin Infect Dis 2012;54:1730-35

培養日数は、最低5～7日間必要になります。5日間で起病菌が検出できなかったのはわずか0.5%であったことから、施設ごとの装置のキャパシティと検体数の状況を見ながら培養日数の検討を行う必要があります。

* 延長培養が必要な場合 *

- ・感染性心内膜炎が疑われる場合
- ・発育困難な菌が検索菌種になっている場合

<i>Helicobacter cinaedi</i>	<i>Caralobacterium</i> spp.
<i>Francisella</i> spp.	<i>Mycobacterium</i> spp.
<i>Brucella</i> spp.	<i>Nocardia</i> spp.
<i>Bartonella</i> spp.	<i>Legionella</i> spp.
<i>Aggregatibacter</i> spp.	<i>Campylobacter</i> spp.
<i>Candida glabrata</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>

→その他、医師から依頼があった場合など10日間～2週間程度培養を行う

延長培養が必要な場合には、感染性心内膜炎が疑われる場合や、発育困難な菌が検索菌種になっている場合などが挙げられます。

その場合、10～14日程度培養期間を延長します。

血液培養が陽性になったら・・・
まずはじめに確認してみよう！！

①培養陽性までの時間は？

- ・陽性ボトルを取り出す場合、培養陽性までの時間を記録しておく
⇒一般細菌：約8～24時間以内
酵母様真菌・嫌気性菌：24～72時間
- ・重症敗血症であれば血液中の菌量が増加傾向のため陽性化時間は短縮傾向になる

ここからは血液培養が陽性時になった時にどのようなところに気を付けるべきかを説明します。

1つ目が培養陽性までの時間です。

一般細菌の場合、多くが24時間以内に陽転化します。劇症型の敗血症では3～5時間ほどの短時間で陽転化し、軽症例や抗菌薬投与がある場合は通常より延長傾向を示します。

②ボトルが溶血しているか？



<溶血を示す主な菌種>
・ GAS
・ GGS
・ *B. cereus*
・ *C. perfringens* etc

- ・血培ボトル内の溶血が容易に観察できる場合、菌種の推定の大きなヒントになる



2つ目がボトルに溶血が見られるか確認します。ボトルを取り出した際、赤ワインのような色調として溶血が認められることがあります。

β 溶血性のレンサ球菌などで観察され、菌種の推定に大きなヒントになります。

③ガスを産生しているか？



陽性ボトルから、検体を採取する際、穿刺したシリンジの内筒が押し戻されることがある。腸内細菌はブドウ糖を発酵し、酸とガスを産生するため、ボトル内でも同様の現象が起きる。

<ガス産生を示す主な菌種>
・ほぼすべての腸内細菌
・ *C. perfringens* etc

3つ目がガスを産生しているかどうか確認します。

陽性ボトルから検体を採取する際、シリンジの内筒が押し戻される場合ガス産生ありと判断します。腸内細菌などでよくみられます。

臨床側に報告するときは・・・

グラム陽性球菌 ⇒ ブドウ球菌 or 連鎖球菌

グラム陰性桿菌 ⇒ 腸内細菌 or 緑膿菌

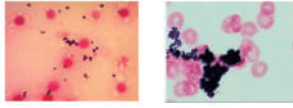
また、「昨日採取された血液培養2セット中1セットから、好気ボトルのみ陽性」などより詳しい報告が求められる

その菌名から、empiricに使用した抗菌薬の変更や追加が必要かを評価することができる

臨床側に報告する際は、グラム陽性球菌の場合は、ブドウ球菌かレンサ球菌か、グラム陰性桿菌の場合は、腸内細菌か緑膿菌かを鑑別して報告するようにしましょう。

また、いつ採取された検体なのか、何セット中何セットが陽性になったのかより詳しく臨床側に報告するようにしましょう。

①グラム陽性球菌 (*Staphylococcus*)



<迅速報告するために>

- 遊離コアグラゼ直接法
- MRSA培地・MDRS-K培地追加
- CFX (セフォキシチン) ディスクを置いて培養

※MPLPC(オキサシリン)はディスク法では信頼性に欠けるため利用しない

- PCRでメチシリン耐性の確認

菌ごとの特徴を見ていきます。

ブドウ球菌はブドウの房状、塊状、四連球菌状、双球菌状などの配列を示します。

特に、好気ボトルの場合には巨大なクラスターを形成し、菌体も大きく観察されることが多いです。

MRSAとの鑑別が重要で、サブカルチャーの段階で、MRSA培地を使用したり、セフォキシチンディスク置いて培養を行います。

また、PCRでメチシリン耐性遺伝子を検出する方法もあります。

②グラム陽性球菌 (*Streptococcus*)



<迅速報告するために>

- BC (バシトラシン)・OPT (オプトヒン) ディスクを置いて培養
- 尿中抗原のキットを使用 (ボトル内容物の上清を使用)
- Lancefieldの血清型別試験を実施 (ボトル内容物の上清or沈澱を使用)

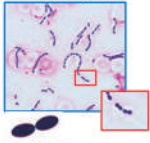
レンサ球菌は数珠状のきれいな弓なりの連鎖状の配列を示すことが多いです。

強い溶血性から、背景の赤血球が溶血していることにも注目してみてください。

サブカルチャーの段階でオプトヒンディスクを置いて培養します。また培養液を用いて、尿中肺炎球菌のキットやLancefieldの血清型試験を行って簡易同定することもできます。

③グラム陽性球菌 (*Enterococcus*)

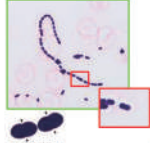
Enterococcus faecalis



peanut sign(-)

→ペニシリン系薬が有効

Enterococcus faecium



peanut sign(+)

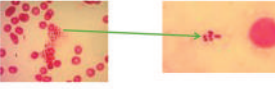
→ペニシリン系薬耐性
⇒VCMを提案

※ 検査法 細菌培養 93 - 306 - 311 - 2019

*Enterococcus*は肺炎球菌と類似の形態ですが、莢膜を認めないこと、ボトル内の溶血を認めないことが鑑別に挙げられます。

*E.faecium*は*E.faecalis*と比較して丸い形態が特徴で落花生の殻のように菌体の中央両側に連鎖軸と直行する対称性の切痕が確認でき、これは落花生サイン=peanut signありと判断します。*E.faecium*はペニシリン系薬耐性であることから臨床側にはバンコマイシンを提案します。

④グラム陰性桿菌 (*Enterobacteriales*)



しっかりとグラム陰性に染まる
両端が直線的で長方形の形となる

<迅速報告のために>

- ・CMZ (セフメタゾール)、CTX (セフトキシム)、MEPM (メロペナム) ディスクを置いて培養
- ・ESBL培地・カルバペナム耐性菌スクリーニング培地追加
⇒鑑別培地を使用し発育を確認して、耐性菌が疑われる場合は
感受性試験と同時に確認試験を実施
- ・PCRでESBLやCPE等の耐性遺伝子の確認

腸内細菌はしっかりとグラム陰性に染まり、両端が直線的で長方形な形となるのが特徴です。

検出菌がESBLやCREなどの薬剤耐性菌である可能性もあることから、サブカルチャーの段階でディスクを置いて培養したり、鑑別培地を併用します。

また、PCRで耐性遺伝子を検出する方法もあります。

⑤グラム陰性桿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)

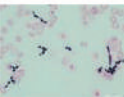


- ・腸内細菌と比較して、小さく細く、スレンダーで硬い感じの形態が特徴
- ・好気ボトルのみに発育がみられ、集塊を作る傾向がある
- ・生標本の運動性の確認が有用

緑膿菌は腸内細菌と比較して、小さく細く、スレンダーで硬い感じの形態が特徴です。

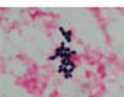
また、好気ボトルのみに発育が見られ、集塊を作る傾向があります。

⑥*Candida albicans*



- ・グラム陽性に染まり、酵母様形態と仮性菌糸を認める
- ・好気ボトルのみに発育がみられる

⑦*C. glabrata*




- ・やや小ぶりのグラム陽性に染まる酵母として観察される
- ・嫌気ボトルでも発育が可能
- ・仮性菌糸を形成しない

*C. albicans*はグラム陽性に染まり、酵母様形態と仮性菌糸を認めます。また好気ボトルのみに発育が認められます。

*C. glabrata*はやや小ぶりのグラム陽性に染まり、仮性菌糸は形成しないのが特徴です。また、嫌気ボトルでも発育可能です。

<Candida が検出されたら>

- ・Candida眼内炎の合併がないかどうかの評価が必要のため眼科コンサルテーションを行うよう臨床に伝える
- ・Candida 培地での同定は一部困難なため、質量分析などで同定を行う



播種性カンジダ症では20～50%に網膜炎や眼内炎を合併するため、血液培養でCandidaが検出されたら、視覚症状がなくても必ず眼底を検査する必要があるため、眼科コンサルテーションを行うよう臨床に伝えましょう。

同定には、簡易推定が可能な酵素基質培地が広く利用されていますが、血液などの無菌材料からCandidaを検出した場合には同定キットや質量分析などを利用してしっかりと同定する必要があります。

偽陰性 考えられる原因

- ・ボトルへの血液接種後、血液培養装置へのセットが遅れた場合
→採取後2～4時間以内に装置へ装填
- ・ボトルへの接種血液量の不足または過剰接種
- ・抗菌薬使用による血液の発育阻害
- ・抗菌薬以外の薬剤による発育阻害
- ・EDTA、ヘパリン、クエン酸などの抗凝固剤入りの採血管で採血した血液を培養ボトルに接種した場合
- ・培養ボトルに添加されている抗凝固剤SPSによる細菌の発育阻害

血液培養で偽陰性の原因はスライドに示した通りです。

長時間放置され、菌の増殖が進んだボトルは装置にセットしても陽性と認識しないため、ボトルに血液を接種したら、2～4時間以内に装置にセットしましょう。

また、ボトルへの採取量が不足している場合、培養陽性までの時間の延長や検出感度の低下を招きます。

偽陽性 考えられる原因

- ・白血球数が多い場合
- ・血液疾患患者（特に白血病患者）
- ・ボトルへの接種血液量が過剰な場合
- ・抗菌薬以外の薬剤の影響
- ・肺炎球菌の発育と自己融解酵素による菌の消失
- ・血液培養装置周囲の温度異常
- ・血液培養装置の電源供給回路の不安定

偽陽性の原因はスライドに示した通りです。

白血球数が多い場合、ボトル内の酸素を白血球などの細胞が消費することで偽陽性を招きます。

偽陽性かな？と思ったら・・・

- ・菌量が少ない、または染色性が悪い菌 (*Campylobacter* spp.、*Helicobacter* spp.、*Fusobacterium* spp.、*Brucella* spp.、*Legionella* spp. 抗酸菌) の可能性があるため、培養液を遠心し、沈査で再度グラム染色を行う
→再検査でも菌が認められない場合、増菌培地に接種後、**ボトルは培養装置に戻して培養を継続する**
- ・必要に応じて、アクリジンオレンジ染色、抗酸菌染色やヒメネス染色を行う

偽陽性が疑われる場合、菌量が少ないまたは染色性が悪い菌の可能性があるため、培養液の沈査で再度グラム染色を行います。菌が認めれない場合、サブカルチャーを実施し、ボトルは装置に戻し培養を継続させます。

必要に応じて追加の染色を行います。

まとめ

- ・血液培養検査は、感染症の早期診断と治療においてきわめて重要な役割を果たす
- ・各施設で実施できる検査方法をフルに活用する
⇒Gram染色結果
質量分析での迅速同定試験結果
ディスクや培地を用いた耐性菌の検出
PCRを用いた耐性遺伝子の検出etc
- ・迅速な報告体制の確立も重要

まとめです。

血液培養検査は、感染症の早期診断と治療においてきわめて重要な役割を果たしています。

血液培養の感度を上げるために正しい採血量を、特異度を上げるために正しい手技で行う必要があります。

各施設で実施できる検査方法をフルに活用し、臨床側に迅速な結果報告ができるよう体制の確立も重要になります。

このスライドが皆さんの日常検査に役立ち、少しでも患者さんのためになれば幸いです。

令和5年度 第3回生理検査研究班研修会 生活習慣病研修会

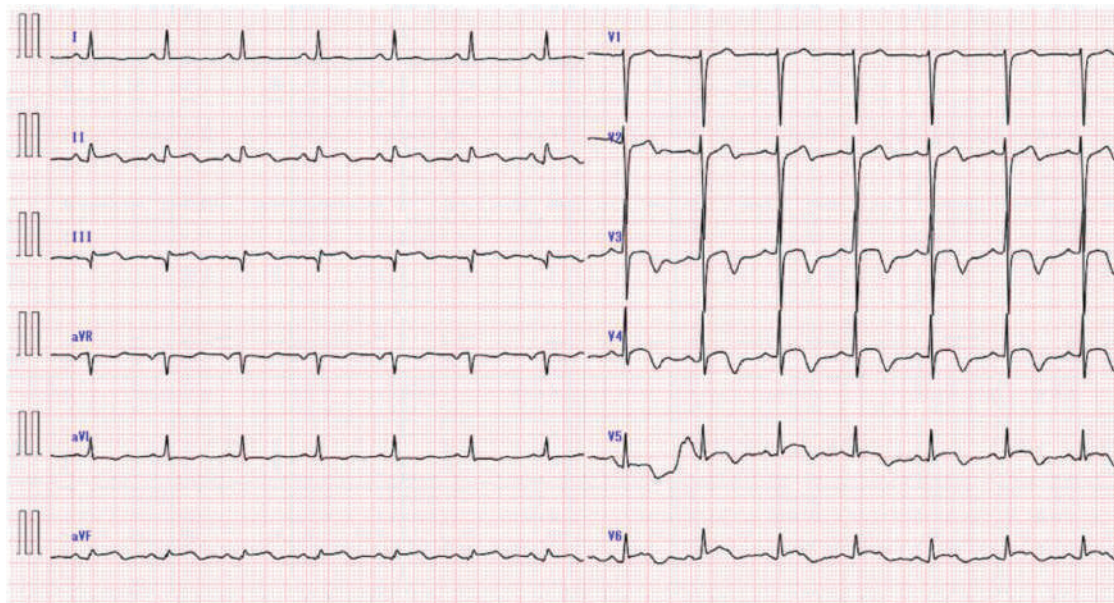
虚血性心疾患の12誘導心電図3症例について

香取おみがわ医療センター 医療支援部臨床検査科
飯塚信義

はじめに

2024年2月17日に現地開催した令和5年度第3回生理検査研究班研修会で「虚血性心疾患の12誘導心電図検査」から3症例を抜粋して掲載します。心電図検査は心筋梗塞診断の基本となる検査であり、特に急性心筋梗塞の可能性がある場合、検査施行と同時に心電図判読が必要となります。そしてその結果が緊急を要する異常所見を認めた場合には、医師への至急報告が求められています。提示した3症例は不安定狭心症、左主幹部急性心筋梗塞、陳旧性下壁心筋梗塞の症例で判読するポイントについて解説します。皆さんが心電図判読する際の糧になれば幸いです。

症例1



70歳代男性、身長155cm、体重51.0kg、BMI 21.1。

現病歴：受診2日前に2時間ほど持続する胸痛があったが自宅で様子を見ていた。本日胸痛が再

度出現したため近隣の循環器クリニックを受診し12誘導心電図、心臓超音波検査を施行したところ急性心筋梗塞やたこつぼ型心筋症が疑われ当院救急外来を受診した。

身体所見：体温36.2°C、血圧146/86mmHg、脈拍89回/min、SpO₂98%、救急外来受診時に胸痛は消失していた。救急外来で12誘導心電図を施行しII、III、aVF誘導でST上昇があり緊急心臓カテーテル治療となった。

【判読ポイント】

12誘導心電図判読には経時的心電図変化を把握しておく必要がある。急性心筋梗塞の場合、12誘導心電図の一般的な経時的変化として発症直後はT波の増高（テント状T波）、数分から数時間でST上昇、数時間から24時間以内に異常Q波、2日から1週間でSTが基線に戻り冠性Tが出現、数ヶ月から1年で冠性T波は陽性に戻る場合があるが異常Q波は持続するとなっている。文献的には異常Q波は発症後6時間以内に約50%は出現するとも言われている。症例1は、2時間程持続する胸痛が2日前に起きていることからII、III、aVF誘導に異常Q波が出現していないことが典型的な症例とは乖離する。また、この症例のST上昇はII誘導+0.9mm、III誘導+0.7mm、aVF誘導+0.8mmで、II>aVF>IIIとなるが、下壁心筋梗塞の場合、ST上昇する程度はIII>aVF>II誘導の順が典型的な所見である。ガイドライン上（急性冠症候群ガイドライン、ST上昇型急性心筋梗塞の診療に関するガイドライン2013年改訂版）ではII、III、aVF誘導の2誘導以上で1mm以上のST上昇を有意な所見と判定している。しかし、下壁心筋梗塞を否定できるものではないが胸痛の出現した時間や、経時的心電図変化、前胸部誘導のV2からV4まで2相性のT波が出現していることからWellens syndromeを疑わなければならない。

前回値がある場合はII、III、aVF誘導のST上昇が早期脱分極によるものか急性心筋梗塞によるものなのかの鑑別が可能になる。この症例のように右冠動脈（回旋枝の場合もある）による下壁急性心筋梗塞と前下行枝による不安定狭心症を迷うような場合には前回値の確認は心電図判読の精度を上げる為に重要となる。

急性心筋梗塞と不安定狭心症は急性冠症候群

(ACS) としてまとめられ、不安定狭心症は非ST上昇型急性冠症候群に分類されている。

Wellens syndromeは左冠動脈近位部に病変を認める不安定狭心症で、V2、V3に陰性T波を認め心筋梗塞に移行するリスクが高いことが指摘されている。未治療の場合75%が1週間以内に心筋梗塞に進展すると言われている。

Wellens syndrome診断基準（①～⑦すべてを満たす）¹⁾ (図1)

- ①最近の胸痛の既往
- ②胸部誘導で異常Q波がない
- ③胸部誘導でR波の減高がない
- ④心筋逸脱酵素の上昇がないか、あっても軽度（基準値の2倍）
- ⑤ST上昇がないか、あっても軽度（1mm以下）
- ⑥V2、V3誘導（時にV1～V6誘導）で対称性の深い陰性T波もしくは2峰性T波
- ⑦胸痛が消失した時の心電図変化

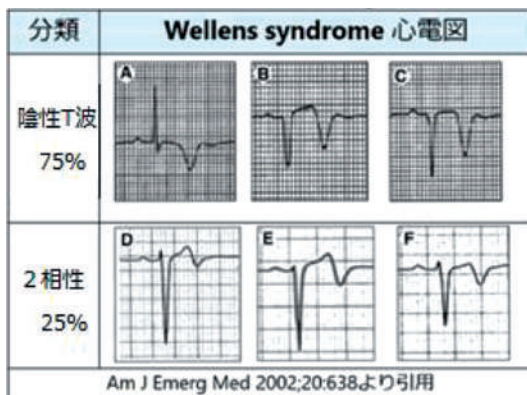
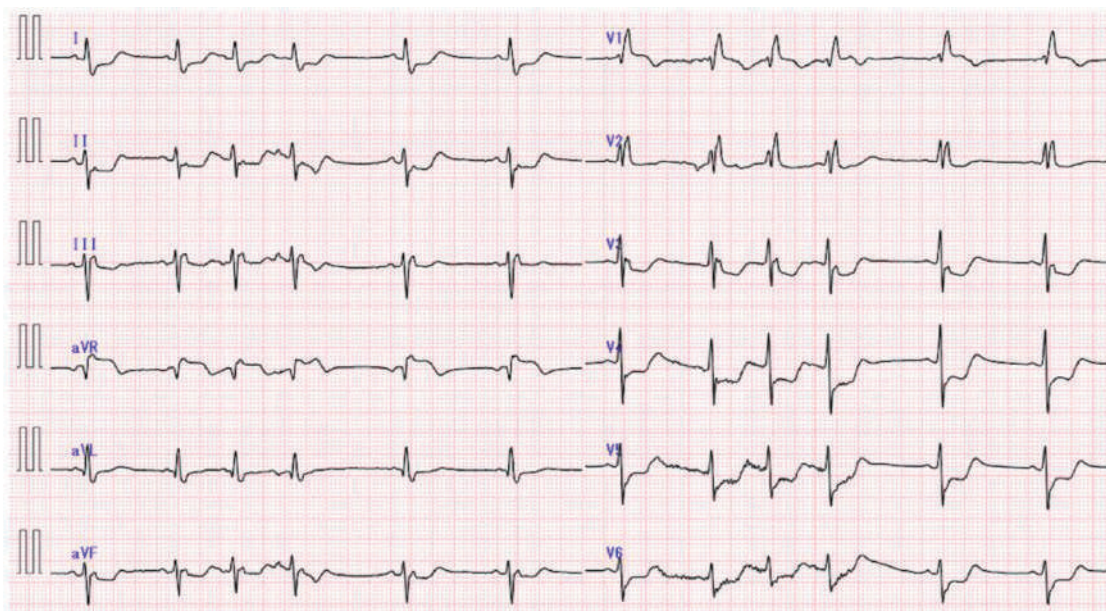


図1. Wellens syndrome診断基準

症例 2



70歳代男性。

現病歴：202X年8月上旬に庭の草むしりをしていたところ胸痛を自覚したため救急車にて当院救急外来を受診。

身体所見：体温37.3°C、血圧89/65mmHg、脈拍75回/min、SpO₂96%であり胸痛は持続していた。

【判読ポイント】

上室性期外収縮が見られ洞調律である。ST上昇よりもST低下が目立つ所見である。ST上昇はaVR +1.2mm、V1 +0.5mmである。ST低下はI誘導 -1.1mm、II誘導 -1.3mm、aVF誘導 -0.5mm、V3誘導 -2.1mm、V4誘導 -2.6mm、V5誘導 -2.0mm、V6誘導 -1.3mmである。

梗塞部位	梗塞波形が出現する誘導											主な閉塞枝	
	I	II	III	aVR	aVL	aVF	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	V ₅		V ₆
前壁中隔							○	○	○				左前下行枝
広範前壁	○			○			○	○	○	○	○	△	左前下行枝
側壁	○			○								○	左前下行枝 左回旋枝
高位側壁	○			○									左前下行枝 左回旋枝
下壁		○	○										右冠動脈
純後壁													左回旋枝 右冠動脈

図2. 梗塞部位からの責任冠動脈推定

図2は梗塞部位から責任冠動脈を推定するものである。しかし、ST上昇、異常Q波の出現する誘導の組み合わせは、冠動脈解剖により異なり必ずしも図に示したパターンに一致しない。その為、各誘導が反映する部位を3次的に把握しておくことが重要である。

教科書や心電図の参考書にはaVR誘導について記載されていないものがほとんどであるが、aVR誘導のST上昇は左主幹部心筋梗塞やaVR誘導のST低下は広範囲心筋梗塞に見られる所見であり臨床的に重要な誘導である。

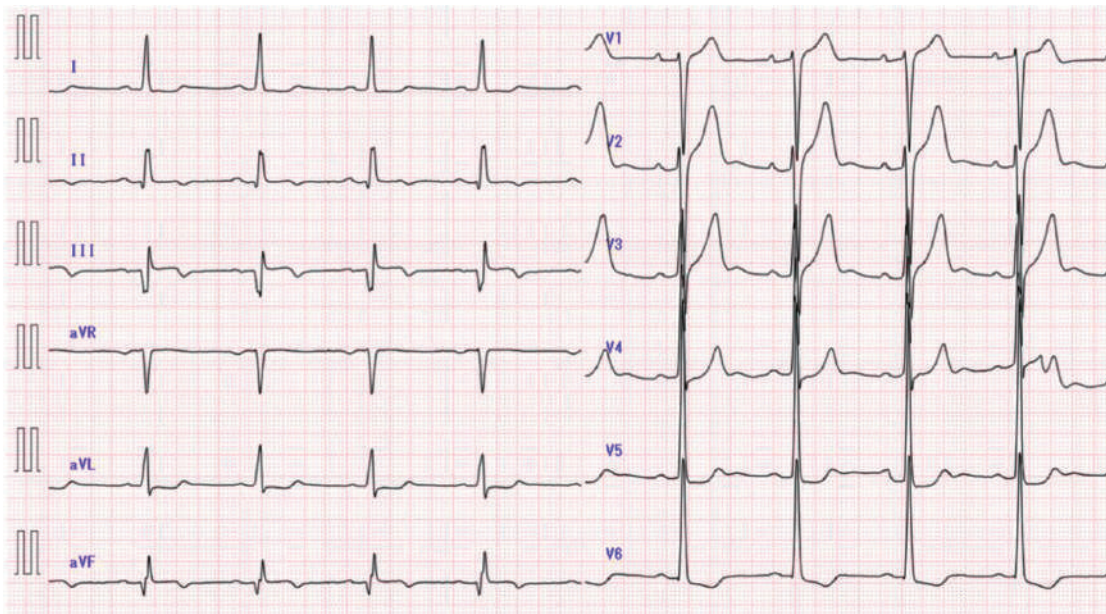
aVR誘導がV1誘導のST上昇より大きい、もしくは同等の場合、感度81%、特異度80%で左冠動脈主幹部心筋梗塞と診断できる²⁾。しかし、左前下行枝近位部の梗塞でも認める場合がある。aVR誘導とV1誘導のST上昇に加え、5誘導以上で-2mm以上のST低下も重要な所見である。この症例では-2mm以上のST低下は2誘導のみであるが、aVR誘導のST上昇はV1誘導より大きく、ST低下誘導は7誘導あった。左冠動脈主幹部の心筋梗塞ではST上昇が著明でない場合が多いと言われている。仮説として前壁梗塞のST上昇と

後壁梗塞のST上昇が相殺するためと考えられている。

aVR誘導にST上昇があり、ST低下誘導が5誘

導以上ある場合は左冠動脈主幹部の心筋梗塞を疑うことが重要である。

症例3



70歳代男性。

現病歴：高血圧症、糖尿病。

既往歴：5年前に右冠動脈急性心筋梗塞により血栓除去後ステント治療施行。その後経過観察中の12誘導心電図である。

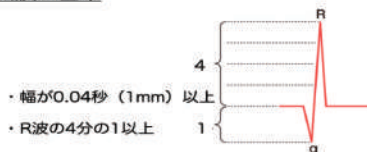
【判読ポイント】

III、aVF誘導に異常Q波がみられ陳旧性下壁心筋梗塞の波形である。洞調律で左室肥大の所見も認められる。

異常Q波の出現は、不可逆的な貫壁性心筋梗塞と考えられている。しかし心内膜下梗塞（非貫壁性）でも異常Q波を認める場合がある。梗塞範囲が大きく、心内膜面に沿って広がっていることが異常Q波出現における重要なポイントとされている。（図3）

異常Q波の定義は幅0.04秒（1mm）以上、R波の1/4以上である。最近の報告ではV2、V3とそれ以外で幅を分けているものもある³⁾。

異常Q波の基準



最新版

- ・ V2～V3誘導：幅>0.02秒のQ波あるいはQS型
- ・ それ以外：幅 \geq 0.03秒かつ深さ \geq 1mmのQ波あるいはQS型が隣接する誘導のうち2つ以上で認められる。

Thygesen K, et al. Circulation. 2018;138:618-651.

図3. 異常Q波の出現基準

異常Q波の感度特異度は高いが、異常Q波＝陳旧性心筋梗塞ではない。下壁心筋梗塞に出現するII、III、aVF誘導にみられる異常Q波の感度を更に上昇させる論文が投稿された。

図4は2016年に報告された論文である⁴⁾。下壁誘導に異常Q波が出現した50人に対して調査した報告になる。深吸気で息を思いっきり吸い込んで止めた時点で記録し、異常Q波の基準を満たさ

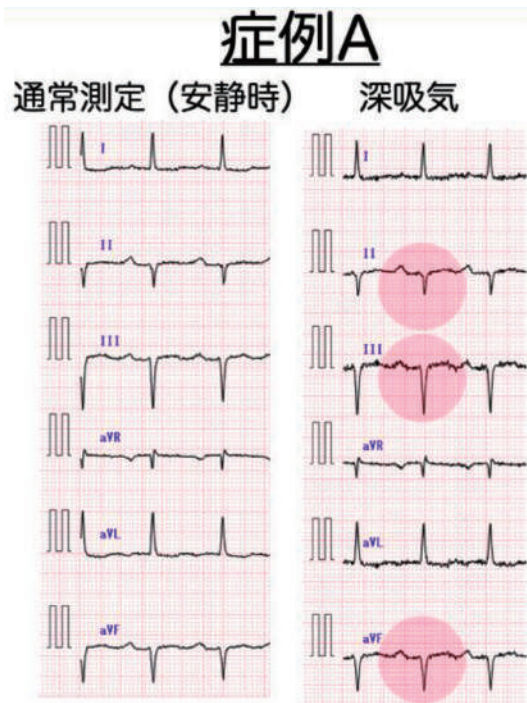
なくなった40人と深吸気しても基準を満たした10人についてCMRを用いて虚血の有無を精査した調査である。深吸気し異常Q波の基準を満たした10人中8人が下壁梗塞であった。深吸気して異常Q波の基準を満たさなくなった40人中38人がCMRで虚血の所見がなかった。感度80%、特異度95%であった。心エコーでの局所壁運動異常の感度50%、特異度88%であった。この論文では深呼吸法は心エコーよりも下壁梗塞の診断精度がよかったと結論づけている。

深吸気止めの時間については論文中に記載がない。自験例では深吸気直後から波形変化するため、当院では10秒後に記録を開始する運用としている。症例Aでは筋電図が混入するほど深吸気させているが、II、III、aVF誘導の異常Q波に波形変化を認めず、陳旧性下壁梗塞が考えられた。

* CMR (cardiovascular magnetic resonance ; 心臓MR)

* IQWs (inferiorQwaves ; 下壁Q波)

症例A



おわりに

急性、陳旧性心筋梗塞の診断における第1選択肢として12誘導心電図は今後も変わらないものと考えます。しかし、冠動脈走行異常や形態的变化によるものなどで心電図変化は各症例により異なり心電図判読の難しさもあります。各症例を考察することで新しい知識の習得や知識が整理でき更にステップアップできると思います。生理検査研究班では基礎的な検査方法から症例報告など皆さんのスキルアップのお手伝いができるよう研修会を開催したいと考えています。研修会の参加をお待ちしております。

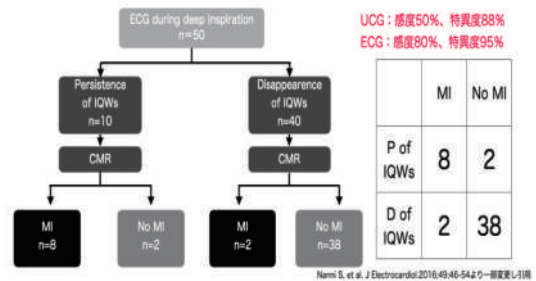


図4. 深呼吸法の診断精度

参考文献

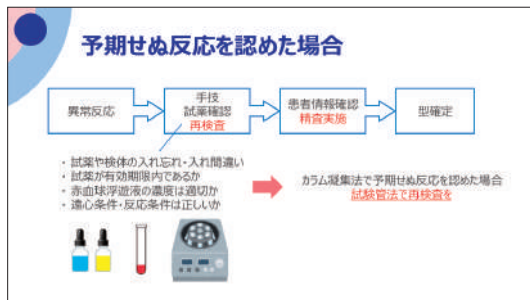
- 1) AmJ Emerg Med 2002;20:638
- 2) J Am coll Cariol.2001Nov1;38 (5) :1348-54
- 3) ThygesenK, et al.Circulation.2018;138:618-651
- 4) NanniS, et al.JElectrocardiol.2016;49:46-54

血液型トラブルシューティング ～予期せぬ反応を認めた場合～

千葉市立海浜病院 臨床検査科
丹 麻 美

令和3年9月の輸血検査研究班研修会で講演した内容を改変して掲載します。

ABO血液型検査ではオモテ・ウラ不一致や弱い凝集など予期せぬ反応に遭遇することがあり、どのように検査を進めるべきか、最終的な血液型をどう報告するか苦慮することも多いかと思えます。そのような検査の基本的な流れ・考え方を紹介し、症例を1つ提示します。



予期せぬ反応を認めた場合、まず手技や事務的なエラーがないかを確認します。

「試薬・検体の入れ忘れ・入れ間違いがなかったか」「試薬は有効期限内であるか」「赤血球浮遊液の濃度は適切か」「遠心条件・反応条件は正しいか」など再確認を行います。これらに誤りがあった場合、その後精査を行っても正確な結果を得ることができません。

検査法別の特徴

	試験管法	カラム凝集法
メリット	<ul style="list-style-type: none"> ・狭いスペースで検査が可能 ・短時間で検査が可能 	<ul style="list-style-type: none"> ・判定が容易 ・客観性に優れる ・部分凝集の判定が明瞭
デメリット	<ul style="list-style-type: none"> ・判定が主観的である ・ヒューマンエラーが存在する 	<ul style="list-style-type: none"> ・ウラ検査は試験管法に比較し反応強度が弱い場合がある ・非凝集赤血球が20～30%を越えないと部分凝集を捉えられないことがある

試験管法やカラム凝集法などの検査法による特徴を理解しておく、原因の究明や再検査時に反応を捉えやすくなります。

複数の検査法が可能な場合には、1回目と異なる検査法で再検査することが望ましいです。

予期せぬ反応の要因

赤血球側

- 異型輸血後
- 異型造血幹細胞移植後
- 血液疾患による抗原減弱
- 赤血球凝集反応
- 寒冷凝集素
- 血清中の型物質の異常増加
- 亜型
- キメラ・モザイク

血漿（血清）側

- 抗A・抗Bの抗体値の低下または欠損
：低または無γグロブリン血症、新生児、高齢者
- 低温反応性の不規則抗体：抗M,抗N,抗Le^a,抗Le^b,抗P1
- 寒冷凝集素
- 連鎖形成
- 抗A・抗Bの存在：新生児（母親由来）、亜型
- 異型造血幹細胞移植後
- 高分子血漿増量剤、注射用造影剤の影響

患者情報の収集

- 年齢
- 輸血歴、妊娠歴、造血幹細胞移植歴
- 疾患名（血液疾患、悪性腫瘍、感染症など）
- 投薬歴（高分子血漿増量剤・注射用造影剤の使用など）
- 生化学・血算

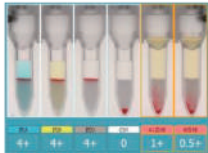
予期せぬ反応として赤血球側・血漿側にスライドのような要因があります。それぞれ先天的な要素と後天的な要素があるため、絞り込むために患者情報を収集します。

患者情報として年齢、輸血歴、妊娠歴、造血幹細胞移植歴、疾患名、検査に影響を与えるような薬剤が投与されていないか、血液検査所見などを確認します。

疾患によっては、血液型抗原の減弱を生じたり、血液中の型物質の増加により抗血清を中和することがあります。

高分子製剤や造影剤を輸注している場合には、連鎖形成を引き起こし、ウラ検査で偽陽性となることもあります。

検査結果（カラム凝集法）



オモテ検査			ウラ検査			ABO判定		
抗A	抗B	結果	A ₁ 赤血球	B赤血球	結果	抗D	Ctrl	RhD判定
4+	4+	AB型	1+	W+	判定保留	4+	0	陽性

症例を紹介します。

患者は60歳代男性。入院時採血にて、ABO血液型検査が提出されました。

自動分析装置（カラム凝集法）で検査を実施したところ、オモテ検査の抗A・抗B血清との反応で4+、ウラ検査ではA₁・B赤血球との反応に弱い凝集を認めました。オモテ・ウラ不一致となり、ABO血液型は「判定保留」になります。

試験管による再検査結果

オモテ検査			ウラ検査			ABO判定
抗A	抗B	結果	A ₁ 赤血球	B赤血球	結果	
4+	4+	AB型	2+	2+	O型	判定保留

抗D	Rh cont	RhD判定
4+	0	陽性

手技・事務的なエラーではない
精査・追加検査が必要

次に試験管法で再検査を実施しましたが、オモテ・ウラ不一致という点は変わらず、ABO血液型は「判定保留」のままです。

補足になりますが、オモテ・ウラ不一致を生じた場合、ウラ検査にO型赤血球を対照に置くことで、ABO血液型以外の要因が反応しているのかを確認する指標にもなります。

精査の結果 まとめ

- 不規則抗体：低温反応性の抗M
- 寒冷凝集素：なし
- 連鎖形成：なし

精査の結果、不規則抗体検査において低温反応性の抗Mが検出され、寒冷凝集素・連鎖形成は認められませんでした。

以上の点からウラ検査に異常な凝集を生じた要因は、低温反応性の抗Mによるものと推察されま

予期せぬ反応の解決法について

抗Mの影響を受けないA₁赤血球・B赤血球試薬が必要

解決法 1

M抗原陰性のA₁赤血球・B赤血球試薬を使用し、ウラ検査を再検

解決法 2

A₁赤血球・B赤血球試薬を酵素処理し、ウラ検査を再検
M抗原は酵素処理により抗原性が失活されるため、その特性を利用

本症例に対する解決方法として、スライドに示したような抗Mの影響を受けないA₁・B赤血球を使用し、ウラ検査を再度行う必要があります。

但しそれらの対応が難しい場合には、日本赤十字社の「赤血球抗原情報検索システム」を用いてM抗原陰性血を院内在庫より検索し、試薬の代わりとして使用したり、M抗原陽性のO型赤血球を用いて血漿中の抗Mを吸着する方法などがあります。

再検査の結果

A₁赤血球・B赤血球試薬をそのまま使用

ウラ検査	
A ₁ 赤血球(M+)	2+
B赤血球(M+)	2+
O赤血球(MM)	3+



A₁赤血球とB赤血球の反応が陰性

AB型と判定

M抗原陰性のA₁赤血球・B赤血球を使用

ウラ検査	
A ₁ 赤血球(M-)	0
B赤血球(M-)	0
O赤血球(NN)	0

解決法 1 のM抗原陰性のA₁・B赤血球を使用しウラ検査の再検査を実施したところ、すべて陰性となりウラ検査はAB型となりました。これによりABO血液型は「AB型」と判定することができました。

輸血の対応

- AB型RhD陽性の血液製剤を準備
- 抗Mについては間接抗グロブリン試験の反応が陰性であるため、考慮しない
(反応増強剤無添加間接抗グロブリン試験にて陽性の場合には、

抗体の特性	臨床的意義	M抗原陰性血を準備	
		輸血可能な血液製剤	輸血可能な血液製剤の種類
IgG	あり	抗原陰性	
IgM	あり	抗原陰性	
IgA	あり	抗原陰性	
IgE	あり	抗原陰性	
抗M	あり	抗原陰性	
抗M (間接抗グロブリン試験「陽性」)	なし	抗原陰性	準備が必要なし
抗M (間接抗グロブリン試験「陰性」)	あり	抗原陰性	

本症例に対する輸血の対応は、AB型RhD陽性の血液製剤を準備することができます。検出された抗Mは間接抗グロブリン試験陰性であり、臨床的意義がないため抗原陰性血の選択の必要もありません。

まとめ

異常反応を認めた場合…

- 手技的・事務的な誤りがないか確認
- 患者情報を確認し、異常反応の原因を推測、必要な検査を見極める

予期せぬ反応を認めた場合、安全な輸血医療を提供するために精査を行う必要があります。迅速かつ適切に検査を行う必要があり、そのためには手技的・事務的な誤りの確認や患者情報の収集を行い必要な検査を見極めることが重要となります。

参考文献

- 1) 日本臨床検査技師会 監修：輸血・移植検査技術教本 第2版. 丸善出版, 2023.
- 2) 奥田誠, 他：赤血球型検査（赤血球系検査）ガイドライン（改訂4版）. 日本輸血細胞治療学会誌, 68（6）：539-556, 2022.
- 3) 認定輸血検査技師制度協議会カリキュラム委員会 編集：スタンダード輸血検査テキスト 第3版, 医歯薬出版, 2017.
- 4) 日本輸血・細胞治療学会 監修：フローチャートと動画でみる輸血検査 丸善出版, 2024.

成人型顆粒膜細胞腫 3 例の細胞学的検討

千葉大学医学部附属病院 病理部

羽田桃子、鈴木学、曾川紀子
中千裕、岩井優、小野寺清隆

【要旨】

成人型顆粒膜細胞腫は卵巣に発生する稀な腫瘍であり、特徴的な所見として、Call-Exner bodyとコーヒー豆様の核溝がしばしば成書に登場する。しかしながら、これらが実際に、診断に有用と言えるほどの頻度で出現するのかわ不明であった。今回我々は、当院で経験した成人型顆粒膜細胞腫 3 例について、前述した特徴的な所見の有無と、その他、診断に有用な細胞所見について検討したので報告する。

症例は40代、70代、50代の女性。いずれの症例も卵巣に腫瘍を認め、摘出手術が施行された。摘出された腫瘍から作製した細胞標本では、3 例ともにコーヒー豆様の核溝が見られた。一方、Call-Exner bodyは確認できなかった。

本疾患の診断において、Call-Exner bodyは特徴的な所見ではあるが、出現頻度を考慮すると有用とは言いがたい結果だった。3 例の細胞所見を比較した結果、コーヒー豆様の核溝の他、腫瘍細胞の出現様態、核と細胞質の形状には共通点が見られ、有用な所見であると考えられた。

【keywords】

成人型顆粒膜細胞腫、Call-Exner body、コーヒー豆様の核溝

1. はじめに

顆粒膜細胞腫は卵巣に発生する性索間質性腫瘍の一つで、発生率は卵巣腫瘍全体の1%程度と稀な疾患である¹⁾。組織型は成人型と若年型に分類され、しばしばエストロゲン、稀にアンドロゲン産生能を有する。

成人型顆粒膜細胞腫は顆粒膜細胞腫の約95%を占める。閉経前後に好発し、2~3割の患者に晩年再発が見られる²⁾。細胞診では、腫瘍細胞がライトグリーン好染物質を取り囲むCall-Exner bodyや、コーヒー豆様の核溝が特徴的な所見として知られている³⁾。

今回、我々が経験した成人型顆粒膜細胞腫 3 例について、細胞学的検討を加えて報告する。

2. 対象・方法

対象は2021年1月~2022年12月に当院婦人科で卵巣摘出手術が行われ、成人型顆粒膜細胞腫と診断された40代~70代の女性3症例。

細胞診標本は、摘出された組織から擦過標本(スライドガラスのエッジで腫瘍部分を軽く削り、別のスライドガラスに塗抹)を作製した。

3. 症例

1) 症例 1

患者：40代女性、3妊3産

主訴：無月経、男性化徴候

既往歴：狭心症、うつ病等の精神疾患

現病歴：無月経と男性化徴候(多毛・抜け毛)

を主訴に近医を受診し、精査目的で当院へ紹介となった。MRIで左卵巣に腫瘍を認め、テストステロン高値でもあることから、セルトリ・ライディッシュ細胞腫が疑われ手術が行われた。初診時の検査値は、LH15.22mIU/mL、FSH1.81mIU/mL、テストステロン2.49ng/mL、エストラジオール100pg/mL、プロゲステロン0.4ng/mLであった。

肉眼・組織所見：肉眼では、左卵巣は約10×9×5cmで、黄白色～灰白色調の充実性病変に占められていた。一部に出血を伴う嚢胞状の部分も認めた。組織像は淡好酸性～両染性の細胞質を有する短紡錘形の腫瘍細胞がびまん性に増殖していた。腫瘍細胞の核は軽度腫大、核小体が目立ち、コーヒー豆様の核溝も認めた(写真1)。Call-Exner bodyは認めなかった。組織診断は成人型顆粒膜細胞腫であった。

細胞所見：比較的均一な腫瘍細胞が散在性～結合のゆるい集塊状に出現しており、一部に腺腔様の構造が見られた(写真2)。個々の細胞は細胞質が不明瞭で、類円形～卵円形の核に小型核小体を認めた。コーヒー豆様の核溝を有していたが、Call-Exner bodyは見られなかった(写真3)。性索間質性腫瘍が考えられたが、組織型の断定には至らず、細胞判定はClassⅢ・鑑別困難となった。

2) 症例2

患者：70代女性、2妊2産

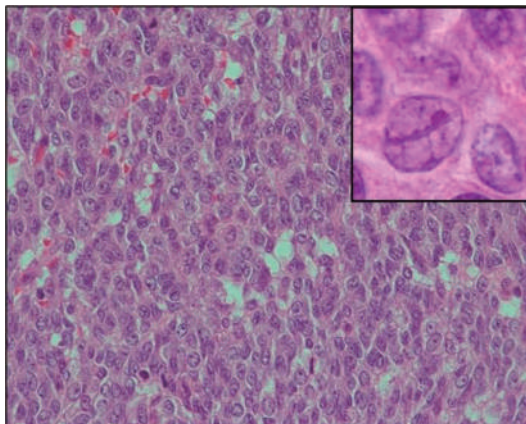
主訴：不正出血

既往歴：糖尿病、乳癌、脳梗塞、心不全

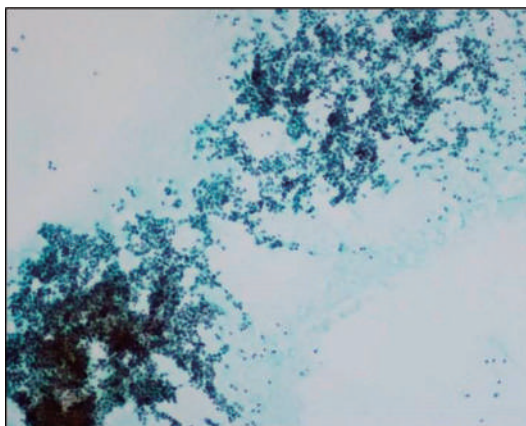
現病歴：閉経後の性器出血を機に近医を受診。

経膈エコーを実施したところ、年齢に比して子宮が大きく、内膜の肥厚も見られた。当院で精査した結果、MRIで右卵巣に多嚢胞性腫瘍が見つかり、摘出手術が行われた。初診時の検査値は、LH5.01mIU/mL、FSH0.25mIU/mL、テストステロン0.37ng/mL、エストラジオール160pg/mL、プロゲステロン0.3ng/mLであった。

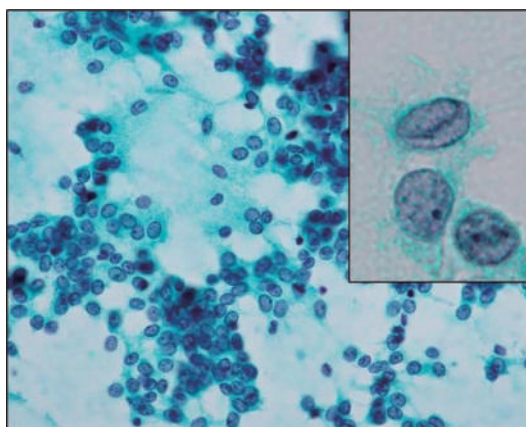
肉眼・組織所見：摘出された右卵巣は15×



【写真1】症例1：HE染色，対物40倍（右上100倍）



【写真2】症例1：Pap.染色，対物10倍



【写真3】症例1：Pap.染色，対物40倍（右上100倍）

12cm大で、一部に出血を伴う黄色調の充実性病変で占められていた。組織像は、淡い好酸性細胞質に短紡錘形～卵円形の核を有する腫瘍細胞が充実に増殖していた。核小体が目立ち、コーヒー豆様の核溝も認めたが、Call-Exner bodyは見られなかった（写真4）。また、子宮内膜には高エストロゲン状態によるものと思われる子宮内膜増殖症の所見が見られた。組織診断は右卵巢原発の成人型顆粒膜細胞腫となった。

細胞所見：細胞質が不明瞭な、N/C比の高い腫瘍細胞が散在性～不整形・充実性集塊として見られ、所々に間隙を伴っていた（写真5）。腫瘍細胞は比較的均一で、類円形～卵円形の核に細顆粒状のクロマチン、小型核小体を有していた。一部の細胞にコーヒー豆様の核溝を認めたが、Call-Exner bodyは認めなかった（写真6）。細胞判定は性索間質性腫瘍を疑ったが、組織型の鑑別は難しく、ClassIII・鑑別困難となった。また、子宮頸部の標本では表層細胞・中層細胞が主体で、年齢に比して、表層への分化傾向を認めた（写真7）。高エストロゲン状態を反映したものと考えられる。

3) 症例3

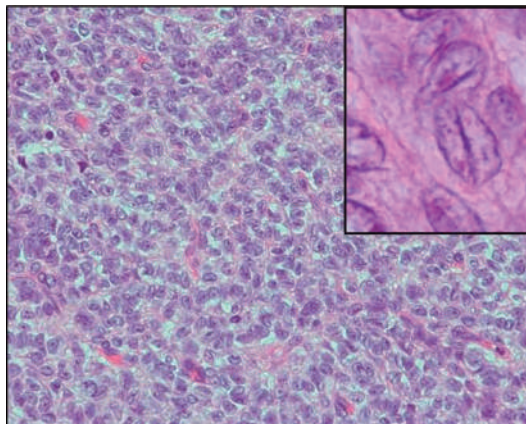
患者：50代女性、3妊2産

主訴：不正出血、下腹部痛

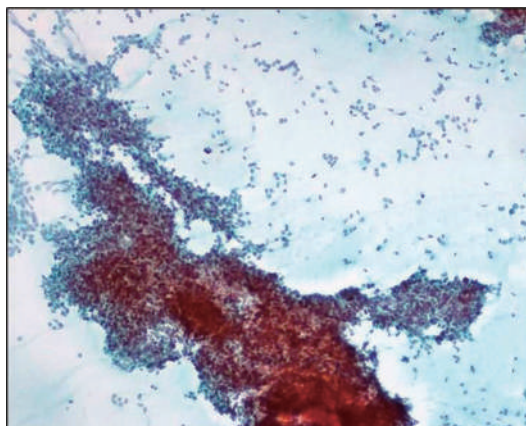
既往歴：特記すべき事項なし

現病歴：不正出血と右下腹部痛を主訴に近医を受診。CTで20cm大の骨盤内腫瘍が見つかり当院へ紹介、手術が施行された。初診時の検査値は、LH0.8mIU/mL、FSH<0.05mIU/mL、テストステロン0.54ng/mL、エストラジオール123pg/mL、プロゲステロン1.3ng/mLだった。

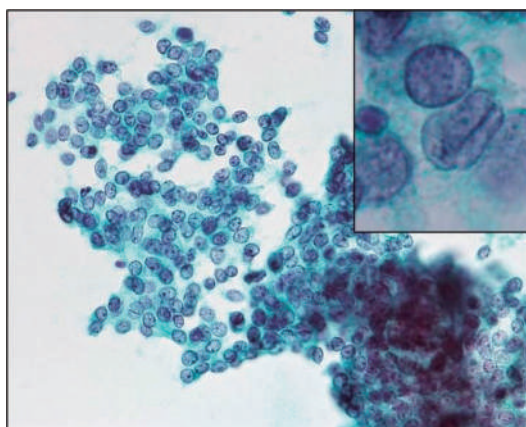
肉眼・組織所見：肉眼所見では、右卵巢は24×23×6cmで、全体が白色～桃色調の充実性病変に占められており、一部に壊死を伴っていた。組織像は好酸性の細胞質を有する腫瘍細胞が胞巣状～島状に増殖していた。腫瘍細胞は核小体が目立ち、コーヒー豆様の核溝も認めた。一部の細胞では核の大小不同や核形不整が目立った。腫瘍細



【写真4】症例2：HE染色，対物40倍（右上100倍）



【写真5】症例2：Pap.染色，対物10倍



【写真6】症例2：Pap.染色，対物40倍（右上100倍）

胞が好酸性物質を取り囲むCall-Exner bodyが見られた(写真8)。組織診断は成人型顆粒膜細胞腫で、リンパ節と膀胱子宮窩腹膜および右広間膜に転移を認めた。

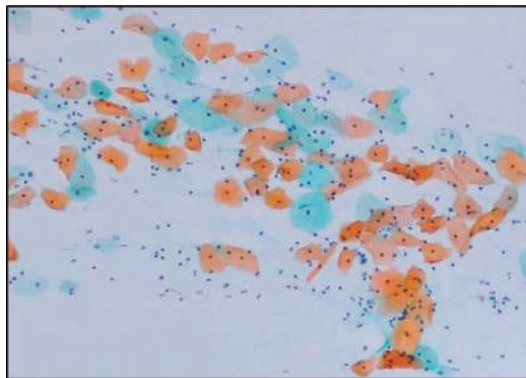
細胞所見：変性物を伴う血性背景に、N/C比の高い裸核様の腫瘍細胞が散在性～集塊状に見られた(写真9)。小型核小体やコーヒー豆様の核溝を認め、核の大小不同や核形不整が目立った(写真10)。Call-Exner bodyは見られなかった。細胞判定は顆粒膜細胞腫などの間葉系腫瘍を考え、ClassIIIb・悪性の疑いとなった。

4. 考察

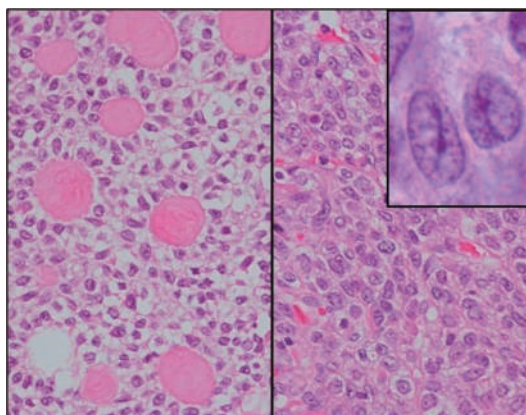
3例の細胞所見を比較したところ、腫瘍細胞の出現様態、細胞質、核の形、核溝に共通点が見られ、成人型顆粒膜細胞腫の鑑別に有用な所見と考えられた(表1)。3例とも腫瘍細胞は散在性～辺縁不整な集塊状として認め、細胞質は淡く不明瞭で、類円形～卵円形の核を有していた。コーヒー豆様の核溝は全症例で認められたが、Call-Exner bodyは細胞標本上では、どの症例にも見られなかった。症例1と症例2がきれいな背景に比較的均一な細胞像を示したのに対し、症例3は血性・壊死性背景に、核の大小不同や高度な核形不整が見られるなど、多彩な細胞像を示した。症例3は成人型顆粒膜細胞腫としてはやや非典型的な細胞像であったと考えられる。

成人型顆粒膜細胞腫と鑑別を要する性索間質性腫瘍として、莢膜細胞腫やセルトリ・ライディッヒ細胞腫がある。今回報告した症例に認めた4つの共通所見(出現様態・細胞質・核の形・核溝)に着目して比較すると(表2)、成人型顆粒膜細胞腫は散在性・集塊状の部分と混在するのに対し、莢膜細胞腫の腫瘍細胞は主に散在性に出現する。また、莢膜細胞腫の核は楕円形や紡錘形など細長いのが特徴で、コーヒー豆様の核溝は見られない。

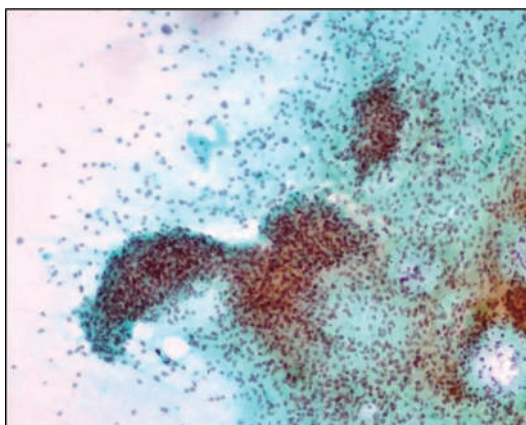
セルトリ・ライディッヒ細胞腫と成人型顆粒膜



【写真7】症例2：子宮頸部 Pap.染色，対物10倍



【写真8】症例3：HE染色，対物40倍(右上100倍)

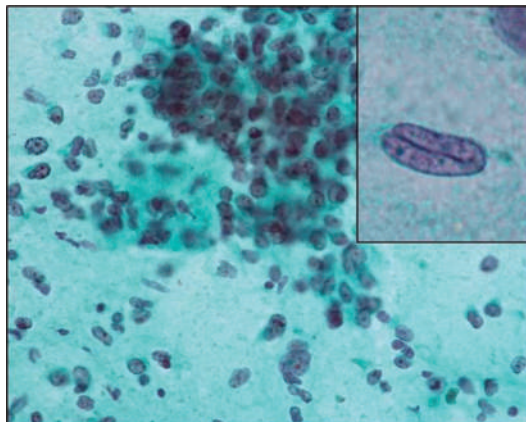


【写真9】症例3：Pap.染色，対物10倍

細胞腫の細胞像はほとんど一緒だが、セルトリ・ライディッヒ細胞腫の中でも最も頻度が高いとされる中分化型では、集塊に管状配列が見られる場合がある。個々の細胞形態からの区別は非常に困難であるが、成人型顆粒膜細胞腫に特徴的だったコーヒー豆様の核溝はセルトリ・ライディッヒ細胞腫には見られず、鑑別のポイントになり得ると考えられる。

5. 結語

Call-Exner bodyとコーヒー豆様の核溝は多くの成書で成人型顆粒膜細胞腫の特徴的所見とされているが、その出現頻度について言及された



【写真10】症例3：Pap.染色，対物40倍（右上100倍）

【表1】3症例の細胞所見比較

	症例 1	症例 2	症例 3
背景	きれい	きれい	血性、壊死性
出現様態	散在性～ 辺縁不整な集塊状	散在性～ 辺縁不整な集塊状	散在性～ 辺縁不整な集塊状
細胞質	淡く不明瞭	淡く不明瞭	淡く不明瞭
核の形	類円形・卵円形	類円形・卵円形	類円形・卵円形
核小体	小型 1個	小型 1個	小型 1～2個
核形不整	ほとんどなし	ごく軽度	高度
コーヒー豆様の核溝	少数あり	少数あり	少数あり
Call-Exner body	なし	なし	なし
全体像	比較的均一	比較的均一	大小不同など多彩

【表2】他の性索間質性腫瘍との鑑別

	成人型 顆粒膜細胞腫	莢膜細胞腫	セルトリ・ライディッヒ 細胞腫
出現様態	散在性～集塊状	散在性	散在性～集塊状、 管状構造
細胞質	淡く不明瞭	淡く不明瞭、 脂肪顆粒(+)	淡く不明瞭
核の形	類円形・卵円形	楕円形・紡錘形	類円形・卵円形
コーヒー豆様の核溝	あり	なし	なし

ものは少ない^{4) 5)}。今回、当院で経験した成人型顆粒膜細胞腫 3例の細胞所見について比較したが、Call-Exner bodyは 3例とも細胞標本には見られなかった。一方、コーヒー豆様の核溝は全ての症例で認め、有用な所見と考えられた。また、腫瘍細胞の出現様態、淡く不明瞭な細胞質、類円形～卵円形の核は3例で共通しており、これらの所見も成人型顆粒膜細胞腫と他の性索間質性腫瘍との鑑別の一助になり得ると思われた。

今回の症例では、Call-Exner bodyを組織標本に認めたものが1例あったが、細胞標本ではその存在を確認できなかった。その要因については、細胞の採取部位や採取方法(捺印・擦過など)が関与している可能性も考えられ、今後はこの点についても検討したい。

6. 参考文献

- 1) 本山 悌一・坂本 穆彦：腫瘍病理鑑別診断アトラス 卵巣腫瘍：75-86, 文光堂, 2012
- 2) 日本産婦人科学会・日本病理学会：卵巣腫瘍・卵管癌・腹膜癌取扱い規約病理編第2版：41-43, 金原出版株式会社, 2022
- 3) 日本臨床細胞学会：細胞診ガイドライン 婦人科・泌尿器 2015年版：140-158, 金原出版株式会社, 2015
- 4) Sarfraz Ali et al. : Adult Granulosa Cell Tumor of the Ovary : Fine-Needle-Aspiration Cytology of 10 Cases and Review of Literature, Diagnostic Cytopathology, Vol. 36 : 297-302, 2008
- 5) Prabal Deb et al. : Intraoperative scrape cytology : Adult granulosa cell tumor of ovary, Journal of Cytology, 28 (4): 207-209, 2011

「レボヘム™APTT SLA」の基礎的性能評価および導入に伴う アドバイスサービスの变化

千葉大学医学部附属病院 検査部

荒井 祐香、古家 若葉、仙波 利寿、石崎 大輝
池田 彩香、大山 正之、川崎 健治、松下 一之

【要旨】

活性化部分トロンボプラスチン時間（以下、APTT）測定試薬をトロンボチェックAPTT-SLAからレボヘム™APTT SLAへ変更したことに伴い基礎的性能評価を行った。併行精度のCVは1.25%以下、室内再現精度のCVは2.77%以下、正確さは全て許容範囲内に収まり、対照試薬との相関性は $r = 0.917$ 、 $y = 0.81x + 3.12$ 、基礎的性能は総じて良好であった。検体種別の相関性試験では、ループスアンチコアグラント（以下、LA）陽性検体、未分画ヘパリン使用検体、第Ⅷ因子欠乏検体、第Ⅸ因子欠乏検体の回帰式の傾きが全て1.1を超えていた。このことはレボヘム™APTT SLAが対照試薬よりもLA、ヘパリン、第Ⅷ・Ⅸ因子欠乏に対する感受性が高いことを意味しており、試薬変更後のAPTTの結果解釈に注意が必要である。LAの存在に関する「アドバイスサービス」の件数は、試薬変更前は年間約1件であったが、試薬変更後には年間約13件と大幅に増加した。レボヘム™APTT SLAは測定性能が良好であり、診療を進める上で有用なアドバイスを提供できる試薬として期待される。

【keywords】

APTT、基礎的性能評価、LA、アドバイスサービス

【はじめに】

APTTは、内因系および共通系の血液凝固能を評価するための最も一般的な検査である。凝固異常のスクリーニング検査をはじめ、未分画ヘパリン投与時のモニタリングやLAの検出など多様な用途で利用されている^{1) 2)}。そのため、APTT試薬は診療を行う上で多くの特性が求められ、様々なメーカーから、リン脂質や活性化剤の組成が異なる試薬が発売されており、凝固因子、未分画ヘパリン、LAに対する感受性に差異があることが知られている^{3) 4)}。また、APTT試薬にはPT-INRのような標準品は存在しないため、標準化は達成できていない⁵⁾。したがって、APTTの測定担当者はAPTT試薬の特性を把握し、測定値を適切に

評価して依頼医に伝えることが重要となる。

ISO 15189の要求事項である「アドバイスサービス」は、医師に対して結果解釈の説明や、必要な検体の種類、検査の選択など、専門的判断や提案を行う業務である。当院では、各部署2名程度の要員が、保有資格や経験年数等を鑑みて「アドバイスサービス者」として任命され、診療科医師等からの専門性の高い問い合わせや相談に対応している。アドバイスサービス者が不在の場合や平易な問い合わせ・相談は、部署内で一定のトレーニングを受けた「非アドバイスサービス者」が代行し、アドバイスサービス者が実施内容を承認するシステムになっている。当院では、LAの存在が疑われるAPTT延長症例についてアドバイス

サービスを実施しており、依頼医に電話連絡し、追加検査を提案している。今回、我々は日常検査で使用しているAPTT試薬であるトロンボチェックAPTT-SLAの販売中止に伴い、レボヘム™APTT SLAの基礎的性能を評価した。その後、従来法からレボヘム™APTT SLAに試薬を変更し、試薬変更前後のアドバイスサービスの変化について調査を行ったため、APTT測定における試薬選択の重要性とその影響についてもあわせて報告する。

【試薬および方法】

1. 試薬・測定機器

検討試薬としてレボヘム™APTT SLA（シスメックス株式会社、以下Sysmex社）、対照試薬としてトロンボチェックAPTT-SLA（Sysmex社）を用いた。測定はCS-5100（Sysmex社）にて行った。LA確認試験に用いた試薬はLAテスト「グラディオア」（株式会社医学生物学研究所）、測定装置はCS-5100を使用した。

2. 材料

Coagtrol I X・II X（Sysmex社）、血液凝固試験用コントロール血漿N・P（シーメンスダイアグノスティクス株式会社）、トロンボチェックFactor VIII・IX（Sysmex社）、当院検査部に診療目的で提出された3.2%クエン酸ナトリウム加血漿の残余検体（提出後4時間以内または-80℃保管検体）を用いた。本研究は残余検体の使用に関して千葉大学大学院医学研究院倫理審査委員会で承認を受けて行った（承認番号685）。

3. 検討内容

1) 併行精度

2濃度のコントロール（正常域：Coagtrol I X、異常域：Coagtrol II X）を各20回連続測定した。平均値と標準偏差（以下、SD）より変動係数（以下、CV）を求めた。

2) 室内再現精度

2濃度のコントロール（正常域：Coagtrol I X、異常域：Coagtrol II X）を1日2回、連続15日測定した。平均値とSDよりCVを求めた。

3) オンボード安定性

装置内に試薬を開栓した状態で搭載し、2濃度のコントロール（正常域：Coagtrol I X、異常域：Coagtrol II X）を1日2回、試薬搭載から15日目まで測定した。試薬搭載日の平均値と室内再現精度の2SDで許容範囲を設定し、許容範囲から逸脱するまでの日数を評価した。オンボード安定性は、湿度が異なる冬季と夏季の2シーズンで計測し、評価した。

4) 正確さ

血液凝固試験用コントロール血漿N、血液凝固試験用コントロール血漿Pを各10回連続測定し、平均値、SD、CV、最小値（Min）、最大値（Max）、最大値と最小値の差（Range）を求めた。コントロール血漿の表示値と管理幅を許容範囲に設定し、評価した。

5) 相関性

レボヘム™APTT SLA、トロンボチェックAPTT-SLAを用いて患者検体56件を測定し、相関性を評価した。また、各種患者検体、及び第VIII、IX因子欠乏血漿（トロンボチェックシリーズ）と健常血漿との混和により段階的に調製した血漿の計87件（検体内訳は表1）を測定し、検体種別に相関性を評価した。また、Bland-Altman分析を用いて、検討試薬と対照試薬の測定値の差を評価した。

表1. 検体種別の相関性に用いた検体内訳

検体内訳	検体数
LA陽性	13
未分画ヘパリン	11
ワルファリン	8
ダビガトラン	6
エドキサバン	10
アビキサバン	8
リバーロキサバン	7
エミシズマブ	5
第VIII因子欠乏※	8
第IX因子欠乏※	8
フォン・ヴィレブランド病（VWD）	3
合計	87

※第VIII、IX因子欠乏血漿と健常血漿との混和により段階的に調製

6) LAに関するアドバイスサービス調査

集計期間は、APTT試薬変更前は2019年7月から～2023年6月までの4年間、APTT試薬変更後は2023年7月から2024年8月までの1年1か月間とし、LAに関するアドバイスサービスの総件数、LA陽性件数、アドバイスサービス時のAPTTの報告値、アドバイスサービス者の経験年数について調査を行った。

【結果】

1) 併行精度

正常域血漿では、平均値26.0秒、SD 0.05秒、CV 0.19 %、異常域血漿では、平均値69.7秒、SD 0.87秒、CV 1.25%であった（表2 A）。

2) 室内再現精度

正常域血漿では、平均値26.6秒、SD 0.20秒、CV 0.74 %、異常域血漿では、平均値64.8秒、SD 1.79秒、CV 2.77%であった（表2 B）。

3) オンボード安定性

試薬搭載日の平均値 $\pm 2 \times$ 室内再現精度のSD

表2. 再現性

A. 併行精度

	Coagtrol IX (正常域)	Coagtrol IIX (異常域)
平均 (秒)	26.0	69.7
SD (秒)	0.05	0.87
CV (%)	0.19	1.25

B. 室内再現精度

	Coagtrol IX (正常域)	Coagtrol IIX (異常域)
平均 (秒)	26.6	64.8
SD (秒)	0.20	1.79
CV (%)	0.74	2.77

を許容範囲としたとき、冬季（測定時湿度16.5～23.5%、平均19.9%）におけるオンボード安定性は、正常域血漿では9日目まで、異常域血漿では4日目まで、許容範囲内であった（図1-A）。夏季（測定時湿度25.0～33.5%、平均28.4%）は正常域血漿で11日目まで、異常域血漿で8日目まで許容範囲内であった（図1-B）。

4) 正確さ

正常域血漿では、Min 25.9秒、Max 26.2秒、異

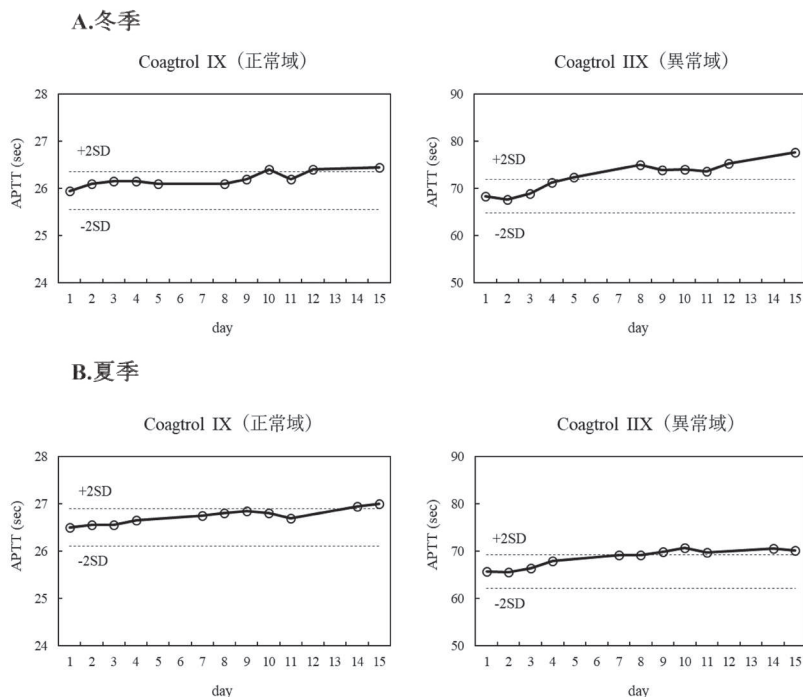


図1. オンボード安定性

表3. 正確さ

	コントロール血漿N (正常域)	コントロール血漿P (異常域)
表示値(下限-上限) (秒)	26.3 (22.4-30.2)	55.6 (44.5-66.7)
平均 (秒)	26.1	55.6
SD (秒)	0.11	0.38
CV (%)	0.41	0.69
Min (秒)	25.9	54.7
Max (秒)	26.2	56.0
Range (秒)	0.3	1.3

常域血漿では、Min 54.7秒、Max 56.0秒であり、測定値はすべて許容範囲内であった(表3)。

5) 相関性

①全検体

患者検体56件による対照試薬トロンボチェックAPTT-SLA (x) と検討試薬レボヘム™APTT SLA (y) の回帰式は、 $y = 0.81x + 3.12$ ($r = 0.917$) であった(図2)。Bland-Altman分析結果ではAPTTが延長するに伴い、レボヘム™APTT SLA とトロンボチェックAPTT-SLAの測定値の差が大きくなった。

②検体種別

検体種別の回帰式はそれぞれ、LA陽性検体： $y = 1.80x - 17.14$ ($r = 0.825$) (図3A)、未分画ヘパリン使用検体： $y = 1.27x - 12.75$ ($r = 0.970$) (図3B)、第VIII因子欠乏検体： $y = 1.34x - 12.73$ ($r = 0.998$) (図3C)、第IX因子欠乏検体： $y = 1.64x - 13.41$ ($r = 0.999$) (図3D) となった。上記すべての検体種でBland-Altman分析結果は、APTTが延長するに伴いレボヘム™APTT SLAの秒数がトロンボチェックAPTT-SLAと比較して延長していた(図3A-D)。また、これらを除いた47件の回帰式は、 $y = 0.96x + 0.62$ ($r = 0.900$) であった(図3E)。

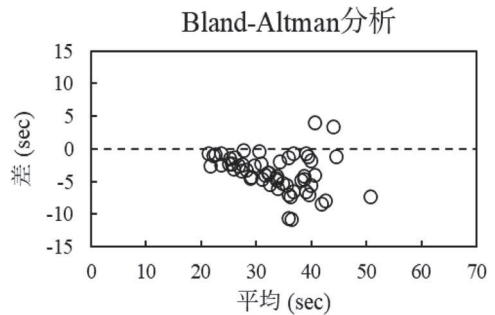
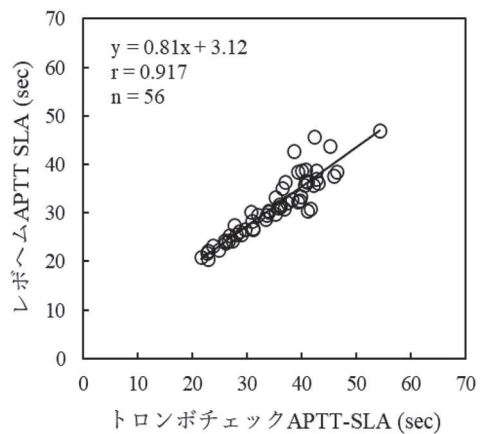


図2. 相関性 (全検体)

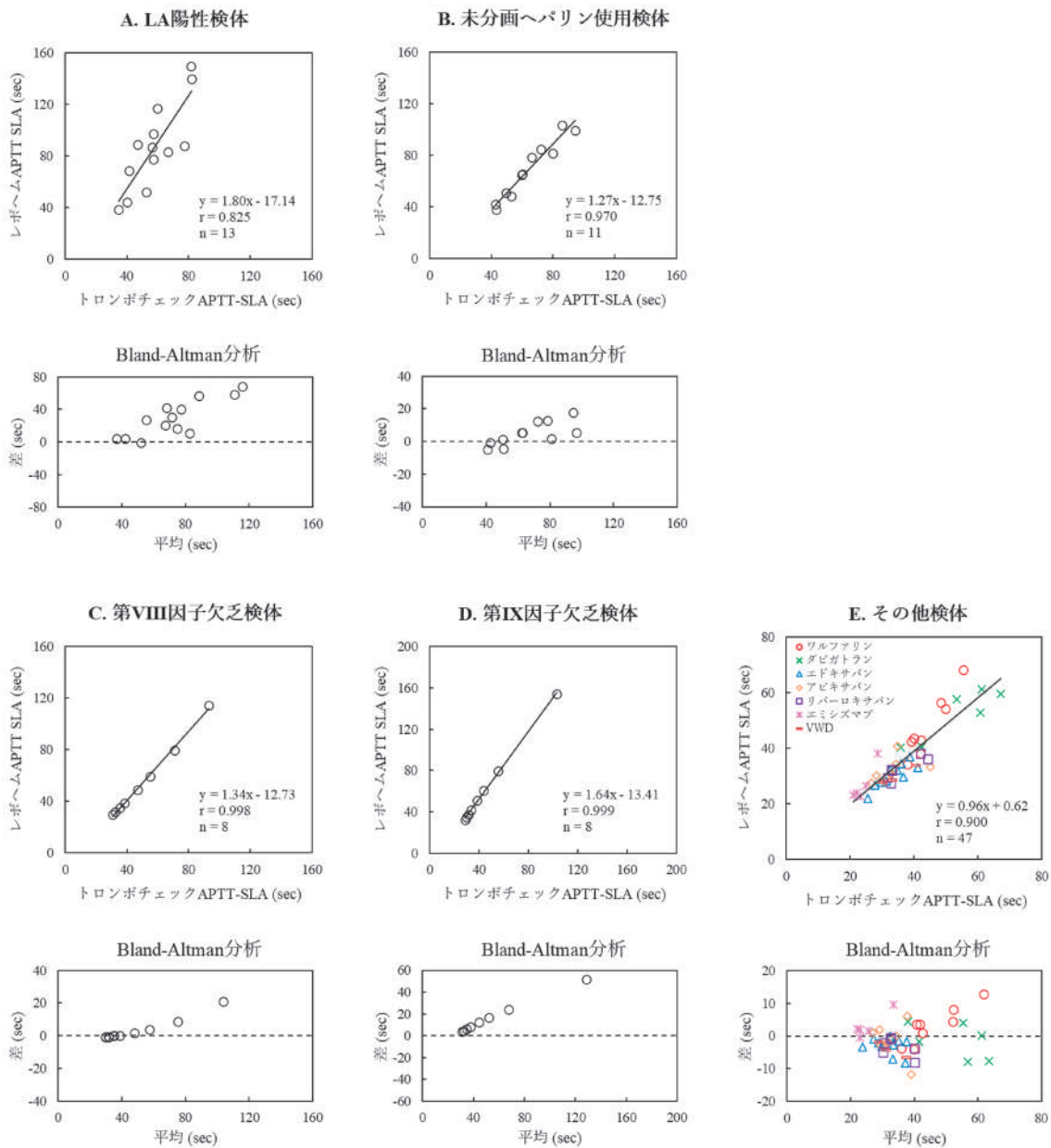


図3. 相関性 (検体種別)

6) LAに関するアドバイスサービス調査

試薬変更前のアドバイスサービス件数は、0.08件/月、試薬変更後は1.08件/月であり、月平均のアドバイスサービス件数は13倍に増加した。アドバイスサービスによって追加オーダーされたLA確認試験の結果は全例陽性であった。また、試薬変更前後の平均APTT秒数は、それぞれ58.2秒、74.1秒であり、試薬変更後は試薬変更前の1.25倍の延長がみられた。試薬変更前には非アドバイスサービス者9名によるアドバイスサービスの件数は0件であったが、試薬変更後には非アドバイスサービス者4名で9件のアドバイスサービスが実施され、非アドバイスサービス者によるアドバイスサービス件数は大幅な増加を認めた。(表4)。アドバイスサービスが有用であった1症例を以下に記す。

〈症例〉

60代女性、右乳癌の術前評価にてAPTT 54.6秒と延長がみられた。アドバイスサービス者は依頼医に電話連絡し、APTTの延長はLAの存在が示唆されることを伝え、LAの確認試験の追加依頼を勧めた。追加依頼されたLA確認試験を実施したところLA陽性であった。心筋梗塞の既往があったことから、術後に血栓予防目的でワルファリン

カリウムが投与された。

【考察】

レボヘム™APTT SLAは、試薬組成であるリン脂質の混合比を適正化し、活性化剤であるエラグ酸と金属イオンの錯体を均質化することでヘパリンやLAに対する感受性を高めることを目的として、2019年9月に発売された。我々は、当院で使用していたトロンボチェックAPTT-SLAの販売中止に伴い、レボヘム™APTT SLAの基礎的性能評価を行った。

レボヘム™APTT SLAの管理血漿を用いた併行精度のCVは1.25%以下、室内再現精度のCVは2.77%以下、正確さは全て許容範囲内に収まり良好な結果を示した。LA検体を用いた2試薬の相関解析では高い相関を示し、Bland-Altman分析結果はAPTTが延長するに伴いレボヘム™APTT SLAの秒数がトロンボチェックAPTT-SLAと比較して延長していたため、LAスクリーニング検査として高い感受性を示すことが明らかとなった。したがって、レボヘム™APTT SLAは日常検査を行う上で十分な性能を有していることが確認された。

オンボード安定性は、正常域血漿において9日

表4. LAに関するアドバイスサービス

集計期間	試薬変更前	試薬変更後
	(トロンボチェックAPTT-SLA)	(レボヘムAPTT SLA)
	2019年7月～2023年6月	2023年7月～2024年8月
	(48か月)	(13か月)
LA陽性件数/アドバイス件数	4件/4件	14件/14件
1か月あたり件数	0.08件/月	1.08件/月
アドバイス件数/ アドバイスサービス者	4件/2名	5件/2名
アドバイス件数/ 非アドバイスサービス者	0件/9名	9件/4名
平均APTT秒数	58.1秒	74.1秒

目まで許容されたが、異常域血漿では5日目で許容範囲を逸脱した。異常域血漿の結果は既報^{6) 7)}と比較し若干短いものの、長期休暇時のオンボード搭載を想定した場合でも安定しているため、日常使用の性能を十分有していることが証明された。

一方、CS-5100は、試薬庫の冷却機能を有し、一定の温度を保つことはできるが、試薬使用時に試薬蓋を自動で開閉する機能はない。そのため、使用環境の湿度が低いほど、試薬の濃縮による劣化を進行させオンボード安定性に影響を与える可能性がある。本調査時は冬季であり、測定環境の湿度は16.5~23.5%と低く、CS-5100使用環境条件下限の30%を大きく下回っていた。そこで、月平均湿度が30%に近づく夏季(湿度25.0~33.5%)に再試験を実施した結果、冬季と同様に経時的な上昇トレンドを示したが、その変動は緩やかで、正常域血漿で11日目および異常域血漿で8日目まで許容範囲を逸脱しなかった。当院のように冬季と夏季で検査室内の湿度が異なる施設ではオンボード安定性が異なるため、試薬蓋を自動で開閉する機能が無い機種で使用する場合、湿度が低い時期は精度管理に十分な注意を払う必要がある。

現在APTT試薬は多数存在し、それぞれの試薬はLA、未分画ヘパリン、および凝固因子の感受性に違いがある³⁾。したがって、使用試薬の特性を理解して結果解釈することが重要である。そこで今回の検討では、レボヘム™ APTT SLAと対照試薬であるトロンボチェックAPTT-SLAの相関性をLA陽性検体、未分画ヘパリン使用検体、第VIII因子欠乏検体、第IX因子欠乏検体に分けて調べた。その結果、相関係数はすべての検体種で0.8以上と良好な結果が得られた。また、これらの回帰式の傾きは全て1.1を超えることから、レボヘム™ APTT SLAは対照試薬と比較して、LA、未分画ヘパリン、第VIII因子、第IX因子欠乏に対して感受性が高いことが示された。本試薬は、LA検出率の向上だけでなく、血友病患者の重症度判定や補充療法モニタリングにおいても、対照試薬よ

りも臨床に貢献する可能性を示している。

一方で、未分画ヘパリンの抗凝固能モニタリングは、一般的にAPTT値を正常の1.5~2.0倍にコントロールすることが推奨されているため^{8) 9) 10)}、未分画ヘパリン使用検体に対するAPTT結果解釈はより慎重な判断が求められる。APTTは、標準化を目的とした標準品は存在せず、コンセンサスが得られた有効な解決策もないため、本検討結果と同様に、検討試薬と測定値に差が見られることは、しばしば報告されている^{6) 11) 12)}。したがって、測定試薬により結果解釈に少なからず影響を与えることから、試薬変更時には変更に伴う利点と欠点を、自施設のデータを用いて事前に医師へ、詳細かつ丁寧に説明することが重要であり、結果解釈のアドバイスも必要である。

LA保有者は血栓傾向を示すことがあるが、無症状の場合もあり¹³⁾、術前の凝固スクリーニング検査で偶然発見されることがある^{14) 15)}。当院の検査部ではAPTT延長を基にLAに関するアドバイスサービスを提供している。試薬をトロンボチェックAPTT-SLAからレボヘム™ APTT SLAに変更した結果、48か月で4件であったアドバイスサービスの件数が、試薬変更後の13か月間で14件に増加し、月平均の報告件数は13倍に向上していた。アドバイスサービス実施時の平均APTT秒数は、試薬変更前58.1秒から変更後の74.1秒に延長しており、レボヘム™ APTT SLAのLAにする感受性の高さが、アドバイスサービス件数の増加に寄与したと考えた。さらに、追加実施されたLA確認試験は全例で陽性であり、アドバイスサービスは臨床的に有効であった。また、当検査室の非アドバイスサービス者が実施したアドバイスサービス件数は、試薬変更前が0件(48か月間)であったのに対し、試薬変更後は9件(13か月間)と大幅に増加していた。それら9件のアドバイスサービスは4名の非アドバイスサービス者によって実施された。このことから、レボヘム™ APTT SLAへの試薬変更により、経験の浅い要員においてもLA保有を疑うことが容易になったと推察さ

れた。今回、アドバイスサービスにより、抗凝固薬の開始や、周術期管理に影響を与えた症例も確認された。このように、診療科に積極的に検査情報発信をすることで、患者により良い医療を提供できることが示された。

【結語】

レボヘム™APTT SLAの基礎的性能は優れており、トロンボチェックAPTT-SLA測定結果と良好な相関性が得られた。一方、検体種別によって感受性は異なるため、臨床現場への詳細な事前説明とアドバイスサービスを活用した結果解釈の支援は必要である。レボヘム™APTT SLAは、トロンボチェックAPTT-SLAと比較し、LA感受性が向上しているため経験の浅い要員においても効果的なアドバイスサービスを提供できる試薬として期待された。

【利益相反状態】

共著者は本論文に関して、開示すべき利益相反は無い。

【参考文献】

- 1) Arif H Kamal, et al.: How to interpret and pursue an abnormal prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and bleeding time in adults. *Mayo Clin Proc*, 82 (7):864-73, 2007
- 2) Devreese KMJ, et al.: Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection and interpretation, *Thromb Haemost*, 18 (11):2, 2020
- 3) Emmanuel J Favaloro, et al.: How to Optimize Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Testing: Solutions to Establishing and Verifying Normal Reference Intervals and Assessing APTT Reagents for Sensitivity to Heparin, Lupus Anticoagulant, and Clotting Factors, *Semin Thromb Hemost*, 45 (1):22-35,2019
- 4) 松田将門：凝固検査「解決したい課題」APTTの標準化は何故難しいのか?、*日本臨床検査医学会誌*、72巻5号：372-383、2024
- 5) 山崎 哲 他：APTTの現状と標準化に向けた課題、*生物試料分析*、32巻5号、365-370、2009
- 6) 下村大樹 他：全自動血液凝固測定装置CN-6000における活性化部分トロンボプラスチン時間キット レボヘム™APTT SLAの基礎的検討、*Sysmex Jornal Web Volume22 No.2:31-48*、2021
- 7) 山崎あずさ 他：全自動血液凝固測定装置CS-5100を用いた活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) 測定試薬「レボヘムAPTT SLA」の基礎的性能評価およびループスアンチコアグラント感受性に着目した相関乖離検体の解析、*医療検査と自動化*、46 (3)：208-214、2021
- 8) Blann, A.D. et al.: ABC of antithrombotic therapy: An overview of antithrombotic therapy, *Br. Med. Assoc*, 325:762-765, 2002
- 9) Bussey, H. et al: Heparin overview and issues, *Pharmacotherapy*, 24:103-107, 2004
- 10) Appert-Flory, A. et al.: Monitoring unfractionated heparin treatments. stability of plasma anti-Xa activity up to 4 h in citrated tubes. *Blood*, 134: 3403, 2019
- 11) 内藤澄悦 他：ヘパリン治療のモニタリングにおける種々のAPTT試薬およびヘパリン投与量の相関性に関する検討、*日本検査血液学会雑誌*、13 (2)：160-166、2012
- 12) 柏井伸幸 他：ヘパリン投与例におけるAPTT試薬の反応性に関する検討、*多根総合病院医学雑誌*、11巻：119-24、2022

- 13) V Pengo, et al.: A Comparison of Lupus Anticoagulant-Positive Patients With Clinical Picture of Antiphospholipid Syndrome and Those Without, Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, Volume27, Number12, Am Heart Assoc, 2007
- 14) 戸田大作 他：血漿中ループスアンチコアグ
ラント陽性胸腺腫の1例、日本臨床外科学
会雑誌66巻6号：1287-1290、2005
- 15) 東澤知輝 他：術前一般検査で活性化部分ト
ロンボプラスチン時間の延長のみを認めた
2症例 血栓性素因と出血傾向、日本臨床
麻酔学会誌、24巻2号：95-98、2004

在宅医療廃棄物の廃棄と回収に関する施設間差の現状 －国立大学病院における「自己血糖などの針の廃棄に関するアンケート」調査の結果－

千葉大学医学部附属病院 検査部

青木 杏未、川崎 健治、石井 恵子、今泉 優理
藤代 綾子、渡部 俊之、松下 一之

【要旨】

血糖値の測定やインスリンの自己注射等が自宅などで行われるようになり、在宅医療は大きく進展したが、在宅医療廃棄物の不適正な廃棄による針刺しなどの事故が社会的な課題になっている。鋭利な医療廃棄物を回収しない自治体が多いため、医療機関や薬局による回収が行われている。今後の在宅医療廃棄物の回収のあり方について検討するため、国立大学病院を対象に自己血糖などの針の廃棄に関するアンケート調査を行った。回答が寄せられた30施設は院内回収を行っていた。回収場所は診療科外来のみ回収が最多で、回収容器はペットボトルが最多であった。患者ニーズは廃棄の利便性であり来院後すぐに立ち寄ることができる場所に廃棄することを望んでいるが、多くの施設は安全性と患者への教育を優先していた。施設内の医療廃棄物の回収方法や回収容器を統一することは、医療スタッフ、回収業者および患者の安全確保につながることを期待できる。

【keywords】

在宅医療廃棄物、自己血糖測定、針の廃棄、医療安全、アンケート調査

【はじめに】

血糖値の測定などの自己管理が自宅や公共の場で行われるようになり、糖尿病治療は大きく進展した。しかし、在宅医療廃棄物の不適正な廃棄による針刺し事故や感染事故が報告されており社会的な課題が生まれている¹⁾。国内の多くの自治体では自己血糖測定や自己注射に用いる針などの鋭利な医療廃棄物は家庭ごみとして回収せず、かかりつけの医療機関や薬局等で回収している^{2~5)}。在宅医療廃棄物の問題は1986年の診療報酬改定によってインスリンの自己注射の患者に限り在宅による自己血糖測定が保険適用になり、その後、インスリン非使用者でHbA1cが8%を超える2型糖尿病患者の自己血糖測定指導加算が認められるなど疾病の自己管理が進めら

れてきたことにより社会問題として表面化してきた。現在ではインスリン製剤やGLP-1受容体作動薬の注射薬を使用や妊娠中の糖尿病患者の一部でも自己血糖測定指導加算が可能になっており、国内に数百万人がこれらの保険診療を受けている。今後も慢性疾患や生活習慣病が疾病全体の中で大きな割合を占めていくことから、在宅医療廃棄物の廃棄について考えていく必要がある。

千葉大学医学部附属病院（以下、当院）では、患者は自分自身で用意したペットボトルなどの空容器に廃棄物を入れ、その容器を外来受診時に持参し、当該診療科で回収している。患者からは総合受付や採血室などの来院後すぐに立ち寄ることが可能な場所で回収を望む声がある。国内では中央処置室などで収集と回収を行っている施設の報

告がある⁶⁾。そこで我々は今後の在宅医療廃棄物の回収のあり方について検討するため、国立大病院44施設を対象に自己血糖などの針の廃棄に関するアンケート調査を行ったので報告する。

【対象及び方法】

2022年1月から2月までの間に全国の国立大病院検査部宛てに自己血糖などの針の廃棄に関するアンケート調査の協力を依頼した。アンケートの項目は「針の院内回収の有無」「回収場所」「回収方法」「針捨て容器」「自由記載欄」の5項目とした(図1)。

【結果】

44施設のうち30施設から回答があり、回答率

は65.9%であった。回答があったすべての施設で自己血糖などに使用した針は施設に持ってくるように指導しており、院内で回収を行っていない施設は無かった。

回収場所は診療科外来のみで回収を行っている施設が20施設(66.7%)と最も多く、次いで採血室のみで回収を行っている施設が2施設(6.7%)、診療科外来および採血室で回収を行っている施設が2施設(6.7%)、診療科外来およびその他の場所で回収を行っている施設が2施設(6.7%)、その他の場所で回収している施設が4施設(13.3%)であった(図2)。その他の場所の内訳は総合案内、中央処置室、処置室受付、正面玄関横の薬剤部、在宅療養相談受付であった。

<p style="text-align: center;">調査票（自己血糖などの針の廃棄について）</p> <p style="text-align: center;">Q1からQ5までの設問にご回答をよろしく願っています。</p> <p>貴病院名 所属部署名 担当者名 TEL E-mail</p> <p style="text-align: center;">FAX</p> <p><u>針の廃棄について</u></p> <p>Q1. 自己血糖測定器などの使用済みの針は病院に持ってくるよう指導されていますか。</p> <p>A1 病院に持ってきていただいている。 →Q2へ</p> <p>A2 病院では回収していない。 →どちらで回収していますか。 自治体・薬局・わからない・その他()</p> <p>→Q5へ</p> <p>A1と回答したご施設はQ2からQ4までお答えください。</p> <p><u>回収場所について</u></p> <p>Q2-1. 回収場所を以下から選択してください(複数回答可)。</p> <p>A3 すべての診療科外来で回収している。</p> <p>A4 一部の診療科外来で回収している。 →どちらの診療科外来で回収していますか。 糖尿病内分泌内科外来、小児科外来、その他()</p> <p>A5 採血室または採血受付で回収している。</p> <p>A6 外来の待合</p> <p>A7 総合受付</p> <p>A8 その他()</p> <p>Q2-2. 病院内の回収場所は何か所ですか。 所</p>	<p><u>回収方法について</u></p> <p>Q3. どのように回収していますか。</p> <p>A7 針の入った容器をスタッフに手渡す。</p> <p>A8 感染性廃棄用の足踏み廃棄ボックスを設置し、患者自身が廃棄する。</p> <p>A9 郵便ポストのような廃棄ポストを設置し、患者自身が廃棄する。 → 自家製である。 製品である。 (差し支えなければ製品名とメーカーをお教えください) 製品名: メーカー:</p> <p>A10 その他()</p> <p><u>針捨て容器について</u></p> <p>Q4. 針捨て容器はどのようなものをお使いですか。</p> <p>A11 ペットボトルを患者自身で用意して針捨て容器としている。</p> <p>A12 市販の針捨て容器を病院経費で買っている。</p> <p>A13 市販の針捨て容器を患者負担で購入している。</p> <p>A14 その他()</p> <p>Q5. 自己血糖などの針の廃棄についてお困りのこと・ご意見がございましたらご記入ください。</p> <p style="text-align: center;">調査にご協力いただきありがとうございます。</p>
--	--

図1. 本調査で使用したアンケート用紙

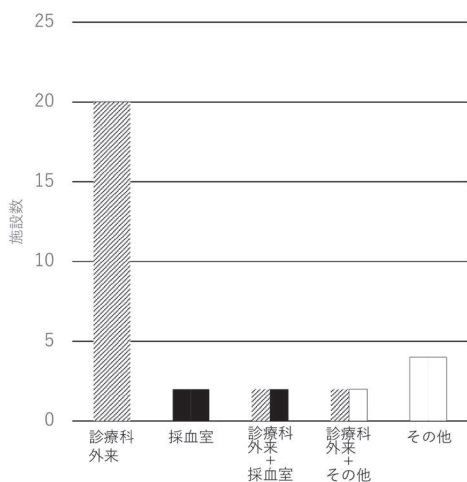


図2. 使用済み注射針の回収場所と施設数

診療科外来のみで回収を行っている施設のうちのすべての診療科外来で回収している施設が10施設(34.5%)、一部の診療科外来で回収している施設が10施設(34.5%)であった。一部の診療科外来の内訳は糖尿病内分泌内科が最も多く、小児科、整形外科が続いていた(表1)。

表1. 一部の診療科内訳と施設数(複数回答可)

糖尿病内分泌内科	10
小児科	6
整形外科	2
外科	1
皮膚科	1
耳鼻科	1
産婦人科	1
化学療法室	1

回収方法は、手渡ししない方法として足踏みボックスとポスト型ボックスが使われていた。足踏みボックスのみで回収している施設が12施設で全体の40%であった。ポスト型ボックスのみが2施設(6.7%)、足踏みボックスとポスト型ボックスが1施設(2.3%)で手渡ししない施設は計49%であった。手渡しによる回収のみが4施設

(13.3%)、足踏みボックスと手渡しによる回収の併用が8施設(27%)、ポスト型ボックスと手渡ししが2施設(6.7%)、手渡しとその他の方法の併用が1施設(2.3%)、未回答が1施設(1.7%)であった(図3)。手渡しをする施設は計49.3%であった。その他の方法で回収を行っている1施設では患者が廃棄物をかごに入れ、その後医療者が回収し、耐貫通性ボックスに廃棄していた。

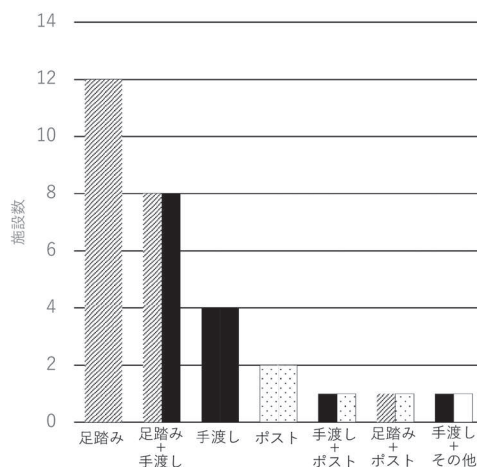


図3. 使用済み注射針の回収方法と施設数

針捨て容器は空きペットボトルを使用している施設が14施設(46.7%)、市販の容器を使用している施設が6施設(20%)、空きペットボトルまたは市販の容器を使用している施設が2施設(6.2%)、空きペットボトルまたはその他の容器を使用している施設が2施設(6.2%)、市販の容器またはその他の容器を使用している施設が1施設(3.3%)、空きペットボトル・市販の容器・その他の容器いずれでも使用可能な施設が1施設(3.3%)、その他の容器のみを使用している施設は4施設(13.3%)であった(図4)。その他の容器の内訳は業者から提供された容器、硬質プラスチック、ビン、空き箱であった。

自己血糖などの針の廃棄について困っていること・意見などの自由記載には「針捨ての容器について、ペットボトルなど穴が開かず蓋ができるも

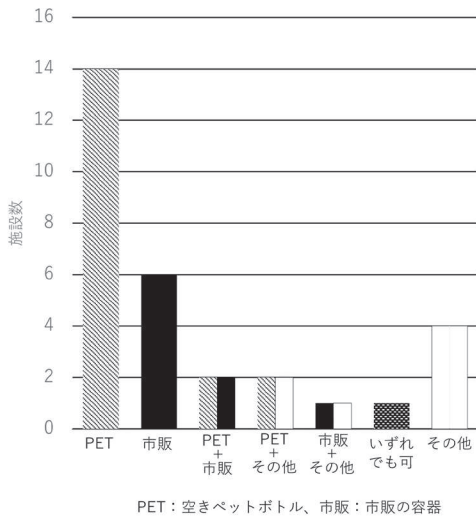


図4. 針捨て容器の種類と施設数

ので指導しているが守ってもらえない患者もおり回収の際に針刺しの危険がある。」「それぞれの部署によって場所や方法が異なるので煩雑となる。」「ペットボトル等の最低限針を通さない容器を用意するようお願いしているが、ナイロン袋に入れて持ってくる患者がいる。」「容器を病院側で用意するよう要望されることがある。」の記載があった。

【考察】

在宅医療廃棄物の不適正な廃棄による針刺し事故や感染事故の防止は社会的な課題になっている。国内の多くの自治体では自己血糖測定や自己注射に用いる針などの鋭利な医療廃棄物は家庭ごみとして回収せず、かかりつけの医療機関や薬局等で回収しており、当院でも診療科の外来で回収している。患者ニーズを正確に捉えていないという声を発端に全国の国立大学病院を対象に針の廃棄に関するアンケート調査を行った。回答数は65.9%と国内の大学病院の状況を解析する上で十分な回答数であったため解析を進めた。

回収場所の集計結果から来院後すぐに捨てることのできる総合案内や正面玄関横の薬剤部な

どの場所に廃棄ボックスを設置している施設はあるが⁷⁾、当院と同様に診療科の外来で回収している施設が最多であった。針捨て容器は空きペットボトルを使用している施設が14施設(46.7%)で最多であった。患者または病院の費用負担を考慮してペットボトルや缶、ビンなどの日常的に手に入るもの、かつ貫通性の低いものを利用していた。千葉市を含め国内の各自治体は最寄りの院外薬局による回収を勧めている⁸⁾。病院内で医療廃棄物を受け取る利点は患者に対して指導を直接行うことができることである⁹⁾。診療科の外来で医療廃棄物を受け取ることは患者指導を行う上で最も良い機会になり、不適切な容器に廃棄している患者へその都度声掛けをすることで患者へ適切な廃棄方法を意識付けさせることが出来る¹⁰⁾。荒川の報告によると自己注射治療中の患者のうち約80%は適切な状態で廃棄しているが、ビニール袋や紙素材の箱などの貫通の危険がある状態で廃棄している患者は20%程度存在していた¹¹⁾。院外薬局や院内回収は医療廃棄物の一次回収に過ぎず、不適切な廃棄容器の使用は回収業者の針刺し事故につながり思わぬ感染を引き起こす恐れがあるため、医療従事者から患者への適切な声かけが必要である。

回収方法は全体の約49%が足踏みボックスやポスト型ボックスなどの手を介さない回収方法を選択し、全体の約49.3%が手渡しのみまたは手渡しと手を介さない方法を併用していた。ほぼ半数に分かれたことは興味深く、医療従事者が廃棄物を確認できることを優先させるか、利便性や安全性を優先させるかによって判断されていると考えた。足踏みボックスの利用は医療廃棄物を安全に回収することを優先しているが、汚染エリアに設置しなければならないため、患者が立ち入るエリアとのゾーニングが課題になる。特に総合案内や会計などの来院してすぐに立ち寄ることが出来るエリアは非汚染エリアになっていることが多いため、足踏みボックスを設置するには施設内の調整が必要になる。

当院では今後、患者の要望に応じていくために回収場所は診療科に加え、来院後すぐに立ち寄ることができる場所を検討するが、回収方法については診療科で回収する場合は指導のしやすさを考慮して、手渡しでの回収を継続、足踏みボックスは診療科以外の立ち寄りやすい場所に設置し、医療者からの指導が不要な患者に利用してもらう方法を模索していく。回収容器は日常生活で手に入りやすい空ペットボトルを使用することが最善であると考えた。

アンケート調査により医療廃棄物の回収は、安全性と利便性に加えて医療廃棄物に対する患者教育の重要性が明らかになった。全国的に施設内の医療廃棄物の回収方法や回収容器を統一することは、医療スタッフ、回収業者および患者の安全確保につながることを期待できる^{12) 13)}。

【謝辞】

原稿を終えるにあたり、本調査にご協力いただいた全国国立大学病院の皆様は心より感謝いたします。

【文献】

- 1) 杉藤 素子. 新幹線車内に不適切に廃棄されたインスリン注射針の実態調査 鉄道清掃員の針刺し事故防止対策糖尿病, 61 (12), 2018
- 2) 柏市ホームページ ごみ分別便利ガイド (柏地域版)
(https://www.city.kashiwa.lg.jp/kankyoservice/garbage_environment/kashiwaarea/guide-k/k_002.html) (2024.8.28参照)
- 3) 船橋市ホームページ 在宅医療廃棄物の出し方
(<https://www.city.funabashi.lg.jp/kurashi/gomi/003/p001519.html>) (2024.8.28参照)
- 4) 鹿児島市ホームページ 在宅医療廃棄物の出し方
(<https://www.city.kagoshima.lg.jp/shigenseisaku/zaitakuiryu.html>) (2024.8.28参照)

- 5) 在宅医療廃棄物の適正処理に関する検討会 (2013) 在宅医療廃棄物の適正処理に関する検討会とりまとめ 平成25年11月 東京都環境局
- 6) 久松 香. 糖尿病患者における在宅自己注射にともなう医療廃棄物処理方法について (第2報) 外来看護師が行う適正化への取り組み. 岐阜赤十字病院医学雑誌, 27 (1), 65-67, 2016
- 7) 日本赤十字社愛知医療センター名古屋第二病院ホームページ 在宅医療廃棄物について (<https://www.nagoya2.jrc.or.jp/patient/zaitakuiryouhaikibutsunitsuite/>) (2024.8.28参照)
- 8) 千葉市ホームページ 使用済み注射針などの回収
(<https://www.city.chiba.jp/kankyo/junkan/shushugyomu/zaitakuiryogomi.html>) (2024.8.28参照)
- 9) 西村 瑞穂. 在宅使用済み自己注射針の回収方法の改善について－針刺し事故防止対策－, 日本環境感染学会誌, 23 (3), 192-195, 2008
- 10) 久松 香. 当院における在宅自己注射患者の医療廃棄物処理方法の現状と課題, 岐阜赤十字病院医学雑誌, 26 (1), 37-40, 2015
- 11) 荒川 将之. 自己注射による糖尿病治療に伴う医療廃棄物の廃棄に関する検討 当院通院中の患者の廃棄状況と近隣自治体の廃棄方針・対応. 糖尿病ケア, 12 (10), 996-1002, 2015.
- 12) 木内 亮子. 使用済注射針回収容器の啓蒙活動を通じて安全な針の回収をめざす. 日本医療マネジメント学会雑誌, 24巻Suppl, 252, 2023.
- 13) 安岐 倫代. 糖尿病在宅医療廃棄物の処分に関する患者実態調査. 糖尿病, 65巻Suppl, 1, S-190, 2022.

血液培養から*Dialister pneumosintes*が分離された一症例

千葉大学医学部附属病院 検査部

土田 知 央、宮 部 安規子、瀬 川 俊 介、鈴 木 眞
山 下 晃 司、藤 川 樹、川 崎 健 治、松 下 一 之

【要旨】

症例は70歳代女性。悪寒、嘔吐、食思不振、発熱から急性胆嚢炎が疑われ、当院消化器内科に緊急入院した。入院時血液培養のうち、嫌気ボトルが培養44時間で陽転し、アネロコロンピアウサギ血液培地（日本BD）での培養で、極微小の透明なコロニーが観察され、質量分析と16S rRNA遺伝子解析によって*Dialister pneumosintes*と同定された。本菌は*Veillonella*科に属し、腸管、口腔内、膣などに常在する偏性嫌気性グラム陰性桿菌である。*Dialister*属はヒトに対する病原性については不明な点が多い。本菌の症例報告は2002年から2023年の間で、国内外から12報14症例とまれである。本菌は発育が遅く、全自動同定感受性装置の同定可能菌種に含まれておらず、現状は質量分析や16S rRNA遺伝子解析による同定のためのために症例報告数が少ないことが予想される。今後はより多くの症例情報を蓄積し、ヒトへの病原性の有無や薬剤感受性検査法の確立を行うことが必要である。

【keyword】

Dialister pneumosintes、菌血症、急性胆嚢炎

【はじめに】

*Dialister pneumosintes*は*Veillonella*科に属し、腸管、口腔内、膣などに常在する偏性嫌気性グラム陰性桿菌である。*Dialister*属は2024年7月現在7菌種が登録されている¹⁾が、ヒトに対する病原性については不明な点が多い。今回我々は血液培養から*D. pneumosintes*を検出した症例を経験したので報告する。

【症例】

70歳代女性で2型糖尿病を基礎疾患に持ち、20XX年10月に急性胆石性胆嚢炎による敗血症性ショックから入院加療を経て退院した。同年11月に悪寒、嘔吐、食思不振と39℃の発熱を認め、急性胆嚢炎の再燃が疑われ、千葉大学医学部附属病

院（以下当院）消化器内科に緊急入院となった。入院時に血液培養を採取後、Cefepim（CFPM）とMetronidazole（MNZ）で抗菌薬治療が行われた。病日数と検査所見を示す（表1）。

表1. 病日数と検査所見

	第1病日	第4病日	第6病日	第11病日
体温（℃）	38.5	37.2	36.1	36.4
WBC(×10 ³ /μL)	21.7	10.9	7.0	6.5
RBC(×10 ⁶ /μL)	3.64	3.15	3.23	3.55
CRP(mg/dL)	28.87	24.75	7.98	0.34
プロカルシトニン (ng/mL)	5.00	2.62	0.99	—
AST(U/L)	11	19	14	22
ALT(U/L)	7	8	7	7
γ-GT(U/L)	42	39	42	60
T-Bil(mg/dL)	1.9	0.5	0.4	0.3
C-Bil(mg/dL)	0.4	0.1	0.1	0.0

第1病日では体温38.5℃、WBC $21.7 \times 10^3/\mu\text{L}$ 、CRP 28.87 mg/dL、プロカルシトニン 5.00 ng/mLとなり、細菌感染による炎症が疑われる検査値の上昇が認められた。また急性胆嚢炎による γ -GT 42 U/L、総ビリルビン 1.9 mg/dL、抱合型ビリルビン 0.4 mg/dLの高値が認められた。

第1病日中に胆嚢ドレナージの実施と抗菌薬投与が行われ、第4病日以降は高値を示した各検査項目の値が低下し、回復傾向となり、第11病日に軽快退院となった。

【微生物検査】

採取された血液培養ボトル2セットのうち嫌気ボトル1本が約44時間後に陽転し、グラム染色と各寒天培地による培養を実施した。培地はトリプチケースソイ5%ヒツジ血液寒天培地（日本BD）、ポアメディアドリガルスキー改良培地（栄研化学）、BYチョコレート寒天培地（日本BD）の3種類を7%CO₂環境下で35℃培養、アネロコロンビアウサギ血液培地（日本BD）は35℃嫌気培養を行った。

グラム染色では、極微小な2～4連の連鎖状の陰性球桿菌が認められ（図1）、アネロコロンビア培地から2日目に極微小の透明なコロニーが発育した（図2）。

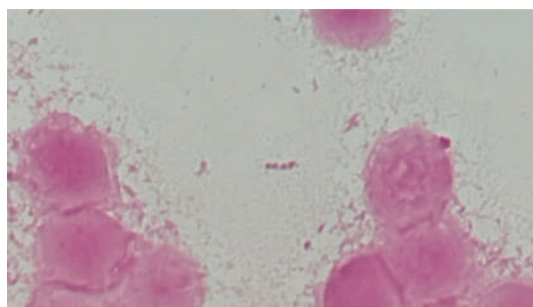


図1. 連鎖状の陰性球桿菌



図2. アネロコロンビア培地コロニー

この発育したコロニーを用いて、質量分析装置Maldi Biotyper (Ver.13.0.0.0, 12438 MSPs) (Bruker Daltonics) と16S rRNA遺伝子解析による菌種の同定と、微量液体希釈法による薬剤感受性検査を実施した。

質量分析装置による結果は、*D. pneumosintes* でScore Value 2.25となり、16S rRNA遺伝子解析の結果は、*D. pneumosintes*と100%の相同性が示された。以上の結果から検出された細菌は*D. pneumosintes*と同定された。

薬剤感受性検査はドライプレート‘栄研’DP53（栄研化学）に（LF-H）嫌気性菌MIC測定用Oブロス（日研生物）で調整した菌液を分注した。また文献²⁾より発育に時間と栄養を要することを考慮し、ストレプトヘモ・サプリメント（栄研化学）を添加し分注したプレートも用意して検査を実施した。

培養48時間後の判定時では菌の発育が認められず、96時間まで延長した。しかしGrows control wellを含めた全てのウェルに発育が認められず、薬剤感受性検査は判定不可能となった。過去の症例報告²⁾ではE test（ピオメリュウ・ジャパン）による薬剤感受性検査が実施されていたため、その結果を参考に、表2に記載した（表2）。

表 2. E testによる薬剤感受性検査

薬剤	MIC値(μg/mL)	
	症例1	症例2
Penicillin	0.12	-
Ceftriaxone	0.25	0.5
Imipenem	0.12	0.06
Levofloxacin	0.06	-
Clindamycin	0.12	-
Metronidazole	2	1

【考察】

本症例では急性胆嚢炎の炎症所見が確認されたが、胆嚢ドレナージと抗菌薬投与により症状が軽快した。過去の症例報告にある菌株はペニシリン系やMNZに感性を示している²⁾が、これらの抗菌薬に対して高いMICを示した菌株の報告もある³⁾ため、患者の検査所見を注目しておく必要がある。

*D. pneumosintes*は発育が遅く、生化学的性状に

より菌種を同定するAPIシリーズ(バイオメリュー・ジャパン)やVITEK 2 (バイオメリュー・ジャパン)の同定可能菌種に含まれておらず、現状は質量分析や16S rRNA遺伝子解析による方法でしか同定できないために症例報告数が少ないことが予想される。今後はより多くの症例情報を蓄積し、ヒトへの病原性の有無や薬剤感受性検査の確立を行うことが必要である。

【文献】

- 1) LPSN : List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature, <https://www.bacterio.net/>
- 2) 菅沼瑞穂：[症例報告] 血液培養から *Dialister pneumosintes* を分離した 2 症例の細菌学的・臨床的検討、日本臨床微生物学会雑誌、第33巻第2号：21頁～26頁、2023年
- 3) Morio, F. et al. : Antimicrobial Susceptibilities and Clinical Sources of *Dialister Species*. *Antimicrob Agents Chemotherapy*. 51 : 4498–501.2007

交通外傷を契機とした骨髓炎患者から*Fusarium falciforme*を 検出した1例

1) 千葉県がんセンター臨床検査部 2) 千葉県総合救急災害医療センター検査科
深田 結 妃¹⁾、里村 秀行²⁾、網島 麻子²⁾、清宮 朋子²⁾

【要旨】

50歳代、女性。交通外傷によるデグロービング損傷を伴う右脛骨開放骨折を認めた。初期治療から持続的局所抗菌薬灌流（Continuous Local Antibiotics Perfusion：CLAP）療法を施行されていたが、第17病日目のドレーンカテーテル先端培養から綿毛状の集落が認められ、その後受傷部位の創培養からも同様の集落が認められた。分離菌は、ITS領域およびEF1- α 遺伝子の塩基配列により*Fusarium solani* species complexに属する*Fusarium falciforme*と同定された。本菌は土壌や植物に生息することから、従来皮膚科・眼科領域における表在性真菌症の原因菌として知られ^{1~3)}、近年血液疾患などの免疫不全患者における播種性感染症の増加が問題となっている⁴⁾。本症例のように、受傷時に土壌などの環境に曝露した可能性がある場合は、免疫不全患者ではなくとも血流の低下した骨や軟部組織には*Fusarium*感染が成立しうる⁵⁾ ことを考慮に入れて、迅速な検査報告に努めることが必要であると考えられる。

【keywords】

Fusarium falciforme、骨髓炎、CLAP療法、デグロービング損傷

【序文】

Fusarium spp. とは、子囊菌門ボタタケ目に分類される糸状菌であり、鎌状または三日月型の特徴的な多隔壁を有する大分生子を形成する⁶⁾。土壌や植物などの環境中に広汎に生息し、主に角膜や爪における表在性真菌症の原因菌として知られている^{1~3)}。今回、交通外傷によるデグロービング損傷に伴う分節型重症開放骨折を契機とした患者の培養にて*Fusarium falciforme*が分離された骨髓炎の症例を経験したので報告する。

【背景】

デグロービング損傷とは、回転しているローラーやタイヤなどに手足が巻き込まれて、皮膚が全周性に剥がれてしまう外傷のことを言う。腱や

筋肉、骨や関節などが露出することも多いため、土壌汚染を伴う外傷では環境由来の様々な起因微生物によって感染を併発する症例がある。また、多様な受傷形態をとることから欠損の被覆、皮弁、十分なデブリードマンなど抗菌薬や抗真菌薬によらない外科的治療も重要となる。

CLAP療法とは、バイオフィームが形成されやすい血流の乏しい部位に対して、陰圧を用いて局所に高濃度の抗菌薬を灌流させる治療のことである。全身投与では達成できないような高濃度の抗菌薬を感染部位に直接作用させ、抗菌薬の効果を最大限に発揮することができる。骨に対してはintra-Medullary Antibiotics Perfusion (iMAP)、軟部組織に対してはintra-Soft tissue Antibiotics Perfusion (iSAP) があり、iMAPとiSAPをうまく

組み合わせることで局所への抗菌薬の移行や死腔の管理ができることがCLAP療法の利点である⁷⁾。

【症例】

患者：50歳代、女性。

既往歴：糖尿病

現病歴：交通外傷によるデグロビング損傷を伴う右脛骨開放骨折を認めた。受傷当日に髄内釘固定術を行い、CLAP療法、およびドレナージやデブリードマン、皮弁形成術など外科的治療を施行した。

【微生物学的検査】

培養では TSA II 5%ヒツジ血液寒天培地（日本BD、以下血液寒天培地）を使用し、純培養には、ポアメディアサブロー寒天培地（栄研化学）およびポテトデキストロース寒天培地「ニッスイ」（日水製薬）を自家調整したものを使用した。第17病日目のドレインカテーテル先端培養から、塗抹検査で真菌は認められなかったが、培養2日目で血液寒天培地上に綿毛状の集落が発育した。発育した真菌をラクトフェノール・コットンブルー染色（武藤化学）にて観察したところ特徴的な三日月型の多隔壁を有する大分子子がみられた（図1）。その後、スライドカルチャーを開始し第26病日目に三日月型の大分子子が認められ、形態から *Fusarium* spp. と推定した。この時点で初めて β -D-グルカン を測定し 35.0 pg/mL（カットオフ値：20.0 pg/mL 以下）と上昇を認めた。当初、初検出がドレイン検体であったことからコンタミネーションの可能性も考えられたが、第23病日目の創培養の塗抹検査でも同様の糸状菌が確認され（図2）、*Fusarium* spp. が繰り返し検出されたことから起因菌と判断した。

同定および薬剤感受性検査を千葉大学真菌医学研究センターに依頼し、ITS領域⁸⁾ および Elongation Factor - 1 α (EF1- α) 遺伝子の塩基配列により *Fusarium solani* species complex に

属する *Fusarium falciforme* と同定された⁹⁾（図3）。本菌株は、ナショナルバイオリソースプロジェクトの支援の下、千葉大学真菌医学研究センターに IFM 67763 として保存されている。また、薬剤感受性検査では、ほとんどの薬剤に高い MIC 値を示し治療抵抗性と推測されたが、amphotericin B (AMPH-B) は MIC = 1 と比較的低値だった（表1）。

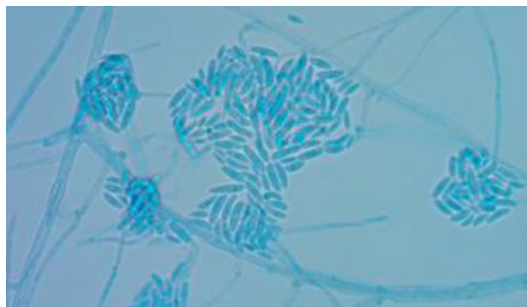


図1. ラクトフェノール・コットンブルー染色像

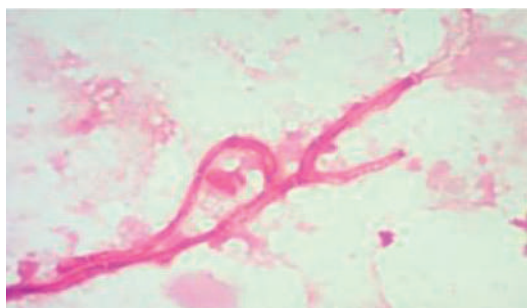


図2. グラム染色像

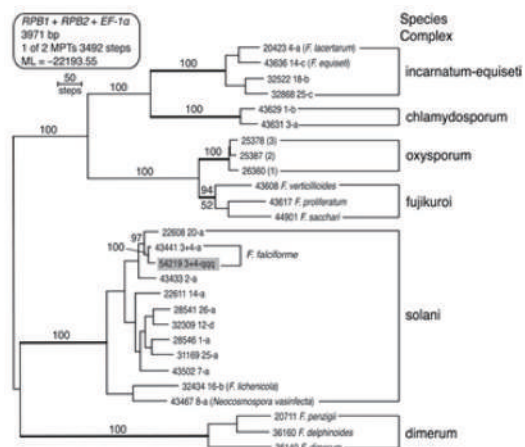


図3. 塩基配列に基づく系統樹

表 1. 薬剤感受性検査

薬剤名	MIC ($\mu\text{g/mL}$)
MCFG	>16
CPFG	16
AMPH	1
5-FC	>64
FLCZ	>64
ITCZ	>8
VRCZ	>8
MCZ	>16

【考察】

1. 感染経路

交通外傷の受傷時に、デグロービング損傷により土壌環境に暴露したことによって本菌に感染したものと考えられた。本菌は植物や野菜、果物などの病原菌として知られる¹⁰⁾ ことから環境由来と考えられる。本症例では交通外傷によるデグロービング損傷に伴う開放骨折後の血流の低下した分節骨片に本菌が付着し、感染が成立したと考えているが、交通外傷に関連した骨髓炎患者で院内での感染を疑う症例の報告もある¹¹⁾ ことから、骨髓炎患者の院内発症の原因菌としても本菌の可能性は考慮にいれておく必要がある。

2. 微生物学的検査

本菌の発育は比較的早く、初検出となった第17病日目のドレーンカテーテル先端の培養2日目にはコロニーの発育が認められた。好気培養に使用していた血液寒天培地に発育してきたコロニーから、培養初期段階で糸状菌であることに気が付いたものの糸状菌で最も代表的な菌種といえる *Aspergillus* spp. を想定していた。当初、コンタミネーションの可能性も考えていたが、第20病日に提出された創培養のグラム染色にて糸状菌が観察されたため起因菌であると考えられた。第17病日目のドレーンカテーテル先端の培養5日目となる第22病日にジャイアントコロニーの形成を目的とした接種を実施し、第26病日に *Fusarium* spp. と推定同定した (図4)。

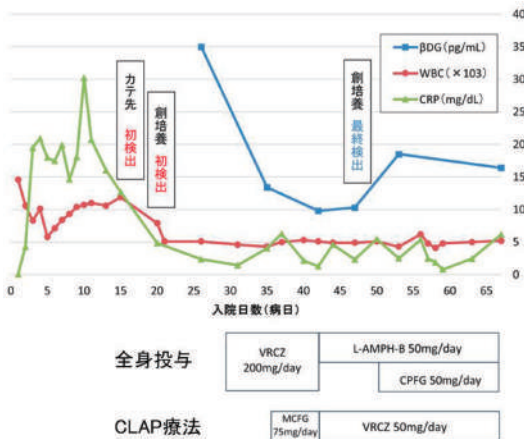


図 4. 治療経過

今回の症例において *Fusarium* spp. と推定同定するまでに時間を要してしまったと考えており、発育の違いを確認するため *Aspergillus fumigatus* の株と、今回分離された *F. falciforme* の株を用いて発育状況を比較した。培養3日目の発育状況は、*Fusarium* spp. の表面は綿毛状であるのに対し、*Aspergillus* spp. は密で顆粒状となる特徴が表れ (図5)、培養7日目になると培養3日目で見られた特徴がより鮮明になる (図6)。全体像をみると、*Fusarium* spp. は拡大性にコロニーを形成し、表面は白色、裏面は褐色を呈する (図7)。*Aspergillus* spp. は表面の色調が白色から緑色に変化している (図8)。本症例での培養は他の細菌の影響を受けずにジャイアントコロニーを作成するため、発育が進むまで待つてから実施したが、その過程で注意深く観察していれば培養5日目となるジャイアントコロニーの接種時点では *Fusarium* spp. の発育における特徴が観察され、*Aspergillus* spp. とは異なる形態を成してきていることに気が付いた可能性はあるが、今回の症例では気が付くことができなかった。

また、当施設は365日24時間検査室が稼働している施設であり、完全シフト制勤務となっている。そのため微生物検査担当者は日替わりであること、検査習熟度に差が生じないように努力はしているものの多少の差異が生じてしまうことは否

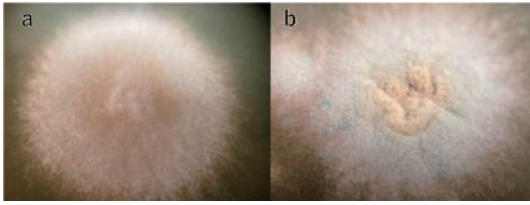


図5. a : *Fusarium* spp. b : *Aspergillus* spp.

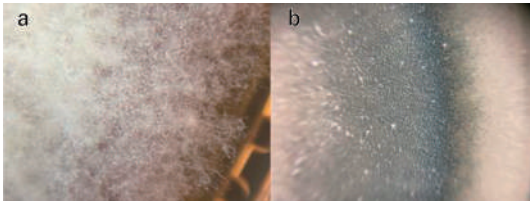


図6. a : *Fusarium* spp. b : *Aspergillus* spp.

めない。施設的な背景も一つの要因として報告が遅れた可能性もあり、今回の症例からの教訓として検査習熟度の向上に努めたい。

3. 治療

抗真菌薬療法として当初、*Aspergillus* spp. を想定し voriconazole (VRCZ) を投与していたが、起因菌として *Fusarium* spp. が考えられたことから、ICTの介入により文献的に感受性があると思われたリポソーマル アムホテリシン B (L-AMPH-B) に変更した。また、抗真菌療法と並行してCLAP療法、ドレナージや創洗浄などの外科的処置等を繰り返し実施した。その後、千葉大学真菌医学研究センターの亀井克彦先生より文献から L-AMPH-B と caspofungin (CPFG) との併用が有効な場合がある^{12~14)} との助言をいただき、第50病日目より併用療法を開始した。

培養における *Fusarium* spp. の最終検出は第47病日目であり、その後検出されなかったことから、外科的処置やCLAP療法に抗真菌薬の併用療法を加えたことによって、本菌に対する抗真菌薬療法は奏功したと考えられた。

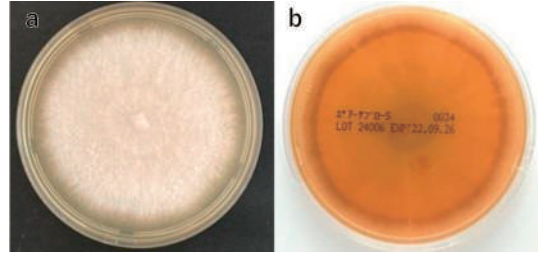


図7. *Fusarium* spp. a : 表面 b : 裏面

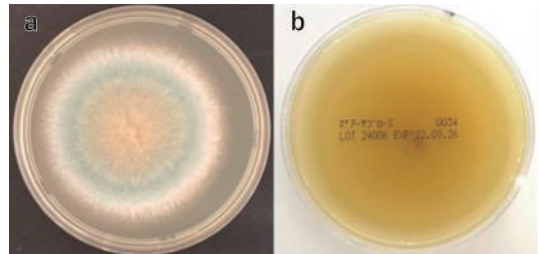


図8. *Aspergillus* spp. a : 表面 b : 裏面

【結語】

Fusarium 症は、難治性で従来の抗真菌薬に対して治療抵抗性があるとされ、本菌株においても各種抗真菌薬に対して高いMIC値を示しており、治療抵抗性と推測されるということは菌種同定の報告とともに臨床側へ迅速に伝えるべき重要な情報である。

本症例のように、受傷時に土壌などの環境に曝露した可能性がある場合は、免疫不全患者ではなくとも血流の低下した骨や軟部組織には *Fusarium* 感染が成立しうる⁵⁾ ことを考慮に入れて検査を進め、迅速報告に努める必要がある。

【謝辞】

菌株の同定・薬剤感受性試験の実施にご協力いただいた千葉大学真菌医学研究センターの矢口貴志先生、亀井克彦先生に深謝致します。

【文献】

- 1) 鐘野勝: 造血幹細胞移植と *Fusarium solani* 感染症, Jpn. J. Med. Mycol, Vol, 44, 187-191, 2003.

- 2) Srilatha Edupuganti *et al.*:*Fusarium falciforme* Vertebral Abscess and Osteomyelitis:Case Report and Molecular Classification, J Clin Microbiol, 49 (6):2350–2353, Jun. 2011.
- 3) Marek Szaliński *et al.*:*Fusarium* Keratitis—Review of Current Treatment Possibilities, J Clin Med, 23;10 (23):5468, Nov. 2021.
- 4) Marcio Nucci, *et al.*:*Fusarium* Infections in Immunocompromised Patients. Clin Microbiol Rev. 20 (4):695–704, Oct. 2007
- 5) Miguel Sierra-Hoffman *et al.*:*Fusarium* osteomyelitis: case report and review of the literature, Scand J Infect Dis. 37 (3):237-40, 2005.
- 6) 青木孝之：*Fusarium*属の分類法, Microbiol. Cult. Coll. 25 (1)：1-12, 2009.
- 7) 圓尾 明弘：持続局所抗菌薬灌流（CLAP）療法の過去，現在と今後の発展性，臨床整形外科 vol.57 No.44, April. 2022.
- 8) DNA塩基配列を用いたカビ・酵母の同定モダンメディア55巻9号 [真菌] 237-242, 2009.
- 9) Journal of Clinical Microbiology, 30 Mar 2011, 49 (6):2350-2353
- 10) 青木孝之：*Fusarium*属菌の分類・種概念と系統学：その発展と現状，解決すべき問題点. 日菌報 56：49 – 67, 2015.
- 11) MA Nuovo *et al.*:*Fusarium solani* osteomyelitis with probable nosocomial spread. Am J Clin Pathol Dec;90 (6):738-41, 1988.
- 12) José-Manuel Vagace *et al.*:Resolution of disseminated fusariosis in a child with acute leukemia. treated with combined antifungal therapy: a case report. BMC Infectious Diseases 7-40, 2007.
- 13) Suguru Uemura *et al.*:Successful Combination Therapy of Liposomal Amphotericin B and Caspofungin for Disseminated Fusariosis in a Pediatric Patient With Acute Lymphoblastic Leukemia. Pediatr Infect Dis J. 37 (10):e251-e253, Oct. 2018.
- 14) Rachael M. Hiebert *et al.*:*Fusarium Osteomyelitis* in a Patient With Pearson Syndrome: Case Report and Review of the Literature. Open Forum Infect Dis. 3 (4):ofw183, Oct. 2016.

パパニコロウ染色細胞診標本からのDNA抽出の試み

¹⁾国際医療福祉大学成田保健医療学部医学検査学科 ²⁾つくば国際大学医療保健学部臨床検査学科
³⁾順天堂大学医療科学部臨床工学科 ⁴⁾国際医療福祉大学大学院医療福祉学研究科
鈴木 宏¹⁾、栗原 亮祐¹⁾、高澤 大翔¹⁾、山口 孝一²⁾、佐藤 正一³⁾
小林 崇平¹⁾、長沢 光章⁴⁾、片山 博徳¹⁾、山口 良考¹⁾

【要旨】

がんゲノム医療では、正確な遺伝子情報の抽出が治療には不可欠である。2018年より、遺伝学的情報に基づいた治療方針（がんゲノム医療）が執り行われている。細胞診標本による診断後に遺伝子検査が必要となった場合、既に作成されている患者同一検体を使用して遺伝子関連検査が実施できれば、検体採取による患者への負担軽減につながる。しかし標本の細胞は固定されており、細胞数も十分ではないことから、染色済みの細胞診標本から遺伝子検査が可能かどうかは不明な点である。

本研究は、パパニコロウ染色された細胞診検体からのDNA抽出を試みた。長時間の水溶液浸透やエタノール沈殿操作等を行う事で、少数の固定化細胞からDNA抽出が可能であることを確認した。これより、がんゲノム医療における患者の負担軽減と効率的な遺伝子情報の取得に貢献する可能性が示唆された。

【キーワード】

細胞診標本、水溶液への長時間浸透、DNA抽出法、がんゲノム医療

【はじめに】

2004年にヒトゲノム情報が解読され¹⁾、近年では遺伝子検査がさまざまな分野で実施されるようになってきた。先天性（遺伝性）のがんに関しては、体細胞のすべてが遺伝子検査の対象となるが、後天性（孤発性）のがんに関しては、がん細胞の遺伝子が対象となる検査と、がん細胞と正常細胞の両方が対象となる「がん遺伝子パネル検査」がある。現在、遺伝子をターゲットとした検査が主軸ではあるが、今後はがん細胞の全ゲノム解析に期待が寄せられている²⁾。

がんは生活習慣病の一種と考えられており、染色体の構造異常、がん遺伝子やがん抑制遺伝子の突然変異（病原性多型）等により発症している。先天性のがんは受精卵の時点でがん化する原因をもっているが、後天性のがんにおいて

は、発症する組織細胞において病原性多型が生じてがん化し、無限増殖能を示す細胞が出現している。近年では、がん原遺伝子やがん抑制遺伝子の病原性多型の他、プロモーター領域のメチル化などエピジェネティクス異常による発症も確認されている³⁻⁵⁾。2004年にヒト遺伝子が全て同定され、がん細胞の遺伝子多型の調査によって、同じがん種でありながらも、患者個人における原因遺伝子の種類は人により異なっている事象も確認されている。これに対し、日本では2018年よりがんゲノム医療が発足され、114種類（NCC オンコパネル：シスメックス株式会社）・324種類（FoundationOne CDx: Foundation Medicine, Inc.）のがん関連遺伝子を検査し、一人一人のがん細胞の性質を調べ、抗がん剤を選択するなど、患者に合わせた治療法が行われている^{6,7)}。さら

に、将来的ながんゲノム医療の構想として、次世代シーケンサーを用いたがんに関する個別化医療となるネオアンチゲン療法やキメラ抗原受容体 (Chimeric Antigen Receptor: CAR) -T細胞療法などが知られている⁸⁾。

患者への侵襲性が低い細胞診においても遺伝子検査は例外的なものではない。特に細胞診の検体においては、喀痰、尿および体腔液中に含まれる悪性細胞が検査対象となっている。細胞診検査では、がん細胞やその他の異常細胞の存在についてスクリーニング検査を実施するが、異常細胞が検出された際には遺伝子検査を併用する。遺伝子検査は遺伝子変異を特定し、がんのタイプや個人に合った効果的な治療法の選択にもつながる。遺伝子検査を行うにあたって、ホルマリン固定パラフィン包埋 (formalin-fixed paraffin-embedded: FFPE) 組織標本においては、そのブロック (組織片) を用いて十分量のDNAが入手できる。しかし目的とする細胞数が足りない時は再検査を行うが、患者への負担も大きく、時間も要することから、細胞診検体で遺伝子検査を行える事が理想である。また、パバニコロウ染色を行った同一検体から遺伝子検査を簡易に行うことができれば、遺伝学的補足情報として診断や治療にも有意義であると考えられる。

我々は、細胞診標本上にある細胞が固定化されていること、かつ細胞数も非常に少ないことより、「固定化細胞からのDNA溶出条件」と「抽出時のロスを極力減らす」操作にポイントを当て、細胞診検体 (パバニコロウ染色) を対象に、的手法によるDNAの抽出を試みた。

【材料と方法】

材料

肺癌患者由来胸水細胞診検体 (腺癌細胞: パバニコロウ染色、図1) を用いた。

方法

本研究に用いた細胞診残余検体は、国際医療福祉大学成田病院より提供されたものである。本研

究は、当大学倫理委員会の承認を得て行なっている (承認番号: 24-Im-008)。

細胞診検体と末梢血塗抹標本に対して行った操作手順の概略図を図2に示す。

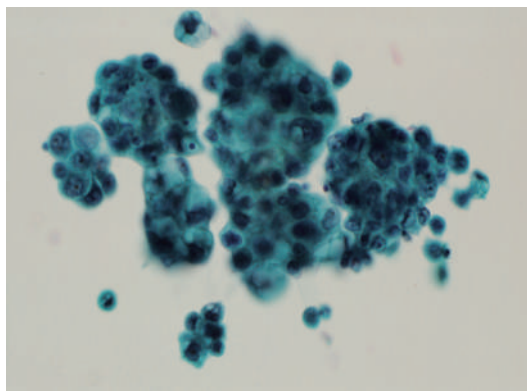


図1 細胞診検体
肺癌患者胸水中の腺癌細胞像

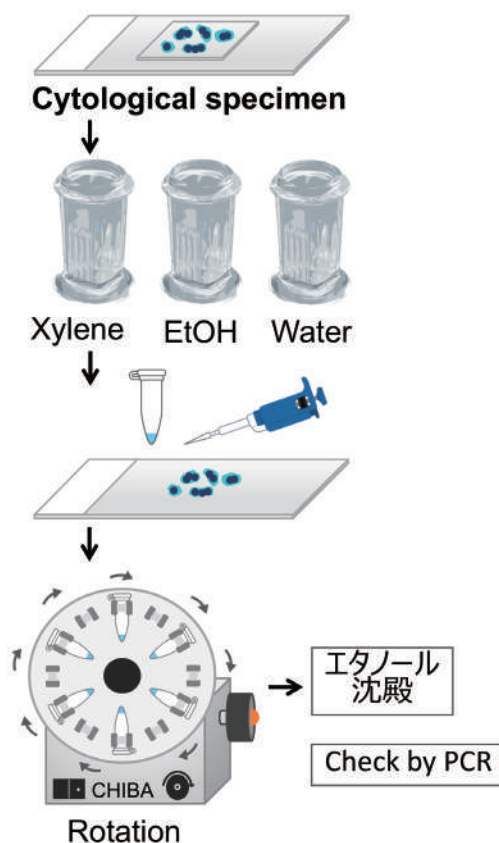


図2 検体処理の操作手順

細胞診検体（パニコロウ染色）

【封入剤の除去】

細胞診標本をキシレン溶液に浸潤させた（20分間、4回：封入剤の除去）。カバーグラスを取り除き、標本を100%エタノールに浸潤（20分間、6回：脱キシレン）させ、水道水に浸した。塗沫細胞標本上に10mM Tris-EDTA溶液（400 μ L）をマウントし、ピペティングにて細胞を剥離させ、1.5mLチューブに移し、チューブ内の細胞標本片をボルテックス5分間にて細断化した（微小破片の可視）。4°Cで3日間ローテートさせ、TE溶液の浸透を促した。検体チューブを12,000rpm、4°C、1分間遠心（KUBOTA; 3740）し細胞を沈殿させ、上清（約400 μ L）を新しい1.5mLチューブに移し、エタノール沈殿法によるDNAの濃縮を行った。

【エタノール沈殿】

上記上清に対し、10分の1量の3M酢酸ナトリウム溶液（pH5.2）と2倍量の100%エタノールを加え、-20°C、20分間静置した。十分冷却した検体溶液を12,000rpm、4°C、15分間遠心し、ゆっくりデカンテーションして上清を除いた（DNAは沈殿するが、可視化できない）。次に沈殿物に対し、冷70%エタノールを加え12,000rpm、4°C、5分間遠心し、ゆっくりデカンテーション

して上清を取り除く（チューブ内のリンス）。沈殿物をドライアップし、10mM Tris-EDTA溶液（TE溶液、10 μ L）を加え、一晩4°C静置溶解させた。

【PCRと電気泳動】

細胞診検体から抽出したDNAに対し、EGFR（Epithelial Growth-Factor Receptor, NCBI Gene ID: 1956）のエキソン19に対するプライマーを設計（表1）し、DNA抽出確認用PCR反応に用いた。PCR反応溶液の組成と反応条件を表2に示した。PCR反応に必要なDNAポリメラーゼやマグネシウム、フリーのヌクレオチド等は、KAPA SYBR Fast qPCR溶液（KAPABIOSYSTEMS）に含まれている。サーマルサイクラーは、ProFlex PCR System（Applied Biosystems）を用いた。熱反応ステップを終えたサンプルに対し、Loading Dyeを加え、2%アガロースゲル電気泳動を行い、FAS-IV（日本ジェネティクス）にて写真撮影を行なった。

【結果】

細胞診検体に対してはキシレンによる封入剤の除去を行い、図2に示す通りスライドグラス上の細胞を剥離させた。細胞剥離像（図3）の左半分はスライドグラス上に付着する細胞が残存し、右半分はピペティングにより採取されたエリアで

表1 プライマーの塩基配列情報

Primer	NCBI Gene ID	Sequence	Product Size
EGFR-e19F	1956	5'-CTGGTAACATCCACCCAGATCACTG-3'	293bp
EGFR-e19R		5'-AGGATGTGGAGATGAGCAGGGTCTA-3'	

表2 PCR反応溶液の組成と反応条件

組成		熱反応ステップ	
抽出DNA溶液	1.0 μ L	95°C	5 min
10 μ M EGFR-e19F	0.6 μ L	95°C	20 sec
10 μ M EGFR-e19R	0.6 μ L	60°C	20 sec
KAPA SYBR Fast qPCR Master Mix (2 \times)	10.0 μ L	72°C	30 sec
DNase RNase Free Water	7.8 μ L	72°C	5 min
Total	20.0 μ L		

ある。

溶出液中にDNAが含まれるかを確認するため、EGFR遺伝子に対するプライマーを用いPCR反応を行った。2つの細胞診検体由来の抽出DNA溶液のうち、サンプル1に目的サイズ(293bp)のPCRバンドが確認された(図4：黒矢印)。レーン最下段に見られる50bp付近の薄いバンドは、プライマーダイマーである(図4：白矢印)。

このように、95%エタノールでの固定化細胞診検体では、2検体のうち1検体でDNAの抽出が確認された。

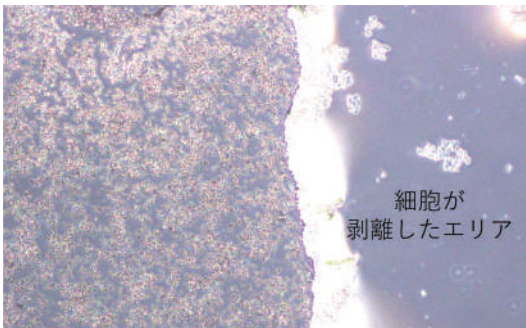


図3 細胞診標本の細胞剥離像

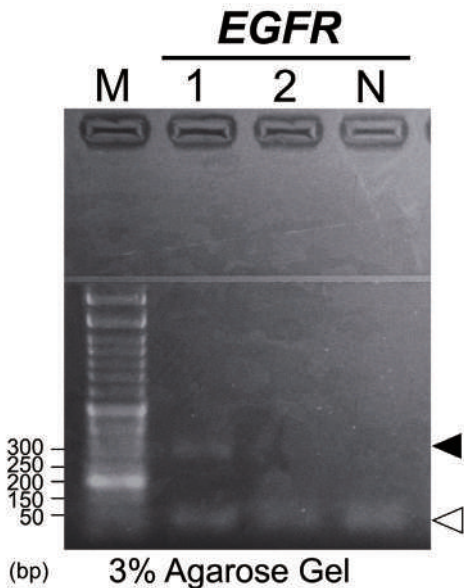


図4 PCR産物の電気泳動画像

【考察】

スライドガラス上に展開された細胞診検体に含まれる細胞数は十分ではなく、また染色された細胞は固定化されているので、さらに回収率が低くなる。このように、固定化された少ない細胞からのDNA抽出には、ロスを極力減らして回収することが理想である。これより、我々は「固定化された少数の細胞から効率よくDNAを抽出する」目的で、本研究を的手法にて行なった。まず、細胞診検体から剥離させた固定化細胞は数個～数十個の塊であったため、物理的なボルテックスやピペティングによりできる限り分散させた。これにより、固定化細胞が水溶液と接触する確率が上がったと考える。また核内に存在するDNAに対し、TE溶液を長時間浸透させ可能な限りDNAの漏出を行った。さらにこの漏出に用いたTE溶液は400 μ Lと、少ない細胞数に対しては非常に大量である。そのためPCRが実施できないほど低濃度のDNA溶液になると考え、エタノール沈殿法によるDNAの濃縮を行った。1枚の細胞診検体からのDNAは、エタノール沈殿でも目視確認できないほど超微量であった。そのためDNA抽出の成否は、得られた抽出液でPCR反応を行い、目的サイズのバンドが生じることで確認した。実際のところDNAの目視確認はできなかったが、手法にて細胞診検体からDNAの抽出が可能であることが確認できた。

今回、細胞診検体からDNAが抽出できたのは、ボルテックスなどによる物理的な細胞塊の粉碎や長時間TE溶液に浸透させた操作、エタノール沈殿によるDNAの濃縮が要因であると考え。1個の細胞に含まれるDNA量は6.16pgである(表3)。一般的な遺伝子検査やパネル検査に必要なDNA量は10~500ngであり、1回の反応に必要な細胞数は約2000個と算出されている⁹⁾。患者への負担軽減も含め、スライドガラス上の限られた細胞からDNAを効率よく抽出できる技法が求められており、今後は固定化細胞でのDNA抽出の再現性を得るため、界面活性剤や溶出温度等を検討する必要がある。

表3 1 ゲノムの質量計算

1 塩基の質量：318g/mol、1 ゲノム：3×10 ⁹ bp
1 ゲノムの質量は、318×3×10 ⁹ =1.85×10 ¹² g/molとなり、
1 ゲノムの重量は、1.85×10 ¹² g/6.02×10 ²³ mole=3.08×10 ⁻¹² g=3.08pgとなる。
1 個の細胞には2セットのゲノムが収納されているので、1 個の細胞に含まれるDNAの総量は6.16pgとなる。

【結語】

パパニコロウ染色された細胞診検体より、固定化細胞の断片化、長時間の水溶液浸透操作、エタノール沈殿を行うことによりDNA抽出が可能であった。細胞数の少ない標本から再現性と効率の良いDNA抽出が可能となれば、廻りの遺伝子検査や患者への負担も軽減することができる。今後はDNA抽出の再現性と固定化細胞からのDNA漏出効率の良い条件を求める必要がある。

【謝辞】

細胞診検体を提供いただいた国際医療福祉大学成田病院に感謝申し上げます。

本論文に関連する著者の利益相反：なし

【参考文献】

1) International Human Genome Sequencing Consortium: Finishing the euchromatic sequence of the human genome. Nature. 431: 931-45, 2004

2) 井元清哉、加藤護、山口類ら（監修）：がんの全ゲノム解析（入門編）P31-36, 2023年

3) Bruce AJ Ponder: Cancer Genetics. Nature. 411: 336-341, 2001

4) Stratton MR, Campbell PJ, Futreal PA: The cancer genome. Nature, 458: 719-724, 2009

5) Tsai HC, Baylin SB: Cancer epigenetics: linking basic biology to clinical medicine. Nature, 21: 502-517, 2011

6) 経済産業省ウェブサイト、西原広史：リアルタイムーリアルワールドがん医療データシステム. P2 and 9, 2020年

7) 厚生労働省ウェブサイト、がんゲノム医療推進に向けた取組. P2-4, P9（2024年2月20日現在）

8) 厚生労働省ウェブサイト、中村祐輔：いつでもどこでも誰でもがアクセスできるゲノム医療の構築に向けて. P12-16, 2023年

9) 小田義直（委員長）：ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程（一般社団法人 日本病理学会）. P8-9, 2018年

編集後記

円安や物価高なの年末年始の総旅行者数は前年比と変わらなかったようです。ご多幸で何よりと思う反面、人々の日常を、医療への質を確保し続けている会員の皆様の日頃からのご尽力の賜物と思う今日この頃です。そんな皆様も、ご自身へのご褒美にご旅行を計画されてはいかがでしょう。

私は、一昨年から編集担当に携わり、編集部、会誌編集委員会、千臨技理事が一丸となり、会誌を通して有益な情報を提供できるよう努めております。本号で、ご執筆いただいた小林先生ならびに各先生方や研究班の先生方には、この場を借りて、心より感謝申し上げます。

さて、本号では、小林先生に総説「検査室の災害対策への取り組み」をご執筆頂きました。近年、災害による被害が多く見受けられます。ご施設や検査室で見直す必要があるとのお声を頂き、災害対策委員の小林先生にお願い致しました。日々の取り組みからどのように継続・展開していくのかをご施設の体験談を基にご執筆頂いた非常に参考になる総説です。

また、本号で掲載した研究班の内容も各研修会でしか知り得ない貴重な情報を活動報告としてご提供くださいました。加えて、昨年の千臨技学会の学術奨励賞は2名の先生が選ばれ、本号にも研究内容を掲載していただきました。特徴的所見がない症例を詳細に分析していたり、試薬検討において季節や湿度を考慮した検討を行っていたり、圧巻の研究内容でした。他にも、同定が困難な菌に経緯を追ってご報告していただいた内容は技師個人としても検査室運営としても参考になる報告になるのではないのでしょうか。

本会誌は、これまでに多領域にわたる研究内容と様々な論文形式・形態をご提供してきています。検査科学・検査技術論文は執筆することがゴールではないと思います。症例を増やすことを

はじめ、形式や形態を進化させながら報告し続けることが論文としての意義、加えて本会誌の存在意義となることを祈願しております。

より多くの研究成果をご覧いただき、今後の活発な活動の一助となることをお祈り申し上げます。

(編集後記：小林崇平)

千臨技会誌編集委員

- 小林 崇平 (国際医療福祉大学 成田保健医療学部 医学検査学科)
- 辰巳 暁哉 (国際医療福祉大学 成田保健医療学部 医学検査学科)
- 三末 高央 (船橋市立医療センター)
- 森川 一裕 (千葉県こども病院)
- 梶原 裕貴 (千葉市立青葉病院)
- 布施 義也 (国保匠瑳市民病院)
- 相原 治幸 (医療法人社団誠馨会 新東京病院)
- 銘鋈 彩 (千葉市立青葉病院)
- 石坂 優真 (千葉県こども病院)
- 足達由佳里 (国保直営総合病院 君津中央病院)
- 永尾 篤子 (松戸市立総合医療センター)
- 川崎 健治 (千葉大学医学部附属病院)
- 渡邊万里子 (千葉大学医学部附属病院)

千葉県臨床検査技師会誌

通巻第144号

編集責任者 小林 崇平

発行責任者 綿引 一成

令和7年1月21日 発行

発行所 一般社団法人 千葉県臨床検査技師会

千葉市中央区今井2-12-15 203

電話 043 (265) 9644

印刷所 第一印刷株式会社

成田市並木町 655

電話 0476 (37) 5198

Experience the Power of Atellica

www.siemens-healthineers.com/jp

Control
Simplicity
Better Outcomes



免疫・生化学自動分析装置
Atellica Solution

中央検査室向け分析装置 Atellica (アテリカ) シリーズを通して、
ご施設の課題やニーズにお応えする最適なソリューションをご提供します。



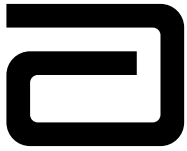
全自動尿統合型分析システム

Atellica 1500

尿定性と尿中有形成分分析の統合システムによる
完全自動化、検査室のワークフロー改善に貢献します。

SIEMENS
Healthineers

届出番号: Atellica CH930 生化学自動分析装置: 13B1X10041000036
Atellica IM1600 免疫自動分析装置: 13B1X10041000038
クリニテック ノーバス: 13B1X10041000025
Atellica IM1300 免疫自動分析装置: 13B1X10041000037
Atellica UAS800 尿中有形成分分析装置: 13B1X10041000039



Abbott

DIAGNOSTICS

Alinity・AlinIQは未来に向けたトータルソリューションとして、
変化し続ける医療環境の中で生まれるお客様ごとの課題に対する
解決策を提案します。



アボットジャパン合同会社 診断薬・機器事業部

〒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
TEL. 03-4555-1000 URL: <http://www.abbott.co.jp>

©2022 Abbott. All rights reserved. All trademarks referenced are trademarks of either the Abbott group of companies or their respective owners. Any photos displayed are for illustrative purposes only. Any person depicted in such photos may be a model. ADD-140323-JAP-JA_v2 12/22

販売名: Alinity i システム
製造販売届出番号: 12B1X00001000032

販売名: Alinity h システム
製造販売届出番号: 12B1X00001000033

販売名: Alinity m システム
製造販売届出番号: 12B1X00001000037

HITACHI

Inspire the Next



診断データの効果的な
治療への活用方法とは？

治療に効果的な診断技術とは？

私たちは一人ひとりに必要な診断・治療方法の確立をめざして、
最先端の分析・自動化技術と治療技術、デジタルの融合により、
ヘルスケア領域に新たな価値を提供していきます。

日立製作所ヘルスケア事業本部と日立ハイテックは2024年4月1日に統合し、新たな一歩を踏み出しました。

日立自動分析装置 LABOSPECT 008 α



本写真は2モジュール構成です。
製造販売届出番号:13B1X10436000041

日立自動分析装置 LABOSPECT 006



製造販売届出番号:13B1X10436000038

日立自動分析装置 **NEW!** LABOSPECT 006 α



製造販売届出番号:13B1X10436000043

日立自動分析装置 3500



製造販売届出番号:13B1X10436000042

日立検体検査自動化システム LABOSPECT TS



検体前処理モジュールシステム LabFLEX3500



検体前処理分注装置 LabFLEX2600G



日立自動分析装置 3100



製造販売届出番号:13B1X10436000040

Innovating Healthcare,
Embracing the Future

製品情報



コンセプトムービー



 株式会社 日立ハイテック

ヘルスケア事業統括本部 〒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ー 03-3504-7211
北海道(札幌) 東北(仙台) 中部(名古屋) 関西(大阪) 九州(福岡)

フェリチンキット

体外診断用医薬品

FER-ラテックスRX「生研」

測定範囲拡大により、再検率の低減に貢献します。

測定範囲
5~2,000
ng/mL

特徴

- ◆ ラテックス凝集免疫比濁法により、汎用自動分析装置を用いた広範囲な測定を実現しました。

使用目的

- ◆ 血清又は血漿中のフェリチンの測定

包装単位

■ FER-ラテックスRX「生研」

統一商品番号	緩衝液 ラテックス浮遊液	内容及び包装
626349	R-1 R-2	30mL × 1 15mL × 1
626356	R-1 R-2	16mL × 2 8mL × 2
626363	R-1 R-2	30mL × 1 15mL × 1

貯蔵方法: 2~10℃ 有効期間: 1年

標準液・コントロール(別売品)

■ FER標準液 RX

統一商品番号	内容及び包装
626370	各2mL × 1本 × 5濃度 (100、200、500、1,000、2,000ng/mL)

貯蔵方法: 2~10℃ 有効期間: 1年

■ イムノキューセラII

統一商品番号	製品名	内容及び包装
630056	イムノキューセラII-(H)「生研」	3mL用 × 5本
630063	イムノキューセラII-(L)「生研」	3mL用 × 5本

貯蔵方法: 凍光して2~10℃ 有効期間: 2年

■ イムノキューセラLQ

統一商品番号	製品名	内容及び包装
630445	イムノキューセラLQ-(H)	3mL用 × 3本
630452	イムノキューセラLQ-(L)	3mL用 × 3本

貯蔵方法: 2~10℃に保存 有効期間: 12ヶ月

デンカ株式会社

〒103-8338 東京都中央区日本橋室町二丁目1番1号

フリーダイヤル 0120-206-072

受付時間 9:00~17:00(土日祝日・弊社休業日を除く)



RELENTLESSLY *Reimagine* HEALTHCARE,
One diagnosis at a time
 ヘルスケアの飽くなき想像 - その1つ1つの診断に

免疫検査



Dxl800

届出番号：13B3X00190000015
 ユニセルDxl800システム

最大処理能力：
 400テスト/時



ベックマン・コールター
 臨床検査分野

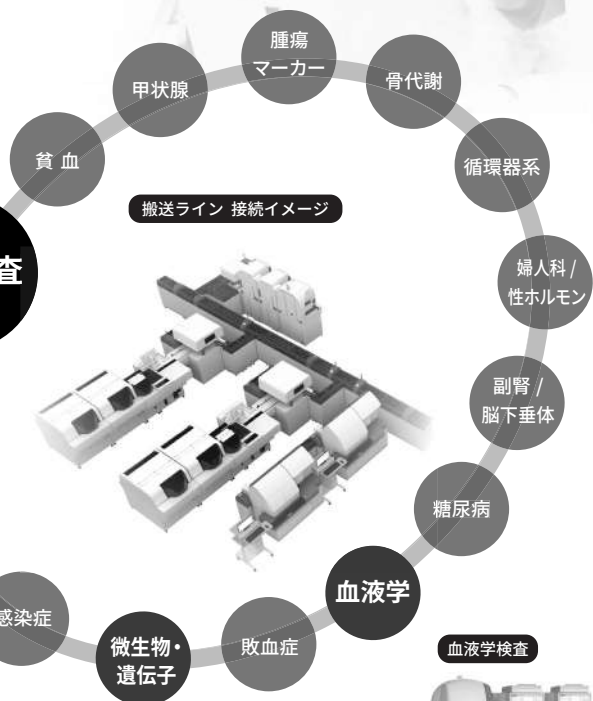
生化学検査



AU5800

届出番号：13B3X00190000035
 自動分析装置 BECKMAN COULTER AU5800

処理能力：
 2,000テスト/時



微生物検査



遺伝子検査



血液学検査



DxH 900-2 S

届出番号：13B3X00190000060
 UniCel DxH 900 シリーズ コールター
 セルラーアナリスシステム



※ 国内ではMDWに関する臨床の有効性は確立されていません。

ベックマン・コールター株式会社

本社：〒135-0063 東京都江東区有明3-5-7 TOC有明ウエストタワー
 お客様専用 ☎ 0120-566-730 URL <https://www.beckmancoulter.co.jp>

©2024 ベックマン・コールター株式会社
 Beckman Coulter および Beckman Coulter ロゴは、Beckman Coulter, Inc. の登録商標です。

MAPSS-DX-202401-18



不要な羽毛ふとんは ありませんか？

東洋羽毛が無料でお引取りします

東洋羽毛は、不要羽毛ふとんの引取りを通じて、SDGs(持続可能な開発目標)の活動に取り組んでいます。



引取り詳細▲

- お近くの営業所または二次元コードからお申込みください。
- 引取り可能なふとんの種類は「羽毛ふとん」です。掛けふとん・敷きふとん・まくら等の羽毛製品のみです。
- ダウンジャケット等、リサイクル羽毛として活用できないものや羽毛ふとん以外は引取りできません。
- 東洋羽毛以外の羽毛ふとんも引取り可能です。

TUK Link Project



不要羽毛ふとん



有効活用



リサイクル羽毛

LinkDown



加水分解ケラチン

工業用途

東洋羽毛北関東販売株式会社 千葉営業所

千葉県佐倉市城354-8

0120-006745

