

## 災害医療支援チーム主催講習会への検査技師としての参加について

～検査技師が災害医療支援チームに参入する可能性を考える～

◎福田 篤久<sup>1)</sup>、櫛引 健一<sup>1)</sup>、久保田 芽里<sup>2)</sup>、増田 詩織<sup>2)</sup>、津田 喜裕<sup>3)</sup>、竹下 仁<sup>4)</sup>  
和泉市立病院<sup>1)</sup>、近畿大学医学部附属病院<sup>2)</sup>、大阪府立中河内救命救急センター<sup>3)</sup>、財団法人 大阪府三島救命救急センター<sup>4)</sup>

災害医療は、大規模災害（自然災害・人為的災害・特殊災害など）等により、対応する側の医療能力を上回るほどの多数災害被災者が発生した時に行われる、「災害時の急性期・初期医療」のことである。また DMAT（災害派遣医療チーム）とは、「災害急性期（おおむね 48 時間以内）に活動できる機動性を持ちトレーニングを受けた医療チーム」と定義されており、医師、看護師、業務調整員（医師・看護師以外の医療職及び事務職員）で構成される。ここで注意しなければならないことは、DMAT には検査技師としての参加が認められていないことである。

今回演者らは、2005 年 7 月に創立した“特定非営利法人（NPO）TMAT”の教育プログラムである「災害救護・国際協力ベーシックコース（以下 TMAT 講習会）」を受講したので、その内容と感想、さらに今後の災害医療支援チームにおける検査技師の役割とその参入の可能性について報告する。TMAT では、これまでに支援した国内外の災害医療支援活動を踏まえ、隊員教育における人材育成プログラムを作成し TMAT 講習会を全国で開催している。本講習会は、

災害発生被災地において迅速に適切な医療支援活動ができること、病院防災で主体的な取り組みができるよう知識と技術の習得を目的とし、二日間にわたる講習会では TMAT の歴史、災害医療、災害対策と病院防災、感染症対策、通信機器の使用法、トリアージ（重症度に応じた患者振り分け）、巡回診療などを座学と実技の両面から講義を受けた。

現時点では（TMAT においても）災害急性期医療における検査技師の役割は確立されていないが、今後は救急検査認定技師などの救急医療の知識を持つ検査技師の参画意義を探ってみたい。また、急性期を脱した患者のケアにおいても急性期医療の経験は大きいと考えている。

今後も TMAT は、国内外の被災地で緊急医療救援活動を展開していくと思われ、グループ外施設からの参加も門戸を広く開いているので、多くの検査技師が TMAT 講習会に参加し、災害医療現場での役割を直に体験されることを望んでいる。

連絡先：和泉市立病院 0725-41-1331 (PHS:7550)

## アフィニティークロマトグラフィーを用いた IMP-1 型カルバペネマーゼの精製および MALDI-TOF MS ペプチドマスフィンガープリンティングによる IMP-1 の同定

◎坂井 優、竹内 航、小松 方  
天理医療大学 医療学部 臨床検査学科

### 【目的】

近年、国内において IMP-1 型カルバペネマーゼ産生グラム陰性桿菌の増加が問題となっている。今回、抗 IMP-1 抗体を使用した分離培養集落からのアフィニティー精製および MALDI-TOF を用いたペプチドマスフィンガープリンティング（PMF）を実施することで、迅速に IMP-1 産生株の同定を可能な方法を確立するため検討を行った。

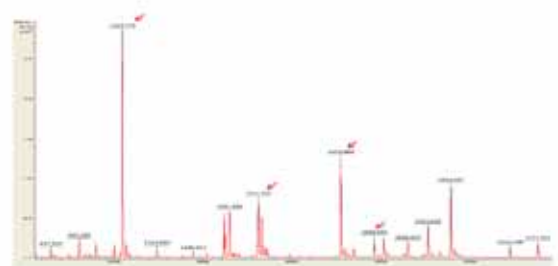
### 【対象および方法】

IMP-1 の精製を行うため、IMP-1 特異抗体をウサギ免疫によって作製した。抗体は NHS 化担体に結合させ、IMP-1 抗原の精製用担体とした。基礎的検討を行う目的として、あらかじめ樹立している IMP-1 産生クローン（*E. coli* THUC4）から IMP-1 を大量発現させ、HPLC で精製後、濃度を決定した。

PMF 解析の検出感度を求めるため、IMP-1 抗原の希釈系列を作製し、トリプシンで消化後、ZipTip (Millipore) で脱塩操作を実施し、MALDI-TOF MS (Microflex, Bruker) で IMP-1 のペプチド断片を検出した。マトリックスは HCCA を使用した。

### 【結果および考察】

PMF の検出感度は 34.4 ng (1.27 pmol) であった。*E. coli* THUC4 の分離培養集落を用いて、作成した IMP-1 精製用担体で IMP-1 のアフィニティー精製を実施したところ、全アミノ酸中、71.5% (176/246) のアミノ酸が回収でき、精製用担体による IMP-1 の精製効果が確認された。(図、矢印が IMP-1 のペプチド断片) 本方法のワークフローは、溶菌 30 分、アフィニティー精製 60 分、PMF 解析 60 分であり、集落が存在すれば、3 時間以内に結果を得ることが可能であった。



## ELISA 法による IMP-1 型カルバペネマーゼの定量法の確立

◎竹内 航、坂井 優、小松 方  
天理医療大学 医療学部 臨床検査学科

## 【目的】

IMP-1 はわが国で最も多く検出されているカルバペネマーゼである。今回、分離培養集落から直接 IMP-1 型カルバペネマーゼを検出する目的で、ELISA 法の構築を試みた。

## 【対象および方法】

IMP-1 抗原を免疫したウサギ血清を用い IMP-1 固相セファロースカラムを用いたアフィニティークロマトグラフィーで IMP-1 にのみ反応する IgG を精製した。IgG は ELISA の一次抗体およびビオチンを標識し二次抗体として使用した。抗体の特異性はウェスタンブロッティングで行った。IMP-1 抗原は IMP-1 遺伝子組換え体で大量発現させ、HPLC を用いたイオン交換クロマトグラフィーで最終精製を行った。上記で作成した抗体および抗原を用いて ELISA の系を構築するための基礎的検討を行った。ELISA はマイクロプレートに一次抗体を固相し IMP-1 と反応、次いで二次抗体と反応。HRP 標識アビジンと反応、OPD を用いて発色後、マイクロプレートリーダーで測定した。臨床分離株の集落は溶菌剤で処理後、上清を抗原として用いた。

## 【結果および考察】

抗体の特異性は IMP-1 およびそのバリエーションである IMP-6、IMP-34 に強く反応したが、IMP-2 にはきわめて弱い反応を示した。ELISA の検量線を作成し IMP-1 の 30~500 ng/mL の範囲で定量が可能であった。異なる 4 種類の濃度の IMP-1 を用いて再現性を検討した。日差再現性 (5 日間) は、CV%=1.2~5.4%、同時再現性 (8 重測定) は、2.0~4.8%であった。溶菌剤を 20 倍、50 倍および 100 倍希釈して ELISA の影響を確認したが、反応への影響がないことを確認した。*E. coli* ATCC25922 の培養集落を溶菌後の上清に 4 種類の異なる濃度の IMP-1 を添加し回収率を求めたところ、99.4~103.2%と良好であった。各種臨床分離株を用いた検討では VIM、NDM-1、KPC、GES、OXA-23 等の IMP-1 とは異なるカルバペネマーゼ産生株には一切の反応を示さなかった。IMP-1 産生株の 1 集落あたりの平均産生量は 144 μg/mL であることが判明した。

今回構築した ELISA を用いる事で、分離株が存在すれば 3 時間程度で IMP-1 およびそのバリエーションの産生性を知る事が可能となった。

MALDI-TOF MS による ESBL 産生 *Escherichia coli* B2-ST131 クローンのバイオマーカー探索

◎和泉 大輝<sup>1)</sup>、中村 彰宏<sup>2)</sup>、大野 裕貴<sup>2)</sup>、小松 方<sup>1)</sup>、河野 久<sup>2)</sup>、中村 文彦<sup>2)</sup>  
天理医療大学 医療学部 臨床検査学科<sup>1)</sup>、天理よろづ相談所病院 臨床検査部<sup>2)</sup>

## 【はじめに】

Extended-spectrum β-lactamase (ESBL) 産生 *Escherichia coli* 世界的蔓延の原因は、ESBL 産生 *E. coli* B2-ST131 クローン (B2-ST131) のパンデミックである。B2-ST131 は高率にフルオロキノロン耐性因子および尿路病原因子を保有しているため、疫学上重要なクローンである。本研究は MALDI-TOF MS を用いて菌種同定と同時に B2-ST131 を迅速に識別する手法の確立を目的とし、B2-ST131 に特有のバイオマーカーピークを探索、その識別能力を検証した。

## 【対象および方法】

2011 年に天理よろづ相談所病院を含む国内医療施設 31 施設においてヒト由来臨床材料より分離された ESBL 産生 *E. coli* 197 株 (B2-ST131: 98 株, other ST: 99 株) を用いた。株はエタノールギ酸抽出を実施し、MALDI-TOF MS 測定は MALDI Biotyper (Bruker 社)、データベースは MALDI Biotyper v3.1、バイオマーカー探索は ClinProTools を使用した。

## 【結果および考察】

ESBL 産生 *E. coli* 全 197 株は MALDI Biotyper v3.1 によっ

て score values >2.300 (highly probable species identification range) として同定された。

B2-ST131 (n=98) および other ST (n=99) の最も判別特性が高いバイオマーカーピークは 11783m/z (AUC=0.845) であり、次いで 7652m/z (AUC=0.791), 7908m/z (AUC=0.789) であった。Model Generation による多変量解析の結果、最も良好な識別能力を示したアルゴリズムは GA model であり、5368, 8447, 2788 および 14923m/z が使用され recognition capability が 89.85%, cross validation が 77.11%であった。本研究によって MALDI-TOF MS は B2-ST131 と other ST を迅速に識別することが可能であることが判明し、本システムは感染症診断およびエンピリック治療を実施する上で重要な情報となる。

## 【結語】

MALDI-TOF MS は菌種同定と同時に B2-ST131 と other ST を識別可能である。

## 迅速発育抗酸菌に対する新規抗菌薬を含む薬剤感受性の検討

◎中野 雅巳<sup>1)</sup>、阿部 教行<sup>2)</sup>、河野 久<sup>2)</sup>、中村 文彦<sup>2)</sup>

天理医療大学 医療学部 臨床検査学科<sup>1)</sup>、天理よろづ相談所病院 臨床検査部<sup>2)</sup>

【目的】今回、迅速発育抗酸菌臨床分離株を使用し、2008年以降に上市された Sitafloxacin および Tigecycline を含む 8 薬剤の薬剤感受性の解析を行った。

【対象および方法】2009年9月から2015年1月の期間に、天理よろづ相談所病院で分離した45株(*M. abscessus* 12株、*M. chelonae* 13株、*M. fortuitum* 20株)を使用した。測定薬剤は Ciprofloxacin (CPFX)、Levofloxacin (LVFX)、Sitafloxacin (STFX)、Imipenem (IPM)、Faropenem (FRPM)、Minocycline (MINO)、Tigecycline (TGC)、Clarithromycin (CAM) の 8 薬剤を使用した。薬剤感受性試験は Clinical and Laboratory Standards Institute M24-A2 に準拠し、微量液体希釈法で実施した。培養温度は 30°C で 3 日目に MIC の判定を行った。3 日目に発育不良の場合は 5 日目に判定した。CAM は 3 日目と 2 週目に判定を行った。MIC 値の読み取りのばらつきを検討するため全ての株について 3 重測定を実施した。

【結果および考察】*M. abscessus* と *M. chelonae* は 3 日目では発育不良株を 32 株、8 株 (30%、7%) 認め、5 日目判定の

方が読み取りやすく、3 重測定 MIC 値のばらつきは認めにくかった。一方、*M. fortuitum* は 3 日目での判定が良好であった。各種抗菌薬に対する菌種別の抗菌力を表に示す。TGC の MIC は MINO と比較して 2~11 管低い値を示した。STFX は LVFX あるいは CPFX よりも低い MIC もしくはほぼ同等の値を示した。*M. fortuitum* は他の 2 菌種と比べ多くの抗菌薬の MIC が低値を示した。

【結語】新規抗菌薬である TGS と STFX は迅速発育抗酸菌に対して既存の抗菌薬より優れた抗菌力を示した。

表 各種抗菌薬に対する菌種別の抗菌力 (MIC50 および MIC80,  $\mu\text{g/mL}$ )

	<i>M. abscessus</i>		<i>M. chelonae</i>		<i>M. fortuitum</i>	
	MIC50	MIC80	MIC50	MIC80	MIC50	MIC80
CPFX	8	16	4	8	$\leq 0.125$	0.25
LVFX	32	64	16	32	$\leq 0.125$	0.5
STFX	2	4	1	4	$\leq 0.125$	$\leq 0.125$
IMP	16	16	16	32	4	8
FRPM	>128	>128	>128	>128	16	32
MINO	>128	>128	8	32	0.5	8
TGC	$\leq 0.125$	$\leq 0.125$	$\leq 0.125$	$\leq 0.125$	$\leq 0.125$	$\leq 0.125$
CAM	>128	>128	>128	>128	>128	>128

## 市販されているミネラルウォーターの微生物学的評価

◎八嶋 侑花<sup>1)</sup>、杉本 愛鐘<sup>1)</sup>、井戸田 篤<sup>2)</sup>、木原 孝則<sup>2)</sup>、山本 章史<sup>2)</sup>

大阪医療技術学園専門学校<sup>1)</sup>、地方独立行政法人 大阪府立病院機構 大阪府立成人病センター<sup>2)</sup>

## 【目的】

近年、ミネラルウォーターの普及は著しく、その需要は高い。しかし一部のミネラルウォーターは採水後、無処理のもの存在している。病院内には易感染宿主 (コンプロマイズド・ホスト) の患者も多く、思いもかけない経路での感染発症が懸念される。今回、我々は一般に市販されているミネラルウォーターについて、微生物学的評価を行い若干の知見を得たので報告する。

## 【方法】

市販されているミネラルウォーター 25 製品 (日本国産 (15)、EU 原産 (5)、USA 原産 (4)、フィジー原産 (1)) を対象とした。被検試料 10m l を遠心分離し、得られた沈渣 0.5m l をヒツジ血液加寒天平板培地に均一になるよう接種した。24~48 時間、35°C で培養し、発育した菌のコロニー数のカウント並びに菌の同定を行った。また、発育した菌量が多い場合は、試料を原液で塗布、もしくは滅菌水で 10 倍希釈し、再培養して発育したコロニー数を数えた。

## 【結果】

日本国産 15 製品中 2 製品において、 $1.3 \times 10^4 \text{cfu/ml}$  と  $2.8 \times 10^2 \text{cfu/ml}$  の細菌が検出された。EU 原産 5 製品中 3 製品において、 $0.56 \times 10^1 \sim 5.4 \times 10^1 \text{cfu/ml}$  の細菌が検出された。フィジー原産の製品からは  $9.6 \times 10^3 \text{cfu/ml}$  の細菌が検出された。USA 原産の 4 製品ではいずれも細菌の検出はされなかった。検出菌は主にブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌であった。またすべての試料から真菌は検出されなかった。

## 【考察】

今回の検討において、日本国産 15 製品中細菌の検出が認められたのが 2 製品であり、必ずしも国産製品が安全とは限らないと思われる。日本の飲用 waters 水質基準 (農林水産省による「ミネラルウォーター類の製造基準」) によると、一般細菌の検出は  $100 \text{cfu/ml}$  以下となっていることから、コンプロマイズド・ホストとなる患者のミネラルウォーター摂取には十分留意する必要があるものと考えられた。

## 水痘検査法の基礎的検討

◎手島 明莉

大阪医療技術学園専門学校 臨床検査技師科

【背景】水痘は院内感染の原因として重要な疾患である。免疫不全児を抱えた小児病棟などでは本来は軽症の水痘であっても、重症化・蔓延化しやすいことも問題となる。治療および感染拡大防止の観点から、水痘の迅速な検査診断が重要となっている。

【目的】現在、国立感染症研究所から水痘検査マニュアルが公開されている。本研究では核酸検出法に焦点を当て、Real-Time PCR、Nested PCRによる感度の比較を行い、今後の水痘迅速診断への適用を目的とした。

【材料】ウイルス：乾燥弱毒生水痘ワクチン「ビケン」

抽出機：Magtration® System 12GC PLUS

Real-Time PCR (Taqman プローブ法)

試薬：ABI Taqman Fast Virus1-step mastermix

機器：ABI StepOnePlus™ Real-Time PCR System

Nested PCR

試薬：Premix Taq™ (TaKaRa Taq™ Version 2.0)

機器：TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice®

【方法】Real-Time PCR では ORF62 領域、Nested PCR では

ORF38 領域を増幅対象とした。陽性コントロールの作成は、ワクチン株ウイルスから抽出した核酸の PCR 産物を用いて行った。

【結果】Real-Time PCR、Nested PCR 共に 10 コピーまでの検出が行えた。Real-time PCR の検量線は、Slope -3.284、 $R^2$  0.998 であり、増幅効率は良好であった。

PCR 反応に要した時間は、Nested PCR では 175 分、Real-time PCR では 95 分で、Real-time PCR に要する時間は、Nested PCR に要する時間のほぼ半分 (54%) であった。

【考察】本研究における検出感度は、Real-Time PCR、Nested PCR 共に 10 コピー/ $\mu$ L と高感度であった。PCR の反応時間、増幅の特異性および作業効率の観点から、Real-Time PCR は最も適した方法であると考えられる。Real-Time PCR は、院内感染対策を講じる上で非常に有効な手段となり得ることが示唆される。

【謝辞】今回の研究にあたり、大阪府立公衆衛生研究所の皆様にご協力を頂きありがとうございました。

06-6354-2501

## 健常日本人女性における閉経前後の臨床検査基準範囲の変動について

◎山口 京、八木 美智子、山西 一郎、松尾 収二

天理医療大学 医療学部 臨床検査学科

【目的】現在、日本人女性の平均寿命は 86.6 歳であり、性ホルモンや自律神経バランスの大きな変化を伴う閉経の平均年齢が 52 歳前後であることを考え合わせると、閉経後もより一層の健康管理が必要であるとされている。そこで我々は、統計学的な観点から、加齢の影響を制御したうえで、閉経に依存して変動する検査項目を解析するとともに、閉経前後での基準範囲を設定した。

【方法】「アジア地域共有基準範囲設定国際プロジェクト 2009」データベースより、健常日本人女性 458 人 (閉経前 275 人、閉経後 183 人) を対象とし、脂質・糖代謝、肝機能、鉄代謝など 75 項目の検査データについて解析した。データを正規化した後、閉経前後の各検査成績を 2 標本  $t$  検定と比較した。次に、閉経の有無および年齢を説明変数とした重回帰モデルにより、年齢とは独立し閉経により変動する検査項目を分析した。また、2 レベル枝分かれ分散分析により群間差指数 (SDR) を算出し、 $SDR \geq 0.3$  を示す項目について、閉経前後での基準範囲を設定し、基準範囲の下限・中間値・上限変化率を算出した。

【結果】 $t$  検定では、56 項目において閉経前後で有意差が認められた。重回帰分析で閉経のみが有意であった項目は骨型 ALP、TRAP など 14 項目で、これに対して AST、中性脂肪 (TG) など 15 項目では年齢のみが有意な変数であった。また、総コレステロール、LDL-コレステロールでは、閉経、年齢ともに有意な変数であった。 $SDR \geq 0.3$  であった 21 項目について、閉経前後での基準範囲を設定したところ、特にフェリチン、骨型 ALP、TRAP での閉経後の基準範囲上限値が上昇した。また、SDR と下限、中間値、および上限変化率の間には、それぞれ  $r=0.600$ 、 $r=0.972$ 、および  $r=0.738$  と有意な相関関係が認められた ( $P < 0.001$ )。

【考察】AST、ALT、TG では閉経後有意に上昇するとの報告があるが、これらは年齢の交絡によるものであることが明らかとなった。SDR と中間値および上限変化率の間に有意な相関性が確認されたことより、SDR は基準範囲中央～上限値の変動の具体的な指標となるものと考えられる。

連絡先：0743-63-7811

## 多重ロジスティック回帰分析を用いた尿一般検査成績における尿路感染症原因細菌予測

◎河野 紋<sup>1)</sup>、中村 彰宏<sup>2)</sup>、川 健司<sup>2)</sup>、山西 八郎<sup>1)</sup>、河野 久<sup>2)</sup>、中村 文彦<sup>2)</sup>  
 天理医療大学 医療学部 臨床検査学科<sup>1)</sup>、天理よろづ相談所病院 臨床検査部<sup>2)</sup>

**【はじめに】**近年、ESBL やカルバペネマーゼを産生する腸内細菌科細菌が世界的に蔓延しており、その原因の一つとしてフルオロキノロンなどの広域スペクトル抗菌薬の多用があげられる。本研究は、適正な抗菌薬投与を目的とし、尿一般検査成績からリアルタイムに尿路感染症原因細菌の菌種を予測することが可能か試みた。

**【対象および方法】**2014年10月から2015年6月に、当院検査室に提出された外来随時尿のうち、膿尿（5-10個/HPF以上）かつ細菌尿（ $10^4$ CFU/mL以上）を認め、分離培養検査で菌の発育を認めた計267検体を対象とした。測定機器はAU-4050（アークレイ社）を用い、得られた尿定性8項目（比重、pH、蛋白、糖、ケトン体、潜血、亜硝酸およびWBC定性）、フローサイトメトリー（FCM）測定3項目（赤血球、白血球および細菌）、年齢および性別を説明変数とし、多重ロジスティック回帰分析を実施した。FCMで得られたBACTスキャッタグラムはX軸方向より、 $25^\circ$ 以下および $25^\circ$ 以上で区分し、角度別粒子数割合を求めて $25^\circ$ 以下/ $25^\circ$ 以上の比（R/CM比）を算出し、説明変数として使用した。

**【結果および考察】**分離培養検査の結果、グラム陰性桿菌（桿菌群）が169例、グラム陽性球菌（球菌群）が82例および複数菌群が16例であった。

桿菌群を0、球菌または複数菌群を1の目的変数とし、各説明変数を回帰させたところ、性別（ $P<0.001$ ）、年齢（ $P=0.161$ ）、亜硝酸塩（ $P=0.005$ ）、ケトン体（ $P=0.124$ ）およびR/CM比（ $P<0.001$ ）の5つを説明変数とするモデルが最も良好なAICを示した。このモデルを用いた確率予測式を以下に示す。

$$P = 1 / \{ 1 + e - (4.429 - 1.218 \times \text{性別} - 0.015 \times \text{年齢} - 0.405 \times \text{亜硝酸塩} + 1.677 \times \text{ケトン体} - 5.729 \times \text{R/CM比}) \}$$

予測値Pのカットオフ値を0.366とした場合、感度86.5%および特異度81.7%、桿菌群陽性的中率89.0%および球菌または複数菌群陽性的中率71.7%であった。

**【結語】**本研究において算出した確率予測式を用いることで尿一般検査成績と同時にリアルタイムに尿路感染症原因細菌がある程度予測することが可能となり、エンピリック治療に役立つ情報となり得る。

## 抗リン脂質抗体における各種測定法についての検討

◎佐藤 遥<sup>1)</sup>、稲本 悦子<sup>1)</sup>、宮野 章<sup>2)</sup>  
 日本医療学院専門学校 臨床検査技師学科<sup>1)</sup>、大阪府立母子保健総合医療センター 検査科<sup>2)</sup>

抗リン脂質抗体症候群の妊娠合併症は非常に多彩であり、比較的早期の流産を繰り返すいわゆる不育症に含まれるもの、妊娠中に血栓症や妊娠高血圧症候群を発症したり、中期の流死産や超早期の出産となるものまである。しかし、診断に使用される抗リン脂質抗体の測定方法とその解釈は確立されていない。従って、症例の特性に応じた測定方法も各施設で模索しているというのが現状である。そこで、抗リン脂質抗体の依頼があった検体の残血清を用い、PS/PT抗体、PE抗体、カルジオリピンIgG抗体、IgG抗体の質（avidity）、IgGサブクラス、IgA、IgMの測定を行なった。

## [対象と方法]

当母性内科に受診し、インフォームドコンセントが得られた13例を対象とした。方法は①MBL社 MESACUP カルジオリピンテスト、②MBL社 PS/PT ELISA Kit、③MyBiosource社 Human Phosphatidylethanolamine Antibody (IgG) ELISA Kit、④カルジオリピン抗体 IgG（追加としてIgG avidity、IgGサブクラス、IgA、IgM）、⑤avidity検査（通常のIgG抗体価測定操作にavidity試薬の反応ステップが加わる。すなわち、固相抗原

と抗体の反応が終了した後、8M尿素を含んだ洗浄液を反応させる。8M尿素を含んだ洗浄液のかわりに洗浄液を用いた試薬を対照として avidity index を求めた）である。④と⑤の方法は自家調整試薬を用いた。

## [結果]

抗カルジオリピン抗体 avidity はループス抗凝固因子陰性群  $n=5$ 、 $138.1 \pm 46.1$ （平均値±標準偏差）、陽性群  $n=6$ 、 $61.7 \pm 60.5$  と陽性群の方が低値を示した（ $p=0.0285$ ）。抗カルジオリピン抗体 IgG2 は抗カルジオリピン  $\beta$  2-グリコプロテイン I 複合体抗体陰性群  $n=4$ 、 $0.3 \pm 0.2$ 、陽性群  $n=5$ 、 $6.5 \pm 8.5$  index と陽性群の方が高値を示した（ $p=0.0143$ ）。抗カルジオリピン抗体 IgG3 は皮膚障害陰性群  $n=10$ 、 $1.3 \pm 0.9$ 、陽性群  $n=3$ 、 $2.9 \pm 0.8$  index と陽性群において高値を示した（ $p=0.0225$ ）。

## [結論]

抗カルジオリピン抗体 avidity はループス抗凝固因子陽性群で低く、抗カルジオリピン  $\beta$  2-グリコプロテイン I 複合体抗体陽性群において抗カルジオリピン抗体 IgG2 が高く、皮膚障害においてカルジオリピン IgG3 が高い値を示した。

## MPL W515L/K 遺伝子変異解析法の確立

◎大藪 裕子<sup>1)</sup>、福塚 勝弘<sup>2)</sup>、林田 雅彦<sup>2)</sup>、大野 仁嗣<sup>3)</sup>

天理医療大学 医療学部 臨床検査学科<sup>1)</sup>、天理よろづ相談所 医学研究所<sup>2)</sup>、天理よろづ相談所病院 血液内科

MPL (*myeloproliferative leukemia*)遺伝子変異は、本態性血小板血症 (ET) の 3~4%の症例で検出される。今回我々は、amplification refractory mutation system (ARMS)法、allele-specific PCR (AS-PCR)法、melting curve (MC)法の3つの解析法を MPL 変異解析に応用し、有用性を評価した。

【対象および方法】2009年6月から2014年12月の間に当院でETと診断した71例(*JAK2*変異型40例、*CALR*変異型19例、*JAK2*・*CALR*共に野生型12例)を対象とし、EDTA加全血からDNAを抽出した。ARMS法はJian Zらの方法に準じた。AS-PCR法はARMS法と同一の変異特異的 primer を用いた。MC法はAkpınar TSらの方法を一部改変し、野生型の hybridization probe を用いた。変異陽性例はダイレクトシーケンシング法(DS法)によって変異とその割合を確認した。

【結果】ET 71例中2例に MPL 変異が検出された。共に W515L 変異で、*JAK2*・*CALR*野生型症例であった。そのうち1例(P1)は3法全てで陽性、もう1例(P2)はAS-PCR法とMC法のみで陽性であった。DS法でもW515Lが確認され、変異の割合はP1が80~90%のホモ型、P2が10~20%のヘテロ型であった。解

析法によって不一致を認めたため、検出感度の検定を行ったところ、ARMS法20%、AS-PCR法3%、MC法5%であった。

【考察】ET 71例における変異検出頻度は MPL 変異2.8%、*JAK2*変異56.3%、*CALR*変異26.8%、全て陰性14.1%であり、Klamp1 Tらの報告とほぼ同様であった。彼らの MPL 変異検出感度(1.5%)に比べると我々の方法は感度がやや劣るが、検出頻度は同等であったことから、AS-PCR法とMC法の2法は臨床応用可能と考えられた。ARMS法とAS-PCR法はW515L/K特異的な検出が可能であるが、前者では内部コントロール用を含む複数の primer が含まれるため、反応が競合し変異型の増幅を低下させたと考えられた。一方、MC法は、野生型 probe を用いるため特異性はないが、W515L/K以外の変異型も検出することが出来るため、スクリーニングに有用と考えられた。

【結語】ET症例における MPL 遺伝子変異をARMS法、AS-PCR法、MC法を用いて検出した。W515L変異を広く検出できるMC法をスクリーニングに、変異特異的なAS-PCR法およびDS法を確認試験として実施することが有用と考えられた。  
連絡先：0743-63-5611(内線8976)

## 切片浮遊水に着目した組織切片剥離防止効果の検討

◎渡邊 拓也、松山 宥太、横川 卓士

大阪医療技術学園専門学校 臨床検査技師科

【目的】

特殊染色や免疫染色を行う場合、酸、アルカリ、加熱や酵素処理等を行う工程に対し、組織切片の剥離が生じるのを防ぐため、コーティングガラスを使用し標本作製を行う頻度が高い。しかし、コーティングガラスを使用し標本作製を行っても、組織切片の剥離する標本は存在する。組織標本の剥離に対する、コーティングガラスの技術的進歩は著しいが、それ以外の検討報告は見当たらない。今回我々は、標本作成時に使用する切片浮遊液に着目し、スライドガラスとの吸着を強める有効な切片浮遊液につき検討を行った。

【材料と方法】

標本は病理解剖で得られた、右足第1指の正中標本を使用した。スライドガラスはAPS、MAS、MAS-GP、FRC、PLATINUM-PRO(松浪)を使用した。切片浮遊液は、炭酸水、アルカリイオン水、1%卵白含有水、10%卵白含有水、0.2% NaOH、2% NaOH、1% NaCl、10% NaCl、10% でんぷんのり水を用い比較検討した。切片剥離試験は、賦活液に pH9.0 EDTA buffer(ニチレイ)を用い、賦活方法にオートグレーブ

による121°C5分間処理後、HE染色を行い標本剥離の観察を行った。剥離防止に効果が期待されたものに対しては、その再現性を確認した。また染色性への影響につき、特殊染色はAzan、Ag、AB-PAS、消化DFSを、免疫染色はCD20、Amyloid P、CK34β12染色を検討した。

【結果と考察】

HE染色において、すべてのスライドガラスで卵白含有水は剥離の軽減がみられた。また炭酸水とアルカリイオン水は、MAS、FRCコートで剥離の軽減がみられた。特殊染色、免疫染色では、炭酸水、アルカリイオン水、1%卵白含有水の使用は染色性に影響を与えなかった。10%卵白含有水は、すべてのスライドガラスでDFS染色とアミロイド免疫染色で染色性の減衰が見られ、AB-PAS染色では背景の過染が見られた。これらより、スライドガラスの種類と適切な切片浮遊水を組み合わせることで、効果的な剥離防止効果が期待できることが判明した。

## 保存期間等に関わる生化学データ変動の検討

◎本吉 裕一<sup>1)</sup>、寺田 一毅<sup>1)</sup>、江口 光徳<sup>2)</sup>、谷口 琴音<sup>2)</sup>  
日本医療学院専門学校 臨床検査技師学科<sup>1)</sup>、宇治徳洲会病院<sup>2)</sup>

【はじめに】実習病院の検査室では、検査後の血清が分離剤入りの採血管のまま冷蔵保存されていた。これは後日追加検査があった際等に用いるもので、患者さんから再度採血を行わなくてよいなどのメリットもある。しかし、最大10日間保存されている血清を検査して、はたして信頼性のある検査結果が得られるのかと疑問に思った。そこで今回冷蔵保存した血清を毎日測定し、保存期間による生化学データの変動を調べてみた。

【方法】抗凝固剤の入っていない分離剤入り採血管を用いて採血を行い、遠心分離後の血清で各種生化学項目についてデータを測定した。測定後の血清を分離剤入り採血管のまま4~6℃で冷蔵保存し、10日間毎日室温に戻してから測定を行った。血清を別容器に分注して保存した検体も同様に冷蔵保存をして10日間毎日測定してみた。追加として冷蔵保存をした分離剤入り採血管を、測定前に再遠心を行ったものも測定してみた。

【結果】10日間の測定データを確認すると大部分の項目についてはあまり変動がみられなかった。一部総ビリルビンや、

軽度だがLDHで経時的な低下がみられた。再遠心を行った検体についてはカリウム、LDHの上昇がみられた。

【考察】総ビリルビンの減少は、光による分解が値の低下の原因ではないかと考えた。再遠心した検体でのカリウム、LDHの上昇は血球成分から遊離したものが再遠心によって血清に混じったことが考えられる。しかし、ASTが上昇しないのは理由がよくわからなかった。

【まとめ】一部の項目を除いては、10日間冷蔵保存した血清を用いての検査結果は十分に信頼性のあるものだと考えられた。しかし総ビリルビンや、LDHについては注意が必要であると思われた。また、保存血清の再遠心によるカリウム、LDHへの影響は大きく、別容器に移してから遠心すべきではないかと思われた。

日本医療学院専門学校 06-6723-1441

## 心肺運動負荷試験における予測値変更に向けての基礎的検討

◎新家 徹也<sup>1)</sup>、川邊 晴樹<sup>2)</sup>、北川 実美<sup>2)</sup>、原田 謙<sup>2)</sup>  
天理医療大学 医療学部 臨床検査学科<sup>1)</sup>、天理よろづ相談所病院 臨床検査部<sup>2)</sup>

【目的】現在当院では、心肺運動負荷試験(Cardio Pulmonary Exercise Test:以下CPX)における予測値として、1990年の村山正博らの論文を基に設定した予測値(以下、現行予測値)を用いている。今回、2013年に伊東春樹らによって発表された新しい予測式(以下、新予測値)と現行予測値との比較を行い、今後予測値を変更するうえで運動耐容能の評価がどのように変動するかを検討した。

【対象】2003年10月15日から2015年4月8日の間に当院循環器内科より依頼されたCPX施行患者208例(男性168例、女性40例)を対象とした。年齢は30歳から83歳であった。

【使用機器】心肺運動負荷試験装置 ミナト医科学社製 エアロモニターAE-300S, AE-310S

【方法】AT  $\dot{V}O_2/wt$  (嫌気性代謝閾値の酸素摂取量), Peak  $\dot{V}O_2/wt$  (最大運動時の酸素摂取量), Peak HR (最大心拍数)の3項目において、各測定値の新予測値に対する割合から現行予測値に対する割合を引いた差を求め、その標準誤差(SE)を30代から80代(女性は70代)の年代別にみた。

【結果および考察】AT  $\dot{V}O_2/wt$  においては、男女ともに全ての年代で平均値の95%信頼区間である2SEは重ならず有意な差を認め、高齢になるほど2つの予測値の差が大きくなった。そのため予測値を変更した際は年齢を考慮し評価する必要がある。Peak  $\dot{V}O_2/wt$  においては、男女ともに30代と40代では2SEが重なり有意な差を認めなかったが、50代以上の年代では有意な差を認め、高齢になるほど2つの予測値の差が大きくなった。そのため、30代と40代では同じ変動として評価し、50代以上では年齢を考慮し評価する必要がある。Peak HR においては、男女ともに全ての年代で2SEは重なり有意な差を認めなかったため、年齢を考慮せずに評価することができる。現行予測値では69歳までを調査対象とし日常的に運動している対象者が多かったことに対し、新予測値では78歳までが調査対象となり日常的な運動習慣をもつ人は対象から除外されていた。この調査対象の違いが2つの予測値に差がある要因と思われる。今後予測値を変更した際は、性別および年代別の変動を考慮したうえで、運動耐容能を評価する必要があると思われた。 連絡先: 090-8538-2342

## AFP - L3 分画と超音波検査所見との関連性について

◎中川 紗希<sup>1)</sup>、三谷 佳<sup>1)</sup>、吉田 真野<sup>1)</sup>、山本 憲司<sup>2)</sup>、繁 正志<sup>2)</sup>、池本 敏行<sup>2)</sup>  
大阪医療技術学園専門学校 臨床検査技師科<sup>1)</sup>、大阪医科大学附属病院<sup>2)</sup>

【はじめに】 $\alpha$ -フェトプロテイン (AFP) は、腫瘍マーカーとして肝細胞癌のスクリーニングに広く用いられているが、特異性は必ずしも高くはない。近年、高感度 AFP-L3 分画測定法が確立され、肝細胞癌の早期発見、予後予測、再発のモニターとしての有用性が報告されている。今回我々は、肝細胞癌診断における AFP-L3 分画の有用性を検証すると共に、その変動と超音波検査所見を比較し、若干の知見を得たので報告する。

【対象・方法】2013年1月から2015年5月までに大阪医科大学附属病院中央検査部に提出された AFP、AFP-L3 分画測定依頼検体(1021 検体)を対象とした。

1) AFP <7.0ng/mL、AFP-L3 分画<10%を基準とし、患者検体を AFP・AFP-L3 分画共に高値 (A 群)、AFP-L3 分画のみ高値 (B 群)、AFP のみ高値 (C 群)、AFP・AFP-L3 分画共に基準値内 (D 群) の 4 群に分類した。2) A 群において超音波検査と病理診断ともに肝細胞癌された割合を検索した。3) AFP-L3 分画高値で肝細胞癌と診断された症例において、治療前後の AFP-L3 分画測定値と超音波検査所見と

の関連性について検討した。4) AFP-L3 分画低値での超音波検査所見と病理診断との関連性について検討した。測定には  $\mu$  TAS Wako i30 (和光純薬社) を用いた。

【結果】1) 4 群の割合を右表に示す。2) A 群では 83.1% の症例が超音波検査と病理診断ともに肝細胞癌と診断され

		AFP (ng/mL)		計
		7.0 <	< 7.0	
AFP-L3 (%)	10 <	88 (A)	19 (B)	107
	< 10	174 (C)	740 (D)	914
計		262	759	1021

ていた。3) 治療後に AFP は低下したが、AFP-L3 分画が高値を持続した肝細胞癌症例では超音波検査で腫瘍の残存が認められた。また、肝細胞癌診断時には AFP-L3 分画が高値、治療後に 5.7%まで低下、その後も AFP-L3 分画基準値内を維持している症例でも再発はない。4) C 群で肝細胞癌を含むものの、脂肪肝や肝硬変、ウィルス性肝炎の診断が多く、超音波検査においても腫瘍性病変は認められなかった。

【まとめ】AFP および AFP-L3 分画の測定値は、超音波検査所見との一致からも、肝細胞癌に対する予後予測、再発のモニターとして有用なマーカーであることが確認された。

連絡先：大阪医科大学附属病院 中央検査部 072-683-1221

## 国家試験の現状とその対策

◎増田 泰三、黒岡 慈貴  
大阪行岡医療専門学校長柄校 臨床検査科

【はじめに】

私たちは臨床検査技師を目指す学校に通っている専門学校生です。私たちが通っている学校は数多くの先輩方が通ってありました歴史ある大阪行岡医療専門学校長柄校になります。臨床検査技師になるには国家試験に合格しないとけません。最近の臨床検査技師の国家試験には毎年約 4,000 人が受験し、合格率は 70~75%となっております。この国家試験に合格する為に、私たちは 3 年間学校に通い、勉強しております。私たちの現状での最終目標は国家試験に合格することです。その為に今回発表させていただくのは、国家試験に関して研究した内容を発表させていただきます。

研究した内容はこの 10 年間に出题されてきた国家試験の問題になります。この 10 年間で国家試験が大きく変わったのが画像問題の出题になります。画像問題は毎年必ずといっていいほど出题されております。一般検査分野では寄生虫や尿沈渣であったり、血液分野では末梢血中や骨髄中の幼弱細胞であったり、病理分野では組織診や細胞診であったり、輸血分野では ABO 血液型、交差適合試験の画像問題であった

り、微生物の分野では非選択培地と確認培地の性状からどのような細菌が考えられるのかの問題であったり、生理検査の分野では呼吸機能や心電図、脳波、超音波など多種にわたって出题されております。画像問題の難易度は毎年どんどんと上がってきており、さらに最近では臨床症状と画像が複合し、形態や性状を丸覚えするだけでは解けない問題が出てきました。特に生理検査の分野では臨床症状との複合問題が多く出ております。

そこで実際にどのような問題が出ているのか？そして、そのような画像問題に関してどのような対策をしなければいけないのか？そこで臨床症状との複合問題が多かった生理検査の分野で本校の学生の正答率が低かった生理検査の問題を例に発表をさせていただきます。