

GENECUBE を使用した BCG/*M. tuberculosis* 鑑別方法の検討

◎中西 愛美¹⁾、高澤 美紀¹⁾、森川 祥史¹⁾、濱田 信²⁾

独立行政法人 国立病院機構 四国がんセンター 臨床検査科¹⁾、独立行政法人 国立病院機構 四国がんセンター 感染症・腫瘍内科²⁾

【はじめに】膀胱上皮内がんの治療や表在性膀胱がんの再発予防の目的で BCG (Bacillus Calmette-Guerin) 膀胱内注入療法が行われる。がん細胞を死滅させる一方、生菌を注入するため副作用として膀胱炎など BCG 感染を引き起こすことがある。BCG はウシ型弱毒結核菌であり、ヒト型結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) と病原性は異なるが 16S rRNA 遺伝子配列が同一であるため市販の PCR 試薬では両者を鑑別することは困難であった。当院でも BCG 膀胱内注入療法患者の抗酸菌検査依頼があるが、上記の理由から鑑別できず治療方針の決定が困難であった。今回、東洋紡株式会社の研究用試薬を用いて PCR 法で *M. tuberculosis* と BCG の鑑別が可能か基礎的検討を行ったので報告する。

【方法】BCG 試薬 (ターゲット領域: DnaJ1) を調製後、*M. tuberculosis* と BCG のコントロール (Genomic DNA from *Mycobacterium tuberculosis* TMC 102 [H37Rv], Genomic DNA from *Mycobacterium tuberculosis* var *bovis* BCG strain TMC1011) を用いて全自動遺伝子解析装置 GENECUBE にて測定し、両者を鑑別できるか検討を行った。また、総合

所見より BCG 感染と診断ができた尿の NALC 処理 1 検体、発育菌株 2 株を対象に BCG と判定されるか測定を行った。

【結果】*M. tuberculosis* と BCG のコントロールを 4 回連続測定し再現性を確認したところ、それぞれ異なる温度域に反応曲線のピークが出現し鑑別可能であった。続いて患者検体を用いて NALC 処理検体、菌株それぞれの検証を行ったが、いずれも BCG と判定され、臨床所見と矛盾しない結果となった。

【考察】*M. tuberculosis* と BCG では DnaJ1 領域にて 1 塩基異なる箇所があり、PCR 法を実施した際に異なる温度域に反応曲線のピークを得ることで両者の鑑別ができる。今回、コントロールと患者検体を測定した結果からも同様の事が言えた。今回の検討では検体数が少ないことからカットオフ値を含め更なる検討が必要である。現在、泌尿器科の協力の元、BCG 膀胱内注入後の尿検体を使用した臨床研究を開始しており、その結果も含め報告を行う予定である。連絡先 089-999-1111 (内線 7655)

全自動遺伝子検査装置「コバス 5800 システム」による HBV-DNA 及び HCV-RNA 定量検査の検討

◎熊野 由美子¹⁾、國宗 勇希¹⁾、中原 由紀子¹⁾、岡山 直子¹⁾、藤井 智大¹⁾、西岡 光昭¹⁾
山口大学医学部附属病院¹⁾

【背景・目的】HBV 及び HCV 感染者における血液中のウイルス核酸定量検査はウイルス肝炎などの肝疾患の診断、病態把握、治療効果判定に必要不可欠である。ウイルス核酸抽出から増幅・検出までを全自動で行う「コバス 5800 システム」（ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社（ロシュ）、新法）は「TaqMan「オート」システム B」（ロシュ、現行法）に比べて測定レンジ拡張、操作手順簡便化、採血管からの直接測定などの特徴を持っている。今回は新法の基礎的検討と現行法との比較検討を行い、機器の性能及び操作性について考察した。

【対象・方法】新法・現行法の測定試薬はそれぞれの機器に対応するものを用いた(すべてロシュ)。新法の基礎的検討として①2 濃度のプール血清を用いた 10 回測定同時再現性試験、②管理血清を用いた 10 日間日差再現性試験、③10 倍の段階希釈系列の 3 回測定による希釈直線性試験を行った。また、2021 年 1 月～2023 年 4 月において現行法による検査が実施された患者 119 例の血清(HBV/HCV : 57/62 例)を用いて新法との④判定一致率⑤相関を検討した。

【結果】HBV/HCV とともに①②において良好な再現性 (CV : 0.6～6.3%) を示した。③において HBV/HCV の理論値との回帰直線の傾き、相関係数は 0.96, 1.00/1.05, 0.99 であった。④の陽性一致率は 97.5/100%、陰性一致率は 88.9/96.7%で、不一致例は HBV では 3 検体(2 検体が新法で 1.0Log IU/mL 未満かつ現行法で(-)、1 検体が新法で(-)かつ現行法で 1.3Log IU/mL 未満)、HCV では 1 検体(新法で 1.2Log IU/mL 未満かつ現行法で(-))であった。⑤新法と現行法の相関係数は HBV で 0.93、HCV で 0.99 であった。

【考察】新法では、HBV/HCV 共に全ての検討項目において良好な結果が得られた。不一致例に関しては、いずれも低ウイルス量の検体であり、新法の方が高感度であると示唆される。さらに新法は手分注不要の全自動化となっており、手分注が必要で抽出装置と測定装置が異なる現行法と比べて TAT が短縮している。迅速かつ高性能な新法は現在の臨床のニーズを満たす検査法であると考えられる。

(連絡先 : 0836-85-3753)

当院における SARS-CoV-2 変異スクリーニング検査体制とその結果

©仲井 富久江¹⁾、文屋 涼子¹⁾、吉田 智子¹⁾、野上 さくら¹⁾、石松 昌己²⁾、中桐 逸博³⁾、大石 智洋⁴⁾、近藤 英生⁵⁾
川崎医科大学附属病院 輸血部／中央検査部¹⁾、川崎医科大学附属病院 中央検査部²⁾、川崎医療福祉大学³⁾、川崎医科大学附属病院 臨床感染症科⁴⁾、川崎医科大学附属病院 輸血部⁵⁾

【はじめに】

SARS-CoV-2 ウイルスは増殖、感染拡大を繰り返す中で徐々に変異し、流行株ごとに感染性、重症化リスク、治療薬の効果など特徴も異なっている。そのため、変異株を迅速に推定し報告することは、臨床上有用である。当院では SARS-CoV-2 陽性検体に対し、変異株を判別するためのスクリーニング RT-qPCR を行い、当日中の結果報告を目指した検査体制を構築し、結果を得たので報告する。

【方法・結果】

対象は 2020 年 10 月から 2023 年 5 月までに当院で SARS-CoV-2 初回陽性となった患者 580 症例である。唾液もしくは鼻咽頭検体から RNA を抽出し変異スクリーニング RT-qPCR を行った。2021 年 12 月まではダイレクトシーケンスでの変異解析を行ったが、2022 年 1 月以降のオミクロン株の流行時期（第 5 波、第 6 波）には、del69/70 変異を利用したスクリーニングにて SGTF（BA.1.1 疑い）/SGTP（BA.2 疑い）の判別が可能であった。2022 年 7 月（第 7 波）からは L452R（BA.5 疑い）用を、2022 年 12 月からは

N460K 用、2023 年 1 月からは R346T、F486S/P 用のプライマー・プローブを追加し、BN.1、BQ.1.1、BF.7、XBB 系統疑いを判別するためのスクリーニングを行った。結果、2021 年 3 月までは従来株のみ 17 件であったが、2021 年 4 月以降はアルファ株疑い 27 件、デルタ株疑い 40 件、2022 年 1 月以降はオミクロン株 BA.1.1 疑い 71 件と推移し、2022 年 7 月からの第 7 波ではオミクロン株 BA.5 疑い 303 件を報告した。その後は複数の変異株が同時に流行し、BN.1、BF.7、BQ1.1 疑いが散見され、2023 年 5 月に入ってから XBB 疑いを 6 件、当日結果報告した。

【考察】

SARS-CoV-2 ウイルスの変異株について、即日報告するスクリーニング体制を構築した。新型コロナウイルス感染症が 5 類感染症となり、感染対策も見直される中、院内の対策として、重症化するリスクの高い陽性患者の変異株をスクリーニング的に検査し、迅速に情報を提供することは、臨床上有用であると考えられる。

連絡先 086-462-1111（内線 23108）