

## 1. 中四国地方における *Streptococcus pneumoniae* の検出状況と薬剤感受性動向

(株) ファルコバイオシステムズ 岡山研究所<sup>1</sup>

(株) ファルコバイオシステムズ 総合研究所<sup>2</sup>

○三田 恵美<sup>1</sup>、近藤 陽子<sup>1</sup>、杉本 啓一<sup>1</sup>、田中 悟<sup>1</sup>、小野 保<sup>2</sup>、林 久志<sup>1</sup>

### 【はじめに】

近年 *Streptococcus pneumoniae* を含む薬剤耐性菌の増加が深刻化しており、治療において重要な課題となっている。2015年5月の世界保健総会では薬剤耐性（AMR）に関するグローバル・アクションプランが採択され、我が国では2016年に初の薬剤耐性（AMR）対策アクションプランが決定された。今回我々は中四国地方における *S.pneumoniae* の検出状況と AMR 対策アクションプラン前後の薬剤感受性動向について調査したので報告する。

### 【対象と方法】

2015年から2023年の4月に中四国エリアの医療機関より提出された臨床材料から分離された *S.pneumoniae* 4988株を対象とし、材料別検出状況と抗菌薬耐性状況を調査した。感受性試験法はドライプレート'栄研'を使用した微量液体希釈法で13薬剤を測定し、判定はCLSI基準M100-S24を使用した。ペニシリン耐性肺炎球菌の判定は非髄膜炎基準と髄膜炎基準の両方で評価を行った。

### 【結果】

材料別検出状況は鼻腔内分泌物からの検出が最も多く89.0%検出された。非髄膜炎基準のPISPは鼻腔内分泌物から2件、喀痰から2件検出され、PRSPは鼻腔内分泌物から1件、喀痰から1件検出された。

薬剤感受性動向は、PCGの非髄膜炎基準を用い

た結果は最も高い2017年でもPISP 0.6%、PRSP 0.2%と大多数がPSSPと判定された。一方、髄膜炎基準では最も低い2016年でもPRSP 26.5%と高率となった。その他の抗菌薬はAMPC、CTX、CTRX、IPM、MEPM、LVFXは耐性率12.0%以下と高い感受性率を示した。CCL、CPDX、CFDN、CAM、CLDMは高い耐性率を示し、継続した耐性率の低下は見られなかった。TCは2015年では82.5%と高い耐性率を示したが、継続した耐性率の低下が見られ2023年は67.5%と2015年と比較し有意に低下した。

### 【まとめ】

薬剤耐性（AMR）対策アクションプラン

（2016-2020）では成果指標として「2020年の *S.pneumoniae* のPCG耐性率を15%以下に低下させる」、「2020年の経口セファロsporin薬、フルオロキノロン薬、マクロライド系薬の人口千人当たりの一日使用量を2013年の水準から50%削減する」、という目標を設定していた。

*S.pneumoniae* の薬剤耐性は経口セファロsporin薬、マクロライド系薬では依然として高い耐性率を示したことから、継続したAMR対策と薬剤感受性動向の調査が必要であると考えられる。

## 2. ジーンキューブによる抗酸菌遺伝子検査の導入検討

株式会社福山臨床検査センター

○萩原 里沙 原 史子 中村 裕司 木本 真史 早崎 俊成 奥原 俊彦

### 【はじめに】

結核菌は病原性が強くヒトからヒトへの感染を引き起こす。このため結核症と非結核性抗酸菌症である MAC 症を区別して迅速に検出する抗酸菌遺伝子検査は、早期診断、治療方針の決定、感染予防に重要である。今回、QProbe 法（全自動遺伝子解析装置ジーンキューブ 東洋紡社）による抗酸菌遺伝子検査について検討する機会を得たので報告する。

### 【測定機器及び試薬】

機器：全自動遺伝子解析装置ジーンキューブ  
(東洋紡株式会社)

試薬：ジーンキューブ MTB

ジーンキューブ MAI

(東洋紡株式会社)

### 【検討内容】

①結核菌（以下 TB）、非結核性抗酸菌アビウム（以下 AV）、非結核性抗酸菌イントラセラー（以下 INT）それぞれの菌液を用いての併行精度の確認 ②TB、AV、INT それぞれの菌液を用いての感度比較 ③臨床検体を用いた QProbe 法と TaqMan 法（遺伝子解析装置 コバス TaqMan48 ロシュ・ダイアグノスティックス社）との関連の確認を実施した。

### 【結果】

①TB、AV、INT それぞれの菌液を用いての併行精度は良好であった。②TB、AV、INT それぞれの菌液を用いての感度比較は TB では TaqMan 法が一間差高感度であった。AV では QProbe 法

の方が一間差高感度であった。INT では QProbe 法と TaqMan 法は同等の感度となった。③臨床検体（n=30）を用いた QProbe 法と TaqMan 法の相関は、TB は全体一致率 100%(30/30)。AV は全体一致率 96.7%(29/30)。INT は全体一致率 90.0%(27/30)となった。

### 【まとめ】

ジーンキューブによる抗酸菌遺伝子検査の検討を行った結果、併行精度は良好な結果であり、感度比較では用いた菌液の範囲においてほぼ同等であった。TaqMan 法との相関では TB の全体一致率 100%、AV の全体一致率 96.7%、INT の全体一致率 90.0%となり良好な結果が得られた。AV、INT それぞれで乖離があった検体はすべて TaqMan 法で Ct 値が高く、QProbe 法で蛍光値が低かったため、検出感度付近の菌体量が少ない検体であったと考えられた。

### 【結語】

ジーンキューブを用いた QProbe 法は、TaqMan 法とほぼ同等の結果となり、今回の検討により装置を導入する運びとなった。また、ジーンキューブは迅速性、簡便性に優れているが、装置に架設する試薬がバーコードで識別されないため、試薬管理を手動で行う必要がある。今後システム面で改善されることが望まれる。

### 3.T-SPOT.TB Auto-Pure20B 導入によるセミオートメーション化の検討

株式会社岡山医学検査センター

○大橋 咲 塩出 梨花 土師 千恵美 笠原 雅子

#### 【はじめに】

T-SPOT.TB は、全血から分離させた末梢血単核球（以下 PBMC）において、結核菌特異蛋白刺激によって遊離したインターフェロン(IFN)- $\gamma$  産生 T 細胞数の測定を行い、活動性結核、潜在性結核感染症の診断の補助を行なうことを目的として用いられている検査である。今回、セミオートメーション化として Auto-Pure20B を導入するにあたり PBMC 回収方法の違いによる従来法との比較検討を行ったので報告する。

#### 【対象・内容】

対象：T-SPOT.TB の依頼のある患者検体 57 件  
<従来法>全血 5.0mL から密度勾配遠心分離法により PBMC を分離

<新法>全血 3.5mL から磁気ビーズ法により PBMC を分離（Auto-Pure20B（オックスフォード・イムノテック株式会社）を使用）

内容：分離・洗浄後の PBMC 数と判定結果の比較、日差再現性（採血後翌日検査と翌々日検査の結果の比較）

#### 【結果】

分離・洗浄後の PBMC 数は、新法が従来法を上回った件数が 44 件（77.2%）、下回った件数が 13 件（22.8%）であった。また、判定結果（スポット数）の比較においては、全体一致率 94.7%（54/57）、判定保留と陰性での不一致が 3 件であった。

日差再現性では、PBMC 回収率は 88.9~116.1%であった。また、判定結果の比較では、全体一

致率 98.2%（56/57）、陽性と陰性の不一致が 1 件であった。

#### 【考察】

分離・洗浄後の PBMC 数に関して、新法が従来法を下回った 13 件について、新法での PBMC 回収数を全血 5.0mL を使用した場合の PBMC 数に換算すると回収率は 91.6~140.9%（100%以下は 2 件）となり、新法がリンパ球を効率良く回収していることがわかった。従来法と新法で判定結果が一致しなかった 3 件は、従来法がリンパ球以外の白血球を含んでいた可能性も考えられるが、PBMC 数の調整（ $25.0 \times 10^2 / \mu\text{L}$  で行い、 $\pm 20\%$  を許容範囲とされている）において、実際の細胞数の差がスポット数の差に反映していると思われる。

日差再現性についても PBMC 回収率は 88.9%~116.1%であり良好な結果だった。判定結果が一致しなかった 1 件については、磁気ビーズ添加後のピペッティングが不十分であった可能性があり、細胞数の濃度が均一でなかったことが考えられる。

#### 【まとめ】

Auto-Pure20B を用いた新法は、従来法より少ない血液量であっても PBMC の回収は十分であり、判定結果も従来法と同等の結果が得られた。しかし、磁気ビーズの取り扱いには配慮すべき点もあり、PBMC 回収法の違いを理解した上で検査をする必要があると考える。