

岐阜県臨床検査技師会誌

vol. 44 2号

ISSN1348-2203

通巻148号

vol.
44
2号

乳幼児の PSG 検査の呼吸イベント解析について (Respiratory Inductance Plethysmography : RIPを用いて) …	石郷 景子 ほか	1
Daptomycin 非感性の MRSA による敗血症の2例 ……………	後藤 雪乃 ほか	5
海外渡航歴の無い患者に発症した <i>Shigella flexneri</i> による菌血症の1例 ……………	後藤 雪乃 ほか	10
高感度 HBs 抗原定量試薬ルミパルス HBsAg-HQ の基礎的検討 ………	中村 真大 ほか	14

通
巻
148
号

乳幼児の PSG 検査の呼吸イベント解析について

(Respiratory Inductance Plethysmography : RIP を用いて)

石郷 景子¹⁾ 中島 直美¹⁾ 澤村 聖子¹⁾ 樋口 修¹⁾ 服部万奈代¹⁾
伊藤 真隆²⁾ 見松はるか²⁾ 兵藤 玲奈²⁾ 野村 羊示²⁾

Key words

乳幼児の PSG 検査, RIP (Respiratory Inductance Plethysmography), インダクタンス, SUM 解析

要 旨

当院のポリソムノグラフィ (polysomnography : 以下 PSG) 検査の依頼は, 成人にとどまらず小児・幼児・新生児にまで至っている. 検査対象の児は小さいといえども検査項目は成人と同じであり, たくさんのセンサ装着はとて嫌がる児が多い. 特に鼻・口の呼吸センサはプレッシャーセンサとサーミスタセンサを装着するが, 嫌がっておとなしく寝なかったり, 外したりしてしまい呼吸イベントの判定ができない場合が多々ある. 少しでも児に負担をかけないで検査する方法としてインダクタンスプレステモグラフィ (Respiratory Inductance Plethysmography : 以下 RIP) を用いて呼吸イベントを解析したが呼吸イベントの分類に活用できた.

I. はじめに

睡眠時無呼吸検査に使用する胸部および腹部の運動検出センサとしては以下の3つが挙げられる. ① ストレインゲージ法 (呼吸運動に伴う電気抵抗の変化を記録する), ② 圧電法 (圧電素子により呼吸運動の変化を記録する), ③ RIP 法 (サイン波状に縫い付けた伸縮バンドでインダクタンスの変化を記録する) である. 前者2法 (ストレインゲージ法と圧電法) はよく用いられるが, RIP はアメリカ睡眠学会でも推奨されている¹⁾.

当院の乳児・新生児の PSG 検査依頼において, 鼻・口の呼吸センサは新生児用まで準備してあるが, 必ずしもフィットしない場合やサーミスタセンサとプレッシャーセンサの2種類を同時に装着できない場合もある. また, 検査中に鼻・口の呼吸センサが気になり, はずしたり泣いて寝なかったりする事態もでてくる.

その様な児に RIP 法を採用して判定ができないかと考え, 以前成人に対して比較検討を行い良好な結果を得たので, 今回2症例の乳幼児に対して実施したので報告する.

II. 方法

1. RIP のインダクタンス法

インダクタンスとは, コイルなどにおいて電流変化が誘導機動力となって現れる性質である. コイルとはインダクタンスを利用するために電線を巻いた受動素子である. PSG 検査では細い導線をサイン状にベルトに巻きつけたコイル型センサで, 呼吸運動によって導線の間隔が変化するとインダクタンスが変化し, 変化分に応じた周波数のパルスが発振される. このパルスの周期を信号処理して呼吸運動の変化を捉えることができる²⁾ (図1).

2. センサ装着

- 1) 脳波は乳幼児・小児のルーチンと同じモニタージュを使用し (図2), 眼球運動や頤筋電図も装着した.
- 2) SpO₂ センサは母趾に装着した.
- 3) 鼻・口呼吸センサ装着は可能であるかぎりプレッシャーセンサやサーミスタセンサを装着した. 途中嫌がったりした場合ははずすとした.
- 4) 胸・腹呼吸センサはインダクタンス法の伸縮バンドを使用した.
- 5) 前脛骨筋はオムツ替えすることと年齢的にむず

1) 大垣市民病院 医療技術部 診療検査科 生理機能室

2) 同病院 小児循環器・新生児科



上段:バンドは巻いて販売している
下段:それぞれの長さに切って使用する



図1 サイン状に縫い付けた伸縮性バンド

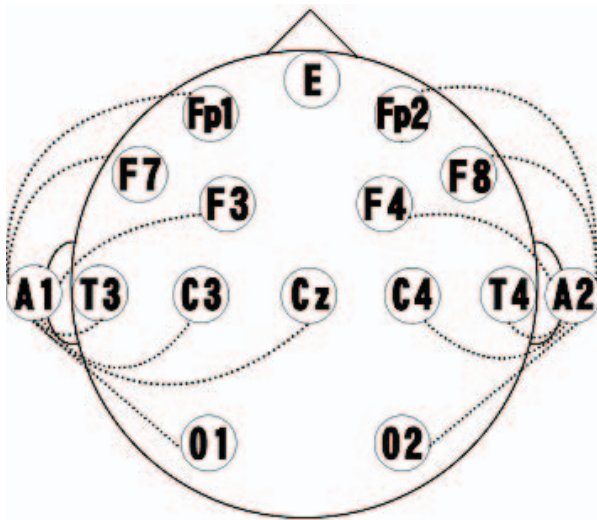


図2 乳幼児・小児のモニタージュ

むず脚などの症状が出ないことなどで装着しなかった。

6) 心電図電極のディスポは大きいため小さく切って使用した。

3. 解析

脳波は AASM2007 に準じ³⁾、呼吸イベントは RIP のインダクタンス法で得られた波形で SUM 解析を使用しておこなった。使用機器はエンブラである。

III. 症例

1. 症例 1 : 3 ヶ月, 男児. 36 週 2 日, 2925g で出生した。出生時に軟口蓋裂, 奇形症候群 (つち状指, 手指が長いなど), 心室中隔欠損, RS ウイルス感染を認めたため, NICU に入院した。出生 2 日目より無呼吸発症。PSG 検査を実施した。無呼吸イベントの判定は 2.5 秒で行い, 機器の変更のため乳幼児用のセンサがなかったため成人のプレッシャーセンサのみを片方の鼻に装着して使用した。PSG の結果は, AHI 29.5 回/時, OSAS 7.9 回/時, CSAS 3.8

回/時, Mix 0.7 回/時, Hypo 17.0 回/時, 最低 SpO₂ 75% であった。RS ウイルスの感染の軽快と共に無呼吸は軽快した。

2. 症例 2 : 3 ヶ月, 女児. 36 週 0 日, 2098g の低体重で出生し NICU に入院した。出生 2 日目より周期性呼吸, 無呼吸が出現したが, 軽快したため 38 週 5 日で退院した。40 週 0 日に母乳を飲んだ後, 突然顔色が紫になって呼吸停止し救急搬送された。1 回目の PSG は 40 週 2 日目に実施した。脳波判定は新生児の睡眠パターンで判定した。無呼吸イベントの判定は 4.0 秒で行い, 新生児用のサーミスタセンサとプレッシャーセンサを使用した。PSG の結果は, AHI 16.9 回/時, CSAS 4.9 回/時, Mix 1.9 回/時, Hypo 10.0 回/時, 最低 SpO₂ 70% であった。42 週 1 日の 1 回目の脳波検査では, 無呼吸は認めるものの SpO₂ の低下は認められなかった。43 週 0 日の脳波検査では, 無呼吸 5 回のうち 2 回は SpO₂ 低下を認めた。2 回目の PSG 検査は 3 ヶ月に実施した。脳波判定は通常の成人と同じ睡眠パターンで判定した。無呼吸イベントの判定は 4.0 秒で行い, 小児用のサーミスタセンサとプレッシャーセンサを使用した。PSG の結果は, AHI 3.9 回/時ですべてが CSAS であり, 最低 SpO₂ 87% であった。また, SpO₂ 低下を伴わない CSAS も多数認められたため, ベビーセンスをレンタルして退院した。退院後, 1 度時期を見て PSG 実施するつもりだったが, 無呼吸もなくベビーセンスも半年で返却し, 現在に至っている。

IV. 考察

SUM 解析による判定とは, インダクタンス法を使用して胸・腹呼吸の波形の位相の差を利用し振幅を合成してえられるものである⁴⁾ (図 3)。解析波形は図 4 のようになる。成人の PSG 検査において通常の呼吸イベント判定と SUM 解析を用いた呼吸イベントとの比較について解説する⁵⁾。

1, 通常の呼吸イベント判定で OSAS と判定された症例で, 胸部・腹部センサの振幅が同じで位相が逆側 (paradoxcal) な場合は OSAS となる (図 5)。胸部 < 腹部センサで位相が逆側 (paradoxcal) な場合は Hypo になる (図 6)。また, 胸部・腹部センサの振幅が同じで同相の場合も Hypo になる (図 7)。

2, 通常の呼吸イベント判定で Mixed と判定された症例で, 胸部・腹部センサの振幅が同じで位相が逆側 (paradoxcal) な場合は OSAS となる (図 8)。また, 胸部 < 腹部センサで位相が逆側 (paradoxcal) な場合は Mixed になる (図 9)。

3, 通常の呼吸イベント判定で CSAS と判定された症例で, 胸部・腹部センサの振幅は平坦となるため SUM 解析でも平坦になり CSAS となる (図 10)。

総合して考えると, OSAS の場合では位相が逆側

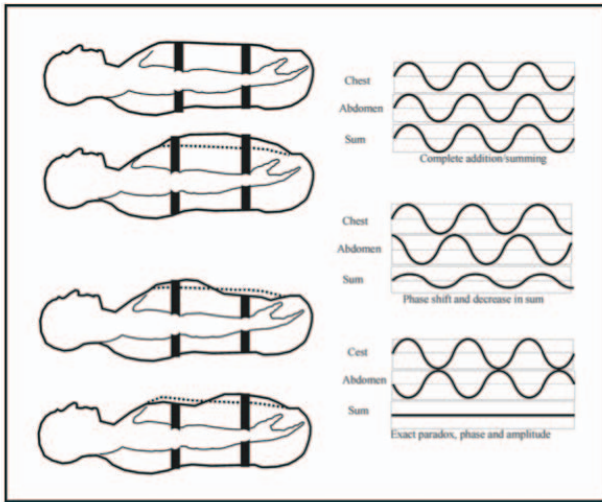
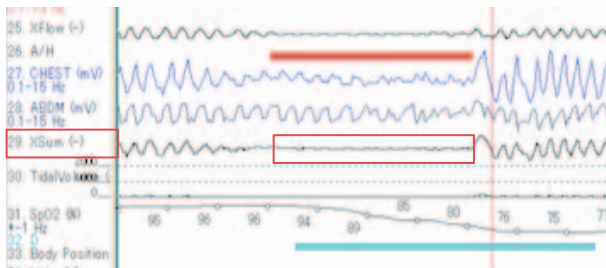
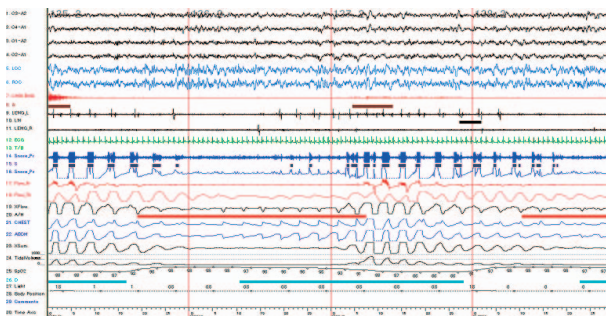


図3 インダクタンス法を使用したSUM解析の原理⁴⁾



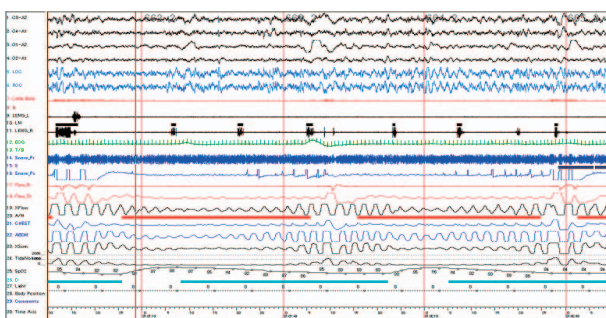
に囲んだ波形がSUM解析によって得られた波形

図4 実際の解析波形



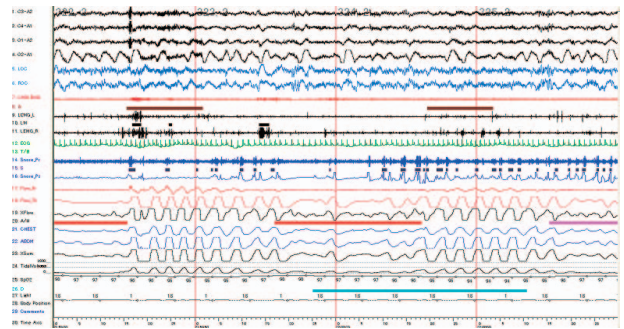
Obstructive apneaにおいては胸部・腹部センサの振幅が同じで位相が逆側の場合は、Obstructive apneaになる。

図5 解析 (Obstructive apnea)



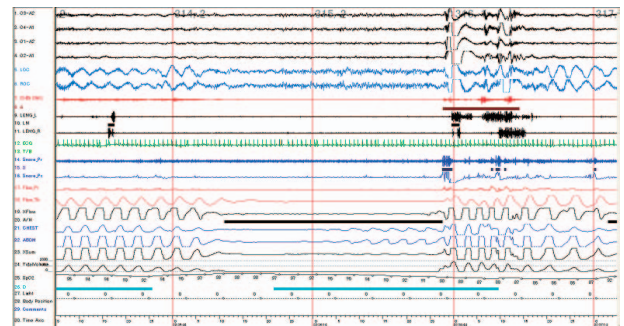
Obstructive apneaにおいては胸部<腹部センサで位相が逆側の場合は、Hypopnealになる。

図6 解析 (Obstructive apnea)



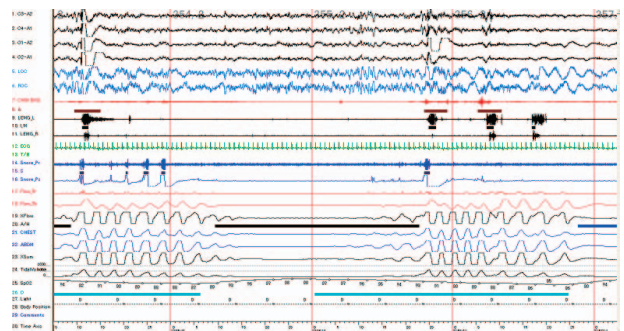
Obstructive apneaにおいては胸部・腹部センサの振幅が同じで位相が同側の場合は、Hypopnealになる。

図7 解析 (Obstructive apnea)



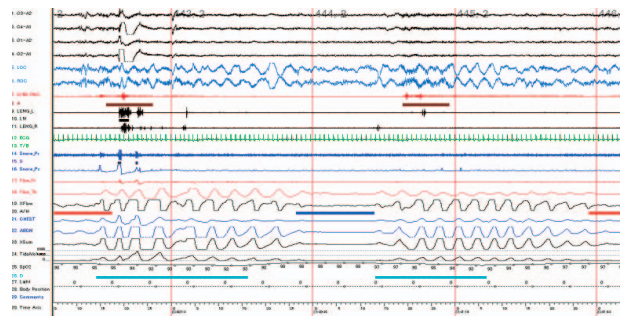
Mixed apneaにおいては胸部・腹部センサの振幅が同じで位相が逆側の場合は、Obstructive apneaになる。

図8 解析 (Mixed apnea)



Mixed apneaにおいては胸部<腹部センサで位相が逆側の場合はMixed apneaになる。

図9 解析 (Mixed apnea)



Central apneaにおいては胸部・腹部センサは平坦となるためSUM解析でも平坦になりCentral apneaになる。

図10 解析 (Central apnea)

(paradoxical) であれ同側であれ, OSAS が CSAS になることはない. Mixed の場合でも Mixed が CSAS になることはないと言える. 従って OSAS と CSAS の区別は可能であると思われる.

V. 結語

幼児・新生児の脳波検査は困難である. ましてポリグラフと言われる PSG 検査は装着する電極も多く, 益々困難になり, 児の負担も多くなっていく. しかし, 今回使用した呼吸センサは伸縮バンドであるため, 従来のセンサのようにきつく締めなくても測定可能であり, 少しでも児の負担を軽減することができる. また, 従来の呼吸イベント判定と SUM 解析の検討では OSAS と CSAS の区別は可能であることから, 幼児・新生児さらには発達遅延の児にも使用できると考える.

文献

- 1) 野田明子, 古池保夫: 終夜睡眠ポリグラフィ. 生体医工学会誌46 (2): p134-143, 2008
- 2) 本多和樹 監修: PSG 機器とセンサ・トランスデューサ. 眠りの科学とその応用—睡眠のセンシング技術と良質な睡眠の確保に向けての研究開発—. シーエムシー出版. 東京, p74-75, 2007
- 3) 日本睡眠学会 監訳: 小児での視察判定ルール. AASM による睡眠および随伴イベントの判定マニュアル. 米国睡眠医学会. 株式会社ライフ・サイエンス, 東京, p32-35, 2010
- 4) Gandis G, Mazeika, Rick Swanson: Applications of Respiratory Inductance Plethysmography (RIP). Respiratory Inductance Plethysmography An Introduction. PRO-TECH. p 6-7, 2007
- 5) 石郷景子: 今日から役立つ新生児の検査-第3章 ポリソムノグラフィ (PSG) 検査. 日本臨床衛生検査技師会 中部圏支部 第27回生理検査研修会テキスト. p99-114, 2013

Daptomycin 非感性の MRSA による敗血症の 2 例

後藤 雪乃¹⁾ 安藤 航平¹⁾ 大西 紀之¹⁾ 松原 成明¹⁾ 平沢 弘行¹⁾
天野 和雄¹⁾

Key words

Daptomycin, MRSA, DAP 非感性株

要 旨

Daptomycin (DAP) は、グラム陽性菌の細胞膜に結合し、膜電位の脱分極をおこさせることにより細胞を機能不全へと導き殺菌的に作用する、新しいタイプの抗 Methicilin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 薬である。適応症として、MRSA による敗血症、感染性心内膜炎、深在性皮膚感染症などがあり、本邦でも2011年に認可されて以降、多くの医療施設で使用されている。これまでに、DAP に非感性の株についての報告は、海外においては散見されるが、本邦では少ない。今回われわれは、DAP による MRSA 感染症の治療経過中に DAP の薬剤感受性が感性から非感性に変化した症例を 2 例経験したので報告する。

はじめに

環状リポペプチド系の抗生物質である Daptomycin (DAP) は、2011年に本邦で認可された新しい作用機序を持つ抗 Methicilin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 薬であり、本抗菌薬に感性の MRSA のみに適応を有している。作用機序としては、カルシウムイオン濃度依存的にグラム陽性菌の細胞膜に結合し、細胞膜からカリウムイオンを流出させ膜電位の脱分極を誘発し、その後、細胞を機能不全へと導き、菌を死滅させる。DAP において治療効果と相関の認められている Pharmacokinetics / Pharmacodynamics (PK/PD) パラメーターは、最高血中濃度と最小発育阻止濃度の比 (Cmax/MIC) と血中濃度曲線下面積と MIC の比 (AUC/MIC) であり、濃度依存的に抗菌作用を発揮するとされている。海外においては、DAP 非感性株の検出や耐性化の要因に関する報告^{1)~3)}が散見されるが、本邦における非感性株検出についての報告は少ない⁴⁾。今回われわれは、DAP を使用した MRSA 感染症に対する治療経過中に DAP に非感性を示すようになった症例を 2 例経験したので、若干の文献的な考察を加えて報告する。

I. 症例

症例 1

76歳、男性。

既往歴：糖尿病、慢性腎不全（10年前より血液透析を継続）、閉塞性動脈硬化症（血行再建術後）。

現病歴：1月初旬、右 I 趾の巻き爪の切除を発端に、同部位に痛みが出現し、黒色化および発赤、腫脹の拡大を認めた。1月下旬、他院にて心臓カテーテル検査、下肢静脈カテーテル検査を施行した際には、下腿血管の再狭窄は認められなかった。その後、CRP 上昇のため当院紹介入院となった (Table 1)。入院当日から meropenem (MEPM) の投与が開始され、入院時に採取された創部の培養からは Methicilin 感性の *Staphylococcus aureus* が検出された。また、同時に採血された血液培養は陰性であった。糖尿病足壊疽の二次感染として免疫グロブリンの投与も併用し治療が施されたが病状は悪化、切断適応となり、入院5日目に下腿中央より切断となった。2月中旬、創の状態も安定したため、維持透析とリハビリを目的に前医へ転院となった。4月中旬、外来通院での当院受診時に採取された創部培養から MRSA を検出、切断部末端の MRSA 感染にて5月中旬に当院へ再入院となった (Table 1)。入院翌日より透析を考慮して DAP の隔日投与 (5 mg

1) 岐阜県総合医療センター 臨床検査科

Table 1 症例 1 における入院時および再入院時血液検査所見

	入院時 (1月下旬)	再入院時 (5月下旬)	
Blood chemistry			
TP		6.3	g/dl
ALB	2.3	2.9	g/dl
T-Bil	0.22	0.23	mg/dl
ALP	403	254	IU/l
AST	12	11	IU/l
ALT	4	8	IU/l
LD	208	151	IU/l
CK	43	26	IU/l
UA		7.3	mg/dl
BUN		38	mg/dl
CRE		11.23	mg/dl
Glu		227	mg/dl
CRP	32.14	6.2	mg/dl
Na		130	mEq/l
K		4.1	mEq/l
Cl		95	mEq/l
Peripheral blood			
WBC	16.2	7.3	$\times 10^3/\mu\text{l}$
RBC	3.45	3.3	$\times 10^6/\mu\text{l}$
Hb	10.5	8.9	g/dl
Ht	32.3	27.6	%
Plt	275	222	$\times 10^3/\mu\text{l}$

/kg/回) が開始されたが、骨髄炎の併発により、入院 7 日目に膝上での追加切断 (骨切除) が実施され、同時に提出された創部の培養からも MRSA を検出した。この際の薬剤感受性検査における DAP の MIC 値は 0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と感性を示した (Figure 1, Table 2)。また、この時より DAP の投与量は 6 mg/kg/回に増量された。6 月中旬に提出された

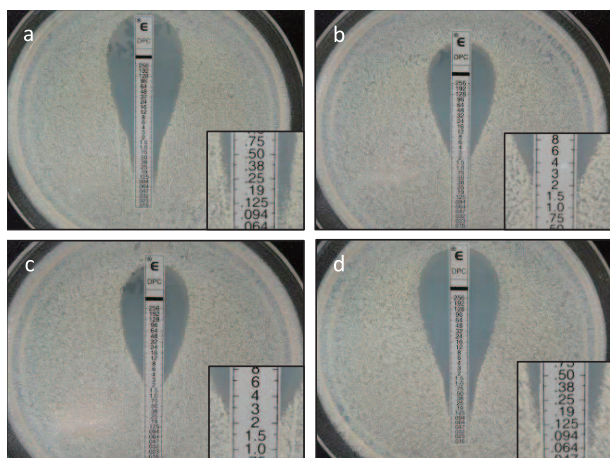


Figure 1 症例 1 における MRSA 検出時期別の DAP 感受性変化の推移
a: 5 月下旬, b: 6 月中旬, c: 7 月上旬, d: 11 月中旬

Table 2 症例 1 における MRSA 薬剤感受性結果 (時系列)

薬剤名	MIC($\mu\text{g}/\text{ml}$)				
	4月中旬	5月下旬	6月中旬	7月上旬	11月中旬
Ampicillin (ABPC)	>8	>8	>8	>8	>8
Oxacillin(MPIPC)	>2	>2	>2	>2	>2
Piperacillin (PIPC)	>32	>32	>32	>32	>32
Cefazolin (CEZ)	>16	>16	>16	>16	>16
Cefotiam(CTM)	>16	>16	>16	>16	>16
Imipenem (IPM)	>8	>8	>8	>8	>8
Minocyclin (MINO)	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4
Clindamycin (CLDM)	>2	>2	>2	>2	>2
Levofloxacin (LVFX)	>4	>4	>4	>4	>4
Arbekacin(ABK)	≤ 2	≤ 2	≤ 2	≤ 2	≤ 2
Vancomycin(VCM)	1	1	1	1	1
Sulbactam/Ampicillin (SBT/ABPC)	>16	>16	>16	>16	>16
Flomoxef (FMOX)	>16	>16	>16	>16	>16
Ceftriaxone(CTRX)	>32	>32	>32	>32	>32
Gentamicin (GM)	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4
Benzylpenicillin(PCG)	>8	>8	>8	>8	>8
Meropenem (MEPM)	>8	>8	>8	>8	>8
Cefoxitin(CFX)	>4	>4	>4	>4	>4
Sulfamethoxazole-Trimethoprim (ST)	≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 0.5
Doripenem (DRPM)	>2	>2	>2	>2	>2
Linezolid(LZD)	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 1
Teicoplanin(TEIC)	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4
Clarithromycin(CAM)	>4	>4	>4	>4	>4
Daptomycin(DAP)*		0.25	3	3	0.19

*DAPのMIC測定はEtest法による

創部培養から再度 MRSA を検出したため、DAP の感受性を確認したところ、MIC 値が 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を示し、非感性の結果であった (Figure 1, Table 2)。翌日より抗菌薬が変更となり、患者は個室管理となった。その後も感染は持続し、7 月上旬に大腿部からの切断となり、vancomycin (VCM) での治療が継続された。この際にも創部から MRSA は検出され、MIC 値は 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のままであった (Figure 1, Table 2)。また、7 月下旬には左 I 趾の感染創からも DAP 非感性の MRSA が検出されたが、こちらは保存的治療で経過を観察することとなった。その後、linezolid (LZD) や teicoplanin (TEIC) に抗菌薬を変更し治療を継続した結果、10 月中旬までに提出された創部の培養から MRSA の検出は見られなかった。その後、11 月中旬に再度 MRSA が検出され、DAP の感受性を改めて確認したところ、MIC 値は 0.19 と感性を示す結果であった (Figure 1, Table 2)。現在は創部の処置を行いながら、退院を目指してリハビリ中である。

症例 2

82 歳、男性。

既往歴：うっ血性心不全、肝機能異常、慢性湿疹、脳梗塞後。

現病歴：3 月中旬、呼吸苦と倦怠感を主訴に他院を受診。胸水貯留と心拡大、低酸素を認め心不全にて当院に紹介入院となった (Table 3)。入院後、感染症も疑われたため、levofloxacin (LVFX) にて治療が開始されたが発熱が持続し、4 月上旬 (入院 17 日目) の血液培養から MRSA が検出された。この際の DAP の MIC 値は 0.38 で感性感であり (Table 4)、抗菌薬は DAP と MEPM の併用投与に変更となった。感染源精査のために行われたガンマシンチグラフィ検査にて左肩の化膿性関節炎と判明し、前述の抗菌薬投与にて経過観察となったが、再び発熱が出現し、血液培養からも繰り返し MRSA が検

Table 3 症例 2 における入院時血液検査所見

Blood chemistry	
TP	6.6 g/dl
ALB	2.9 g/dl
T-Bil	1.09 mg/dl
ALP	396 IU/l
AST	2444 IU/l
ALT	1219 IU/l
LD	2082 IU/l
CK	357 IU/l
BNP	1579.6 pg/ml
BUN	47 mg/dl
CRE	1.71 mg/dl
Glu	108 mg/dl
CRP	2.64 mg/dl
Na	138 mEq/l
K	3.8 mEq/l
Cl	103 mEq/l
Peripheral blood	
WBC	12.6 ×10 ³ /μl
RBC	3.63 ×10 ⁶ /μl
Hb	11.9 g/dl
Ht	36.7 %
Plt	102 ×10 ³ /μl

Table 4 症例 2 におけるMRSA薬剤感受性結果(時系列)

薬剤名	MIC(μg/ml)					
	3月下旬	4月上旬	5月上旬	5月下旬	6月中旬 ^{※2}	7月下旬
Ampicillin (ABPC)	>8	>8	>8	>8	>8	>8
Oxacillin(MPIPC)	>2	>2	>2	>2	≧4	>2
Piperacillin (PIP)	>32	>32	>32	>32	>32	>32
Cefazolin (CEZ)	>16	>16	>16	>16	≧64	>16
Cefotiam(CTM)	>16	>16	>16	>16	>16	>16
Imipenem (IPM)	>8	>8	>8	>8	≧16	>8
Minocyclin (MINO)	>8	>8	>8	>8	≧16	>8
Clindamycin (CLDM)	>2	>2	>2	>2	≧8	>2
Levofloxacin (LVFX)	>4	>4	>4	>4	≧8	>4
Arbekacin (ABK)	≦2	≦2	≦2	≦2	≧1	≦2
Vancomycin (VCM)	1	2	1	1	1	1
Sulbactam/Ampicillin (SBT/ABPC)	>16	16	>16	>16	16	16
Flomoxef (FMOX)	>16	>16	>16	>16	>16	>16
Ceftriaxone (CTRX)	>32	>32	>32	>32	>32	>32
Gentamicin (GM)	>8	>8	>8	>8	≧16	>8
Benzylpenicillin (PCG)	>8	>8	>8	>8	≧0.5	>8
Meropenem (MEPM)	>8	>8	>8	>8	>8	>8
Cefoxitin (CFX)	>4	>4	>4	>4	>4	>4
Sulfamethoxazole-Trimethoprim (ST)	≦0.5	≦0.5	≦0.5	≦0.5	≦0.5	≦0.5
Doripenem (DRPM)	>2	>2	>2	>2	>2	>2
Linezolid (LZD)	≧1	≧1	≧1	≧1	1	>2
Teicoplanin (TEIC)	≧4	≧4	≧4	≧4	≧0.5	≧4
Clarithromycin (CAM)	>4	>4	>4	>4	>4	>4
Amikacin (AMK)					4	4
Erythromycin (EM)					≧8	≧8
Cefmetazole (CMZ)					≧64	≧64
Fosfomycin (FOM)					≧128	≧128
Daptomycin (DAP) ^{※1}	0.25	0.38	0.19	0.125	1	2

※1: DAPのMIC測定はEtest法による

※2: バイテック2グラム陽性菌感受性測定カードAST-P625を使用

出された。抗菌薬はVCMに変更され、4月下旬から5月上旬の約2週間にわたり投与されたが、その後再びDAPの投与となった。これら血液培養から検出されたMRSAのDAPの薬剤感受性は全て感性的(0.125~0.19)であったが(Table 4)、抗菌薬治療のみではコントロール不能との判断になり、6月中旬にデブリードマン実施となった。その際に採取された膿からもMRSAが検出され、DAPのMIC

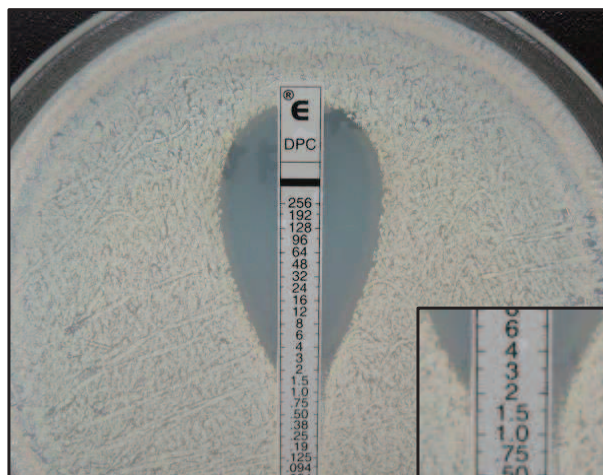


Figure 2 症例 2 におけるMRSAに対するDAPの感受性

値は1 μg/mlであった(Table 4)。その後、経過観察中に提出された創部培養からMRSAは見られなかったが、7月下旬に再び血液培養からMRSAが検出され、DAPのMIC値は2 μg/mlに上昇していた(Figure 2, Table 4)。デブリードマン実施後の抗菌薬使用状況は、6月中旬から下旬までLZD、7月上旬の1週間DAP、7月上旬から中旬までTEICが使用されており、7月下旬からはLZDが再開されていた。その後、心筋シンチグラフィ検査を実施、状態安定後の心臓カテーテル検査も考慮され、9月上旬に前医へと転院になった。

II. 微生物学的検査

DAPのMIC測定には、Etest (Sysmex-bioMérieux) およびミュラーヒントンII寒天培地(Becton Dickinson: BD)を使用した。また、非感性株検出時には、自動細菌同定感受性検査装置VITEK 2 (Sysmex-bioMérieux)を用いて、感受性検査カードであるバイテック2グラム陽性菌感受性カードAST-P625使用し微量液体希釈法にて再検査を実施した。MIC値の解釈はClinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)のdocument M100-S24に準じ、≦1 μg/mlを感性的、>1 μg/mlを非感性的とした。症例1で検出されたMRSA株は、Etestによる測定ではDAPのMIC値が3 μg/mlを示したが、VITEC 2では4 μg/mlと判定された。また、症例2で検出されたMRSA株は、EtestにてDAPのMIC値が2 μg/mlを示し、VITEC 2においても2 μg/mlと判定された。すなわち、症例1および2のいずれもEtest法と同様にVITEC 2においても非感性的の結果であった。さらに、症例1より検出されたDAP非感性的の株において抗菌薬製造元であるMSD株式会社に再測定を依頼した結果、当院で得られた結果と同様にDAP非感性的であることが確認された。

DAP以外の薬剤感受性検査はRAISUS(日水製

薬)を使用し、微量液体希釈法にて当院のグラム陽性菌用カスタムプレートを用いて実施した (Table 2, 4). 症例1, 症例2において継続的に検出されたMRSA株のMIC値は, DAP以外では大きく変化した薬剤は認められなかった.

症例1と症例2から検出されたMRSA株の分子疫学的解析はPhage Open Reading Frame Typing (POT)法を用いて実施した. 解析の結果, 症例1と症例2では異なるPOT型となり, 両者は異なる菌株であることが確認された. また, 症例1において6月中旬に検出したDAP非感性株と11月中旬に検出したDAP感性株は同じPOT型であった (Table 5).

Ⅲ. 考察

DAPは国内において抗MRSA薬として5番目に適応となった薬剤であり, 細胞膜へ作用するという新しい作用機序から, 従来の抗MRSA薬による治療が困難となった例においても効果が期待されている. 適応症としては, 肺炎には認められていないものの, 敗血症や感染性心内膜炎, 深在性皮膚感染症, 外傷・熱傷及び手術創等の二次感染, びらん・潰瘍の二次感染など多くの疾患が上げられる. これまでに, 複雑性皮膚・軟部組織感染症や骨髄炎, 敗血症性関節炎に対する有効性が報告されており⁵⁻⁷⁾, 今回の2症例においても, 創部感染症および骨髄炎, 関節炎に対して用いられ, DAPの有用性が確認されている部位および感染症であった.

症例1の患者は10年以上におよぶ血液透析を受けており, 慢性腎不全の状態であった. 血液透析を実施している患者においては, 隔日の投与が推奨されており⁸⁾, 本症例においても6mg/kgの隔日投与が行われていた. しかし, 海外におけるDAP非感性株検出の報告の中でも糖尿病を基礎疾患として持つ患者の症例は多く, 容量調整がなされていたにも関わらず治療に失敗した症例もあり^{9,10)}, 腎機能障害患者における透析の影響による血中濃度の維持に伴う使用の難しさを示している. したがって, 本症例のように腎機能障害患者へのDAP投与時には検出菌株に対して定期的にMIC値の測定を行い, 非感性株の出現に細心の注意を払う必要がある. また, 本症例において特記すべき点は, DAP使用中断後に,

検出菌株が非感性株から感性株へと変化したことである. POT法による解析の結果から, 異なる株による感染ではなく, 同一株による再燃の可能性があると思われ, 本症例において確認されたDAP非感性化は, 抗菌薬への暴露による何らかの可逆的な現象であると推察された.

症例2の患者においては, 感染初期にVCMが使用されていたが, 投与中に提出された血液培養よりMRSAが検出されていたことから, 抗菌薬がDAPへ変更となった. そして, その後に検出されたMRSAはDAPに非感性を示した. 文献上, VCMによる初期治療が無効であった後のDAPによる治療無効例およびDAP非感性株の検出例についての報告があり⁹⁻¹¹⁾, 本症例においても, それらの報告と同様の事象が起こっていたと示唆された. さらに, DAPへ抗菌薬を変更した症例において, VCMのMIC値が上昇したという報告もあるが⁹⁾, 今回の症例においては確認されなかった. 患者の基礎疾患においては, 糖尿病はなかったものの, 心不全や肝機能異常を認めた. MRSA感染症治療のガイドラインにおいてもDAPの容量調整について記載されており, 循環および代謝の動態が不安定な患者に対しては副作用の出現に注意を要するとされる¹²⁾. すなわち, 症例1の患者と同様に, 基礎疾患が抗菌薬治療に何らかの不都合を生じさせ, 結果的に菌株の非感性化に影響を及ぼした可能性は否定できない. また, 今回は, 通常投与量にてDAPを使用したか, MRSA感染症治療のガイドラインにおいては, 複雑性菌血症でDAPを使用する場合には耐性化を抑制するために高容量(8~10mg/kg)での投与も考慮する必要があるとの記載がある. 本症例は化膿性肩関節炎を感染源としたMRSAによる複雑性菌血症であり, 薬剤投与量が菌株の非感性化に影響を及ぼした可能性も十分に考えられた.

今回われわれが経験した2症例においては, 患者の入院時期が同時期であることに加えて, 同じ病棟に入院していたことから, 同一のMRSA株による院内伝播を疑った. しかし, POT法による解析の結果から, それぞれ別の株であることが判明し, 各々が独立した要因により非感性を示したものと考えた.

今後も様々な基礎疾患を持った患者においてDAPを使用することが予想されるため, 今回のようなDAP非感性株も少なからず出現する可能性がある. このような事態に備え, 臨床的に不適切な治療が行われないように, 薬剤感受性の疫学データを感染対策チームにおいて共有したうえで, 薬剤感受性の測定時期を入念に話し合い, 臨床微生物検査の立場から適切な治療が実施されるように貢献をしていく必要があると考えられた.

Table 5 症例1および症例2におけるMRSA株のPOT法による解析結果

MRSA株	POT型
症例1(6月中旬検出)	93-145-057
症例1(11月中旬検出)	93-145-057
症例2	93-223-103

IV. 結語

今回われわれは、MRSA 治療中に DAP に非感性を示すようになった株による感染症を 2 例経験したので報告した。DAP の非感性化においては、本事例および文献的にも基礎疾患や抗菌薬投与歴などの患者背景が重要であると示唆された。すなわち、臨床微生物検査技師として、これらの情報を考慮しながら適切な検査を実施し、迅速に報告することが肝要である。

謝辞

本論文のご校閲を賜りました東京医科大学微生物学分野 大楠清文教授ならびに関西医療大学保健医療学部臨床検査学科 大瀧博文助教に深謝いたします。また、POT 法による解析を行うにあたりご指導賜りました岐阜大学病院検査部 太田浩敏先生に深謝いたします。

文献

- 1) Cavalcante FS *et al.*: Daptomycin and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from a catheter-related bloodstream infection: a case report. BMC Res Notes 2014; 7 (1): 759.
- 2) Sakoulas G *et al.*: Induction of daptomycin heterogeneous susceptibility in *Staphylococcus aureus* by exposure to vancomycin. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50 (4): 1581-1585.
- 3) Rose WE *et al.*: Daptomycin activity against *Staphylococcus aureus* following vancomycin exposure in an in vitro pharmacodynamics model with simulated endocardial vegetations. Antimicrob Agents Chemother 2008; 52 (3): 381-386.
- 4) Tsukimori A *et al.*: First case report of vancomycin-intermediate sequence type 72 *Staphylococcus aureus* with nonsusceptibility to daptomycin. BMC Infect Dis 2014; 14: 459.
- 5) Olga MK *et al.*: Successful treatment of infective panniculitis with daptomycin in a pregnant, morbidly obese patient. Ann Pharmacother 2014; 48 (5): 652-655.
- 6) Armand GR *et al.*: Clinical experience with daptomycin in Europe: the first 2.5 years. J Antimicrob Chemother 2011; 66 (4): 912-919.
- 7) Dennis A. K. rice, Luke MV: Daptomycin in bone and joint infections: a review of the literature. Arch Orthop Trauma Surg 2009; 129: 1495-1504.
- 8) MSD 株式会社：キュピシン静注用350mg V。治療に関する項目 医薬品インタビューフォーム 2013； 8-10.
- 9) Daniel JS: Treatment failure resulting from resistance of *Staphylococcus aureus* to daptomycin. J Clin Microbiol 2006; 44 (2): 655-656.
- 10) Hsu LY *et al.*: Six cases of daptomycin-non-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteraemia in Singapore. J Med Microbiol

2010; 59: 1509-1513.

- 11) Twala L *et al.*: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* endocarditis and de novo development of daptomycin resistance during therapy. Can J Infect Dis Med Microbiol 2010; 21 (2): 89-93.
- 12) 公益社団法人日本化学療法学会・一般社団法人日本感染症学会：MRSA 感染症の治療ガイドライン—改訂版—2014, 13-18, MRSA 感染症の治療ガイドライン作成委員会, 杏林舎, 東京, 2014.

海外渡航歴の無い患者に発症した *Shigella flexneri* による菌血症の1例

後藤 雪乃¹⁾ 安藤 航平¹⁾ 大西 紀之¹⁾ 松原 成明¹⁾ 平沢 弘行¹⁾
天野 和雄¹⁾

Key words

Shigella flexneri 細菌性赤痢 菌血症

要 旨

症例は75歳の女性。8月中旬に5日前より続く発熱と下痢のため、他院より紹介受診された。入院時に施行された便培養および血液培養2セットから赤痢菌を疑う菌を検出し、生化学的性状および赤痢菌抗血清を用いた検査により、*Shigella flexneri* と同定した。患者は刺身の喫食歴があったが海外渡航歴はなく、明確な感染源は特定できなかった。一方で、患者の夫においても数日後に下痢を認めたが、*S. flexneri* は検出されなかった。近年では、国内発症例が輸入例を上回っていることから、海外渡航歴のある患者のみに注視することなく、検査および診療を遂行していくことが重要であると考えられた。

はじめに

赤痢は感染症法の3類感染症に指定されており、臨床および公衆衛生上も重要な疾患である。赤痢菌は10~100個というわずかな菌量でも感染が成立する。*Shigella flexneri* は細菌性赤痢の原因菌の1つであり、血清型B群に分類される。本邦においてD群の*Shigella sonnei* に次いで多く報告されている¹⁾。そして、本菌の病原性は、A群の*Shigella dysenteriae* に次ぐとされており、臨床的に重要な菌種である。本菌による感染症は、代表的な海外渡航者下痢症の1つであるが、近年では国内での感染例も報告されている¹⁾。今回、われわれは海外渡航歴がない患者において、感染源および感染経路が不明であった*Shigella flexneri* による菌血症の症例を経験したので文献的考察を加えて報告する。

I. 症例

患者：75歳，女性。

既往歴：不整脈（未治療）

現病歴：8月中旬に突然の発熱（38.0度）を認め、その翌日より下痢症状が出現した。第3病日に血便を認めるようになり、腹痛や嘔気、嘔吐はないものの、頻回の下痢、発熱は継続していた。症状出現後に他院にて内服薬で治療を受けていたが、症状不変

のため第5病日に当院紹介受診となり入院に至った。入院時の血液検査では、白血球数 $5.5 \times 10^3/\mu\text{l}$ 、赤血球数 $4.4 \times 10^6/\mu\text{l}$ 、ヘモグロビン濃度13.4 g/dl、血小板数 $127 \times 10^3/\mu\text{l}$ 、CRP33.55 mg/dl、プロカルシトニン1.18 ng/dlであり、炎症性の疾患が疑われた（Table 1.）。その後、入院時に実施された便培養と血液培養から*S. flexneri* が検出され、菌血症と診断された。入院初日からceftriaxone（CTRX）の点滴が開始され、起病菌判明後はlevofloxacin（LVFX）の内服も追加となり、症状は軽快、第20病日に退院となった。

II. 微生物学的検査

入院当日に提出された便培養のグラム染色において、白血球に貪食されるグラム陰性桿菌が確認され（Figure 1.）、培養開始翌日に白糖加SS寒天培地（日水製薬）にて、赤痢菌を疑う無色透明の集落の発育を認めた。各種鑑別培地を用いた性状検査により、乳糖・白糖非分解、ガス非産生、硫化水素非産生、インドールピルビン酸およびインドール非産生、非運動性、リジン脱炭酸反応陰性、VP試験陰性、クエン酸塩利用能陰性の結果が得られ、典型的な赤痢菌の性状と一致した（Figure 2.）。同時に実施した自動細菌同定感受性検査装置VITEK 2（Sysmex-bioMérieux）を用いた同定検査において

1) 岐阜県総合医療センター 臨床検査科

Table 1. Clinical laboratory data

Blood chemistry	
TP	6.1 g/dl
ALB	3.2 g/dl
Glu	129 mg/dl
T-Bil	0.95 mg/dl
ALP	125 IU/l
AST	39 IU/l
ALT	37 IU/l
LD	229 IU/l
CK	366 IU/l
AMY	62 IU/l
BUN	16 mg/dl
CRE	0.67 mg/dl
Glu	129 mg/dl
Na	128 mEq/l
K	3.4 mEq/l
Cl	94 mEq/l
CRP	33.55 mg/dl
PCT	1.18 ng/ml
Peripheral blood	
WBC	$5.5 \times 10^3/\mu\text{l}$
RBC	$4.4 \times 10^6/\mu\text{l}$
Hb	13.4 g/dl
Ht	37.80%
Plt	$127 \times 10^3/\mu\text{l}$

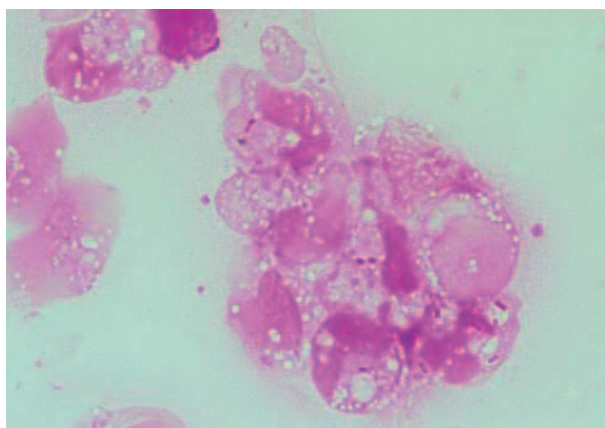


Figure 1. Morphology in Gram stain smear from stools.

も、同様に *Shigella* group と判定された。そして、赤痢菌免疫血清「生研」(デンカ生研)による試験の結果、B群に凝集を認めたため、*Shigella flexneri* と同定した。

血液培養は全自動血液培養装置BacT/ALERT 3D (Sysmex-bioMérieux)を使用し、好気用FA Plus 培養ボトルならびに嫌気用FN Plus 培養ボトルを用いて培養した。培養開始後6時間で好気および嫌気ボトルにてグラム陰性桿菌の発育を認め (Figure 3.)、

TSI LIM SIM Citrate VP
 Kovac's reagent
 - +



Figure 2. Biochemical properties in isolated bacterium.

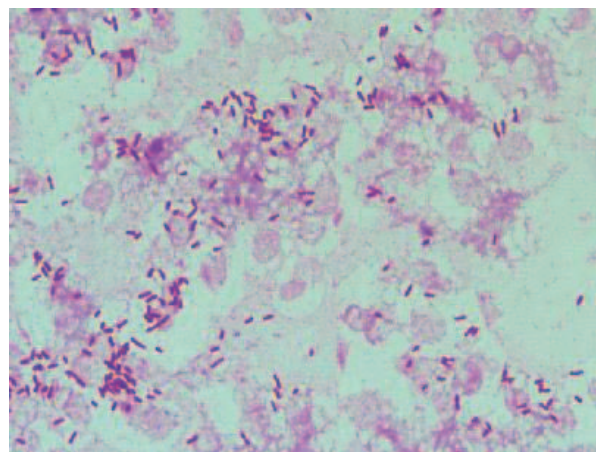


Figure 3. Morphology in Gram stain smear from blood culture.

培養液のサブカルチャーを行ったところ、便培養で得られた菌と同様の集落を認めた。この時点で便培養の検出菌が赤痢菌である可能性を示唆していたことから、血液培養検出菌においても赤痢菌抗血清試験を行ったところ、便培養と同様にB群に凝集を認めた。さらに、自動機器による同定においても *Shigella* group と判定されたため、*Shigella flexneri* と同定した。

薬剤感受性検査はRAISUS (日水製薬)を用いて微量液体希釈法にて実施した。今回我々が検出した菌株は sulfamethoxazole/trimetoprim (ST) 合剤に耐性であった。また、ニューキノロン薬であるLVFX と ciprofloxacin (CPFX) においては感性であった (Table 2.)。

Table 2. MICs of antimicrobial agents for isolated bacterium

Antimicrobial agents	MIC (μg/ml)
Ampicillin (ABPC)	>16
Piperacillin (PIPC)	8
Cefazolin (CEZ)	≦8
Cefotaxime (CTX)	≦1
Ceftazidime (CAZ)	≦1
Imipenem (IPM)	≦1
Amikacin (AMK)	≦8
Minocyclin (MINO)	≦2
Fosfomycin (FOM)	32
Levofloxacin (LVFX)	≦2
Ciprofloxacin (CPFX)	≦1
Ceftriaxone (CTRX)	≦1
Cefpodoxime proxetil (CPDX-PR)	≦1
Cefepime (CFPM)	≦2
Cefmetazole (CMZ)	≦4
Dopipenem (DRPM)	≦0.25
Cefozopran (CZOP)	≦1
Flomoxef (FMOX)	≦1
Gentamicin (GM)	≦2
Meropenem (MEPM)	≦1
Sulbactam/Cefoperazone (SBT/CPZ)	≦1
Sulbactam/Ampicillin (SBT/ABPC)	16
Sulfamethoxazole-Trimethoprim (ST)	>4

Ⅲ. 考察

赤痢菌による菌血症例は、アフリカや東南アジアなどではしばしば認められる³⁾、いわゆる先進国においてはまれである³⁾⁻⁶⁾。これら菌血症例の報告では、患者背景として乳幼児や高齢者、担癌状態、移植後などが挙げられ、菌に対する抵抗力が十分でなかったと推察された。また、感染経路が特定できた症例はみられなかった。今回の症例においても、特筆すべき基礎疾患等はないものの、75歳の高齢者であるという点が菌血症の発症におけるリスク因子であったと考えられた。そして、患者に海外渡航歴はなく、発症数日前に刺身の喫食歴はあったものの、患者の発症数日後より同じく下痢症状が見られた夫から本菌の検出は認めず、本症例においても感染源と感染経路は明らかとならなかった。症状においては、頻回の下痢と粘液便（血便は入院後消失）、38度前後の発熱、しぼり腹を認め、細菌性赤痢に特徴的な症状を呈していた。頻回の下痢による体力消耗とふらつきのため入院加療となったが、症状から感染症の可能性も視野に入れていたため、入院当初から個室管理による感染対策が実施でき、院内感染を防止できた。

本邦における細菌性赤痢の報告件数は年々減少傾向にあり、国立感染症研究所の赤痢菌分離報告数によると2012年には71件（輸入感染例：32件、国内感染例：39件）、2013年には54件（輸入感染例：22件、国内感染例：32件）であった¹⁾。本菌は、代表的な

海外渡航者下痢症の原因菌の1つであり⁷⁾、輸入感染例においてはアジア地域からの感染が半数以上を占め、発展途上国における衛生状態の悪さが感染の要因となっている。しかし、近年の報告では国内発生例の報告数が輸入例を上回っている状況であり、知的障害者施設における集団発生事例や飲食店を感染源とした食中毒の事例など、海外渡航に関連しない事例が数多く見られる⁸⁾。本症例も感染源がはっきりとしない国内発症例であったが、今後もこのような事例が散発するようであれば、国内における定着化も含め、より詳細な疫学調査を実施する必要があると考えられた。

赤痢菌の抗菌薬治療の第一選択薬は、成人ではニューキノロン系薬、小児では fosfomycin (FOM) である。赤痢菌では国内例、輸入例ともに ST 合剤や tetracycline (TC) に対する耐性化が進んでおり、FOM に対しても耐性株が検出されている。今回われわれが検出した菌株においても ST 合剤に耐性を示し、FOM に対しても中等度耐性を示していた。2000年の報告における FOM の耐性率は国内感染例で12.1%、輸入感染例で16.0%であったが⁹⁾、さらに増加している可能性もあり、今後の動向を注視する必要がある。

本症例では初代培養における白糖加 SS 寒天培地上にて赤痢菌を疑う集落を確認し、生化学的性状および抗血清試験から *S. flexneri* の同定に至った。しかし、SS 寒天培地に発育不良株があることや既知赤痢菌血清に反応しない株があることも念頭におく必要がある¹⁰⁾。また、赤痢菌の分離機会は非常に少なく、当院では10年以上にわたり検出していなかったが、このような状況においても、迅速かつ正確に赤痢菌を分離同定できる体制と技術、知識を備えておくことが重要である。そして、本症例のように菌血症まで至るような重症かつまれな症例に遭遇する場合に備え、臨床微生物検査技師として様々な視点から状況を判断し、迅速かつ正確な結果を報告できるよう、日々研鑽を積んでいく必要があると考えられた。

Ⅳ. まとめ

今回われわれは、国内発症および感染経路不明の *S. flexneri* による菌血症というまれな症例を経験した。細菌性赤痢は代表的な海外渡航者下痢症の1つであるが、国内感染例の割合も増加していることを念頭におき、迅速かつ正確な検査が遂行できるよう努めていくことが肝要である。

謝辞

本論文のご校閲を賜りました東京医科大学微生物学分野 大楠清文教授ならびに関西医療大学保健医療学部臨床検査学科 大瀧博文助教に深謝いたします。

す。

文献

- 1) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報 赤痢菌月別分離報告数
- 2) Karen H. Keddy *et al.*: Systemic shigellosis in south Africa, *Clin Infect Dis* 2012; 54 (10): 1448-1454.
- 3) Sebhat A. Erqou *et al.*: A case of shigellosis with intractable septic shock and convulsions, *Jpn J Infect Dis* 2007; 60 (5): 314-316.
- 4) Orr D, Hedderwick S: *Shigella flexneri* bacteraemia in an immunocompetent male treated with oral ciprofloxacin, *J Infect* 2001; 45 (4): 275-277.
- 5) Liu CY *et al.*: Rapidly fatal bacteremia caused by *shigella sonnei* without preceding gastrointestinal symptoms in an adult patient with lung cancer, *Clin Infect Dis* 2009; 48 (11): 1635-1636.
- 6) Appannanavar SB *et al.*: Shigellemia in a post renal transplant: case report and literature review, *J Infect Dev Ctries* 2014; 8 (2): 237-239.
- 7) Al-Abri SS *et al.*: Traveller's diarrhea, *Lancet Infect Dis* 2005; 5 (6): 349-360.
- 8) 国立感染症研究所：細菌性赤痢 IASR 国内情報
- 9) 国立感染症研究所：感染症の話，IDWR 感染症週報 2002；4 (8)：8-10
- 10) 口広智一ら：既知赤痢菌血清に反応しなかった *Shigella boydii* による下痢症の1例，日本臨床微生物学会 2012；22 (4)：284-288.

高感度 HBs 抗原定量試薬ルミパルス HBsAg-HQ の 基礎的検討

中村 真大¹⁾ 石田 秀和¹⁾ 片野由里子¹⁾ 中山 純里¹⁾ 田内 里奈¹⁾
古田 伸行¹⁾ 伊藤 弘康¹⁾ 清島 満¹⁾

Key words

hepatitis B virus (B型肝炎ウイルス), high-sensitivity HBsAg measurement (高感度 HBs 抗原測定), chemiluminescent enzyme immunoassay (CLEIA), covalently closed circular DNA (完全閉鎖二本鎖 DNA), LUMIPULSE G1200 (ルミパルス G1200)

要 旨

近年、免疫抑制による B型肝炎ウイルス (hepatitis B virus; HBV) 再活性化が問題となっており、HBV-DNA 量によるモニタリングが行われている。一方、HBs 抗原は完全閉鎖二本鎖 DNA (covalently closed circular DNA; cccDNA) 量を反映するとされるため、高感度測定を行うことにより HBV 再活性化モニタリングへの有用性が期待されている。今回筆者らは全自動免疫測定装置ルミパルス G1200 専用試薬ルミパルス HBsAg-HQ 試薬の基礎的検討を行う機会を得たので、その結果を報告する。

今回行った検討では同時再現性、日差再現性、キャリアオーバー試験、対照法との相関性および判定一致率において良好な結果が得られた。また、本試薬の最小検出感度を 2 SD 法により求めたところ 0.0019 IU/mL と極めて高感度な測定が可能であることが示された。希釈直線性においては理論値より低値となる検体が確認されたが、本試薬はその他の基礎的検討は良好な成績であったことより、日常検査における十分な基本性能を有していると考えられ、高感度測定による HBV 再活性化モニタリングへの有用性が期待される。

はじめに

近年、B型肝炎の既往症例において免疫抑制剤や化学療法などにより発症する B型肝炎ウイルス (hepatitis B virus; HBV) 再活性化が問題となっている。HBV 再活性化により発症する B型肝炎は劇症化のリスクが高いため、免疫抑制的な治療を行う際には適切な HBV モニタリングを行うことが重要である¹⁾。

一方、B型肝炎ウイルス表面抗原 (hepatitis B virus surface-antigen; HBs-Ag) は、従来から B型肝炎におけるスクリーニングとして広く用いられてきた。近年では HBs-Ag を定量的に測定することで B型肝炎における核酸アナログ薬投与症例のモニタリングに適することや核酸アナログ薬中止の指標となることが報告されている²⁾。さらに、HBs-Ag は HBV 増殖の起点となる完全閉鎖二本鎖 DNA (covalently closed circular DNA; cccDNA) 量を反映し、HBV

再活性化における重要なリスク因子であることが報告されている³⁾。

今回筆者らは、B型肝炎再活性化モニタリングへの有用性が期待される高感度 HBs-Ag 測定試薬「ルミパルス HBsAg-HQ」の基礎的検討を行う機会を得たので、その結果を報告する。

I. 対象と方法

当院に日常検査として提出され、同意の得られた検体 235 例を対象とした。

検討法として、ルミパルス HBsAg-HQ (カットオフ値: 0.005 IU/mL) を用い、ルミパルス G1200 (富士レビオ株式会社) にて測定を行った。また、対照法として HISCL HBsAg 試薬 (カットオフ値: 0.03 IU/mL) を HISCL-5000 (シスメックス株式会社) にて測定を行った。

ルミパルス HBsAg-HQ は、装置内で前処理を行うことにより HBs-Ag を遊離させることで、変異に強く、

1) 岐阜大学医学部附属病院検査部

高感度に HBs-Ag を測定可能な試薬となっている。

II. 結果

1. 再現性

精度管理用コントロール2濃度を10回重複測定し、同時再現性を求めた。その結果、Level 1 (Mean ± SD : 1.579 ± 0.0416 IU/mL) で変動係数 (CV%) 2.63, Level 2 (Mean ± SD : 8.908 ± 0.2514 IU/mL) で CV% 2.82 となった。

同じく、精度管理用コントロール2濃度を10日間測定し、日差再現性を求めた結果、Level 1 (Mean ± SD : 2.213 ± 0.0492 IU/mL) で CV% 2.22, Level 2 (Mean ± SD : 11.754 ± 0.2998 IU/mL) で CV% 2.55 となった (Table 1)。

2. 共存物質の影響

干渉チェックAプラスおよびRFプラス (シスメックス株式会社) を用い、共存物質の影響を確認した。その結果、直接型ビリルビン 19.2 mg/dL, 間接型ビリルビン 20.1 mg/dL, 溶血ヘモグロビン 500 mg/dL, 乳び 1500 FTU, リウマトイド因子 500 IU/mL までいずれも影響を受けないことを確認した (Figure 1)。

3. 希釈直線性

HBV Genotype A 1例, B 1例, C 2例について

Table 1 Reproducibility

	Within-run (N=10)		Between-day (N=10)	
	Level 1	Level 2	Level 1	Level 2
Mean(IU/mL)	1.579	8.908	2.213	11.754
SD	0.0416	0.2514	0.0492	0.2998
CV(%)	2.63	2.82	2.22	2.55

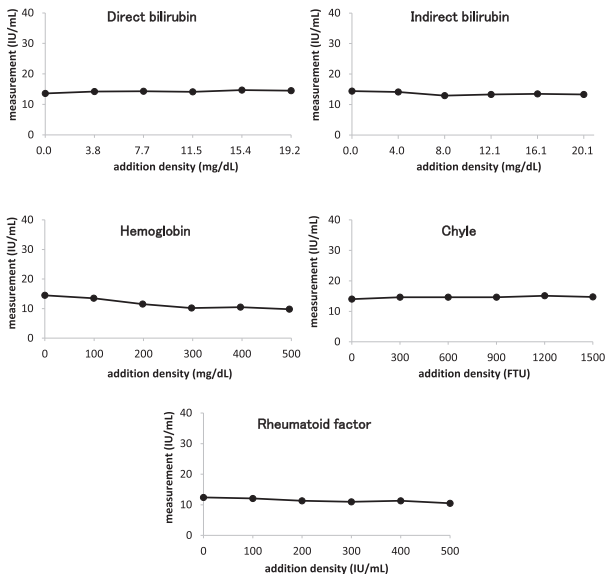


Figure 1 Effect of interfering substances

て専用希釈液にて段階希釈を行い、希釈直線性を確認した。その結果、HBV Genotype に関係なく、直線性の得られない検体が存在した (Figure 2)。

4. 最小検出感度

低濃度検体を段階希釈し、それぞれ10重測定を行い、0濃度 (希釈液) の発光量 + 2 SD と発光量 - 2 SD が重ならない理論値を最小検出感度とした結果、0.0019 IU/mL であった (Figure 3)。

5. キャリーオーバー試験

高濃度検体と希釈液を交互に測定を行い、HBs-Ag の持ち越しがないことを確認した。その結果、希釈液はすべて最小検出感度未満であった (Figure 4)。

6. 対照法との一致率, 相関性

対照法との判定一致率は99.1% (N=235), 陽性一致率100.0% (N=154), 陰性一致率97.5% (N=

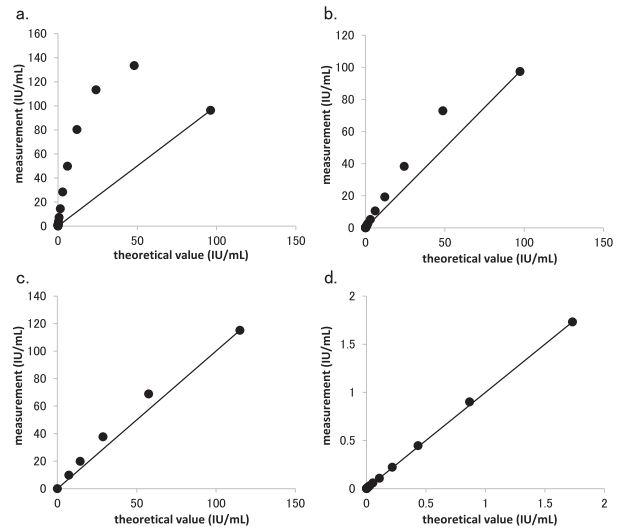


Figure 2 Dilution linearity

- a. HBV-DNA 4.2 Log copies/mL, Genotype A
- b. HBV-DNA 2.9 Log copies/mL, Genotype B
- c. HBV-DNA 3.6 Log copies/mL, Genotype C
- d. HBV-DNA Not detected, Genotype C

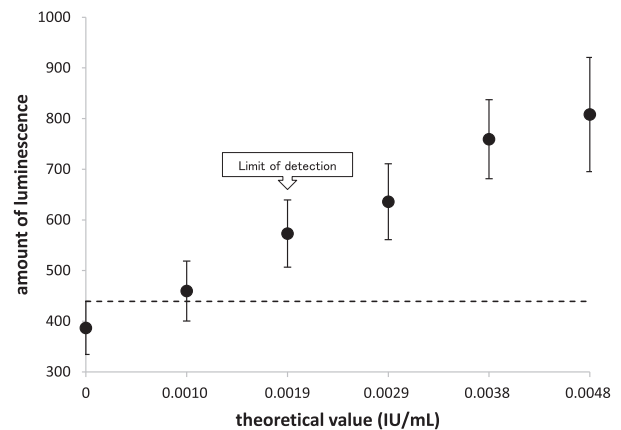


Figure 3 Limit of detection

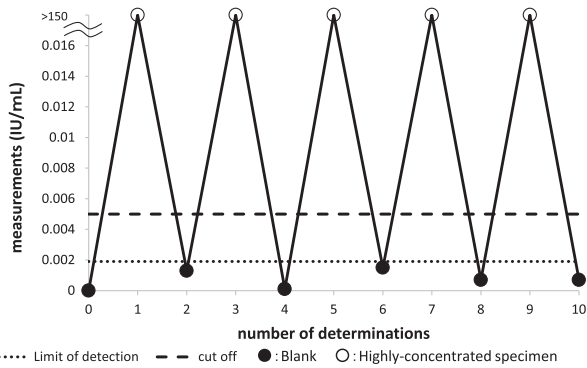


Figure 4 Carryover test

81) であり、検討法陽性、対照法陰性の不一致例が 2 例存在した (Table 2)。

また、対照法との相関性を確認した結果、相関係数 (r) 0.984, 回帰式 $y=0.97x+0.46$ (N=55) となった (Figure 5)。

Table 2 Concordance rate

		HISCL HBsAg		
		Positive	Negative	Total
Lumipulse HBsAg-HQ	Positive	154	2	156
	Negative	0	79	79
	Total	154	81	
	Concordance rate	100.0%	97.5%	99.1%

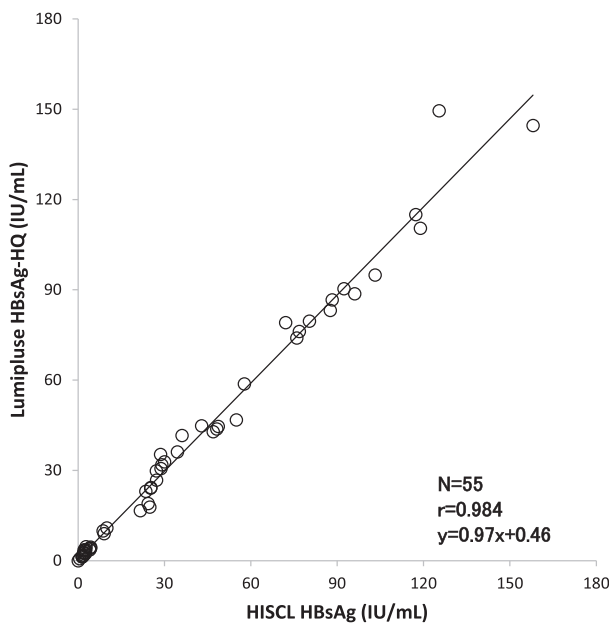


Figure 5 Correlation between HBsAg value determined by two reagents

Ⅲ. 考察

HBV 再活性化のモニタリングには免疫抑制・化学療法により発症する B 型肝炎対策ガイドラインの HBV 再活性化において HBV-DNA 定量によるモニタリングが推奨されている。しかし、HBV-DNA 定量はコストが高く測定時間を要するため、診療前検査に適してはいない¹⁾。HBs-Ag は HBV 増幅の起点となる cccDNA 量を反映するとされ、簡便に測定可能なため、HBV-DNA の代替的な指標となることが期待される。しかし、現在市販されているキットは十分な測定感度を有していないのが現状である^{1), 3)}。

今回筆者らは従来の HBs-Ag 測定系に装置内前処理を加えることにより高感度化を実現した化学発光酵素免疫測定法による HBs-Ag 測定試薬の基礎的検討を行った。その結果、再現性、共存物質の影響、キャリーオーバー試験、対照法との相関性において良好な結果であることを確認し、日常の臨床検査において十分な基本性能を有していることが考えられる。しかしながら、希釈直線性試験において理論値よりも低値となる現象が確認された。いずれの検体においても HBs 抗体測定値は陰性であったが、HBs-Ag によりパラトープがマスクされ陰性化している可能性があり、いずれの患者検体においても HBs 抗体は含まれていることが推察される。HBs 抗体の力価や量により程度は異なるが、希釈によりその影響が回避できるものと考えられる。また、検討法陽性、対照法陰性の不一致例が 2 例存在したが、いずれも検討法のカットオフ値では陰性判定となる低濃度検体であったが、HBs-Ag 吸収試験において陽性であり、HBc 抗体も陽性であったことより、非特異反応の可能性は低く、測定感度の差による不一致が考えられる。

本試薬の最小検出感度は 0.0019 IU/mL であり、対照法における報告と比べても高感度測定が可能であることが示唆された^{4), 5)}。本試薬による HBs-Ag の高感度測定により、スクリーニングとしてウインドウ期間短縮だけでなく、HBV 再活性化モニタリングにおける HBV-DNA 定量の補完としての有用性が期待される。

Ⅳ. 結語

ルミパルス HBsAg-HQ は日常の臨床検査試薬として十分な基本性能を有しており、測定時間約 30 分で HBs-Ag の高感度測定が可能であることから、診療前検査として HBV 再活性化モニタリングにおける臨床的有用性が期待される。

文献

1) 日本肝臓学会肝炎診療ガイドライン作成委員会編：B 型肝炎

治療ガイドライン（第2版），2014.

- 2) 田中榮司, 他: 核酸アナログ薬中止に伴うリスク回避のための指針2012:厚生労働省「B型肝炎の核酸アナログ薬治療における治療中止基準の作成と治療中止を目指したインターフェロン治療の有用性に関する研究」の報告, 肝臓 2012; 53: 237-242.
- 3) Kuno S, et al: Reactivation of hepatitis B virus following systemic chemotherapy for malignant lymphoma, Int J Hematol 2009; 90: 13-23.
- 4) 森山英彦, 他: 全自動免疫測定装置 HISCL-2000i を用いた HBs 抗原の高感度測定, JJCLA 2009; 34 (3): 334-338.
- 5) 石田秀和, 他: 高感度化学発光を用いた全自動免疫測定装置 4機種における HBs 抗原, HCV 抗体測定試薬の比較検討, JJCLA 2011; 36 (1): 74-80.

平成26年度 岐阜県臨床検査技師会誌

発行者 一般社団法人 岐阜県臨床検査技師会 代表者 兼子 徹

編集 一般社団法人 岐阜県臨床検査技師会 代表者 浅野 敦
近藤 真一

発行元 一般社団法人 岐阜県臨床検査技師会
〒500-8384 岐阜市藪田南3丁目5番地10
コスタ岐阜県庁前ビル6階603号室
TEL 058-275-5596 FAX 058-213-0220

印刷 西濃印刷株式会社
〒500-8074 岐阜市七軒町15番地
TEL 058-263-4101 FAX 058-263-4104
