

[原 著]

SOL-M 核酸抽出法を用いたコバス TaqMan48MTB・MAI の検討

守屋 任¹⁾・星野史恵¹⁾・加藤 稔¹⁾・立原政徳¹⁾・照沼和子¹⁾・椎名将昭¹⁾塚原 忠¹⁾・石川 淳¹⁾・樋口久晃¹⁾・斎藤武文²⁾・深井志摩夫³⁾¹⁾ 国立病院機構茨城東病院研究検査科²⁾ 国立病院機構茨城東病院呼吸器内科³⁾ 国立病院機構茨城東病院呼吸器外科

(平成 21 年 5 月 25 日受付, 平成 21 年 9 月 4 日受理)

抗酸菌症診療において、結核菌群と非結核性抗酸菌群の迅速かつ正確な鑑別が重要であり、以前より遺伝子を標的とした検査技術の研究開発が進められてきた。本研究の目的は自動核酸増幅検出装置コバス TaqMan48 (以下, CTM) の核酸抽出行程短縮化のために開発された核酸抽出試薬タックマンマイコ用検体前処理試薬添加剤セット「SOL-M」, および同検出装置用に作成された *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare* の核酸増幅同定試薬である CTM MAI の性能を従来法と比較検討することである。臨床材料 176 検体を対象に, SOL-M および従来の核酸抽出溶液を用い, CTM, コバスアンプリコア (以下, 従来法) の結果と比較検討した。また培養法の結果を標準とした感度, 特異度を算出し比較した。SOL-M を応用した核酸抽出は従来の核酸抽出法と比較し, 約 40 分短縮した。感度, 特異度は, 両法において有意差は認めなかったが SOL-M 抽出 CTM がやや高い結果を示した。また増幅阻害発生頻度は SOL-M 抽出 CTM が従来法より有意に低値であった。今回の結果から SOL-M 抽出 CTM は, 従来法に比し感度・特異度で同等以上であり, 業務量軽減に加え, 迅速かつ増幅阻害が少ない方法であると結論した。

Key words: TaqMan48, TaqManMAI, SOL-M, *Mycobacterium tuberculosis* complex, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*

I. はじめに

結核は, 1999 年の「結核緊急事態宣言」発表以降, 国を挙げての結核対策により着実に減少を見せ, 日本における 2007 年結核罹患率は人口 10 万人対 19.8¹⁾ と初めて 20 を下回った。しかし, 未だ新規登録患者数は年間約 25,000 人を超える公衆衛生上, 大変重要な感染症である。一方で, *Mycobacterium avium* complex (MAC 症) を中心とした非結核性抗酸菌症は, 結核罹患率の減少に反し, 年々発病者の増加を示している²⁾。発育が遅く, 培養に長期間を要する抗酸菌感染症診断において, 遺伝子検査は迅速で高い感度, 特異

度を有することから, 今日欠かすことのできない検査法となっている^{3, 4)}。特に核酸増幅同定検査法は, 従来の PCR 法を原理とした方法からさらに開発を進め, 今日ではコバス TaqMan48 (ロシュ・ダイアグノスティックス, 以下, CTM) をはじめとするリアルタイム PCR 法を原理とした測定法が臨床応用され, さらに迅速化が期待される。

タックマンマイコ用検体前処理試薬添加剤セット「SOL-M」(島津製作所, 以下, SOL-M) は, アンプリコア核酸抽出試薬に添加することにより, 従来と同程度の感度, 特異度を保ちながら, 核酸抽出処理を迅速, 簡便化し, 増幅阻害発生頻度を軽減させることを可能とした試薬である。また, CTM においては, 従来 *Mycobacterium tuberculosis* complex (以下, MTB) 核酸増幅同定試薬であるコバス TaqManMTB (以下, CTM MTB) が臨床応用されていたのみであり, *Mycobacterium avium* (以下, MAV), *Mycobacterium*

著者連絡先: (〒319-1113) 茨城県那珂郡東海村照沼 825

国立病院機構茨城東病院研究検査科

守屋 任

TEL: 029-282-1151

FAX: 029-287-8647

intracellulare (以下, MIN) は同定できなかった。しかし, 2009年8月, MAV, MINの核酸増幅同定試薬であるコバス TaqManMAI (以下, CTM MAI) が新たに開発され, MAV, MINの同定が可能となった。今回, SOL-M 添加アンプリコア核酸抽出試薬による核酸抽出法 (以下, SOL-M 抽出) を応用した CTM 測定 (以下, SOL-CTM), および従来のアンプリコア核酸抽出試薬による核酸抽出法 (以下, アンプリコア抽出) を応用した CTM 測定 (アンプリコア-CTM) と, アンプリコア抽出コバスアンプリコア (ロシュ・ダイアグノスティックス, 以下, 従来法) を比較することにより, アンプリコア抽出と SOL-M 抽出の比較, 従来法と CTM MTB・MAI の比較検討を行った。併せて, 培養同定結果と, 上記3測定方法の結果を比較検討した。

II. 対象と方法

1. 対象

2007年8月から2007年10月までに茨城東病院細菌検査室で抗酸菌検査を実施した臨床材料176検体 (喀痰143検体, 気管支洗浄液19検体, 胸水11検体, 血液1検体, 胃液1検体, 尿1検体) を検討対象とした。

2. 方法

(1) 抗酸菌培養前処理法

抗酸菌培養前処理法には, 喀痰溶解剤スプータザイム (極東製薬工業, 以下 SAP) と NALC-NaOH 試薬「ニッスイ」 (日水製薬, 以下 NALC), pH 6.8 リン酸緩衝液 (和光純薬工業) を使用し, 結核菌検査指針2007⁵⁾ の抗酸菌培養前処理法に従い前処理を行った。喀痰検体以外に対しては結核菌検査指針2007に従い, SAPを使用せずに前処理した。

(2) 抗酸菌塗抹検査

結核菌検査指針2007⁵⁾ に従い作成した均等化集菌塗抹標本に対し, オーラミンローダミン染色を実施し, 蛍光顕微鏡で検鏡した。塗抹菌量の記載は結核菌検査指針2007⁵⁾ に従い, -, ±, 1+, 2+, 3+と記載し, 塗抹結果が±であった検体に対し, チールネルゼン染色により確認し, 陰性の場合塗抹結果を-とした。

(3) 抗酸菌培養

抗酸菌培養前処理を行った臨床材料 (以下, NALC 処理検体) に BacT/ALERT3D MP 抗酸菌培養ボトル (シスメックスバイオメリュール), および2%小川 PS 培地 (日水製薬) の併用培養を行った。

(4) 核酸抽出

NALC 処理検体に, アンプリコア核酸抽出試薬セット II を使用したアンプリコア抽出, および SOL-M 抽出を使用説明書^{6, 7)} に従い併行で実施した。SOL-M 抽出には, タックマンマイコ用検体前処理試薬添加剤セット「SOL-M」 (島津製作所) を添付文書⁶⁾ に従い, アンプリコアマイコバクテリウム核酸抽出試薬セット II に添加調製したものを使用した。

(5) 核酸増幅・検出

アンプリコア抽出溶液1検体に対し, 従来法と CTM MTB^{8~11)} の2測定を, SOL-M 抽出溶液に対し, CTM MTB 測定を実施した。CTM 測定は, アンプリコア抽出22検体 (+陽性コントロール, 陰性コントロール), SOL-M 抽出22検体 (+陽性コントロール, 陰性コントロール) を2基のサーマルサイクラーを使用し, 同時併行で測定した。測定試薬の調製, 測定手順はコバスアンプリコア添付文書⁷⁾, コバス TaqMan MTB 添付文書¹²⁾ に従い実施した。測定実施ごとに陽性コントロール, 陰性コントロールの同時測定を行い, 測定検体ごとに内部コントロール (以下, IC) の同時測定を行った。陽性コントロール, 陰性コントロールは, 各抽出法で使用した核酸抽出試薬を使用し, 臨床材料と同様の核酸抽出手順で調製を行った。結果判定は, コバスアンプリコア, CTM のいずれも自動判定に従い, IC 陰性を増幅阻害とした^{13, 14)}。CTM MAI 測定は, ロシュ・ダイアグノスティックス社にて測定を実施した。CTM MAI のコントロール, IC 測定も CTM MTB と同様に実施した。

(6) 培養陽性株に対する同定方法

培養法で発育した菌株に対し, 従来法による MTB, MAI, MIN の3菌種同定を行った。従来法で同定できなかった菌株は, DDH マイコバクテリア「極東」 (極東製薬工業) を三菱化学メディエンスに外部委託し, 菌種同定を行った。

(7) 測定結果の比較検討

① 核酸抽出作業手順, 総反応時間の検討

アンプリコア抽出, SOL-M 抽出の各添付文書^{6, 7)} から, 各々の核酸抽出作業手順を参考とし, 従来法は1測定当たり16検体, アンプリコア-CTM は1測定当たり22検体, SOL-CTM は1測定当たり22検体に要する実際の総反応時間を確認し比較した。

② 感度, 特異度および一致率の比較

従来法, アンプリコア-CTM, SOL-CTM の各結果に対し, 培養同定結果を標準とした感度, 特異度を算出した。核酸抽出法の評価を目的として, アンプリコア-CTM と SOL-CTM の一致率を算出した。CTM

MAI の評価を目的として、従来法とアンプリコア-CTM の一致率を算出した。さらに、新旧測定法の評価を目的として、従来法と SOL-CTM も同様に一致率を算出した。なお、アンプリコア-CTM, SOL-CTM において、CTM MTB, または CTM MAI のいずれか一方でも増幅阻害を認めた場合、測定結果は増幅阻害と判定した。

③ 増幅阻害の比較

従来法、アンプリコア-CTM, SOL-CTM における増幅阻害発生頻度（増幅阻害検体数/増幅反応数）を比較した。従来法は MTB, MAV, MIN 検出を同一増幅産物で行うため、増幅阻害発生頻度＝IC 陰性件数/（増幅反応数＝検体数）として算出した。CTM は、CTM MTB, CTM MAI の各々で増幅検出を行うため、増幅阻害発生頻度＝IC 陰性件数/（増幅反応数＝検体数×2）として算出した。

III. 結 果

検討対象 176 検体のうち、抗酸菌集菌塗抹陽性 75 検体、陰性 101 検体であり、培養同定結果は、MTB 57 株、MAV 13 株、MIN 14 株、*Mycobacterium kan-*

sasii 2 株、*Mycobacterium abscessus* 1 株、*Mycobacterium for Mycobacterium tuitum* 1 株、培養陰性 88 検体であった。

① 核酸抽出作業手順、総反応時間の検討

同時 22 検体×8 回測定を行った結果、核酸抽出処理時間は、アンプリコア抽出で約 1 時間、SOL-M 抽出で約 20 分を要した。増幅・検出時間は、コバスアンプリコア 16 検体/1 測定で約 5 時間 30 分、CTM 22 検体/1 測定で約 2 時間 30 分であり、総反応時間は、従来法（16 検体/1 測定）で約 6 時間 30 分、アンプリコア-CTM（22 検体/1 測定）約 3 時間 30 分、SOL-CTM（22 検体/1 測定）約 2 時間 50 分であった。

② 検出感度・特異度・一致率の比較（表 1～3）

培養法結果を標準とした、従来法、アンプリコア-CTM, SOL-CTM の感度、特異度を求めた（表 1）。抽出法の比較であるアンプリコア-CTM と SOL-CTM の一致率（表 2）は 96.0%（169/176）であり、7 検体に不一致が認められた。測定法比較である従来法とアンプリコア-CTM の一致率は 97.7%（172/176）であり（表 3）、4 検体に不一致が認められた。新旧測定法

表 1. アンプリコア抽出 CTM48 と SOL-M 抽出 CTM48, 従来法とアンプリコア抽出 CTM48 の一致率

一致率は、不一致例を除いた検体数/総検体数として算出した。コバス TaqMan 測定における増幅阻害結果は、コバス TaqManMTB・MAI のいずれか一方でも増幅阻害生じた場合、増幅阻害として判定した。

		培養結果					
		MTB	MAV	MIN	陰性	その他 NTM	計
		57	13	14	88	4	176
コバスアンプリコア	MTB	56	0	0	0	0	56
	MAV	0	12	0	0	0	12
	MIN	0	0	14	0	0	14
	陰性	1	1	0	83	4	89
	増幅阻害	0	0	0	5	0	5
	感度（特異度）	98.2%	92.3%	100%	(94.3%)		
アンプリコア抽出 コバス TaqMan48	MTB	54	0	0	0	0	54
	MAV	0	11	0	0	0	11
	MIN	0	0	14	0	0	14
	陰性	2	2	0	84	4	92
	増幅阻害	1	0	0	4	0	5
	感度（特異度）	94.7%	84.6%	100%	(95.5%)		
SOL-M 抽出 コバス TaqMan48	MTB	57	0	0	0	0	57
	MAV	0	13	0	0	0	13
	MIN	0	0	14	0	0	14
	陰性	0	0	0	86	4	90
	増幅阻害	0	0	0	2	0	2
	感度（特異度）	100%	100%	100%	(97.7%)		

表2. アンプリコア抽出CTM48とSOL-M抽出CTM48、従来法とアンプリコア抽出CTM48の一致率
一致率は、不一致例を除いた検体数/総検体数として算出した。コバス TaqMan 測定における増幅阻害結果は、コバス TaqManMTB・MAIのいずれか一方でも増幅阻害生じた場合、増幅阻害として判定した。

		アンプリコア抽出コバス TaqMan48					
		MTB	MAV	MIN	陰性	増幅阻害	計
SOL-M 抽出 コバス TaqMan48	MTB	54	0	0	2**A, B	1**C	57
	MAV	0	11	0	2**D, E	0	13
	MIN	0	0	14	0	0	14
	陰性	0	0	0	88	2**F, G	90
	増幅阻害	0	0	0	0	2**H, I	2
	計	54	11	14	92	5	176

一致率=96.0% (169/176)

		コバスアンプリコア					
		MTB	MAV	MIN	陰性	増幅阻害	計
アンプリコア抽出 コバス TaqMan48	MTB	54	0	0	0	0	54
	MAV	0	11	0	0	0	11
	MIN	0	0	14	0	0	14
	陰性	1**A	1**E	0	89	1**J	92
	増幅阻害	1**C	0	0	0	4**F, G, H, I	5
	計	56	12	14	89	5	176

一致率=97.7% (172/176)

不一致例**A~Jは、表4に対応している。

表3. 従来法とSOL-M抽出CTM48の一致率
表2に準拠し、一致率、増幅阻害を表した。

		コバスアンプリコア					
		MTB	MAV	MIN	陰性	増幅阻害	計
SOL-M 抽出 コバス TaqMan48	MTB	56	0	0	1**B	0	57
	MAV	0	12	0	1**D	0	13
	MIN	0	0	14	0	0	14
	陰性	0	0	0	87	3**F, G, J	90
	増幅阻害	0	0	0	0	2**H, I	2
	計	56	12	14	89	5	176

一致率=97.2% (171/176)

不一致例**B, D, G, Jは、表4に対応している。

の比較である従来法とSOL-CTMの一致率は97.2%であり、5検体に不一致が認められた。

③ 増幅阻害発生頻度の比較 (表4)

増幅阻害発生頻度は、従来法2.8%(5/176)、アンプリコア-CTM2.0%(7/352)、SOL-CTM0.6%(2/352)であった。

IV. 考 察

抗酸菌検査における遺伝子検査法は、従来のPCR法を原理とした検査法から、近年ではより迅速な結果を得るため、コバス TaqMan MTB, TRC Rapid (東ソー)等の標的遺伝子増幅と検出を同時に行うリアルタイムPCR法¹⁵⁾などを用いた検査法が主となりつつあり、さらにこれら遺伝子検査法は、迅速性・簡便性など多くの利点から自動機器として上市されてい

表 4. 不一致検体, 増幅阻害発生検体, 増幅阻害発生頻度
 増幅阻害発生頻度は, 各測定法中の増幅阻害検体数/増幅反応数として表した。

コバスアンプリコア		コバス TaqMan48				検査 材料	塗抹 結果	培養 結果
アンプリコア抽出		アンプリコア抽出		SOL-M 抽出				
		MTB	MAI	MTB	MAI			
(増幅反応数)	(176)	(176)	(176)	(176)	(176)			
A	MTB	—	—	MTB	—	喀痰	±	MTB
B	—	—	—	MTB	—	喀痰	±	MTB
C	MTB	増幅阻害	—	MTB	—	喀痰	1+	MTB
D	—	—	—	—	MAV	喀痰	—	MAV
E	MAV (吸光度 0.946)	—	—	—	MAV	喀痰	—	MAV
F	増幅阻害	—	増幅阻害	—	—	喀痰	—	—
G	増幅阻害	増幅阻害	増幅阻害	—	—	胸水	—	—
H	増幅阻害	増幅阻害	—	増幅阻害	—	喀痰	—	—
I	増幅阻害	増幅阻害	増幅阻害	増幅阻害	—	喀痰	—	—
J	増幅阻害	—	—	—	—	気管支 洗浄液	—	—
増幅阻害 発生頻度	2.8%(5/176)	2.0%(7/352)		0.6%(2/352)				

る¹³⁾。その一つの方法である CTM の核酸増幅・検出に要する時間は, 従来の PCR 法によるコバスアンプリコアと比べ約 2 時間短縮されるといわれ, 今回の検討でも確認された。さらに, SOL-M 抽出を併用することで約 40 分の短縮を確認した。検査室における核酸増幅同定検査は, 機器を変更しない限り自動機器の増幅検出時間が一定であることから, 迅速化は抗酸菌前処理, および核酸抽出工程の改善が主となる。MTB をはじめとする抗酸菌核酸増幅同定検査の主たる検査材料は喀痰であり, その核酸抽出作業は現在のところ未だ用手法に頼る部分が多いのが現状である。SOL-M 抽出は, 従来のアンプリコア抽出より 1 ステップ少なく, より単純化された手技であることから業務量軽減にもつながると考えられる。さらに, 手順が単純化することから人為的なミス, 核酸の劣化・損失を軽減する効果も期待できる¹⁶⁾。総反応時間において SOL-CTM が約 2 時間 50 分と 3 時間を切ることが可能になったが, それ以上に核酸抽出手順の作業軽減や単純化は利点といえる。

方法別の感度・特異度について, 核酸抽出法の評価を目的としたアンプリコア-CTM と SOL-CTM の比較は, 感度・特異度ともに SOL-CTM が高い結果となった。不一致 7 検体 (A, B, C, D, E, F, G) のうち, A, B, D, E は, いずれも抗酸菌塗抹微量陽性または陰性であり, SOL-M 抽出がアンプリコア抽出より優っている可能性が考えられたが, 両測定結果に有意差は認めず (p -value=0.8168, χ^2 test), 96.0%と高い一致率

であった。このことから, SOL-M 抽出はアンプリコア抽出と少なくとも同程度以上の有用性があると考えられた。測定法の評価を目的とした従来法とアンプリコア-CTM の比較においても感度・特異度にわずかな差を認め, 不一致 4 検体 (A, C, E, J) のうち A, E はいずれも抗酸菌塗抹結果が微量陽性と陰性であり, 測定法による差が考えられたが有意差は認めず (p -value = 0.9947, χ^2 test), 97.7%と高い一致率を示した。このことから, コバスアンプリコアとコバス TaqMan-MTB・MAI は, 同程度の有用性があると考えられた。新旧測定法の評価を目的とした従来法と SOL-CTM の比較においても, 今回の検討では感度・特異度のいずれも有意差は認めず (p -value = 0.949, χ^2 test), 97.2%と高い一致率であったが, 不一致 5 検体 (B, D, F, G, J) のうち, B, D が SOL-CTM のみ陽性であることから, SOL-CTM は従来法と比較し, 少なくとも同程度以上の感度・特異度を有すると考えられた。

従来の PCR 法において増幅阻害を生じさせる要因¹⁶⁾は, CTM においても同様であると考えられる¹²⁾。本検討において, 増幅阻害を生じた 6 検体 (C, F, G, H, I, J) のうち, H, I は, すべての測定法で増幅阻害を認め, NALC 処理検体中の増幅阻害因子がアンプリコア抽出, SOL-M 抽出のいずれによっても除去できない物質であった可能性が考えられた。C, J は, 従来法またはアンプリコア-CTM のいずれか一方に生じた増幅阻害であり, いずれもアンプリコア抽出であった。F, G は, いずれもアンプリコア抽出増幅阻害あり・

SOL-M 抽出増幅阻害なしであり、逆の SOL-M 抽出増幅阻害あり・アンプリコア抽出増幅阻害なしの検体は 1 例も認められなかった。このことから SOL-M 抽出の増幅阻害因子除去効果がアンプリコア抽出より優っている可能性が考えられた。増幅阻害発生頻度において、SOL-CTM が 0.6%(2/352) と最も低かった。

各測定法の増幅阻害発生頻度の比較において、従来法とアンプリア-CTM (p -value=0.320, χ^2 test), アンプリコア-CTM と SOL-CTM (p -value=0.093, χ^2 test) の間には、有意差を認めなかったが、従来法と SOL-CTM では有意差を認めた (p -value=0.012, χ^2 test)。このことから、SOL-CTM は、従来法より有意に増幅阻害発生頻度が低いと言えた。アンプリコア核酸抽出における洗浄操作後のスポイトを使用した遠心上清除去作業は、定量的でなく目視に頼った方法であるため、検査技術に依存する傾向の強い作業工程であるといえる。対して SOL-M 抽出法は、洗浄除去ではなく試薬添加による増幅阻害軽減効果を原理とし、すべての作業手順がマイクロピペットを使用した定量的作業であるため、検査技術に依存する傾向が低い方法であり、今回の検討における増幅阻害の軽減につながったものと考えられる。本検討における従来法の増幅阻害発生頻度 2.8% は、第 9 回アンプリコアマイコバクテリウムコントロールサーベイ全国増幅阻害発生率平均の約 2.9%¹⁷⁾ と比較しても低く、アンプリコア抽出手法上に問題はなかったと考える。アンプリコアマイコバクテリウムコントロールサーベイアンケート調査で¹⁷⁾、増幅阻害発生時の対応として何らかの方法により再検査を実施するという回答が 92.1% (420 施設/456 施設) と多数を占め、増幅阻害が認められた場合は再検査されているのが現状である。SOL-CTM は増幅阻害に対し有意な軽減が示されたため、通常業務における再検査件数の減少や検査コスト削減にもつながるものと考えられた。

上記、考察から、SOL-M 抽出は、アンプリコア抽出と比較し、用手法である核酸抽出作業を約 40 分短縮し、さらに同等以上の感度・特異度、増幅阻害の軽減効果があるといえた。CTM MTB・MAI は、従来法と比較し同等程度の感度・特異度、増幅阻害発生頻度であったが、SOL-M 抽出を併用することにより同等以上の感度、特異度で、最も増幅阻害発生頻度を少なくする方法である。

V. 結 語

自動核酸増幅検出装置コバス TaqMan48 測定におけるタックマンマイコ用検体前処理試薬添加剤セット

「SOL-M」と、コバス TaqMan MTB・MAI について検討した。SOL-M 抽出とアンプリコア抽出を比較した結果、SOL-M 抽出は用手法による核酸抽出作業を約 40 分短縮し、同等以上の感度・特異度、増幅阻害の軽減効果が認められた。コバス TaqMan MAI 測定結果も、従来のコバスアンプリコアマイコバクテリウムアビウム・イントラセルラーと比較して同等程度の感度・特異度であり、SOL-M 抽出併用により、従来法と同等以上の結果を得ることができた。

謝 辞 本検討を実施するにあたり、全面的なご協力をいただきました白崎良成先生（島津製作所分析計測事業部）、渡邊くほみ先生をはじめとするロシュ・ダイアグノスティックス社の先生方に深謝いたします。

参 考 文 献

- 1) 結核予防会. 2008. 結核の統計.
- 2) 坂谷光則. 2005. 非定型抗酸菌症. 結核 80: 25-30.
- 3) 日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会. 2007. 結核菌検査指第 6 章. 遺伝子検査 81-92.
- 4) 日本結核病学会治療・社会保険・抗酸菌検査検討合同委員会. 2000. 新しい結核菌検査法の離床での利用について. 結核 75: 681-684.
- 5) 日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会. 2007. 結核菌検査指 第 3 章. 塗抹検査. 分離培養法 21-49.
- 6) タックマンマイコ用検体前処理試薬添加剤セット「SOL-M」添付文書. 島津製作所
- 7) コバスアンプリコアマイコバクテリウム添付文書. ロシュ・ダイアグノスティックス社
- 8) 渡邊あゆみ. 2007. 結核菌群核酸増幅同定検査試薬コバス TaqMan MTB の基礎検討およびアンプリコアマイコバクテリウムとの比較検討. 医学と薬学 58(2): 331-337.
- 9) 岡崎充宏. 2007. コバス TaqMan MTB とコバスアンプリコア MTB による結核菌群 DNA 検出の比較検討. 臨床と微生物 34(5): 443-448.
- 10) 吉田仁子. 2008. 結核菌検出におけるコバス TaqMan MTB 法とコバスアンプリコア法の比較検討. 日本臨床微生物学会誌. 18(4): 252-258.
- 11) 日暮芳己. 2009. コバス TaqMan48 の基礎的評価と臨床検体による検討. 結核 84(3): 117-124.
- 12) コバス TaqMan MTB・MAI 添付文書. ロシュ・ダイアグノスティックス社
- 13) 大島利夫, 宮地勇人, 増川敦子, 他. 1997. 全自動遺伝子検査装置コバスアンプリコアでの結核菌遺伝子増幅検出における陽性コントロールの有用性. 日本臨床検査自動化学会会誌 22: 145-150.
- 14) アンプリコアマイコバクテリウムにおける検体処理方法と反応阻害因子の除去. 1998. ラボフォーカス 13(1).

- 15) 森 幹夫. 2005. リアルタイム PCR を応用した敗血症検査法. 生物試料分析 28: 400-404.
- 16) 宮地勇人. 2007. 遺伝子検査 検査前技術 検体前処理・核酸抽出法. 臨床検査 51(12): 1293-1298.
- 17) アンブレコマイコバクテリウム第9回コントロールサーベイ総合報告書. 2007.

Evaluation of SOL-M in Conjunction with COBAS TaqMan MTB and MAI

Ataru Moriya,¹⁾ Fumie Hoshino,¹⁾ Minoru Kato,¹⁾ Masanori Tachihara,¹⁾ Kazuko Terunuma,¹⁾ Masaaki Shiina,¹⁾ Tadashi Tukahara,¹⁾ Jyun Ishikawa,¹⁾ Hisaaki Higuchi,¹⁾ Takefumi Saito,²⁾ Shima Fukai³⁾

¹⁾ Department of Clinical Laboratory, National Hospital Organization Ibaraki Higashi Hospital

²⁾ Department of Respiratory Medicine, National Hospital Organization Ibaraki Higashi Hospital

³⁾ Department of Respiratory Surgery, National Hospital Organization Ibaraki Higashi Hospital

Nucleic acid testing for the diagnosis of tuberculosis is widely used in Japan. The PCR based COBAS AMPLICOR system is very useful to distinguish *Mycobacterium tuberculosis* complex and *Mycobacterium avium* complex (MAC) in short turn-around time (TAT) of 5.5 h, compared with any conventional culture test. In addition, COBAS AMPLICOR *M. avium* and *M. intracellulare* (MAI) kit can discriminate between *M. avium* and *M. intracellulare*. Recently Roche Diagnostics has developed the COBAS TaqMan MAI assay, which can complete the assay in much shorter TAT of 3.5 h. In this study, we evaluated a newly developed rapid sample preparation additive set, i.e., SOL-M, in combination with the COBAS TaqMan MTB and MAI test. We compared the performance of SOL-M with the current extraction and detection method, i.e., AMPLICOR Specimen Preparation kit-II with COBAS AMPLICOR or COBAS TaqMan MTB and MAI. To achieve a precise comparison, an aliquot from the NALC-NaOH treated specimen was used for each extraction procedure. When SOL-M was used, the PCR amplification inhibition rate was significantly lower than that of the COBAS AMPLICOR. Also, SOL-M improved sensitivity when used in combination with the COBAS TaqMan MTB and MAI. Furthermore, SOL-M reduced the test TAT from 5.5 h to less than 3 h. The combination of SOL-M with the COBAS TaqMan MTB and MAI achieved an equal sensitivity and a lower inhibition, compared to the AMPLICOR Specimen Preparation kit-II sample preparation procedure.