

小児科診療 UP-to-DATE

2013年6月5日放送

感染症の迅速診断の現状と未来

岐阜大学大学院 病原体制御学分野
准教授 大楠 清文

今日は感染症の検査に関する「三大技術革新」をご紹介しながら、特に遺伝子検査を日常診療でどのように時に活用していくかについて具体的な症例を交えてお話しします。

「三種の神器」は鏡・剣・玉（勾玉）と歴史の教科書で習った記憶があります。さしずめ、細菌検査の「三種の神器」を挙げるならば、「白金耳・培地・顕微鏡」といったところでしょうか。これらは今も現場の第一線で活躍しています。一方、近年の飛躍的な技術の進歩によって感染症検査が大きな変貌を遂げようとしているのもまた事実です。すなわち、感染症の迅速診断における「三大技術革新」は、自動同定感受性や血液培養の自動化、質量分析法、そして遺伝子検査です。

以前は分離菌の同定や薬剤感受性試験をすべて手作業で行っていましたが、現在では自動機器を利用して簡便に実施できるようになりました。また、敗血症の診断に重要な血液培養検査でも、菌の発育を自動的に検知できるので、迅速な起炎菌の検出が可能です。そして、ポストゲノムの時代を迎えた今日、基礎的研究が新しい理論や技術を生み出し、社会や産業を一変させる成果へと進展した姿を見ることができます。その1つが2002年にノーベル化学賞を受賞した田中耕一博士が開発したタンパク質の質量分析技術です。この質量分析による微生物の新しい同定法が注目を集めています。病原体に由来したタンパク質成分の分子量情報；マススペクトルのパターンから、わずか10分足らずで分離菌株の同定ができるようになったのです。まさしく、感染症検査のワークフローを一変させる技術革新そのものと言えます。わが国では昨年からは検査室現場での使用が開始されており、今後急速に普及していくことが予想されます。

遺伝子検査は、検体から直接、微量な病原体の遺伝子を増幅・検出して、感染症の迅速診断と治療に貢献しているだけでなく、分離菌株の迅速な菌種の同定、病原因子や薬剤耐性遺伝子の検出にも威力を発揮しています。さらに、次世代型シーケンサーの登場により、病原体の全ゲノム解析を数日間で行うことも可能になっています。

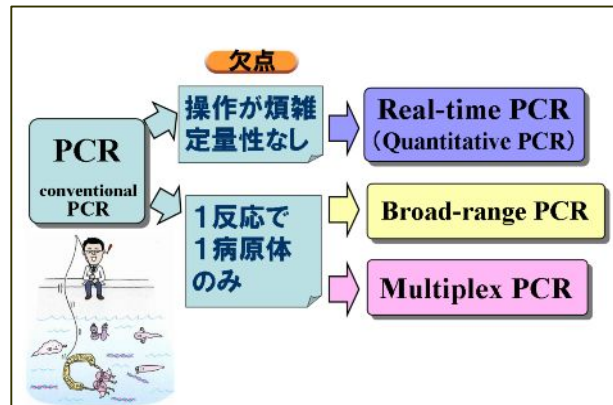
臨床検体に含まれる微量なDNAやRNAを探し当て、検出できるレベルまでに増幅する技術として、PCR法が利用されています。しかし、PCRが実際に臨床検査室の現場でまだ普及していない理由として、①操作が煩雑で定量解析ができないこと、②1つの反応で1つの病原体しか検出できないこと、などの限界と問題点がありました。これらの欠点を克服するべく、技術革新の恩恵を受けながら、PCRに様々な改良が加えられ、遺伝子検査の実用化がみえてきました。すなわち、PCR増幅産物をリアルタイムに検出して、簡便かつ迅速な遺伝子の定量が可能なりリアルタイムPCR



法、どんな細菌の DNA であっても 1 組のプライマーで増やすことができるブロード・レンジ PCR 法、そして 1 回の反応で複数の病原体検出を同時に行うマルチプレックス PCR 法です。

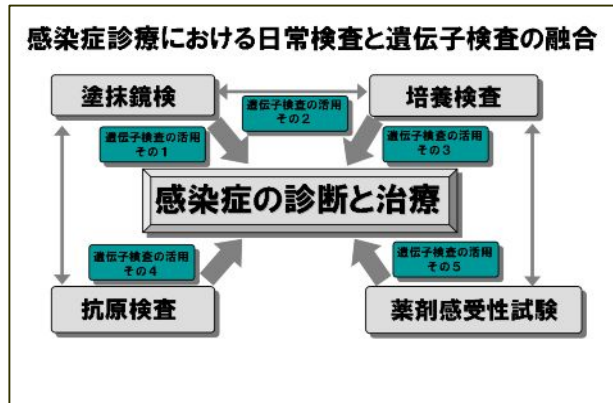
近年、マルチプレックス PCR 法を利用して病原体を網羅的に検査できる試薬キットの開発が進んでいます。例えば、呼吸器感染症を惹起する可能性が高い約 20 種類のウイルスや細菌を一度に検出できるキットが既に開発されています。さらには、米国 Bio Fire 社の FilmArray システムのように、核酸の抽出から増幅および検出をすべて全自動で行う、いわゆる次世代型の遺伝子検査も開発されています。これを利用すれば、検体をセットして 1 時間ほどで呼吸器感染症の診断を実施できますので、外来診療やベッドサイドでの導入がおおいに期待されます。

感染症の疾患別に想定される病原体を網羅的に検索する検査試薬の開発は今後も続くものと思っています。実際に、下痢症の原因となる細菌やその毒素、原虫、ウイルスの約 15 種類を一度に検出できるキットが今年 1 月に認可されました。今後は、髄膜炎や脳炎などの中枢神経系感染症や性感染症などの網羅的な診断キットの開発が進むと予測しています。これら疾患別の検査が導入されれば、抗菌薬や抗ウイルス薬の不必要な投与がなくなり、入院期間も短縮、医療関連感染の防止など、感染症診療における費用対効果の向上にも繋がると考えています。



では、遺伝子検査を活用するのはどんな時でしょうか？

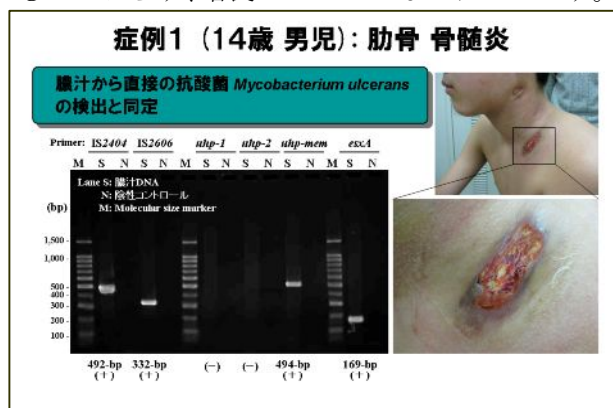
感染症の診断と治療は、臨床情報を活用したうえで、塗抹鏡検所見、迅速抗原検出法、培養法、そして薬剤感受性試験などの日常検査によって実施されています。塗抹鏡検、抗原検出法、培養法、そして薬剤感受性試験が感染症診療の「主役」であることは、今後も変わりませんが、遺伝子検査が「主役」を引き立てる「名脇役」へと進化して、患者診療へ貢献するには、遺伝子検査の活用方法を知っておくことが重要です。ここでは、遺伝子検査をどのような状況で活用すればいいのか、その 5 つの状況を順にご紹介します。



その 1. 鏡検所見から推定される病原体を検体から直接、狙い撃ちして、迅速診断を行います。例えば、チール・ネルゼン染色で抗酸菌が観察された場合に、結核菌や非定型抗酸菌を検出する PCR を実施します。また、細菌性髄膜炎のケースでは、髄液のグラム染色所見に応じて、肺炎球菌、インフルエンザ菌 b 型などを特異的に検出する PCR を行います。特に、抗菌薬が既に投与されており、培養検査の結果が期待できないケースで遺伝子検査が威力を發揮します。

その 2. グラム染色で細菌が観察されているにもかかわらず、培養で生えてこないケースです。細菌は「生き物」ですので、居心地のいい環境で培養する、あるいは、適切な培地で培養を行わなければ、うまく育てることができません。遺伝子検査であらかじめ菌種を特定できれば、その細菌の発育に最適な環境へ変更することができます。

例えば、症例は 14 歳の男児。左顎下リンパ節と左鎖骨上窩から採取された膿汁の抗酸染色で菌体が観察されたものの、培養が陰性とのことで遺伝子解析の依頼を受けました。膿汁から直接に抗酸菌 DNA の検出と同定を試み



たところ、*Mycobacterium ulcerans* であることが判明。本菌の至適発育温度は 25℃ ですので培養温度の変更を指示しました。すなわち、検体の遺伝子解析は迅速な起炎菌診断だけでなく、分離培養条件の変更にも結びつき、薬剤感受性実施のために生菌そのものを得ることに寄与できます。

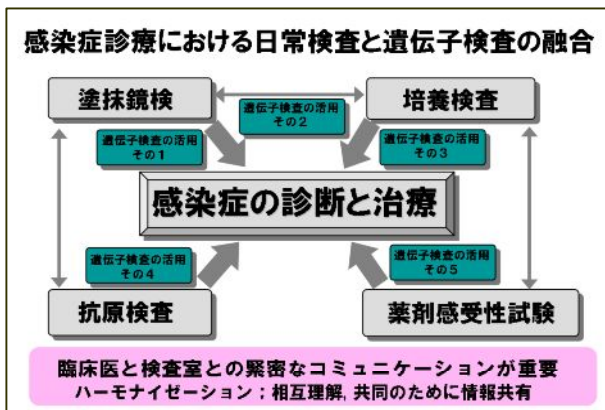
その 3. 細菌感染が強く疑われるが、培養で発育を認めないケースです。例えば、培養が困難な病原体である梅毒トリポネーマや、らい菌、猫ひっかき病の病原体、そして発育に 1 週間以上かかるような抗酸菌などがあげられます。

その 1 例として、症例は 6 歳 女児。2 月中旬、飼い猫に左の頸部を引っ掻かれていました。2 月 28 日より 38℃ を越える発熱があり、近医を受診し、セフェム系抗菌薬が処方されました。しかし、3 月 1 日に左頸部の腫脹を認め、発熱も続いたため、3 日に救急外来を受診。病歴より猫ひっかき病が疑われ、アジスロマイシンの投与が開始されました。その後、頸部の腫脹が増悪したため、3 月 10 日に精査加療目的で入院となりました。左顎下部に直径 2.5cm、側頸部に 4cm の発赤と腫瘍があり、穿刺すると、淡黄色の膿汁が約 5ml 排出されました。この膿汁を用いて遺伝子検査を行った結果、*Bartonella henselae* の DNA が検出され、猫ひっかき病の診断が確定し、適切な治療が継続されました。



その 4. 想定した病原体の抗原検出で感度が不足しているケースです。市販の迅速診断キットは、検体 1 ml あたり 10^4 個以上の病原体がなければ陽性となりません。一方、PCR 法は 10 個もあれば陽性となりますので、診断率の向上が期待できます。

その 5. 耐性遺伝子を菌株から、あるいは検体から直接、検出することができます。メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の *mecA*、バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) の *vanA*、*vanB* などのように、特定の遺伝子の存在が確認されれば、薬剤耐性であることが強く示唆されます。検体の直接解析では、菌種の特異性と耐性遺伝子の検出を同時に行うことによって、抗菌薬選択に貢献できるだけでなく、感染制御の面からもたいへん有用な情報となります。



以上、感染症検査における「三大技術革新」ともいえる自動同定・感受性機器、質量分析法、遺伝子検査の現状と今後の展望についてご紹介しました。これらの技術はあくまでも感染症診療のツールに過ぎません。「感染症の診断と治療は、医師と臨床検査技師との緊密な情報交換によるコラボレーション」が何より大切であることを強調して終わりにします。

「小児科診療 UP-to-DATE」
<http://medical.radionikkei.jp/uptodate/>