

## 4. 感染症診療における遺伝子検査の展開

長崎大学大学院病態解析・診断学, 長崎大学病院臨床検査科/検査部

柳原 克紀

**Key words** : 遺伝子検査, POCT, 薬剤耐性菌, 新興感染症

### はじめに

感染症は大きく変化している。高齢化や免疫抑制薬の進歩により日和見感染症が増加しており、世界的に拡がっている薬剤耐性菌も深刻である。新型コロナウイルス感染症(Corona Virus Disease-2019: COVID-19)は、世界的なパンデミックとして、甚大な被害をもたらした。このようにグローバル化に伴い新興感染症が国際的に拡がりやすくなっており、次のパンデミック感染症に対する備えも求められる。

変貌する感染症を適切に診療していくには、原因微生物を検出することが大切になる。そのためには微生物検査、特に遺伝子検査の活用が求められる。

### 1. 感染症診療における微生物検査

感染症の病原微生物はウイルス、細菌、真菌、原虫および寄生虫など多岐にわたる。微生物検査には、顕微鏡による鏡検法、培養検査、抗原検査、PCR法(Polymerase Chain Reaction)に代表される遺伝子検査、抗体検査などが挙げられる。それぞれに特徴がある(表1)。調べる検体は、血液をはじめ感染した臓器の分泌液や尿、便、痰、胃液、髄液、膿などの体液が対象である。病原体を明らかにすることは、治療薬の選

択だけではなく、隔離の必要性を判断するためにも、重要な情報である。

微生物の遺伝子検査は抗原検査に比べて感度が高く、培養が不可能または困難、もしくは時間を要する細菌や抗酸菌、ウイルスの検出のために用いられている。また、感染症の診断だけでなく、スクリーニングやモニタリング、サーベイランスにも用いられ、感染制御や感染症疫学などの分野でも活用されている。特定の病原微生物をターゲットとして、その遺伝子を増幅、検出する。増幅方法では、PCR法またはLAMP法(Loop-Mediated Isothermal Amplification)がよく用いられるが、Transcription Reverse-transcription Concerted reaction法(TRC法)なども新しい手法として注目されている。近年、遺伝子検査は大きく進歩してきており、感染症の診療に貢献している<sup>1)</sup>。

### 2. 遺伝子検査の進歩

表1. 微生物検査の種類と特徴

種類	特徴
検鏡・培養	病原体の直接検鏡は簡便。培養検査は正確だが時間を要する。
抗原・抗体検査	抗原検査は迅速かつ簡便だが、感度がやや低い。抗体検査は時間を要する。
遺伝子検査	感度・特異度ともに高いが、特殊機器や人手が必要。

略歴は129頁に記載



図 1. 全自動遺伝子検査システムの種類

従来、遺伝子検査はある一定の知識や手技などの習得が必要な上に、特殊な機器を要する点やコストの面などから、臨床現場での活用場面は限られてきた。次々に新しい技術を用いた機器が開発され、応用範囲が広がってきている。煩雑となりやすい遺伝子抽出の操作を含めて、遺伝子増幅、検出まで1台で行える装置も登場してきた。サンプルを機器に装着後、全自動でこれらの過程を行うため、時間の短縮に加え、コンタミネーションのリスクが回避できる。“カートリッジ”や“フィルム”の種類を変更することで検出ターゲットを変える方法をとるシステムも開発されている。また、実施者が苦勞してきた手技的な課題に対しても、“カートリッジ”や“フィルム”の中で遺伝子抽出～遺伝子増幅～検出の一連のプロセスを行うため、きわめて簡便である。代表的な遺伝子検査機器を図1に示す<sup>1)</sup>。

### 3. 感染症診療における遺伝子検査の展開

上記のような簡便性から、抗原検査のようにPOCT(point of care testing：臨床現場即時検査)としても使用されることが期待される。その理

由として、新型コロナウイルス感染症において、多数の検査機器が導入されたことやその特徴が理解されたことが挙げられる<sup>2,3)</sup>。

一方で、遺伝子検査は抗原検査に比べコストがかかるため、適正使用が求められる。日本感染症学会は、A群β溶血性連鎖球菌やインフルエンザウイルスの遺伝子検査の有効活用に関する提言を公表している<sup>4,5)</sup>。インフルエンザウイルスの抗原検査は遺伝子検査と比較して検出感度が低く、発症後早期では偽陰性が生じる<sup>6)</sup>。そのため、本提言では、インフルエンザの感染が疑われる患者のうち、①入院を要する患者、②重症化リスクを有する患者、③発症後24時間以内に抗ウイルス薬投与が検討される患者は、遺伝子検査の対象としている。

抗菌薬関連下痢症や偽膜性腸炎として知られる*Clostridioides (Clostridium) difficile*感染症は診断が難しい。菌の存在だけでなく、トキシン(毒素)の産生性を確認する必要がある。トキシンの検出においては、抗原検査の感度は遺伝子検査に比べて50%程度と低いことが懸念されていた<sup>7)</sup>。アルゴリズムを用いた解析により、遺伝子検査は診断率を高め、コストの面でも見合うこ

表 2. 肺炎の遺伝子検査において検出できる微生物と薬剤耐性遺伝子 (BioFire FilmArray Panels : <https://www.biofire.com/products/the-filmarray-panels/>)

Bacteria* <sup>1</sup>	AMR genes	Atypical Bacteria
Gram Negative bacteria	Methicillin resistance	<i>Chlamydia pneumoniae</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex	<i>mecA/C</i> and MREJ	<i>Legionella pneumophila</i>
<i>Enterobacter cloacae</i> complex		<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
<i>Escherichia coli</i>	Carbapenemases	
<i>Haemophilus influenzae</i>	IMP	
<i>Klebsiella aerogenes</i>	KPC	Viruses
<i>Klebsiella oxytoca</i>	NDM	Adenovirus
<i>Klebsiella pneumoniae</i> group	OXA-48-like	Coronavirus* <sup>2</sup>
<i>Moraxella catarrhalis</i>	VIM	Human Rhinovirus/Enterovirus
<i>Proteus</i> spp.		Human Metapneumovirus
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ESBL	Influenza A
<i>Serratia marcescens</i>	CTX-M	Influenza B
Gram Positive bacteria		Parainfluenza Virus
<i>Staphylococcus aureus</i>		Respiratory Syncytial Virus
<i>Streptococcus agalactiae</i>		
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		
<i>Streptococcus pyogenes</i>		

とが報告されている<sup>8)</sup>。これを受けて、日本化学療法学会と日本感染症学会が合同で作成した診療ガイドラインでは、遺伝子検査の積極的な活用を推奨している<sup>9)</sup>。

感染症診療において多項目同時遺伝子検出法は今後の活用が期待される。1種類の病原体(シングルターゲット)を検出する検査法は、主治医がその病原体を疑わなければ、検査が実施されない。肺炎を含めた呼吸器感染症は、肺炎球菌などの一般細菌、マイコプラズマに代表される非定型病原体ならびにウイルスなど病原体が多岐にわたるため、すべての病原体に対して検査を実施することは難しい。最近開発された肺炎の遺伝子検査は、表 2 に示すように 26 の病原体(18 種の細菌と 8 種のウイルス)に加えて、薬剤耐性菌遺伝子も検出可能である<sup>10)</sup>。私たちが実施した臨床検討でも、遺伝子検査で検出された病原体はすべて培養検査でも検出されており、

感度が高いことが示された(図 2)<sup>11)</sup>。この検査を用いることで、高い効果と薬剤耐性菌の抑止を担保した治療薬が選択されるものと思われる。

#### 4. 新興感染症の現状と遺伝子検査

新興感染症は、米国医学研究所が提唱した“Emerging Infectious Diseases”の和訳で、「かつて知られていなかった、この 20 年間に新しく認識された感染症で、局地的あるいは国際的に公衆衛生上問題となる感染症」と定義される。

図 3 に 1998 年以降の新興感染症の状況を示すが、世界各地で頻発しており、我が国の流入も懸念される<sup>12)</sup>。

新興感染症において原因微生物が特定された後で、最初に活用されるのは、遺伝子検査である。新型コロナウイルスのパンデミックを教訓として、新興感染症に対応するためには、核酸検査を活用できる土台を維持していく必要がある

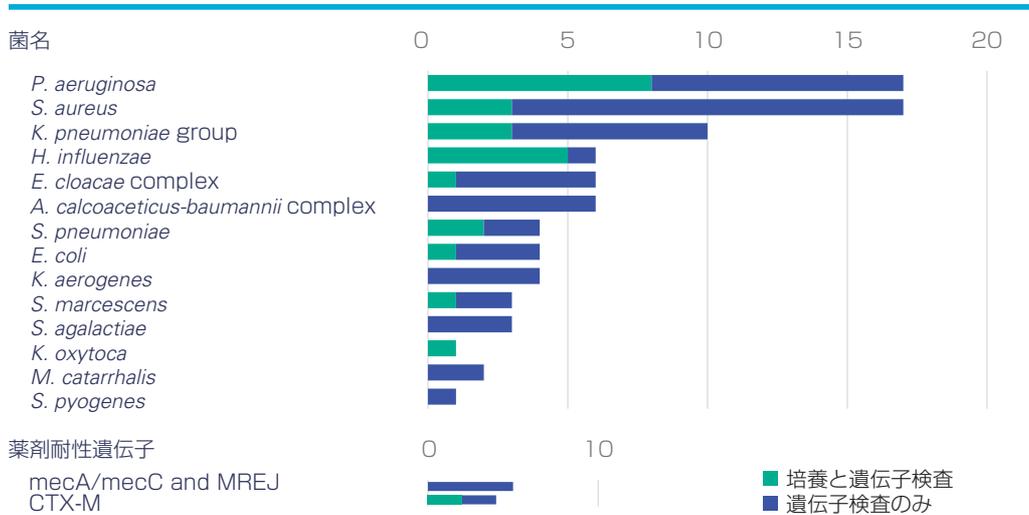
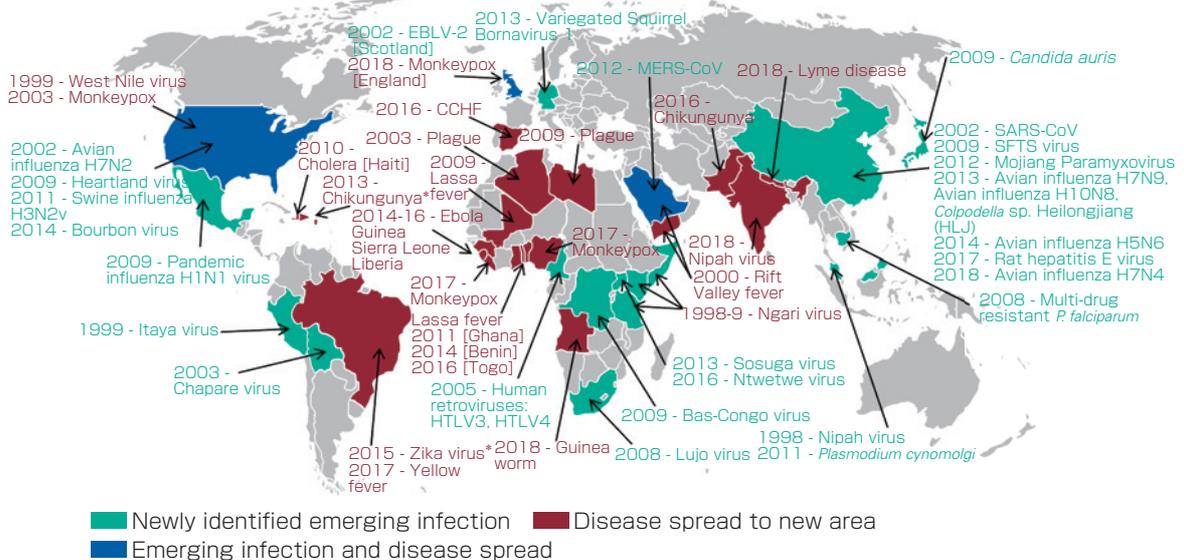


図2. 遺伝子検査機器の評価（呼吸器感染症 57 症例）

(Kosai K, Yanagihara K, et al : Ann Clin Microbiol Antimicrob 21 : 24, 2022)

Global map of significant and new emerging infections in humans: spread to new areas since 1998



\*Incursion followed by regional spread

図3. 1998年以降の新興感染症の状況

(<https://www.gov.uk/government/publications/emerging-infections-characteristics-epidemiology-and-global-distribution/emerging-infections-how-and-why-they-arise>)

る。検査機器選択に関しては、前述した全自動遺伝子解析装置/POCTは簡便ではあるものの、新興感染症への対応は難しい。大学病院や準ず

る医療機関や衛生研究所や保健所では、Laboratory developed test (LDT：薬事未承認検査、自家調整検査) を保有しておくことが望ましい。

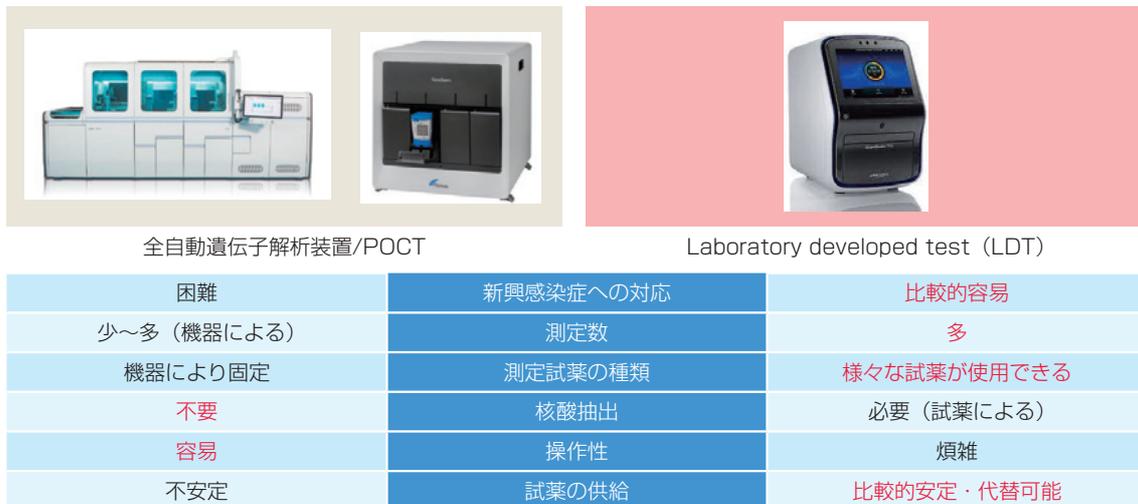


図 4. 感染症遺伝子検査機器の特徴

感染症遺伝子検査機器の特徴について、図 4 に示す。機器だけでは不十分であり、感染症検査・遺伝子検査に詳しい人材の育成および確保も大切である。医師（臨床検査専門医）や臨床検査技師を育てるためには、①専門学校・大学での教育、②施設（病院）での育成、③学会や技師会での支援などが求められる。

#### おわりに

感染症診療における遺伝子検査の役割は高くなっている。今後は、診療所・クリニックでは POCT (point of care testing)、病院では多項目遺伝子検査機器が活用され、適正な診療につながる事が期待される。加えて、新興感染症に対して LDT (Laboratory developed test) を備えておくことも大切である。

#### 文 献

- 1) 柳原克紀：感染症検査の最近の話題—新型コロナウイルスの検査も含めて—。日内会誌 109: 2509-2515, 2020.
- 2) 病原体検査の指針検討委員会：新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 病原体検査の指針 第 6 版。https://anshin.pref.tokushima.jp/med/experts/docs/2022122700123/files/2.pdf
- 3) Ota K, et al: Detection of SARS-CoV-2 using qRT-PCR in saliva obtained from asymptomatic or mild COVID-19 patients, comparative analysis with matched nasopharyngeal samples. PLoS One 16: e0252964, 2021.
- 4) 急性咽頭・扁桃炎診療の抗菌薬適正使用における A 群β 溶血性連鎖球菌核酸検査の有効活用に向けた提言。https://www.kansensho.or.jp/uploads/files/guidelines/youketuseirensakyukin\_0913.pdf
- 5) インフルエンザ核酸検出検査の有効活用に向けた提言。https://www.kansensho.or.jp/uploads/files/guidelines/influenza\_0913.pdf
- 6) Kaku N, et al: Multicenter evaluation of molecular point-of-care testing and digital immunoassays for influenza virus A/B and respiratory syncytial virus in patients with influenza-like illness. J Infect Chemother 27:820-825, 2021.
- 7) Morinaga Y, et al: Diagnostic utilities of a fully automated molecular test for toxigenic *Clostridium difficile*. J Infect Chemother 24: 88-91, 2018.
- 8) Lim VW, et al: Budget Impact Analysis of Adopting a One-Step Nucleic Acid Amplification Testing (NAAT) Alone Diagnostic Pathway for *Clostridioides difficile* in Japan Compared to a Two-Step Algorithm with Glutamate Dehydrogenase/Toxin Followed by NAAT. Diagnostics (Basel) 13: 1463, 2023.
- 9) 日本化学療法学会・日本感染症学会・CDI診療ガイドライン作成委員会(委員長：國島広之)：Clostridioides (Clostridium) difficile 感染症診療ガイドライン。https://www.chemotherapy.or.jp/uploads/files/guideline/cdi\_shinryou7101.pdf
- 10) BioFire FilmArray Panels. https://www.biofire.com/products/the-filmarray-panels/
- 11) Kosai K, et al: BioFire FilmArray Pneumonia Panel enhances detection of pathogens and antimicrobial resis-

tance in lower respiratory tract specimens. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 21 : 24, 2022.

- 12) UK Health Security Agency : Emerging infections : how and why they arise. <https://www.gov.uk/government/>

[publications/emerging-infections-characteristics-epidemiology-and-global-distribution/emerging-infections-how-and-why-they-arise](https://www.gov.uk/government/publications/emerging-infections-characteristics-epidemiology-and-global-distribution/emerging-infections-how-and-why-they-arise)

---