

東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	Rapid identification of bacteria using a multiplex polymerase chain reaction system for acute abdominal infections
別タイトル	急性腹部感染症におけるマルチプレックスポリメラーゼ連鎖反応システムを用いた迅速起炎菌同定
作成者（著者）	柿崎, 奈々子
公開者	東邦大学
発行日	2024.03.13
掲載情報	東邦大学大学院医学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨.
資料種別	学位論文
内容記述	主査：船橋公彦 / タイトル：Rapid identification of bacteria using a multiplex polymerase chain reaction system for acute abdominal infections / 著者：Nanako Kakizaki, Koji Asai, Makoto Kuroda, Ryutaro Watanabe, Manabu Kujiraoka, Tsuyoshi Sekizuka, Miwa Katagiri, Hodaka Moriyama, Manabu Watanabe, Yoshihisa Saida / 掲載誌：Frontiers in Microbiology / 巻号・発行年等：14: 1220651, 2023
著者版フラグ	none
報告番号	32661甲第1100号
学位記番号	甲第761号
学位授与年月日	2024.03.13
学位授与機関	東邦大学
メタデータのURL	https://mylibrary.toho.u.ac.jp/webopac/TD41219382

博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

柿崎奈々子より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号甲第 761 号

学位申請者 : 柿 崎 奈 々 子

学位論文 : Rapid identification of bacteria using a multiplex polymerase chain reaction system for acute abdominal infections

(急性腹部感染症におけるマルチプレックスポリメラーゼ連鎖反応システムを用いた迅速起炎菌同定)

著 者 : Nanako Kakizaki, Koji Asai, Makoto Kuroda, Ryutaro Watanabe, Manabu Kujiraoka, Tsuyoshi Sekizuka, Miwa Katagiri, Hodaka Moriyama, Manabu Watanabe, Yoshihisa Saida

公表誌 : Frontiers in Microbiology 14: 1220651, 2023
DOI: 10.3389/fmicb.2023.1220651

論文内容の要旨 :

背景・目的: 穿孔性腹膜炎や腹腔内膿瘍などの急性腹部感染症は、適切な抗菌薬治療が行われなかった場合、致命的となりうる。また、現在薬剤耐性菌の蔓延が世界的に深刻な問題となっており、抗菌薬の選択は極めて重要となっている。通常の細菌培養検査では、起炎菌同定及び薬剤感受性の結果が出るまでに約5日を要し、重症例ではしばしば広域抗菌薬の使用が必要となる。このような臨床状況から、適切な狭スペクトル抗菌薬を選択するために起炎菌の迅速同定に関する研究が急務であると考えられた。我々の以前の研究では急性胆道感染症に焦点を当て、胆汁検体を用いたメタゲノム解析による包括的な微生物同定を行った (Kujiraoka et al.)。この方法では2日以内に検体に含まれる微生物および薬剤耐性遺伝子を同定することが可能であったが、複雑な検査手順と高額な検査費用が臨床使用の妨げとなっていた。次に、我々は「Verigene システム (Luminex Corporation, Austin, TX, United States, 以前は Nanosphere, United States) 」を用いて、急性胆道感染症における胆汁検体の解析を行った (Watanabe et al.)。このシステムでは2時間以内に細菌同定可能であったが、培養陽性検体における検出率は35.7%と低値であった。また検査パネルがグラム陽性菌と陰性菌とで異なるため、検査前にグラム染色を行う必要があった。本研究では、

急性腹部感染症患者の腹腔内から採取した検体を対象に、新しいマルチプレックスポリメラーゼ連鎖反応システム「FilmArray™ システム (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, フランス)」・血液培養パネルについて検討した。このシステムは約1時間の検査時間でグラム陽性菌・陰性菌を問わず一つのパネルで検査が可能であり、より迅速性が高いと考えられた。

対象・方法：東邦大学医療センター大橋病院・外科にて2019年4月から2019年12月に経験した急性腹部感染症10例を対象とした。腹腔内から採取された検体に対し、それぞれ通常の細菌培養検査とFilmArray™ システムによる解析、およびメタゲノム解析による評価を行った。FilmArray™ システムによる解析およびメタゲノム解析は冷凍保存した検体を国立感染症研究所・病原体ゲノム解析研究センターに搬送し、行った。

結果：患者の年齢中央値は72歳（範囲：57-97歳）、男性7例、女性3例であった。症例の内訳は、穿孔性腹膜炎が6例、腹腔内膿瘍が4例であった。すべての検体で、細菌培養検査及びFilmArray™ システムによる解析にて微生物陽性であった。また10検体中9検体で、それぞれで検出された微生物のうち少なくとも1つが一致した。細菌培養検査では10検体から23種28の微生物が検出され、うち *Bacteroides*, *Prevotella*, *Fusobacterium* などの7つは血液培養パネルに含まれないものであった。FilmArray™ システムでは、細菌培養で検出された28の微生物のうち19が検出され、血液培養パネルに含まれる菌種に限定した場合の検出率は90.5% (19/21) であった。

考察：FilmArray™ システムによる解析は、主に血液検体、髄液、喀痰、糞便を対象としており、腹腔内膿瘍や腹水を対象とした報告は少ない。本研究では、腹腔内膿瘍・腹水検体に対して血液培養パネルを用いて直接評価を行い、10検体すべてで微生物陽性であった。また細菌培養検査にて検出された微生物のうち、90.5%と高率に検出可能であった。メタゲノム解析によると、FilmArray™ システムで検出された細菌の最小リード数は、Patient 4の *Klebsiella pneumoniae* の19リードで、少ないリード数でも微生物を同定可能であることが示された。一方、*Streptococcus* や *Candida* など、細菌培養陰性でFilmArray™ システム陽性の微生物も確認され、FilmArray™ システムでは真の起炎菌だけでなく既に死滅した微生物や常在菌を検出する可能性が示された。我々の知る限り、細菌培養とFilmArray™ システムの結果を比較しただけでなく、メタゲノム解析を用いて検体に含まれる微生物の詳細を包括的・定量的に明らかにしたのは本研究が初めてである。少数例での検討ではあるが、FilmArray™ システムは急性腹部感染症に対する迅速起炎菌同定法として有用であると考えられ、今後臨床において適切な抗菌薬選択の一助となることが期待された。

結論：マルチプレックスポリメラーゼ連鎖反応システム「FilmArray™ システム」は、腹腔内検体を高い検出率で直接評価可能であり、急性腹部感染症の迅速起炎菌同定法として有用である可能性が示唆された。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号甲第 761 号	氏 名	柿 崎 奈々子
学位審査担当者	主 査	船 橋 公 彦
	副 査	石 井 良 和
	副 査	大 塚 由 一 郎
	副 査	松 田 尚 久
	副 査	松 岡 克 善

学位論文の審査結果の要旨 :

穿孔性腹膜炎や腹腔内膿瘍などの急性腹部感染症患者に対して適切な抗菌薬の選択は重要である。本研究は、急性腹部感染症患者の起炎菌の同定に対して血液培養パネル FilmArray™ システムの有用性を検討したものである。有用性の検討にあたっては、穿孔性腹膜炎および腹腔内膿瘍患者 10 名から採取した腹水・膿の検体を使用して、後方視的に実臨床で用いられる細菌培養検査とメタゲノム解析結果を比較・検討した。FilmArray™ システムでは、検体に特別な前処理を行うことなく、短時間で起炎菌の検出が可能であった。検査の感度は、全例において細菌培養検査及び FilmArray™ システムによる解析にて微生物陽性であった。起炎菌の検出では、細菌培養で検出された 28 の微生物のうち 19 が検出でき、血液培養パネルに含まれる菌種に限定した場合の検出率は 90.5% (19/21) と高率であった。また、少ないリード数でも微生物を同定可能である利点が示された。その一方で、*Streptococcus* や *Candida* など細菌培養で陰性であった微生物でも FilmArray™ システムで陽性が確認され、FilmArray™ システムでは真の起炎菌だけでなく既に死滅した微生物や常在菌を検出する可能性が示された。また、臨床的に腹腔内感染症の起炎菌として多い *E. coli* の検出には患者間で検出に差が認められた点や、また今回使用した血液培養パネルに含まれてはいない *Bacteroides*, *Prevotella*, *Fusobacterium* などについては検討ができなかった点に関しては課題が残った。本研究は、少数例での検討ではあるが、細菌培養と FilmArray™ システムの結果を比較しただけでなく、メタゲノム解析を用いて検体に含まれる微生物の詳細を包括的・定量的に明らかにした報告は過去になく、今後の急性腹部感染症の治療戦略を変える可能性があり臨床的意義が高いものと考えられた。

学位審査会においては、審査委員からこの研究遂行にあたっての申請者の貢献度、今回の研究から明らかになった課題とその対応、今後の研究の継続性について質問があったが、申請者はいずれの質問に対して適切に回答した。審議の結果、審査委員全員一致により、本論文は学位論文に値するものとの結論に至った。