

(別紙1)

## 総括研究報告書

課題番号：30指定1

課題名：分子生物学的診断法の感染症診療と感染対策への応用

主任研究者名（所属施設） 国立成育医療研究センター

（所属・職名） 生体防御系内科部感染症科・診療部長 宮入 烈

（研究成果の要約）小児の感染症診療において迅速な病原体の同定は患者の予後に直結する。本研究の目的は分子生物学的な病原体診断法を感染症診療、院内感染対策、抗菌薬の適正使用に応用し、評価することである。本年は新型コロナウイルス感染症の原因ウイルスである SARS-CoV2 と他の呼吸器感染症を検出するマルチプレックス PCR 系の導入効果を検討した。その結果、小児において COVID-19 の有病率が低く、他の流行性疾患の影響が大きいことから単独の系より他のウイルスを検出する意義が高いことを示した。また同マルチプレックスの系を応用し、小児の発疹症の臨床的特徴を明らかにした。更に、次世代シーケンサーの臨床応用として抗酸菌感染症や MRSA の同定についての検証を行い、今後の実用化にむけて検討した。

### 1. 研究目的

小児の感染症診療において迅速な病原体の同定は患者の予後に直結する。本研究の目的は分子生物学的手法を重症感染症の原因診断、院内感染対策、抗菌薬の適正使用に活用し評価することである。

### 2. 研究組織

研究者	所属施設
宮入 烈	国立成育医療研究センター
植松悟子	国立成育医療研究センター

### 3. 研究成果

本年度は、3つの軸に沿って行われ、以下の成果が得られた。

#### 1) 感染症の原因診断

① 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の流行をうけ、SARS-CoV2 の RNA をリアルタイム PCR 法で検出する事、あるいは除外目的で検査を行う事が標準的となった。当セン

ターでも 2020 年度は 1370 件のリアルタイム PCR 検査が診断あるいは除外目的で実施された。その結果、接触歴のない小児における SARS-CoV2 陽性者はなく、スクリーニング目的での実施は効率が悪いことが明らかとなった。同時に 21 種類の呼吸器ウイルスを検出可能なマルチプレックス PCR の系を用いる事により、小児の流行性疾患は 2021 年の 1 月頃から増加が認められた一方で、entero/rhinovirus については通年で検出が確認された。

② 小児発疹症への応用：小児における発疹症の多くはウイルス性と言われるが、日本の救急外来における小児発疹患者の疫学は不明である。当院救急外来を受診した 18 歳未満の患者のうち、発疹の原因が明確でない患者の咽頭拭い液を採取し、Multiplex real time PCR を行った。117 例の検体を採取した。60% で何らかのウイルスが検出された。最終診断では、42%がウイルス性発疹、6%で細菌性発疹であった。原因不明の小児発疹の 79%は診断す

ることが可能であった。

③ 重症感染症（髄膜炎、心筋炎、呼吸器感染症、新生児敗血症）のリアルタイム PCR 検査による診断を継続しそれぞれ、40–60%の診断率が得られている

## 2) 院内感染対策への応用

院内感染対策として、薬剤耐性菌の耐性機構の遺伝子学的な検討と細菌の遺伝子相同性検査を次世代シーケンサーで行うことを目的とした。ナノポアシーケンサーを用いた解析により、抗酸菌の迅速診断が可能となった。一般的に菌種の同定には数週間を要するが、シーケンス解析により最短30分で最終同定菌種を推定する事が可能であった。同手法を応用し、MRSAのMLSTとSpaタイピングと感受性遺伝子の評価を開始した。

## 3) 抗菌薬適正使用に係る検査

入院患者における肺炎患者を対象にマルチプレックス PCR 検査を行い、使用により抗菌薬使用量の適正化につながっているか否かの検討を実施した。20/33件(61%)で何らかの病原体検出を認め、病原体の内訳は、RSV7例、Rhino/Enterovirus9例、Adenovirus1例、hMPV1例、HCoV-NL63 1例、Mycoplasma1例であった。しかしながら導入前の状況と比べて明らかな抗菌薬の減少にはつながっていない。PCR法による診断により病原体が判明しても、直接臨床に寄与しない可能性を示すことは効率良い診療や医療資源の適切な利用に重要である。

## 4. 研究内容の倫理面への配慮

本研究の検体採取の際には、患者または保護者から同意書を得た上で検討を行う。得られたサンプルにおいては、プライバシーの保護には十分配慮をし、成果を公表する場合に

は患者を同定できるような情報を一切含めず、匿名化による個人情報保護を行った。その方法として、患者の情報と検体番号は、患者識別対応表を作ることによって、匿名化され、その対応表は、当院の個人情報管理者によって管理され、他の人がアクセス出来ないようにした。