

# O-24 血流感染症採血時の微生物遺伝子同時検出

## O-24 血流感染症採血時の微生物遺伝子同時検出

慈恵医大臨床医学研究所<sup>1)</sup>、同臨床検査医学講座<sup>2)</sup>、慈恵医大柏病院腫瘍・血液内科<sup>3)</sup>、同小児科<sup>4)</sup>、同中央検査部<sup>5)</sup>、慈恵医大青戸病院中央検査部<sup>6)</sup>、(株)島津製作所 分析計測事業部バイオ臨床ビジネスユニット<sup>7)</sup>、Seegene Inc. <sup>8)</sup>

○保科 定頼<sup>1, 2)</sup>、西脇 嘉一<sup>3)</sup>、和田 靖之<sup>4)</sup>、吉田 博<sup>2, 5)</sup>、富永 健司<sup>5)</sup>、安藤 隆<sup>6)</sup>、兼本 園美<sup>6)</sup>、平田 龍三<sup>6)</sup>、杉本 健一<sup>2, 6)</sup>、河野 緑<sup>2)</sup>、槌谷 恵美<sup>2)</sup>、井上 薫<sup>2)</sup>、尾藤通世<sup>1)</sup>、杉田 哲佳<sup>7)</sup>、十川 好志<sup>7)</sup>、Young-Jo, Lee<sup>8)</sup>

## O-24 血流感染症採血時の微生物遺伝子同時検出

### 【 背景 】

微生物臨床研究にPCR法が応用されて久しいが、臨床検査ルーチンで使用されるケースは少ない。原因として、その煩雑な手技・時間がかかる点や従来法(培養法)で感受性試験を実施し、遺伝子検出法で全て実施不可な点が挙げられる。

### 【 目的 】

血流感染症〔polymicrobial nosocomial bloodstream infections (BSIs)〕の細菌・真菌検査は血液培養法で行われている。前培養なしでBSIsの代表的なグラム陰性、陽性細菌と真菌をSeegene社の血流感染症検査キットおよび島津製作所の電気泳動装置による感染症微生物検査システムを用いて検出を行った。それらの性能評価と考え方を検討した。

## O-24 血流感染症採血時の微生物遺伝子同時検出

### 【対象】

<腫瘍・血液内科>

Febreil neutropenia(好中球減少症)で38°C以上の発熱

あるいは肺炎症状を呈した症例

<小児科>

外来熱発症例

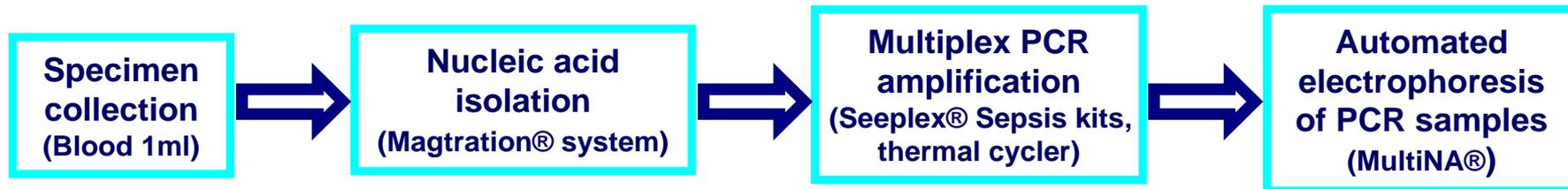
白血球数、CRPを全症例で、エンドキシン、 $\beta$ -Dグルカン、プロカルシトニンを一部症例で測定し、これらを参考にして血流感染発症時期の患者とした。

⇒ 腫瘍・血液内科 33例、小児科 54例 合計 87例

血液を1mL採血し、病原体遺伝子の確定を行った。

# O-24 血流感染症採血時の微生物遺伝子同時検出

## A procedure for molecular detection in patient blood(1)



**Collection with EDTA anti-coagulation and informed consent**



**Magtration® 6GC system**  
(Precision System Science co. ltd)



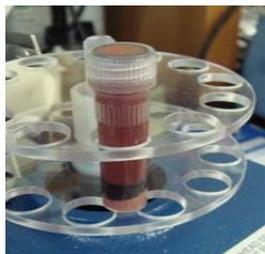
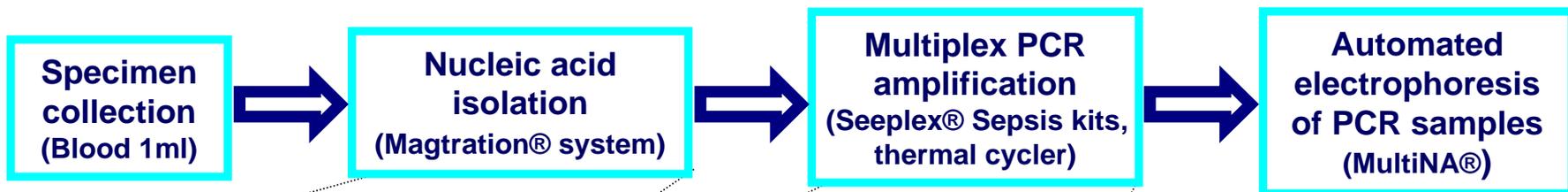
**Seeplex® Sepsis Kits** (Seegene Inc. )  
**Thermal cycler**  
(ABI 9700)



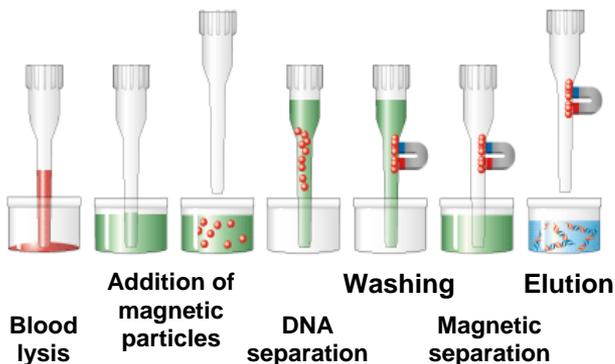
**Microchip electrophoresis**  
**MCE-202 MultiNA®**  
(SHIMADZU Corp.)

# O-24 血流感染症採血時の微生物遺伝子同時検出

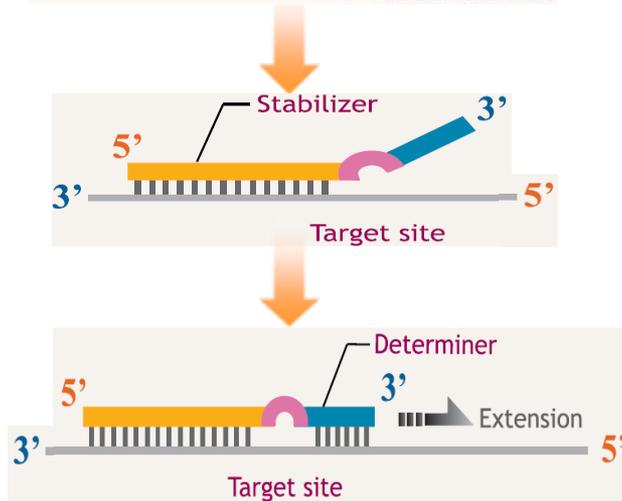
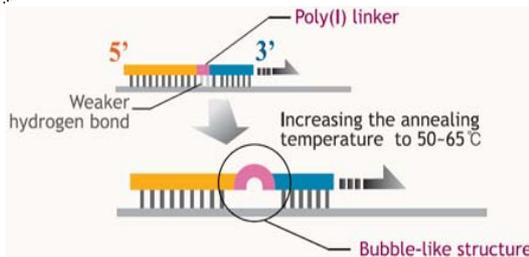
## A procedure for molecular detection in patient blood(2)



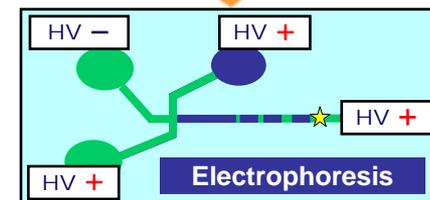
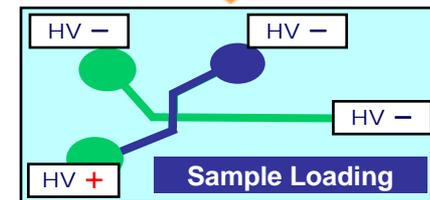
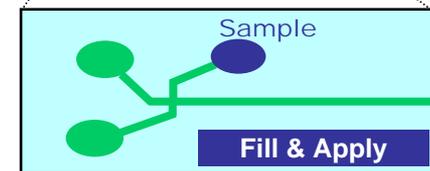
Zirconia beads beating before nucleic acid isolation with Magtration system



<Magtration system>



<DPO technology>

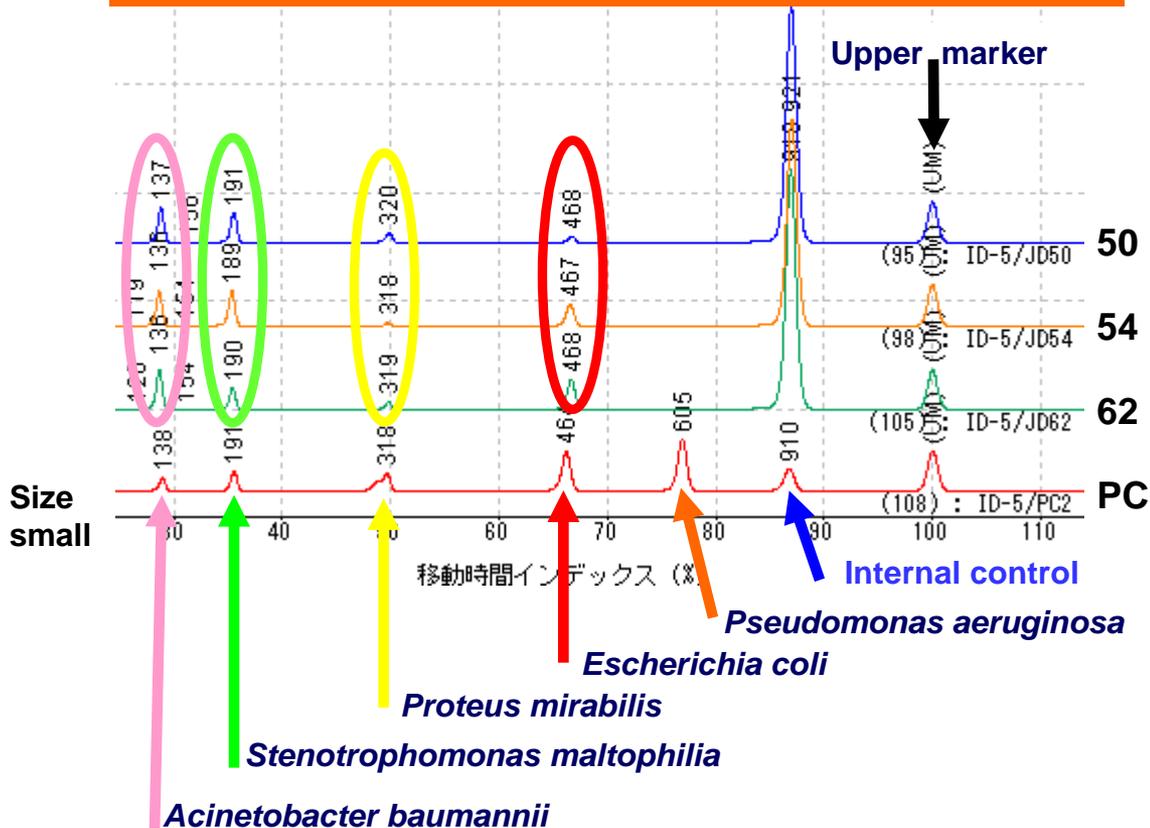


<Microchip electrophoresis>

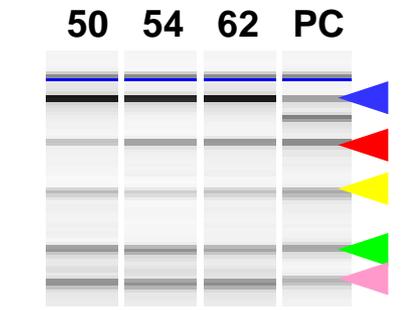
# O-24 血流感染症採血時の微生物遺伝子同時検出

## Results of ID-5 kit detection in patients with superinfection

Electropherogram



Gel-image



- ▶ Internal control
- ▶ *Escherichia coli*
- ▶ *Proteus mirabilis*
- ▶ *Stenotrophomonas maltophilia*
- ▶ *Acinetobacter baumannii*

# O-24 血流感染症採血時の微生物遺伝子同時検出

## 結果1: 血液から検出された 微生物遺伝子(一覧)

|         |                |
|---------|----------------|
| 全検体     | 87例            |
| 陽性      | 59例 (67.8%)    |
| 小児科     | 36/54例 (66.7%) |
| 腫瘍・血液内科 | 28/33例 (84.8%) |

### 検出微生物(上位5種)

*Streptococcus species*  
*Steno. Maltophilia*  
*E. coli*  
*Acinetobacter baumannii*  
*Staphylo. epidermidis*

| Kit名(標的)         | 検出微生物名                              | 検出数 |
|------------------|-------------------------------------|-----|
| ID-1<br>(真菌)     | <i>Aspergius fumigatus</i>          | 1   |
|                  | <i>Candida tropicalis</i>           | 1   |
|                  | <i>Candida glabrata</i>             | 1   |
|                  | <i>Candida krusei</i>               | 1   |
|                  | ID-1 Total                          | 4   |
| ID-2<br>(ブドウ球菌)  | <i>Staphylococcus epidermidis</i>   | 8   |
|                  | <i>Staphylococcus species</i>       | 7   |
|                  | <i>Staphylococcus haemolyticus</i>  | 3   |
|                  | <i>Staphylococcus aureus</i>        | 2   |
|                  | ID-2 Total                          | 20  |
| ID-3<br>(連鎖球菌)   | <i>Streptococcus species</i>        | 26  |
|                  | <i>Streptococcus mitis</i>          | 7   |
|                  | ID-3 Total                          | 33  |
| ID-4<br>(グラム陰性菌) | <i>Serratia marcescens</i>          | 2   |
|                  | <i>Enterobacter aerogenes</i>       | 1   |
|                  | ID-4 Total                          | 3   |
| ID-5<br>(グラム陰性菌) | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | 26  |
|                  | <i>Escherichia coli</i>             | 18  |
|                  | <i>Acinetobacter baumannii</i>      | 15  |
|                  | <i>Proteus mirabilis</i>            | 5   |
|                  | ID-5 Total                          | 64  |
| DR<br>(薬剤耐性遺伝子)  | <i>mecA</i>                         | 8   |
|                  | <i>vanB</i>                         | 4   |
|                  | DR Total                            | 12  |

## O-24 血流感染症採血時の微生物遺伝子同時検出

### 結果2: 検査値と遺伝子検出との比較

| <WBC: 0.1 ~ 38.6 X10 <sup>3</sup> /ul      ave. 9.6> |               |
|--|---------------|
| WBC  | 遺伝子検出例 / 症例数  |
| A : 0.1 ~ 2.0  | 18/22 (81.8%) |
| B : 2.1 ~ 9.8  | 19/29 (65.5%) |
| C : 10.5 ~ 33.4                                      | 23/36 (63.9%) |
| <CRP: 0.1 ~ 33.4 mg/dl      ave. 6.4>                |               |
| CRP  | 遺伝子検出例 / 症例数  |
| A : 0.1 ~ 0.5  | 7/12 (58.3%)  |
| B : 0.6 ~ 7.0  | 27/42 (64.3%) |
| C : 7.1 ~ 33.4                                       | 26/33 (78.8%) |

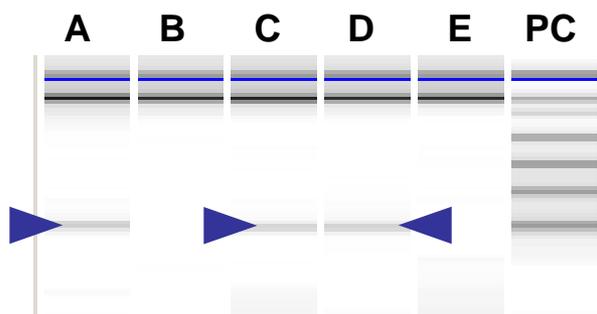
# O-24 血流感染症採血時の微生物遺伝子同時検出

## A time course for molecular detection of same patient blood

Patient: AML, Pneumoniae

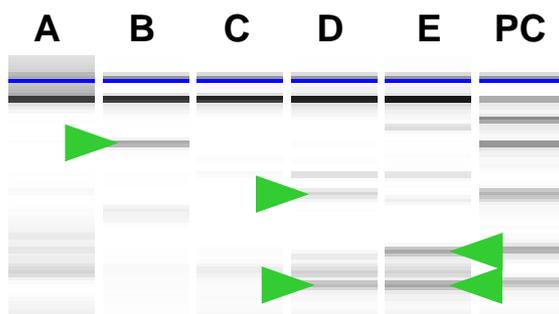
| Collection | (Detction-1)              | (Detction-2)          | (Detection-3)                |
|------------|---------------------------|-----------------------|------------------------------|
| A: 12/11   | <i>Streptococcus spp.</i> | -----                 |                              |
| B: 12/12   | <i>E. coli</i>            | -----                 |                              |
| C: 12/15   | <i>Streptococcus spp.</i> | -----                 |                              |
| D: 12/19   | <i>Streptococcus spp.</i> | <i>P. mirabilis</i>   | <i>A. baumannii</i>          |
| E: 12/25   | <i>A. baumannii</i>       | <i>S. maltophilia</i> | <i>Aspergillus fumigatus</i> |

Gel-image  
<ID-3: Streptococcus >



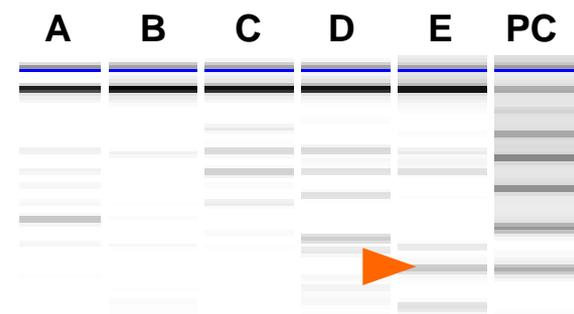
A, C, D : *Streptococcus spp.*

Gel-image <ID-5: Gram  
negative bacteria 2 >



B : *Escherichia coli*  
D : *Proteus mirabilis*  
E : *Stenotrophomonas maltophilia*  
D, E : *Acinetobacter baumannii*

Gel-image  
<ID-1: Fungi>



E : *Aspergillus fumigatus*

## O-24 血流感染症採血時の微生物遺伝子同時検出

### 【まとめ】

- 1) 本システムにて簡便に血流感染症における微生物遺伝子検出が実施可能であった。
- 2) 真菌およびグラム陰性菌群の検出感度が低い傾向がみられた。プライマー配列の精査が必要と思われた。
- 3) CRP値が7.1以上で遺伝子検出陽性例が増える傾向がみられ、重症化との関連が示唆された。
- 4) 今後、同一患者の複数ポイントで遺伝子検出を実施し、臨床症状との比較により、臨床的な意義について検証する必要があると思われた。

### 【謝辞】

本研究における検体採取でご協力頂きました、  
慈恵医科大学柏病院 検査部、腫瘍・血液内科、  
小児科、臨床医学研究所、の皆様方に深謝します。

### 【共同研究】

本研究は、慈恵医大、Seegene社、(株)島津製作所  
3者の共同研究として行われたものです。