

新しい微生物同定法

本康医院 本康宗信・静岡薬剤耐性菌制御チーム
土屋 憲 静岡市立清水病院 感染防止対策室

微生物の同定には、従来グラム染色や培養検査が用いられてきました。施設によっては、これらに加えて新しい微生物の同定法が用いられています。診療所では聞きなれない方法ですが、通報や症例検討会などで耳にすることもある同定法について解説します。

1. MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry): マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間質量分析法

これはサンプルをイオン化した後に電場により加速し、ある一定の距離を飛行させ、その飛行時間を測定することによって分子量を求める方法です。質量分析法の利点として

- (1)単離されたコロニーがあれば、短時間で結果が得られることです。従来はコロニーを純培養して増殖させてから同定を行う必要がありました。本方法では1菌種約10分(20菌種約30分)で結果が得られます。
- (2)多くの菌種を一度に同定可能 従来は様々な同定キットやパネルを駆使する必要がありました。
- (3)多検体の同時処理が可能
- (4)一部の薬剤耐性菌の検出が可能

一方、菌種により同定が困難なことがあります。データベースにない細菌、例えば赤痢菌、炭そ菌、ペスト菌では誤同定することがあります。赤痢菌では大腸菌と同定されるため、両者の鑑別には不向きです。また真菌、抗酸菌、自己融解性の強い肺炎球菌やムコイド形成の強い菌種では同定できないことがあります¹⁾。

このように質量分析法は短時間で、多くの菌種が同定できる利点がありますが、すべての菌種に当てはまるわけではありません。原則にのっとり、検査前に菌種を推定し、結果を臨床所見と照らし合わせて判断することは必要です。

2.ブロードレンジ PCR 法

通常の PCR 法が菌種あるいは病原因子の特異的な)塩基配列領域を増幅するのに対して、ブロードレンジ PCR 法では細菌に共通な 16S rRNA あるいは真菌

の 18S rRNA 領域を増幅します。1 組のプライマーで多種類の細菌もしくは真菌を検出できることが最大の利点とされています。増幅された rRNA には特定の細菌・真菌において特徴的な可変領域 DNA を含むため、その塩基配列を比較、解析することによって菌種を特定することができます。

現在のところ、ヘルペスウイルスおよび細菌・真菌に対する眼内液のブロードレンジ PCR は、網羅的迅速診断として一部施設で先進医療の範疇で施行されています²⁾。他領域での検査については、コマーシャルラボに解析まで依頼するか、コマーシャルラボに増幅・シーケンスを依頼し、得られた塩基配列を自施設で解析するということになり、簡単に施行できる検査ではないと言えます。どうしても起因微生物の同定が必要で、他の検査では全く同定できない場合は、限られているかもしれません。化膿性椎体炎の診断や治療で、有用であったというケースが報告されています³⁾。

この検査は、他の検査で微生物が検出できなかった本来無菌である検体における細菌の有無を調べるためのもので、治療効果を見るものではないことに注意が必要です。

遺伝子検査が臨床的に有効な場面とは、グラム染色で菌体が見られるが、培養陰性の場合に細菌名を知ることによって適正な抗菌薬の選択ができること、遺伝子検査で微生物名がわかれば、それに応じた培地を選択し、培養、感受性検査を行うことができること、また培養が難しい、あるいは時間がかかる抗酸菌や *Bartonella henselae* などでは、微生物名が早期にわかることで治療を開始できるなどがあります。

感染症診療においては起因微生物を推定、あるいは確定することが大切ですので、これらの検査はその一助となります。遺伝子検査は高額ですので、症例を選んで検査を行い、治療につなげることが必要と考えられます

- 1) 小栗豊子編:質量分析による細菌の同定 臨床微生物検査ハンドブック 第5版 三輪書店 2017
- 2) <https://kobe.eye.center.kcho.jp/medical/pcr.html>
- 3) 藤井元輝ほか: Broad-range PCR によって同定された *Veillonella parvula* による化膿性椎体炎の 1 例 日本臨床微生物学会雑誌 Vol. 33 No. 4290-295 2023