

研究成果報告書

1. 研究課題名：末梢血検体を用いたマルチプレックス・デジタル PCR による菌血症の迅速診断法開発
2. 研究代表者氏名：北川浩樹
3. 研究発表（論文、著書、学会発表等があれば記載してください）

論文：(* Corresponding author)

Kitagawa H*, Kojima M, Tadera K, Kogasaki S, Omori K, Nomura T, Shigemoto N, Hiyama E, Ohge H. Clinical diagnostic performance of droplet digital PCR for pathogen detection in patients with Escherichia coli bloodstream infection: a prospective observational study. BMC Infect Dis. 2025;25(1):22. doi: 10.1186/s12879-024-10396-y. PMID: 39757158

発表：

Kitagawa H, Kojima M, Tadera K, Kogasaki S, Omori K, Nomura T, Shigemoto N, Hiyama E, Ohge H. Clinical Diagnostic Performance of Droplet Digital PCR for Pathogen Detection in Patients with Escherichia coli Bloodstream Infections. ID week 2024(Poster). October 17, 2024. Los Angeles, Unites States.

Kitagawa H, Tadera K, Omori K, Nomura T, Shigemoto N, Ohge H. Clinical Diagnostic Performance of Droplet Digital PCR for Pathogen Detection in Patients with Staphylococcus aureus Bloodstream Infections. ESCMID 2025(Poster). April 13, 2025. Vienna, Austria.

北川浩樹, 田寺加代子, 大森慶太郎, 野村俊仁, 繁本憲文, 大毛宏喜. 抗生剤先行投与により起炎菌同定が困難な症例における末梢血を用いたデジタル PCR 検査の有用性. 第 99 回日本感染症学会総会・学術講演会(一般演題). 2025 年 5 月 9 日. 横浜.

4. 研究実績（必要であれば図を用いても構いません）

(1) 研究成果

研究① 大腸菌菌血症患者におけるデジタル PCR を用いた菌血症診断

【背景】近年、droplet digital PCR (ddPCR) を用いた感染症診断の報告が増加しており、末梢血を用いた菌血症診断への応用も試みられている。本研究では、血液培養検査で診断された *Escherichia coli* 菌血症患者において、ddPCR による同定検査の感度・特異度を検証するとともに、末梢血中の細菌 DNA 量と血液培養の陽性時間 (time-to-positivity, TTP) との関連を検討した。

【方法】2023 年 6 月から 2024 年 8 月に広島大学病院で血液培養により *E. coli* 菌血症と診断された成人患者を対象とした。血液培養と同時に採取した全血検体から DNA を抽出し、*E. coli* 特異的プライマー・プローブを用いた ddPCR により DNA 量を測定した。対照として、*E. coli* 以外の菌種が検出された症例 (n=25) および血液培養陰性例 (n=25) の全血検体も解析に含めた。血液培養結果および臨床学的特徴を解析した。

【結果】解析対象は 131 例であった。*E. coli* 菌血症患者 81 例中 67 例 (82.7%) で *E. coli* DNA が検出され、ddPCR の感度は 82.7%、特異度は 100%であった。ddPCR 陽性群は陰性群に比べ TTP が有意に短く (中央値 8.8 時間 vs. 10.7 時間, $p<0.001$)、2 セットとも血液培養陽性となる割合も高かった (89.6% vs. 35.1%, $p<0.001$)。また、ddPCR 陽性例のうち敗血症性ショックを呈した症例は、非敗血症性ショック例と比較して有意に腸管穿孔の頻度が高く、末梢血中 *E. coli* DNA 量が高値 (図 1) で、28 日死亡率が高く、TTP が短く、血液培養 4 本培養陽性率が高かった。全血中の *E. coli* DNA 量は TTP と有意な負の相関を示した ($p<0.001$, $R^2=0.38$)。

【結論】全血検体中の *E. coli* DNA 量は TTP と逆相関し、特に高値は敗血症性ショックと関連していた。末梢血を用いた ddPCR による *E. coli* 菌血症診断は、早期診断に有用であるだけでなく、DNA 量が重症度評価のバイオマーカーとなり得ることが示唆された。

本研究内容は IDweek 2024 で発表し、BMC Infectious Diseases 誌に掲載された (BMC Infect Dis. 2025;25(1):22. PMID: 39757158)。

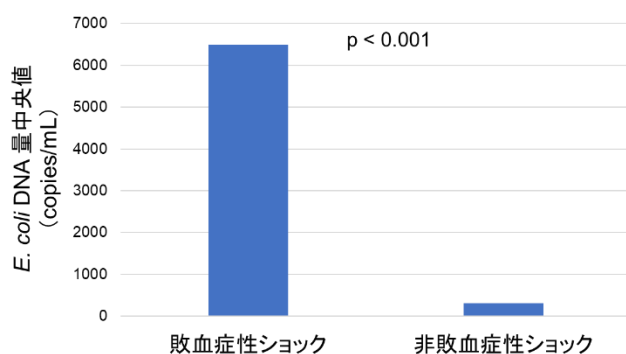


図1 末梢血中 *E. coli* DNA 量と敗血症性ショックの関係

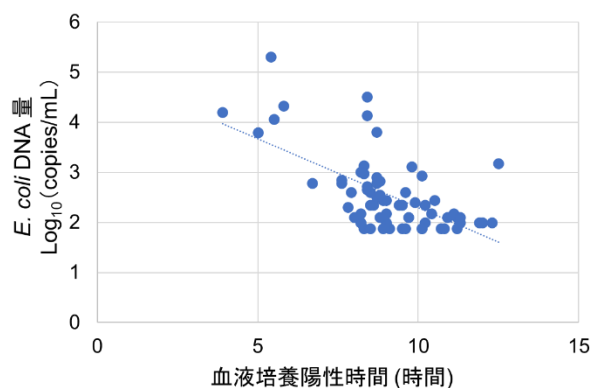


図2 末梢血中 *E. coli* DNA 量と血液培養陽性時間の関係

研究② 黄色ブドウ球菌菌血症患者におけるデジタル PCR を用いた菌血症診断

【背景】研究①において、*E. coli* 菌血症に対し、末梢血を用いた ddPCR による菌血症診断が可能であることを示した。本研究では、血液培養検査で診断された *Staphylococcus aureus* 菌血症患者を対象に、ddPCR による同定検査の感度および特異度を検証するとともに、薬剤耐性遺伝子である *mecA* 遺伝子の同時検出が可能かを評価した。さらに、末梢血中の細菌 DNA 量と血液培養の陽性時間 (time-to-positivity : TTP) および播種性病変を含む臨床的特徴との関連について検討した。

【方法】2023 年 8 月から 2025 年 8 月に広島大学病院で血液培養により *S. aureus* 菌血症と診断された成人患者を対象とした。血液培養と同時に採取した全血検体から DNA を抽出し、*nucA* 遺伝子を対象とした *S. aureus* 特異的プライマー・プローブおよび *mecA* 遺伝子を対象としたプライマー・プローブを用いた ddPCR により DNA 量を測定した。対照として、*S. aureus* 以外の菌種が検出された症例 (n=25) および血液培養陰性例 (n=25) の全血検体も解析に含めた。血液培養結果および臨床学的特徴を解析した。

【結果】解析対象は 118 例であった。*S. aureus* 菌血症患者 68 例中 58 例（85.3%）で *S. aureus* DNA が検出され、ddPCR の感度は 85.3%、特異度は 100%であった。ddPCR 陽性群は陰性群に比べ有意に TTP が短く（中央値 11.5 時間 vs. 15.0 時間, $p<0.001$ ）、血液培養持続陽性症例の割合が高く（41% vs. 0%, $p=0.011$ ）、2 セット 4 本血液培養陽性率が高かった（84% vs. 40%, $p=0.006$ ）。また、*S. aureus* DNA を検出した MRSA 菌血症患者は全例 *mecA* 遺伝子を標的とした ddPCR も陽性であった。全血中の *S. aureus* DNA 量は TTP と有意な負の相関を示した（ $p<0.001$, $R^2=0.42$ ）。

【結論】*S. aureus* 菌血症において、特に播種性病変を合併する症例や血液培養が持続陽性となる症例で、ddPCR の感度が良好であることが示された。さらに、ddPCR により *mecA* 遺伝子の同時検出が可能であることが確認され、適切な抗菌薬選択に寄与する可能性が示唆された。これらの結果から、末梢血を用いた ddPCR による *S. aureus* 菌血症の診断は、迅速な診断手法として有用であるのみならず、病態評価や治療方針の決定、特に播種性病変の有無の評価においても有用である可能性が示唆された。

本研究内容は ESCMID 2025 で発表し、論文投稿中である。

(2) 研究成果による今後の展望

デジタル PCR を用いた末梢血解析により、菌種および薬剤耐性遺伝子を標的とした菌血症の迅速診断が可能であることが示された。さらに、末梢血中の菌由来 DNA 量が患者の病態および重症度と有意に関連することが示唆された。今後、より多くの菌種および薬剤耐性遺伝子を標的とした多項目デジタル PCR プラットフォームを構築することで、起炎菌が不明な段階においても菌血症の早期診断が可能となる新たな診断法の確立が期待される。