

ポータブルシーケンサーを活用したCOVID-19における 共感染の検出と共感染が及ぼす臨床的意義

埼玉医科大学 感染症科・感染制御科
非常勤講師 今井 一男

(共同研究者)

埼玉医科大学 臨床検査医学	教授 前田 卓哉
埼玉医科大学大学院 医学研究科	修士課程 小野寺 梓
埼玉医科大学 感染症科・感染制御科	教授 前崎 繁文
埼玉医科大学 感染症科・感染制御科	准教授 樽本 憲人

はじめに

COVID-19の重症化因子及び機序を解明することは、新規治療薬の開発、ハイリスク患者の層別化に有用であり、その全容の解明が急がれる。これまで、主に国外においてCOVID-19におけるその他細菌・ウイルスとの共感染例が報告されている⁽¹⁾。一方、国内における成人COVID-19患者の共感染率は未だ明らかでなく、その臨床的意義についても報告されていない。インフルエンザとSARS-CoV-2の共感染が重症化に関与するとの報告もあり⁽²⁾、その他呼吸器ウイルス共感染が重症化因子となる可能性も示唆されている。本研究では、従来のMultiplex PCRや、新規技術であるナノポア型ポータブルシーケンサーを活用することで、共感染がCOVID-19の病態に及ぼす臨床的意義を解明することを目的とし、実施した。

結 果

COVID-19と診断され、埼玉医科大学病院に入院した患者を対象とし、予備的検討を行った。2020年3月から10月までの間、同病院に149人が入院した。そのうち、入院時の鼻腔スワブ検体が-80℃で保存されており、入院中にICU入室、人工呼吸器管理、または死亡した重症COVID-19患者42名を抽出し、呼吸器ウイルス・細菌・真菌の共感染について検討を行った。

本研究で抽出した患者42名の年齢中央値は67歳(IQR; 56-81歳)であり、29名(69.0%)は男性であった。症状発症から入院時初回PCR検体採取までの期間の中央値は7日(IQR, 2-9日)であった。入院時の重症度は無症候性:2名(4.8%)、軽症:5名(11.9%)、中等症:15名(35.7%)、重症:20名(47.6%)であった。最終的に、入院間にICU入室・人工呼吸器管理が必要となり、生存した患者は27名(64.3%)であり、死亡した患者は15名(35.7%)であった。

入院時の呼吸器ウイルス共感染の診断のために、15種の代表的呼吸器ウイルスを標的とした特異的Multiplex PCRを用いて、入院時における共感染の診断を行った。入院時に採取した鼻腔スワブから、QIAamp Viral RNA Mini kit (Qiagen)を用いてRNAを抽出した。使用した呼吸器ウイルス特異的multiplex PCRについての詳細及び結果を、下記に示す(表2)。研究で抽出した患者42名全てにおいて、入院時に採取した鼻腔スワブから呼吸器ウイルスRNAは検出されず、呼吸器ウイルスの共感染は認めなかった。

表1 Multiplex PCRによる呼吸器ウイルス共感染の検出法とその結果

呼吸器ウイルス	検出方法	共感染 検出数
Human respiratory syncytial virus (subtype A and B)	Cycleave PCR respiratory viruses Ver 3 Kit (TaKaRa Bio)	0/42
Human parainfluenza virus 1, 2 and 3		0/42
Influenza A virus		0/42
Influenza B virus		0/42
Human adenovirus		0/42
Human bocavirus		0/42
Human rhinovirus		0/42
Human metapneumovirus		0/42
Human coronavirus HKU1	Reported by Cui LJ, et al. ⁽³⁾	0/42
Human coronavirus NL63		0/42
Human coronavirus OC43	Reported by Hammitt LL, et al. ⁽⁴⁾	0/42
Human coronavirus 229E		0/42

表2 細菌及び真菌による共感染の詳細

共感染診断名	共感染検出数	検出微生物
人工呼吸器関連肺炎	1/42 (2.4%)	<i>K. pneumoniae</i>
誤嚥性肺炎	4/42 (9.5%)	-
二次性細菌性肺炎	3/42 (7.1%)	<i>P. aeruginosa</i>
肺アスペルギルス症	2/42 (4.8%)	<i>A. fumigatus</i>
敗血症	6/42 (14.3%)	<i>A. baumannii</i> complex <i>K. pneumoniae</i> , <i>S. anginosus</i> <i>P. aeruginosa</i>
カテーテル関連感染症	4/42 (9.5%)	<i>S. caprae</i> , <i>S. anginosus</i> <i>S. epidermidis</i> , <i>S. haemolyticus</i>
尿路感染症	3/42 (7.1%)	<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>K. variicola</i>

次に、入院中における細菌及び真菌の共感染の有無について検討した。研究で抽出した患者42名について、感染症科医による医療記録及び微生物学検査結果のカルテレビューを行い、共感染の診断を行った。患者42名中、17名(40.5%)に細菌又は真菌の共感染を認めた。また、3名(7.1%)に2種の異なる微生物の共感染を認め、2名(4.8%)に3種の微生物の共感染例を認めた。入院中に診断された共感染の感染症診断名、患者数、検出微生物の結果を前頁に示す(表2)。最多の感染症は、敗血症であった(14.3%)。肺アスペルギルス症は、2名(4.8%)に認めた。

考 察

本研究では、抽出した重症COVID-19患者42名のうち、入院時鼻腔スワブ検体から呼吸器ウイルスRNAは検出されなかった。国外では、最大6.9%のCOVID-19患者について、呼吸器ウイルスの共感染を認めたという報告がある⁽¹⁾。しかしながら、上記の報告は国外においてマスク着用が推奨される以前の結果である。国内では、COVID-19が国内に流入した2020年以降、早期より手指衛生消毒・洗浄、マスクの着用、社会的及び身体的距離の確保が推奨されている。その結果、国外における報告と比較し、国内COVID-19患者における呼吸器ウイルスの共感染例が極めて少なくなったことが予想された。また、本予備的検証では呼吸器ウイルス共感染の診断のために、まずMultiplex PCRを用いて、代表的な15種類の呼吸器ウイルスRNAの検出を試みた。抽出した患者の中に、本研究で使用したMultiplex PCRで検出不可能なウイルスが含まれている可能性は否定できない。今後、更なる検証のために、解析検体数を増やすとともに、ナノポア型ポータブルシーケンサーによる網羅的ウイルスRNA検出法を用いて、追加検証を行っていく予定である。

入院中における細菌・真菌の共感染は、過去の国外における報告と同様、重症COVID-19患者の40.5%と高い頻度で認めた⁽⁵⁾。また、その多くは、致死的な感染症である敗血症や、肺アスペルギルス症であった。重症COVID-19患者は人工呼吸器管理を含めた長期間の集中治療が実施され、かつステロイドを含めた各種免疫抑制薬が多用されることから、細菌・真菌による入院中共感染リスクが増加するものと考えられる。今後軽症者についても、入院中の細菌・真菌の共感染に関する追加解析を実施し、比較検討を行っていく予定である。

要 約

重症COVID-19患者42名を抽出し、入院時における呼吸器ウイルスの共感染及び、入院中の細菌・真菌の共感染の発生頻度について、予備的検証を行った。15種類の呼吸器ウイルスを標的としたMultiplex PCRでは、入院時に患者より採取された鼻腔スワブにおいて、呼吸器ウイルスRNAの検出は認めず、呼吸器ウイルスの共感染は検出できなかった。一方で、入院中における細菌・真菌の共感染は患者の40.5%に認め、その多くは致死的な敗血症・

肺アスペルギルス症であった。今後、COVID-19重症化と共感染について、更なる研究が必要である。

文 献

1. Kim D, et al、Rates of Co-infection Between SARS-CoV-2 and Other Respiratory Pathogens、JAMA、323 : 2085 – 2086、(2020)
2. Stowe J, et al、Interactions between SARS-CoV-2 and influenza, and the impact of coinfection on disease severity: a test-negative design、Int J Epidemiol、50 : 1124 – 1133、(2021)
3. Cui LJ, et al、Human coronaviruses HCoV-NL63 and HCoV-HKU1 in hospitalized children with acute respiratory infections in Beijing, China、Adv Virol、2011 : 129134、(2011)
4. Hammitt LL, et al、Added value of an oropharyngeal swab in detection of viruses in children hospitalized with lower respiratory tract infection、J Clin Microbiol、49 : 2318 – 2320、(2011)
5. Langford BJ, et al、Bacterial co-infection and secondary infection in patients with COVID-19: a living rapid review and meta-analysis、Clin Microbiol Infect、26 : 1622 – 1629、(2020)