

遺伝子検査の導入による新しい感染症診療

柳原 克紀・森永 芳智・岩永 祐季・山川 壽美・岡田 侑也
木村由美子・赤松 紀彦・賀来 敬仁・宇野 直輝・小佐井康介

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科展開医療科学病態解析・診断学*
長崎大学病院検査部*

受付日：2018年4月13日 受理日：2018年6月11日

感染症診療における微生物検査に、遺伝子検査の導入が進んでいる。これまで行われてきた研究レベルの解析で課題であった標準化・簡素化の課題が整理され、臨床検査として業務に取り入れやすくなった。遺伝子検査は高い特異性と優れた検出感度をもたらすだけでなく、培養を基本とする検査が苦手としていたウイルス、寄生虫、細菌関連毒素など検出対象を拡げることにもつながる。過剰診断の可能性やコスト面での課題はこれから理解を深めるべき点であるものの、早期により正確に診断できるため、感染症治療効果や抗菌薬の適正使用への貢献が期待される。従来からの検査と遺伝子検査を用いた新しい感染症診療を築く時代となった。

Key words: polymerase chain reaction, multiple-target nucleic acid test, molecular diagnosis

はじめに

先人たちが発展させてきた培養手法は、新しい微生物の発見と、その微生物と感染症との関係を明らかにしてきた。そして培養を軸とする検査は、現代の確固たる微生物検査の基礎を構築し、その情報を利用する現代の感染症診療の流れを確立させた。一方で、微生物検査は培養検査と抗原検査が中心で、新しい手法による技術的發展が乏しい状況が続いていた。

Polymerase chain reaction (PCR) 法が研究利用され始めたころから、遺伝子検査は臨床活用が期待できる有用な手法として注目されていた。近年になって遺伝子検査を臨床利用できる環境が整いつつあり、従来法での課題でもあった検出対象微生物の拡大や、検出面での質の向上が期待されている。新規の検査手法の登場で、われわれがまだ見ぬ領域を切り開くことができ、微生物や感染症について見識を深めつつ新しい時代の感染症診療を考えていく時

期にきている。

1. 微生物遺伝子検査の検出面での特徴

遺伝子検出を研究室レベルから臨床レベルに引き上げて活用するには、良好な感度・特異度と再現性が求められる。ところが、核酸の増幅効率はチューブ、ポリメラーゼなどの酵素、バッファー、核酸増幅装置などにより影響を受け、鋭敏な検出系であるがゆえにこれらの影響が強く出やすい。また、臨床でニーズが高い検体からの直接検出については、検体に含まれる代謝産物、破壊された細胞成分、宿主由来の核酸などの混入物や、pHや粘性などの性状にもかかわらず、標的遺伝子のロスを抑えた純度の高い核酸精製が求められる。これらはPCR反応の阻害因子であるため、検査の本質を確保するうえで担保されなくてはならない。さらに、臨床レベルでは、多検体に対応するための簡便性も実務面で求められる。近年、遺伝子検査の臨床利用が進む背景には、この標準化と簡便化の課題が整理されたことが大きい。標準化の側面としては、チューブ、試薬、

*長崎市坂本 1-7-1

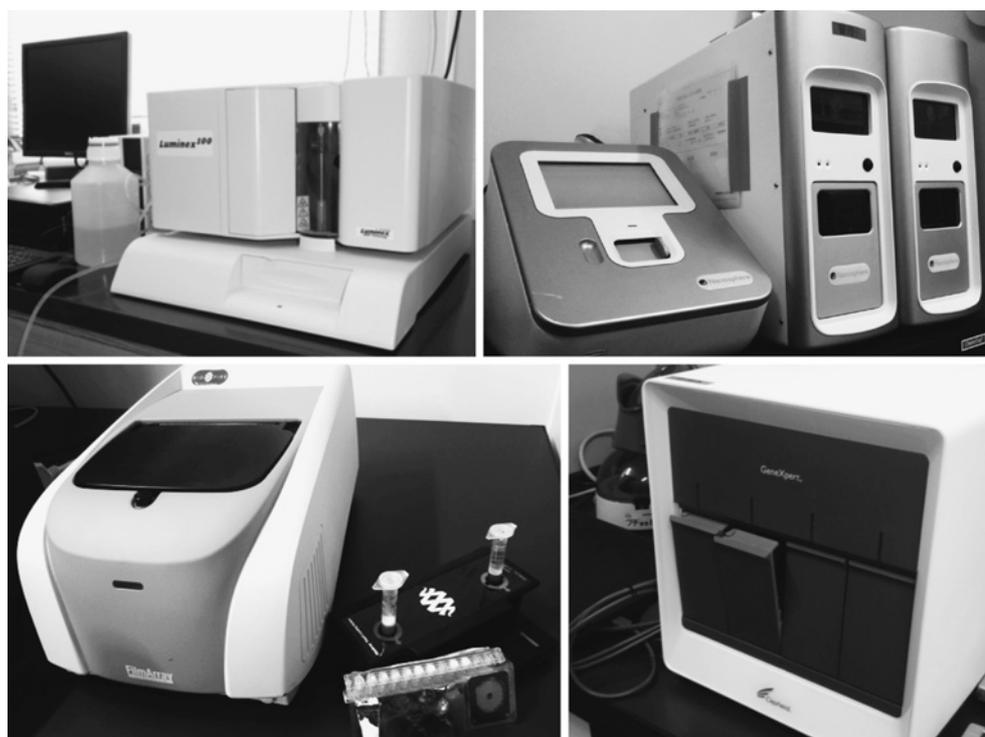


Fig. 1. Equipment for nucleic acid tests for detection of microorganisms Luminex® 100 system (upper panel, left), Verigene® system (upper panel, right), FilmArray® system (lower panel, left), GeneXpert® system (lower panel, right).

機器を専用とすることで解決し、簡便化については面倒で操作手技のばらつきが出やすいプロセスを機器に自動で行わせることにより解決した (Fig. 1)。このような条件をクリアした検出機器が登場し始めたことで、臨床的な有用性と遺伝子検査の意義が認知されるようになってきた。

従来から行われてきた塗抹、培養、同定、薬剤感受性検査の一連の流れは、長らく感染症診療を支えてきた。一般細菌であれば概ね1日程度で培地上に発育し、発育してきた菌株を純培養するのに1日、同定検査・薬剤感受性検査に1日かかるため、結果を得るためには最短でも3日程度の時間が必要となる (Fig. 2)。培養検査は細菌が生物であることをうまく利用した検査であるが、増殖を待たなくてはならず、急性期の治療方針が経過を左右する感染症診療では、より早期の情報入手が常に求められる。遺伝子検査は、微生物の増殖に依存しない検出系であるため、解析を始めてから結果を得るまで何日も待つ必要性がなくなった。微生物遺伝子検査が活躍するタイミングは、検体採取直後、血流感染では血液培養陽性判明後と、検出対象によっては従来より

2~3日も早い情報入手が可能となっている (Fig. 2)。

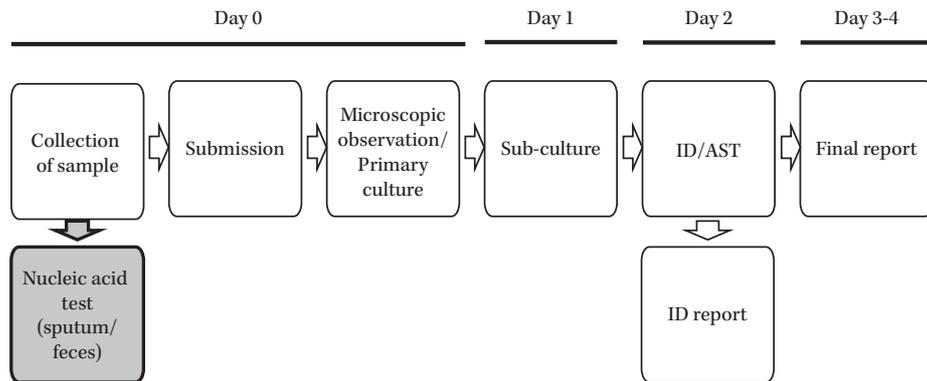
微生物遺伝子検査の特徴は、優れた検出感度と柔軟な検出デザインにある。抗原検査で陰性であっても遺伝子検査では確認できることがしばしばあり、より少量の微生物であっても検出できる。また、核酸を検出対象とすることは、細菌、ウイルス、寄生虫など生物種を超えた検出を可能とすることでもある (Fig. 3)。特に、腸管、呼吸器、血流感染症では、このような長所を活かした遺伝子検査が開発されている。海外での臨床活用が進んでいるが、国内でも臨床検討がなされて血流感染症で保険適用となるなど、今後も臨床へ普及が進むものと予想される。

II. 遺伝子検査と臓器別感染症

1. 腸管感染症領域

細菌、ウイルス、寄生虫、真菌など原因微生物が多岐にわたる腸管感染症では¹⁾、培養検査もしくはイムノクロマト法を原理とする抗原検査が一般的に行われる。しかしながら腸管感染症では検出面での課題が多く、細菌性腸炎を対象として行う培養検査では、菌が検出されるまで数日かかることや選択培地を使わないと培養が難しい菌もある。そのため、

[Routine workflow except for blood culture]



[Routine workflow for blood culture]

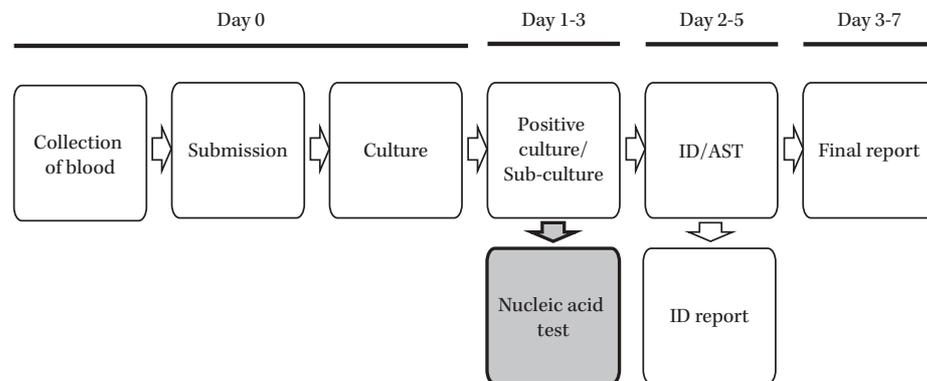


Fig. 2. Application of nucleic acid tests in a clinical microbiology laboratory
ID, identification; AST, antimicrobial susceptibility testing

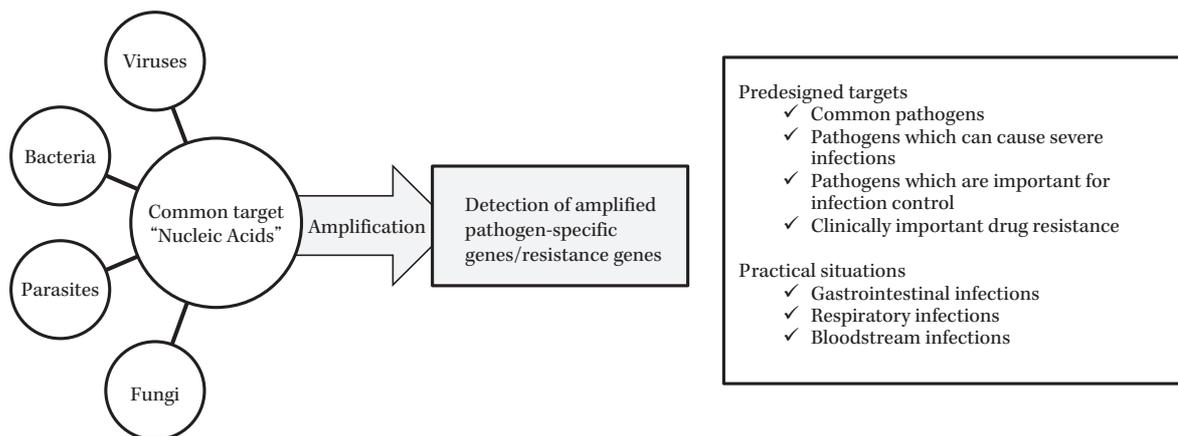


Fig. 3. A concept of the selection of targets and practical situations in multiple-target nucleic acid tests

細菌検査室と緊密にコミュニケーションを取らないと検出にいたらない場合がありうる。寄生虫については、一般的な施設では検鏡以外の免疫学的な項目(抗体検査)を行うことができないことがほとんどである。さらに、細菌やウイルスを対象とした抗原

検査は簡便かつ迅速に検査ができるが、感度・特異度が低いことが問題となっているだけでなく、抗原検査では基本的に1つの微生物しか検出できない。そのため、微生物検査で陽性所見が得られなかった場合には、適切な検査依頼ができていなかったため

Table 1. Nucleic acid tests for *Clostridioides difficile*

Platform	Target genes	Automatic extraction of DNA	Assay time, min	Sensitivity, % (confidence interval)	Specificity, % (confidence interval)
Xpert® <i>C. difficile</i>	<i>tcdB</i>	○	35-45	100 (82.1-100)	98.8 (95.3-99.9)
Verigene® CDF	<i>tcdB, tcdA, tcdC</i> mutation, binary toxin	○	110-120	95.2 (74.1-99.8)	99.4 (96.2-100)
BD MAX™ Cdiff	<i>tcdB</i>	○	-120	87.0 (65.3-96.6)	98.8 (95.3-99.8)
Simplexa™	<i>tcdB</i>	×	-60	87.0 (65.3-96.6)	100 (97.2-100)

なのか、あるいは依頼項目が妥当であっても検出できなかったのか判断が難しいという状況が起こりうる。

遺伝子検査を利用することで、このような診断上の課題が減少するものと期待されており、操作が簡素化され、標準化された解析システムの開発が進んでいる。クロストリジウム・ディフィシルの検出では、すでに海外では推奨検査として導入されており、抗原検査と遺伝子検査を組み合わせた診断アルゴリズムがガイドライン上で公表されている^{1,2)}。キット化された製品に検体を直接入れ、自動化された抽出・精製、ならびに解析を行う機器が利用されている。抗原検査と比較して感度・特異度に優れ、トキシンBの遺伝子だけでなく、海外に多い強毒株でしばしば認められるバイナリートキシン遺伝子を併せて検出することができるものもある (Table 1)^{3,4)}。わが国でも抗原検査と遺伝子検査を組み合わせたフローチャートが臨床微生物学会より公表されており⁵⁾、下痢の症状 (Bristol Scoreで5~7) があり、抗原検査でGDH (glutamate dehydrogenase) 抗原が陽性かつトキシン抗原が陰性の場合には、トキシン抗原検査の低い感度を補う目的で遺伝子検査を行う位置づけとなっており、このアルゴリズムを用いることにより、クロストリジウム・ディフィシルの検出率向上が期待されている。

遺伝子学的手法の特性である優れた検出感度と特異性、検出デザインの柔軟性は、同時に多項目の微生物を検出することを可能とした。また、志賀毒素などの細菌が産生する毒素も検出対象とすることで、より臨床のニーズに沿った検出がデザインされている (Table 2)。このような遺伝子検査に該当する FilmArray®, Verigene®, Luminex®の各システムでは、抽出・増幅・解析まで自動で行う全自動遺伝子検査装置、あるいは抽出・増幅を行った後に解析専用装置を用いて増幅された遺伝子を選択的に検出す

Table 2. Summary of multiple-target nucleic tests for gastrointestinal infections

	FilmArray®	Verigene®	Luminex®
Bacteria/toxins			
<i>Campylobacter</i>	○	○	○
<i>Salmonella</i>	○	○	○
<i>Shigella</i>	○	○	○
Shiga toxin	○	○	○
<i>Vibrio</i>	○	○	○
<i>Yersinia</i>	○	○	○
Viruses			
Norovirus	○	○	○
Rotavirus	○	○	○
Adenovirus	○	×	○
Astrovirus	○	×	×
Parasites			
<i>Cryptosporidium</i>	○	×	○
<i>Entamoeba</i>	○	×	○

る。FilmArray® GI パネルでは、細菌と毒素を含めて13種類、ウイルス5種類、寄生虫 (原虫) 4種類の計22種類、Verigene® EP パネルでは、細菌と毒素を含めて7種類、ウイルス2種類の計9種類、Luminex® xTAG™ GPP RUO 胃腸病病原体検出キットでは、細菌と毒素の検出を含めて9種類、ウイルスが3種類、寄生虫 (原虫) が3種類の計15種類の検出が同時にできる^{6,7)}。われわれの検討では、従来法では約5%の症例でしか原因微生物を検出できなかったが、Luminex®システムでの検出症例は約22%で検出できた。日常診療で見過ごされている微生物が少なからずあり、腸管感染症の診断精度の向上が期待される。

2. 呼吸器感染症領域

呼吸器感染症の原因微生物もまた、一般細菌、非定型病原体、抗酸菌、真菌、ウイルスなど多岐にわたり、その特定は治療方針に影響する。しかしながら、実際にはウイルスを効率的に検出する手段がなく、抗菌薬を使うべき症例の選択が難しい。また、一部のウイルスに利用できるイムノクロマト法は、

簡便であるものの検出感度が低いことが課題で偽陰性の症例が少なくない。従来からの微生物検査では、2~3日の過程で細菌を拾い上げ、菌種の同定や薬剤感受性を行うが、呼吸器系感染症では培養に時間を要するものが多く、レジオネラや放線菌では3日~1週間、抗酸菌では数週間~1カ月程度を要する。呼吸器感染症では、従来法では困難な微生物の検出や、特殊な条件でのみ発育する微生物の拾い上げ、検出までの時間の短縮化が解決すべき点である。

このような多様な微生物の検出に対応するために、多種類の呼吸器感染症微生物を同時に検出する方法が確立されている。FilmArray[®]システムは呼吸器感染症で頻度が高いウイルスと、肺炎クラミジア、培養が難しい百日咳菌とマイコプラズマも検出対象としており、用手法で調整したサンプルを、専用の反応・検出機器にセットすることで約1時間後には結果を入手できる⁸⁾。それぞれの特異的遺伝子は、機器内で nested multiplex polymerase chain reaction (nmPCR) 法により増幅され、各増幅産物が描く融解曲線のパターンが異なることから、微生物を特定する。われわれが1~4月の期間に呼吸器症状を呈した患者の呼吸器由来検体を用いて本システムで調査したところ、50例中22例では対象に含まれる微生物は検出されなかったものの、検出された28例の中ではインフルエンザウイルスが14例と最も多く、次いでRSウイルスとライノウイルスが6例、コロナウイルスとヒトメタニューモウイルスが2例検出された。本調査はインフルエンザ流行期に重なっていたにもかかわらず、原因微生物が多様であることが示された。日常診療ではインフルエンザウイルス抗原検査が陰性の症例に抗菌薬処方を検討することがしばしばあるが、その他のウイルスも少なからず検出されることは、抗菌薬の適応をより適正に判断できる余地があるともいえる。また、仮に抗菌薬を処方したとしても、ウイルス検出後にただちに中止するという判断も可能で、抗菌薬使用期間の短縮効果も確認されている⁹⁾。

結核菌群と *Mycobacterium avium*, *M. intracellulare* の鑑別に利用されるように、抗酸菌の検出は微生物検査に導入された遺伝子検査の中で最も古いものの一つである。検出試薬、機器の性能向上に伴い、安定かつ迅速な検出が可能となり、依頼検体数が多い施設などでは日常検査に導入しやすくなった。

また、結核菌のリファンピシン耐性にかかわる遺伝子検出の自動化も進み、GeneXpert[®]システムでは抗酸菌の解析で面倒な前処理を解析機器内で行うため、曝露の危険性を低くしながら、直接喀痰から結核菌の同定とリファンピシン耐性遺伝子を同時に検出することが可能である。反応時間は約2時間であるため、速やかな治療開始に貢献することができる¹⁰⁾。

3. 血流感染症領域

生命にかかわる血流感染症では、迅速かつ適切な診断が求められる¹¹⁾。しかし、診断に不可欠な血液培養検査は血液培養が陽性になるまで1~数日かかり、微生物同定および薬剤感受性試験にはさらに約2~3日を要する。より水準の高い診断を行うためにも、遺伝子検査の血流感染症の診断への導入は、診療方針を大きく変えることができる有効な手段として注目されている¹²⁾。

現在、保険診療として活用できる Verigene[®] Blood Culture Test は、血液培養が陽性となった検体を対象に遺伝子を検出する¹³⁾。金ナノ粒子を利用したマイクロアレイを原理としており、陽性ボトル内のグラム染色所見に応じてグラム陽性菌用、グラム陰性菌用の2種類の検出キットを使い分ける。これらのキットは血流感染症の主要な原因菌だけでなく薬剤耐性にかかわる遺伝子を検出でき、グラム陽性菌ではメチシリン耐性遺伝子、バンコマイシン耐性遺伝子、グラム陰性菌ではカルバペネム耐性遺伝子や基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼの遺伝子などの検出が可能である (Table 3)。Verigene[®] システムと従来法の結果の相関も良好で、その一致率はグラム陽性菌で94.6%¹⁴⁾、グラム陰性菌で98.5%¹⁵⁾ とともに高い。従来法と比較して同定時間を約2日短縮できることから培養陽性当日に結果を得ることも可能であり、より早期の適切な抗菌薬選択¹⁶⁾を支援し、敗血症診療に寄与する検査法として期待される。

注意すべきこととしては、本システムではグラム陽性菌と陰性菌で異なる検出パネルに分けて解析を進めるため、グラム陽性菌、陰性菌の両方が存在しないか細心の注意が求められる。また、血液培養ボトル中に複数菌種が存在する場合には、菌の発育にばらつきがあることもあり、発育が遅い菌が検出できない可能性もある。わずかながら血液培養の結果と不一致も認められることから、その真偽やコンタ

Table 3. Example of a multiple-target nucleic test for bloodstream infections (Verigene[®] system)

Gram-positive panel		Gram-negative panel	
Bacteria	Drug resistance	Bacteria	Drug resistance
<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>mecA</i>	<i>Escherichia coli</i>	CTX-M
<i>S. aureus</i>	<i>vanA, vanB</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP
<i>S. epidermidis</i>		<i>K. oxytoca</i>	VIM
<i>S. lugdunensis</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NDM
<i>Streptococcus</i> spp.		<i>Serratia marcescens</i>	KPC
<i>S. pneumoniae</i>		<i>Enterobacter</i> spp.	OXA
<i>S. pyogenes</i>		<i>Acinetobacter</i> spp.	
<i>S. agalactiae</i>		<i>Citrobacter</i> spp.	
<i>S. anginosus</i> group		<i>Proteus</i> spp.	
<i>Enterococcus faecalis</i>			
<i>Enterococcus faecium</i>			
<i>Listeria</i> spp.			

ミネーションの可能性など、適切な解釈も求められる。

血液培養ボトルから微生物を同定する方法としては、FilmArray[®]のようにマルチプレックス PCR 法を原理としているものもある。このパネルはグラム染色で使い分ける Verigene[®]とは異なり、1つのパネルで 24 種類の微生物と 3 種類の耐性遺伝子を同時に検出する。また、細菌のみではなく *Candida* 属など真菌も検出対象としている。マルチプレックス PCR 法を原理とするものは他にも ePlex[®]や GeneXpert[®]の Xpert[®] MRSA/SA BC カートリッジなどが開発されている。

採取した血液から直接微生物を検出することが可能であれば、最も迅速性に優れた手法となる。この血液からの直接検出についても、標的微生物あるいは真菌に特異的なプローブを設計し、マルチプレックスリアルタイム PCR で検出する手法が開発されているが¹⁷⁻²⁰⁾、培養検査との乖離の課題が残っている。このように、血液から直接微生物を検出する技術については依然として開発途上であり、確立にはいたっていない。

III. 遺伝子検査導入による感染症診療全体像

臨床では、微生物検査の結果が報告されるまでの間、患者の臨床症状や血液検査・画像所見、疫学情報を考慮したエンピリック治療が行われる。エンピリック治療では一定の割合で不適切な治療が行われるため、迅速化をもたらす遺伝子検査の導入によって個別症例の診断・治療の質が向上する。また、その効果は個別の診療方針にとどまらず、全体的な抗

菌薬適正使用、総医療費などにも影響が及ぶことが考えられる (Table 4)。

個々の症例では、原因微生物の特定が早まることでより早期に適切な治療に移行することができるだけでなく、血液培養でのコンタミネーションの判断も迅速になり、不必要な抗菌薬の中止に貢献する²¹⁾。実際の活用では、検出可能な薬剤耐性遺伝子が限定的であることも配慮し、後に判明する薬剤感受性成績と照合する必要もあるが、有効でない抗菌薬から切り替える機会を早める効果がある。また、前述のような病原微生物が多様な感染症では、診断漏れを飛躍的に少なくすることが期待される。短時間で遺伝子検査の結果が判明するため、結果を基に選択的に培養を追加するという工夫も可能であり、薬剤感受性成績や公衆衛生上の活用範囲を広げることができる。同時多項目検査は診断プロセスにおける先入観を減らし、ある微生物のアウトブレイクが起きている間でも、他の微生物を拾い上げられる可能性がある²²⁾。遺伝子検査を導入した施設では、抗菌薬投与期間や入院期間の短縮化²³⁾や、感染対策への介入につながる効果も確認されており^{24, 25)}、Antimicrobial Stewardship を促進する効果が期待される。

一方、課題としては 1 件当たりの費用が高額となるため、その医療経済的な影響は十分に評価される必要がある。しかしながら、遺伝子検査では診療の質が向上するため、付随して投薬費用の削減、治療・入院費用の削減、病床回転率の改善、検査費用の削減、薬剤耐性菌に対する院内感染対策費用の軽減、そして関連する人件費の削減などに向かう可能性が

Table 4. The impacts of nucleic acid tests on medical care

Situations	Personal	Antimicrobial stewardship	Others
Possible advantages	Possibility of rapid and appropriate treatment	Reduction of antibiotic use	Reduction of the total medical costs
	Improved likelihood of accurate diagnosis	Cancellation of inappropriate antibiotics	
	Improved likelihood of successful treatment	Improvement of infection control and public health	
	Shortening of the length of hospital stay		

あり、総医療費としては削減の方向に向かう報告がある²⁶⁾。わが国の医療システムでも、ある程度の類似した効果は期待できるが、今後の知見の蓄積が待たれる。また、遺伝子検査では、検出される微生物の臨床的意義を考える機会も出てくる。検出された微生物が感染症の発症にかかわっているのか、定着を反映しているのかなどの判断や、あるいは複数病原体が検出された場合の意義も議論される必要がある。これらは、鋭敏な遺伝子検査が過剰診断につながっていないかという視点で重要となる²⁷⁾。このように、遺伝子検査を行うことで初めて認識させられる新しい感染症の捉え方が登場し、解決していく必要性も出てきた。

IV. これからの新しい感染症診療

これからの感染症診療における遺伝子検査はさらに発展していき、必要不可欠な検査となると予想される。高度化した医療で感染症のリスクがある患者が増えていること、薬剤耐性微生物の脅威が世界的にも問題視されていることから、遺伝子検査がもたらすメリットが大きい。現在、遺伝子検査が抱えている課題が少しずつ解決されることで、微生物検査の中での位置づけが明確化していくであろう。しかしながら、従来からの培養を軸にした検査や抗原検査に置き換わるものでもない。遺伝子検査で検出できる微生物は限られており、塗抹検査や培養、同定検査でのみ検出できる微生物も非常に多い。また、薬剤感受性動向などの疫学的側面でも、菌株として保管できる培養検査に依存している。抗原検査も特異度が高まったものも多くあり、その安価で迅速かつ良好な携帯性は、多様な場面での感染症診療を支援しているのも事実である。

新しい診断は、新しい概念をもたらし、新しい治療・感染対策・耐性微生物対策を推し進める原動力となる。新しい診断技術と従来法を融合させることで、柔軟かつ重厚な検査体制が整いつつある。遺伝子検査を十分に活用して、新しい感染症診療を考え

ていく時期にある。

利益相反自己申告：柳原克紀は、ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社、株式会社日立ハイテクノロジーズ、日本ベクトン・ディッキンソン株式会社から奨学寄付金を受けている。

文献

- 1) Crobach M J, Dekkers O M, Wilcox M H, Kuijper E J: European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): data review and recommendations for diagnosing *Clostridium difficile* infection (CDI). Clin Microbiol Infect 2009; 15: 1053-66
- 2) Crobach M J, Planche T, Eckert C, Barbut F, Terveer E M, Dekkers O M, et al: European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection. Clin Microbiol Infect 2016; 22 (Suppl 4): S63-81
- 3) Morinaga Y, Akamatsu N, Matsuda J, Tateno H, Tomaru T, Tanaka A, et al: Diagnostic utilities of a fully automated molecular test for toxigenic *Clostridium difficile*. J Infect Chemother 2018; 24: 88-91
- 4) Kosai K, Iwanaga Y, Akamatsu N, Okada Y, Kaku N, Uno N, et al: Performance evaluation of the Verigene[®] *Clostridium difficile* nucleic acid test, an automated multiplex molecular testing system for detection of *C. difficile* toxin. J Infect Chemother 2017; 23: 674-7
- 5) 賀来満夫, 三嶋廣繁, 柳原克紀, 石井良和, 大楠清文, 大塚喜人, 他: *Clostridium difficile* 毒素遺伝子検査を踏まえた検査アルゴリズム。日臨微生物誌 2017; 27: 222-6
- 6) Buss S N, Leber A, Chapin K, Fey P D, Bankowski M J, Jones M K, et al: Multicenter evaluation of the BioFire FilmArray gastrointestinal panel for etiologic diagnosis of infectious gastroenteritis. J Clin Microbiol 2015; 53: 915-25
- 7) Huang R S, Johnson C L, Pritchard L, Hepler R, Ton T T, Dunn J J: Performance of the Verigene[®] enteric pathogens test, Biofire FilmArray[™] gastrointestinal panel and Luminex xTAG[®] gastrointestinal pathogen panel for detection of common enteric pathogens. Diagn Microbiol Infect Dis 2016; 86: 336-9
- 8) Babady N E: The FilmArray[®] respiratory panel: an automated, broadly multiplexed mo-

- lecular test for the rapid and accurate detection of respiratory pathogens. *Expert Rev Mol Diagn* 2013; 13: 779-88
- 9) Keske Ş, Ergönül Ö, Tutucu F, Karaaslan D, Palaoglu E, Can F: The rapid diagnosis of viral respiratory tract infections and its impact on antimicrobial stewardship programs. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2018; 37: 779-83
 - 10) Helb D, Jones M, Story E, Boehme C, Wallace E, Ho K, et al: Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampin resistance by use of on-demand, near-patient technology. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 229-37
 - 11) Oda S, Aibiki M, Ikeda T, Imaizumi H, Endo S, Ochiai R, et al: The Japanese Guidelines for the Management of Sepsis. *J Intensive Care* 2014; 2: 55
 - 12) Dellinger R P, Levy M M, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal S M, et al: Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit Care Med* 2013; 41: 580-637
 - 13) 新しい敗血症診断用検査薬を用いた多項目遺伝子関連検査の実施指針 [press release]。2017
 - 14) Wojewoda C M, Sercia L, Navas M, Tuohy M, Wilson D, Hall G S, et al: Evaluation of the Verigene Gram-positive blood culture nucleic acid test for rapid detection of bacteria and resistance determinants. *J Clin Microbiol* 2013; 51: 2072-6
 - 15) Uno N, Suzuki H, Yamakawa H, Yamada M, Yaguchi Y, Notake S, et al: Multicenter evaluation of the Verigene Gram-negative blood culture nucleic acid test for rapid detection of bacteria and resistance determinants in positive blood cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2015; 83: 344-8
 - 16) Suzuki H, Hitomi S, Yaguchi Y, Tamai K, Ueda A, Kamata K, et al: Prospective intervention study with a microarray-based, multiplexed, automated molecular diagnosis instrument (Verigene system) for the rapid diagnosis of bloodstream infections, and its impact on the clinical outcomes. *J Infect Chemother* 2015; 21: 849-56
 - 17) Dark P, Blackwood B, Gates S, McAuley D, Perkins G D, McMullan R, et al: Accuracy of LightCycler® SeptiFast for the detection and identification of pathogens in the blood of patients with suspected sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med* 2015; 41: 21-33
 - 18) Warhurst G, Maddi S, Dunn G, Ghrew M, Chadwick P, Alexander P, et al: Diagnostic accuracy of SeptiFast multi-pathogen real-time PCR in the setting of suspected healthcare-associated bloodstream infection. *Intensive Care Med* 2015; 41: 86-93
 - 19) Denina M, Scolfaro C, Colombo S, Calitri C, Garazzino S, Barbui Anna A, et al: Magicplex™ Sepsis Real-Time test to improve bloodstream infection diagnostics in children. *Eur J Pediatr* 2016; 175: 1107-11
 - 20) Yanagihara K, Kitagawa Y, Tomonaga M, Tsukasaki K, Kohno S, Seki M, et al: Evaluation of pathogen detection from clinical samples by real-time polymerase chain reaction using a sepsis pathogen DNA detection kit. *Crit Care* 2010; 14: R159
 - 21) Messacar K, Hurst A L, Child J, Campbell K, Palmer C, Hamilton S, et al: Clinical Impact and Provider Acceptability of Real-Time Antimicrobial Stewardship Decision Support for Rapid Diagnostics in Children With Positive Blood Culture Results. *J Pediatric Infect Dis Soc* 2017; 6: 267-74
 - 22) Malecki M, Schildgen V, Kamm M, Mattner F, Schildgen O: Rapid screening method for multiple gastroenteric pathogens also detects novel enterohemorrhagic *Escherichia coli* O104: H4. *Am J Infect Control* 2012; 40: 82-3
 - 23) Rogers B B, Shankar P, Jerris R C, Kotzbauer D, Anderson E J, Watson J R, et al: Impact of a rapid respiratory panel test on patient outcomes. *Arch Pathol Lab Med* 2015; 139: 636-41
 - 24) Pardo J, Klinker K P, Borgert S J, Butler B M, Giglio P G, Rand K H: Clinical and economic impact of antimicrobial stewardship interventions with the FilmArray blood culture identification panel. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2016; 84: 159-64
 - 25) MacVane S H, Hurst J M, Boger M S, Gnann J W Jr: Impact of a rapid multiplex polymerase chain reaction blood culture identification technology on outcomes in patients with vancomycin-resistant *Enterococcal* bacteremia. *Infect Dis* 2016; 48: 732-7
 - 26) Goldenberg S D, Bacelar M, Brazier P, Bishnauthsing K, Edgeworth J D: A cost benefit analysis of the Luminex xTAG Gastrointestinal Pathogen Panel for detection of infectious gastroenteritis in hospitalised patients. *J Infect* 2015; 70: 504-11
 - 27) Polage C R, Gyorke C E, Kennedy M A, Leslie J L, Chin D L, Wang S, et al: Overdiagnosis of *Clostridium difficile* Infection in the Molecular Test Era. *JAMA Intern Med* 2015; 175: 1792-801

Nucleic acid tests and advanced management of infectious diseases

Katsunori Yanagihara, Yoshitomo Morinaga, Yuki Iwanaga, Hitomi Yamakawa,
Yuya Okada, Yumiko Kimura, Norihiko Akamatsu, Norihito Kaku,
Naoki Uno and Kosuke Kosai

Department of Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, 1-7-1 Sakamoto, Nagasaki, Japan

Steady advances have been made in the development of nucleic acid tests in the field of clinical microbiology. Standardization of the methodologies and simplification of procedures could promote routine use of these methods. The nucleic acid tests can provide high specificity and a fine detection limit, as well as additional indications in targeted microorganisms. Several issues, such as the cost for the tests and the possibility of overdiagnosis should be continuously evaluated; however, rapid and accurate diagnosis using these methods can enhance antimicrobial stewardship. Harmonization between the conventional and the nucleic acid tests may be expected to improve the quality of management of infectious diseases.