

遺伝子検査を用いた感染症診療の変化 ～迅速診断としての活用～

鈴木 広道^{1,2)}

¹⁾ 筑波メディカルセンター病院感染症内科・臨床検査医学科*

²⁾ つくば臨床検査教育・研究センター

受付日：2020年1月18日 受理日：2020年2月26日

感染症領域における迅速診断において遺伝子検査が急速に普及している。機器の全自動化、核酸増幅の高速化、マイクロアレイ技術の応用により、複雑な前処理や準備を必要とせず、最短約1時間での網羅的病原体・薬剤耐性遺伝子解析の実施や、30分前後での標的病原体・薬剤耐性遺伝子解析が可能となった。血流感染症・重症呼吸器感染症に対して網羅的遺伝子解析の保険適用が認められたこと、『迅速微生物核酸同定・定量検査加算』として、特定病原体 (*Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella* spp., *Mycobacterium tuberculosis*, *Bordetella pertussis*) に対する迅速核酸同定および報告への診療報酬加算が認められたことなど、国内での検査実施環境が整い、基幹病院のみならず、小規模医療施設においても感染症診療での迅速検査として遺伝子検査が広まってきている。本総説では、これらの迅速遺伝子検査の国内での現状と、臨床応用について解説する。

Key words: laboratory diagnosis, nucleic acid amplification test, point-of-care testing, point-of-care molecular diagnostics, automated molecular diagnostic instrument

はじめに

感染症診療において正確な病原体の同定は、有効な抗微生物薬の速やかな投与に寄与するとともに、不要な抗菌薬処方減らし薬剤耐性菌の発生を減少させる^{1,2)}。従来、微生物の迅速同定は、検体を用いた塗抹鏡検もしくは抗原・抗体検査が用いられ、中でもイムノクロマト法を代表的な測定原理とした検査キットは、2000年初頭からインフルエンザ抗原検査を中心に数多く体外診断用医薬品として認可され、わが国の保険診療において使用されてきた。安価で検体採取から30分以内に結果が得られ、熟練した技術や機器を必要としないこと、クリニック・小規模医療施設でも大病院と同様の結果が得られることからわが国の実地医療で急速に普及し、特にプライマリケア診療において point-of-care testing

(POCT) として幅広く普及している。一方で、これらの抗原・抗体反応を利用したキットは①標的の病原体量が少ない場合では陽性反応が得られず、偽陰性がしばしば認められ、②検査試薬により、交差反応による偽陽性が認められる。また、1つのキットで検出できる病原体は1種類もしくは2種類に限られ、複数の病原体が鑑別として考えられた場合、③複数回の検体採取および別々の検査キットが必要であり、さらに④近年問題となっている薬剤耐性と病原体との同時検出が困難であった。代表的なキットの一つであるノロウイルス抗原キットにおいて、リアルタイムPCR法を基準検査法とした場合、わが国で上市されているキット4製品の臨床性能について、陰性一致率については97.6~100%と高い一致率であったが、陽性一致率は48.1~59.3%であり、6割に満たないことが明らかになっている³⁾。

*茨城県つくば市天久保1-3-1



Fig. 1. Representative practical uses of point-of-care testing (POCT) in the field of infectious diseases. CNS, central nervous system. MDR, multi-drug-resistant.

感染症分野において病原体同定・薬剤耐性診断が日常的に行われている、もしくはわが国でも体外診断用医薬品の認可を取得し、普及が見込まれる代表的な場면을 Fig. 1 に示す。現在、迅速検査が最も行われているのは、診療所、医療施設の外来である。経口抗菌薬処方率は抗菌薬処方の9割を占め⁴⁾、診療所、医療施設の外来において処方される場合が多い。外来で診療する呼吸器感染症、消化管感染症では、ウイルス感染症が大部分を占めるにもかかわらず^{5,6)}、高い抗菌薬処方率が問題となっており^{7,8)}、迅速診断技術の向上は不要な抗菌薬処方の削減に貢献し得る。救急外来、集中治療分野において、血流感染症、中枢神経感染症などでは速やかに有効な抗微生物薬を投与することが必要であり⁹⁾、超広域抗菌薬、抗MRSA薬、抗ウイルス薬が多用されやすい。これらの領域では、迅速且つ網羅的な検査は適切な抗微生物薬の早期投与に貢献し得る。医療施設内においては、限られた空間に多くの免疫能が低下した患者が入院加療を必要としており、適切な対策の遅れは院内感染、施設内アウトブレイクの原因となる。

感染症領域における迅速診断において遺伝子検査が急速に普及している。以前より遺伝子検査は、核酸増幅反応により検出限界 (Limit of detection: LOD) が低く、適切なプライマー設計により標的を特異的に検出できること、同一の検体から複数の病原体・薬剤耐性遺伝子を同時に検出できること、リアルタイムPCR法等により定量が可能であることから、感染症領域において幅広く用いられてきた。一方で、遺伝子検査は手技工程の煩雑さ、高額機器の設置、工程ごとの実施場所の分離、熟練した技師の必要性により、検査センターもしくは専門施設においての実施に限られており、高コストで結果が得られるまでに時間を要していた。また、16s rRNA シークエンス解析やブロードレンジPCR検査による原因菌特定などの特殊遺伝子検査のみならず、日常臨床で必要性の高い遺伝子検査の多くが、体外診断用医薬品の認可を取得しない研究用試薬を用いて実施されており、わが国において遺伝子検査の迅速診断への活用は、栄研化学株式会社により上市された Loopamp[®] PURE DNA 抽出キットおよび

Loopamp[®]結核菌群検出試薬キットを用いた Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法による抗酸菌検査に限定されていた^{10,11)}。

I. 迅速遺伝子検査の普及

迅速遺伝子検査の感染症分野における活用は基本技術の汎用化を伴う機器の全自動化、核酸増幅の高速化、マイクロアレイ技術の応用により急速に進歩した。欧米では、感染症遺伝子検査は早い段階から、現場（一般病院）水準での迅速且つ高感度検査として位置付けられ、感染症診療・感染制御の双方の利便性を満たすため、開発が進められてきた¹²⁾。機器ごとの仕様は異なるが、基本コンセプトは共有しており、1) 抽出から増幅もしくは解析まで、人の手を介さず且つコンタミネーションを防止していること、2) 前処理がない、もしくは簡便であること、3) 内部コントロールを含む試薬が、検査消耗品と一体化で梱包されており、検査の際は各消耗品を使用機器の所定部位にセットし、バーコード (QR コード) の読み取りのみで検査が可能であること、4) 検査が迅速であること、5) 臨床検体に対して既存の遺伝子検査と同等の性能と、簡便且つ迅速に標準化された結果が得られることが求められてきた。わが国での迅速遺伝子検査の承認・普及は、欧米に対して大きく遅れてきたが、ここ数年で多くの試薬・機器において体外診断用医薬品の認可および保険適用を取得し導入が進んでいる。

全自動型感染症遺伝子検査装置は同時検出病原体・薬剤耐性遺伝子数、迅速性、検体処理能力、費用から3つに大きく区分分けが進んでいる (Fig. 2, Table 1)。第一に FilmArray[®]システム、Verigene[®]システムに代表される、マイクロアレイ法を原理として多項目を網羅的に60~150分で検査する装置である。第二に GeneXpert[®]システム、GENECUBE[®]、TRCReady[®]-80、ミュータスワコー gl[®]など1~5項目を多検体同時に迅速 (30~120分) に検査する装置である。GeneXpert[®]システムは、他スロットルで検査中であっても検査開始が可能であり、これらの中で最も小型である。同検査機器は検査手順が簡便であり、各試薬において病原体・薬剤耐性遺伝子の検出に対する分析学的妥当性評価が十分に示されている^{13,14)}。第三の区分として、より現場に近い場所において適切な環境整備の下、1~2項目の標的遺伝子を検出する装置であり、特に海外で急速に認

知、普及が進んでいる。2019年度後半より、30分で多項目の病原体検出が可能な LAMP 法を用いた小型全自動遺伝子検査装置「Simprova[®]」の各種試薬が体外診断用医薬品の認可を取得している。

全自動遺伝子検査装置はいずれも高い臨床の有用性を持ち、感染症診療に対して変化をもたらしている。

II. 血流感染症に対する遺伝子検査の臨床応用

菌血症は髄膜炎と同様に感染症診療の中でも最も迅速に適切な治療を要する病態である。近年、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MRSA) や基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ (Extended-spectrum β -Lactamase; ESBL) 産生腸内細菌科細菌など、一般的な抗菌薬が無効な薬剤耐性菌が増加しており、早期の適切な治療の遅れによる予後悪化が報告されている¹⁵⁾。従来法では最短でも血液培養採取から感受性結果報告まで2日を要し、超広域抗菌薬・抗MRSA薬多用の原因となっている。さらにカルバペネム系抗菌薬やバンコマイシンを中心とした抗MRSA薬の多用により、カルバペネマーゼを産生するカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae; CRE) やバンコマイシンに対して耐性を示すバンコマイシン耐性腸球菌 (Vancomycin-resistant enterococci; VRE) が菌血症の原因菌として報告されるようになり、菌血症を発症した際は早期に菌名および薬剤を同定することが重要となってきた。

血流感染症に対する迅速核酸同定として、(i) 培養前の全血を用いる方法と (ii) 血液培養装置で陽性シグナルが得られた後の培養液を用いる手法がある。前者が検査のタイミングとしては望ましいが、血流感染症において培養前の全血中の菌量は1~10⁴ CFU/mLであり、核酸増幅を行った場合でも偽陰性の防止は困難である^{16,17)}。また現時点の技術では、検査できる病原体・薬剤耐性遺伝子が限られていること、検査にかかる費用が高額であり手技が煩雑であることから、後者の血液培養陽性液を用いる手法が主流となっている。

自動多項目同時遺伝子関連検査システム Verigene[®]システム ((株) 日立ハイテク) はマイクロアレイ法を測定原理とし、検体から直接、標的とする病原体の核酸抽出から増幅反応 (PCR 法)、ハイ

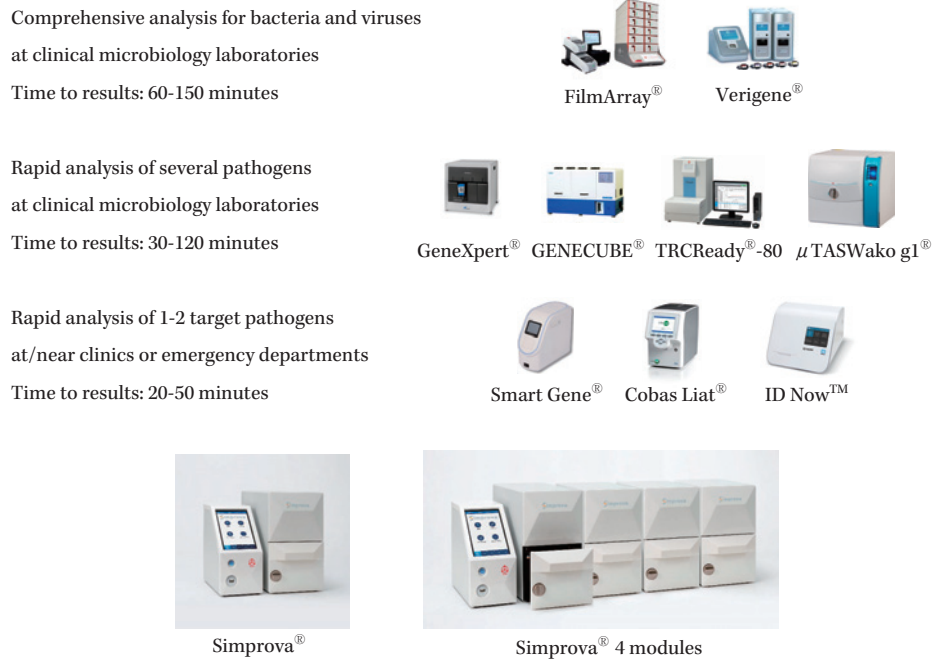
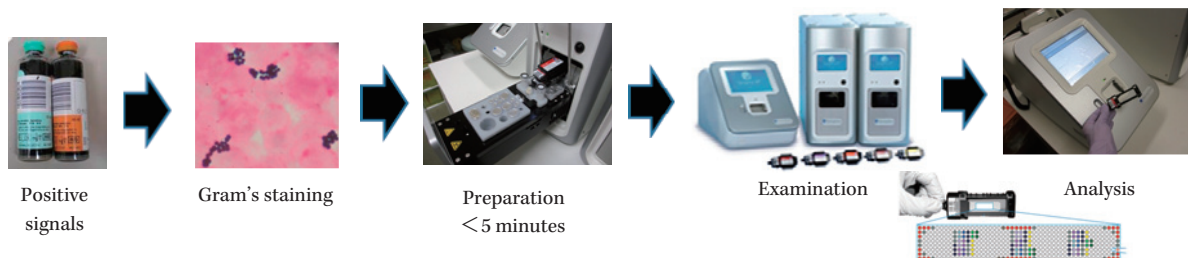


Fig. 2. Classification according to the automated molecular identification system based on the number of target genes, running time, and place of the examination. Pictures of the instruments were provided by the manufacturers of each instrument.

Table 1. List of automated rapid molecular identification systems and their panels or target pathogens currently approved in Japan

System	Panels/target pathogens, resistance genes	Reimbursement (yen)
FilmArray [®]	Blood culture panel	17,000
	Respiratory panel	9,630
	Meningitis/encephalitis panel	x
Verigene [®]	Blood culture panel (BC-GP, BC-GN)	17,000
	<i>Clostridioides difficile</i> panel	4,500
GeneXpert [®]	<i>C. difficile</i>	4,500
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> /rifampicin resistance	4,100/8,500
	MRSA/ <i>Staphylococcus aureus</i>	4,500
GENECUBE [®]	<i>M. tuberculosis</i> / <i>Mycobacterium avium</i> complex (MAC)	4,100/4,210
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	3,000
	MRSA/ <i>S. aureus</i>	4,500
	<i>Chlamydia trachomatis</i> / <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	2,860
TRCReady [®] -80	<i>M. tuberculosis</i> /MAC	4,100/4,210
	<i>M. pneumoniae</i>	3,000
	<i>C. trachomatis</i> / <i>N. gonorrhoeae</i>	2,860
μTASWako g1 [®]	<i>M. tuberculosis</i> /MAC	4,100/4,210
Smart Gene [®]	<i>M. pneumoniae</i>	3,000
Simprova [®]	<i>M. tuberculosis</i> /MAC	4,100/4,210
	<i>M. pneumoniae</i>	3,000
	<i>Legionella</i> spp.	3,000
	<i>Bordetella pertussis</i>	3,600

(a) Flow of the Verigene[®] system examination



(b) Bloodstream infection panels for the Verigene[®] system

Verigene [®] Gram-positive blood culture test (BC-GP)			Verigene [®] Gram-negative blood culture test (BC-GN)		
Genus	Species	Resistance genes	Genus	Species	Resistance genes
<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>mecA</i>	<i>Acinetobacter</i> spp.	<i>Escherichia coli</i>	<i>bla_{CTX-M}</i>
<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>vanA</i>	<i>Citrobacter</i> spp.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> /	<i>bla_{IMP}</i>
<i>Listeria</i> spp.	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	<i>vanB</i>	<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Klebsiella variicola</i>	
	<i>Streptococcus anginosus</i> Group			<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>bla_{KPC}</i>
	<i>Streptococcus agalactiae</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>bla_{NDM}</i>
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>			<i>Serratia marcescens</i>	<i>bla_{OXA}</i>
	<i>Streptococcus pyogenes</i>				<i>bla_{VIM}</i>
	<i>Enterococcus faecalis</i>				
	<i>Enterococcus faecium</i>				

Fig. 3. An overview of the Verigene[®] system examination (a) and the identification lists of each panel (b) (Verigene[®] Gram-Positive Blood Culture Test, Verigene[®] Gram-Negative Blood Culture Test). The picture of the Verigene[®] system was provided by Hitachi High-Tech Corporation.

ブリダイゼーションを全自動で行い、短時間で測定が完了することを最大の特徴とするシステムである。本機器専用試薬である、Verigene[®]血液培養グラム陽性菌・薬剤耐性核酸テスト (BC-GP) および Verigene[®]血液培養グラム陰性菌・薬剤耐性核酸テスト (BC-GN) は血液培養陽性検体に対して代表的起因菌および薬剤耐性遺伝子 (Fig. 3) に対して迅速遺伝子同定を行う試薬である。すでに血液培養検査で陽性となった培養液を用いているため増幅反応 (核酸増幅) は行わず、グラム陽性菌で約2時間半、グラム陰性菌に対しては約2時間で主要な菌名と薬剤耐性遺伝子を得ることができる。Verigene[®] BC-GP, BC-GN は性能評価での高い評価に加え、臨床面における高い有用性が報告されている¹⁸⁻²¹⁾。本試薬の特徴として、グラム陰性菌における薬剤耐性遺伝子解析が充実しているため、血流感染症を引き起こした腸内細菌科細菌が保有する ESBL 産生遺伝子の大部分を占める *bla_{CTX-M}*^{21, 22)} が体外診断用医薬品として検出できる唯一の試薬である。わが国では、2017年6月1日より菌血症に対する迅速遺伝子検

査として、新規に保険が適用 (1,700 点) された。

われわれが、性能評価試験に続き実施した菌血症症例に対する Verigene[®] BC-GP, BC-GN を用いた介入試験 (UMIN 試験 ID : UMIN000014399)²³⁾ では、血液培養採取から菌名・薬剤耐性遺伝子報告までの中央値は22時間 (四分位範囲 : 18~27 時間) であり、大部分 (88%) の症例では血液培養採取翌日までに報告された。これにより介入試験を行う前 (対照期間) と比較して、有意 ($p < 0.001$) に感受性を有する抗菌薬が投与され (Fig. 4), 30日死亡率の改善が認められた (3% vs. 13%, $p = 0.02$)。また、不要な抗菌薬の削減による抗菌薬処方コストの削減効果も認められた (3,618 円 vs. 8,505 円, $p < 0.01$)。これらの有用性は他の研究によっても明らかにされており、メタアナリシスにおいて菌血症に対する迅速遺伝子診断は介入を伴う場合において有意に有効であると結論づけられ²⁴⁾、米国における抗菌薬適正使用ガイドラインにおいても推奨されている²⁵⁾。Verigene[®] システムを用いた血流感染症に対する遺伝子検査における留意点として、核酸増幅反

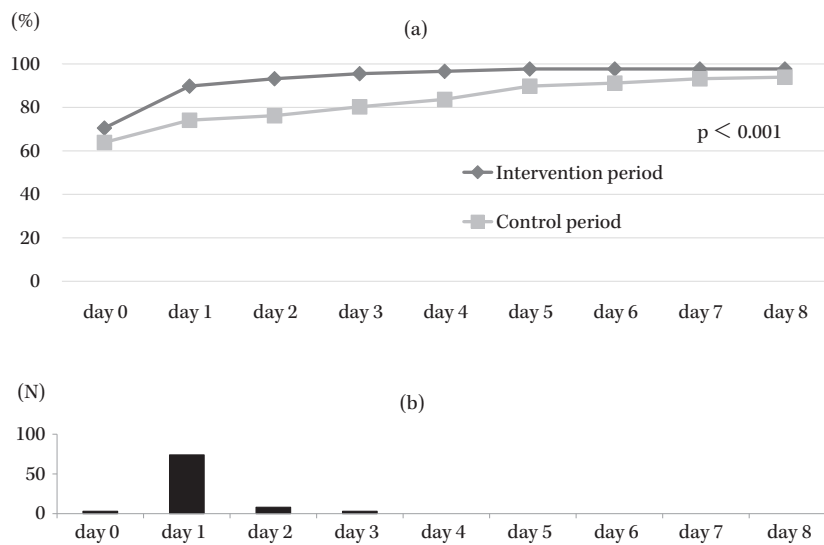


Fig. 4. (a) The rates of treatment with antimicrobial agents and the susceptibility of each causative pathogen of bacteremia. (b) Day on which the results of the Verigene[®] system were reported after the specimens for blood culture were obtained. This figure is cited from reference 23.

応を行わないため複数菌種による血流感染症の場合、正確な検査診断ができない可能性がある。Ledeborらの研究では複数菌種による菌血症では、1つの菌種は同定できるものの、全菌種の正確な同定率は54.5%であったことが報告されている²⁰⁾。このため血液培養陽性液を用いたグラム染色検査において、複数菌種を認めた場合には偽陰性の可能性を念頭に検査を進める必要がある。同システムは、他の試薬として検体中の *Clostridioides difficile* toxin A/toxin B 産生遺伝子 (*tcdA/tcdB*) と、強毒型 *C. difficile* (BI/NAP1/027 株) の特徴である binary toxin 産生遺伝子 (*cdt*) および *tcdC* の変異 (117 番目塩基対の欠失) の検出が可能な Verigene[®] *C. difficile* 核酸テスト^{26,27)} が体外診断用医薬品として認可されている。

他の血流感染症に対するマイクロアレイ法を用いた迅速遺伝子検査として、FilmArray[®] システムおよび FilmArray[®] 血液培養パネルを用いた検査がある。同パネルは、薬剤耐性遺伝子の検出数が Verigene[®] システムと比較し少ない一方で、グラム陽性菌、グラム陰性菌、酵母様真菌が約 1 時間の検査時間で検出可能である (Fig. 5)。また、FilmArray[®] システムは鼻腔咽頭ぬぐい液を用いた網羅的呼吸器病原体解析 (FilmArray[®] 呼吸器パネル)、脳脊髄液を用いた髄膜炎・脳炎病原体解析 (FilmArray[®] 髄

膜炎・脳炎パネル) が体外診断用医薬品の認可を取得しており、2019 年 11 月より FilmArray[®] 呼吸器パネルが重症呼吸器感染症に対して保険適用 (963 点) を取得している。同システムは 1 つの機器で各種重症感染症に対して速やかに網羅的病原体解析ができる長所がある。Shengchen らが、下気道感染症で入院した 800 名を対象として中国 (北京) で実施した無作為比較試験では、FilmArray[®] 呼吸器パネルを用いた群は未実施群と比較し、有意に点滴抗菌薬の実施期間が短く (7.0 vs 8.0 日, $p < 0.001$)、入院期間の短縮 (8.0 vs. 9.0 日, $p < 0.001$)、医療費の削減 (1,805 vs. 2,043 ドル, $p = 0.002$) が認められたと報告している²⁸⁾。わが国でも、Kitano らが小児での呼吸器感染症入院患者を対象に FilmArray[®] 呼吸器パネルを用いた群と未実施群を比較し、抗菌薬治療期間 (8.6 vs. 12.8 日, $p < 0.001$)、入院期間の短縮 (6.8 vs. 8.2 日, $p = 0.03$) を報告している²⁹⁾。

III. 呼吸器病原体検出に対する迅速核酸同定

2018 年度の診療報酬改定において、『小児抗菌薬適正使用支援加算』が新たに設けられ、急性上気道感染症または急性下痢症で受診した小児で、初診の場合に限り、診察の結果、抗菌薬投与の必要性が認められず抗菌薬を使用せず、指導を行った場合に小児科外来診療料、小児かかりつけ診療料へ加算されるようになった。同改定ではさらに、『迅速微生物

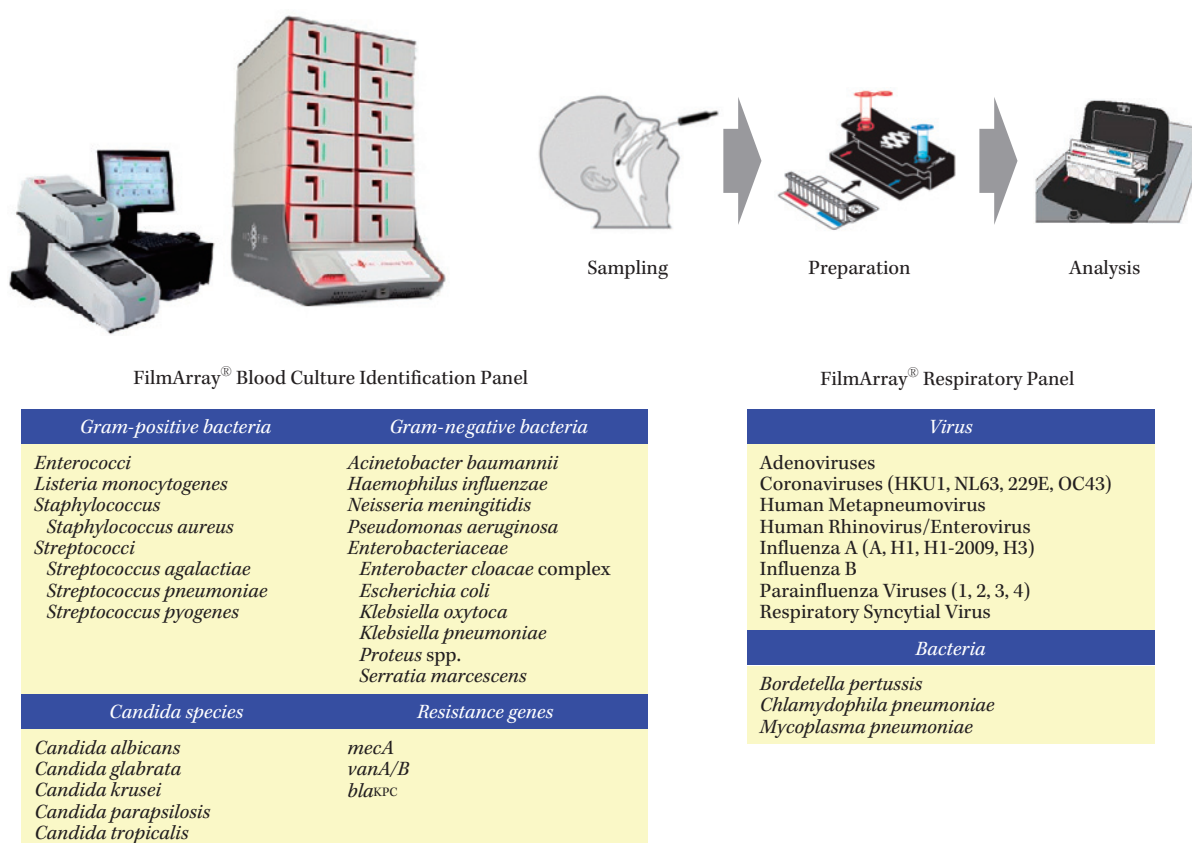


Fig. 5. FilmArray® system and the identification lists of each panel. Pictures of the FilmArray® system and preparation of samples were provided by bioMérieux Japan, Ltd.

核酸同定・定量検査加算』が加えて設けられ、*Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella* spp., *Mycobacterium tuberculosis*, *Bordetella pertussis* に対する核酸同定検査について、検査実施日のうちに説明したうえで文書により情報を提供した場合には、迅速微生物核酸同定・定量検査加算として、100点を所定点数に加算できるようになった。

われわれの施設では、2016年4月より *M. pneumoniae* の核酸増幅同定検査に対して、全自動遺伝子解析装置 GENECUBE®を用い迅速報告を実施している。2016年5月～2017年3月で1,285名に対して検査を実施した結果、395名(31%)で採取した咽頭拭い液より *M. pneumoniae* DNAが検出され、医師の検査依頼から検査終了までの時間(中央値)は94分(四分位範囲:79~114分)、他の核酸増幅同定検査法(LAMP法)との一致率は陽性一致率99%、陰性一致率97%であった³⁰⁾。迅速検査を実施した小児肺炎患者のうち、91%(340/375名)で血液検査・X線検査などと同じタイミングで検査

結果が報告されていた(Fig. 6)³¹⁾。375名のうち、*M. pneumoniae* DNAが検出された肺炎患者223名において、初回検査後97%(217/223名)で非定型病原体に抗菌活性をもつ抗菌薬(マクロライド系薬、テトラサイクリン系薬、キノロン系薬)が処方されており、診療経過中の処方率は99%(221/223名)であった。一方で、検出されなかった場合(152名)の非定型病原体に抗菌活性をもつ抗菌薬の処方率は11%に留まり、診療経過中に追加で処方を必要とした患者は1名のみであり、迅速核酸増幅同定検査が医師の処方行動に影響を与えていることが示された。同PCR法はジーンキューブ®専用前処理キット(呼吸器用)を用いることで、検体処理から結果まで約30分で結果を得ることが可能であり一層の有用性が期待される。また、同じ原理を用いた *M. pneumoniae* DNAに対する迅速核酸増幅同定検査法は、全自動遺伝子解析装置 Smart Gene®(株式会社ミズホメディター)でも実施可能である。同装置は小型且つ安価で、診療所など小規模医療施設など

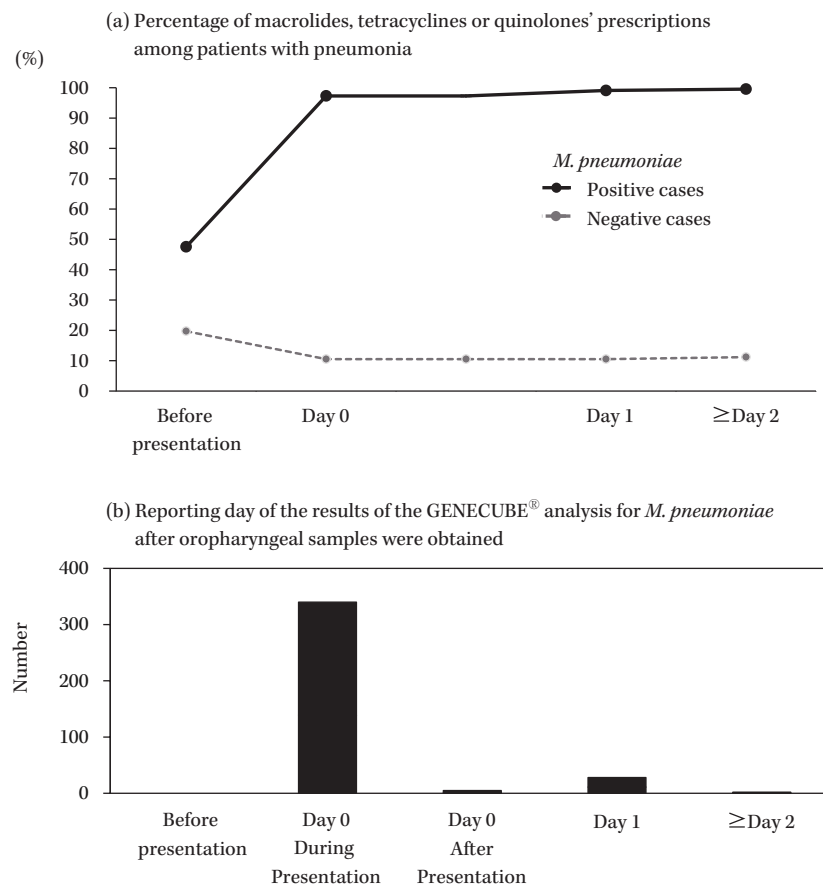


Fig. 6. (a) Antimicrobial use (macrolides, tetracyclines or quinolones) in among patients with pneumonia. (b) Reporting day of the results of the GENECUBE[®] Mycoplasma analysis after the oropharyngeal samples were obtained. We defined "Day 0" as the day of patient presentation, "Day 1" as the day after the day of patient presentation, and "≥Day 2" as two or more days after patient presentation. This figure is cited from reference 31.

でも検査環境を整えることで実施可能であり、日本国内で普及が進んでいる。

代表的な呼吸器感染症であるインフルエンザの検査診断において、わが国ではイムノクロマト法を用いた抗原検査法によって実施されているが、米国では同検査診断は近年、核酸増幅同定検査法に変わつつある。Ipらはインフルエンザ罹患患者のウイルス平均排出量は $5.4 \log_{10}$ copies/mLであり、発症日を最大として低下すると報告している³²⁾。一方、目視で抗原検査を陽性と判定するには、 $6 \log_{10}$ copies/mL程度のウイルス量が必要とされる^{33,34)}。インフルエンザウイルス検査法について検討した2017年のシステムティック・レビューでは、目視によるインフルエンザ抗原検査法の感度は54.4%、デジタル式測定機器を用いた抗原検査法の感度は80.0%と

報告している³⁵⁾。2017年に米国感染症学会(IDSA)はインフルエンザ診療ガイドラインにおいて、インフルエンザの検査診断には核酸増幅同定検査法が推奨されること、入院患者では抗原検査は使用すべきでないことを示した³⁶⁾。

われわれが2017~2018シーズンにおいて主に成人例159名の鼻咽頭ぬぐい液を対象とした前向き観察研究でも、核酸増幅同定検査を基準とした抗原検査の感度は全体で57.1%、特異度は100%であった³⁷⁾。海外で用いられている迅速核酸増幅同定検査装置の一つであるLiatシステムは検査依頼から検査終了までのTurnaround time (TAT)が、中央値30分(四分位範囲:28~35分)であり、Nested-PCR法との一致率は98%であった³⁷⁾。一方でインフルエンザに対する迅速核酸増幅同定検査は抗原検査と比

べて高額であること、デジタルイムノアッセイと比較した有用性については十分に示されていないこと、海外で普及している核酸増幅同定検査試薬は国内では体外診断用医薬品の認可を取得していないことから国内における普及には時間を要すると見込まれる。また、インフルエンザ核酸増幅同定検査は、用いる試薬や機器により、インフルエンザウイルス検出の感度が異なるため、検査の解釈には注意する必要がある³⁸⁻⁴⁰⁾。

おわりに

今回、血流感染症に対する網羅的遺伝子検査、呼吸感染症に対する迅速遺伝子検査を中心に感染症診療の変化について要約を行った。感染症遺伝子検査は日進月歩で改良が進んでいる。呼吸器感染症領域において海外では、FilmArray[®]呼吸器パネルの後継試薬がすでに普及しており、約45分で *Bordetella parapertussis* などより多くの菌種が同定可能となり⁴¹⁾、アデノウイルス、*B. pertussis* などで FilmArray[®]呼吸器パネル⁴²⁾ と比較し感度の改善が行われている。今後は肺炎や、重症腸管感染症、腸管寄生虫の診断に対しても迅速核酸増幅同定検査⁴³⁾ の普及が見込まれるなど、多くの感染症領域で迅速核酸検査が一般化していくと考えられる。一方で、検査診断の進歩は、感染症を専門としない医師の過半にとって複雑であり、高額検査に対する制限および検査結果に対する解釈の支援が必要であると受け止められている⁴⁴⁾。迅速な判断が求められる急性期感染症診療において、個々の施設の特性に合わせ、検査技師のみならず、抗菌薬適正使用支援チーム (AST)、感染症専門医、検査専門医が力を合わせ、迅速遺伝子検査に対する支援体制の構築を行うことで持続性のある高度医療の利用が可能となると考えられる⁴⁵⁾。

利益相反自己申告：筑波メディカルセンター病院は、委託研究/共同研究において、アボットダイアグノスティクスメディカル株式会社、積水メディカル株式会社、東洋紡株式会社、ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社より研究費および試薬・消耗品の提供を受けた。また、鈴木広道は東洋紡株式会社より講演料を受領した。

文献

- 1) Costelloe C, Metcalfe C, Lovering A, Mant D, Hay A D: Effect of antibiotic prescribing in primary care on antimicrobial resistance in individual patients: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2010; 340: c2096
- 2) Bell B G, Schellevis F, Stobberingh E, Goossens H, Pringle M: A systematic review and meta-analysis of the effects of antibiotic consumption on antibiotic resistance. *BMC Infect Dis* 2014; 14: 13
- 3) 佐藤勇樹, 品川雅明, 高橋祐輔, 佐伯理知, 八鍬佑貴, 高橋 聡: ノロウイルス抗原キットの性能評価およびキット間差の検討。 *感染症誌* 2018; 92: 120-5
- 4) Muraki Y, Yagi T, Tsuji Y, Nishimura N, Tanabe M, Niwa T, et al: Japanese antimicrobial consumption surveillance: First report on oral and parenteral antimicrobial consumption in Japan (2009-2013). *J Glob Antimicrob Resist* 2016; 7: 19-23
- 5) Monto A S, Ullman B M: Acute respiratory illness in an American community. The Tecumseh study. *JAMA* 1974; 227: 164-9
- 6) Nicholson K G, Kent J, Hammersley V, Cancio E: Acute viral infections of upper respiratory tract in elderly people living in the community: comparative, prospective, population based study of disease burden. *BMJ* 1997; 315: 1060-4
- 7) Higashi T, Fukuhara S: Antibiotic prescriptions for upper respiratory tract infection in Japan. *Intern Med* 2009; 48: 1369-75
- 8) Barnett M L, Linder J A: Antibiotic prescribing for adults with acute bronchitis in the United States, 1996-2010. *JAMA* 2014; 311: 2020-2
- 9) Rhodes A, Evans L E, Alhazzani W, Levy M M, Antonelli M, Ferrer R, et al: Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med* 2017; 43: 304-77
- 10) Kaku T, Minamoto F, D'Meza R, Morose W, Boncy J, Bijou J, et al: Accuracy of LAMP-TB Method for Diagnosing Tuberculosis in Haiti. *Jpn J Infect Dis* 2016; 69: 488-92
- 11) Ou X, Li Q, Xia H, Pang Y, Wang S, Zhao B, et al: Diagnostic accuracy of the PURE-LAMP test for pulmonary tuberculosis at the county-level laboratory in China. *PLoS One* 2014; 9: e94544
- 12) 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, 他: 遺伝子検査の導入による新しい感染症診療。 *日化療会誌* 2018; 66: 729-37
- 13) Boehme C C, Nabeta P, Hillemann D, Nicol M P, Shenai S, Krapp F, et al: Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. *N Engl J Med* 2010; 363: 1005-15
- 14) Kraft C S, Parrott J S, Cornish N E, Rubinstein M L, Weissfeld A S, McNult P, et al: A laboratory medicine best practices systematic review and meta-analysis of nucleic acid amplification tests (NAATs) and algorithms including NAATs for the diagnosis of *Clostridioides*

- (*Clostridium difficile* in Adults. Clin Microbiol Rev 2019; 32. pii: e00032-18
- 15) Lodise T P, McKinnon P S, Swiderski L, Rybak M J: Outcomes analysis of delayed antibiotic treatment for hospital-acquired *Staphylococcus aureus* bacteremia. Clin Infect Dis 2003; 36: 1418-23
 - 16) Peker N, Couto N, Sinha B, Rossen J W: Diagnosis of bloodstream infections from positive blood cultures and directly from blood samples: recent developments in molecular approaches. Clin Microbiol Infect 2018; 24: 944-55
 - 17) Sinha M, Jupe J, Mack H, Coleman T P, Lawrence S M, Fraley S I: Emerging Technologies for Molecular Diagnosis of Sepsis. Clin Microbiol Rev 2018; 31. pii: e00089-17
 - 18) Kikuchi K, Matsuda M, Iguchi S, Mizutani T, Hiramatsu K, Tega-Ishii M, et al: Potential Impact of Rapid Blood Culture Testing for Gram-Positive Bacteremia in Japan with the Verigene Gram-Positive Blood Culture Test. Can J Infect Dis Med Microbiol 2017; 2017: 4896791
 - 19) 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
 - 20) Ledebor N A, Lopansri B K, Dhiman N, Cavagnolo R, Carroll K C, Granato P, et al: Identification of Gram-Negative Bacteria and Genetic Resistance Determinants from Positive Blood Culture Broths by Use of the Verigene Gram-Negative Blood Culture Multiplex Microarray-Based Molecular Assay. J Clin Microbiol 2015; 53: 2460-72
 - 21) 鈴木広道, 矢口勇治, 上田淳夫, 小金丸博, 野竹重幸, 森下絵梨, 他: 血流感染症に対する原因菌・薬剤耐性遺伝子迅速診断試薬 (Verigene BC-GP, Verigene BC-GN) の性能評価。日臨微生物誌 2018; 28: 192-202
 - 22) Noguchi T, Matsumura Y, Yamamoto M, Nagao M, Takakura S, Ichiyama S: Clinical and microbiologic characteristics of cefotaxime-nonsusceptible *Enterobacteriaceae* bacteremia: a case control study. BMC Infect Dis 2017; 17: 44
 - 23) 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
 - 24) Timbrook T T, Morton J B, McConeghy K W, Caffrey A R, Mylonakis E, LaPlante K L: The Effect of molecular rapid Diagnostic testing on clinical outcomes in bloodstream infections: a systematic review and meta-analysis. Clin Infect Dis 2017; 64: 15-23
 - 25) Barlam T F, Cosgrove S E, Abbo L M, MacDougall C, Schuetz A N, Septimus E J, et al: Implementing an antibiotic stewardship program: guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America. Clin Infect Dis 2016; 62: e51-77
 - 26) 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
 - 27) Carroll K C, Buchan B W, Tan S, Stamper P D, Riebe K M, Pancholi P, et al: Multicenter evaluation of the Verigene *Clostridium difficile* nucleic acid assay. J Clin Microbiol 2013; 51: 4120-5
 - 28) Shengchen D, Gu X, Fan G, Sun R, Wang Y, Yu D, et al: Evaluation of a molecular point-of-care testing for viral and atypical pathogens on intravenous antibiotic duration in hospitalized adults with lower respiratory tract infection: a randomized clinical trial. Clin Microbiol Infect 2019; 25: 1415-21
 - 29) Kitano T, Nishikawa H, Suzuki R, Onaka M, Nishiyama A, Kitagawa D, et al: The impact analysis of a multiplex PCR respiratory panel for hospitalized pediatric respiratory infections in Japan. J Infect Chemother 2020; 26: 82-5
 - 30) 鈴木広道: 感染症領域における全自動遺伝子検査の現状と診療への活用について。臨病理 2017; 65: 924-34
 - 31) Hayashi D, Akashi Y, Suzuki H, Shiigai M, Kanemoto K, Notake S, et al: Implementation of point-of-care molecular diagnostics for *Mycoplasma pneumoniae* ensures the correct antimicrobial prescription for pediatric pneumonia patients. Tohoku J Exp Med 2018; 246: 225-31
 - 32) Ip D K, Lau L L, Leung N H, Fang V J, Chan K H, Chu D K, et al: Viral shedding and transmission potential of asymptomatic and paucisymptomatic influenza virus infections in the community. Clin Infect Dis 2017; 64: 736-42
 - 33) Chan K H, To K K, Chan J F, Li C P, Chen H, Yuen K Y: Analytical sensitivity of seven point-of-care influenza virus detection tests and two molecular tests for detection of avian origin H7N9 and swine origin H3N2 variant influenza A viruses. J Clin Microbiol 2013; 51: 3160-1
 - 34) 徳野 治, 藤原美樹, 中上佳美, 山之内すみか, 足立昌代, 池田明子, 他: 各種インフルエンザ迅速診断キットの評価 —検出感度の比較検討—。感染症誌 2009; 83: 525-33
 - 35) Uyeki T M, Bernstein H H, Bradley J S, Englund J A, File T M Jr, Fry A M, et al: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America: 2018 Update on diagnosis, treatment, chemoprophylaxis, and institutional outbreak management of seasonal influenza. Clin Infect Dis 2019; 68: e1-47
 - 36) Merckx J, Wali R, Schiller I, Caya C, Gore G C, Chartrand C, et al: Diagnostic Accuracy of Novel and Traditional Rapid Tests for Influenza Infection Compared With Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction: A Systematic Review and Meta-analysis. Ann Intern

- Med 2017; 167: 394-409
- 37) Akashi Y, Suzuki H, Ueda A, Hirose Y, Hayashi D, Imai H, et al: Analytical and clinical evaluation of a point-of-care molecular diagnostic system and its influenza A/B assay for rapid molecular detection of the influenza virus. *J Infect Chemother* 2019; 25: 578-83
- 38) Nolte F S, Gauld L, Barrett S B: Direct Comparison of Alere i and cobas Liat Influenza A and B Tests for Rapid Detection of Influenza Virus Infection. *J Clin Microbiol* 2016; 54: 2763-6
- 39) Young S, Illescas P, Nicasio J, Sickler J J: Diagnostic accuracy of the real-time PCR cobas[®] Liat[®] Influenza A/B assay and the Alere i Influenza A&B NEAR isothermal nucleic acid amplification assay for the detection of influenza using adult nasopharyngeal specimens. *J Clin Virol* 2017; 94: 86-90
- 40) Stellrecht K A: The drift in molecular testing for influenza: mutations affecting assay performance. *J Clin Microbiol* 2018; 56: e01531-17
- 41) Leber A L, Everhart K, Daly J A, Hopper A, Harrington A, Schreckenberger P: Multicenter Evaluation of BioFire FilmArray Respiratory Panel 2 for Detection of Viruses and Bacteria in Nasopharyngeal Swab Samples. *J Clin Microbiol* 2018; 56. pii: e01945-17
- 42) Jerris R C, Williams S R, MacDonald H J, Ingebrigtsen D R, Westblade L F, Rogers B B: Testing implications of varying targets for *Bordetella pertussis*: comparison of the FilmArray Respiratory Panel and the Focus *B. pertussis* PCR assay. *J Clin Pathol* 2015; 68: 394-6
- 43) Buss S N, Leber A, Chapin K, Fey P D, Bankowski M J, Jones M K: Multicenter evaluation of the BioFire FilmArray gastrointestinal panel for etiologic diagnosis of infectious gastroenteritis. *J Clin Microbiol* 2015; 53: 915-25
- 44) Blaschke A J, Hersh A L, Beekmann S E, Ince D, Polgreen P M, Hanson K E: Unmet diagnostic needs in infectious disease. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2015; 81: 57-9
- 45) Messacar K, Parker S K, Todd J K, Dominguez S R: Implementation of Rapid Molecular Infectious Disease Diagnostics: the Role of Diagnostic and Antimicrobial Stewardship. *J Clin Microbiol* 2017; 55: 715-23

Paradigm shift in the management of infectious diseases with the introduction of rapid molecular identification systems

Hiromichi Suzuki^{1,2)}

¹⁾ Division of Infectious Diseases, Department of Medicine/Department of Clinical Laboratory Medicine, Tsukuba Medical Center Hospital, 1-3-1 Amakubo, Tsukuba, Ibaraki, Japan

²⁾ Tsukuba Medical Laboratory of Education and Research

Dramatic developments in rapid molecular identification have been made in the field of infectious diseases due to the automation of molecular identification systems and improvements in nucleic acid amplification and microarray technologies. In Japan, comprehensive molecular identification techniques for bloodstream infections and severe respiratory infections have been approved for reimbursement under the national health insurance system. In addition, reimbursement has also been approved for rapid molecular identification of *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella* spp., *Mycobacterium tuberculosis*, and *Bordetella pertussis*. Even clinics and smaller health care facilities have considered introducing molecular identification systems for infectious diseases. This review summarizes the current status of use of rapid molecular identification techniques for infectious diseases and its clinical implementation in Japan.