

第28回 日本臨床微生物学会総会・学術集会

Sponsored Session

マルチプレックス遺伝子関連検査の海外動向と日本への導入 特に敗血症パネルの性能評価と臨床応用

開催 ▶ 2017年1月21日(土) 会場 ▶ 長崎新聞文化ホール

第28回日本臨床微生物学会総会・学術集会が1月20～22日に長崎市で開かれ、21日にはスポンサードセッション「マルチプレックス遺伝子関連検査の海外動向と日本への導入」(日立ハイテクノロジーズ共催)があった。同セッションでは、先行する米国での動向について紹介があった後、自動多項目同時遺伝子関連検査システム「Verigeneシステム」の専用試薬である敗血症パネル2種類「血液培養グラム陽性菌・薬剤耐性核酸テスト(BC-GP)」および「血液培養グラム陰性菌・薬剤耐性核酸テスト(BC-GN)」の検出性能、臨床的意義について、実際に使用した医師らが報告した。

座長は、長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 病態解析・診断学分野教授の柳原克紀氏と、国立国際医療研究センター病院 国際感染症センター長の大曲貴夫氏の2人が務めた。



座長

長崎大学大学院
医歯薬学総合研究科 病態解析・診断学分野教授
柳原克紀氏



座長

国立国際医療研究センター病院
国際感染症センター長/国際診療部長
大曲貴夫氏

講演1 Clinical and Economic Impact of Rapid Infectious Disease Diagnostics

Medical College of Wisconsin, Pathology & Laboratory Medicine

Nathan A. Ledeboer氏

講演2 マルチプレックス遺伝子検査「Verigene 敗血症パネル」の国内性能評価試験

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 病態解析・診断学分野

宇野直輝氏

講演3 先進医療におけるVerigene システムを用いた敗血症の迅速診断について

国立国際医療研究センター病院 国際感染症センター

早川佳代子氏

講演1 Clinical and Economic Impact of Rapid Infectious Disease Diagnostics

Medical College of Wisconsin, Pathology & Laboratory Medicine

Nathan A. Ledebor 氏

迅速診断、ASPの役割が重要に



米ウイスコンシン医科大学病理学・臨床検査医学のNathan A. Ledebor氏は、「感染症における迅速診断の臨床的意義」について講演し、米国での微生物検査の現状などを報告した。Verigene敗血症パネルにより迅速検査が可能になるとした上で、迅速検査の結果を臨床上の価値へとつなげる重要性を強調。医師や看護師らがチームで抗菌薬の適正使用を推進する「抗菌薬スチュワードシッププログラム (ASP)」の役割が求められることを指摘した。

Ledebor氏は講演で、「検査において単一の微生物を特定する考え方から、疾患ごとに必要な検査を総合的に行う『疾患別検査』というアプローチに移行してきている」とし、米国での微生物検査は敗血症や肺炎などの疾患ごとに多項目パネルを用いる「疾患別検査」に移行しつつあることを説明。この背景として、疾患別検査を目的とした体外診断用医薬品が承認されていることを挙げた。

その上で敗血症を例にとり、従来法と迅速検査システムとの検査フローの違いを説明した。血液培養からグラム染色、培養などと進む従来の検査フローでは血液培養から病原体同定まで24～36時間、感受性判明まで48～72時間が必要だったのに対し、迅速検査システムでは同定と薬剤耐性が最短約10時間で判明することを指摘。迅速検査システムでは「過去使用されてきた標準的な臨床ワークフローよりも最大で2日早く最適な治療を開始できる」と述べた。

敗血症による死亡者は世界で年間2600万人に上り、1時間に約1000人が死亡しているとする疫学データを紹介し、「医学界にとって行動を起こすべき重大な事態」だと強調。しかも先進国では、耐性菌の増加や侵襲的な医療装置の使用拡大などを背景に、敗血症患者が年間8～13%増加しているとし、事態の深刻さを訴えた。

1人2万ドル超の医療費削減も

Ledebor氏は、適切な抗菌薬治療の開始が1時間遅れるたびに死亡率が7.6%上昇するとのデータを引用。菌血症患者の40%が不適切な抗菌薬による初期治療を受けているとの報告や、迅速な検査結果の報告によって入院期間が平均6.2日短縮されたとの調査結果も示し、迅速検査の有用性を示した。患者1人当たり医療費が2万1387ドル削減できる可能性があることも付け加えた。

その上で、Verigeneシステムの開発研究に携わった立場から敗血症パネル「BC-GP」と「BC-GN」の特徴について説明した。

米国の3施設で行った多施設共同臨床試験によると、BC-GP (n=1157) での感度は92.6～100%、特異度は98.9～100%で、*mecA* はそれぞれ98.6%と

94.3%、*vanA* および *vanB* は97.5～100%と全100%となった。BC-GN (n=106) も同様に、感度94.1～100%、特異度100%を確保し、検出されたCTX-M、NDMともに感度、特異度は100%だった。

Ledebor氏は、Verigene敗血症パネルの有用性を指摘する一方で、「最も重要なことは、検査結果を患者へのケアにどう反映させるかだ」とも強調し、「迅速検査を導入する際に考慮すべき最も重要な要素の一つは、治療変更の主導者を決定することだ」とした。

抗菌薬スチュワードシップチーム (ASP推進のための医師・検査技師・薬剤師・看護師らのチーム) に迅速検査の結果を通知したところ、入院期間 (中央値) を21.5日から15.3日まで短縮したとの報告を提示。自院 (Froedtert Health 病院) での検討においても、最適治療開始までの時間は57.1時間から43.1時間に、入院期間は8.9日から7.9日に、ICU在室期間は5.3日から2.8日にそれぞれ短縮されたとした(表)。

こうした結果からLedebor氏は、「最も重要なことは、この情報を適切な人、つまりこの情報をもとに判断する人に伝えることだ」とし、迅速検査の結果を抗菌薬スチュワードシップチームに伝え、かつ同チームに一定の権限を持たせることが重要だとの見解を示した。

「疾患別検査」がさらに拡大

Ledebor氏はまた、「今後、呼吸器感染症パネルや消化器パネル、髄膜炎・脳炎パネル、肺炎パネルなどさらに多くのパネルが登場するだろう」と予測。「疾患別検査」の考え方はさらに広がっていくとの認識を示した。

● Froedtert Health 病院での研究結果

| | 介入前 n=58 | 介入後 n=46 | p-value |
|--------------------------|---------------------|-----------------------|---------|
| 最適治療開始までの時間 IQR (時間) | 57.1 (11.9-73.8) | 43.1 (17.79-66.45) | 0.3 |
| 効果的治療開始までの時間 IQR (時間) | 3.6 (1.5-13.8) | 4.3 (1.7-15.5) | 0.51 |
| 在院期間 IQR (日) | 8.9 (5.6-13.7) | 7.9 (5.1-15.2) | 0.7 |
| ICU在室期間 IQR (日) | 5.3 (1.6-13.0) | 2.8 (1.8-5.4) | 0.89 |
| 最適治療の未実施(件) | 6 | 1 | 0.13 |

Revolinski S., ICAAC, 2014

講演2 マルチプレックス遺伝子検査「Verigene 敗血症パネル」の国内性能評価試験

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 病態解析・診断学分野

宇野直輝 氏



敗血症パネルの性能試験結果を報告

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 病態解析・診断学分野の宇野直輝氏は、Verigeneシステムの敗血症パネル2種類について、自動分析機の結果と比較した臨床性能試験の結果を報告した。グラム陽性菌を対象とする「BC-GP」は同定結果、薬剤耐性遺伝子の検出結果ともに全対象検体で、グラム陰性菌が対象の「BC-GN」は数例を除く対象検体で、それぞれ検査結果が一致したことを説明。早期の適切な抗菌薬選択を通じて「敗血症の早期診断と早期治療に貢献すると期待される」と結論付けた。

宇野氏の報告によるとBC-GPについては、同大病院で2013年8～12月、従来の自動分析機の結果と比較する臨床性能試験を実施した。検討対象は、自動分析機で同定された59件。

その結果、BC-GPが対象とする57件は全て、自動分析機での同定結果と一致。残り2件は、BC-GPの検出対象ではない菌種のため検出せず、仕様通りの結果となった。

薬剤耐性遺伝子の結果も完全に一致した。*S. aureus*における*mecA*検出は、自動分析機の結果通り2件、*S. epidermidis*では7件で検出。

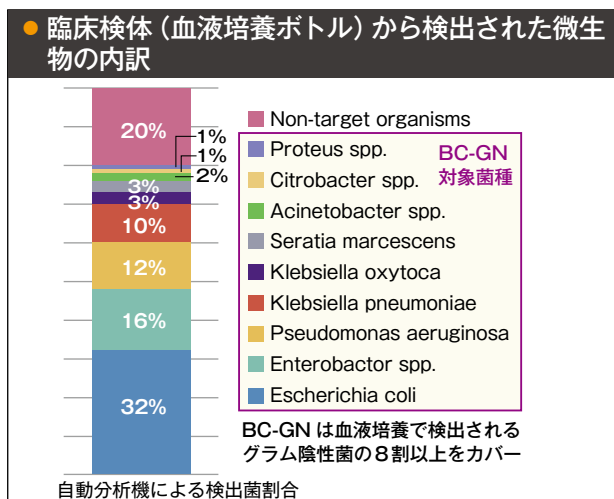
E. faecalis、*E. faecium*における*vanA*、*vanB*は、自動分析機で検出せず、陰性一致率は100%となった。

「BC-GN」、8割の検体をカバー

一方、BC-GNについては、長崎大学病院、順天堂医院、筑波メディカルセンター、ミロクメディカルラボラトリーの3病院1検査センターでの多施設試験を実施した。各施設から臨床検体141検体（164菌種）、保存検体205株を集め、自動分析機と検査結果を比較した。

BC-GNは、臨床検体から自動分析機で検出された8割に当たる132件をカバー（図）。32件は対象外だった。

同定結果については、対象の臨床検体のうち130件は自動分析機の結果と一致し、一致率は98%だった。



た。不一致は3件であった。

このうち2件はBC-GNで菌が検出されなかった。いずれも、ボトルに複数菌種が存在していたケースで、結果の解釈について宇野氏は、「複数菌種のボトルの場合、菌量が増えて血液培養陽性になっても、どの菌も等しく増えたとは限らない。菌量が少ない菌種が検出できなかった可能性がある」との見方を示した。

もう1件は、添付文書にも記載されている既知の交差反応で、*Raoultella ornithinolytica* を *Klebsiella oxytoca* と報告したケースで、配列相同性が原因との解釈を示した。

薬剤耐性遺伝子については、1件を除きBC-GNでの検出結果がPCRと一致。一致率は99%となった。PCRでは、CTX-Mの1、2、9のタイプのみ増幅させたが、BC-GNではこれ以外のタイプも検出できるため、この1件は今回のPCRで検出できないタイプだった可能性があるという。

「ESBL判定と同等」

さらに、ESBL産生菌の代表的な原因遺伝子であるCTX-Mについて、自動分析機でのESBL判定の結果と比較したところ全菌種で一致した。「BC-GNでのCTX-M検出は、自動分析機でのESBL判定と同等だ」とし、ESBLの判定に有用との認識を示した。

カルバペネム耐性遺伝子についても同様に、自動分析機の結果（イミペネム）と比較。臨床検体128件のうち3件以外で両方の検査結果が一致した。この3件は *Pseudomonas aeruginosa* で、BC-GNではカルバペネム耐性遺伝子が検出されなかった。宇野氏は「BC-GNで耐性遺伝子が検出されなくても、菌種によってはそれ以外の機序で耐性を持つ場合もあり、カルバペネム耐性を否定することはできない」と述べた。

保存菌株では、非耐性の菌種からもBC-GNはカルバペネム耐性遺伝子を検出した。検討すると全てメタロβラクタマーゼ産生菌だったことから宇野氏は、「BC-GNで耐性遺伝子が検出されれば、全てカルバペネム耐性と判断できる」とした。

国立国際医療研究センター病院 国際感染症センター

早川 佳代子 氏



最大活用へチームの協力が不可欠

国立国際医療研究センター病院国際感染症センターの早川佳代子氏は、先進医療の制度で行った臨床研究「Verigeneシステムを用いた敗血症の迅速診断」の結果を報告した。検査結果に基づき抗菌薬を変更した症例が全体の27%に上ったとし、「Verigeneシステムは迅速かつ正確な起因菌同定により、院内での抗菌薬適正使用推進に寄与しうる」と述べた。検査結果を最大限に生かすためには、感染症診療チームやICTとの協力・協調が不可欠だとも強調した。

早川氏が報告した研究は、2014年8月から15年12月までの間、同研究センター病院(東京都新宿区)で行った。登録症例数は185例(177人)。

入院後72時間以内の敗血症患者が対象で、血液培養陽性を確認後、従来法の菌名同定・薬剤感受性試験と並行して、文書での本人同意のもと、Verigeneシステムの検査を行った。主要評価項目は「Verigene検査結果に基づく他の抗菌薬への変更率」(結果判明時から翌日24時まで)。検査結果は感染症専門医から主治医に連絡し、主治医が抗菌薬変更の要否などを判断した。

その結果、Verigeneシステムの検査結果により抗菌薬を変更したのは、全体の27.6%に当たる51例。グラム陽性菌では全41例のうち17例(41.5%)、グラム陰性菌では全144例のうち34例(23.6%)で変更され、グラム陽性菌の方が変更率が高い結果だった(表)。

内訳を見ると、「狭域かつ有効な抗菌薬への変更」が36例(19.5%)、「無効な抗菌薬から有効な抗菌薬への変更」が10例(5.4%)あった。

従来法による抗菌薬の変更は、37.8%に当たる70例であったが、「無効な抗菌薬から有効な抗菌薬への変更」が1例と少なく、「狭域や経口の抗菌薬に変更したのが主だった」(早川氏)。

所要時間については、血液培養開始から同定までがVerigeneシステムで28.3時間、従来法で90.6時間と著明な差があった。

複数菌や対象外菌種を除いた同定結果は、*Staphylococcus epidermidis*の1例を除いて従来法と一致。薬剤耐性遺伝子についても従来法と100%一致した。

耐性検出、海外入院症例にも有益

Verigeneシステムの敗血症パネルは、BC-GPが*mecA*、*vanA*、*vanB*の3項目、BC-GNがCTX-M、IMP、KPC、NDM、OXA、VIMの6項目の薬剤耐性遺伝子をそれぞれ検出する。

早川氏は、感染症法に基づくCRE(カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症)の届け出件数は年計1669例(2015年)に上りうち24%は菌血症・敗血症だとする一方、自験例ではIMP型のカルバペネマーゼ産生菌による菌血症の致死率は40%(5例中2例)と高いことを指摘。こうした感染例でIMPを検出できれば早期に治療介入できる可能性があることを示した。

さらに、自験例では、臨床検体から分離されたESBL産生の*E.coli*のうち、医療曝露歴のない市中由来が26%(76例中20例)あったとし、また、ESBL産生菌の99%がCTX-M型を産生していたという報告を紹介。早川氏は「敗血症パネルでCTX-Mが検出できるのは非常に強みだ」と述べた。

その上で、国内発症例が少ないとされるOXAや*vanA*などの耐性遺伝子の検出意義に言及。海外入院歴のある23例から、OXA-48(*K. pneumoniae*)、VREが各1例(4.3%)確認されているとし、院内のアウトブレイクを回避する上でこうした耐性遺伝子を検出できることは有益だとの認識を示した。

病態診断に寄与の症例も

早川氏はまた、Verigeneシステムが有効だった3つの症例についても報告した。複数抗菌薬をより狭域の単剤に変えたり、無効抗菌薬を有効に変更したなどの症例で、このうち20代女性の症例は、VerigeneシステムによりA群溶連菌の菌血症であることが判明し、迅速な病態診断にも寄与したことを示した。

| | Verigene test | | | 従来法 | | |
|--------------------------------------|---------------|------------|------------|---------------|------------|------------|
| | Total (n=185) | GP (n=41) | GN (n=144) | Total (n=185) | GP (n=41) | GN (n=144) |
| 抗菌薬変更率 | 51 (27.6%) | 17 (41.5%) | 34 (23.6%) | 70 (37.8%) | 16 (39%) | 54 (37.5%) |
| 狭域かつ有効な抗菌薬への変更 | 36 (19.5%) | 13 (31.7%) | 23 (16%) | 52 (28.1%) | 12 (29.3%) | 40 (27.8%) |
| 無効な抗菌薬から有効な抗菌薬への変更 | 10 (5.4%) | 3 (7.3%) | 7 (4.9%) | 1 (0.5%) | 0 | 1 (1.9%) |
| 従来法の結果判明後のみの抗菌薬変更 | NA | NA | NA | 57 (30.8%) | 12 (29.3%) | 45 (31.3%) |
| Verigene検査後の抗菌薬変更に加え、従来法の結果判明後の抗菌薬変更 | NA | NA | NA | 13 (7%) | 4 (9.8%) | 9 (6.3%) |

Hayakawa K, et al. ID week 2016