

[原 著]

PCR法を用いた methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* 菌血症の
迅速診断と抗菌薬適正使用への効果

池町真実¹⁾・竹川啓史¹⁾・池成拓哉¹⁾・国宝香織¹⁾・宮川一也²⁾・山本 剛³⁾

¹⁾ 神戸市立西神戸医療センター臨床検査技術部

²⁾ 神戸市立西神戸医療センター総合内科

³⁾ 神戸市立医療センター中央市民病院臨床検査技術部

(令和2年6月23日受付, 令和2年9月7日受理)

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) は、院内および市中型感染症を起こす薬剤耐性菌である。特に菌血症は、methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) によるものと比較して死亡率が高い。また有効な抗菌薬が限られており難治化する場合が多く医療費の増大を招くため、MRSAの早期検出は臨床的かつ医療経済的に重要である。今回、QProbe-PCR法により血液培養陽性ボトルから直接 *nuc* および *mecA* 遺伝子の検出をすることが、MRSAを早期に検出し得るか、抗菌薬適正使用に有用であるかを検討した。*nuc* 遺伝子の感度、特異度および陽性的中率、陰性的中率は100%, 97.2%, 97.5%, 100%, *mecA* 遺伝子はそれぞれ95.2%, 93.9%, 95.2%, 93.9%と良好であった。MRSAが検出された12例中6例(50%)でvancomycin (VCM)単剤療法が、4例(33.3%)でVCMとβ-ラクタム系薬の併用療法が行われ、MSSAが検出例では全例でβ-ラクタム系薬単剤療法が行われた。QProbe-PCR法によるMRSA菌血症の迅速診断は精度が高く、早期に抗菌薬適正化が可能となった。本法のような迅速な耐性遺伝子の検出は、今後の感染症診療に有用であると考えられる。

Key words: MRSA, 血液培養, QProbe-PCR, *mecA*, antimicrobial stewardship

序 文

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) は、1961年にイギリスで初めて報告され、我が国でも1980年代以降、院内感染の主要な原因菌となっている¹⁾。MRSAは菌血症や皮膚・軟部組織感染症、人工呼吸器関連肺炎等を含む肺炎、術後感染症など重篤な感染症を引き起こす。さらに近年、入院歴や長期療養施設の入所歴などのリスク因子のない人が市中で感染する市中感染型MRSA (Community-acquired MRSA: CA-MRSA)も蔓延してきている²⁾。米国では、Panton-Valentine Leucolysin (PVL)を産生するUSA300株が多く、従来の院内感染型MRSAと置き換わりつつある³⁾。一方、国内ではUSA300株によるCA-MRSAは稀でありPVL産生株も少ないことが報告されているが近年増加傾向であり、易感染者の多い院内で蔓延すれば深刻な状況を招くこととなる⁴⁾。中でもMRSAによる菌血症はmethicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA)によるものと比較して死亡率が高く⁶⁾⁷⁾、早期に適切な治療を行うことが重要である。治療の遅れによって患者の予後悪化や治療期間および在院日数の延長、さらにはこれ

らによる医療費の増大を招くが⁵⁾、発症早期にMRSA感染症を想定した治療を行うことが困難な症例が多く存在する。そのためMRSAの正確かつ迅速な検出が重要な課題となっている。

従来の検査方法では血液培養陽性後、培地上に菌が発育するのに1日、同定・薬剤感受性検査にさらに1日必要であるため、検査結果を報告するのに最短でも2日間を要していた。MRSAを迅速に検出する方法として、MRSAの選択培地を用いたスクリーニング検査や血液培養液を用いたコアグラゼ試験およびラテックス凝集反応があるが、感度・特異度が低いこと、検査に培養後のコロニーを必要とするため当日中の判定が困難であること、前処理方法や判定基準が煩雑であるなど問題点が多い⁸⁾⁹⁾。これに対してPCR法などの核酸増幅検査は、血液培養液より直接検査を行うことが可能であるとともに短時間で耐性遺伝子の有無を検出することができる。

このような背景のもと、今回我々はQProbeを用いたPCR法を原理とした手法を用い、血液培養液から*S. aureus*に特異的な遺伝子である*nuc*およびメチシリン耐性関連遺伝子*mecA*を検出し、MRSA検出における感度および特異度、陽性的中率、陰性的中率について検討を行った。また、PCR法の導入による抗菌薬適正使用について検討を行ったので報告する。

著者連絡先：(〒651-2273) 神戸市西区梶台5-7-1
神戸市立西神戸医療センター臨床検査技術部
池町真実
TEL: 078-997-2200
FAX: 078-997-2220
E-mail: mami_ikemachi@kcho.jp

対象および方法

1. 微生物学的検査

2014年1月から2016年12月に当院細菌検査室に提出さ

Table 1. Performance of detection for *nuc* gene directly from blood culture

		<i>S. aureus</i> (n = 39)	CNS (n = 36)	Sensitivity (%) (95%CI)	Specificity (%) (95%CI)	PPV (%) (95%CI)	NPV (%) (95%CI)
<i>nuc</i> gene	positive	39*	1	100	97.2	97.5	100
	negative	0	35	(94.5-100)	(91.3-97.2)	(92.2-97.5)	(93.9-100)

*Three of the patients were retested and positive results

Table 2. Performance of detection for *mecA* gene directly from blood culture

		MR <i>Staphylo-</i> <i>coccus</i> (n = 42)	MS <i>Staphylo-</i> <i>coccus</i> (n = 33)	Sensitivity (%) (95%CI)	Specificity (%) (95%CI)	PPV (%) (95%CI)	NPV (%) (95%CI)
<i>mecA</i> gene	positive	40	2	95.2	93.9	95.2	93.9
	negative	2	31	(88.5-98.1)	(85.3-97.6)	(88.5-98.1)	(85.3-97.6)

PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value

れた血液培養検査を対象とした。血液培養検査は BacT/ALERT 3D を用いて、最大で 7 日間培養を行った。血液培養ボトルは BacT/ALERT SA および BacT/ALERT SN (以上、バイオメリュー・ジャパン) を使用した。期間中にクラスター状グラム陽性球菌が検出された 75 例 (重複患者は含めず) に対して、MicroScan POS Combo 1T (ベックマン・コールター) を用いて同定・薬剤感受性検査を実施した。薬剤感受性結果は Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) に準拠し、*S. aureus* および *S. lugdunensis* は oxacillin (MIPIC) の MIC が 4 µg/ml 以上または cefoxitin (CFX) の MIC が 8 µg/ml 以上のものを methicillin 耐性と、*S. lugdunensis* を除く coagulase negative *Staphylococcus* (CNS) は MIPIC の MIC が 0.5 µg/ml 以上のものを methicillin 耐性と判定した。

2. *nuc* および *mecA* 遺伝子の検出

2014 年 1 月から 2016 年 12 月にクラスター状グラム陽性球菌が確認された 75 症例を対象とした。対象検体は陽性確認後直ちにグラム染色を実施し、その後 PCR 検査を実施した。複数セットが陽性となった症例は、陽性となった血液培養のうちの 1 本に対し PCR 検査を実施した。検体の血液培養液をボトルから滅菌スピッツに 2 ml 抜き取り、1,500 rpm で 5 分間低速遠心することで血球成分を沈殿させた。遠心後、菌体が浮遊している上清を試料溶解液 (東洋紡) で 40 倍希釈し、その菌液を用いて GENECUBE (東洋紡) にて *nuc* (ジーンキューブテスト pp *nuc*) および *mecA* (ジーンキューブ *mecA*) 遺伝子を検出した。得られた蛍光値が検出範囲内でカットオフ値以上であれば陽性、カットオフ値以下であれば陰性と判定し、培養法を基準として、感度・特異度、陽性的中率、陰性的中率、95%CI を求めた。また、グラム染色所見より *S. aureus* が強く疑われた症例では、*nuc* 遺伝子が陰性の場合には偽陰性の可能性があるため PCR の再検査を実施し、陽性となれば *S. aureus*、陰性となれば CNS と報告した。

3. 使用抗菌薬および抗菌薬変更率

対象は、PCR 検査の結果報告を開始した 2016 年 1 月～12 月に血液培養より *S. aureus* が検出された症例とした。初期治療薬、遺伝子検査判明後の抗菌薬変更、薬剤感受性検査結

果判明後の抗菌薬変更について、診療録を後方視的に検討した。ただし、2014 年 1 月～2015 年 12 月は PCR 検査を試験的に行っており、検査結果判明から報告までの手順が統一されていないため、介入結果に偏りがある可能性を考え対象より除外した。また CNS については、採取時のコンタミネーションが含まれる可能性があることから、評価が困難であると考え対象から除外した。

本研究は神戸市立西神戸医療センター倫理委員会 (決定番号 2020-16) の承認を得ている。

結 果

1. 血液培養検査、同定薬剤感受性検査

検出された菌種は *S. aureus* が 39 例、coagulase negative *Staphylococcus* (CNS) は 36 例であった。*S. aureus* のうち MSSA が 25 例、MRSA が 14 例、CNS は MS-CNS が 8 例、MR-CNS が 28 例であった。

2. *nuc* および *mecA* 遺伝子の検出

nuc 遺伝子は陽性が 40 症例、陰性が 35 症例であり、感度 100% (95%CI 94.5-100%)、特異度 97.2% (95%CI 91.3-97.2%)、陽性的中率 97.5% (95%CI 92.2-97.5%)、陰性的中率 100% (95%CI 93.9-100%) であった (Table 1)。*nuc* 陽性例の 40 症例のうち、3 症例は初検で *nuc* 陰性と判定されたが、再検査で陽性となった。*mecA* 遺伝子は陽性が 42 症例、陰性が 33 症例であり、感度 95.2% (95%CI 88.5-98.1%)、特異度 93.9% (95%CI 85.3-97.6%)、陽性的中率 95.2% (95%CI 88.5-98.1%)、陰性的中率 93.9% (95%CI 85.3-97.6%) であった (Table 2)。

3. 使用抗菌薬および抗菌薬変更率

2016 年 1 月～12 月に血液培養より *S. aureus* が検出された 24 症例の菌種の内訳は、MSSA および MRSA とともに 12 症例ずつであり、血液培養陽性以前の初期治療より有効な抗菌薬が投与されていた症例は、MSSA では 11 例 (91.7%)、MRSA では 3 例 (25%) であった。

血液培養陽性となり PCR 検査から MSSA と判定された症例では 12 例 (100%) 全てで β-ラクタム系薬での治療が行われ、抗 MRSA 薬の併用は行われなかった。抗菌薬変更の詳細は、β-ラクタム系薬での治療が新たに開始された症例

Table 3. Antimicrobial changes based on the genotype and the susceptibility

No.	Empiric therapy	Antimicrobial changes		PCR results (<i>nuc/mecA</i>)	Final report
		Based on the genotype	Based on the susceptibility		
1	SBT/ABPC, CLDM	no change	no change	+/-	
2	CTRX	CEZ	no change	+/-	
3	MEPM	CTRX	no change	+/-	
4	CMZ	no change	no change	+/-	
5	none	CEZ	no change	+/-	
6	MEPM	CEZ	no change	+/-	
7	CMZ	no change	no change	+/-	MSSA
8	SBT/ABPC	no change	no change	+/-	
9	CTX, ABPC, VCM	CEZ	no change	+/-	
10	CTRX	no change	no change	+/-	
11	TAZ/PIPC	no change	no change	+/-	
12	MEPM, VCM	MEPM	no change	+/-	
13	CTRX, VCM	no change	no change	+/+	
14	none	VCM	no change	+/+	
15	none	VCM	no change	+/+	
16	CTRX, CLDM	VCM	no change	+/+	
17	CTRX	CTRX, VCM	no change	+/+	
18	CTRX, VCM	VCM	no change	+/+	
19	PIPC/TAZ, VCM	VCM	no change	+/+	MRSA
20	CTRX	VCM	no change	+/+	
21	CAZ	CAZ, VCM	no change	+/+	
22	CFPM	CFPM, VCM	VCM	+/+	
23	MEPM	CEZ	VCM	+/-	
24	AMPC	no change	LVFX	+/+	

ABPC, ampicillin; AMPC, amoxicillin; SBT/ABPC, sulbactam-ampicillin; TAZ/PIPC, tazobactam-piperacillin; CEZ, cefazolin; CMZ, cefmetazole; CTX, cefotaxime; CTRX, ceftriaxone; CAZ, ceftazidime; CFPM, cefepime; MEPM, meropenem; VCM, vancomycin; CLDM, clindamycin; LVFX, levofloxacin.

が1例(8.3%)、初期治療より開始されたβ-ラクタム系薬の継続が6例(50%)、β-ラクタム系薬の de-escalation が行われた症例が3例(33.3%)であった。β-ラクタム系薬と vancomycin (VCM) の併用で初期治療が開始された症例では、2例(16.7%)とも VCM が中止され、うち1例(8.3%)はβ-ラクタム系薬の de-escalation もなされた。

血液培養陽性となり PCR 検査から MRSA と判定された12症例については、VCM 単剤での治療が行われた症例が6例(50%)、β-ラクタム系薬と VCM の併用が4例(33.3%)であった。抗菌薬変更の詳細は、VCM 単剤の治療が開始された症例が2例(16.7%)、β-ラクタム系薬から VCM 単剤への変更が2例(16.7%)、β-ラクタム系薬に VCM の追加が行われた症例が3例(25%)、β-ラクタム系薬と VCM の併用の継続が1例(8.3%)、β-ラクタム系薬と VCM の併用からβ-ラクタム系薬が中止された症例が2例(16.7%)、薬剤感受性判明後にβ-ラクタム系薬から VCM に変更された症例が1例(8.3%)、その他の薬剤で治療された症例が1例(8.3%)であった (Table 3)。

考 察

MRSA 血流感染症を早期に診断し適切な治療を始めるためには、検出法に迅速性および高い感度および特異度が求め

られる。今回我々は、血液培養液を用いて *nuc* および *mecA* 遺伝子の検出を行ったところ、感度および特異度とも良好な結果が得られた。この結果は、飛田らが行った結果と同等であった¹⁰⁾。

QProbe を用いた PCR 法は、*S. aureus* に特異的な塩基配列 (*nuc* 遺伝子) および、メチシリン耐性遺伝子 (*mecA* 遺伝子) を核酸増幅し、その後、標的核酸の一部に特異的な配列をもつ *nuc* QProbe および *mecA* QProbe を、増幅核酸にハイブリダイゼーションさせて蛍光値の変化を解析することで遺伝子を検出する。増幅された DNA は蛍光標識された QProbe とハイブリダイズする。DNA に結合すると、QProbe の蛍光はグアニン塩基によって消失するが、その後、温度を徐々に上昇させることで QProbe が DNA から乖離し、再び蛍光が現れる。この蛍光強度の変化を検出することで、標的遺伝子を検出する¹⁰⁾。また、内部コントロールを増幅および検出の反応系に組み込むことで、臨床検体由来の妨害物質による増幅阻害を確認することが可能になり、偽陰性を防ぐことができる。PCR 法の所要時間は最短約 30 分であり、耐性遺伝子の有無を迅速に検査することが可能である。

本検討では *S. aureus* において *nuc* 遺伝子が陰性となる例が3例あったが、血液培養液のグラム染色では、*S. aureus* が強く疑われる所見があり、PCR を再検したところ *nuc* 遺

伝子陽性となった。偽陰性となった原因として、*S. aureus* はクラスター形成が強く、1,500rpm、5分の低速遠心であっても、菌体が沈殿してしまいPCRの増幅不良が起こった可能性が考えられる。グラム染色で*S. aureus*を疑うことは可能であり¹¹⁾¹²⁾、グラム染色での推定菌と遺伝子検査の結果が一致しない場合、増幅不良の可能性を考え、再度検査を行う必要があると考えた。加えて、遠心することによって菌体が沈殿しないよう新たな前処理方法を検討する必要がある。

また *mecA* 遺伝子は陽性であるが、methicillin 感受性となる例が2例あった。これは、PBP2'の産生量が少なかったためと予測される。CLSI M100-ED30では、*mecA* 遺伝子陽性でCFX感受性となった場合は、分離されたコロニーより薬剤感受性試験およびPCR検査の再検査を推奨しており、それらの結果が解離した場合は、MRSAと報告することとしている¹³⁾。これをMSSAと判断しβ-ラクタム系薬を投与した場合、PBP2'の産生量が増加し耐性化することで治療に失敗する可能性があるため¹⁴⁾、当院では*mecA* 遺伝子陽性の場合methicillinが感受性となってもMRSAと報告しており、CNSについても同様の結果報告方法としている。今回は2例ともPCR検査結果に基づいてmethicillin耐性菌と報告したが、いずれもCNSであり結果報告時にコンタミネーションと判断されたため抗菌薬が変更されることはなかった。

一方で、*mecA* 遺伝子陰性であるがmethicillin耐性となる例も2例みられた。この原因として、PCRの増幅不良や*mecC* 遺伝子の可能性が考えられる。*mecC* 遺伝子は2007年にイギリスでウシの乳腺炎から検出され、2011年以降はヨーロッパでヒトからも分離されている¹⁵⁾¹⁶⁾。診断には*mecC* 遺伝子の検出が必要であるが、典型的な感受性パターンとしてはMIPICに感受性を示し、CFXに耐性を示すことが知られている¹⁷⁾。これらのことから、*mecA* 遺伝子陰性であるがMIPIC耐性となった原因は*mecC* 遺伝子によるものではなく、PCRの増幅不良が原因であった可能性が高い。

また、PCR検査で*nuc* 遺伝子陽性であったが、最終同定結果がCNSとなった例が1例みられた。原因として、極少量の*S. aureus*が混在していたが分離培養でCNSの発育が優勢であり、*S. aureus*の分離が困難であった可能性がある。また、操作時に*S. aureus*のコンタミネーションを起こした可能性も考えられる。

PCR検査は迅速で感度および特異度の高い検査であるが、検査の限界も存在する。例えば、血液培養よりMSSAおよびMR-CNSが同時に検出された場合には、PCR検査ではMRSAと誤って判定されることとなる。また、複数セットが陽性となった症例で1本のボトルのみを用いてPCR検査を実施した場合に、他のボトルで異なる菌が発育していれば、検出菌すべての結果を報告できない可能性がある。そのためPCR検査と同時に培養法を用いてコロニーの発育状態や形態的特徴および生化学性状を確認することが必要であり、PCR検査と培養法の両方の結果をもとに最終報告を行う必要がある。

S. aureus 血流感染症は死亡率が高く、早期に適切な抗菌薬の投与が必要である。菌血症発症後、44.75時間以内に適切な治療を開始しなければ、感染症による死亡率の増加や入院期間が延長することが知られている⁵⁾。そのため、MRSA

であるかどうか判明するまでは、初期治療の遅れを防ぐために経験的治療としてVCMなどの抗MRSA薬による治療が開始されるが、MSSA菌血症であるにも関わらずVCMを投与し続けた場合、β-ラクタム系薬であるcefazolin (CEZ)などによる標的治療を行った場合と比較して治療成功率が低下するという報告がある¹⁸⁾。当院でもPCR法導入前は血液培養からクラスター状グラム陽性球菌が検出された症例の初期治療としてVCMにCEZの併用を行っていたが、過剰な抗菌薬投与となることが問題であった。既報では、PCR法を導入することでVCMからβ-ラクタム系薬へ早期にde-escalationが可能であったと報告されており¹⁹⁾、特にMSSA菌血症時には多くの症例でVCMの中止が可能であった²⁰⁾。当院でもPCR法の導入によって、MSSA菌血症例では全例でβ-ラクタム系薬単剤療法が、MRSA菌血症例では50%でVCM単剤療法が可能となり、既報同様に抗菌薬適正使用に有用であった。

本検討には幾つかの限界がある。第一に、遺伝子検査結果と同定および薬剤感受性結果が不一致であった例についての、再検査や他の遺伝子検査、PBP2'の確認は実施出来ていないことである。今回、結果に不一致がみられた症例は全例CNSであり臨床的にコンタミネーションと判断された。検出意義の低い菌であったため、検査結果が不一致となったが再検査や他の確認試験は行わなかった。そのため今回結果が不一致となった原因は明らかとなっていない。第二に、PCR法導入後の症例のみを対象とした研究であり、導入前の症例と抗菌薬変更のタイミングや抗菌薬適正化についての比較は出来ていないことである。本研究でPCR法を用いてMRSAを迅速に同定することで、MIC値が判明するより1日早くMRSAが予測出来るようになったが、抗菌薬適正化までの時間がどの程度短縮可能であったか、抗菌薬の使用状況に変化があったのかについては評価できていない。

今回の検討により、血液培養陽性ボトルから直接*nuc*および*mecA* 遺伝子を迅速に検出することは、早期に抗菌薬の適正化が可能となることが示唆された。本法のような迅速な耐性遺伝子の検出は、今後の感染症診療に有用であると考えられる。

利益相反：申告すべき利益相反なし

文 献

- 1) Grundmann, H., M. Aires-de-Sousa, J. Boyce, et al. 2006. Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *Lancet* 368: 874-885.
- 2) 伊藤輝代, 桑原京子, 久田 研, 他. 2004. 市中感染型MRSAの遺伝子構造と診断. *感染症誌* 78: 459-469.
- 3) Glaser, P., P. Martins-Simões, A. Villain, et al. 2016. Demography and Intercontinental Spread of the USA300 Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Lineage. *MBio* 7: e02183-e02115.
- 4) Kawaguchiya, M., N. Urushibara, S. Ghosh, et al. 2013. Genetic diversity of emerging Pantone-Valentine leukocidine/arginine catabolic mobile element (ACME)-positive ST8

- SCC*mec*-IVa methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains and ACME-positive CC5 (ST5/ST764) MRSA strains in northern Japan. *J. Med. Microbiol* 62: 1852-1863.
- 5) Lodise, T. P., P. S. McKinnon, L. Swiderski, et al. 2003. Outcomes Analysis of Delayed Antibiotic Treatment for Hospital-Acquired *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Clin. Infect. Dis* 36: 1418-1423.
 - 6) Cosgrove, S. E., G. Sakoulas, E. N. Perencevich, et al. 2003. Comparison of Mortality Associated with Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Bacteremia: A Meta-analysis. *Clin. Infect. Dis* 36: 53-59.
 - 7) Yilmaz, M., N. Elaldi, İ. İ. Balkan, et al. 2016. Mortality predictors of *Staphylococcus aureus* bacteremia: a prospective multicenter study. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 15: 7.
 - 8) Qian, Q., K. Eichelberger, J. E. Kirby. 2007. Rapid identification of *Staphylococcus aureus* in blood cultures by use of the direct tube coagulase test. *J. Clin. Microbiol* 45: 2267-2269.
 - 9) Hermsen, E. D., S. S. Shull, D. G. Klepser, et al. 2008. Pharmacoeconomic analysis of microbiologic techniques for differentiating staphylococci directly from blood culture bottles. *J. Clin. Microbiol* 46: 2924-2929.
 - 10) Hida, Y., K. Uemura, H. Sugimoto, et al. 2019. Evaluation of performance of the GENECUBE assay for rapid molecular identification of *Staphylococcus aureus* and methicillin resistance in positive blood culture medium. *PLoS ONE* 14: e0219819.
 - 11) Murdoch, D. R., R. L. Greenlees. 2004. Rapid identification of *Staphylococcus aureus* from BacT/ALERT blood culture bottles by direct Gram stain characteristics. *J. Clin. Pathol* 57: 199-201.
 - 12) 近藤成美, 山田俊彦, 三澤成毅, 他. 2008. 血液培養液中のブドウ球菌属の塗抹グラム染色による形態学的鑑別. *感染症誌* 82: 656-657.
 - 13) Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: M100-ED 30 CLSI, Wayne, Pa. 2020.
 - 14) Kumar, V. A., K. Steffy, M. Chatterjee, et al. 2013. Detection of Oxacillin-Susceptible *mecA*-Positive *Staphylococcus aureus* Isolates by Use of Chromogenic Medium MRSA ID. *J. Clin. Microbiol* 51: 318-319.
 - 15) García-Álvarez, L., M. T. Holden, H. Lindsay, et al. 2011. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *Lancet. Infect. Dis* 11: 595-603.
 - 16) Ford, B. A.. 2018. *mecC*-Harboring Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Hiding in Plain Sight. *J. Clin. Microbiol* 56: e01549-17.
 - 17) Kolenda, C., C. Dupieux, J. W. Decousser, et al. 2017. Comparison of Automated Antimicrobial Susceptibility Testing Systems To Detect *mecC*-Positive Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol* 55: 3554-3556.
 - 18) Kim, S. H., K. H. Kim, H. B. Kim, et al. 2008. Outcome of Vancomycin Treatment in Patients with Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 52: 192-197.
 - 19) Bauer, K. A., J. E. West, J. M. Balada-Llasat, et al. 2010. An Antimicrobial Stewardship Program's Impact with Rapid Polymerase Chain Reaction Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*/*S. aureus* Blood Culture Test in Patients with *S. aureus* Bacteremia. *Clin. Infect. Dis* 51: 1074-1080.
 - 20) Juttukonda, L. J., S. Katz, J. Gillon, et al. 2020. Impact of a Rapid Blood Culture Diagnostic Test in a Children's Hospital Depends on Gram-Positive versus Gram-Negative Organism and Day versus Night Shift. *J. Clin. Microbiol* 58: e01400-e01419.

Rapid *nuc* and *mecA* Gene Testing by Polymerase Chain Reaction is Useful to Choose Appropriate Antibiotics in *Staphylococcus aureus* Bacteremia

Mami Ikemachi¹⁾, Hiroshi Takekawa¹⁾, Takuya Ikenari¹⁾, Kaori Kokuho¹⁾, Kazuya Miyagawa²⁾, Go Yamamoto³⁾

¹⁾Department of Clinical Laboratory, Kobe City Nishi-Kobe Medical Center

²⁾General Internal Medicine, Kobe City Nishi-Kobe Medical Center

³⁾Department of Clinical Laboratory, Kobe City Medical Center General Hospital

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is a multidrug-resistant pathogen. In particular, MRSA bacteremia has a higher mortality than Methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) bacteremia and is often troublesome to treat due to the multiple antimicrobial resistance. Quick and accurate detection of MRSA is critical to improve the prognosis of *S. aureus* bacteremia. Here we report the accuracy of *nuc* and *mecA* gene analysis, specific for *S. aureus* and MR *Staphylococcus* spp., respectively, using a QProbe method directly from blood culture bottles and their efficacy on appropriate choice of antibiotics. We analyzed 75 cases in which *Staphylococcus* spp. was detected in blood culture. The sensitivity, specificity, positive and negative predictive value (PPV and NPV) of *nuc* testing to detect *S. aureus* based on conventional cultures were very high (100%, 97.2%, 97.5%, 100% respectively). *mecA* testing also exhibited high sensitivity, specificity, PPV and NPV to detect MRSA (95.2%, 93.9%, 95.2%, 93.9% respectively). In 24 cases with *S. aureus* bacteremia, we retrospectively examined the ratio of antimicrobial changes based on the genotype. Of the 12 cases with MRSA, 6 cases (50.0%) were treated with vancomycin (VCM) monotherapy and 4 cases (33.3%) were treated with β -lactam antibiotic on VCM. Of the 12 cases with MSSA, all patients were treated with β -lactam antibiotic without adding VCM. Our study indicates that *nuc* and *mecA* genotyping is quick and accurate to separate MRSA from MSSA, which could result in an appropriate choice of antibiotics and better outcome against *S. aureus* bacteremia.