

新しい敗血症診断用検査薬を用いた遺伝子関連検査 Verigene[®]の実施指針

(2017年3月1日)

一般社団法人日本臨床微生物学会 感染症領域新規検査検討委員会
一般社団法人日本感染症学会 感染症遺伝子検査委員会

■新しい敗血症診断用検査薬を用いた遺伝子関連検査の実施指針

1. 新しい敗血症診断用検査薬 Verigene[®]の製品概要
2. 新しい敗血症診断用検査薬 Verigene[®]の検査実施指針

■添付資料

1. 新しい敗血症診断用検査薬 Verigene[®]の製品概要
2. 新しい敗血症診断用検査薬 Verigene[®]の検出性能
3. 新しい敗血症診断用検査薬 Verigene[®]のルーチン検査における検出カバー率

一般社団法人日本臨床微生物学会 感染症領域新規検査検討委員会

- 委員長 三鴨 廣繁（愛知医科大学大学院医学研究科臨床感染症学）
- 副委員長 柳原 克紀（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科展開医療科学講座病態解析・診断学分野）
- 委員 石井 良和（東邦大学医学部微生物・感染症学講座）
- 大楠 清文（東京医科大学微生物学講座）
- 大塚 喜人（亀田総合病院診療部 臨床検査科）
- 國島 広之（聖マリアンナ医科大学感染症学講座）
- 細川 直登（亀田総合病院総合診療・感染症科）
- 柳沢 英二（株式会社マイクロスカイラボ）

一般社団法人日本感染症学会 感染症遺伝子検査委員会

- 委員長 柳原 克紀（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科展開医療科学講座病態解析・診断学分野）
- 委員 賀来 敬仁（長崎大学病院検査部）
- 高倉 俊二（京都大学大学院医学研究科臨床病態検査学）
- 館田 一博（東邦大学医学部微生物・感染症学講座）
- 松本 哲哉（東京医科大学微生物学分野）
- 三鴨 廣繁（愛知医科大学大学院医学研究科臨床感染症学）

1. 新しい敗血症診断用検査薬 Verigene[®]の製品概要

1) 製品名・検出項目数（参照：添付資料 1）

①「Verigene[®]血液培養グラム陽性菌・薬剤耐性核酸テスト(BC-GP)」 体外診断用医薬品
グラム陽性菌 12 項目、薬剤耐性遺伝子 3 項目

②「Verigene[®]血液培養グラム陰性菌・薬剤耐性核酸テスト(BC-GN)」 体外診断用医薬品
グラム陰性菌 9 項目、薬剤耐性遺伝子 6 項目

2) 測定

両検査薬は、血液培養液のグラム染色試験の結果に基づいて、使い分けられる。

-測定試料：血液培養液検体を前処理無しで用いる

-測定：専用の自動遺伝子解析装置である Verigene[®]システム(医療機器)で測定

-測定時間：BC-GP 約 2 時間 30 分
BC-GN 約 2 時間

-測定結果：血液培養液中の細菌名、薬剤耐性遺伝子の検出・同定

3) 検出性能（体外診断用医薬品申請データ、参照：添付資料 2）

-細菌同定：従来法との比較評価

	<u>BC-GP</u>	<u>BC-GN</u>
陽性一致率	96.5%(499/517)	98.3%(355/361)
陰性一致率	99.9%(3,630/3,635)	99.9%(3,310/3,311)

-薬剤耐性遺伝子：PCR との一致率

	<u>BC-GP</u>	<u>BC-GN</u>
陽性一致率	97.2%(103/106)	99.3%(151/152)
陰性一致率	100.0% (149/149)	99.3%(151/152)

4) 検査の迅速化

血液培養試験の陽性判定から約 3 時間以内に、全血液培養陽性検体のうち 7~8 割以上の検体中の菌名と薬剤耐性遺伝子の有無を明らかにすることができる。(添付資料 3) その結果、臨床医には、

- ① 血液培養試験で検出した細菌の菌名と薬剤耐性情報を同時に、かつ既存の同定・感受性試験に比べて 1~2 日早く、提供することができる。
- ② 特に、薬剤耐性遺伝子を検出することで、既存の薬剤感受性試験では判定不能な未発現の薬剤耐性能情報を、事前に提供することができる。

5) 治療および医療経済上の有用性

本検査薬による検査結果に基づいた敗血症患者に対する有効抗菌薬への早期切り替えや抗菌薬の de-escalation による Definitive Therapy への移行は、患者の病態の早期改善、死亡率の低減、薬剤耐性菌の感染制御等に貢献することが期待される。また、以下の医療上の経済効果も期待できる。

- ①投薬費用の削減
- ②治療・入院費用の削減、入院回転率の改善
- ③検査費用の削減
- ④薬剤耐性菌に対する院内感染対策費用の軽減
- ⑤死亡率の低下による人的資源の確保、等

2. 新しい敗血症診断用検査薬 Verigene[®]の検査実施指針

1) 検査

敗血症の原因菌及び関連する薬剤耐性遺伝子群の特異核酸同時検出
(微生物核酸同定・定量検査)

2) 推奨される保険医療機関

感染症専門医もしくは臨床検査専門医に加え、感染制御認定臨床微生物検査技師(ICMT)もしくは認定臨床微生物検査技師が在籍する医療機関での検査を推奨する。検査結果を適正に判断するために感染症専門医もしくは臨床検査専門医は必須である。

3) 対象患者

敗血症あるいは血管内留置カテーテル関連血流感染症を疑い血液培養試験が陽性となった患者に対して検査を実施する。特に、敗血症の診断基準の一つである qSOFA(quick SOFA)スコアが陽性*となった患者を対象とする。

*qSOFA(quick SOFA)スコア:「意識の変容」、「収縮期血圧 100 mmHg 以下」、「呼吸数 22 /分以上」のうち、2 項目以上を満たす場合を陽性とする。

参考:敗血症の定義および診断については、「JAID/JSC 感染症治療ガイド 2014」I 敗血症(p1-20) (日本感染症学会・日本化学療法学会発行)および「日本版敗血症ガイドライン」Ⅲ. 診断と感染症に対する治療 1.敗血症の定義と診断 (日本集中治療医学会誌 Vol.20 No.1p127-130)を参照されたい。

4) 検査の目的・位置付け

血液培養液中の菌特異遺伝子と薬剤耐性遺伝子の同時検出による治療薬の選択を目的とし、血液培養試験が陽性判定後、グラム染色試験と合わせて本検査薬による検査を実施する。

5) 検査のタイミング・頻度

血液培養試験陽性判定後、出来るだけ速やかに実施する。原則として、1患者1エピソードにつき1回とするが、再感染や異菌種による複合感染等を疑う場合は、その限りではない。

6) 対象検体

血液培養陽性液を測定検体とする。
ただし、陽性ボトルの種類や本数、グラム染色試験結果等により、検出対象外となる真菌類や採血時の汚染菌でないことを確認し、BC-GP あるいは BC-GN を選択し検査を実施する。

なお、汚染菌の判定法については、日本臨床微生物学雑誌「血液培養検査ガイド: 112-119、第 5 章 結果の解釈と報告法」Vol.23 Supplement 1. 2013 を参考のこと。

7) 結果解釈

血液培養液から検出された菌の菌名と薬剤耐性遺伝子の結果に加え、患者の病態並びに院内における Anti-biogram 等を十分に考慮して、有効かつ適正な抗菌薬剤を選択する。特に、菌名と薬剤耐性遺伝子の検出・同定結果から、以下の多剤耐性菌と判定された場合あるいはその可能性が否定される場合は、速やかにより有効かつ適切な薬剤投与(Definitive Therapy)への変更を検討する。

多種薬剤耐性遺伝子と多剤耐性菌

<グラム陽性菌群>

薬剤耐性遺伝子

①メチシリン耐性遺伝子 (PBP2 産生遺伝子)

検出項目 1 種類: *mecA* (*mecA*)

②バンコマイシン耐性遺伝子 (細胞壁前駆体末端変異遺伝子)

検出項目 2 種類: *vanA* (*vanA*), *vanB* (*vanB*)

多剤耐性菌

- ・MRSA (メチシリン耐性黄色ブドウ球菌)
- ・MRSE (メチシリン耐性表皮ブドウ球菌)
- ・VRE (バンコマイシン耐性腸球菌)

<グラム陰性多剤耐性菌>

薬剤耐性遺伝子

①ペニシリン系、セファロスポリン系薬剤耐性遺伝子(β -ラクタマーゼ/ESBL 産生遺伝子)

検出項目 1 種類: CTX-M (*bla*_{CTX-M})

② β -ラクタム系薬剤耐性遺伝子(β -ラクタマーゼ/メタロ- β -ラクタマーゼ産生遺伝子)

検出項目 3 種類: IMP (*bla*_{IMP}), VIM (*bla*_{VIM}), NDM (*bla*_{NDM})

③ β -ラクタム系薬剤耐性遺伝子(β -ラクタマーゼ/*Klebsiella pneumoniae* カルバペネマーゼ産生遺伝子)

検出項目 1 種類: KPC (*bla*_{KPC})

④オキサシリン系薬剤耐性遺伝子(β -ラクタマーゼ/オキサシリナーゼ産生遺伝子)

検出項目 1 種類: OXA (*bla*_{OXA})

多剤耐性菌

- ・CPE (カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌)
- ・ESBL (基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生菌)
- ・MBL (メタロ- β -ラクタマーゼ産生菌)
- ・多剤耐性緑膿菌 (MDRP)
- ・多剤耐性アシネトバクター属菌 (MDRA)、等

なお、抗菌薬の選択にあたっては、「JAID/JSC 感染症治療ガイド 2014」I 敗血症 (p1-20)、XVII 耐性菌、ブレイクポイント、PK-PD、A 耐性菌 (p.287-293) (日本感染症学会・日本化学療法学会発行) または「日本版敗血症ガイドライン」3. 抗菌薬療法 (日本集中治療医学会誌 Vol.20 No.1.p132-143) を参照されたい。

■添付資料 1:新しい敗血症診断用検査薬 Verigene[®]の製品概要

1) 製品名および検出項目

①「Verigene[®]血液培養グラム陽性菌・薬剤耐性核酸テスト(BC-GP)」

-体外診断用医薬品

承認番号 22800AMI00001000、承認年月日 平成28年 4月 26日

-検出項目

- ① *Staphylococcus* spp., *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. lugdunensis*
Streptococcus spp., *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*
S. agalactiae, *S. anginosus* group
Enterococcus faecalis, *Enterococcus faecium*
Listeria spp. 12 項目
- ② *mecA* 1 項目
- ③ *vanA*, *vanB* 2 項目

②「Verigene[®]血液培養グラム陰性菌・薬剤耐性核酸テスト(BC-GN)」

-体外診断用医薬品

承認番号 22800EZX00025000、承認日 平成 28 年 4 月 26 日

-検出項目

- ① *Acinetobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp.
Escherichia coli, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*
Proteus spp., *Pseudomonas aeruginosa*,
Serratia marcescens 9 項目
- ② CTX-M (*bla*_{CTX-M}), IMP (*bla*_{IMP}), KPC (*bla*_{KPC}), NDM (*bla*_{NDM})
OXA (*bla*_{OXA}), VIM (*bla*_{VIM}) 6 項目

2) 検査の目的

BC-GP は血液培養試験が陽性となった培養液中のグラム陽性菌の核酸同定および薬剤耐性遺伝子の検出、BC-GN は血液培養試験が陽性となった培養液中のグラム陰性菌の核酸同定および薬剤耐性遺伝子の検出を目的とし、血流中の病原性細菌感染および薬剤耐性菌感染の診断補助に用いる。

■添付資料 2：新しい敗血症診断用検査薬 Verigene® の検出性能

① BC-GP

BC-GP

表1: 菌名におけるBC-GPと従来法^{*1}との一致率

測定項目/3属8菌種1グループ	陽性一致率	陰性一致率
<i>Staphylococcus</i> spp.	98.1% (151 / 154) *2	100.0% (192 / 192)
<i>Staphylococcus aureus</i>	100.0% (58 / 58)	100.0% (288 / 288)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	95.9% (47 / 49) *3	99.3% (295 / 297) *4
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	100.0% (10 / 10)	100.0% (336 / 336)
<i>Streptococcus</i> spp.	94.5% (103 / 109) *5	100.0% (237 / 237)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	100.0% (10 / 10)	100.0% (336 / 336)
<i>Streptococcus anginosus</i> group	84.6% (11 / 13) *6	100.0% (333 / 333)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	90.0% (9 / 10) *7	100.0% (336 / 336)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	90.9% (20 / 22) *8	99.1% (321 / 324) *9
<i>Enterococcus faecium</i>	97.6% (40 / 41) *10	100.0% (305 / 305)
<i>Enterococcus faecalis</i>	97.1% (34 / 35) *11	100.0% (311 / 311)
<i>Listeria</i> spp.	100.0% (6 / 6)	100.0% (340 / 340)
合計	96.5% (499 / 517)	99.9% (3630 / 3635)

*1 A社既承認体外診断用医薬品、またはB社既承認体外診断用医薬品

不一致例の解析結果は下記の通り。

*2 MALDI TOF-MSで各々 *Staphylococcus haemolyticus*、*Staphylococcus caprae*、*Staphylococcus epidermidis* と同定。

*3 MALDI TOF-MSで、各々 *Staphylococcus caprae*、*Staphylococcus epidermidis* と同定。

*4 2件共に、従来法で、*Staphylococcus* spp.、MALDI TOF-MSで *Staphylococcus epidermidis* と同定。

*5 6件の内訳は下記の通り。

1) 従来法で、*Streptococcus anginosus* group、連鎖球菌C抗原テスト: (+)

2) 検体はATCC株 *Streptococcus mitis*。

3) C社既承認体外診断用医薬品で *Streptococcus mitis* と同定。

4) C社既承認体外診断用医薬品で *Streptococcus acidominimus* と同定。

5) 検体はATCC株 *Streptococcus sobrinus*。

6) 検体はATCC株 *Streptococcus mutans*。

*6 1件は、連鎖球菌C抗原テスト: (+)

1件は、ATCC株 *Streptococcus anginosus* group。

*7 MALDI TOF-MSで *Streptococcus pyogenes* と同定。

*8 2件共に、オプトヒンテスト感受性。

*9 2件は、従来法で *Streptococcus mitis*。既知の交差反応。

1件は、従来法で *Streptococcus oralis*、オプトヒンテスト耐性。

*10 MALDI TOF-MSで *Enterococcus faecium* と同定。

*11 MALDI TOF-MSで *Enterococcus faecalis* と同定。

表2: 薬剤耐性遺伝子におけるBC-GPと従来法^{*1}との一致率

測定項目	陽性一致率	陰性一致率
<i>mecA</i> ^{*2}	95.8% (69 / 72) *3	100% (274 / 274)
<i>vanA</i>	100.0% (14 / 14)	100% (332 / 332)
<i>vanB</i>	100.0% (20 / 20)	100% (326 / 326)
合計	97.2% (103 / 106)	100% (932 / 932)

*1 A社既承認体外診断用医薬品、またはB社既承認体外診断用医薬品

*2 BC-GPは *Staphylococcus aureus*、または *Staphylococcus epidermidis* 検出の場合に判定。

*3 不一致例3件の解析結果は下記の通り。

1) BC-GPで *S. aureus*、*S. epidermidis* 未検出のため、*mecA*未判定。PCR法で *mecA*: (+)。

2) BC-GPで *S. aureus*、*S. epidermidis* 未検出のため、*mecA*未判定。PCR法で *mecA*: (+)。

3) PCR法で *mecA*: (+)。

引用元

表1: 体外診断用医薬品 製品添付文書 P4【臨床的意義】1.国内(1)細菌同定 対照法: 既承認体外診断用医薬品A社およびB社との合算値。

表2: 体外診断用医薬品 製品添付文書 P5(2)薬剤耐性遺伝子 対照法: 既承認体外診断用医薬品A社およびB社との合算値。製品添付文書の掲載先 PMDAホームページ:

http://www.info.pmda.go.jp/downfiles/ivd/PDF/530555_22800AMI00001000_A_01_01.pdf

参考文献

Ken Kikuchi, et al. Potential Impact of Rapid Blood Culture Testing for Gram-Positive Bacteremia in Japan with the Verigene Gram-Positive Blood Culture Test. Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology 2017; Article ID 4896791, 10pages

② BC-GN

BC-GN

表1: 菌名におけるBC-GNと従来法^{*1}との一致率

測定項目	陽性一致率	陰性一致率
<i>Acinetobacter</i> spp.	100.0% (33 / 33)	100.0% (375 / 375)
<i>Citrobacter</i> spp.	95.0% (19 / 20) *2	100.0% (388 / 388)
<i>Enterobacter</i> spp.	98.5% (66 / 67) *3	100.0% (341 / 341)
<i>Proteus</i> spp.	100.0% (14 / 14)	100.0% (394 / 394)
<i>Escherichia coli</i>	100.0% (88 / 88)	100.0% (320 / 320)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ⁺	97.8% (45 / 46) *4	100.0% (362 / 362)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	95.2% (20 / 21) *5	99.7% (386 / 387) *6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	96.2% (50 / 52) *7	100.0% (356 / 356)
<i>Serratia marcescens</i>	100.0% (20 / 20)	100.0% (388 / 388)
合計	98.3% (355 / 361)	99.97% (3310 / 3311)

*1 A社既承認体外診断用医薬品、またはB社既承認体外診断用医薬品
不一致例の解析結果は下記の通り。

*2 従来法で *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Aeromonas sobria* の3菌種同定。

*3 16s rRNA解析で *Enterobacter cloacae* と同定。

*4 16s rRNA解析で *Klebsiella rhinoscleromatis* と同定。

*5 従来法で *Klebsiella oxytoca* と *Aeromonas sobria* との2菌種同定。

*6 従来法で *Raoultella ornithinolytica* と同定。既知の交差反応。

*7 2件共に、従来法で *Enterobacter cloacae* と *Pseudomonas aeruginosa* の2菌種同定。

表2: 薬剤耐性遺伝子におけるBC-GNと従来法^{*1}との一致率

測定項目	陽性一致率	陰性一致率
CTX-M	100.0% (62 / 62)	100.0% (349 / 349)
KPC	100.0% (1 / 1)	100.0% (410 / 410)
NDM	100.0% (4 / 4)	100.0% (407 / 407)
VIM	100.0% (2 / 2)	100.0% (409 / 409)
IMP	98.9% (87 / 88) *2	100.0% (323 / 323)
OXA	100.0% (3 / 3)	100.0% (408 / 408)
合計	99.4% (159 / 160)	100.0% (2306 / 2306)

*1 A社既承認体外診断用医薬品、またはB社既承認体外診断用医薬品

不一致例の解析結果は下記の通り。

*2 菌名 *Acinetobacter* sp.、従来法の薬剤感受性試験結果からOXA(+)/IMP(+)⁺を疑う、BC-GNでOXA(+)/IMP(-)⁻、PCR法ではOXA58 like(+)/IMP-1グループ(-)/IMP-2グループ(-)。

引用元

表1: 体外診断用医薬品 製品添付文書 P5 1.グループ1(1)細菌同定 対照法: 既承認体外診断用医薬品A社およびB社との合算値。

表2: 体外診断用医薬品 製品添付文書 P5 1.グループ1(2)薬剤耐性遺伝子 対照法: 既承認体外診断用医薬品A社およびB社との合算値。

製品添付文書の掲載先 PMDAホームページ:

http://www.info.pmda.go.jp/downfiles/ivd/PDF/530555_22800AMI00001000_A_01_01.pdf

参考文献

1. Uno N, 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. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2015; 83: 344-348

2. Tojo M, et al. Evaluation of an automated rapid diagnostic assay for detection of gram-negative bacteria and their drug-resistance genes in positive blood cultures. *PLOS One* 2014; 9: e94064

■添付資料3：新しい敗血症診断用検査薬 Verigene®のルーチン検査における検出カバー率

「パイロットスタディー：日本の病院における血液培養最終状況および陽性率の実態調査」日本臨床微生物学雑誌 Vol.22 No.1 2012; 13-19)

血液培養検査から分離された菌 5,347 株の菌種毎検出数データを基に、BC-GP、BC-GN 両検査薬が血液培養試験陽性検体から検出・同定できる割合を試算した。全体検体数/菌株数の 8 割以上が、両パネルにより検出可能であった。

「2009 年度の検出微生物の内訳-6 施設分の合計」5,347 菌株の出現頻度データを下記表に転記し、BC-GP および BC-GN による検出可能な菌種情報を追記

血液培養陽性ボトルから検出された細菌の内訳 (2009年度, 6施設 総株数5,347株)				BC-GPとBC-GNの検出カバー率		
No.	菌名	出現頻度 A (%)	菌株数算定 (5,347×A%)	グラム陽性 (GP) グラム陰性 (GN)	BC-GP 検出項目	BC-GN 検出項目
1	Coagulase-negative staphylococci	24	1,283	GP	○	-
2	<i>Escherichia coli</i>	14	749	GN	-	○
3	<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)	8	428	GP	○	-
4	<i>Klebsiella</i> spp.	8	428	GN	-	○
5	<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	6	321	GP	○	-
6	<i>Enterococcus</i> spp.	5	267	GP	○	-
7	<i>Streptococcus</i> spp. (S.Pneumoniaeを除く)	4	214	GP	○	-
8	<i>Candida</i> spp.	5	267	その他	-	-
9	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	214	GN	-	○
10	<i>Enterobacter</i> spp.	3	160	GN	-	○
11	<i>Bacteroides</i> spp.	2	107	GN	-	×
12	<i>Staphylococcus pneumoniae</i>	2	107	GP	○	-
13	<i>Serratia</i> spp.	2	107	GN	-	○
14	Other gram-positive cocci	1	53	GP	×	-
15	Other anaerobic, gram-negative rods	1	53	GN	-	×
16	Gram-positive rods	5	267	GP	×	-
17	不明	6	321	不明	-	-
18	不明	1	0	不明	-	-
Total		101	5,347	カバー率	49.0%	31.0%
				総カバー率	80.0%	
				検体内訳	2,673	1,658
				総検体数	4,331	