

〈総 説〉**Whole-genome sequencingによるMRSA血流感染症の
治療薬選択の確立に向けた薬剤耐性遺伝子の解析ならびに
薬剤感受性との比較**

賀来敬仁

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科病態解析・診断学

(2021年11月26日受付)

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は、日本で最も検出されている薬剤耐性菌である。MRSAは皮膚や鼻腔内に常在菌として存在することがあり、免疫機能が低下した患者では肺炎や血流感染症などの重症感染症を引き起こす。MRSAは血流感染症の原因菌として最も検出される薬剤耐性菌であるが、感染制御や抗菌薬適性使用の推進によって検出率は低下傾向である。一方で、医療機関だけでなく市中でも伝播する市中関連MRSA (CA-MRSA) が出現し、10年以上前から世界的な問題となっている。北米を中心とした海外では、panton valentine leukocidin (PVL) を産生して壊死性肺炎などの重症な病態を引き起こすUSA-300がCA-MRSAとして問題になっているが、日本ではPVL陽性CA-MRSAの割合は少ない。また、CA-MRSAはβラクタム系以外の抗菌薬に感性を示すという従来の医療関連型MRSA (HA-MRSA) とは異なる特徴がある。MRSA血流感染症は死亡率の高い感染症であり、CA-MRSAによる血流感染症では感性を示す抗菌薬と抗MRSA薬の併用療法が治療の選択肢になる可能性がある。ただし、抗菌薬の適正使用という観点からは、抗MRSA薬に併用する薬剤が検出されたMRSAに感性を示すことを確認してから使用することが望ましい。現在では、質量分析 (MALDI-TOF/MS) や全自動遺伝子検査機器を使用することで、従来法である培養検査よりも迅速にMRSAを同定することが可能となっているが、CA-MRSAが感性を示す薬剤に対する耐性の有無までは検出できないという問題点がある。近年では次世代シーケンサー (NGS) の登場によって、以前よりも迅速かつ簡便に whole-genome sequencing (WGS) を実施することが可能になった。WGSのデータを使用すれば、網羅的な薬剤耐性遺伝子の検出だけでなく遺伝子タイプの同定や病原遺伝子の同定など多くの情報を得られるため、CA-MRSA血流感染症では有用な微生物検査になると考えられる。一方で、現時点ではルーチンの微生物検査として実施するには多くの課題があり、WGSによるMRSA血流感染症の治療薬確立のに向けて、WGSによる薬剤耐性遺伝子の検出および薬剤感受性試験との比較などさまざまな検証を行うことが重要である。

1. 日本における薬剤耐性菌の検出状況

厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業 (Japan Nosocomial Infections Surveillance, JANIS) で公表されている2007年～2020年の検査部門・入院検体で報告されている薬剤耐性菌の検出状況 (上位6種) を図1に示す¹⁾。2007年の時点では、ほかの薬剤耐性菌の検出率が2%以下であったのに対して、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) のみが10.6%と非常に高い検出率を示していた。しかし、MRSA 検出率はその後低下傾向となり、2020年には6.4%まで低下していた。しかし、現時点においてもMRSAは日本で最も検出される薬剤耐性菌であり、2015年以降は検出率は横ばいである。なお、血流感染症における薬剤耐性菌の検出率についての全国データはないが、血流感染症が死因となった症例数の推計ではMRSAが原因菌であったのが2011年の5,924例 (34.0%) から2017年には4,224例 (24.6%) に低下していた²⁾。しかしながら、その数は2017年の時点でもフルオロキノロン耐性大腸菌 (3,915例, 27.9%) よりも多かった²⁾。これらのことから、現

在においてもMRSAは血流感染症の原因菌として非常に重要な菌であると考えられる。

2. 新たな問題—CA-MRSAの出現と拡散—

従来の医療関連型MRSA (healthcare-associated MRSA, HA-MRSA) は、基本的に医療機関で患者間もしくは医療従事者を介して伝播し、手術、中心静脈カテーテル留置や気管挿管などの解剖学的バリアの破壊や免疫能が低下した患者で感染症を起こしていた。そのため、手指衛生など適切な感染制御策の実施などによって予防することが可能であり、それが先述したMRSAの検出率の減少につながっていると考えられる³⁾。前述したようにMRSAによる感染症は15年前と比べて減少傾向であると考えられるが、ここ10年ほどは市中感染型MRSA (community-associated MRSA, CA-MRSA) の出現と拡散という新たな問題が生じている。なお、CA-MRSAとHA-MRSAの分類にはいくつかの定義があるが、本稿ではstaphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) タイプでCA-MRSAとHA-MRSAを分類する (表1)。北米を中心に海外で問題となっているCA-MRSAは、

図1. 日本における薬剤耐性菌の検出状況

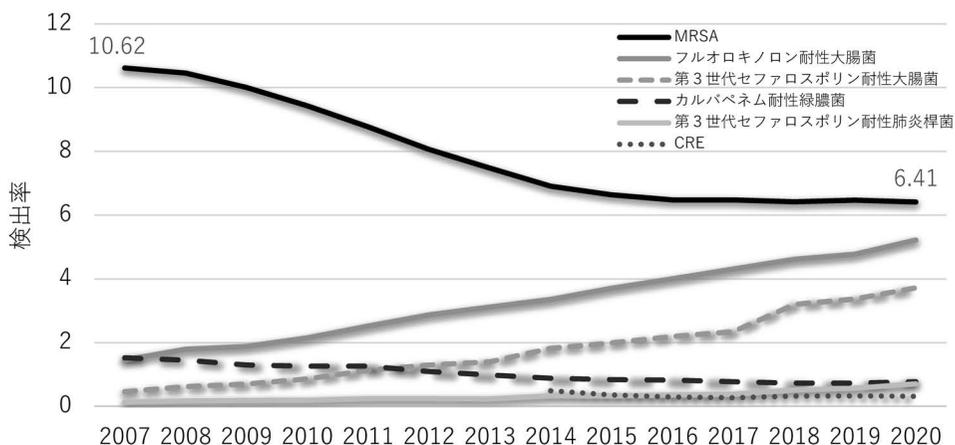


表1. CA-MRSAとHA-MRSAの特徴

	CA-MRSA	HA-MRSA
SCC <i>mec</i> タイプ	IV, V	I, II, III
主要なクローン	NY/Japan clone (ST5, SCC <i>mec</i> type II)	USA300 (ST8, SCC <i>mec</i> type IV) CA-MRSA/J (ST8, SCC <i>mec</i> type IV)
患者背景	<ul style="list-style-type: none"> MRSA感染のリスクファクターを持たない健常人でも伝播する 	<ul style="list-style-type: none"> 入院中もしくは最近の入院歴がある 抗菌薬投与歴がある 解剖学的バリアの破綻や免疫能の低下がある
主な感染症	皮膚・軟部組織感染症、稀に壊死性肺炎	肺炎、カテーテル関連血流感染症、術後感染症など
薬剤感受性	β ラクタム系以外の抗菌薬には感性を示すことがある	多剤耐性
主な病原性関連因子	PVL (日本ではまれ)	毒素性ショック症候群毒素など

multilocus sequencing typing (MLST) で ST8, SCC*mec* type では SCC*mec* type IV に分類され, panton valentine leukocidin (PVL) 産生および arginine catabolic mobile element (ACME) 陽性の USA300 である。この株は, 市中で水平伝播して健常人に壊死性肺炎など重症な感染症を起こすことで問題となった。日本でも PVL 産生の CA-MRSA による重症感染症の報告はあるがその割合は非常に低く⁴⁻⁶⁾, CA-MRSA/J など PVL 非産生の ST8+SCC*mec* type IV の CA-MRSA が主流である⁷⁾。なお, CA-MRSA が原因菌になることが多いとされる皮膚・軟部組織感染症から検出された MRSA の遺伝子解析においても, SCC*mec* type IV での PVL 産生株は 7.0% (4/57) と低かった⁸⁾。

MRSA 血流感染症における CA-MRSA の割合については, 長崎大学の血流感染症患者から検出された MRSA の遺伝子解析において 2003 年~2007 年は SCC*mec* type IV が 18.2% であったのが, 2008 年~2011 年には 30.8% まで増加していた⁴⁾。なお, その後も SCC*mec* type IV の割合は増加し, 2012 年~2019 年には血流感染症から検出

された MRSA の 6 割以上が SCC*mec* type IV であった (未公表データ)。同様の現象が日本の他のグループからも報告されており, SCC*mec* type IV の割合が 2015 年の 32.1% から 2 年後の 2017 年には 73.5% まで増加していたという報告もある⁴⁾。これらのことから, 日本では血流感染症から検出される MRSA が NY/Japan clone を代表とする HA-MRSA から CA-MRSA に置き換わっている可能性が高いと考えられる。

3. CA-MRSA の増加が MRSA 血流感染症の治療に与える影響

先述したように, 日本で拡散している CA-MRSA のほとんどが PVL 非産生株であるが, PVL 非産生 CA-MRSA が臨床経過にどのような影響を与えるのかは現時点では分かっていない。一方で, 表 1 に示したように CA-MRSA は HA-MRSA が耐性である抗菌薬に感性となることがあるため⁶⁾, そのような抗菌薬を抗 MRSA 薬と併用して使用するなど治療戦略に変化を与える可能性がある。実際に, CA-MRSA で感性を示すこと

が多いホスホマイシンとダプトマイシンの併用療法についてのランダム化比較試験では、併用群がダプトマイシン単剤と比較して有意に高い治療成功率を示したことが報告されている¹⁰⁾。また、日本で検出されているCA-MRSAは、カルバペネム系などのβラクタム系抗菌薬に対しても低い最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration, MIC) を示し⁶⁾、セフメタゾールやメロペネムなどのβラクタム系抗菌薬が併用によってバンコマイシンやダプトマイシンなどの抗MRSA薬との相乗効果を示すことも報告されている¹¹⁾。

しかし、これらの薬剤を使用することは新たな薬剤耐性の獲得や、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌などの他の薬剤耐性菌の出現につながる可能性もある。抗菌薬の適正使用という観点からは、そのような併用療法は血流感染症など死亡率が高く、かつ併用する薬剤に対する薬剤耐性がないことが確認されたときに限定する必要がある。そのため、微生物検査で使用する可能性のある薬剤の薬剤耐性の有無を確認することが重要となる。

4. 薬剤耐性検出における従来の微生物検査の問題点

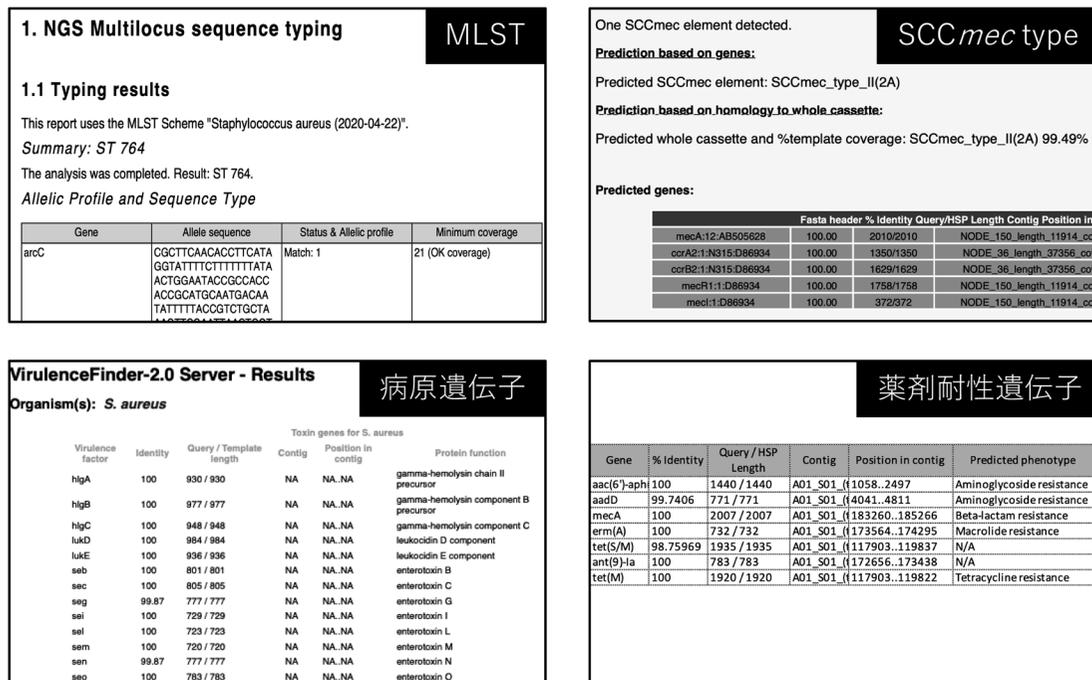
従来の微生物検査を活用した治療薬の選択では、塗抹検査で観察された菌の形態および臨床情報から原因菌を推定する。薬剤耐性の有無は薬剤感受性試験で確認するが、検体からの培養および分離された菌の純培養を行った後に実施する必要がある。そのため、薬剤感受性試験の結果を得るのに培養開始から2-3日を要する。しかし、血流感染症などの重症感染症では初期から適切な抗菌薬を投与しないと予後を悪化させる。そのため、塗抹検査の結果と患者背景や治療歴などの臨床情報から薬剤耐性のリスクを判断して、初期治療薬を選択していた。近年では、質量分析 (MALDI-

TOF MS) および複数の菌種および薬剤耐性遺伝子を検出できる全自動遺伝子検査が普及してきており、これらの新しい微生物検査を活用することで迅速かつ正確に薬剤耐性菌を検出することが可能となっている¹²⁾。血流感染症においても、これらの新しい微生物検査を導入することで早期から適切な抗菌薬を投与でき、かつ死亡率を改善させたことが報告されている¹³⁾。

一方で、これらの新しい微生物検査も万能ではない。例えば、MALDI-TOF MSは従来の全自動菌種同定・薬剤感受性試験装置よりも多くの菌種のより迅速に同定することが可能であるが、薬剤耐性についてはいくつかの薬剤で検討されているものの、網羅的に薬剤耐性を検出できない。また、全自動遺伝子検査機器での薬剤耐性遺伝子についても、*mecA*, *ESBL*, カルバペネマーゼなど主要な薬剤耐性遺伝子の検出しかできず、網羅的な薬剤耐性の検出はできない。MRSAについては、全自動遺伝子検査機器を用いればMRSAと迅速に同定できるようになったが、先述したCA-MRSAで感性を示すことが多い抗菌薬に対する薬剤耐性の有無は、薬剤感受性試験でないと分からないのが現状である。

網羅的に薬剤耐性遺伝子を検出する方法としては、whole-genome sequencing (WGS) がある。従来のサンガー法などのsequencingは手間が非常にかかり、1つの菌株のWGSを行うだけでもかなりの労力と時間がかかった。しかし、次世代シーケンサー (NGS) の登場によって、現在では多くの菌株を同時にWGSで解析することが可能となっている。WGSでは、薬剤耐性遺伝子の検出だけでなくMLSTやSCC*mec* typeなどの遺伝子タイプの同定や病原遺伝子の検出まで可能である (図2)。しかし、血流感染症で検出されたMRSAでその有用性を検証した研究はほとんどなく、従来法である薬剤感受性試験の結果との相関も分かっていない。そこで、我々は血液培養2セット

図2. Whole-genome sequencingから得られるMRSAの情報



以上から検出されたMRSAを用いてWGSを実施し、その有用性を検証した¹⁴⁾。

5. Whole-genome sequencingによるMRSAの解析

5-1. 対象

日本感染症学会第1回(2018年度)臨床研究促進助成において、日本全国の医療機関45施設(北海道2施設, 東北地方2施設, 関東地方8施設, 中部地方12施設, 近畿地方7施設, 中国地方2施設, 四国地方3施設, 九州地方8施設)で血液培養2セット以上から検出されたMRSA270株を対象とした。

5-2. 方法¹⁴⁾

収集した菌株は解析までMicrobank (Iwaki & Co., Ltd., Tokyo, Japan) で -80°C にて保管していた。薬剤感受性試験については、ドライプレート (Eiken, Tokyo, Japan) を用いた微量液体希釈法で

実施した。また、菌株からのDNAの抽出には、Quick-DNA Fungal/Bacterial Kit (Zymo Research, Irvine, CA, USA) を用いた¹⁴⁾。ライブラリ作成はInvitrogen Collibri ES DNA Library Prep Kit for Illumina (A38607096, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) で作成し、sequencingはMiSeq Reagent kit v. 3 (600 cycles) (Illumina) を用いてMiSeq system (Illumina, San Diego, CA, USA) で行った。

MLSTおよびResFinderデータベースを用いた薬剤耐性遺伝子の検出は、CLC Genomics Workbench and Microbial Genomics Modules (QIAGEN N. V., Venlo, Netherlands) で行った。また、SCCmec typingおよび病原遺伝子については、それぞれSCCmecFinder v.1.2 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/SCCmecFinder/>) と VirulenceFinder v.2.0.3 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/VirulenceFinder/>), software v.2.0.3, database v.2020-05-29) を用いて解析した。ブレイクポイントについては、Clinical and Labora-

tory Standards Institute guidelines (CLSI M100-Ed31) と the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) v.11.0 を用いて判定した。

5-3. 主要なクローンとその特徴¹⁴⁾

MLST および SCC*mec* typing の結果を表2に示す。血流感染症から分離された MRSA では、CA-MRSA が全体の 79.6% (215/270) を占めていた。主要なクローンとしては、ST8+SCC*mec* type IV (ST8-IV) が 30.7% で最も多く、次いで ST1-IV が 29.6% と多かった。その他の主要なクローンは、ST2725-IV (9.6%)、ST764-II (8.1%)、ST5-II (7.8%) であった。この結果から、日本における HA-MRSA の代表的なクローンであった ST5-II の NY/Japan clone の割合は非常に低く、CA-MRSA が日本における MRSA 血流感染症で主流となっていることが明らかとなった。

5つの主要なクローンの特徴を表3に示す。薬剤耐性遺伝子と病原遺伝子の陽性率をみると、clonal

表2. 血流感染症から検出された MRSA の遺伝子タイプ

MRSA (n=270)	n	(%)
SCC <i>mec</i> type		
I	5	(1.9%)
II	50	(18.5%)
IV	209	(77.4%)
V	5	(1.9%)
VI	1	(0.4%)
Sequence type (MLST)		
CC1	111	(41.1%)
ST1	80	(29.6%)
ST2725	26	(9.6%)
Other	5	(1.9%)
CC5	52	(19.3%)
ST5	25	(9.3%)
ST764	22	(8.1%)
Other	5	(1.9%)
CC8	98	(36.3%)
ST8	93	(34.4%)
Other	5	(1.9%)
Other CC	9	(3.3%)

文献14より作成

complex (CC) 1 に属する ST1-IV と ST2725-IV は同じ特徴を示しているため、臨床では両者を区別する必要はないと考えられる。また、ST8-IV については、病原遺伝子の保有状況から USA300 と推定されたのが 4.8% (4/83)、CA-MRSA/J と推定されたのが 43.4% (36/83) 認められた。残りの 43 株については、CA-MRSA/J とは病原遺伝子だけでなく薬剤耐性遺伝子の陽性率でも異なる特徴を示していた。たとえば、マクロライド耐性遺伝子の *erm* (A) 陽性率は CA-MRSA/J の 8.3% に対して、残りの 43 株は 83.7% と高かった¹⁴⁾。そのため、従来の CA-MRSA/J とは異なる ST8-IV が日本で拡散している可能性が示唆された。

5-4. 薬剤耐性遺伝子と薬剤感受性の比較

WGS で検出された薬剤耐性遺伝子の陽性率と微量液体希釈法の結果から算出された薬剤耐性率を表4に示す。解析した全ての菌株で *mecA* が陽性であったが、CA-MRSA ではオキサシリンおよびセフォキシチンに感性を示す株がわずかながらあった。しかし、 β ラクタマーゼ遺伝子である *blaZ* の陽性率については、両薬剤の耐性率とほぼ一致していたため、CA-MRSA では *blaZ* 保有の有無が薬剤感受性試験におけるオキサシリンやセフォキシチン耐性に影響している可能性が示唆された。マクロライド系抗菌薬については、薬剤耐性遺伝子の陽性率とエリスロマイシン耐性率はほぼ一致していた。リンコマイシン系抗菌薬についても、ST8-IV、ST764-II、ST5-II ではクリンダマイシン誘導耐性に関連する *erm* (A) の陽性率とクリンダマイシン耐性率はほぼ一致していた。一方で、ST1-IV と ST2725-IV での *erm* (A) 陽性率は 93.8% および 100% と非常に高かったにも関わらず、薬剤感受性試験でのクリンダマイシン耐性率 (CLSI/EUCAST) は 3.8%/5.0% および 3.8%/3.8% と非常に低かった。テトラサイクリン系抗菌薬では、薬剤耐性遺伝子陽性率と EUCAST の基準に

表3. 主要クローン間で陽性率が異なった遺伝子

	ST8-IV (n=83)	ST1-IV (n=80)	ST2725-IV (n=26)	ST764-II (n=22)	ST5-II (n=21)
薬剤耐性遺伝子					
<i>aac(6)-aph(2'')</i>	56.6%	8.8%	11.5%	81.8%	42.9%
<i>aaD</i>	27.7%	1.3%	ND	40.9%	85.7%
<i>ant(9)-Ia</i>	45.8%	95.0%	96.2%	100%	100%
<i>blaZ</i>	97.6%	98.8%	92.3%	ND	71.4%
<i>fosD</i>	6.0%	ND	ND	40.9%	ND
<i>erm(A)</i>	47.0%	93.8%	96.2%	100%	100%
<i>tet(M)</i>	26.5%	ND	3.8%	100%	76.2%
<i>tet(S/M)</i>	24.1%	ND	ND	100%	57.1%
病原遺伝子					
<i>spIE</i>	47.0%	91.3%	96.2%	ND	ND
<i>sea</i>	4.8%	88.8%	80.8%	ND	4.8%
<i>seb</i>	1.2%	ND	3.8%	86.4%	9.5%
<i>sec</i>	44.6%	ND	3.8%	13.6%	61.9%
<i>seg</i>	ND	ND	ND	95.5%	81.0%
<i>seh</i>	ND	100%	96.2%	ND	4.8%
<i>sei</i>	ND	ND	ND	95.5%	100%
<i>sek</i>	6.0%	85.0%	80.8%	13.6%	ND
<i>sel</i>	39.8%	ND	ND	13.6%	71.4%
<i>sem</i>	ND	ND	ND	100%	100%
<i>sen</i>	ND	ND	ND	100%	90.5%
<i>seo</i>	ND	ND	ND	100%	95.2%
<i>seq</i>	7.2%	85.0%	80.8%	13.6%	4.8%
<i>seu</i>	ND	ND	ND	100%	85.7%
<i>tst</i>	44.6%	3.8%	3.8%	13.6%	66.7%

文献14より作成. ND, not detected

よるミノサイクリン耐性率はほぼ一致していた。

6. Whole-genome sequencing の臨床応用に向けた課題

今回の検討では、WGSによる薬剤耐性遺伝子の検出率は薬剤感受性試験での薬剤耐性率とほぼ一致するか高かった。このことから、WGSによる薬剤耐性遺伝子の検出は、薬剤感受性試験よりも

正確に薬剤耐性を検出できる可能性が示唆された。一方で、クリンダマイシンでは *erm(A)* 遺伝子陽性率と薬剤感受性試験による耐性率についてクローンによって一致/不一致に違いが認められた。*erm(A)* 遺伝子はクリンダマイシン誘導耐性に関連するため¹⁵⁾、*erm(A)* が検出された場合にはクリンダマイシンを使用することは推奨されないが、クローンによって薬剤感受性試験との一致/不一致に違いがあることについては更なる検

表4. 薬剤耐性遺伝子陽性率と薬剤耐性率 (CLSI/EUCAST)

	ST8-IV (n=83)	ST1-IV (n=80)	ST2725-IV (n=26)	ST764-II (n=22)	ST5-II (n=21)
βラクタム系抗菌薬					
<i>mecA</i> 陽性	100%	100%	100%	100%	100%
<i>blaZ</i> 陽性	97.6	98.8%	92.3%	ND	71.4%
オキシサリン耐性率	96.4 / 96.4	88.8 / 88.8	88.5 / 88.5	100 / 100	100 / 100
セフォキシチン耐性率	96.4 / 96.4	97.5 / 97.5	92.3 / 92.3	100 / 100	100 / 100
マクロライド系抗菌薬 / リンコマイシン系抗菌薬					
<i>erm(A)</i> 陽性	47.0%	93.8%	96.2%	100%	100%
<i>erm(B)</i> 陽性	ND	1.3%	ND	4.5%	ND
<i>erm(C)</i> 陽性	8.4%	1.3%	4.4%	4.5%	ND
<i>mph(C)</i> 陽性	2.4%	ND	ND	4.5%	ND
<i>msr(A)</i> 陽性	2.4%	ND	ND	4.5%	ND
エリスロマイシン耐性率	59.0 / 61.4	93.8 / 93.8	100 / 100	100 / 100	100 / 100
クリンダマイシン耐性率	44.6 / 45.8	3.8 / 5.0	3.8 / 3.8	100 / 100	85.7 / 85.7
テトラサイクリン系抗菌薬					
<i>tet(K)</i> 陽性	2.4%	ND	ND	4.5%	ND
<i>tet(M)</i> 陽性	26.5%	ND	3.8%	100%	76.2%
<i>tet(S/M)</i> 陽性	24.1%	ND	ND	100%	57.1%
ミノサイクリン耐性率	0.0 / 30.1	0.0 / 6.3	0.0 / 3.8	4.5 / 100	4.8 / 71.4
トリメトプリム/スルファメトキサゾール					
<i>dfpG</i> 陽性	1.2%	ND	ND	ND	ND
T/S耐性率	0.0 / 0.0	0.0 / 0.0	0.0 / 0.0	0.0 / 0.0	0.0 / 0.0

文献14より作成. ND, not detected

証が必要であると考えられる。また、本研究においても先行研究⁶⁾と同じようにCA-MRSAはイミペネムとメロペネムのMIC₉₀がそれぞれ ≤ 0.5 と1と非常に低い値を示した¹⁴⁾。HA-MRSAではこれらの薬剤に対するMIC₉₀が ≥ 32 と非常に高かったが¹⁴⁾、CA-MRSAとHA-MRSAのカルバペネム系抗菌薬の感受性の違いを説明できるような薬剤耐性遺伝子は検出されなかった。その原因としては、薬剤耐性遺伝子の有無だけでなく発現量が関係している可能性、未知の薬剤耐性遺伝子がある可能性、もしくは今回使用した薬剤耐性遺伝子データベースに登録されていない遺伝子が関与している可能性がある。WGSによる薬剤耐性遺伝

子の検出に活用できる薬剤耐性遺伝子データベースについては複数あるため、今後それぞれのデータベースを用いた検証を行ってMRSAに最適な薬剤耐性菌データベースを明らかにする予定である。また、NGSの登場によって以前よりもWGSが簡便に行えるようになったが、用手法での操作も多くルーチンの微生物検査として活用することは現状では難しい。そのため、微生物検査として広く活用していくためには、MALDI TOF/MSや全自動遺伝子検査機器などのように迅速化と自動化などの技術革新が必要になると考えられる。

7. 結語

本研究によって、WGSを用いて従来法では検出できなかったような薬剤耐性を検出できることが明らかとなった。WGSでは、薬剤耐性遺伝子の検出だけでなく、病原遺伝子の検出や遺伝子タイピングまで実施することが可能であり、CA-MRSAが血流感染症の80%程度から分離されるようになった現在では、適切な治療薬の選択に有用な情報を提供することができる。ルーチンの微生物検査としてWGSを実施するには解決すべき問題点がいくつかあるが、臨床応用されればMALDI TOF/MSや全自動遺伝子検査で示されたように血流感染症の予後を改善することにつながると考えられる。

謝辞

この総説は、2021年度日本感染症医薬品協会奨励賞の受賞記念講演の内容をまとめたものです。受賞にあたり、ご指導いただいた長崎大学大学院医歯薬学総合研究科病態解析・診断学の柳原克紀教授、WGSの実施にご協力いただいた長崎大学病院検査部の佐々木大介副技師長、および本賞の選考委員の先生方にこの場をお借りして心より感謝申し上げます。

また、本研究は日本感染症学会第1回（2018年度）臨床研究促進助成によって日本全国の医療機関から収集したMRSAの菌株を用いて実施しました。MRSAの菌株の収集では、該当するMRSAの菌株が検出されなかった6施設を含む51の医療機関の皆様にご協力いただきました。研究にご協力いただいた皆様にも心より感謝申し上げます。

引用文献

- 1) 厚生労働省. 厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業ホームページ ([https://janis.mhlw](https://janis.mhlw.go.jp/report/kensa.html)

go.jp/report/kensa.html)。最終アクセス2021年11月21日

- 2) Tsuzuki S, Matsunaga N, Yahara K, *et al.*: National trend of blood-stream infection attributable deaths caused by *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in Japan. *J Infect.* 2020; 26: 367–71.
- 3) Kourtis AP: Vital Signs: Epidemiology and recent trends in methicillin-resistant and in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bloodstream infections—United States. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2019; 68: 214–9.
- 4) Kaku N, Yanagihara K, Morinaga Y, *et al.*: Influence of antimicrobial regimen on decreased in-hospital mortality of patients with MRSA bacteremia. *J Infect Chemother.* 2014; 20: 350–5.
- 5) Kimura Y, Morinaga Y, Akamatsu N, *et al.*: Antimicrobial susceptibility and molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Japanese secondary care facility. *J Infect Chemother.* 2016; 22: 14–8.
- 6) Miura Y, Yamaguchi T, Nakamura I, *et al.*: Epidemiological trends observed from molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from blood cultures at a Japanese University Hospital, 2012–2015. *Microb Drug Resist.* 2018; 24: 70–5.
- 7) Iwao Y, Ishii R, Tomita Y, *et al.*: The emerging ST8 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone in the community in Japan: associated infections, genetic diversity, and comparative genomics. *J Infect Chemother.* 2012; 18: 228–40.
- 8) Kaku N, Ohnishi T, Matsumoto T, *et al.*: Molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from skin and soft tissue infections collected in Japanese nationwide surveillance. *J Dermatol.* 2019; 46: 1205–9.
- 9) Hamada M, Yamaguchi T, Sato A, *et al.*: Increased incidence and plasma-biofilm formation ability of SCCmec Type IV methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from patients with bacteremia. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;

- 11: 1.
- 10) Pujol M, Miro JM, Shaw E, *et al.*: Daptomycin plus fosfomycin versus daptomycin alone for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia and endocarditis: a randomized clinical trial. *Clin Infect Dis.* 2021; 72: 1517–25.
- 11) Ono D, Yamaguchi T, Hamada M, *et al.*: Analysis of synergy between beta-lactams and anti-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* agents from the standpoint of strain characteristics and binding action. *J Infect Chemother.* 2019; 25: 273–80.
- 12) Morinaga Y, Yamano S, Akamatsu N, *et al.*: Active surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using a fully automated molecular test in an emergency medical center. *J Infect Chemother.* 2015; 68: 376–80.
- 13) Suzuki H, Hitomi S, Yaguchi Y, *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.
- 14) Kaku N, Sasaki D, Ota K, Miyazaki T, Yanagihara K: Nationwide surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bloodstream infections in Japan. medRxiv (preprint) 2021; doi: 10.1101/2021.11.05.21265983.
- 15) Leclercq R: Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. *Clin Infect Dis.* 2002; 34: 482–92. doi:10.1086/324626.

Establishment of antimicrobial agent selection for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections by whole-genome sequencing

Norihito Kaku

Department of Laboratory Medicine, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki, Japan

Division of Pulmonary & Critical Care Medicine, University of Michigan, Ann Arbor, United States

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is the most detected drug-resistant organism in Japan. MRSA is sometimes one of the normal flora on the skin and in the nasal cavity. It can cause severe infections, such as pneumonia and bloodstream infections in immunocompromised patients. In bloodstream infections, MRSA is the most detected drug-resistant bacteria. However, in recent years, its detection rate has declined due to infection control and appropriate use of antimicrobial agents. In the past ten years, however, community-acquired MRSA (CA-MRSA) has emerged as a global problem, and USA-300, which produces panton valentine leukocidin (PVL) and causes severe conditions as necrotizing pneumonia, has been

reported in North America. In Japan, however, the proportion of PVL-positive CA-MRSA is low, and CA-MRSA may be sensitive to antibacterial agents other than beta-lactams. MRSA bloodstream infections have a high mortality rate, and some studies have shown the benefit of combination therapy with anti-MRSA agents and other agents.

Therefore, combination therapy of anti-MRSA agents with sensitive antimicrobial agents may be a treatment option for bloodstream infections caused by CA-MRSA. However, from the viewpoint of the appropriate use of antimicrobial agents, it is desirable to confirm that the drugs used in combination with anti-MRSA agents are sensitive to the detected MRSA before use. At present, the use of mass spectrometry (MALDI-TOF/MS) and fully automated genetic testing has made it possible to identify MRSA more rapidly than the conventional method of culture testing. However, there is also the problem that it is not possible to detect drug resistance genes comprehensively. Recently, with the advent of next-generation sequencing, whole-genome sequencing (WGS) can be performed more quickly and easily than before. WGS data can be used not only for the comprehensive detection of drug resistance genes but also for identifying genotypes and pathogenic factors, making it a useful microbiological test. However, there are many issues to be solved before implementing WGS as a routine microbiological test. Therefore, it is important to conduct various verifications, such as detection of drug-resistant genes by WGS and comparison with drug susceptibility tests.