

日本医療研究開発機構 医療分野研究成果展開事業
産学連携医療イノベーション創出プログラム 基本スキーム (ACT-M)
事後評価報告書

公開

I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 感染菌迅速同定・定量検査創出を目指す研究
(英語) Development of the rapid identification and quantification method
of bacteria in a clinical sample

研究開発実施期間: 平成30年9月18日～令和3年9月30日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 仁井見 英樹
(英語) Hideki Niimi

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:
(日本語) 国立大学法人富山大学・学術研究部医学系・准教授
(英語) University of Toyama, Faculty of Medicine, Academic Assembly, Associate Professor

II 研究開発の概要

研究開発の目的

本研究開発では、独自開発した敗血症起炎菌迅速同定・定量検査（菌名&菌数/mL）の実用化（先進医療取得→保険診療化）が第1の目標である。つまり、感染症検査を迅速化することと、菌数を感染症重症度や治療効果の新たな指標として創出すること、そしてその実用化を果たすことが本研究の狙いである。また、血液検体だけでなく、感染症の各種検体にまで検査対象を広げることが第2の目標である。

本検査法を「実用化する」とは、具体的には起炎菌迅速同定・定量検査法の『先進医療』を取得することであり、最終的には検査キットの薬事承認を得て保険診療化することを意味する。その為、検査自体も出来るだけ自動化した簡便な検査システムとしての構築を目指す。

研究開発の概要（全研究開発実施期間）

AMED ACT-M の全研究開発期間を通して、途中、コロナ禍にて多少の遅れが生じはしたが、全体的な研究開発目標をほぼ達成できたと考える。細菌 DNA 汚染の無いシリンジ、真空採血管、採血針の開発と製造は早期に達成し、新たに細菌 DNA 汚染の無い新生児用採血管および新生児用&成人用細菌培養ボトルの開発にも成功した。これらに自動核酸抽出装置と起炎菌同定ソフトウェアを加えた検査システムを構築した。起炎菌迅速同定キットは研究用試薬として、高品質で安定的に製造・販売できるようにした。また、

起炎菌迅速同定法については薬事申請のための臨床性能試験を 2022 年 2 月より実施する。そのため、起炎菌迅速同定・定量キットは起炎菌迅速定量法のみを分離して先進医療に申請することになった。以上、全期間中に起炎菌迅速同定・定量検査法を計 1,166 検体（血液検体 605 検体、血液以外の検体 561 検体）実施して必要十分なデータを取得できた。今後は引き続き、数多くの論文執筆&学会発表により新規バイオマーカー「菌数」の有用性を広くアピールして認知させると共に、起炎菌迅速同定法の保険収載、および起炎菌迅速定量法の先進医療を取得することを実施していく。

実施内容および成果（全研究開発実施期間）

1. **細菌 DNA 汚染の無いシリンジ，真空採血管，採血針の開発と製造（ニプロ株式会社）**
 - ・細菌迅速同定システムに適した細菌 DNA 汚染のないシリンジ、真空採血管、採血針を選定した。
2. **起炎菌迅速同定キットの体外診断用医薬品としての薬事申請（三井化学株式会社）**
 - ・臨床性能試験について、コロナ禍の影響による設計開発活動遅延及び設計移管活動での不具合の影響を受け、開始が大幅に遅れたが、準備はほぼ完了。
 - ・薬事申請は 2022 年度申請予定。
3. **起炎菌迅速同定・定量キットの体外診断用医薬品としての事業開発（三井化学株式会社）**
 - ・本研究での試薬組成、プロトコルであれば、定量性に問題ないことを in vitro で確認した。
 - ・データとりまとめ前のため、PMDA との開発前相談は未実施。
4. **起炎菌迅速同定・定量検査のシステム化（三井化学株式会社）**
 - 自動核酸抽出装置
 - ・マニュアル法と同等の DNA 抽出効率を達成した。
 - ・検査現場での実証については、コロナ禍の影響により実施困難な状況だったため本研究では実施しないこととした。
 - 定量ソフトウェア
 - ・基本仕様についての検討は完了。
 - ・現時点での各所実施状況を踏まえ、現在使用中の PCR 装置に搭載されているソフトウェアでの算出結果で十分対応可能であり、現行菌種同定のための DB に搭載する必要性が低いと判断した。
5. **起炎菌迅速同定検査（Tm mapping 法）の実用化（富山大学）**

先進医療申請のための厚労省での事前相談 1 回目は 2019 年 11 月 12 日に終了したが、その後に薬事申請のための臨床性能試験を 2022 年 2 月に開始することになり、結果として先進医療申請は必要なくなったため中止とした。臨床性能試験の実施に向け、ACT-M 期間中に（コロナ禍においても）各種臨床検体 1,166 検体（うち、血液検体 605 検体）の起炎菌迅速同定・定量検査を実施し、データを収集・分析した。今後は 2022 年 2 月より臨床性能試験を実施する。
6. **起炎菌迅速同定・定量検査の実用化（富山大学）**
 - ・先進医療申請の事前相談を開始する → 起炎菌迅速定量法のみを分離し、先進医療申請の事前相談を実施した。引き続き事前相談を行う予定。
 - ・三井化学、ニプロ社の成果を研究開発導入し、起炎菌迅速同定・定量検査システムを完成させた。
 - ・論文や学会発表などで「菌数」検査の臨床的重要性を広く宣伝した（論文 8 報、学会発表 13 回）。

- ・菌数の変移と薬剤感受性との関連性を明確にする研究を実施する上で、薬剤感受性を ATP 測定で迅速に検査する手法を開発した。
- ・複数菌感染時の新たな技術的対応方法として、カンジダ属 8 菌種を 3 つの imperfect-match probes で迅速同定する方法を開発した。

7. 感染症の各種検体への検査対象の拡大（富山大学、北里大、埼玉県立小児医療センター、広島大学）

ACT-M 期間中に起炎菌迅速同定・定量検査法を計 1,166 検体（血液検体 605 検体、血液以外の検体 561 検体）実施した。うち、前房水 28 検体、硝子体 19 検体、膿瘍 42 検体、羊水 95 検体、臍帯血 20 検体、胎盤擦過 15 検体、関節液 5 検体、脳脊髄液 23 検体、胸水 29 検体、腹水 8 検体、ドレーン排液 254 検体、椎間板液 6 検体、新生児胃液 20 検体、その他、心臓弁、筋肉、肉芽、母乳、骨で実施した。現在、それぞれの検体における起炎菌迅速同定・定量検査の有用性について論文作成 or 投稿途中である。

8. 細菌 DNA 汚染の無い「新生児用採血管」および「新生児用&成人用細菌培養ボトル」の検討（ニプロ株式会社）

- ・「新生児用採血管」：当社で上市した「開放型採血用チューブ ネオビット®」が、当事業の細菌迅速同定システムに適した製品であるかどうか、三井化学株式会社の細菌迅速同定システムを用いて検討した。その結果、本システムに偽陽性となる結果は示されなかった。この結果から、ネオビット®は新生児用の検体採取用具として有用である可能性が示唆された。
- ・「新生児用&成人用細菌培養ボトル」：真空採血管の製造を実施している当社の製造ラインを流用し、細菌培養ボトルの試作を実施した。日本薬局方 18 改正 無菌試験が指定する 6 菌種 (*Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*) について培養性能を評価した。そして仕様を決定し、当社での試作を実施した。

Purpose of this research and development

In this research and development, the first goal is to put into practical use of the rapid identification and quantitative test (bacterial name & bacterial count/mL) that was originally developed. In other words, the aim of this study is to speed up infectious disease testing, create a new biomarker of infectious disease severity and therapeutic effect, and achieve its practical application. The second goal is to expand the test target not only to blood samples but also to various samples of infectious diseases.

To “practicalize” this method is to acquire “advanced medical care” of the rapid identification and quantitative method for causative organisms. Therefore, we aim to build a simple examination system that automates the examination itself as much as possible.

Outline of the results of this research and development (all R & D period)

Throughout the entire R & D period of AMED ACT-M, although there was a slight delay due to the SARS-CoV-2 disaster, it is considered that the overall R & D goal was almost achieved. The development and manufacture of syringes, vacuum blood collection tubes, and blood collection needles free of bacterial DNA contamination was achieved at an early stage, and new blood collection tubes for newborns and newborn & adult bacterial culture bottles free of bacterial DNA contamination were also successfully developed. We have constructed the

examination system that includes an automatic nucleic acid extractor and software for identifying the causative organism. The rapid identification kit for the causative organism has been made available as a research reagent with high quality and stable production. In addition, for the rapid identification method of causative organisms, a clinical performance test for regulatory application will be conducted from February 2022. Therefore, for the rapid identification and quantification kit for the causative organism, only the rapid quantification method for the causative organism was separated and applied to advanced medical care. A total of 1,166 samples (605 blood samples and 561 non-blood samples) were tested for the rapid identification and quantitative testing of the causative organism during the entire period, and necessary and sufficient data could be obtained. In the future, we will continue to write numerous papers and make presentations at academic conferences to widely promote and recognize the usefulness of the new biomarker "bacterial count". Furthermore, we will carry out insurance coverage of the rapid identification method for the causative organism and acquisition of advanced medical care for the rapid quantification method for the causative organism.

III 事後評価総合所見

新型コロナウイルスによる研究の遅延が生じたが、研究期間を延長し、多数の臨床検体に関する起炎菌迅速同定・定量検査のデータ収集・分析の実施や適用可能な DNA 汚染のないシリンジ・真空採血管・注射針の製造、自動核酸抽出装置等の検査システムの構築などの開発が概ね達成できた。

一方で、検査システムの自動化や新規バイオマーカー「菌数」の有用性アピールの論文投稿および Tm マッピング法の臨床的意義を更に高める事が重要である。

今後、適応検体の優先順位を明確にするとともに、起炎菌迅速同定キットの薬事申請ならびに起炎菌迅速定量キットの先進医療申請の実現への道筋を明らかにし、積極的な事業化を推進されることを期待する。