

無菌試験の迅速化を実現する新しいアプローチ BactFinder™ / FungiFinder™ 評価データのご紹介

2026年2月26日

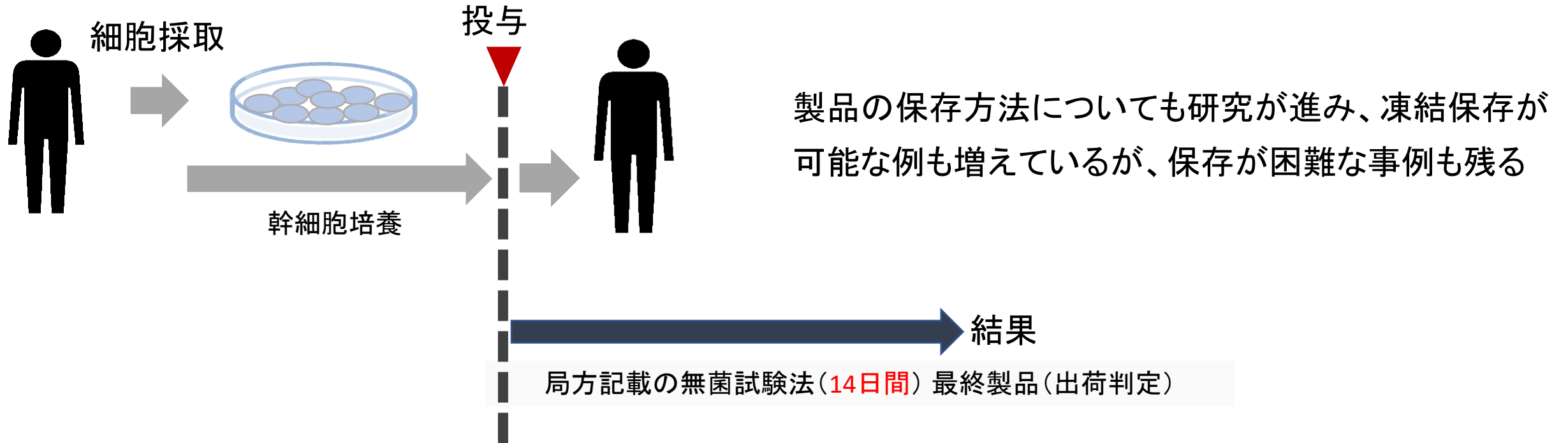
島津ダイアグノスティクス株式会社

製品開発部

本日の講演内容

1. 背景
2. 当社で開発された微生物迅速試験法
3. PCR試薬性能
4. 試験系の評価
 - 4-1 迅速試験
 - 4-2 高感度試験
5. まとめ

1-1. 再生医療における無菌試験の課題



細胞加工物は早期の投与が望ましく、従来の局方に準じた無菌試験法(培養法)では投与時期に判定が間に合わない事例がある

⇒ **迅速試験法の導入が必要**

1-2. 無菌試験法の代替法の可能性

日本薬局方では、新たな細菌検出法、計数・計量法の原理と応用分野を紹介し、さらに利用に当たっての考慮すべき点を述べた微生物迅速試験法<G4-6-170>が参考情報に記載されている。

微生物迅速試験法<G4-6-170>の抜粋

- ✓ 環境中の細菌の多くは（中略）**培養法のみでは検出しがたい**ことが明らかとなってきた
- ✓ 従来法と同等以上の能力を有することを確認することが原則であるが、（中略）従来法がない場合には、**その妥当性を検証して微生物迅速試験法を用いることが出来る**

名称	測定対象
直接測定法	
固相サイトメトリー	菌体
フローサイトメトリー	菌体
間接測定法	
免疫学的方法	抗原
核酸増幅法	核酸
生物発光・蛍光法	ATP等
マイクロコロニー法	増殖能(マイクロコロニー)
インピーダンス測定法	増殖能(電気特性)
ガス測定法	増殖能(ガス産生等)
脂肪酸分析法	菌体脂肪酸
赤外吸収スペクトル測定法	菌体成分
質量分析法	菌体成分
フィンガープリント法	DNA
ハイスループットシーケンス解析	核酸

本日の講演内容

1. 背景
2. 当社で開発された微生物迅速試験法
3. PCR試薬性能
4. 試験系の評価
 - 4-1 迅速試験
 - 4-2 高感度試験
5. まとめ

2-1. 微生物迅速試験法の開発に向けた検出技術の選択

微生物迅速試験法の例として様々な検出技術が挙げられる。

これらの手法は従来の培養法とは測定対象や測定原理が大きく異なるものもあるため、使用する手法の特徴に合わせた評価を行う必要がある。

微生物迅速試験法の例

- ✓ 固相サイトメトリー
- ✓ フローサイトメトリー
- ✓ 免疫学的方法
- ✓ 生物発光法・蛍光法(ATPなど)
- ✓ マイクロコロニー法
- ✓ **核酸増幅法(NAT)**
- ・
- ・

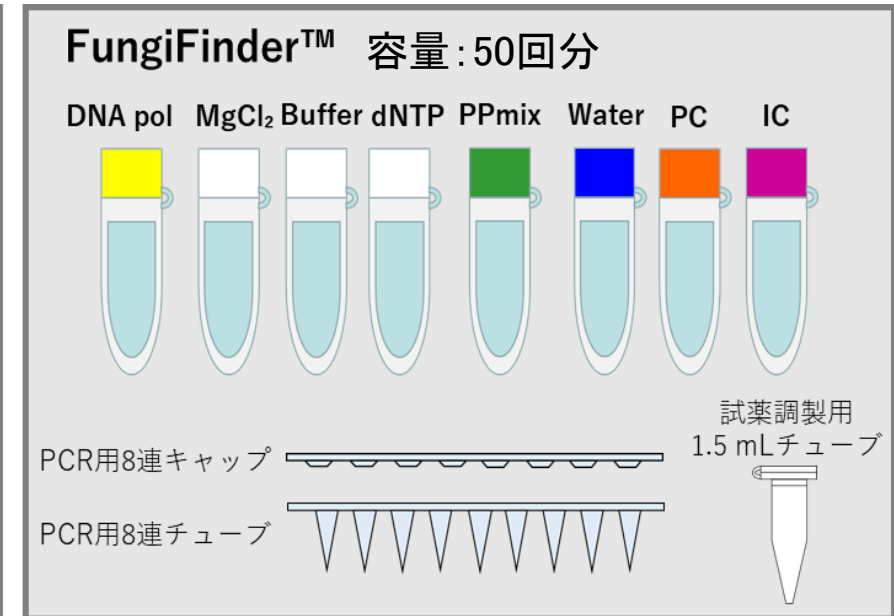
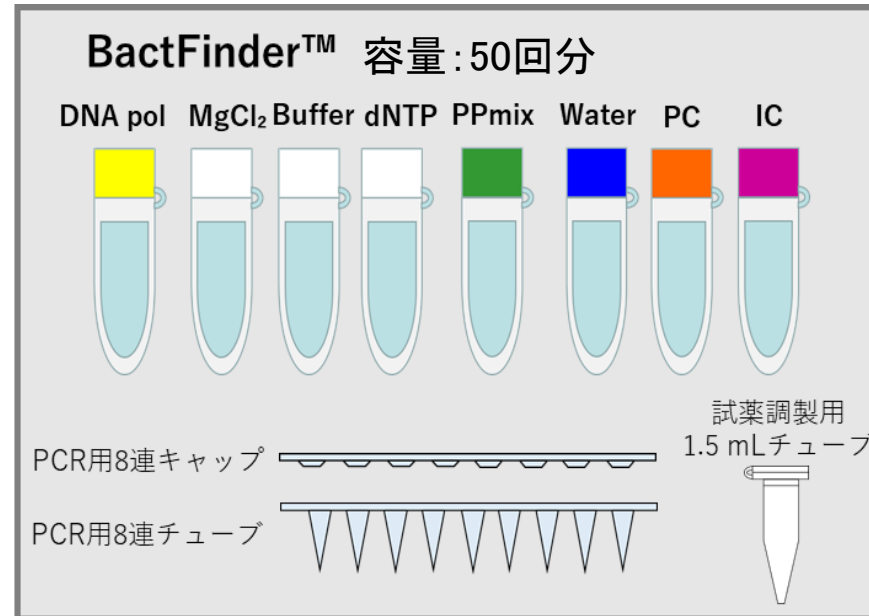
当社ではDNAを標的とした微生物検出のためのリアルタイムPCR試薬を開発

Real-time PCR

- ・ 感度が高く、特異性に優れる
- ・ 市販のリアルタイムPCR装置の利用が可能
- ・ 細胞を含む検体への適用が可能

2-2. BactFinder™ / FungiFinder™の特徴

微生物核酸をターゲットとしたPCR試薬



- ✓ 偽陽性の原因となる微生物由来の混入を低減したクリーンなPCR試薬
- ✓ 資材からのコンタミネーションを防ぐため、PCR試薬調製用および反応用のチューブをキットに同封
- ✓ 核酸抽出の成否やPCR阻害を確認するため、Internal Control DNA (IC)を導入

本日の講演内容

1. 背景
2. 当社で開発された微生物迅速試験法
- 3. PCR試薬性能**
4. 試験系の評価
 - 4-1 迅速試験
 - 4-2 高感度試験
5. まとめ

3-1. PCR試薬の性能評価試験

BactFinder / FungiFinder の試薬性能を評価するために、以下の試験を実施

試験① 感度・特異性

日本薬局方の無菌試験法に記載されている6菌種(局方6菌種と称す)のゲノムDNAを用いて、PCR試薬の感度を評価した

PCR産物をシーケンス解析し、試験サンプルの菌名と一致することを確認した

試験② 偽陽性リスク評価

偽陽性の発生リスクを評価するために陰性コントロールを測定し、偽陽性の発生頻度を評価した

試験③ 機種間差の評価

使用するリアルタイムPCR装置による試験結果の差の有無を評価した

試験④ *In silico* における網羅性評価

代表的な細菌・真菌の属において検出可否を *in silico* にて評価した

3-2. 試験① PCR試薬の感度・特異性

感度

- 局方6菌種のゲノムDNAを希釈した検体を測定し、FAMチャンネルでCq値が得られたものを陽性とした。
- 検体は2濃度(100 copies/well、10 copies/well)、各条件N=3で試験した。

特異性

- PCR産物をシーケンス解析し、得られた候補が検体の菌名と一致することを確認した。
- 標的領域は細菌または真菌の中で相同性の高い領域であるため、種レベルの詳細な区別は困難である。

試験菌株		検出率(陽性数/測定数)				シーケンス結果
		100 copies		10 copies		
		BactFinder	FungiFinder	BactFinder	FungiFinder	相同性
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC 16404	0/3	3/3	0/3	3/3	100%* ¹
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	0/3	3/3	0/3	3/3	100%* ¹
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i>	ATCC 6633	3/3	0/3	3/3	0/3	100%* ²
<i>Clostridium sporogenes</i>	ATCC 11437	3/3	0/3	3/3	0/3	100%* ²
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027	3/3	0/3	3/3	0/3	100%* ²
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	3/3	0/3	3/3	0/3	100%* ²

PCR試薬は各ゲノムDNAを10 copiesまで検出可能であった。
増幅されたターゲットはいずれも検体由来のものであった。

*¹ BLAST解析を実施 相同性はPer. Identの値を記載

*² TrueBac™ IDを用いて解析 相同性はsimilarityの結果を記載

3-3. 試験② PCR試薬の偽陽性リスク評価

正確性

➤ 3ロットを用いて、陰性コントロールを8重測定し、FAMチャンネルでCq値が得られたものを陽性とした。

BactFinder

※陽性数/測定数	陽性率
Lot. A	0 / 8
Lot. B	0 / 8
Lot. C	0 / 8

FungiFinder

※陽性数/測定数	陽性率
Lot. A	0 / 8
Lot. B	0 / 8
Lot. C	0 / 8

すべてのロットで偽陽性は認められず、試薬起因の偽陽性リスクが低いことを確認した。

3-4. 試験③ PCR試薬の機種間差

機種間差

- ▶ 試験1で測定したゲノムDNAの一部を検体として、BactFinder および FungiFinder の機種間差を評価した。
- ▶ 対象とした装置は3機種(バイオ・ラッド社1機種、Thermo Fisher Scientific社2機種)

PCRプログラム(3機種共通)

温度	時間	Cycle数	蛍光検出
95°C	10 sec	1 cycle	なし
95°C	10 sec	45 cycles	あり (FAM・HEX*)
66°C	1 min		

* HEX非対応の場合は、HEX と最大蛍光波長の近いもので検討

メーカー	機種	<i>S. aureus</i> 100 copies		<i>C. albicans</i> 100 copies	
		BactFinder		FungiFinder	
		陽性率	Cq値平均	陽性率	Cq値平均
バイオ・ラッド社	CFX Connect™ Real-Time PCR Detection System	3/3	31.95	3/3	32.00
Thermo Fisher Scientific™	7500 Fast Real-Time PCR System	3/3	33.02	3/3	33.35
Thermo Fisher Scientific™	QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System	3/3	32.91	3/3	33.01

同一のプログラムを用いて、3機種で同等の試験が可能であることを確認した

3-5. 試験④ *In silico* での網羅性

網羅性

➤ 日局記載菌種を含む以下の属において *in silico* での検出可否を評価した。

細菌 33属

<i>Acinetobacter spp.</i>	<i>Lactococcus spp.</i>
<i>Actinomyces spp.</i>	<i>Legionella spp.</i>
<i>Aeromonas spp.</i>	<i>Morganella spp.</i>
<i>Bacillus spp.</i>	<i>Plesiomonas spp.</i>
<i>Bifidobacterium spp.</i>	<i>Pluralibacter spp.</i>
<i>Citrobacter spp.</i>	<i>Propionibacterium spp.</i>
<i>Clostridium spp.</i>	<i>Providencia spp.</i>
<i>Cutibacterium spp.</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>
<i>Enterobacter spp.</i>	<i>Salmonella spp.</i>
<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Serratia spp.</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella spp.</i>
<i>Eubacterium spp.</i>	<i>Staphylococcus spp.</i>
<i>Fusobacterium spp.</i>	<i>Stenotrophomonas spp.</i>
<i>Haemophilus spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>
<i>Helicobacter spp.</i>	<i>Vibrio spp.</i>
<i>Klebsiella spp.</i>	<i>Yersinia spp.</i>
<i>Lactobacillus spp.</i>	

真菌 26属

<i>Absidia spp.</i>	<i>Mucor spp.</i>
<i>Alternaria spp.</i>	<i>Penicillium spp.</i>
<i>Aspergillus spp.</i>	<i>Pneumocystis spp.</i>
<i>Basidiobolus spp.</i>	<i>Pseudallescheria spp.</i>
<i>Candida spp.</i>	<i>Rhizomucor spp.</i>
<i>Chlamydoabsidia spp.</i>	<i>Rhizopus spp.</i>
<i>Cokeromyces spp.</i>	<i>Rhodotorula spp.</i>
<i>Conidiobolus spp.</i>	<i>Saksenaia spp.</i>
<i>Cryptococcus spp.</i>	<i>Trichosporon spp.</i>
<i>Cunninghamella spp.</i>	
<i>Fusarium spp.</i>	
<i>Lichtheimia spp.</i>	
<i>Lobosporangium spp.</i>	
<i>Lomentospora spp.</i>	
<i>Malassezia spp.</i>	
<i>Microsporum spp.</i>	
<i>Mortierella spp.</i>	

※ここに示した菌種は一例であり、全ての菌種を評価した結果ではありません

局方菌種を含むの幅広い菌種のゲノムを検出できることが確認された。

使用データベース
Silva (Version: v138.2.)

3-6. PCR試薬性能のまとめ

試験① 感度・特異性

BactFinder / FungiFinder は各ゲノムDNAを10 copiesまで検出可能であった。
増幅されたターゲットはいずれも検体由来のものであった。

試験② 偽陽性リスク評価

3つのロットで偽陽性は認められず、試薬起因の偽陽性リスクが極めて低いことを確認した。

試験③ 機種間差の評価

3つの機種において同等の試験が可能であることを確認した

試験④ *In silico* における網羅性評価

局方菌種を含むの幅広い菌種のゲノムを *in silico* にて検出できることが確認された。

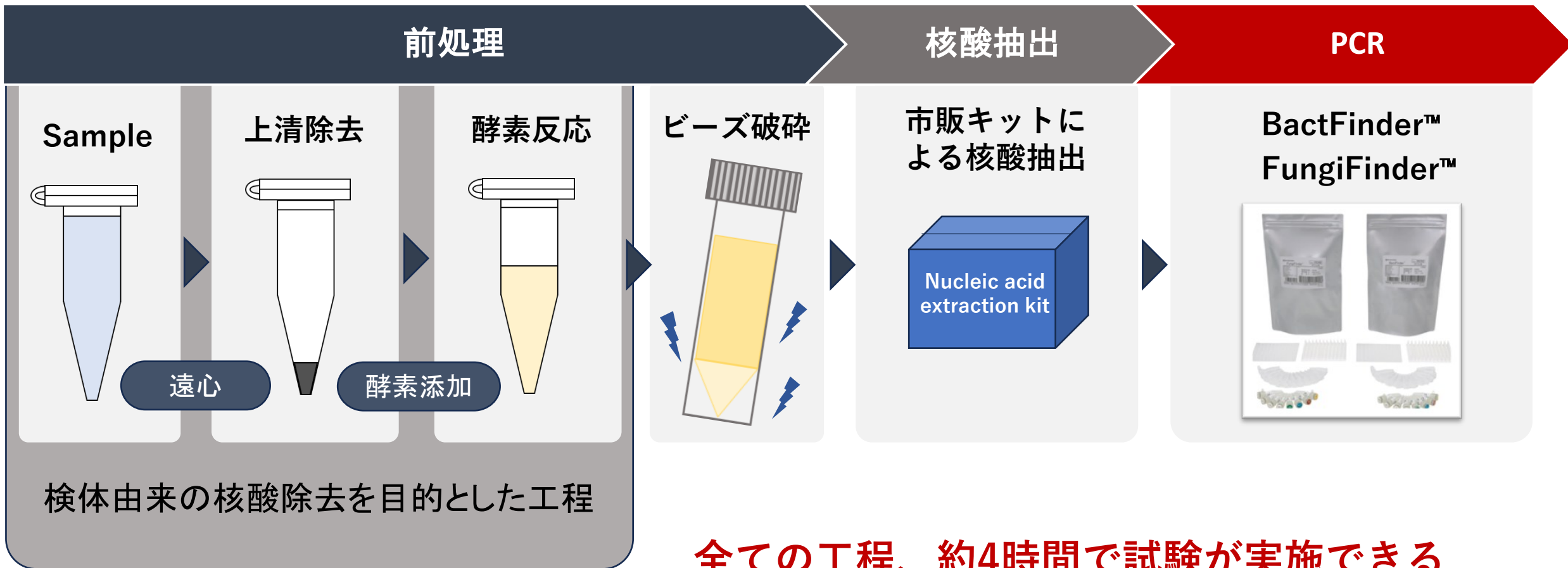
BactFinder / FungiFinderの特徴

- 高い感度と特異性を備えた偽陽性リスクの低いPCR試薬

本日の講演内容

1. 背景
2. 当社で開発された微生物迅速試験法
3. PCR試薬性能
4. 試験系の評価
 - 4-1 迅速試験
 - 4-2 高感度試験
5. まとめ

4-1-1. 迅速試験プロトコールの検体調製



4-1-2. 迅速試験プロトコール性能評価試験

BactFinder™ / FungiFinder™を用いた迅速試験プロトコールを評価するために、以下の試験を実施

測定装置: CFX Connect (バイオ・ラッド社)
蛍光設定: FAM / HEX

試験① 局方6菌種を対象とした感度試験

局方記載の6菌種の菌液を細胞懸濁液に添加したものを検体とし、
100 CFU/検体の検出可否を評価した。

試験② 特異性試験(偽陽性リスク評価)

偽陽性の発生リスクを評価するために、微生物を添加していない陰性検体を測定し、
偽陽性の発生頻度を評価した。

結果判定方法

Cq 数値あり 陽性

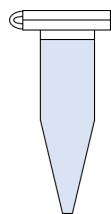
Cq N/A 陰性

4-1-3. 試験① 局方6菌種を対象とした感度試験

感度

- 局方6菌種を対象に菌希釈液をスパイクした Jurkat 細胞の懸濁液 (1×10^6 cells/検体) を検体として、迅速試験プロトコールに従って試験を実施した場合の検出率を評価した。
- 菌濃度はいずれの菌種も100 CFU/検体とし、各条件N=8で試験した。

Sample 1mL



Jurkat細胞 1×10^6 cells
+
菌希釈液 100 CFU

試験菌株		検出率(陽性数/検体数)	
		BactFinder™	FungiFinder™
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC 16404	0/8	8/8
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	0/8	8/8
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i>	ATCC 6633	8/8	0/8
<i>Clostridium sporogenes</i>	ATCC 11437	8/8	0/8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027	8/8	0/8
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	8/8	0/8

細胞を含む検体から100 CFUの検出が可能であることを確認できた。

4-1-4. 試験② 偽陽性率の評価（特異性試験）

特異性

- Jurkat 細胞の懸濁液 (1×10^6 cells/検体) を検体として、迅速試験プロトコールに従って調製された核酸抽出物を BactFinder™ / FungiFinder™ で測定し、偽陽性の発生頻度を評価した。

BactFinder™			
1	+	9	-
2	-	10	-
3	+	11	-
4	+	12	+
5	-	13	-
6	-	14	-
7	-	15	-
8	-	16	+
陽性率		5 / 16 (31%)	

FungiFinder™			
1	-	9	-
2	-	10	-
3	-	11	-
4	-	12	-
5	-	13	-
6	-	14	-
7	-	15	-
8	-	16	-
陽性率		0 / 16 (0%)	

Cq値が得られた場合を陽性(+)、
得られなかった場合を陰性(-)とした。

BactFinder™では3割程度の偽陽性が発生した。
FungiFinder™では偽陽性は認められなかった。

事前に陰性検体を測定してバックグラウンドを把握し、必要に応じてカットオフなどを設定して使用することが望ましい。

4-1-5. 迅速試験のまとめ

試験① 局方6菌種を対象とした感度試験

細胞を含む検体から100 CFUの検出が可能であることを確認できた。

試験② 特異性試験(偽陽性の評価)

検体やサンプル調製過程からの微生物核酸の混入を完全に防ぐことは困難であった。



迅速試験の特徴

- 約4時間程度で100 CFU～の微生物を検出できる試験系である
- 検体やサンプル調製過程で混入する微生物核酸に起因する偽陽性を完全に防ぐことは困難

**検体や試験環境由来の微生物核酸混入のリスクを評価し、
必要に応じてカットオフなどを設定して使用することが望ましい。**

本日の講演内容

1. 背景
2. 当社で開発された微生物迅速試験法
3. PCR試薬性能
4. **試験系の評価**
 - 4-1 迅速試験
 - 4-2 **高感度試験**
5. まとめ

4-2-1. 高感度試験系の必要性

迅速試験の特徴

- 約4時間程度で100 CFU～の微生物を検出できる試験系である
 - ⇒ もっと低レベルの汚染を検出できないか？
- 検体やサンプル調製過程で混入する微生物核酸に起因する偽陽性を完全に防ぐことは困難
 - ⇒ 偽陽性の発生を更に抑えられる試験法はないか？

迅速試験系より高感度かつ偽陽性リスクを低減させた
『高感度試験系』を開発

4-2-2. 高感度試験系の特徴

	迅速試験系	高感度試験系
想定される使用目的	検体の簡易的なスクリーニング	出荷試験、工程内検査
試験系の構成	—	前培養
		前処理 & 核酸抽出
		リアルタイムPCR (BacFinder™ / FungiFinder™)
検出感度	100 CFU	1 CFU (< 10 CFU)
試験時間	～4時間	48～72時間程度の培養＋4時間
試験系の利点	試験当日に判定できる	偽陽性が発生しにくい 死菌の影響を受けない判定

4-2-3. 前培養培地の紹介

高感度試験系では感度改善および偽陽性リスク低減のために下記の培地を用いて前培養を実施する



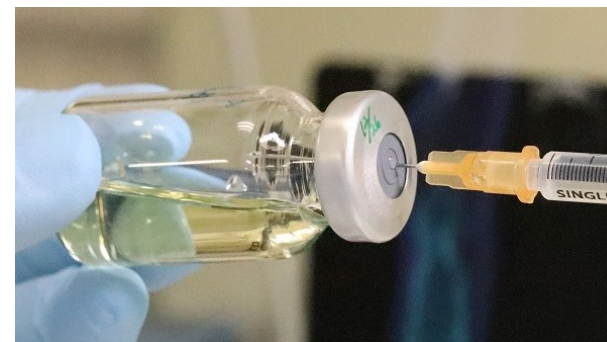
好気用培地（青いフタ）

- ・培養条件: $30 \pm 1^\circ\text{C}$
- ・好気性菌の発育に適した組成

嫌気用培地（赤いフタ）

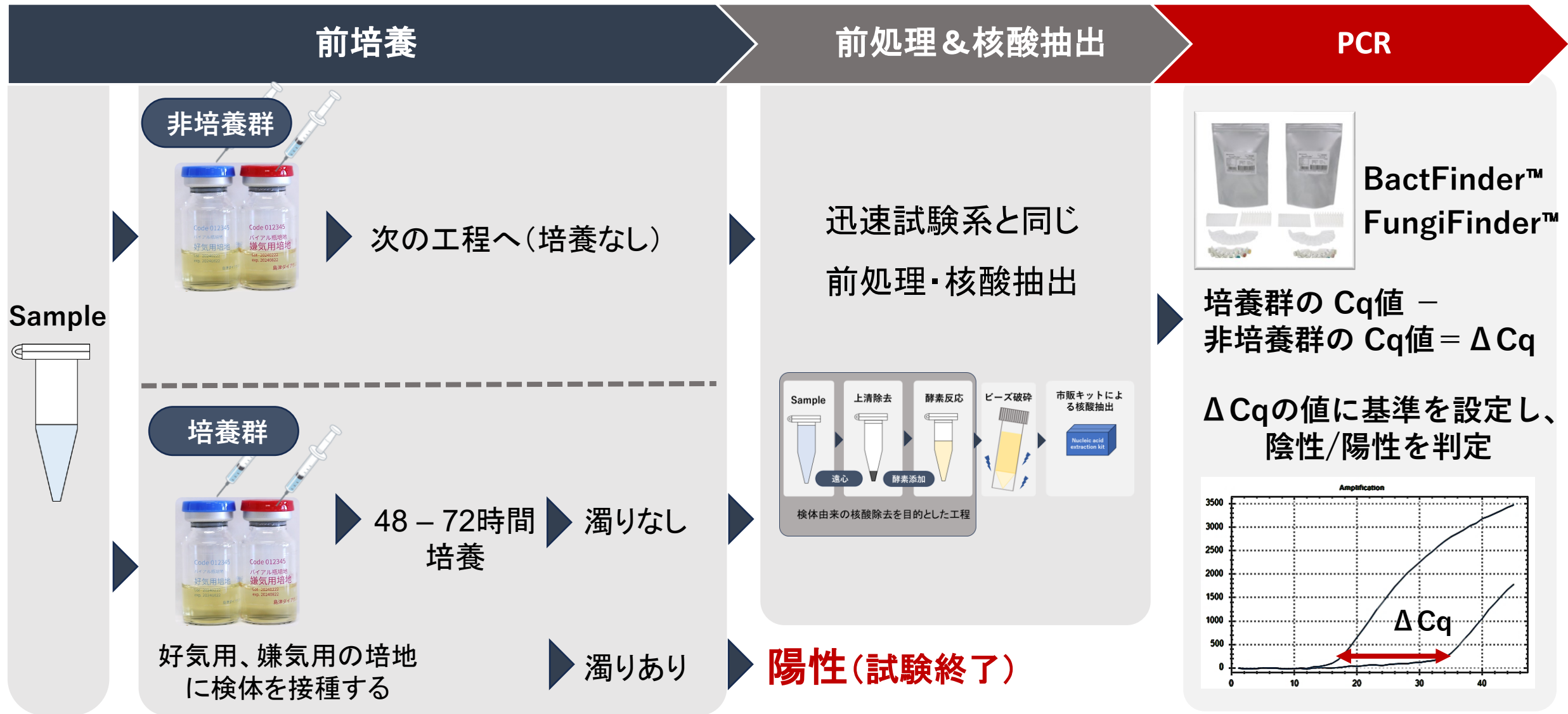
- ・ $35 \pm 1^\circ\text{C}$
- ・嫌気性菌の発育に適した組成
- ・バイアル内が嫌気状態に保たれているため、嫌気培養用の設備不要

- ◆ 好気培養用、嫌気培養用の培地がセットになっている
- ◆ 培地はバイアル瓶に封入されており、検体は注射針で接種する
- ◆ 接種部位の火炎滅菌が可能のため、コンタミネーションリスクが低減される



↑ 検体接種の様子

4-2-4. 高感度試験プロトコールの検体調製



4-2-5. 高感度試験法プロトコール性能評価

BactFinder™ / FungiFinder™を用いた高感度試験プロトコールを評価するため、3項目についての試験を実施した。

測定装置: CFX Connect (バイオ・ラッド社)
蛍光設定: FAM / HEX

試験① 局方6菌種を対象とした最小検出感度評価・同等性評価

局方6菌種の段階希釈液を細胞懸濁液に添加したものを検体とし、検出感度を評価した
検体を培養法でも試験し、試験1の結果と比較することで、従来法との同等性を評価した

試験② 特異性評価1 (偽陽性リスク評価)

偽陽性の発生リスクを評価するために、微生物を添加していない陰性検体を測定し、偽陽性の発生頻度を評価した

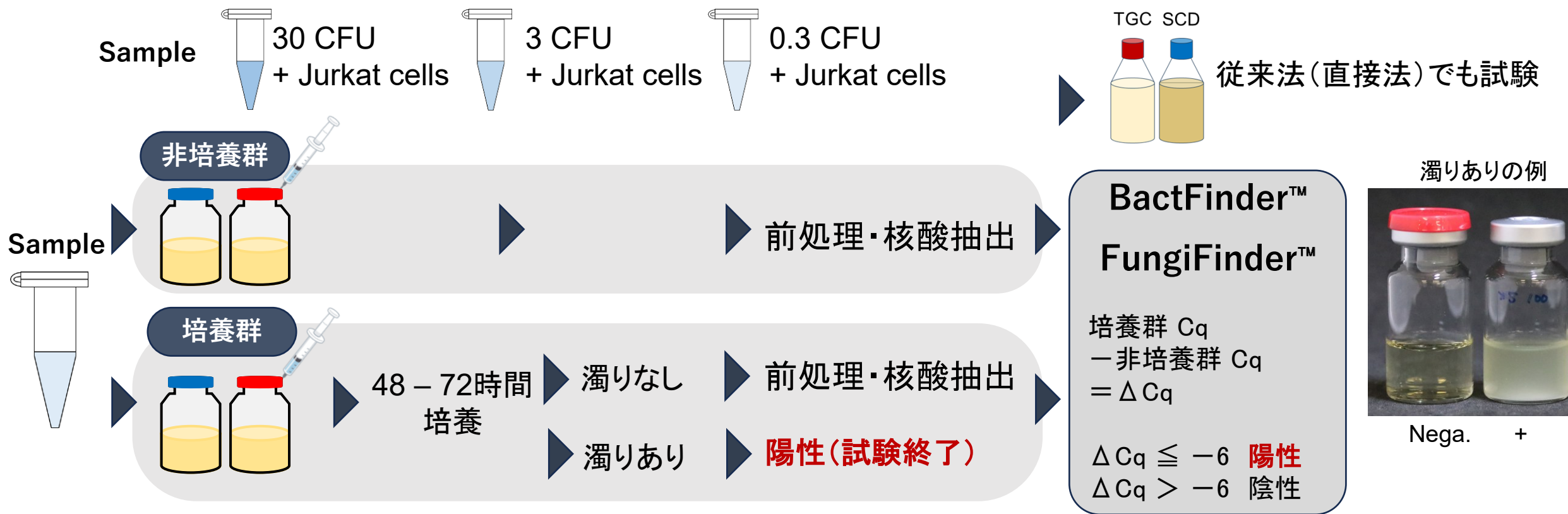
試験③ 特異性評価2 (多菌種の評価)

21菌種を対象に菌希釈液を細胞懸濁液に添加したものを検体とし、特異性を評価した

4-2-6. 試験① 最小検出感度試験 (方法)

最小検出感度試験

- 局方6菌種を対象に菌希釈液をスパイクしたJurkat細胞の懸濁液(1 × 10⁶ cells/検体)を検体とした。
- 菌濃度はいずれの菌種も30、3、0.3 CFU/検体とし、各条件N=3で検体を調製した。
- 検体を非培養群と培養群に接種し、非培養群は当日に前処理・核酸抽出を行った。
- 培養群は48時間の培養後、前処理・核酸抽出を行い、非培養群の抽出サンプルと合わせて測定した。



4-2-7. 試験① 最小検出感度試験（結果）

濁りが確認された検体はPCRを実施せず、陽性と判定した。

濁りが確認できない検体はPCRを行いBactFinder™またはFungiFinder™で、 $\Delta Cq \leq -6$ となった場合を陽性と判定した。

試験菌株		30 CFU			3 CFU			0.3 CFU (< 1)		
		濁り	PCR	検出率	濁り	PCR	検出率	濁り	PCR	検出率
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC 16404	+	N.T.	3/3	+	N.T.	3/3	-	-	0/3
		+	N.T.		+	N.T.		-	-	
		+	N.T.		+	N.T.		-	-	
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	+	N.T.	3/3	+	N.T.	3/3	+	N.T.	2/3
		+	N.T.		+	N.T.		-	-	
		+	N.T.		+	N.T.		-	-	
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i>	ATCC 6633	+	N.T.	3/3	+	N.T.	3/3	-	-	0/3
		+	N.T.		+	N.T.		-	-	
		+	N.T.		+	N.T.		-	-	
<i>Clostridium sporogenes</i>	ATCC 11437	+	N.T.	3/3	+	N.T.	2/3	-	-	0/3
		+	N.T.		+	N.T.		-	-	
		+	N.T.		-	-		-	-	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027	+	N.T.	3/3	+	N.T.	3/3	+	N.T.	2/3
		+	N.T.		+	N.T.		-	+	
		+	N.T.		+	N.T.		-	-	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	+	N.T.	3/3	+	N.T.	3/3	-	+	2/3
		+	N.T.		+	N.T.		-	+	
		+	N.T.		-	+		-	-	

判定基準

培養群 Cq - 非培養群 $Cq = \Delta Cq$

$\Delta Cq \leq -6$ 陽性

$\Delta Cq > -6$ 陰性

+

: 陽性

-

: 陰性

N.T. : 試験未実施

検出率: 陽性数/検体数

局方の6菌種は比較的増殖が早い微生物であるため、48時間の培養で濁りとして検出可能な検体が多かった。一方で、低濃度検体では濁りが認められずともPCRで陽性になる場合が確認され、PCRの迅速性が示された。

4-2-8. 試験① 同等性試験（結果）

従来法は14日間の培養後に濁りが確認できたものを陽性、できなかったものを陰性と判定した。
前培養+PCRの結果は前スライドの結果を転記した。

試験菌株		30 CFU		3 CFU		0.3 CFU (< 1)	
		前培養 + PCR	従来法 (培養)	前培養 + PCR	従来法 (培養)	前培養 + PCR	従来法 (培養)
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC 16404	3/3	+	3/3	+	0/3	-
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	3/3	+	3/3	+	2/3	+
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i>	ATCC 6633	3/3	+	3/3	+	0/3	-
<i>Clostridium sporogenes</i>	ATCC 11437	3/3	+	2/3	-	0/3	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027	3/3	+	3/3	+	2/3	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	3/3	+	3/3	+	2/3	+

+ : 陽性
- : 陰性

検出率: 陽性数/検体数

BactFinder™ / FungiFinder™を用いた高感度試験プロトコールは従来法と同等の性能を有していた。

4-2-9. 追加評価 (*Cutibacterium acnes*)

追加評価

- 再生医療等製品の製造においてコンタミネーションのリスクが高いと考えられる*Cutibacterium acnes*について、感度と同等性を評価した。
- プロトコールは48時間以外に72時間でも評価した。

試験菌株		方法	培養時間	29 CFU			5 CFU			0.3 CFU (<1)		
				濁り	PCR	検出率	濁り	PCR	検出率	濁り	PCR	検出率
<i>Cutibacterium acnes</i>	ATCC 11827	前培養 +PCR	48時間	—	—	0/3	—	+	1/3	—	—	0/3
				—	—		—	—				
				—	—		—	—				
			72時間	+	+	3/3	+	+	3/3	—	—	0/3
				+	+		—	+				
				+	+		—	+				
培養法(直接法)		14日間	+			+			—			

+

 : 陽性

—

 : 陰性

検出率: 陽性数/検体数

培地が濁るまでに時間のかかる菌種もPCRを行うことで迅速に検出可能であった。
従来法と同等の感度を有し、従来法の1/4以下の時間で判定が可能であった。

4-2-10. 試験② 特異性評価1 (偽陽性リスク評価)

特異性

- Jurkat細胞の懸濁液(1×10⁶ cells/検体)を検体として、高感度プロトコールに従って調製された核酸抽出物をBactFinder™とFungiFinder™で測定し、偽陽性の発生頻度を評価した。培養時間は48時間とした。

Sample No.	培地の濁り	BactFinder™		FungiFinder™	
		判定	ΔCq	判定	ΔCq
1	—	—	0.21	—	N/A
2	—	—	0.83	—	N/A
3	—	—	-1.03	—	N/A
4	—	—	-3.06	—	N/A
5	—	—	1.41	—	N/A
6	—	—	-3.03	—	N/A
7	—	—	2.36	—	N/A
8	—	—	2.71	—	N/A
9	—	—	3.34	—	N/A
10	—	—	1.07	—	N/A
11	—	—	-1.83	—	N/A
12	—	—	-3.06	—	N/A
陽性率	0/12	0/12		0/12	

微生物を添加していない細胞懸濁液は、培地で濁りが認められず、BactFinder™およびFungiFinder™でも陰性となった。

BactFinder™、FungiFinder™いずれにおいても環境や検体由来の微生物核酸に影響されることなく、陰性検体を正しく陰性と判定することができた。

+ : 陽性

— : 陰性

N/A: 培養後検体でCq値が得られない

4-2-11. 試験③ 特異性評価2 (多菌種の評価)

網羅性

- 21菌種について高感度プロトコールでの検出可否を評価した。
- PCRのプライマープローブの網羅性を評価するため、濁りが確認できた場合でもPCRを行った。

試験菌株	接種菌数	培養	PCR
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	ATCC 13637	<1	+
<i>Bacillus licheniformis</i>	ATCC14580	2	+
<i>Brevibacterium casei</i>	ATCC 35513	<1	+
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC 9610	8	+
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 13525	11	+
<i>Enterococcus hirae</i>	ATCC 8043	3	+
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	3	+
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	ATCC 14028	9	+
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 51574	9	+
<i>Rhizopus oryzae</i>	社内株	1	+
<i>Paenibacillus gluconolyticus</i>	ATCC 49278	1	+
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	NCTC 6513	5	+

試験菌株	接種菌数	培養	PCR
<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC4698	<1	+
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC16404	1	+
<i>Corynebacterium suicordis</i>	JCM 12370	5	+
<i>Kocuria rhizophila</i>	ATCC9341	6	+
<i>Corynebacterium striatum</i>	社内株	2	+
<i>Bacteroides fragilis</i>	ATCC25285	4	+
<i>Bacteroides vulgatus</i>	JCM5826	34	-
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	社内株	17	-
<i>Corynebacterium propinquum</i>	社内株	8	-

+ : 陽性
- : 陰性

BactFinder™ / FungiFinder™を用いて幅広い菌種を検出できることが確認された。
 前培養とPCRを組み合わせることで、培地が濁る前に微生物の検出が可能であることが示された。

4-2-12. 高感度試験系のまとめ

試験① 局方6菌種を対象とした最小検出感度評価・同等性試験

30 CFUの検体は全て濁りとして陽性判定可能であった。

濁りとして陽性判定されなかった検体においてもPCRにより陽性判定とすることができる検体があった。

従来法と同等の性能を有していた。

試験② 特異性評価1(偽陽性リスク評価)

環境や検体由来の核酸に影響されることなく、陰性検体を正しく陰性と判定することができた。

試験③ 特異性評価2(多菌種の評価)

試験対象とした21菌種全てを検出できることが確認された。

高感度試験系の特徴

- 48時間以内に数CFU～検出する高感度な試験系 ※菌種によっては72時間の培養が必要
- 検体やサンプル調製過程で混入する微生物核酸の影響を受けにくく、偽陽性リスクが少ない
- 48時間程度の前培養が必要であるため、当日の結果判定は困難

本日の講演内容

1. 背景
2. 当社で開発された微生物迅速試験法
3. PCR試薬性能
4. 試験系の評価
 - 4-1 迅速試験
 - 4-2 高感度試験
5. まとめ

5. まとめ

BactFinder™ / FungiFinder™を用いた2つの試験プロトコール

迅速試験法

- 約4時間程度で100 CFU～の微生物を検出できる迅速な試験系である
- 微生物核酸混入のリスクを評価の上、カットオフなどを設定して使用することが望ましい

高感度試験法

- 幅広い菌種を約48時間で数CFU～生菌を検出する高感度な試験系
- 検体やサンプル調製過程で混入する微生物核酸の影響を受けにくく、偽陽性リスクが少ない
- 従来法との同等性を示すバリデーション試験を実施

**試験の目的や要求感度によって
2つの試験系から適切なものをを選択可能**

ご清聴ありがとうございました。