

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590682

研究課題名(和文) 新たな Taq 酵素を用いた迅速な感染症起因菌同定 IT システムの臨床応用

研究課題名(英文) Clinical application of the rapid IT system for identifying pathogenic bacteria using the eukaryote-made Taq DNA polymerase

研究代表者

仁井見 英樹 (NIIMI, HIDEKI)

富山大学・大学病院・助教

研究者番号：50401865

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000 円

研究成果の概要(和文)：我々は eukaryote-made Taq polymerase、および 7 つの  $T_m$  値の二次元 mapping を菌のフィンガープリントとする新たな同定方法 ( $T_m$  mapping 法：特許第 4590573 号、EP1997886) を開発して、検体採取後 3 時間以内に不特定の起炎菌の種属レベルでの同定を可能とした。

試験した 200 検体中、 $T_m$  mapping 法陽性かつ培養陽性が 43 検体(同定一致が 41 検体)、 $T_m$  mapping 法陰性かつ培養陰性が 128 検体、 $T_m$  mapping 法陽性かつ培養陰性が 27 検体、 $T_m$  mapping 法陰性かつ培養陽性が 2 検体であった。以上の結果、実用的に運用可能と確認した。

研究成果の概要(英文)：We developed the novel IT system ( $T_m$  mapping method) for rapidly identifying the dominant bacteria in a clinical sample. Employing only seven primer sets, more than 100 bacterial species can be identified. Moreover, this method can be used to rapidly diagnose the absence of bacteria in clinical samples.

We tested the  $T_m$  mapping method using 200 whole blood samples obtained from patients with suspected sepsis, 85% (171/200) of which matched the culture results based on the detection level. A total of 130 samples were negative according to the  $T_m$  mapping method, 98% (128/130) of which were also negative based on the culture method. Meanwhile, 70 samples were positive according to the  $T_m$  mapping method, and of the 59 suitable for identification, 100% (59/59) exhibited a "match" with the culture or sequencing results. These findings were obtained within three hours of whole blood collection. The  $T_m$  mapping method is useful for identifying infectious diseases requiring prompt treatment.

研究分野：感染症検査方法の開発

キーワード：敗血症 感染症 遺伝子検査 PCR 迅速検査

### 1. 研究開始当初の背景

感染症において、不特定の起炎菌を迅速に同定することは、臨床的にも社会的にも非常に重要である。近年、がん治療や臓器移植などの医療の高度化に伴い、重篤な感染症のリスクが増えている。実際、入院患者における主たる死因は敗血症などの重篤な全身感染症である。適切な抗菌薬治療を行い、重篤な感染症患者を救命するためには、患者検体中の起炎菌を可能な限り迅速に検出・同定することが臨床重要である。しかし、現在の一般的な生化学的性状検査法では、検体提出から起炎菌の同定まで通常2～3日を要する。そのため、結果が判明するまでの間は経験に基づく治療(empiric therapy)を施行せざるを得なく、同定結果の無いままに抗菌薬の選択を余儀なくされていることが現状である。その結果、広域スペクトルの抗菌薬使用による多剤耐性菌の出現や、抗菌薬の選択ミスにより重篤患者が致死的となる危険性等、感染症早期の治療においては未だ重大なリスクを抱えている。

従って、社会的にも、そして臨床の現場からも、感染症早期に起炎菌を迅速同定する検査方法の確立が求められている。検体からスタートして2～3時間で起炎菌を同定するシステムの構築が可能ならば、感染症早期に同定結果に基づいた適切な抗菌薬選択が可能となり、上記の問題解決につながる。

### 2. 研究の目的

我々は eukaryote-made Taq polymerase、および7つの Tm 値の二次元 mapping を菌のフィンガープリントとする新たな同定方法 (Tm mapping 法: 特許第 4590573 号、国際特許 EP1997886) を併用することにより、検体採取後3時間以内に不特定の起炎菌を種属レベルで同定することを可能とした。本法では起炎菌の検出・同定だけでなく、検体が無菌(陰性)であることも迅速に報告することができる。また、菌を高感度に検出できるため、新生児のごく微量(1 ml 程度)な血液検体からでも検査可能である。

今回、我々は Tm mapping 法を培養検査と比較検討し、その正確性を評価する目的で、院内での試験運用を行った。

### 3. 研究の方法

#### 感染症起炎菌迅速同定システムの概要

感染症起炎菌迅速同定システムの概要を図1に示す。本システムでは患者検体から直接抽出した微生物 DNA を鋳型とし、複数の universal primer を用いて nested PCR を行い、melting 解析 (HRM 解析ではない) で得られた複数の melting temperature (Tm) 値を二次元に mapping して、その“形”をデータベースと照らし合わせることで迅速に同定する。PCR においては、1<sup>st</sup> PCR、2<sup>nd</sup> nested PCR 共に増幅曲線が plateau になった時点でストップさせる。この方法により、

検体採取から3時間以内で、検体中に最も多く存在するバクテリア(起炎菌)が同定される。データベースとの照合・同定には、起炎菌同定ソフトウェアを Web 上で使用する。また、bacterial universal primer を用いた起炎菌の PCR 検出には、(株)北海道三井化学と共同開発した eukaryote-made Taq polymerase<sup>9)</sup>(真核生物を宿主細胞として作成した Taq polymerase)を用いる。これは bacterial DNA contamination-free を初めて実現した Taq polymerase であり、患者検体より直接、高感度で正確なバクテリア DNA の検出を可能とする。また、感度・特異度を更に高め、夾雑物による Tm 値への影響を排除するために、本システムでは nested PCR を採用した。

現在のシステムでは7つの bacterial universal primer、1つの fungal universal primer、そして1つの mecA(メチシリン耐性遺伝子) primer の計9つの primer を用いている。これにより、バクテリアの有無と種属の同定、真菌およびメチシリン耐性の有無とが迅速に判定できる。これらの primer はバクテリア・真菌、mecA にそれぞれ特異的に反応し、ヒトの genomic DNA や mitochondrial DNA とは全く反応しない。このようなプライマーの特異性は、患者検体からの直接検出において重要である。

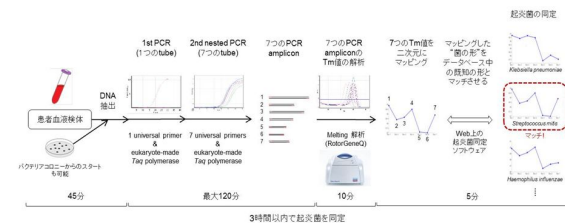


図1

#### 新たな起炎菌迅速同定方法; Tm mapping 法

複数の Tm 値を二次元に mapping し、その mapping した Tm 値が描く“形 (Tm mapping shape)”を菌種特異的な形として同定する新たな方法を、我々は Tm mapping 法と命名した。この方法は培養や sequencing を用いないため、迅速・簡便・安価な同定が可能である。本システムの場合、7つの Tm 値が2次元に描く Tm mapping shape が星座のように菌種毎に異なる(図 3e)ことを利用して同定する。以下、Tm mapping 法について具体的に説明する。

まず、16S ribosomal RNA 遺伝子の8か所の conserved region に、7つの bacterial universal primer (全てのバクテリア DNA を検出する primer) セットを設計した(図 2a)。これらの primer を用いた nested PCR の結果、7つの amplicon が得られる。amplicon は7つ以上でも、またそれ以下であってもシステム構築は可能である。しかし、多菌種の同定には amplicon の数が生み出す多様性が必要であり、とって多過ぎて系

が煩雑かつコスト高となるため、実用的に7つを適当と判断した。次に、ampliconそれぞれのTm値を測定する。得られる7つのampliconは、菌種によってその塩基配列が異なる。従って、7つのampliconそれぞれのTm値は菌種毎に異なる。ここでいうTm値とは、二本鎖DNAの50%が一本鎖に解離する時の温度である。Tm値は一般的に考えられているような、DNA中のGC含有率(%)のみで決まる訳ではない。最近接塩基法により、塩基配列の横の並びもまたTm値に影響することが説明されている。例えば“AGCT”が“ACGT”に変化すると、GC%は変わらないがTm値は変化する。この原理に従えば、塩基配列の多様性がTm値に十分反映されることが分かる。Tm値そのものの多様性と、その多様な7つのTm値を二次元にmappingして並べることで、菌それぞれの塩基配列の相違がTm mapping shapeとして反映される。

ところで、リアルタイムPCR機器でのTm値の測定には常に測定誤差を伴う。Tm値をフィンガープリントとして同定に利用する以上、測定誤差は正確な同定にとって大きな問題となる。Tm値の測定誤差には、施行間誤差とサンプル間誤差という2つの誤差が含まれる。施行間誤差とは、施行回毎にTm値全体が上下することであり、7つのTm値に同様に生じるため、Tm mapping shapeには影響しない。問題はサンプル間誤差であり、Tm mapping shape そのものに影響する。従って、Tm mapping法を用いて同定するためには、サンプル間誤差を出来るだけ小さくすることが重要となる。そして、そのサンプル間誤差とは測定機器自体の性能に依存する。一般的なリアルタイムPCR機器のサンプル間誤差は±0.3前後であるが、それではTm mapping shapeは崩れてしまい、正確な同定は出来ない。我々はエアバス式の温度制御でサンプル間誤差の少ないRotor-Gene Q (QIAGEN)を用い、更にEva greenを用いたmelting解析(HRM解析ではない、Melting curveの形状の解析と本方法とは全く異なる)を行うことで、サンプル間誤差を安定的に±0.1以内に収められるようにした。サンプル間誤差が±0.1以内であれば、Tm mapping shapeを用いて、起炎菌を種属レベルで正確に同定することが可能となる。最後に、得られたTm mapping shapeを“形”として測定するために、次のような計算を行う。まず7つのTm値の平均値を算出し、7つのTm値それぞれの平均値からの距離を計算する(図2b)。平均値より大きければプラス、小さければマイナスとする。すると、平均値からの7つの距離のそれぞれは、Tm mapping shapeを反映する。従って、起炎菌を同定するには、それら7つの距離のそれぞれの値が、データベースのそれと最も近いものを求めれば良い。計算式で表すと、「7つの距離それぞれのデータベースとの差」の総

和(= Difference Value (D)と表す)が最も0に近い菌が、Tm mapping shapeの最も相似した菌であることを意味する(図2c)。すなわち、それが同定結果である。尚、サンプル間誤差が±0.1であれば、Difference Valueは理論上0.24以下となり、同定結果の正確性を判定する1つの指標となる。

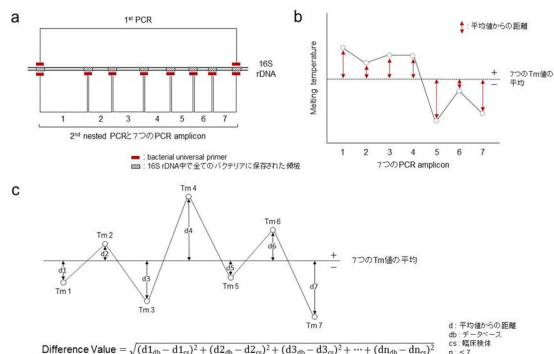


図2

## 起炎菌同定ソフトウェア

我々は上記の計算式にて Difference Value を自動的に計算し、同定結果を瞬時に表示する起炎菌同定ソフトウェアを(株)北見情報技術と共同開発した(図3)。本ソフトウェアの使用により、専門性やトレーニングを必要とせず、誰でも簡単に起炎菌の同定が行える。ソフトウェアはクラウドで作成しており、Web上で何処からでも使用できるシステムとなっている。データ・インプット画面(図3a)に臨床検体から得られた未知の起炎菌の7つのTm値をインプットし、searchボタンを押す。すると、瞬時に Difference Value の0から近い順にデータベース上の菌が表示される。(図3b)。この結果、Difference Valueが最も0に近い菌が起炎菌と同定される。また、info(information)ボタンを押すと、その菌の概要や臨床症状、治療薬選択についての情報を得られると共に、Tm mapping shapeのデータベースとの相同性を視覚的に確認することができる(図3c)。図左がTm値の実測値での比較、右が双方の平均値をadjustして重ねた図形である。これにより、視覚的にもTm mapping shapeがほぼ一致したことが分かる。逆に起炎菌以外の菌をチェックしてみると、Tm mapping shapeが重なり合わないことが視覚的にも明らかである(図3d)。データベースは現在、富山大学附属病院で過去5年間に検出された107菌種をsequencingで確認した後に登録している。データベース内のTm mapping shapeの一部(18菌分)を示す(図3e)。菌種毎にそれぞれのTm mapping shapeが異なることが分かる。但し、菌によっては必ずしも7つのbacterial universal primerの全てが結合する訳ではなく、Tm値が7つ未満となる場合もある。その場合はprimerの結合しないパターン同士で起炎菌を検索するシステムとなっているため、primerが結合しないこ

ともまた菌の特徴として利用される。

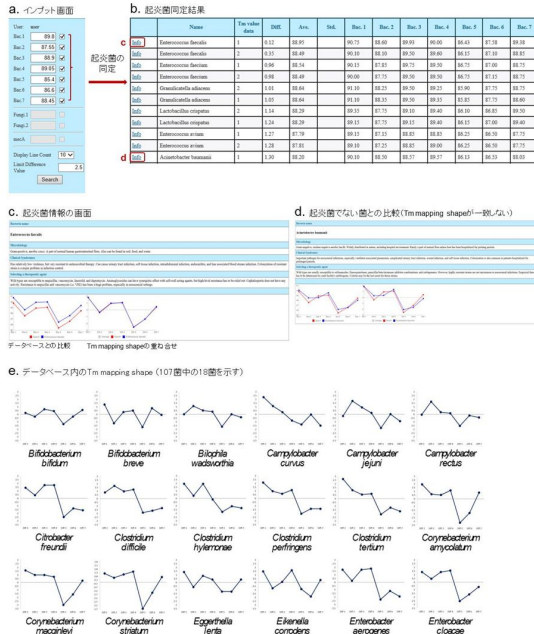


図3

#### 4. 研究成果

##### 本システムの判定基準と正確性の評価

Tm mapping 法による起炎菌同定を正確に行うために、我々は先ず Difference Value を基にした判定基準を作成した (Table 1)。サンプル間の測定誤差を考慮すると、Difference Value 0.3 未満の同定結果が 2 菌種得られた場合、どちらも共に起炎菌の可能性が高い。この場合、同定結果は「共に起炎菌の可能性あり」と判定するに留まる。但し、0.3 未満に 2 菌種入る場合の殆どは *Staphylococcus* 属であり、2 菌の属が異なることは殆どない。正確性のテストにおいて、Difference Value 0.3 未満に 2 菌種が同定され、そのうち 1 菌種が sequencing の同定結果と一致した場合、我々は“broad match”という表現で定義した。また、Difference Value が最小でも 0.5 以上の場合、Tm mapping shape はデータベースと明らかに異なる (データベースに存在しない) ため、起炎菌を同定しないことにした。この場合、「臨床検体中にバクテリアが存在する」と判定するのみである。

我々は本システムにおける起炎菌同定の正確性を評価するために、以下の 3 つのテストを行った (Table 2)。先ずデータベース登録に用いた 107 菌種のバクテリア DNA を用いて、ブラインド・テストでの同定を試みた。その結果、match が 106 菌、broad match が 1 菌であった。また、この時の Difference Value は  $0.15 \pm 0.05$  (SD = 0.021) であり、理論値 ( $D \leq 0.24$ ) の範囲内に収まった。このことは、Tm 値のサンプル間誤差が  $\pm 0.1$  の範囲内であったことを意味する。

次に、150 の培養コロニー (51 菌種) からそれぞれ DNA を抽出し、Tm mapping 法を用い

て菌の同定を試みた。そして、sequencing との一致率、すなわち正答率を算出した。その結果、Difference Value 0.5 以上の 10 コロニーを除いた 140 コロニー中、match が 115 コロニー、broad match が 11 コロニー、mismatch が 4 コロニーであり、match と broad match を合わせた正答率は 97% であった。尚、broad match の全ては *Staphylococcus* 属であり、mismatch は全て複数菌の存在が認められた。

最後に、42 症例の臨床検体からそれぞれ DNA を抽出し、Tm mapping 法を用いて 3 時間以内での菌の迅速同定を試みた。そして、sequencing との一致率、すなわち正答率を算出した。検体種は血液、羊水、髄液である。その結果、Difference Value 0.5 以上の 8 検体を除いた 34 検体中、match が 30 検体、broad match が 3 検体、mismatch が 1 検体であり、match と broad match を合わせた正答率は 97% であった。尚、broad match の全ては *Staphylococcus* 属であり、mismatch の 1 菌はデータベース中に登録されていなかった。

Difference Value (D)	結果の信頼性	同定の判定基準
$0.0 \leq D < 0.3$	高い	この範囲に 1 菌のみ入る場合、起炎菌と判定する 2 菌が入る場合、共に起炎菌の可能性ありと判定
$0.3 \leq D < 0.4$	中等度	
$0.4 \leq D < 0.5$	低い	
$0.5 \leq D$	信頼できず	この範囲では起炎菌を同定しない

Table 1

Difference Value (D)	サンプル数	vs. Sequencing method			解析不能
		No. of matches	No. of broad matches	No. of mismatches	
バクテリア DNA (107 菌種) を用いたブラインド・テスト					
$0.0 \leq D < 0.3$	107	106	1	0	0
$0.3 \leq D < 0.4$	0	0	0	0	0
$0.4 \leq D < 0.5$	0	0	0	0	0
$0.5 \leq D$	0	0	0	0	0
バクテリア・コロニー (140 コロニー: 51 菌種) を用いた迅速同定					
$0.0 \leq D < 0.3$	110	98	10	2	0
$0.3 \leq D < 0.4$	17	15	1	1	0
$0.4 \leq D < 0.5$	3	2	0	1	0
$0.5 \leq D$	10	5	0	5	0
臨床検体 42 検体 (血液 22、羊水 11、髄液 9) を用いた迅速同定					
$0.0 \leq D < 0.3$	25	22	3	0	0
$0.3 \leq D < 0.4$	8	8	0	0	0
$0.4 \leq D < 0.5$	1	0	0	1	0
$0.5 \leq D$	8	1	0	2	5

Table 2

##### Tm mapping 法の利点および今後の課題

Tm mapping 法ではデータベースを組み込んだ起炎菌同定ソフトウェアを用いるため、データベースの修正・拡張などの更新が容易である。従って、例えば mutant strain が新たに見つかった場合、直ぐにデータベースに加えさえすれば、迅速に同定に反映される。これは、固相の抗体やオリゴプライマーを用いた方法と比較してより優れた点である。また、プライマー数を 7 つに固定して広範な菌種を同定出来ることは、同定菌種がプライマー数に依存する、特異的プライマーを用いる方

法と比較してより優れた点である。更に eukaryote-made *Taq* polymerase を用いた PCR により、臨床検体から直接、高感度に細菌 DNA を検出でき、sequencing も必要としないため、検体採取後 3 時間以内での迅速同定が可能となる。これは、一般的に細菌・コロニーからスタートする質量分析法と比較して、より優れた点である。

Tm mapping 法では、検体中の最も多い菌を同定する。もし、検体中に複数の菌が同程度存在すれば、Tm 値が重なってしまい、同定することが出来ない。従って、Tm mapping 法に適している検体種とは、通常無菌的で常在菌が存在せず、感染後も 1~2 菌しか検出されないような検体ということになる。そのような検体は例えば血液や髄液であり、我々の検査室でも血液検体の 9 割以上は 1 菌のみの検出である。仮に複数の菌が存在したとしても、1 菌のみが数的に優位であれば同定は可能である。複数の菌が同程度存在するような検体では迅速同定とはいかず、コロニーからの同定となる。

Tm mapping 法では培養法を用いないため、迅速であることに加え、コンタミ菌を見分けられるという利点がある。培養では菌毎に増殖の速さが異なり、また、長時間の培養では菌の多少に関わらず、増殖後の菌量が同程度に plateau に達することにより、起炎菌とコンタミ菌との判別がつかなくなる。しかし、本法では最も多い菌のみを同定するため、少量のコンタミ菌を起炎菌として迅速同定することは無い。

真菌については現在、有無のみの確認を行っている。しかし、真菌も細菌と同様、Tm mapping 法による同定が可能である。細菌と比較して病原性真菌の種類は少ないため、より少ないプライマーセットでの同定が可能だろう。また、耐性遺伝子については現在、メチシリン耐性遺伝子 *mecA* のみの検出を行っているが、病院内のその時々流行に従って選択するようにしている。

今後、Tm mapping 法を臨床検査でルーチン化するには、登録菌種を適宜、増やしていくと同時に、検体種毎にデータベースを分ける必要がある。また、PCR buffer の塩濃度が大きく異なると Tm mapping shape に影響する。従って、同じデータベースを同定に用いるならば、7つの bacterial universal primer、eukaryote-made *Taq* polymerase、そして PCR buffer の組成を固定した上でキット化することが望ましい。

## おわりに

以上、迅速検査法として新たに開発した Tm mapping 法について、方法論と正確性、今後の課題などについて執筆した。正確である限り、検査は早ければ早いほど治療に役立つ。重篤な感染症の患者にとって、迅速検査は直に救命につながる。特に迅速検査を必要とする医療現場においてこそ、Tm mapping 法を役

立てるようにしたいと考えている。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計5件)

Ueno T, et. al. Niimi H (9人中1番目, first co-author, corresponding author), Kitajima I (9人中9番目); Eukaryote-Made Thermostable DNA Polymerase Enables Rapid PCR-Based Detection of Mycoplasma, Ureaplasma and Other Bacteria in the Amniotic Fluid of Preterm Labor Cases. ***PLoS One***, 査読有, 2015, 10(6):e0129032. doi: 10.1371

Harada K, Mikuni S, Beppu H, Niimi H (9人中4番目), Abe S, Hano N, Yamagata K, Kinjo M, Kitajima I (9人中9番目); A Rapid and High-Throughput Quantitation Assay of the Nuclear Factor  $\kappa$ B Activity Using Fluorescence Correlation Spectroscopy in the Setting of Clinical Laboratories. ***PLOS ONE***. 査読有り, 2013, 8(10):e75579, 1-8.

仁井見英樹; Tm mapping 法: 検体採取後 3 時間以内での起炎菌同定を可能とする新たな検査法. **臨床化学**, 査読無し, 2013, Vol. 42(No. 2), 124-130.

Kitajima I (2人中1番目), Niimi H (2人中2番目); Establishment of the rapid, hypersensitive testing systems for sepsis/SIRS. ***Rinsho byori. The Japanese journal of clinical pathology***, 査読有り, 2012, 60, 46-51.

Kubota T, Hayashi S, Niimi H (4人中3番目), Kitajima I (4人中4番目); Trend survey of ocular infections with bacteria at Toyama University Hospital over the past six years--from the standpoint of laboratory examination. ***Rinsho byori. The Japanese journal of clinical pathology***, 査読有り, 2012, 60, 605-611.

[学会発表](計13件)

仁井見英樹, 血液中の菌数を敗血症重症度や治療効果の新たな指標とする検査技術の開発, 第 61 回日本臨床検査医学会学術集会、福岡 2014 年 11 月 25 日

仁井見英樹, 感染症起炎菌迅速同定法 (Tm mapping 法) の学内試験運用における正確性の評価, 第 54 回日本臨床化学会年次学術集会、東京 2014 年 9 月 6 日

Niimi H, The Melting Temperature (Tm) Mapping Method: A Novel Rapid, Easy, and Cost-Effective Method That Identifies Unknown Pathogenic Microorganisms within 3 Hours of Patient Sample Collection, Microbiology & Infectious Diseases Asia Congress, Singapore 2014 年 6 月 10 日

Niimi H, The Melting Temperature (Tm) Mapping Method: A Novel Method That Enables Rapid Identification of Unknown Pathogenic Bacteria In Sepsis Within Three Hours of Whole Blood Collection, ECCMID 2014, Barcelona, Spain 2014年5月11日

Niimi H, The Melting Temperature (Tm) Mapping Method: A Novel Method That Enables Rapid Identification of Unknown Pathogenic Microorganisms within Three Hours of Patient Sample Collection, The 9th Cherry Blossom Symposium, Yokohama, 2014年4月18日

Niimi H, The Tm Mapping Method: A Novel Method That Enables Rapid Identification of Unknown Pathogenic Microorganisms within Three Hours of Patient Sample Collection, ID WEEK 2013 San Francisco 2013年10月3日

Niimi H, A new rapid, easy, and cost-effective method that identifies unknown pathogenic microorganisms within 3 hours of sample collection, 2013 AACC Annual Meeting, Houston, USA 2013年7月31日

Niimi H, A new rapid, easy and cost-effective method that identifies unknown pathogenic microorganisms within 3 hours from sample collection, IFCC EUROMEDLAB 2013, Milano, Italy 2013年5月23日

Niimi H, A novel, rapid, easy and cost-effective method that identifies unknown pathogenic microorganisms within three hours of sample collection, ECCMID 2013 Berlin, Germany 2013年4月29日

Niimi H, A Novel Tm-mapping Method That Enables Identification Of Pathogenic Microorganisms Within 3 Hours After Samples Are Collected, 52nd ICAAC 2012, San Francisco USA 2012年9月11日

Niimi H, A novel rapid method that enables identification of pathogenic microorganisms within 3 hours after clinical samples are collected, 112th ASM 2012 General Meeting, San Francisco USA 2012年6月18日

仁井見英樹, "eukaryote-made" Taq DNA polymerase の開発による高感度・正確なバクテリア検出法, 第86回日本感染症学会総会・学術講演会、長崎 2012年4月25日

Niimi H, A novel rapid method enables identification of pathogenic microorganisms within 3 hours after samples are collected, the 22nd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, London UK 2012年4月2日

〔図書〕(計3件)

仁井見英樹, 血液検体からの起炎菌の直接検出・同定方法の開発. 化学療法の領域増刊号, 2015, 31(S-1) 211-219

仁井見英樹, Tm mapping 法: 敗血症起炎菌迅速同定システムの開発. 敗血症の診断 / 治療の実情と病態・メカニズムをふまえた開発戦略 (株)技術情報協会, 2013, 197-203

仁井見英樹, 一般細菌における核酸検査. MEDICAL TECHNOLOGY 臨時増刊号「遺伝子検査実践マニュアル」, 2012, 40(13) 1587-1591

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

取得状況 (計2件)

名称: 耐熱性 DNA ポリメラーゼを含む酵素調整物およびその製造方法, 並びに検出対象生物の検出方法

発明者: 多葉田 誉, 南洋, 仁井見英樹, 北島 勲, 上野智浩, 林史朗, 森正之

権利者: 三井化学(株)

種類: 特許

番号: 第 5583602 号

取得年月日: 2014年7月25日

国内外の別: 国内特許

名称: Method for quickly identifying pathogenic bacteria

発明者: Hideki Niimi, Isao Kitajima

権利者: 国立大学法人 富山大学

種類: 特許

番号: EP1997886

取得年月日: 2012年12月4日

国内外の別: 国際特許 (米国, 欧州)

〔その他〕

仁井見英樹; 原因菌 3 時間で特定 - 先端技術 - 日経産業新聞, 2013, 10658 号, 11-11.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

仁井見 英樹 (NIIMI, Hideki)

富山大学・大学病院・助教

研究者番号: 50401865

### (2) 研究分担者

北島 勲 (KITAJIMA, Isao)

富山大学・大学院医学薬学研究部 (医学)・

教授

研究者番号: 50214797

### (3) 研究分担者

野手 良剛 (NOTE, Ryougou)

富山大学・大学病院・臨床検査技師長

研究者番号: 60377364