

新しい微細加工デバイスと顕微鏡を用いる簡易迅速薬剤感受性測定法

The New Rapid Method To Determine Antibiotic Susceptibility Via Microscopy Using A Novel Microfluidic Device



松本 佳巳 ○
Y. Matsumoto
西野 邦彦
K. Nishino

▶ キーワード Keyword

多剤耐性、緑膿菌、抗菌薬感受性、ESBL、MBL、MRSA マイクロデバイス、簡易迅速 multidrug resistance, Pseudomonas aeruginosa, drug susceptibility, ESBL, MBL, MRSA, micro device, easy & rapid

▶ 応用分野 Application

細菌感染症の診断・治療
diagnosis and treatment of microbial infections

▶ 目的・期待される効果

- 臨床分離細菌の抗菌薬感受性測定迅速化
- 救命率向上、抗菌薬使用量の低減、菌の耐性化の抑制、医療費削減



研究内容

▶ 背景

近年、細菌検査の技術進歩は著しく、MALDIやPCR、次世代シーケンサ等を用いた迅速法が実用化されていますが、感受性測定は遅れており、耐性菌が蔓延している今日、菌名だけが判明しても、適切な薬剤を選択することが難しい状況です。

▶ 技術概要

迅速化が難しい濁度を指標とする感受性判定に代えて、Drug Susceptibility Testing Microfluidic device (DSTM) と名付けた新しいチップ(右図)を用いて位相差顕微鏡で判定することで、著しい迅速化を図ることができました。

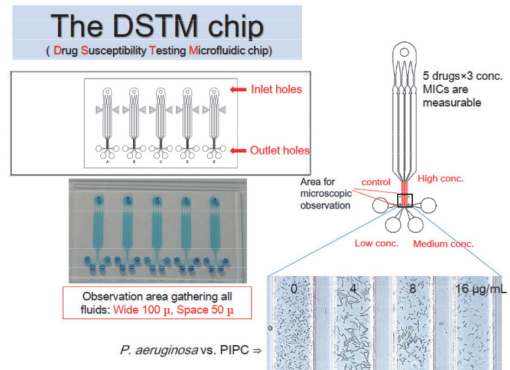
このチップは、ソフトリソグラフィーを用いて作成しており、図に示したように、菌液の注入口を共有する4本の流路が5組あり、5種の薬剤をそれぞれ3濃度ずつ検査することができます。観察領域は、4本の流路が細くなって収束し、まとめて1視野に観察可能です。薬剤を前もって乾燥固定しておき、培地に濁度を調製した菌液を注入口から入れ、最後に少し空気を入れて4本の流路を遮蔽します。高湿度にて培養後、顕微鏡下で薬剤無添加のコントロールとの比較により、感受性の有無を判定します。菌数の増減だけでなく、形態変化や運動性なども感受性の指標とすることができ、増殖の遅い緑膿菌の感受性は3時間、腸内細菌科の菌は2時間で感受性を判断することができるようになりました。また、小さくて目に見える形態変化をほとんど示さないブドウ球菌の感受性も、流路内でのコロニー形成の有無を指標に3時間で判定できることが明らかになりました。

肉眼判定は、慣れば難しくありませんが、人為的誤差が入る可能性があるため、八木研(アンドレイさん、他)と共同研究して、緑膿菌の感受性測定用ソフトウェアも作りしました。

この検査法を臨床応用すれば、従来法より1日早く最適な抗菌薬に変更することが可能になります。さらに、血液培養陽性検体のような汚染菌の少ない検査材料については、検査会社ビー・エム・エルと共同で、高速遠心機が無くても簡単な前処理により、直接DSTM法にかけられることを検証しました。菌血症が判明したその日のうちに至適抗菌薬を選ぶことができるようになり、治療効果の改善や耐性菌の抑制、結果として医療費削減に繋がることなどが期待されます。

▶ 特長

従来法と比較しての優位性は、第一に迅速性で、検査した当日に結果をフィードバックできます。操作が簡便で、デバイスは小さく医療廃棄物の量も軽減できます。ソフトによる自動判定が可能になり、信頼性も増しました。自動機器のように大きな設備投資が不要で、安価に検査できることがメリットとなります。緑膿菌や大腸菌の感受性測定以外にもESBL・MBL産生菌やMRSAの検出といったスクリーニング目的にも使用できるチップができ、真菌や抗酸菌用のチップも検討中で、応用範囲はさらに広がる予定です。近年、顕微鏡を用いる迅速法が種々報告され始めましたが、DSTM法は、タイムラプスを取る必要がなく、一度に複数の検体を評価できるのもメリットの一つです。



【論文 Paper】

- [1] PLoS One. 2016 in press. A Microfluidic Channel Method for Rapid Drug-Susceptibility Testing of Pseudomonas aeruginosa
- [2] PLoS One. 2011 Apr 12;6(4):e18547 Evaluation of multidrug efflux pump inhibitors by a new method using microfluidic channels

【特許 Patent】

- [1] 特願 2011-200036 細菌または真菌の抗菌薬感受性の検査方法およびそれに用いるシステム
- [2] PCT / JP2012 / 072181 (2012年8月31日) 公開番号 WO2013/038925A1