

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

キーワード Keyword

多剤耐性、緑膿菌、抗菌薬感受性、ソフトリソグラフィー、マイクロデバイス、簡易迅速
multidrug resistance, pseudomonas aeruginosa, drug susceptibility, soft lithography, 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

- 臨床分離株の抗菌薬感受性測定
- 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

研究開発段階

基礎

実用化準備

実用化

研究分野

生体分子制御科学

研究者



松本 佳巳○
Y. Matsumoto
西野 邦彦
K. Nishino

研究内容

概要

臨床における細菌検査の中で、著しい迅速化が達成された菌種同定法に比べ、感受性測定の迅速化は殆ど進んでいないため、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は難しい状況です。感受性測定の迅速化が進まない原因は、菌に薬剤を作用させて菌の反応を見る際に、濁度を指標にするためです。そこで、判定に顕微鏡を用いることで感受性測定を迅速化することを試み、顕微鏡判定を容易にするために考案したのが Drug Susceptibility Testing Microfluidic device (DSTM) と名付けた新しいデバイスです。DSTM と顕微鏡を用いることで、増殖の遅い緑膿菌の感受性も3時間以内に判定が可能となりました。臨床応用できれば、従来法より1日早く最適な抗菌薬を投与することが可能になることが期待されます。さらに、血液培養陽性検体のような汚染菌のない検査材料については、簡単な前処理の後、菌をコロニー分離することなく直接DSTM法にかけることもできる(東大病院検査部と共同研究実施中)ことから、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、医療費削減効果などが期待されます。

技術内容

微細加工技術の一つであるソフトリソグラフィーを用いて作成したマイクロデバイスDSTMと顕微鏡を用いて、抗菌薬感受性を簡易迅速に測定する技術です。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。保湿培養後に、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できるようになりました。肉眼判定は、慣れ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・菊池さん)と共同研究して、緑膿菌の感受性測定用ソフトウェアを作っています(完成間近)。

特長(優位性)

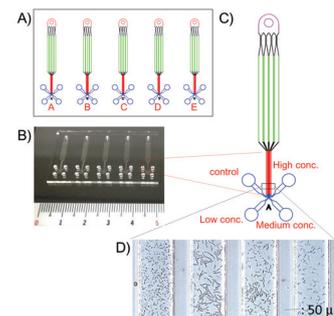
従来法と比較しての優位性は、第一に迅速性で、検査した当日に結果をフィードバックできます。操作が簡便で、デバイスは小さく医療廃棄物の量も軽減できます。ソフトによる自動判定が可能になり、信頼性も増しました。自動機器のように大きな設備投資が不要で、安価に検査できることも重要なポイントとなります。緑膿菌の感受性測定以外にもESBL産生菌やMRSAの検出といった目的にも使用可能なことが明らかになりつつあり、応用範囲はさらに広がる予定です。近年、顕微鏡を用いる迅速法が種々報告され始めましたが、DSTM法は、タイムラプスを取る必要がなく、一度に複数の検体を評価できるのもメリットの一つです。

【論文 Paper】

- [1] PLoS One. 2016 11 (2) : e0148797. 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



〈DSTMの例〉
A) 流路を型取りしたPDMSシートの略図
B) DSTMの実物写真
C) 1組の流路の拡大図
D) 検査結果の画像例(緑膿菌)