

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

研究分野
感染症制御学
研究者



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、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

感染症治療
treatment of infection

目的・期待される効果

- 臨床分離株の抗菌薬感受性検査
- 救命率の向上、抗菌薬使用量の減少、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

研究内容

概要

臨床検査室における主要な細菌検査には、菌種同定と感受性検査があり、複数の手動法に加え、両者を同時に検査できる自動機器も汎用されているが、いずれも迅速化の点で不十分でした。ところが、近年、極めて迅速な菌種同定法が実用化され、30分以内に起炎菌の菌名が判明するまでになりました。しかし、これらの方法は、残念ながら感受性測定には対応できておらず、感受性測定の迅速化は殆ど進んでいないのが現状です。耐性菌が蔓延している今日、菌名だけが判明しても感受性の結果が得られなければ、適切な薬剤を選択することは困難です。

感受性測定の迅速化が進まない原因は、緑膿菌のような菌種の場合、耐性機作が複雑で、個々の耐性因子の有無と感受性が必ずしも相関しないことから、実際に菌に薬剤を作用させて菌の反応を見る必要があり、濁度として確認できるまで菌を培養するためです。そこで、判定に顕微鏡を用いることで感受性測定法を迅速化を試み、顕微鏡判定を簡易化するためのマイクロデバイスを考案しました。Drug Susceptibility Testing Microfluidic device (DSTM)と名付けた新しいデバイス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。



ピペラシリン (MIC 4 μg/mL)



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。写真に示したように、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。鏡検用の観察領域は、4本の流路が細くなって収束し、まとめて1視野に観察することが可能です。薬剤を出口の穴に前もって凍結乾燥で固定しておき、培地に濁度を調整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。保湿しながら培養し、2～3時間後に、顕微鏡下で薬剤無添加のコントロールとの比較で、感受性の有無を判定します。顕微鏡で観察することで、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、目視で3時間、画像解析ソフト（構築中）を用いれば2時間程度で増殖の遅い緑膿菌の感受性を判断できると推定されます。

特長（優位性）

従来法と比較しての優位性の第一に迅速性が挙げられます。検査した当日に結果をフィードバックできるメリットは大きいです。操作は簡便で、自動測定法と比較しても遜色ありません。デバイスは小さく、医療廃棄物の量も軽減できます。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。将来的には、ソフトによる自動判定を可能にし、初心者にも取り扱いやすい検査法に仕上げる予定です。

【論文 Paper】

- [1] Front Microbiol. 2012 Feb 8;3:40. doi: 10.3389/fmicb.2012.00040 A microfluidic device for simple and rapid evaluation of multidrug efflux pump inhibitors
- [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