

## 酸素電極法を用いた迅速細菌薬剤感受性測定法の開発

奥村 千晶 保科 定頼 河野 緑  
槌谷 恵美 町田 勝彦

東京慈恵会医科大学臨床検査医学講座

(受付 平成16年8月14日)

### NOVEL METHOD OF OXYGEN POTENTIAL MEASUREMENT WITH MULTICHANNEL ELECTRODES TO DETERMINE RESPIRATION MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION OF ANTIBIOTICS TO BACTERIAL CELLS

Chiaki OKUMURA, Sadayori HOSHINA, Midori KONO,  
Emi TSUCHITANI, and Katsuhiko MACHIDA

*Department of Laboratory Medicine, The Jikei University School of Medicine*

Speed is an important factor for antimicrobial susceptibility test. For this reason, we have developed a new method for determining antimicrobial susceptibility by measuring bacterial respiration that consume dissolved oxygen with oxygen electrodes.

We assessed our method with 7 standard bacterial strains (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Enterococcus faecalis*), antibiotics for Gram-negative bacilli (ampicillin, piperacillin, aztreonam, cefoperazone, cefsulodin, latamoxef, gentamicin, minocycline, fosfomicin, and penicillin), and antibiotics for Gram-positive cocci (ceftazidime, cefotiam, imipenem, minocycline, erythromycin, clindamycin, fosfomicin, ofloxacin, sulfamethoxazole/trimethoprim, and vancomycin). Bacterial suspensions ( $10^5$  to  $10^7$  colony-forming units [CFU]/mL in Muller Hinton broth) from Brain Heart Infusion Agar plates were inoculated, and oxygen potentials in this broth were measured with DOX-10 multichannel oxygen electrodes to compare the respiration minimum inhibitory concentration (rMIC) with the conventional growth minimal inhibitory concentration (gMIC). With an initial inoculation size of  $10^5$  CFU/mL, 3 to 5 hours were required to determine the consumption of oxygen potential, and the rMIC was the same as the gMIC with 1 tube difference in 71% of cases. This result shows that our new antimicrobial susceptibility test can be performed rapidly and in real time and produces results that agree well with those of the microdilution method.

(Tokyo Jikeikai Medical Journal 2004; 119: 455-62)

Key words: oxygen electrode, antimicrobial susceptibility, minimal inhibitory concentration, rapid measurement, dissolved oxygen

#### I. 緒 言

細菌性感染症の診断と治療には、感染病巣から原因細菌の分離・同定を行い、その細菌の薬剤感受性検査を行って、有効な抗菌薬を選択して投与

することが原則になっている。しかし、通常の培養法では原因細菌の分離に早くても18-24時間を要し、菌種の同定と薬剤感受性検査の結果を得るのにさらに18-24時間を要する。また、結核菌、ブルセラ菌、野兔病菌、レジオネラ菌、百日咳菌等

のような発育の遅い菌種や、破傷風菌、ボツリヌス菌、ガス壊疽菌群、ウェルシュ菌等のような嫌気性菌の場合には結果が出るまでに数日から数週間位かかる場合もある。薬剤感受性検査を含めた細菌検査の結果を早期に判定する必要性は臨床医から求められている。

筆者らは、ブドウ球菌のような通性嫌気性菌や好気性菌が液体培地で発育する場合に液体培地中の溶存酸素が減少する現象に着目し、溶存酸素濃度を測定可能に改良した電極を用いて、薬剤感受性検査に応用し、数時間以内に結果が報告できる可能性を得た。すなわち、抗生物質を含む液体培地中での菌の酸素消費が低下すれば感受性菌であって、酸素消費が持続すれば耐性菌と判定する方法である。

今までに、細菌の薬剤感受性検査結果の早期測定法としては、蛍光法<sup>1)</sup>、ATP法<sup>2)</sup>、電気的測定法の抵抗法<sup>3)</sup>、コンダクタンス法<sup>4)</sup>などが報告されているが、実用化されていない。また、酸素電極を使用した方法もすでに提案されているが<sup>5)</sup>、高価で複雑なクラーク型電極を使用しており、薬剤感受性の判定の際は得られた電流値を解析して何らかの係数を求め、それがある閾値を超えたかどうかによって感受性か耐性かを判断するというもので、多数の検体に対して多数の抗生物質の薬剤感受性を判断するという臨床検査に応用するのは困難であった。

筆者らの酸素電極法は経時的に測定が可能であり、酸素消費が早い菌種は薬剤感受性検査結果が早く得られるなどリアルタイムに測定することの利点が活かせる。本論文では酸素電極を用いた細菌の薬剤感受性検査法の開発を行ったので、それらについて報告する。

## II. 材料と方法

### 1. 酸素電極と測定装置

はじめに、今回使用した酸素電極式薬剤感受性測定装置の構成および測定原理について述べる。

#### 1) 装置の構成

本装置は、セラミック上に work, counter, reference の 3 極を印刷した電極、測定溶液を入れるセル、セルを固定し指定温度に保つ保温部、work 極と counter 極に一定電圧を加えるポテンシオス

タット部、データ取り込みおよび解析用のパソコンから構成される (Fig. 1)。

電極は、セラミック上に白金および銀で work, counter, reference の 3 極を印刷したもの (Fig. 2) であり、従来のクラーク型酸素電極と比較すると、構造がはるかに簡略化されている。

具体的には、クラーク型では電極が薄いガラスの層で覆われて KOH 溶液で満たされており、ガラス内部の酸素濃度を外部と均一にするための攪拌が必要である。これにより、クラーク型酸素電極は測定溶液の種類を問わない利点があるが、装置が大型化し、高価なものになっていた。本電極では、測定溶液中に電極面を直接接触させる方式をとっているため、すべての溶液の酸素濃度を測定できるわけではないが、決まった測定溶液について相対的な酸素濃度を測定することは可能であり、小型かつ安価なものとなるため、多電極の同時測定が可能となった<sup>6)</sup>。

測定用セルは、市販の滅菌チューブを用いた。測定時は、測定溶液を 2 mL 入れ、電極ホルダーに電極を入れて、印刷面が溶液中に浸かるようセットする。

ポテンシオスタット部は電極に一定電圧を加えることで、work 極に流れる電流が酸素濃度と比

Schematic diagram of DOX-10

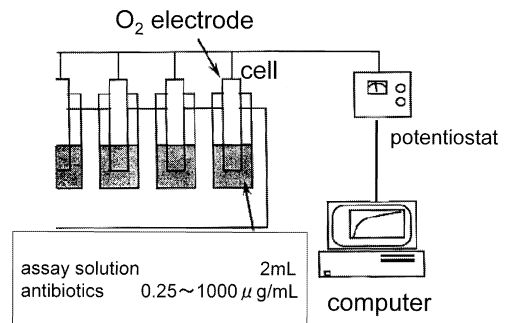


Fig. 1. This figure is scheme of DOX-10. DOX-10 consists of potentiostat, computer, and thermostat portion. We can set ten measurement tubes into which electrode was put. Fixed voltage is applied to electrode by potentiostat, and current which flows electrode is measured and analyzed by computer. See materials and methods.

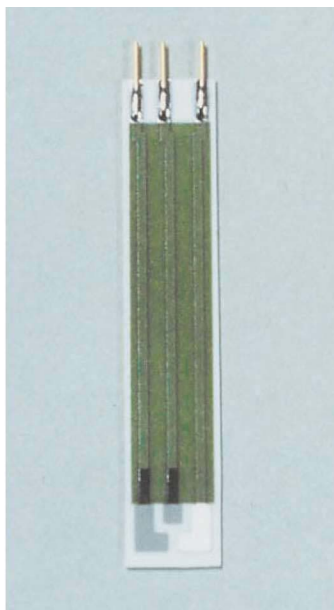


Fig. 2. This photograph is an electrode for DOX-10

例させる働きをする。

## 2) 測定原理

### (1) 酸素電極装置 (Fig. 3)

溶液内の電極に電圧を加えると、溶液内の溶存酸素が電気分解される。このとき、電極表面では、 $O_2 + 4H^+ + 4e^- \rightarrow 2H_2O$  の反応が起き、この  $4e^-$  が電流として検出される。加える電圧が一定の場合、電気分解の起こる速度は酸素濃度に比例するため、電流値を測定することで酸素濃度を測定できる。

### (2) 呼吸を基準とする薬剤感受性測定

通性嫌気性菌および好気性菌は、酸素を消費して ATP 産生を行う。このため、菌数が多い場合や菌の活性が高い場合、溶液中の酸素が消費され、酸素濃度が低下する。菌に抗生物質を作用させたものと、コントロール、その酸素消費速度を比較した場合、菌がその薬剤に対して耐性であればその酸素消費は同程度であり、感受性であれば酸素消費速度は小さくなると考えられる。この、酸素消費速度の違いを比較することで、薬剤感受性結果を判定する。

## 2. 使用菌株

下記の基準株 7 株を用いた。 *Escherichia coli* ATCC25922, *Klebsiella pneumoniae*



Fig. 3. This photograph is a DOX-10.

ATCC13883, *Proteus mirabilis* ATCC29905, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Staphylococcus aureus* FDA209P, *Enterococcus faecalis* ATCC29212, *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228

## 3. 使用抗生物質

以下の抗生物質を使用した。 ampicillin anhydrous (ABPC), gentamicin sulfate (GM), erythromycin (EM), minocycline hydrochloride (MINO) (和光純薬工業株式会社), piperacilin sodium (PIPC), cefsulodin sodium (CFS), clindamycin hydrochloride (CLDM), vancomycin hydrochloride (VCM), fosfomycin disodium (FOM), cefmetazole sodium (CMZ), penicillin G potassium (PCG), cefoperazone sodium (CPZ) (シグマ)。また aztreonam (AZM) (エーザイ株式会社), latamoxef sodium (LMOX) (塩野義製薬株式会社), ofloxacin (OFLX) (第一製薬株式会社), cefotiam hydrochloride (CTM) (武田薬品工業株式会社), imipenem (IPM) (萬有製薬株式会社), sulfamethoxazole / trimethoprim (ST) (塩野義製薬株式会社)

## 4. 使用培地

感受性測定ブイヨン“ニッスイ” (MHb)  
ブレインハートインフュージョン寒天培地“ニッスイ” (BHIa)

## 5. 測定法

### 1) 従来法での MIC

濁度を判定基準とした微量液体希釈法の全自動測定装置を用いて判定した (日水製薬)。

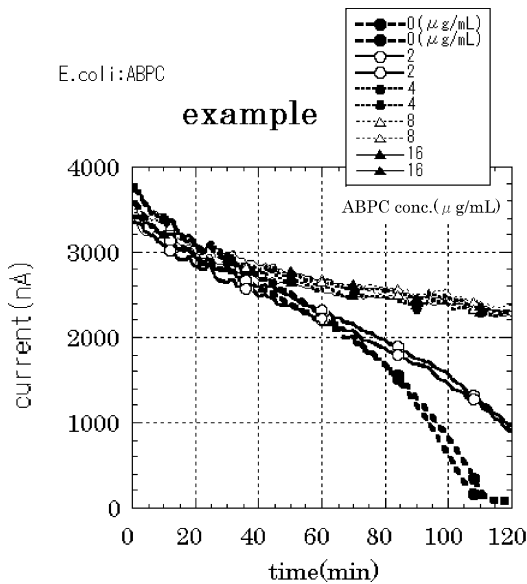


Fig. 4. This is an example of measurement at the case of making Ampicillin act on *E. coli* ATCC25922. Since current value is proportional to dissolved oxygen concentration, the reduction rate of current value expresses a bacterial respiration speed. As compared with control, inclination of the current value of each antibiotic concentration is judged with susceptibility by the concentration, when it is 50% or less. In this figure, the respiration MIC (rMIC) is 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , and the duration time is 110 minutes.

See Materials and Methods.

## 2) 電極法での呼吸を基準とした MIC (rMIC)

菌株は BHIa で純培養し、滅菌蒸留水に浮遊させ McFarland 0.5 濃度を測定時の 100 倍に希釈し、菌液とする。測定セルに菌液、抗生物質希釈液を添加し、あらかじめ 35°C に保温しておいた MHb で 2 mL にする。酸素電極をセットして 35°C に保持。溶存酸素量の変化を経時的にあらかじめ設定した時間、または酸素がなくなり電流値が一定になる時点まで測定する。測定例を Fig. 4 に示す。

各測定値について、測定終了時点から溯って 10 分間の傾きを最小 2 乗近似で求める。この傾きが呼吸速度に相当する。抗生物質を加えたものの呼吸速度が、無添加のものに比べて 50% 以下になった場合、その濃度の抗生物質で呼吸阻害されたと考える。呼吸阻害された最低濃度を、呼吸法での

MIC (rMIC) とする。

## III. 結果

各基準株に対して、従来法と酸素電極法で薬剤感受性を測定した結果を Table 1 に示す。従来法では全自動測定機マニュアルに従い、初期菌濃度は  $10^5$  CFU/mL とした。酸素電極法では初期菌濃度を  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  CFU/mL とした。酸素電極法での結果を従来法と比較し、異なっていた場合、その違いの程度を網掛けで示した。また、初期菌濃度別、グラム陰性/陽性別の一致率を Fig. 5 に示す。

### 1. グラム陰性桿菌

初期菌濃度  $10^5$  CFU/mL で開始した場合、測定時間は 3~5 時間であった。±1 管差内に 70%, ±2 管差内 90% が入った。4 菌種とも 1 管差内で 70%、2 管差内で 90% が一致し菌種による違いは見られなかった。薬剤ごとに見ると、MINO で 3 管差以上感受性側になる傾向が見られた。また、FOM では 2 管差程度、感受性側に出る傾向が見られた。

初期菌濃度  $10^6$  CFU/mL で開始した場合、測定時間は 2~4.5 時間であった。±1 管差内に 45%, ±2 管差内に 67% が入り、*P. aeruginosa* で不一致が多く見られた。薬剤別では、MINO 全例が 3 管差以上小さく、FOM で 2 例が 2 管差、1 例が 3 管差以上が小さく判定された。 $\beta$  ラクタム系では 11 例 (55%) が 2 管差以上高く、うち 7 例 (35%) が 3 管差以上高く判定された。

初期菌濃度  $10^7$  CFU/mL で開始した場合、測定時間は 1~2.8 時間であった。±1 管差内に 30%, ±2 管差内に 37% が入り、菌種による違いは見られなかった。薬剤別では、MINO では 3 例が 2 管差以上低く、うち 2 例が 3 管差以上低く判定された。 $\beta$  ラクタム剤は 16 例 (80%) が 3 管差以上高く判定された。

### 2. グラム陽性球菌

初期菌濃度  $10^5$  CFU/mL で開始した場合、測定時間は 3~5 時間であった。±1 管差内に 73%, ±2 管差内 82% が入り、菌種、薬剤による違いは見られなかった。

初期菌濃度  $10^6$  CFU/mL で開始した場合、測定時間は 2~4.5 時間であった。±1 管差内に

Table 1. Comparison of the antibiotics susceptibility results by the conventional method (gMIC) and by the DOX-10 method (rMIC)

Gram (-) strains	<i>E. coli</i>			<i>K. pneumoniae</i>			<i>P. mirabilis</i>			<i>P. aeruginosa</i>		
	gMIC 10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	rMIC 10 <sup>6</sup> 10 <sup>7</sup>	gMIC 10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	rMIC 10 <sup>6</sup> 10 <sup>7</sup>	gMIC 10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	rMIC 10 <sup>6</sup> 10 <sup>7</sup>	gMIC 10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	rMIC 10 <sup>6</sup> 10 <sup>7</sup>
method inoculation size (CFU/mL)												
ABPC	4	2	4	32	32	128	64	1	4	<.5	<.5	16
PIPC	<2	<2	2	4	2	64	>256	<2	32	<.5	<.5	512
AZT	<1	<1	0.12	<1	<.13	4	512	<1	8	<.13	<.13	128
CPZ	<1	<1	8	64	0.25	0.5	128	<1	8	0.5	0.5	256
CFS	64	32	64	64	32	64	64	128	32	32	32	64
LMOX	<1	<1	32	64	<.13	0.5	32	<1	2	<.13	<.13	16
GM	0.5	2	1	4	<.25	1	4	0.5	1	0.5	0.5	1
MINO	0.5	<.06	0.06	0.06	1	0.12	0.25	>16	0.5	<2	0.5	1
FOM	32	<8	4	32	>128	32	64	8	0.25	<2	0.25	1
OFLX	<1	<.03	0.03	0.12	<1	1	0.06	<1	0.13	0.13	0.06	0.5
duration (hours)	18	3.5	3.1	1.5	18	3.5	2.6	1.4	4.3	2.9	2	2
method inoculation size (CFU/mL)												
FCG	<.03	0.13	0.06	2	0.06	1	0.2	2	16	4	4	4
CMZ	<.5	<.5	0.25	8	<.5	0.5	1	>64	128	256	1,024	1,024
CTM	<.13	<.13	0.06	2	<.13	0.13	0.06	>16	32	32	256	256
IPM	<1	<1	>4	1	<1	<.06	0.03	<1	1	1	1	512
MINO	<.13	<.13	0.03	0.03	<.13	0.02	0	1	<.25	0.06	0.12	0.12
EM	<.13	<.13	0.03	0.06	<.13	0.06	0.06	1	0.5	0.06	0.06	0.06
CLDM	<.13	<.13	0.25	32	<.13	8	0.06	2	>32	4	16	16
FOM	2	<1	0.25	8	<1	2	>8	16	16	16	32	32
OFLX	<1	<.25	0.5	4	<1	0.25	0.25	2	1	1	2	2
ST	<.25	4	1	512	<.25	>4	0.5	<.25	0.25	0.5	0.5	512
VCM	<1	<1	0.06	8	<1	0.25	0.25	2	<.5	1	1	16
duration (hours)	18	5.8	3.7	1.4	18	4.8	4.7	1.7	2.8	2.2	1	1

method  
gMIC: SENSITTER  
rMIC: O<sub>2</sub> electrode  
*italic-Bold* -3 tubes or more  
*italic* -2 tubes  
-1 tube or less  
+2 tubes  
+3 tubes or more  
**BOLD**

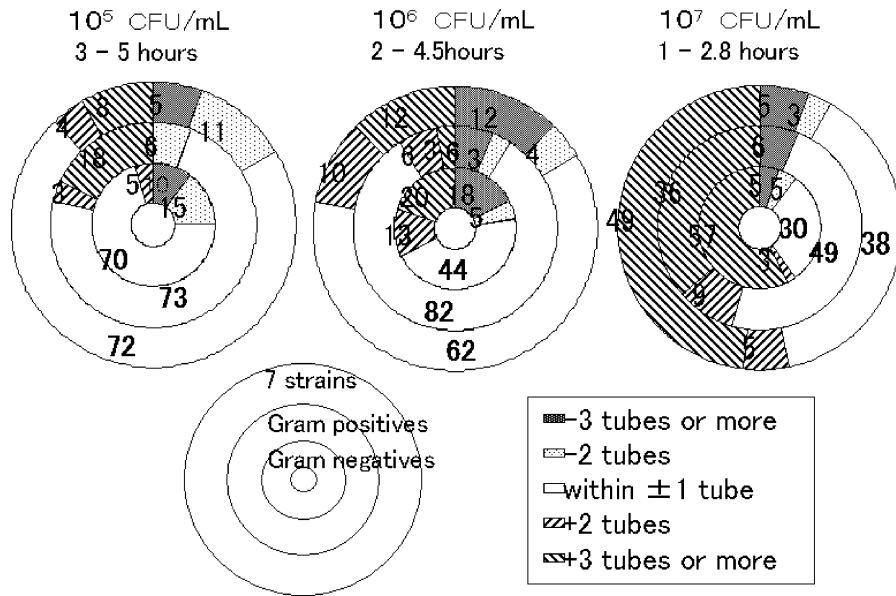


Fig. 5. These graphs show the rate of coincidence to gMIC of rMIC for each inoculation size. Three-folds circle shows a result sequentially from an inner side Gram negatives, Gram positives, and total of 7 strains.

82%,  $\pm 2$  管差内に 91% が入った。 *S. epidermidis* では  $\pm 1$  管差内に 91%,  $\pm 2$  管差内に 100% ととくによく一致した。薬剤による違いは見られなかった。

初期菌濃度  $10^7$  CFU/mL で開始した場合、測定時間は 1~2.8 時間であった。 $\pm 1$  管差内に 48%,  $\pm 2$  管差内に 57% が入った。菌種別では、 *S. epidermidis* では  $\pm 1$  管差内に 73%,  $\pm 2$  管差内に 82% とかなりよく一致した。薬剤による違いは見られなかった。

### 3. 全 7 菌種

初期菌濃度  $10^5$  CFU/mL で開始した場合、 $\pm 1$  管差内に 71%,  $\pm 2$  管差内 86% が一致した。 $10^6$ ,  $10^7$  CFU/mL で開始した場合、 $\pm 1$  管差内で 62, 38%,  $\pm 2$  管差内で 75, 46% が一致した (Fig. 5)。

## IV. 考 察

薬剤感受性検査では、菌の接種濃度を変えると gMIC の値が変わることが知られている。同様に酸素電極法でも、接種菌量を多くすると多くの場合測定時間は短くなるが耐性に傾き、接種菌量を少なくすると測定時間が長くなるということが考えられたため、菌の接種濃度を変えた場合の測定時間と rMIC の関係を調べた。

Table 2 はその結果で、各接種濃度での、判定可能時間の最小値/最大値、および従来法との一致率を示す。 $10^5$ - $10^7$  CFU/mL の範囲では、接種濃度が高くなると測定時間は短くなるが、gMIC と rMIC の一致が悪くなることがわかった。

また、今回検討した 7 菌種を、増殖速度で分類し、それぞれの、測定時間および一致率を定性的に評価した結果を Table 3 に示す。表中の分類は、増殖速度の速いグループから、グラム陰性菌 4 種、グラム陽性菌 2 種、 *S. epidermidis* 1 種である。また、表中の記号は、◎が  $\pm 2$  管差内での一致率 80% 以上、○は 50% 以上、×は 50% 未満を示す。

グラム陰性菌では、 $10^5$  CFU/mL で開始した場合に、gMIC と rMIC はよく一致し、以下  $10^6$ ,  $10^7$  CFU/mL の順でよく一致した。グラム陽性菌で

Table 2. Co-relation of the inoculation size of duration time and agreement ratio

inoculation size (CFU/mL)	duration (hours)		Agreement ratio (%)
	min	max	
$10^5$	3.0	5.0	72
$10^6$	2.0	4.5	62
$10^7$	1.0	2.8	38

Table 3. Comparison of the every bacterial strain of breath speed and a susceptibility coincidence pattern

bacterial strain	(respiration velocity)	agreement to reveal			
		inoculation size (CFU/mL)			
		10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>	
GNB	(fast)	◎	○	×	
<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	(middle)	○	◎	×
<i>S. epidermidis</i>	(slow)	○	◎	◎	

GNB : Gram negative bacilli

は10<sup>6</sup> CFU/mLで開始した場合に、gMICとrMICはよく一致し、以下10<sup>5</sup>, 10<sup>7</sup> CFU/mLの順でよく一致した。なかでも、*S. epidermidis*は、10<sup>6</sup> CFU/mLで90%一致し、10<sup>7</sup> CFU/mLでも10<sup>5</sup> CFU/mLと同じくらいよく一致した。

同じ接種菌量での酸素消費速度は、グラム陽性菌はグラム陰性菌より小さく、グラム陽性菌のなかでも*S. epidermidis*は小さい。

今回の結果と対応すると、酸素消費速度が小さくなるにつれて、rMICがgMICとよく一致する濃度が高くなっている。

増殖速度の速い菌で、接種菌量が多い場合にgMICとrMICの一致が悪くなる原因として以下の2点が考えられる。1つは一部の薬剤では、感受性がある場合でも呼吸速度が下がるのに時間がかかり、その場合、菌濃度が高いと、薬が呼吸を阻害する前に培地中の酸素がなくなり、違いを検出できないということで、もう1つは、菌が代謝産物として、薬剤の作用を妨害する物質を産出するような耐性機構をもっている場合、代謝産物の濃度が十分高くなる前に培地中の酸素がなくなり、違いを検出できないということである。

また、増殖速度の遅い菌で、接種菌量が少ない場合にgMICとrMICの一致が悪くなる原因は、接種菌量が少ない場合コントロールでも十分な酸素消費の増加が見られなかったためであると考えられる。

これらのことから、酸素電極法では、培養法と同様、接種菌量のコントロールが結果に影響を与える、ということがわかった。

つぎに、薬剤ごとの傾向について考える。グラ

ム陰性菌ではβラクタム剤でのrMICがgMICに比べて高くなる傾向が見られた。この原因は、βラクタム剤の作用機序は細胞壁合成阻害であり、この場合薬剤が有効に作用しても、菌はフィラメントスを作り、最初の数時間では薬剤が無効であった場合と同様に呼吸を行うため、感受性がある場合でも呼吸速度が下がるのに時間がかかることによると考えられる。また、βラクタマーゼ産生株については、βラクタマーゼ濃度が十分高くなる前に培地中の酸素がなくなり、違いを検出できないということが考えられる。

また、MINOでは、グラム陰性菌のrMICがgMICに比べて低くなる傾向がみられた。この原因は、MINOを含むテトラサイクリン系薬剤に対する耐性機序は、細胞膜の透過能の変化により、薬剤を菌体内に取り込まないようにするものであり、低濃度のMINOでは、菌体内に十分な量のMINOが取り込まれるまでに時間がかかり、薬剤の効果が遅れて現れるためであると考えられる。

このようにいくつかの抗生物質で培養法との乖離が見られたが、生体内での抗菌作用として、数の抑制と呼吸の抑制とのどちらがより臨床の効果を反映しているかということは、今後議論していく必要がある。

ここまで述べたように一部に乖離が見られたが、現段階でも電極法での測定結果は、実験した中でいちばん一致率のよかった10<sup>5</sup> CFU/mLで開始した場合、±1管差内に71%、±2管差内86%で一致し、培養法と十分に相関する検査法であると言える。また、その場合の測定時間は培養法では一晩から1日かかったのが、3~5時間に短縮でき、培養法に比べてきわめて迅速な方法であることがわかった。

従来法が培養によって増えた個体数からMICを判定するのに対し、筆者らが開発した電極法では細菌の呼吸代謝の変化からMICを判定するのであるが、呼吸代謝を測定する方法には、ATP法、蛍光法等がある。ATP法では菌体を壊してATP量を測定するためリアルタイムでの測定は不可能であり、また、蛍光法は、産出する酵素を捕らえるため汎用性に欠ける欠点がある。その点、電極法は、リアルタイムでの測定が可能で、酸素を代謝するすべての菌に対して使用できるため汎

用性もある。

酸素電極法での薬剤感受性測定は従来からあるが、過去の方法では酸素電極が大きく高価だったため、複数の電極を並べて同時に測定する、と言うものではなく、測定結果をもとに係数と適当な閾値をさだめ、係数がその閾値を超えているかどうかを見るという方法であった。今回の方法は、従来法と同様に公比2で希釈した抗生物質を使うことができるため、従来法からの置き換えを容易に行うことができる。

酸素電極法で、問題となる可能性のある点として、間接測定・短時間測定であるため、菌により分裂速度が異なることに影響を受ける、ということがある。しかし本方法は非侵襲でリアルタイム測定を行い酸素がなくなった時点で判定する、という方法であるため、すべての菌に対して一律に測定時間を定める必要がない。実際、今回の実験でも様々な増殖速度の菌を用いたが、いずれの菌に対しても同様な手順で測定ができた。また、同じ理由で、未知の菌種に対して測定可能という長所を持つ。

日本は急速に高齢社会に移行し、高齢者が感染症を併発しやすいことから疾病における感染症の割合が急速に増加してきている。感染症治療の目的で、多様な作用機序を持つ抗生物質が開発されてきている。抗生物質は人類から感染症の恐怖を駆逐するものと期待されていた。しかし、抗生物質の多用は医療費の増大という経済的な側面のみならず、耐性菌の出現と言う人間環境的な側面に置いても、副作用を産みつつある。MRSAや多剤耐性緑膿菌の出現は院内感染問題を引き起こし、最近ではバンコマイシンに対する耐性菌の出現さえも報告されている<sup>7)</sup>。これらのことから、感染原因菌に対して今までより迅速に適正な薬剤を選択できるシステムを確立することにより、抗生物質の多用による耐性菌の出現を各医療施設レベルで

抑えることが求められている。酸素電極式薬剤感受性測定法は、迅速でリアルタイムでの測定が可能であり、汎用性があり、微量液体希釈法からの置き換えが容易で、培養法とよく一致する新しい薬剤感受性測定法であり、上述の問題の解決に有効な手段となることが予想される。

本研究は、新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)の提案公募事業として行われた。本論文の要旨は第46回日本化学療法学会総会にて報告した。

## 文 献

- 1) McElroy WD, Seliger HH, White EH. Mechanism of bioluminescence, chemiluminescence and enzyme function in the oxidation of firefly luciferin. *Photochem Photobiol* 1969; 10: 153-70.
- 2) Manafi M, Kneifel W. Fluorogenic and chromogenic substrates: a promising tool in microbiology. *Acta Microbiol Hungarica* 1991; 38: 293-304.
- 3) Cady P, Dufour SW, Lawless P, Nunke B, Kraeger SJ, et al. Impedmetric screening for bacteriuria. *J Clin Microbiol* 1978; 7: 273-8.
- 4) Richards JC, Jason AC, Hobbs G, Gibson DM, Christie RH. Electronic measurement of bacterial growth. *J Phys [E]* 1978; 11: 560-8.
- 5) Strassburger J, Tiller FW. Bacteriuria screening and antimicrobial susceptibility testing of aerobic bacteria by an electrochemical method. *Zbl Bakt Hyg* 1984; A 256: 466-74.
- 6) Okumura C, Kohno M, Murata T, et al. Development of the method of antimicrobial susceptibility test for bacteria using oxygen electrode (1). *J Jpn Soc Clin Microbiol* 1995; 5: 48.
- 7) *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin: United States, 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* July 5. 2002; 51: 565-7.