

## 微量液体希釈法を用いた微生物に対する抗菌剤の 最小生育阻止濃度(MIC)の測定

キーワード：抗菌剤、微生物、最小生育阻止濃度

### はじめに

疾病や腐敗の原因となる微生物を防ぐために、様々な抗菌剤や殺菌剤が利用されてきました。しかし、新たに出現する薬剤耐性菌や、う蝕や歯周病などのバイオフィルムを原因とする感染症により、新奇な抗菌剤や殺菌剤の開発が望まれています。薬剤の抗菌効果を評価する手法の一つとして、微量液体希釈法を用いた対象となる微生物の最小生育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration, MIC) の測定があります。MIC は、微生物の増殖を阻止する薬剤の最小量を表し、この量が少なければ少ないほど薬剤の効果が高いことを示しています。また、MIC を明らかにすることで薬剤の適正な使用量がわかります。本稿では、96 well マイクロプレートを用いた MIC の測定方法を紹介します。

### 方法

ここでは、歯周病原菌の1つである *Porphyromonas gingivalis* JCM 12257 を対象として、試料 A、B の MIC を測定した例を紹介します。各試料は図 1 のように培地を用いて段階希釈することで、各 well 中の濃度が半分ずつになるように調製しました。そこに上記菌株を接種し、37℃、嫌気下で 72 時間静置培養しました。培養終了後に、どの濃度まで菌の生育が阻害されるかで、各試料の効果を評価しました。

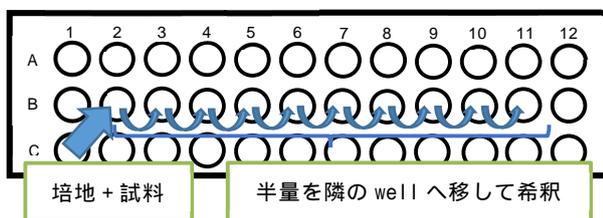


図 1 MIC 測定における試料の希釈法

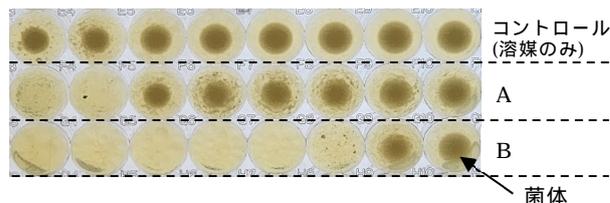
### 結果

試料 A、B を終濃度で 1.95 ~ 250 µg/mL 含む培地で培養した結果を図 2 に示します。図 2

(a) は 72 時間培養後のマイクロプレートを底部より撮影した写真です。各 well の沈殿物は菌体で、その有無で生育を判定します(図 2 (b))。「-」は目視で生育が認められなかった well であり、「+」はわずかな生育が認められた well、「++」は良好な生育が認められた well を示します。その結果、図中太枠で示すように各試料の MIC はそれぞれ A が 125 µg/mL、B が 15.6 µg/mL でした。

(a)

250 125 62.5 31.3 15.6 7.81 3.91 1.95 (µg/mL)



(b)

250 125 62.5 31.3 15.6 7.81 3.91 1.95 (µg/mL)

250	125	62.5	31.3	15.6	7.81	3.91	1.95	(µg/mL)	
++	++	++	++	++	++	++	++		コントロール
-	-	++	++	++	++	++	++		A
-	-	-	-	-	+	++	++		B

図 2 *P. gingivalis* JCM 12257 に対する MIC  
(a) 培養終了後のプレートの写真  
(b) 生育の判定結果

以上のように、96 well マイクロプレートを用いた微量液体希釈法では、寒天プレートを用いた方法と比べて、一度に多くの薬剤の MIC を簡便に測定することができます。また、水溶性だけでなく脂溶性の薬剤でも、適切な溶媒を用いることで幅広く測定することが可能です。ご要望に応じて目視での判定だけでなく、マイクロプレートリーダーを用いた測定にも対応しています。

*P. gingivalis* 以外の微生物の MIC 測定も可能ですので、ご興味・ご関心がありましたら、お気軽にお問い合わせください。