

研究用 薬剤感受性検査ディスクの作成法

漁場環境中に出現する様々な細菌について研究上薬剤感受性を簡易に知るために薬剤感受性ディスクを用いるのが便利な場合がある。以下に 3 種の抗菌物質を例にして薬剤感受性ディスクの作成法を示す。他の薬剤についても同様に作成可能である。

1. 試薬類

- ・ 滅菌・乾燥済みのペーパーディスク（円形濾紙）
（ADVANTEC 製抗生物質検定用濾紙，薄手，直径 8mm などを使用）
- ・ 薬剤原末
- ・ 溶媒（表 1 参照）および滅菌蒸留水
- ・ 0.22 μ m フィルター

2. フロルフェニコール（FF）30 μ g（力価）含有薬剤感受性ディスク作成法

- ① 精密天秤で薬剤 30mg（力価）を計り取る。
- ② 計り取った薬剤に 95%エタノールを滴下して溶解する。このとき 95%エタノールはなるべく少量になるように注意する。
- ③ 滅菌蒸留水で 20mL にメスアップする（1.5 mg/mL）。
- ④ 0.22 μ m フィルターでろ過滅菌する。
- ⑤ クリーンベンチで滅菌・乾燥済みのディスクに薬剤を 20 μ L ずつ染み込ませる（30 μ g/disc）。できれば滅菌した金網の上で行うとよい。
- ⑥ そのままクリーンベンチ内で 2～3 時間乾燥させる。紫外線を当てないようにする。
- ⑦ 滅菌済みの容器に収容し、冷蔵庫で保管する。

2. スルファモノメトキシシン（SMMX）300 μ g（力価）含有薬剤感受性ディスク作成法

- ① 精密天秤で薬剤 120mg（力価）を計り取る。
- ② 計り取った薬剤に 0.5N NaOH（温度が高いほうが溶けやすい）を薬剤が溶解するまで滴下する。
- ③ 滅菌蒸留水で 8mL にメスアップする（15 mg/mL）。

以下 FF ディスク作成法④以下に同じ。

3. スルフィソゾールナトリウム (SIZ) 366 μ g (力価, スルフィソゾールとして) 含有薬剤感受性ディスク作成法

- ① 精密天秤でスルフィソゾールナトリウム 1g を計り取る。
 - ② 計り取った薬剤に滅菌蒸留水を加えて溶かし 50mL にメスアップする。
- 以下 FF ディスク作成法④以下に同じ。

4. 力価について

- ・ 薬剤の種類やロットにより力価は異なるため、上記のプロトコールで力価 x mg の薬剤を秤量する際には次の計算式で秤量すべき薬剤の量を算出する。

$$\text{秤量 (mg)} = (1000x) \div \{\text{薬剤の重量当たりの力価 } (\mu\text{g/mg}) \}$$

- ・ 通常は薬剤の力価は、薬剤の機能性部分の重量で示す。例えばホスホマイシンカルシウムであれば、カルシウムを除いたホスホマイシン ($\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_4\text{P}$) 部分のみの重量を力価とする。塩酸オキシテトラサイクリンであれば、オキシテトラサイクリンのみの重量を力価とする。一部の抗生物質については「動物用抗生物質医薬品基準 (平成 24 年 9 月 農水省)」(下記 URL) を参照のこと。

http://www.maff.go.jp/nval/kentei_kensa/kousei/pdf/241226iyakuhinkijyun.pdf

5. 備考

- ・ アンピシリン、アモキシシリン、オキシテトラサイクリン、エリスロマイシン、ホスホマイシンの薬剤感受性ディスクは外資系メーカーより販売されている。
- ・ 薬剤は原則として滅菌蒸留水で溶解するが、水に溶解しない薬剤や難溶性の薬剤はなるべく少量のエタノールや水酸化ナトリウムなどの溶媒で溶解した後、滅菌蒸留水でメスアップする。代表的な薬剤と溶媒を次ページの表 1 に示す。

表1 代表的な水産用医薬品とその溶解に用いる溶媒

薬剤	略号	溶媒
アモキシシリン	AMPC	0.1M PBS
アンピシリン	ABPC	DW
エリスロマイシン	EM	95%エタノール
ジョサマイシン	JM	95%エタノール
スピラマイシン	SP	95%エタノール
リンコマイシン	LCM	DW
オキシテトラサイクリン	OTC	DW
ドキシサイクリン	DOXY	DW
チアンフェニコール	TP	95%エタノール
フロルフエニコール	FF	95%エタノール
ホスホマイシンカルシウム	FOM	DW
ビコザマイシン	BCM	DW
スルファモノメトキシシリン	SMMX	0.5N NaOH
オキシリン酸	OA	0.5N NaOH
スルフィソゾールナトリウム	SIZ	DW