

[原 著]

Corynebacterium 属菌と *Erysipelothrix rhusiopathiae* の抗菌薬感受性検査法大塚喜人¹⁾・戸口明宏¹⁾・北菌英隆²⁾・細川直登²⁾・上岡明日香³⁾・小栗豊子¹⁾¹⁾ 亀田総合病院 臨床検査部²⁾ 亀田総合病院 総合診療・感染症科³⁾ 社会保険中央総合病院 臨床検査部

(平成24年1月6日受付, 平成24年3月27日受理)

CLSI document M45-Aに記載された *Corynebacterium* 属菌および *Erysipelothrix rhusiopathiae* に対する抗菌薬感受性検査法に準拠する検査法として, 記載されたウマ溶血液の代用にストレプト・ヘモサプリメント‘栄研’(SHS法)を添加物とした検査法を検討した。*Corynebacterium* 属菌56株, *E. rhusiopathiae* 2株ではCLSI法, SHS法ですべて±1管差以内に一致し, 日常検査に応用可能と考える。

Key words: *Corynebacterium*, 感受性検査, ウマ溶血液, ストレプト・ヘモサプリメント

序 文

現代医療における医療技術や医薬品の進歩は, これまで救命しえなかった疾患でも救命または延命が可能となった。一方では, 免疫能が極度に低下した患者が増加したことによって, 本来であれば健常なヒトの常在細菌叢を構成するさまざまな弱毒菌種が日和見感染菌として扱われるようになった。代表的な細菌としては coagulase-negative staphylococci (CNS) が挙げられ¹⁾, 血液, 体液などの本来無菌的な材料からも高頻度に分離されている。また, 呼吸器系や皮膚, 粘膜などに多く常在している *Corynebacterium* 属菌では, その同定すら困難なことが多かったが, 簡易同定キットや遺伝子技術の発達により健常なヒトにも感染症を引き起こす病原体²⁻⁶⁾が明らかになってきた。*Corynebacterium* 属菌のなかで従来から知られている *Corynebacterium striatum*, *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*, *Corynebacterium amycolatum*, *Corynebacterium jeikeium*, *Corynebacterium urealyticum*, *Corynebacterium resistens*をはじめ三十数種に及ぶ菌種が報告^{7,8)}されており, これらは臨床現場で日和見病原菌として抗菌薬感受性検査の実施が求められるようになった。

2006年5月に Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) から, 栄養要求性の厳しい菌種の抗菌薬感受性検査の標準法として document M45-A⁹⁾が発行された。*Corynebacterium diphtheriae* を含めた *Corynebacterium* 属菌に対する抗菌薬感受性検査法と一部の抗菌薬に対するブレイクポイントが初めて示された。本邦ではこれに該当する文書が示されていないが, CLSI document M45-A⁹⁾では微量液体希釈法により 2.5~5.0%v/v のウマ溶血液を2価イオン調整ミューラーヒントンブロスに添加することとしており, これに準拠する方法としてストレプト・ヘモサプリメント‘栄研’(Strepto-Haemo Supplement “Eiken®”; SHS) (栄研化学)を用いた微量液体希釈法(以下SHS法と略す)について検討したので報告する。

材料と方法

1. 対象菌株

菌株は1994年6月から2007年12月の期間に, 社会保険中央総合病院および亀田総合病院において, 気管内吸引物, 静脈血, 膿, 尿から分離され, 各々の担当医の臨床判断で起炎菌とされた *Coryneform bacteria* 8菌種58株 (*C. striatum*; 10株, *C. pseudodiphtheriticum*; 8株, *C. amycolatum*; 10株, *C. diphtheriae*; 3株, *C. jeikeium*; 10株, *C. urealyticum*; 4株, *C. resistens*; 11株, *Erysipelothrix rhusiopathiae*; 2株)を対象とした。なお, これらの菌種同定には16S rRNA シークエンス解析を用いた。その結果いずれの株も基準株に対し

著者連絡先: (〒296-8602) 千葉県鴨川市東町929番地
亀田総合病院 臨床検査部
大塚喜人
TEL: 04-7099-2324 (DI)
FAX: 04-7099-1196
E-mail: bac@gaea.ocn.ne.jp

99.5%以上の相同性を示した。抗菌薬感受性検査の精度管理菌株として、*Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619を用いた。

2. 微量液体希釈法

微量液体希釈法は、MIC測定用ドライプレート‘栄研’（栄研化学）を用い、液体培地は生培地として市販されている2価イオン調整ミューラーヒントンブイオン‘栄研’（栄研化学）を用いた。CLSI法として、ウマ溶血液はウマ脱繊維素血液（ジャパン・ラム）を滅菌精製水で2倍希釈し、凍結融解を3回繰り返して溶血させ、3,000 rpm 20分遠心処理して上清を0.45 µmのミリポアフィルター（日本ミリポア）でろ過滅菌処理した。自家調整したウマ溶血液は2.5%v/vとなるようミューラーヒントンブイオン‘栄研’に添加した。

SHS法はストレプト・ヘモサプリメント‘栄研’を添付文書に従い、凍結乾燥品1バイアルあたり5.5 mlの滅菌精製水で溶解し、その1 mlを12 mlのミューラーヒントンブイオン‘栄研’に添加することで、CLSI法と同様にウマ溶血液成分は2.5%v/vとなるよう調整した。なお、CLSI法と異なる点は、ストレプト・ヘモサプリメント‘栄研’1バイアルあたりにβ-NADが1.07 mg、酵母エキスが0.36 g含有されている。

測定抗菌薬は、Benzylpenicillin (PCG), Ceftriaxone (CTRX), Cefepime (CFPM), Meropenem (MEPM), Clindamycin (CLDM), Erythromycin (EM), Minocycline (MINO), Ciprofloxacin (CPFX), Vancomycin (VCM), Teicoplanin (TEIC), Linezolid (LZD) の11薬剤を用いた。測定濃度範囲は、CTRX, CFPM, CLDM, EMで0.03~4.0 µg/ml, PCG, MEPM, VCM, TEIC, LZDは0.06~8.0 µg/ml, MINO, CPFXは0.12~16.0 µg/mlである。

菌液調整はCLSI法⁹⁾に準拠し、培養環境は35℃の好氣的条件下で24時間として、β-ラクタム系抗菌薬に感性を示している場合は48時間まで培養し最終判定とした。

結 果

1. 判定時間

MIC測定値の判定は、*Corynebacterium*属菌はすべて24時間と48時間で行ったところ、*C. striatum* 10株、*C. diphtheriae* 3株、*C. urealyticum* 4株、*C. resistens* 11株は24時間でβ-ラクタム系抗菌薬をはじめすべての抗菌薬の判定が可能であった。*C. pseudodiphtheriticum*は8株中1株のみ24時間では判定することができず48時間を要した。*C. amycolatum*は10株中

表1. 精度管理菌株*Streptococcus pneumoniae* ATCC®49619を用いたウマ溶血液法（CLSI法）とSHS法のMIC値

抗菌薬	基準範囲	CLSI法	SHS法
Benzylpenicillin	0.25-1	0.25	0.25
Ceftriaxone	0.03-0.12	0.06	0.06
Cefepime	0.03-0.25	0.12	0.12
Meropenem	0.06-0.25	0.06	0.06
Clindamycin	0.03-0.12	0.06	0.06
Erythromycin	0.03-0.12	0.06	0.12
Ciprofloxacin	0.25-1	0.25	0.25
Vancomycin	0.12-0.5	0.12	0.25
Linezolid	0.5-2	0.5	0.5

表2. *Coryneform bacteria* 58株のウマ溶血液法（CLSI法）を基準としたSHS法の一致率

抗菌薬	-1管差	一致	+1管差
Benzylpenicillin	2 (3.4)	53 (91.4)	3 (5.2)
Ceftriaxone	3 (5.2)	48 (82.8)	7 (12.1)
Cefepime	3 (5.2)	50 (86.2)	5 (8.6)
Meropenem	2 (3.4)	55 (94.8)	1 (1.7)
Clindamycin	1 (1.7)	51 (87.9)	6 (10.3)
Erythromycin	2 (3.4)	42 (72.4)	14 (24.1)
Minocycline	2 (3.4)	41 (70.7)	15 (25.9)
Ciprofloxacin	0 (0)	52 (89.7)	6 (10.3)
Vancomycin	3 (5.2)	49 (84.5)	6 (10.3)
Teicoplanin	0 (0)	33 (56.9)	25 (43.1)
Linezolid	2 (3.4)	40 (69.0)	16 (27.6)
Total	20(3.1)	514 (80.6)	104 (16.3)

4株が24時間では発育不良で判定することができず、判定可能であった6株は24時間と48時間で+1管差を認めため最終判定は48時間とした。*C. jeikeium*は10株中7株が24時間と48時間で+2管差以上を認めためすべて48時間を最終判定とした。*E. rhusiopathiae* 2株は、CLSI document M45-A⁹⁾において20から24時間で判定することとなっているが、発育を認めなかったため48時間で最終判定とした。

2. CLSI法を基準としたSHS法の一致率

添加物以外はすべて同一条件で実施した結果、精度管理菌株については表1に示したようにすべて精度管理基準範囲内に入った。CLSI法を基準としたSHS法の一致率は表2に示したように、すべて±1管差以内に一致した。-1管差を示したのはPCG, CTRX, CFPM, MEPM, CLDM, EM, MINO, VCM, LZDであり、最大5.2%不一致であったが、+1管差は測定抗菌薬すべてにおいて認められ、EM, MINO, TEIC, LZDでは24.1%から最大43.1%の不一致を示し、1管の耐性化

表3. 各種抗菌薬に対する各菌種のMIC ($\mu\text{g/ml}$) 分布と Susceptible (S) の百分率

抗菌薬	菌種	MIC ($\mu\text{g/ml}$)											“S” の %
		≤ 0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	≥ 16		
Bezylpenicillin	<i>C. striatum</i>				2	4						4	60
	<i>C. pseudodophtheriticum</i>		7*			1							100
	<i>C. amycolatum</i>			1	2	1		1				5	40
	<i>C. diphtheriae</i>			2	1								100
	<i>C. jeikeium</i>											10	0
	<i>C. urealyticum</i>											4	0
	<i>C. resistens</i>											11	0
	<i>E. rhusiopathiae</i>			2									100
Cefepime	<i>C. striatum</i>						6		1	3**		60	
	<i>C. pseudodophtheriticum</i>		1	3	3		1					100	
	<i>C. amycolatum</i>			1	5	1			1	2**		70	
	<i>C. diphtheriae</i>					2	1					100	
	<i>C. jeikeium</i>									10**		0	
	<i>C. urealyticum</i>									4**		0	
	<i>C. resistens</i>									11**		0	
	<i>E. rhusiopathiae</i>	1		1									100
Meropenem	<i>C. striatum</i>		4*	2					1			3	70
	<i>C. pseudodophtheriticum</i>		8*										100
	<i>C. amycolatum</i>		1*			5						4	60
	<i>C. diphtheriae</i>		3*										100
	<i>C. jeikeium</i>			1		1	1					7	30
	<i>C. urealyticum</i>											4	0
	<i>C. resistens</i>											11	0
	<i>E. rhusiopathiae</i>		2*										100
Clindamycin	<i>C. striatum</i>			1	1	2	1				5**		40
	<i>C. pseudodophtheriticum</i>			2	3			1			2**		62.5
	<i>C. amycolatum</i>				1	1					8**		20
	<i>C. diphtheriae</i>				1						2**		33.3
	<i>C. jeikeium</i>					1		1			8**		10
	<i>C. urealyticum</i>										4**		0
	<i>C. resistens</i>										11**		0
	<i>E. rhusiopathiae</i>		2										100
Erythromycin	<i>C. striatum</i>	4	1						1		4**		50
	<i>C. pseudodophtheriticum</i>	3	1	1						2	1**		62.5
	<i>C. amycolatum</i>		2								8**		20
	<i>C. diphtheriae</i>		1								2**		33.3
	<i>C. jeikeium</i>		1		1			1			7**		20
	<i>C. urealyticum</i>										4**		0
	<i>C. resistens</i>										11**		0
	<i>E. rhusiopathiae</i>	1	1										100
Minocycline	<i>C. striatum</i>			7***						2	1		90
	<i>C. pseudodophtheriticum</i>			6***		2							100
	<i>C. amycolatum</i>			3***	2				1	2	1	1	80
	<i>C. diphtheriae</i>			3***									100
	<i>C. jeikeium</i>			3***	2	1	3		1				100
	<i>C. urealyticum</i>				2	1						1	75
	<i>C. resistens</i>									5		6	0
	<i>E. rhusiopathiae</i>				2								100

表3. つづき

抗菌薬	菌種	MIC ($\mu\text{g/ml}$)										"S" の %
		≤ 0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	≥ 16	
Ciprofloxacin	<i>C. striatum</i>			3**	2				3		2	50
	<i>C. pseudodiphtheriticum</i>				7	1						100
	<i>C. amycolatum</i>				1					2	7	10
	<i>C. diphtheriae</i>			3***								100
	<i>C. jeikeium</i>				1						9	10
	<i>C. urealyticum</i>			1***							3	25
	<i>C. resistens</i>										11	0
	<i>E. rhusiopathiae</i>			2***								100
Vancomycin	<i>C. striatum</i>				9	1						100
	<i>C. pseudodiphtheriticum</i>				7		1					100
	<i>C. amycolatum</i>				3	7						100
	<i>C. diphtheriae</i>					3						100
	<i>C. jeikeium</i>					9	1					100
	<i>C. urealyticum</i>					4						100
	<i>C. resistens</i>					3	6	2				100
	<i>E. rhusiopathiae</i>										2	0

* この濃度以下は未測定のため $\leq 0.06\mu\text{g/ml}$ である。

** この濃度以上は未測定のため $\geq 8\mu\text{g/ml}$ である。

*** この濃度以下は未測定のため $\leq 0.12\mu\text{g/ml}$ である。

縦の破線はブレイクポイント境界を示し、Minocyclineは設定がないためDoxycyclineのカテゴリーを適用した。*E. rhusiopathiae*はMinocycline、Vancomycinのブレイクポイントは設定されていない。各菌種の菌株数は以下のとおりで括弧内に示す；*C. striatum* (10), *C. pseudodiphtheriticum* (8), *C. amycolatum* (10), *C. diphtheriae* (3), *C. jeikeium* (10), *C. urealyticum* (4), *C. resistens* (11), *E. rhusiopathiae* (2)

と判定される傾向を認めた。 β -ラクタム系抗菌薬はCTR_Xで12.1%の+1管差を認めたが、ほかのPCG, CFPM, MEPMは10%以内であった。11剤全体では+1管差が16.3%と-1管差の3.1%より高いことから、MIC値が高く判定される傾向を示した。しかし、MIC測定においては許容とされる範囲内であった。また、菌種間や、脂質好性、脂質非好性の違いにより、2法のMIC値に乖離は認めなかった。

3. MIC分布

各菌種に対する各種抗菌薬のMIC分布とCLSI document M45-A⁹⁾によって示されたブレイクポイントによるsusceptible (S)の百分率を表3に示した。*C. striatum*は β -ラクタム系抗菌薬に対し"S"とresistant (R)の二峰性に分布し、*C. amycolatum*は1株のみPCGにintermediate(I)を示したが、ほかは"S"と"R"の二峰性に分布した。*C. striatum*はCLDM, EM, CPF_Xでも二峰性となったが、*C. amycolatum*は耐性傾向となった。*C. pseudodiphtheriticum*は全体的に"S"を示したがCLDM, EMで37.5%の耐性を示した。*C. diphtheriae*は菌株数が少ないものの全体的に"S"を示しCLDM, EMは3株中2株が耐性を示した。脂質好性の性質を持つ

C. jeikeium, *C. urealyticum*はMINO, VCM以外は"R"を示し、*C. resistens*はMINOも"R"であった。*E. rhusiopathiae*はVCM以外の抗菌薬すべてで2株とも"S"を示した。VCMは自然耐性のためブレイクポイントは設定されていない。

考 察

*Corynebacterium*属菌をはじめCoryneform bacteriaはヒトの皮膚、粘膜など生体各所に常在しており、本邦においては分離されたとしても臨床的意義の解釈が困難なことで、臨床検査室での菌種同定が困難であったこともあり軽視されてきた。しかし欧米では日和見感染菌として注目されて久しく^{7,8)}、近年では本邦でも日和見感染菌として認識されつつある^{10,11)}。Coryneform bacteriaに対する抗菌薬感受性検査はディスク拡散法、微量液体希釈法のいずれも詳細に規定されたものがなく、まれに抗菌薬感受性検査を実施する際には参考値として扱われてきた。CLSIは2006年1月にペニシリン系をはじめ14系統18抗菌薬に対するブレイクポイントを設定(本邦で処方可能なのは11系統15抗菌薬)するとともに、そのMIC測定方法につ

いても文書を公開した⁹⁾。そのなかで、*Corynebacterium*属菌に対する抗菌薬感受性検査の実施基準は、免疫不全患者において血液培養、深部組織、体内に挿入または埋め込まれた人工医療材料などの本来無菌的な材料から菌が分離されたときとしている。その方法は、2価イオン調整ミューラーヒントンプロスにウマ溶血液を2.5~5.0%v/v添加するもので、本邦での日常検査にはやや煩雑なものであった。本邦におけるMIC測定法として、CLSI法に準拠した臨床検査室で普及しているMIC測定用ドライプレート‘栄研’を用い、添加物としてストレプト・ヘモサプリメント‘栄研’を利用したSHS法について、CLSI法を基準として検討した結果、表2のとおり全58株で±1管差以内に一致し、ウマ溶血液の作製のように煩雑さはなく、滅菌水で溶解するのみであるため、日常検査に十分利用可能と考える。

結果2に示したようにCLSI法を基準としたSHS法の一致率を見ると、CLSI法に比してSHS法のほうが発育性能が良く、MIC値が1管高めの傾向を示したのは、SHS法ではウマ溶血液のみではなくβ-NAD、酵母エキスが成分に含まれているため、若干の発育促進作用が現れたと考えられる。

*C. striatum*は医療関連感染菌として報告^{12,13)}されており、その報告によるとMRSAが示す各種抗菌薬に対する感受性パターンのように、β-ラクタム系抗菌薬に耐性を示すものは、そのほかの抗菌薬に対しても耐性傾向を示していると述べられている。*C. pseudodiphtheriticum*は院内肺炎、市中肺炎ともに起炎菌として多数報告^{14,15)}されており抗菌薬に対しては感性傾向である。*C. amycolatum*も*C. striatum*と同様に耐性化傾向であるとともにさまざまな感染症起炎菌として報告^{16,17)}されている。*C. diphtheriae*は、われわれが保有していた株がジフテリア毒素非産生株であったため、本来のジフテリア症を発症する*C. diphtheriae*とは異なり参考にならないが、本邦では毒素産生菌は近年報告されていない。*C. jeikeium*、*C. urealyticum*はMINOとVCM以外では耐性を示していた。これはSorianoらが報告¹⁸⁾しているDoxycyclineとVCMが耐性を示したものと同様である。われわれが発見命名した菌種である*C. resistens*¹⁹⁾は*Corynebacterium*属菌のなかで最も耐性傾向を示す菌種で、MINOも耐性でありVCMのみ感性である。*E. rhusiopathiae*は本検討での他菌種と全く相反する性質でVCMのみ感性を示さず、ほかは感性でありSorianoらの報告¹⁸⁾と同様であった。

結 語

これまで*Corynebacterium*属菌に対する抗菌薬感受性検査法は規定されていなかったが、CLSI document M45-Aによって明らかとなった。本邦ではストレプト・ヘモサプリメント‘栄研’を応用することで、CLSI法に準拠した方法で検査を実施することが可能となった。今後ますます増加すると考えられる医原的な免疫抑制状態にある患者や、基礎疾患に伴った易感染性患者に対し、*Corynebacterium*属菌は日和見感染を発症させることが懸念される。簡易同定キットのデータベース更新と臨床現場での*Corynebacterium*属菌に対する認識により、必要に応じて抗菌薬感受性検査を実施し、アンチバイオグラムを作成して診療に活用することが肝要と考える。

利益相反

本実験を実施するにあたりMIC測定用ドライプレート‘栄研’、ミューラーヒントンプイオン‘栄研’、ストレプト・ヘモサプリメント‘栄研’は栄研化学株式会社より提供を受けた。

文 献

- 1) Kathie, L. R., D. F. Paul, E. R. Mark. 2009. Coagulase-negative staphylococcal infections. *Infect. Dis. Clin. North America* 23: 73-98.
- 2) Katsukawa, C., T. Komiya, H. Yamagishi, et al. 2011. Prevalence of *Corynebacterium ulcerans* in dogs residing in Osaka, Japan. *J. Med. Microbiol.* Sep. 15. [Epub ahead of print]
- 3) 大塚喜人, 松井秀仁, 笠井昭吾, 他. 2008. ジフテリア毒素が抗原と考えられたアレルギー性肺炎の1例. *感染症学雑誌* 82: 552-553.
- 4) Dias, A. A., L. S. Santos, P. S. Sabbadini, et al. 2011. *Corynebacterium ulcerans* diphtheria: An emerging zoonosis in Brazil and worldwide. *Rev. Saude Publica* 45(6): 1176-1191.
- 5) Riegel, P., P. Liegeois, M. P. Chenard, et al. 2004. Isolations of *Corynebacterium kroppenstedtii* from a breast abscess. *Int. J. Med. Microbiol.* 294(6): 413-416.
- 6) 大橋清文. 2011. 最近話題の細菌トップ12④ *Corynebacterium kroppenstedtii*. *Medical Technology* 39: 1072-1078.
- 7) Funke, G. A. Graevenitz, J. E. Clarridge, et al. 1997. Clinical microbiology of coryneform bacteria. *Clin. Microbiol. Rev.* 10: 125-159.

- 8) Funke, G., K. A. Bernard. 2007. Coryneform gram-positive rods. 485–514, In: Manual of Clinical Microbiology 9th ed. (P. R. Murray, ed.), ASM Press, Washington, D.C.
- 9) Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; approved guideline, CLSI document M45-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa.
- 10) 大塚喜人. 2009. グラム陽性桿菌「*Erysipelothrix rhusiopathiae* (豚丹毒菌)」最近注目される微生物—その臨床的意義と検査法—, 臨床と微生物, 36: 113–114.
- 11) 大塚喜人. 2009. グラム陽性桿菌「*Corynebacterium*」最近注目される微生物—その臨床的意義と検査法—, 臨床と微生物 36: 109–112.
- 12) Renom, F., M. Garau, M. Rubi, et al. 2007. Nosocomial outbreak of *Corynebacterium striatum* infection in patients with chronic obstructive pulmonary disease. J. Clin. Microbiol. 45: 2064–2067.
- 13) Otsuka, Y., K. Ohkusu, Y. Kawamura, et al. 2006. Emergence of multidrug-resistant *Corynebacterium striatum* as a nosocomial pathogen in long-term hospitalized patients with underlying diseases. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 54: 109–114.
- 14) Chine, E. J. M. Arriero, J. Signes-Costa, et al. 1999. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* pneumonia in an immunocompetent patient. Monaldi Arch Chest Dis. 54(4): 325–327.
- 15) Manzella, J. P., J. A. Kellogg, K. S. Parsey. 1995. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* : A respiratory tract pathogen in adults. Clin. Infect. Dis. 20(1): 37–40.
- 16) Hernandez, J. S., B. M. Peris, G. Y. Guirao, et al. 2003. *In vitro* activity of newer antibiotics against *Corynebacterium jeikeium*, *Corynebacterium amycolatum* and *Corynebacterium urealyticum*. Int. J. Antimicrob. Agents 22(5): 492–496.
- 17) Esteban, J., E. Nieto, R. Calvo, et al. 1999. Microbiological characterization and clinical significance of *Corynebacterium amycolatum* strains. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 18: 518–521.
- 18) Soriano, F., J. Zapardiel, E. Nieto. 1995. Antimicrobial susceptibilities of *Corynebacterium* species and other non-spore-forming gram-positive bacilli to 18 antimicrobial agents. Antimicrob. Agents Chemother. 39(1): 208–214.
- 19) Otsuka, Y., Y. Kawamura, T. Ezaki, et al. 2005. *Corynebacterium resistens* sp. nov., a new multidrug-resistant coryneform bacterium isolated from human infections. J. Clin. Microbiol. 43: 3713–3717.

Antimicrobial Susceptibility Testing for *Corynebacterium* spp. and *Erysipelothrix rhusiopathiae*

Yoshihito Otsuka¹, Akihiro Toguchi¹, Hidetaka Kitazono², Naoto Hosokawa²,
Asuka Kamioka³, Toyoko Oguri¹

Corynebacterium spp. and *Erysipelothrix rhusiopathiae* susceptibility test is currently performed using 2.5–5.0% v/v lysed horse blood at 35°C as an adjuvant to Mueller–Hinton broth, which is recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). We evaluated the usefulness of Strepto-Haemo Supplement “Eiken[®]” (SHS) contains 1.5 ml of lysed horse blood, 1.07 mg of beta-NAD, and 0.36 g of yeast extract, compared with the current standard lysed horse blood, as an adjuvant to Mueller-Hinton broth for the *Corynebacterium* spp. and *E. rhusiopathiae* susceptibility test. For all 58 clinical isolates of *Corynebacterium* spp. and *E. rhusiopathiae* tested, the SHS method and the standard CLSI method showed almost identical MIC results within one dilution difference. We believe that the SHS can be an alternative to the currently recommended lysed horse blood to test *Corynebacterium* spp. and *E. rhusiopathiae* susceptibility.