

[原 著]

Candida 属における酵母様真菌 FP ‘栄研’ とライサス酵母様真菌感受性プレートを
用いた薬剤感受性試験法の比較検討

加藤維斗¹⁾・大坂真義²⁾・佐藤智明¹⁾・岩脇研次²⁾

野村勇介¹⁾・奥川 周¹⁾・森屋恭爾¹⁾

¹⁾ 東京大学医学部附属病院感染制御部微生物検査室

²⁾ 日水製薬株式会社製品開発研究部

(平成 29 年 7 月 6 日受付, 平成 29 年 12 月 15 日受理)

我々は、血液培養及び血管内カテーテルから分離されたカンジダ属について、酵母様真菌 FP ‘栄研’ の目視判定結果とライサス酵母様真菌感受性プレート「ニッスイ」RSMY1 の自動判定結果とを比較し、その有用性を評価した。

Micafungin, Amphotericin-B, Flucytosine, Fluconazole, Itraconazole, Voriconazole 及び Miconazole に対し精度管理株を用いた再現性、臨床分離株を用いた相関性を検討した。精度管理菌株はそれぞれの方法を用いて 3 重測定を連続 5 日測定し CLSI の定める範囲内であった。臨床分離株 53 株を用いた測定においては、RSMY1 で MIC 値が 1 管高い傾向にある薬剤があった。MIC の±2 管差一致率は、Micafungin が 77%, Miconazole が 86% で、その他の薬剤は 90% 以上であった。カテゴリーエラーは Itraconazole において Very Major Error が 1 株 (17%), Minor Error が 16 株 (31%) 存在し、Voriconazole において Minor Error が 1 株 (2%), Fluconazole で 4 株 (8%) 存在した。MIC はすべての薬剤で相関または高い相関を示した。

酵母様真菌の薬剤感受性試験を行う場合は自施設で使用する測定法及び試薬が CLSI 精度管理菌株および臨床分離株でどのような傾向があるかを確認し、測定法の特性を理解した上で実施することが望ましい。

Key words: ライサス酵母様真菌感受性プレート, 薬剤感受性, *Candida*, 酵母様真菌 FP ‘栄研’

序 文

深在性真菌症は免疫不全患者などに高リスクの感染症であり、一般的に重篤で特に真菌血症はいったん発症すると適切な治療が行われない場合、致命的な転帰をたどることが少なくない¹⁾。また近年 FLCZ に低感受性あるいは耐性のカンジダ属の増加が報告されており²⁾、迅速かつ正確に抗真菌薬の感受性試験を行うこ

とは治療薬の選択、投与量など治療方針の決定に大きく寄与する。

酵母様真菌 FP ‘栄研’ などの微量液体希釈法による酵母様真菌感受性試験の終末点の判定法は CLSI 法に準ずるよう修正された³⁾。目視判定基準は、AMPH-B 以外の薬剤は 50% 発育阻止を採用するが、薬剤と菌株の組合せによっては目視判定が困難な株が存在する。また、トレーリンググロース現象等の酵母様真菌に特徴的な発育現象があることから、判定において高い再現性を得るには熟練を要する。

ライサス酵母様真菌感受性プレート「ニッスイ」RSMY1 (以下ライサス法) は、酵母様真菌が発育すると、生存細胞内のミトコンドリア呼吸鎖に存在するコハク酸塩テトラゾリウム還元酵素と、酸化還元指示

著者連絡先：(〒113-0033) 文京区本郷 7-3-1
東京大学医学部附属病院感染制御部微生物検査室
加藤維斗
TEL: 03-3815-5411 (内 35028)
E-mail: kobayashii-lab@h.u-tokyo.ac.jp

Table 1. Species distribution of 53 *Candida* isolates.

Organism	Blood n = 48 (%)	CV catheter n = 5	Total n = 53 (%)
<i>Candida albicans</i>	20 (41.7)	1	21 (39.6)
<i>Candida parapsilosis</i>	11 (22.9)	0	11 (20.8)
<i>Candida glabrata</i>	9 (18.8)	2	11 (20.8)
<i>Candida tropicalis</i>	2 (4.2)	1	3 (5.7)
<i>Candida krusei</i>	1 (2.1)	0	1 (1.9)
<i>Candida lusitanae</i>	1 (2.1)	0	1 (1.9)
<i>Candida intermedia</i>	1 (2.1)	0	1 (1.9)
<i>Candida</i> spp.	3 (6.3)	1	4 (7.5)

CV: Central venous

薬 (WST-1) の水溶性ホルマザンが還元され発色し、その吸光値の変化から MIC を算出するため客観的かつ再現性の高い判定が期待される。また、大坂らは CLSI 原法とライサス法の比較からその有用性を報告している⁴⁾。

我々は血液培養及び血管内カテーテルから分離されたカンジダ属を用いて、当院で従来行ってきた酵母様真菌 FP ‘栄研’ (以下 FP 法) により測定された感受性試験結果と、ライサス法の結果を比較し、その有用性を検討した。

材料と方法

1. 検査材料

菌株は、2013年1月1日から2014年12月31日までに血液及び血管内カテーテル培養から分離され、起炎菌と判断された臨床分離株53株と CLSI 精度管理菌株 (以下 QC 株) *Candida parapsilosis* (ATCC 22019) を使用し、当院にてライサス法と FP 法で測定した。なお、臨床分離株は1患者1株とし、血液培養及び血管内カテーテルのいずれからも同一菌が分離された場合は、血液培養由来株を対象とした (Table 1)。対象薬剤は、MCFG, AMPH-B, 5-FC, FLCZ, ITCZ, VRCZ 及び MCZ の7薬剤とした。

2. 分離・同定

血液培養は、BacT/ALERT3D (シスメックス・ビオメリュー) にて FA 培養ボトル (好気用) (シスメックス・ビオメリュー) を用い7日間培養を行った。血管内カテーテルは、(LG) TGC 培地 (臨床検査用) 17 ml (日研生物医学研究所) を用いて7日間培養を行った。それぞれ酵母様真菌の発育を認め、クロモアガーカンジダ培地 (関東化学) に継代培養し、コロニーを得た。同定は、VITEK2compact YST 同定カー

ド (シスメックス・ビオメリュー) により行った。また、菌株の保存はポテトデキストロース試験管培地 (コージンバイオ) にて行った。

3. 抗真菌薬の薬剤感受性試験

FP 法は、添付文書 (CLSI M27-A3 準拠) に従い以下のとおり実施した。保存菌株を、ニッスイプレートサブロー寒天培地 (日水製薬) を使用し、24時間培養を行なった。最終接種菌量を約 10^8 CFU/mL になるようプレートに接種し、好気培養 (35°C, 48時間) を行った。24時間及び48時間後、 IC_{50} ウェル (50 μ L の生理食塩水を空ウェルに分注し、発育対照ウェルから50 μ L を添加) を調整し、濁度を目視にて比較し、MIC を判定した⁵⁾。カテゴリー判定は CLSI M27-S3 に従い、トレーリンググロースの判定条件は、24時間判定感性 (S) かつ48時間判定耐性 (R) になるものとした。

ライサス法 (日水製薬) は、添付文書 (CLSI M27-A3 準拠) に従い以下のとおり実施した。保存されていた菌株を、ニッスイプレートサブロー寒天培地を使用し、前培養 (35°C, 24時間培養) した。Miniphoto 2000s (日水製薬) を用いて、ニッスイチューブ滅菌水 (日水製薬) に透過率 (T%) $83 \pm 1\%$ (McFarland 0.5 相当) となるように調整した菌液を、ニッスイチューブ RPM11640 (日水製薬) に10 μ L 添加し、接種菌液とした。接種菌液を自動微生物検査装置ライサスエニー (日水製薬) にセットし、24時間及び48時間で自動判定した。カテゴリーは、CLSI M27-S3 に従い、トレーリンググロースの判定条件は、ライサス法が24時間値 (S) または容量依存的感性 (S-DD) かつ48時間値 (R) になるものとした。精度管理株は3重測定を連続5日間測定し値を求めた。臨床分離株の、相関性は、スピアマン順位相関検数検定を用い検証した。

結 果

1. QC 株を用いた機種間差検討

FP 法及びライサス法の24時間及び48時間培養後の測定値は、すべて CLSI M27-S3 の定める範囲内となった。24時間及び48時間培養後の MCFG, AMPH-B, ITCZ と48時間培養後の5-FC はライサス法が1管高い傾向にあった (Table 2)。

2. 臨床分離株の薬剤感受性試験結果

対象菌株53株について、FP 法及びライサス法を用いて測定した。24時間後の MCFG 及び、48時間後の各薬剤の MIC 一致率を求めた。なおライサス法でスキップ現象を認め、エラー判定された株 (ITCZ1

Table 2. MICs of quality control strains obtained by FP 'EIKEN' and RAISUS.

Time Day	Anti-fungal agent	MCFG		AMPH-B		ITCZ		VRCZ		MCZ		FLCZ		5-FC			
		Range		0.5-2		0.25-2		0.12-0.5		0.01-0.125		-		0.5-4		0.06-0.25	
		Mode		1		0.5		0.25		0.06		-		2		0.125	
		RAISUS	FP 'eiken'	RAISUS	FP 'eiken'	RAISUS	FP 'eiken'	RAISUS	FP 'eiken'	RAISUS	FP 'eiken'	RAISUS	FP 'eiken'	RAISUS	FP 'eiken'		
24h	day1	Exp.1	1	0.5	0.5	0.25	0.25	0.12	≤0.03	0.06	0.5	1	2	2	≤0.12	≤0.12	
		Exp.2	1	1	0.5	0.25	0.25	0.12	≤0.03	0.03	1	1	2	2	≤0.12	≤0.12	
		Exp.3	1	1	0.5	0.25	0.25	0.25	≤0.03	0.03	1	1	2	2	≤0.12	≤0.12	
	day2	Exp.1	1	0.5	0.5	0.25	0.25	0.12	≤0.03	0.03	1	0.5	2	1	≤0.12	≤0.12	
		Exp.2	1	0.5	0.5	0.25	0.25	0.12	≤0.03	0.06	1	1	2	2	≤0.12	≤0.12	
		Exp.3	1	0.5	0.5	0.25	0.25	0.12	≤0.03	0.03	1	0.5	2	2	≤0.12	≤0.12	
	day3	Exp.1	1	0.5	0.5	0.25	0.25	0.12	≤0.03	0.06	1	0.5	2	2	≤0.12	≤0.12	
		Exp.2	1	0.5	0.5	0.25	0.25	0.12	≤0.03	0.03	1	0.5	2	2	≤0.12	≤0.12	
		Exp.3	1	0.5	0.5	0.25	0.25	0.12	≤0.03	0.03	1	0.5	2	2	≤0.12	≤0.12	
	day4	Exp.1	1	0.5	0.5	0.25	0.25	0.12	≤0.03	0.03	0.5	0.5	2	2	≤0.12	≤0.12	
		Exp.2	1	0.5	0.5	0.25	0.25	0.12	≤0.03	0.03	0.5	0.5	2	2	≤0.12	≤0.12	
		Exp.3	1	0.5	0.5	0.25	0.25	0.12	≤0.03	0.03	0.5	0.5	2	2	≤0.12	≤0.12	
	day5	Exp.1	1	0.5	0.5	0.25	0.25	0.12	≤0.03	0.03	0.5	0.5	2	2	≤0.12	≤0.12	
		Exp.2	1	0.5	0.5	0.25	0.25	0.12	≤0.03	0.03	1	0.5	2	2	≤0.12	≤0.12	
		Exp.3	1	0.5	0.5	0.25	0.25	0.12	≤0.03	0.03	0.5	0.5	2	2	≤0.12	≤0.12	
Time Day	Anti-fungal agent	MCFG		AMPH-B		ITCZ		VRCZ		MCZ		FLCZ		5-FC			
		Range		0.5-4		0.5-4		0.06-0.5		0.03-0.25		-		1-4		0.125-0.5	
		Mode		1		2		0.25		0.06		-		2		0.25	
		RAISUS	FP 'eiken'	RAISUS	FP 'eiken'	RAISUS	FP 'eiken'	RAISUS	FP 'eiken'	RAISUS	FP 'eiken'	RAISUS	FP 'eiken'	RAISUS	FP 'eiken'		
48h	day1	Exp.1	2	1	1	1	0.5	0.5	0.06	0.06	2	2	2	2	0.5	0.25	
		Exp.2	2	1	1	0.5	0.25	0.25	0.06	0.06	2	2	4	4	0.5	0.25	
		Exp.3	2	1	1	0.5	0.5	0.25	0.06	0.06	2	2	4	4	0.5	0.25	
	day2	Exp.1	2	1	1	1	0.5	0.25	0.06	0.06	2	2	4	4	0.5	0.25	
		Exp.2	2	1	1	1	0.5	0.25	0.06	0.06	2	2	4	4	0.5	0.25	
		Exp.3	2	1	1	1	0.5	0.25	0.06	0.06	2	2	4	4	0.5	0.25	
	day3	Exp.1	2	1	1	0.5	0.5	0.25	0.06	0.06	2	1	4	2	0.5	0.25	
		Exp.2	2	1	1	0.5	0.5	0.25	0.06	0.06	2	2	4	2	0.5	0.25	
		Exp.3	2	0.5	1	1	0.5	0.25	0.06	0.06	2	2	4	4	0.5	0.25	
	day4	Exp.1	2	1	1	1	0.5	0.25	0.06	0.06	2	2	4	4	0.5	0.25	
		Exp.2	2	1	1	0.5	0.5	0.12	0.06	0.06	2	1	4	2	0.5	0.25	
		Exp.3	2	0.5	1	0.5	0.5	0.25	0.06	0.06	2	2	2	4	0.5	0.25	
	day5	Exp.1	2	1	1	0.5	0.5	0.25	0.06	0.06	2	1	4	2	0.5	0.25	
		Exp.2	2	1	1	0.5	0.5	0.25	0.06	0.12	2	2	2	2	0.5	0.25	
		Exp.3	2	1	1	1	0.5	0.25	0.06	0.06	2	1	4	2	0.5	0.25	

Experiment (Exp.), Micafungin (MCFG), Amphotericin-B (AMPH-B), Flucytosine (5-FC), Fluconazole (FLCZ), Itraconazole (ITCZ), Voriconazole (VRCZ), Miconazole (MCZ)

株, MCZ2株)は除いた。±0管差, ±1管差以内, ±2管差以内の順に MCFG(9%, 36%, 77%), AMPH-B (6%, 57%, 94%), ITCZ (12%, 44%, 90%), VRCZ(64%, 83%, 92%), MCZ(31%, 76%, 86%),

FLCZ(25%, 75%, 94%), 5-FC(79%, 98%, 100%)であった (Fig.1)。

また, カテゴリーエラーの比率はFP法を対照法, ライサス法を被検法とし, 母集団からトレーリング現

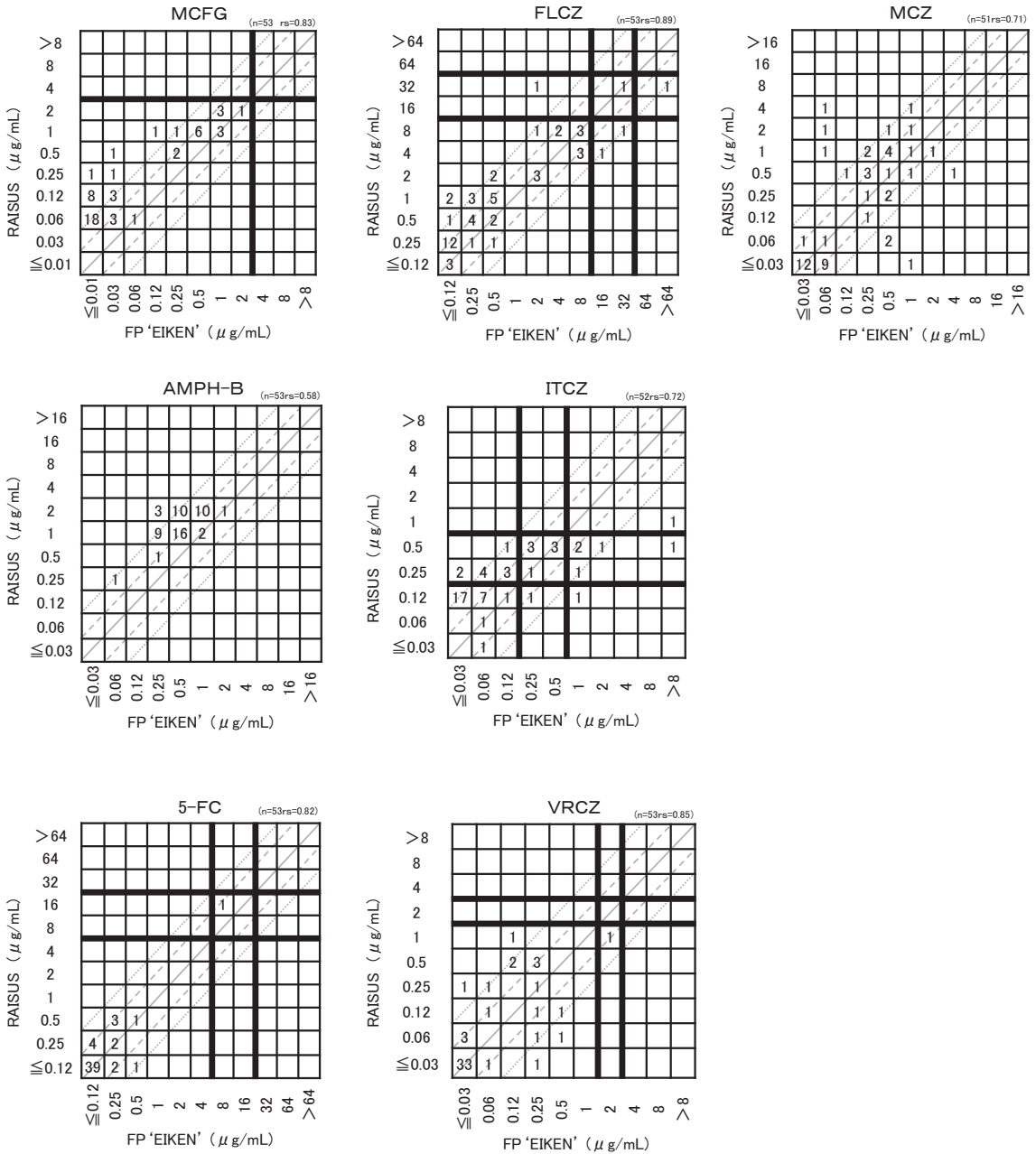


Fig. 1 Correlation between FP 'EIKEN' MICs and RAISUS MICs

Micafungin (MCFG), Amphotericin-B (AMPH-B), Flucytosine (5-FC), Fluconazole (FLCZ), Itraconazole (ITCZ), Voriconazole (VRCZ), Miconazole (MCZ)

象, スキップ現象等を認めた株は除き Food and Drug Administration の指針に従い求めた⁶⁾. Very Major Error (VME) と判定された株は, ITCZ で 1 株 (17%), Minor Error (mE) と判定された株は ITCZ で 16 株

(31%), VRCZ で 1 株 (2%), FLCZ で 4 株 (8%) であった (Table 3). VME と判定された *C. glabrata* の ITCZ の MIC 値は, FP 法で 48 時間値が 1 μg/mL (R), ライサス法では 0.12 μg/mL (S) であった。再

Table 3. The cause of dissociation of MICs between FP 'EIKEN' and RAISUS.

	Antifungal agents						
	MCFG	AMPH-B	ITCZ	VRCZ	MCZ	FLCZ	5-FC
±0	9%	6%	12%	64%	31%	25%	79%
±1	36%	57%	44%	83%	76%	75%	98%
±2	77%	94%	90%	92%	86%	94%	100%
VME	0%	-	17% (1/6)	0%	-	0%	0%
ME	0%	-	0%	0%	-	0%	0%
mE	-	-	31% (16/52)	2% (1/53)	-	8% (4/53)	0%
Total	53	53	52	53	51	53	53

Micafungin (MCFG), Amphotericin-B (AMPH-B), Flucytosine (5-FC), Fluconazole (FLCZ), Itraconazole (ITCZ), Voriconazole (VRCZ), Miconazole (MCZ), Very major error (VME), Major error (ME), Minor error (mE)

Table 4. Re-examination of FP 'EIKEN' and RAISUS.

Group	Seq	Organism	Antifungal agents	Experiment				Re-experiment			
				RAISUS		FP 'eiken'		RAISUS		FP 'eiken'	
1	1	<i>Candida tropicalis</i>	MCFG	0.5	I	0.031	S	0.125	S	0.031	S
	2	<i>Candida tropicalis</i>	MCFG	0.25	S	0.031	S	0.125	S	≤0.016	S
			AMPH-B	2	-	0.25	-	2	-	0.5	-
	3	<i>Candida albicans</i>	MCFG	0.25	S	≤0.016	S	0.063	S	≤0.016	S
2	4	<i>Candida albicans</i>	MCFG	0.125	S	≤0.016	S	0.063	S	≤0.016	S
			ITCZ	0.25	S-DD	≤0.031	S	0.125	S	0.063	S
	5	<i>Candida parapsilosis</i>	ITCZ	0.25	S-DD	≤0.031	S	0.25	S-DD	0.063	S
			MCZ	1	-	0.063	-	1	-	1	-
6	<i>Candida parapsilosis</i>	MCZ	2	-	0.063	-	2	-	1	-	
3	7	<i>Candida glabrata</i>	ITCZ	0.5	S-DD	>8	R	0.125	S	>8	R
	8	<i>Candida tropicalis</i>	VRCZ	0.25	S	≤0.031	S	0.25	S	≤0.031	S
4	9	<i>Candida glabrata</i>	MCZ	≤0.031	-	1	-	≤0.031	-	0.5	-
5	10	<i>Candida species</i>	MCZ	4	-	0.063	-	4	-	1	-

Micafungin (MCFG), Amphotericin-B (AMPH-B), Flucytosine (5-FC), Fluconazole (FLCZ), Itraconazole (ITCZ), Voriconazole (VRCZ), Miconazole (MCZ)

検値は、FP法は0.5 µg/mL (S-DD)、ライサス法では0.25 µg/mL (S-DD)であった。

測定した臨床分離株53株のうち、MIC一致率が±2管差以上であり、かつ明らかなトレーリンググロース現象、スキップ現象等を認めた株、およびVME株を除いた13件10株について再検査を行った。ライサス法は±2管差以内で再現性は認められた。FP法は一部の株で±2管差以上であったが、他の株では再現性は認められた。再検査を行った株について、結果の剝離した要因をGroup1~5に分類した。Group1は標準菌株でみられた測定法の差が要因となっている可能性が考えられた株、Group2は発育性状が目視判定に影

響を与えたことにより誤差が生じた可能性のある株、Group3は測定法におけるトレーリンググロースの基準の違い、及びカテゴリーをまたがないトレーリンググロース様の発育が認められた株、Group4は菌塊の形成が弱いまたは酸化還元指示薬の反応性が差に寄与した可能性の株、Group5は分類ができず、乖離した原因が不明な株とし、考察した (Table 4)。

臨床分離株の、FP法及びライサス法を用いた薬剤感受性試験結果の相関性を、スピアマン順位相関検数検定を用い検証した。それぞれの順位相関係数はMCFG ($r_s=0.83$, $P<0.05$), AMPH-B ($r_s=0.58$, $P<0.05$), ITCZ ($r_s=0.72$, $P<0.05$), VRCZ ($r_s=0.85$, P

<0.05), MCZ ($r_s=0.71$, $P<0.05$), FLCZ ($r_s=0.89$, $P<0.05$), 5-FC ($r_s=0.82$, $P<0.05$) であり, すべての薬剤で相関または高い相関性を示した (Fig. 1)。

考 察

1. QC 株を用いた機種間差検討

FP 法及びライサス法は, 薬剤によりライサス法が 1 管高かったが, いずれの薬剤も 1~2 管のばらつきは認められるものの CLSI M27-S3 の定める測定基準範囲内であり良好な結果が得られた。

2. 臨床分離株による薬剤感受性試験結果

2 法間の MIC 値の一致率は薬剤による差が認められるもの ± 2 管差以内の株は 77~100% であった。VME と判定された株のように, MIC 値がブレイクポイント付近に存在する場合, QC 株で認められたような, ばらつきに起因するカテゴリーエラーとなる可能性が示唆された。mE は, ITCZ において 31% で, 他の薬剤と比較して多かった。この原因として, 薬剤高濃度域にまで微小発育が確認される傾向が高い薬剤特性が判定を困難にしているためと考えられた⁷⁾。太田らは, ITCZ や MCZ など難溶性の薬剤は Dimethyl sulfoxide (DMSO) により溶解する必要があり, 微小発育の要因の一つと報告している⁸⁾。MIC が ± 2 管差以上であった株を再検査し, 要因を Group1~5 に分類した (Table 4)。

Group1 は MCFG で 4 株, AMPH-B で 1 株認められた。測定後のプレートを観察すると, ウェルの中にははっきりとした菌塊が認められ, 50% 発育阻止濃度の判定は容易であった。MCFG 及び AMPH-B は, CLSI 精度管理菌株においても, 臨床分離株においてもライサス法が高い傾向を示すと考えられた。

Group2 は ITCZ で 2 株, MCZ で 2 株考えられた。これらの菌のウェル内の性状を確認すると, 菌塊がドット状の発育形態を示し, 攪拌を行っても菌塊は崩れにくい状態であった。アゾール系薬剤では, 50% 発育阻止を基準とするため, ウェルの底に発育した菌塊が星状やドット状等の発育形態を示すとき, ライサス法のような客観的な酸化還元指示薬による判定と比較すると, 目視判定では 50% 発育阻止の判定が困難なことがあり, 結果に差を生じた可能性が考えられた。FP 法の再検査において再現性の認められなかった株も, 同様の発育形態を示した。

Group3 は *C. glabrata* 1 株の ITCZ, *C. tropicalis* 1 株の VRCZ で考えられた。トレーリンググロースの判定基準は CLSI での規定がないため, FP 法では 24 時間判定感性 (S) かつ 48 時間判定耐性 (R) になる

もの, ライサス法では 24 時間値 (S) または容量依存的感性 (S-DD) かつ 48 時間値 (R) になるものと規定されている。*C. glabrata* の ITCZ において FP 法では, 24 時間値が $0.5 \mu\text{g/mL}$ (S-DD), 48 時間値が $>8 \mu\text{g/mL}$ (R) であり, FP 法で定義されたトレーリンググロースの判定には当てはまらないが, ライサス法では 24 時間値が $0.5 \mu\text{g/mL}$ (S-DD), 48 時間値が $1 \mu\text{g/mL}$ (R) であり, トレーリンググロースと判定されたため, 24 時間値が採用されたことで結果が乖離したことが考えられた。*C. tropicalis* の VRCZ においては, FP 法では 24, 48 時間値ともに $\leq 0.03 \mu\text{g/mL}$ (S) であり, ライサス法では 24 時間判定が $\leq 0.03 \mu\text{g/mL}$ (S), 48 時間判定が $0.25 \mu\text{g/mL}$ (S) と示す株であった。FP 法のウェルは微小な菌塊の形成が高濃度域まで認められるが, 発育陽性対照ウェルと比較し 50% 以下の発育率であると判定された。ライサス法においても, 同様の微小発育が高濃度域まで認められ, 24 時間値は $\leq 0.03 \mu\text{g/mL}$ と判定されたが, 48 時間後の酸化還元試薬による吸光値は, トレーリンググロースの判定値までは上昇しなかったため $0.25 \mu\text{g/mL}$ と判定され乖離が生じたと考えられた。アゾール系薬剤では, 薬剤高濃度域まで菌の微小発育が確認される場合があり, 目視での MIC の判定に苦慮する。これに加え, 酸化還元指示薬を用いた吸光値の測定であっても, 菌塊の形成状況によっては十分な吸光値を得られないことで, MIC が乖離する場合に注意が必要であると思われる。

Group4 は *C. glabrata* 1 株の MCZ で考えられた。MIC は FP 法で $1 \mu\text{g/mL}$, ライサス法で $\leq 0.03 \mu\text{g/mL}$ であったが, FP 法及びライサス法のウェルを確認したところ, FP 法では菌塊弱いはドット状であり, 発育は不良であったが目視では判定できた。ライサス法では, 0.03 及び $0.06 \mu\text{g/mL}$ で弱い菌塊の形成が目視で確認されていたが, その吸光値は判定の域値に達せず不良であった。株の変異による酸化還元指示薬との反応性の低下の要因として, Bouchara らは *C. glabrata* が抗真菌薬療法により呼吸欠損変異株が誘導されることを報告しており⁹⁾, 本菌株も変異株であった可能性が考えられた。Group5 は乖離した原因が不明であった。

以上, 今回の検討では少数ではあるが上記の要因と思われる ± 2 管以上の差を認めている。さらに差異が見られる株を集積し, 詳細に検討すると精度の高い測定が可能になると思われる。

当院における FP 法及びライサス法の相関は, 強弱は認められるものの相関関係にあった。

今回の検討から酵母様真菌薬剤感受性試験に特有なウェル内の菌塊の発育形態によって目視判定が困難な場合であっても、ライサス法では酸化還元指示薬による判定であるため客観的な結果を得られるという点で有用であると考えられた。酵母様真菌の薬剤感受性試験を行う場合は自施設で使用する測定法及び試薬が CLSI 精度管理菌株および臨床分離株で、他法と比較してどのような傾向があるかを確認し、測定法の特徴を理解した上で実施することが望ましい。

利益相反：申告すべき利益相反はありません。

文 献

- 1) 力丸 徹, 米光順子, 嶋田亜希子, 他. 2005. 真菌血症より分離された *Candida* に対する抗真菌薬の in vitro 抗真菌活性. 感染症誌 79 (1): 20-24.
- 2) Peres, S., T.F. Patterson. 2002. Antifungal resistance in pathogenic fungi. Clin. Infect. Dis. 35: 1073-1080.
- 3) 小栗豊子, 阿部美知子, 池田玲子. 日常微生物検査における真菌検査法. 日本医真菌学会標準化委員会. <http://www.jsmm.org/oshirase/pdf/inspection.pdf>.
- 4) 大坂真義, 岩脇研次. 2012. 全自動微生物検査装置ライサスを用いた酵母様真菌薬剤感受性試験の有用性. 日本臨床微生物学会誌 22: 198.
- 5) Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Reference Method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: Approved standard-third edition M27-A3. CLSI, Wayne, PA, USA.
- 6) Review criteria for assessment of antimicrobial susceptibility devices 1990.
- 7) Zomorodian, K., A. Bandegani, H. Mirhendi, et al. 2016. In vitro Susceptibility and Trailing Growth Effect of Clinical Isolates of *Candida* Species to Azole Drugs. Jundishapur J Microbiol. 9 (2): e28666.
- 8) 太田浩敏, 宮崎 崇, 仲本賢太郎, 他. 2011. 当院で分離された血液由来カンジダ属の検出状況および薬剤感受性について. 岐阜県臨床検査技師会誌 41 (2): 1-3.
- 9) Bouchara, J.P., R. Zouhair, S.L. Boudouil, et al. 2000. In vivo selection of an azole-resistant petite mutant of *Candida glabrata*. J. Med. Microbiol. 49: 977-984.

Comparing the susceptibility results between RSMY1 and FP 'EIKEN' using *Candida* isolates

Ito Kato¹⁾, Masayoshi Osaka²⁾, Tomoaki Sato¹⁾, Kenji Iwawaki²⁾, Yusuke Nomura¹⁾,
Shu Okukawa¹⁾, Kyoji Moriya¹⁾

¹⁾Department of infection control, and Prevention The University of Tokyo Hospital

²⁾Nissui Pharmaceutical CO., LTD.

We evaluated the utility of RAISUS susceptibility testing plates of yeasts (RSMY1), an automated susceptibility testing method, by using *Candida* isolates from blood cultures and intravascular catheters. For comparison we measured the same strains with Yeast-Like Fungus DP (FP 'EIKEN'). Miconazole (MCFG), Amphotericin-B (AMPH-B), Flucytosine (5-FC), Fluconazole (FLCZ), Itraconazole (ITCZ), Voriconazole (VRCZ) and Miconazole (MCZ) were tested with 53 *Candida* isolates from clinical samples and Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) quality control strains. The MIC values of quality control strains obtained from both methods were acceptable ranges of the CLSI standards (M27-S3). The MIC values of all antifungal agents showed high correlation rate between two methods. In MIC comparison, essential agreements between two methods (\pm fourfold of MICs) were over 90% with exception of MCFG (77%) and MCZ (86%). The categorical agreement between two methods was over 90% for antifungal agents with exception of ITCZ. ITCZ had 17% very major error. There was a 31%, 2% and 8% minor error for ITCZ, VRCZ and FLCZ, respectively.

The understanding differences and features of methods are important when the antifungal susceptibility testing in clinical laboratory is performed.