

[原 著]

*Streptococcus* 属及び *Haemophilus influenzae* における薬剤感受性測定機器 DPS192iX の性能評価

西川佳佑<sup>1)</sup>・大沼健一郎<sup>1) 2)</sup>・楠木まり<sup>1) 2)</sup>・石田奈美<sup>1)</sup>・小林沙織<sup>1)</sup>  
西田全子<sup>1)</sup>・松本紗也加<sup>1)</sup>・吉田奈津希<sup>1)</sup>・梅本陵平<sup>1)</sup>・大路 剛<sup>1) 2) 3)</sup>  
宮良高維<sup>2)</sup>・今西孝充<sup>1)</sup>・矢野嘉彦<sup>1) 4)</sup>

<sup>1)</sup> 神戸大学医学部附属病院検査部

<sup>2)</sup> 神戸大学医学部附属病院感染制御部

<sup>3)</sup> 神戸大学大学院医学研究科微生物感染症学講座感染治療学分野

<sup>4)</sup> 神戸大学大学院医学研究科消化器内科学

(令和6年10月24日受付, 令和7年1月17日受理)

我々は *Streptococcus* 属 68 株と *Haemophilus influenzae* 78 株を使用し, 対照法との MIC $\pm$ 1 管差一致率及びカテゴリー一致率による薬剤感受性測定機器 DPS192iX の性能評価を実施した。*Streptococcus* 属における本法の MIC $\pm$ 1 管差一致率は全ての薬剤で 97% 以上を示し, カテゴリー一致率はクラリスロマイシンで 90% 以下となったが Very Major Error (VME) は見られなかった。*H. influenzae* における MIC $\pm$ 1 管差一致率はイミペネムを除く全ての薬剤で 90% 以上を示した。カテゴリー一致率はアンピシリン等の一部の薬剤で 90% 以下を示し, アモキシシリン・クラブラン酸やアンピシリン・スルバクタムにおいては VME がそれぞれ数株見られた。また, *Streptococcus* 属のマクロライド系抗菌薬耐性は培養開始より最短 6 時間, レボフロキサシン耐性は最短 5 時間で検出できた。*H. influenzae* のアンピシリン耐性は  $\beta$  ラクタマーゼ陰性アンピシリン耐性株で最短 9 時間,  $\beta$  ラクタマーゼ陽性アンピシリン耐性株で最短 8 時間で出現した。本検討より DPS192iX を用いた *Streptococcus* 属及び *H. influenzae* の薬剤感受性精度は良好であり, 耐性菌の迅速検出に寄与できる可能性が示唆された。

**Key words:** 薬剤感受性検査, *Streptococcus* 属, *Haemophilus influenzae*, DPS192iX, BLNAR

## 序 文

薬剤感受性測定機器 DPS192iX (栄研化学, 以下 DPS192iX) は, 192 ウェル・30 種類以上の薬剤を搭載した専用パネルを使用し, 1 時間毎に各ウェルを撮像する事により MIC の経時的な変化を測定する事が可能である。本機器を用いた基質拡張型  $\beta$  ラクタマーゼ (ESBL) やカルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌の薬剤感受性測定精度に関する報告はいくつか見られる<sup>1)~3)</sup>が, 我々が検索した限り, *Streptococcus* 属及び *Haemophilus influenzae* に関して, 論文として報告されているものはない。

そこで我々は, *Streptococcus* 属及び *H. influenzae* において, ドライプレート ‘栄研’ EP34 (栄研化学, 以下 EP34) と DPS192iX を用いた有用性評価を実施したので報告する。

## 材料と方法

### 1. 使用菌株

当院にて 2015 年~2022 年の間に検出され, スキムミルク

(日本 BD) により -80℃ で保存された, *Streptococcus* 属 68 株と *H. influenzae* 78 株を使用した (Table 1)。菌種の同定は, 2021 年 9 月までの菌株については MALDI Biotyper LT (ブルカー・ジャパン株式会社) (ライブラリーバージョン 4) にて, それ以降は MALDI Biotyper Sirius (ブルカー・ジャパン株式会社) (ライブラリーバージョン 11) にて行った。なお, *Streptococcus pneumoniae* と *Streptococcus mitis* group の鑑別には, オプトヒン感受性試験及び胆汁酸溶解試験を使用した。また, 精度管理株として *H. influenzae* ATCC 49247 を使用した。

### 2. 薬剤感受性試験

#### 1) *Streptococcus* 属

保存菌株を羊血液寒天培地 (日本 BD) にて 35℃・7%CO<sub>2</sub> で一夜培養し, 一度継代培養した菌株を滅菌生理食塩水にて McFarland No.1.0 に相当する菌液を調整した。以下に示す方法により 22 時間培養後, 各薬剤の MIC を測定し, 対照法との MIC $\pm$ 1 管差一致率及びカテゴリー一致率を求めた。

#### 2) *H. influenzae*

保存菌株をチョコレート寒天培地 (日本 BD) にて 35℃・7%CO<sub>2</sub> で一夜培養し, 一度継代培養した菌株を滅菌生理食塩水にてヘモフィルス菌濁度液 H ‘栄研’ に相当する菌液を調整した。以下に示す方法により 22 時間培養後, 各薬剤の MIC を測定し, 対照法との MIC $\pm$ 1 管差一致率及びカテゴリー一致率を求めた。

著者連絡先: (〒650-0017) 兵庫県神戸市中央区楠町 7-5-2  
神戸大学医学部附属病院検査部  
西川佳佑  
TEL: 078-382-6327  
FAX: 078-382-6348  
E-mail: onumak@med.kobe-u.ac.jp

Table 1. Strains used in this study

| <i>Streptococcus</i> spp. | n  | <i>H. influenzae</i> | n  |
|---------------------------|----|----------------------|----|
| <i>S. pneumoniae</i>      | 16 | BLNAS                | 13 |
| <i>S. mitis</i> group     | 10 | BLNAR                | 54 |
| <i>S. anginosus</i>       | 5  | BLPAR                | 10 |
| <i>S. constellatus</i>    | 3  | BLPACR               | 1  |
| <i>S. pyogenes</i>        | 11 | Total                | 78 |
| <i>S. dysgalactiae</i>    | 13 |                      |    |
| <i>S. agalactiae</i>      | 10 |                      |    |
| Total                     | 68 |                      |    |

BLNAS:  $\beta$ -lactamase negative ampicillin susceptible

BLNAR:  $\beta$ -lactamase negative ampicillin resistant

BLPAR:  $\beta$ -lactamase producing ampicillin resistant

BLPACR:  $\beta$ -lactamase producing amoxicillin-clavulanic acid resistant

### ① 本法

192 用ミューラーヒントンプイヨン ‘栄研’ (栄研化学) にストレプト・ヘモサプリメント F 2.5 ‘栄研’ (栄研化学) を 0.38 mL 加え薬剤感受性試験用液体培地を作製した。そこへ調整した菌液 25  $\mu$ L を加え接種用菌液とし、ドライプレート ‘栄研’ EP34 (栄研化学, EP34) に分注後、DPS192iX に搭載した。なお、菌液 25  $\mu$ L の接種及び EP34 への分注は、自動菌液分注装置イノキュレータースマート 192 (栄研化学) にて実施した。各薬剤の MIC は DPS192iX により培養開始から 1 時間毎に自動測定され、MIC  $\pm$  1 管差一致率及びカテゴリー一致率の評価にはエンドポイントにおける MIC を使用した (35 $^{\circ}$ C  $\cdot$  22 時間培養後)。

### ② 対照法

調整した菌液 25  $\mu$ L をストレプト・ヘモサプリメント ‘栄研’ (栄研化学) 1 mL を加えたミューラーヒントンプイヨン ‘栄研’ (栄研化学) に加え、接種用菌液とした。接種用菌液をドライプレート ‘栄研’ KDE 5, 6 (栄研化学, KDE 5, KDE 6) の各ウェルに 100  $\mu$ L ずつ分注し、35 $^{\circ}$ C  $\cdot$  22 時間培養した。培養後、目視にて各薬剤の MIC を測定した。菌の発育は、ウェルの混濁や直径 1 mm 以上の沈殿、或いは沈殿物の直径が 1 mm 未満であっても沈殿塊を 2 個以上認めた場合を陽性とした。

本法・対照法ともに測定薬剤は、ペニシリン G (PCG)、アンピシリン (ABPC)、アモキシシリン・クラブラン酸 (A/C)、アンピシリン・スルバクタム (S/A)、ピペラシリン・タゾバクタム (T/P)、イミペネム (IPM)、メロペネム (MEPM)、ドリペネム (DRPM)、セファクロル (CCL)、セフトキシム (CTX)、セフトリアキソン (CTRX)、セフトジジム (CAZ)、セフェピム (CFPM)、エリスロマイシン (EM)、クラリスロマイシン (CAM)、アジスロマイシン (AZM)、ミノサイクリン (MINO)、クロラムフェニコール (CP)、レボフロキサシン (LVFX)、シプロフロキサシン (CPFX)、モキシフロキサシン (MFLX)、バンコマイシン (VCM)、クリンダマイシン (CLDM)、リネゾリド (LZD)、ST 合剤 (ST) であり、ブレイクポイントは Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-34th Edition<sup>4)</sup> を採用した。カテゴリー一致率の評価においては、DPS192iX が感性かつ対照法が耐性の場合を Very Major Error (VME)、

DPS192iX が耐性かつ対照法が感性の場合を Major Error (ME) とした。

### 3. *H. influenzae* の耐性分類

*H. influenzae* の耐性機序は、対照法における ABPC と A/C の MIC 及びセフィナーゼディスク (日本 BD) による  $\beta$  ラクタマーゼ試験の結果により決定した。ABPC の MIC  $\geq$  4  $\mu$ g/mL かつ  $\beta$  ラクタマーゼ陽性を  $\beta$  ラクタマーゼ陽性アンピシリン耐性 (BLPAR) 株、ABPC の MIC  $\geq$  1  $\mu$ g/mL かつ  $\beta$  ラクタマーゼ陰性を  $\beta$  ラクタマーゼ陰性アンピシリン耐性 (BLNAR) 株、ABPC の MIC  $\geq$  4  $\mu$ g/mL かつ  $\beta$  ラクタマーゼ陽性に加え A/C  $\geq$  8  $\mu$ g/mL を  $\beta$  ラクタマーゼ陽性アモキシシリン・クラブラン酸耐性 (BLPACR) 株、それ以外を  $\beta$  ラクタマーゼ陰性アンピシリン感性 (BLNAS) 株とした。

## 結 果

### 1. Quality control (QC)

*H. influenzae* ATCC 49247 の MIC は、ABPC : 4  $\mu$ g/mL, S/A : 4  $\mu$ g/mL, T/P :  $\leq$  0.12  $\mu$ g/mL, MEPM : 0.12  $\mu$ g/mL, CTX : 0.25  $\mu$ g/mL, CTRX : 0.12  $\mu$ g/mL, CAZ : 0.25  $\mu$ g/mL, CFPM : 1  $\mu$ g/mL, CAM : 8  $\mu$ g/mL, AZM : 1  $\mu$ g/mL, CP :  $\leq$  0.25  $\mu$ g/mL, LVFX :  $\leq$  0.5  $\mu$ g/mL, MFLX :  $\leq$  0.25  $\mu$ g/mL, ST :  $\leq$  0.25  $\mu$ g/mL であり、CLSI M100-34th Edition<sup>4)</sup> にて QC Range が設定されている薬剤はいずれも許容範囲内であった。

### 2. MIC $\pm$ 1 管差一致率, カテゴリー一致率

Table 2 に各一致率を示す。

#### 1) *Streptococcus* 属

MIC  $\pm$  1 管差一致率は全ての薬剤で 97% 以上を示し、良好な結果が得られた。カテゴリー一致率は CAM で 90% 以下となったが、VME は見られなかった。AZM と CP はそれぞれ *Streptococcus pneumoniae* が 1 株ずつ ME を示した。また、マクロライド系抗菌薬に対する耐性は培養から最短 6 時間、CLDM では最短 9 時間、LVFX では最短 5 時間で出現した。一方、90% 以上の菌株が耐性を示すまでに要した時間は、マクロライド系抗菌薬で 17 時間以上、CLDM で 20 時間、LVFX で 9 時間であった (Figure 1A)。

#### 2) *H. influenzae*

MIC  $\pm$  1 管差一致率は IPM を除く全ての薬剤で 90% 以上を示し、概ね良好な結果が得られた。カテゴリー一致率は ABPC, A/C, CCL, CAM で 90% 以下を示し、A/C 及び S/A, CCL において VME がそれぞれ 1 株, 7 株, 2 株ずつ見られた。また、CCL で 1 株 ME が見られた。BLNAR 株及び BLPACR 株の ABPC 耐性は最短 9 時間で出現し、BLPAR 株の ABPC 耐性は最短 8 時間で出現した。一方、90% 以上の BLNAR 株及び BLPACR 株が耐性を示すまでに要した時間は 20 時間、BLPAR 株は 14 時間であった (Figure 1B)。

## 考 察

*Streptococcus* 属及び *H. influenzae* における DPS192iX の性能は対照法と比較し概ね良好であったが、一部の薬剤においては一致率が低い傾向が見られた。*Streptococcus* 属に

Table 2. Comparison of the susceptibility testing between DPS192iX and reference method

| <i>Streptococcus</i> spp. |                 |             |          |                   | <i>H. influenzae</i> |                 |             |                    |                   |
|---------------------------|-----------------|-------------|----------|-------------------|----------------------|-----------------|-------------|--------------------|-------------------|
| Agents                    | Agreement (%)   |             | VME%     | ME%               | Agents               | Agreement (%)   |             | VME%               | ME%               |
|                           | MIC ( $\pm 1$ ) | Category    |          |                   |                      | MIC ( $\pm 1$ ) | Category    |                    |                   |
| PCG                       | 100             | 100         | 0 (0/1)  | 0 (0/67)          | ABPC                 | 94.9            | <u>83.3</u> | 0 (0/43)           | 0 (0/21)          |
| ABPC                      | 98.5            | 100         | 0 (0/1)  | 0 (0/67)          | A/C                  | 96.2            | <u>84.6</u> | <u>3.8 (1/26)</u>  | 0 (0/38)          |
| MEPM                      | 100             | 98.5        | 0 (0/1)  | 0 (0/67)          | S/A                  | 96.2            | 91.0        | <u>21.9 (7/32)</u> | 0 (0/46)          |
| DRPM                      | 100             | 100         | NA       | 0 (0/67)          | T/P                  | 100             | 100         | NA                 | 0 (0/78)          |
| CTX                       | 100             | 100         | 0 (0/1)  | 0 (0/67)          | IPM                  | <u>85.9</u>     | 100         | NA                 | 0 (0/68)          |
| CTRX                      | 100             | 100         | 0 (0/1)  | 0 (0/67)          | MEPM                 | 96.2            | 100         | NA                 | 0 (0/73)          |
| CFPM                      | 97.1            | 100         | 0 (0/1)  | 0 (0/67)          | DRPM                 | 93.6            | 100         | NA                 | 0 (0/66)          |
| EM                        | 100             | 94.1        | 0 (0/36) | 0 (0/29)          | CCL                  | 94.9            | <u>85.9</u> | <u>4.3 (2/47)</u>  | <u>3.8 (1/26)</u> |
| CAM                       | 98.5            | <u>89.6</u> | 0 (0/33) | 0 (0/29)          | CTX                  | 98.7            | 100         | NA                 | 0 (0/77)          |
| AZM                       | 98.5            | 95.6        | 0 (0/37) | <u>3.4 (1/29)</u> | CTRX                 | 97.4            | 100         | NA                 | 0 (0/78)          |
| CP                        | 98.5            | 98.5        | 0 (0/10) | 1.7 (1/58)        | CAZ                  | 94.9            | 100         | NA                 | 0 (0/77)          |
| LVFX                      | 100             | 100         | 0 (0/11) | 0 (0/56)          | CFPM                 | 98.7            | 100         | NA                 | 0 (0/78)          |
| VCM                       | 98.5            | 100         | NA       | 0 (0/67)          | CAM                  | 100             | <u>87.2</u> | 0 (0/1)            | 0 (0/61)          |
| CLDM                      | 97.0            | 100         | 0 (0/44) | 0 (0/23)          | AZM                  | 98.7            | 100         | NA                 | 0 (0/77)          |
| LZD                       | 100             | 100         | NA       | 0 (0/68)          | MINO                 | 100             | 100         | NA                 | 0 (0/78)          |
|                           |                 |             |          |                   | CP                   | 98.7            | 100         | 0 (0/1)            | 0 (0/77)          |
|                           |                 |             |          |                   | LVFX                 | 100             | 100         | NA                 | 0 (0/78)          |
|                           |                 |             |          |                   | CPFX                 | 97.4            | 100         | NA                 | 0 (0/78)          |
|                           |                 |             |          |                   | MFLX                 | 98.7            | 100         | NA                 | 0 (0/78)          |
|                           |                 |             |          |                   | ST                   | 100             | 91.0        | 0 (0/18)           | 0 (0/50)          |

Underlined numbers indicate less than 90% in agreement and 3% or more in ME%, respectively. In VME%, underlined numbers represent the presence of discrepancy regardless of the number. VME% represents the percentage of strains that were susceptible by DPS192iX but resistant by the reference method. ME% represents the percentage of strains that were resistant by DPS192iX but susceptible by the reference method. PCG: penicillin G, ABPC: ampicillin, A/C: amoxicillin-clavulanic, S/A: sulbactam-ampicillin, T/P: tazobactam-piperacillin, IPM: imipenem, MEPM: meropenem, DRPM: doripenem, CCL: cefaclor, CTX: cefotaxime, CTRX: ceftriaxone, CAZ: ceftazidime, CFPM: cefepime, EM: erythromycin, CAM: clarithromycin, AZM: azithromycin, MINO: minocycline, CP: chloramphenicol, LVFX: levofloxacin, CPFX: ciprofloxacin, MFLX: moxifloxacin, VCM: vancomycin, CLDM: clindamycin, LZD: linezolid, ST: sulfamethoxazole/trimethoprim, NA: Not Available, MIC: Minimum Inhibitory Concentration, VME: Very Major Error, ME: Major Error

における CAM のカテゴリー一致率は 90% 未満であったが、50% 及び 90% の菌株が耐性を示した MIC (MIC50・MIC90) は、DPS192iX でそれぞれ  $1 \cdot >16 \mu\text{g/mL}$ 、対照法で  $0.5 \cdot >16 \mu\text{g/mL}$  であり、DPS192iX により得られた MIC は対照法と比較し僅かに高い傾向が確認された。しかし、MIC $\pm 1$  管差一致率は 98.5% と良好な結果を示しており、1 管の相違がカテゴリー判定に影響したことで一致率低下に繋がったと考えられた。さらに、AZM において ME が 1 株 (3.4%) 見られたが、その原因は明らかではなかった。*H. influenzae* における IPM の MIC $\pm 1$  管差一致率は 90% 未満であった。IPM の MIC50・90 は DPS192iX 及び対照法ともに  $1 \cdot >4 \mu\text{g/mL}$  であり、DPS192iX と対照法の MIC は同等と考えられた。また、一部の菌株においては点状の発育を認め、対照法においては発育陽性と判定したが DPS192iX による自動判定は発育陰性と判定しており、両者間で乖離が生じた原因となった。カテゴリー一致率が 90% 未満であった CCL の MIC 50・90 は DPS192iX 及び対照法ともに同等であり、一定の傾向は確認されなかった。一方、ABPC、A/C、CAM の DPS192iX における MIC50 は対照法と比較し、1 管低い傾向が見られた。さらに A/C、S/A や CCL においては VME が数株見られ、対照法で発育を認めたにも関わらず、DPS192iX に

よる自動判定により発育陰性と判定されたこれら薬剤のウェルを目視及び DPS192iX 画像上の両方で観察すると、微小ではあるが発育を確認できた。DPS192iX は菌の発育をウェルの輝度変化としてとらえる方法を採用しており、一部薬剤においてはその発育検出閾値が不一致の一因である可能性が考えられた。さらに、S/A は CLSI M100-34th Edition において Intermediate (I) の判定がなく、1 管の相違が VME 率の上昇にさらに寄与したと考えられた。他菌種における DPS192iX の性能評価に関するこれまでの報告<sup>2)3)5)</sup>によると、MIC $\pm 1$  管差一致率は 85.7%~100%、カテゴリー一致率は 77%~100% であり、我々の結果と概ね一致している。小林ら<sup>2)</sup>は ESBL などの  $\beta$  ラクターマーゼ産生腸内細菌目細菌において CAZ やアミカシン (AMK) の MIC が低く出る傾向を、下地ら<sup>5)</sup>は *Aerococcus urinae* において CTRX や LZD の MIC $\pm 1$  管差一致率が低い傾向にあることを報告している。本検討においても一部の薬剤で低い一致率を示しており、DPS192iX で使用するプレートのウェル形状や容量が特定の薬剤の MIC 測定に何らかの影響を与える可能性が考えられ、菌種ごとの検討は重要であると考えられる。

米国食品医薬品局 (FDA) は、新たな薬剤感受性機器に求める性能指標として対照法と比較し、カテゴリー判定一致

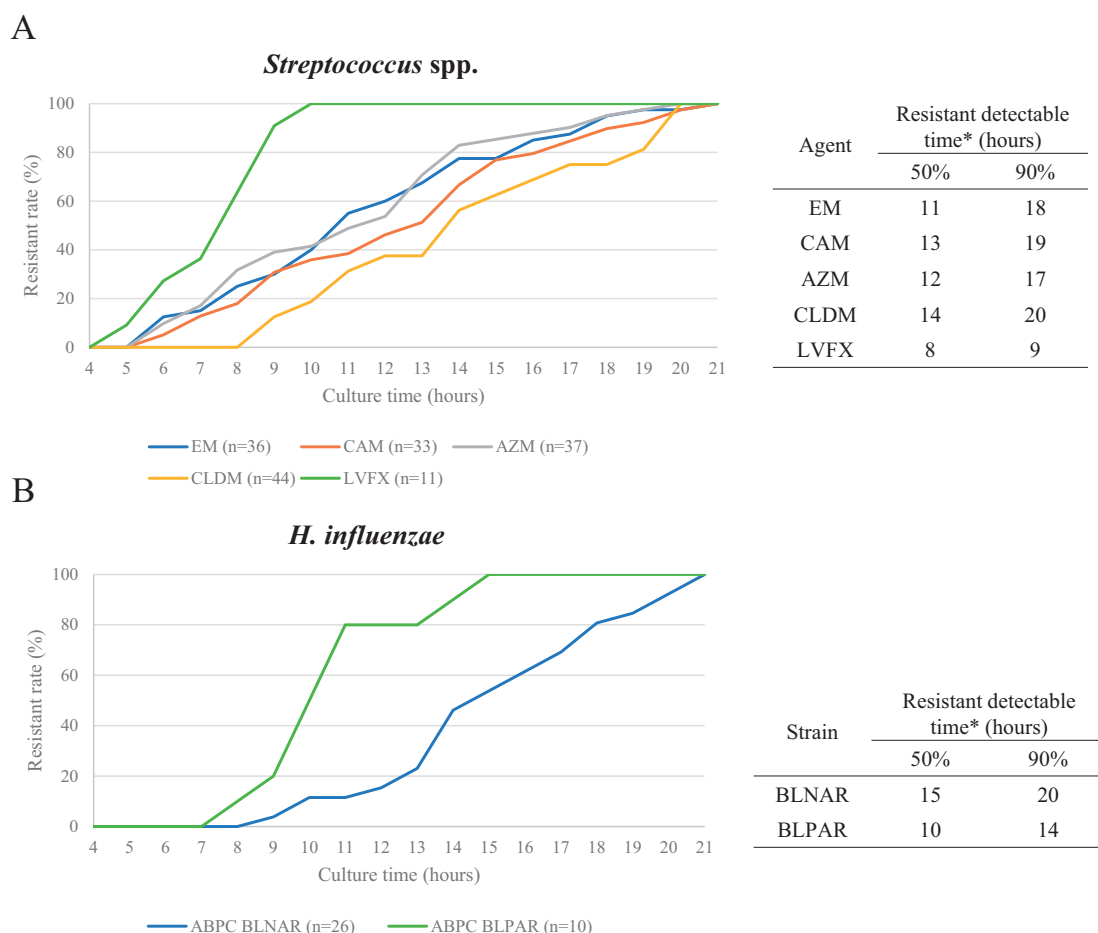


Figure 1. Detectable time for resistant strains

The relationship between culture time and the percentage of strains whose MICs were regarded as “Resistant” by CLSI 34th Edition. In *Streptococcus* spp., the resistances to LVFX and macrolides were confirmed at 5 and 6 h of incubation, respectively. The resistance of *Streptococcus* spp. to LVFX appeared earlier than other agents. The detection time for 90% of resistant strains was over 17 h in macrolides, 20 h in CLDM and 9 h in LVFX (A).

In BLNAR (including BLPACR), the resistance to ABPC appeared at 9 h. BLPAR strains showed resistance to ABPC at 8 h. The resistance to ABPC appeared earlier in BLPAR compared with BLNAR. The detection time for 90% of resistant strains was over 20 h for BLNAR and 14 h for BLPAR (B).

\*The time when 50% or 90% of strains showed resistance to each agent.

率が90%以上である、MEの割合が3%未満である、発育不良株数が被検菌株の10%未満である事などを求めている<sup>6)</sup>。VMEの評価基準は、検証に用いた耐性株の数に左右され、少なくとも48株の耐性株が必要であると定めている。FDAが公開している検証データによると、目的の薬剤に対し耐性を示す菌が48株の場合、許容されるVMEは0% (95%信頼区間：0.00～7.40%)である<sup>6)</sup>。本検討で使用した*Streptococcus*属及び*H. influenzae*はいずれの薬剤においても耐性を示す株が少なく、多いもので47株であった (Table 2)。しかし、特に*H. influenzae*のS/AにおいてはVMEの割合が21.9%と、48株における95%信頼区間7.40%を超える結果であり、今後の課題である。

マクロライド系抗菌薬及びキノロン系抗菌薬は、βラクタム系抗菌薬禁忌患者やペニシリン耐性*Streptococcus*属感染症の治療においてキードラッグであるが、近年耐性化が進み問題となっている<sup>7)～9)</sup>。そのため、これら抗菌薬のMICが早

期に判明することは耐性菌発生予防や治療において非常に意義が高いと考えられる。今回の検討において、*Streptococcus*属のマクロライド系抗菌薬の耐性は培養開始から最短6時間、LVFX耐性は最短5時間で検出が可能であった。一方、90%以上の株が耐性を示すにはマクロライド系抗菌薬で17時間以上、CLDMで20時間、LVFXで9時間要することが確認された (Figure 1A)。*H. influenzae*においては、BLPAR株のABPC耐性がBLNAR株及びBLPACR株のABPC耐性と比較し、僅かに早く検出可能であった。ABPC及びA/Cは*H. influenzae*の耐性分類を決定する上で重要な薬剤であり、DPS192iXによる経時的なMIC測定とβラクタマーゼ試験とを同時に評価することで、検査時間の短縮に貢献できると考えられる。しかし、BLNAR株の90%以上は培養20時間以降にABPC耐性が出現することが確認され (Figure 1B)、DPS192iXによる*Streptococcus*属及び*H. influenzae*におけるMICの経時的測定は一部の耐性株においては有用



である可能性が示唆されたものの、日常検査における“迅速検出”としての使用には課題があり、今後の更なる検討が必要である。

BLNAR はペニシリン結合蛋白 (PBP) 3 をコードする *ftsI* 遺伝子上に生じた変異により、薬剤への親和性が低下することで耐性化することが確認されている。Ubukata ら<sup>10)</sup>は ABPC : 1 µg/mL を示す株には、*ftsI* 遺伝子の Arg-517→His-517 変異あるいは Asn-526→Lys-526 変異のいずれかを有した、いわゆる Low-BLNAR が存在することを報告しており、本検討においては ABPC の MIC  $\geq$  1 µg/mL かつ  $\beta$ ラクタマーゼ陰性株を BLNAR と定義した。これまで CLSI は *H. influenzae* の薬剤感受性試験として、Haemophilus Test Medium Broth (以下 HTM 培地) を使用した方法 (HTM 法) を推奨してきたが、発育性の悪さやそれによる判定の困難さが問題視されていた。一方、日本化学療法学会は HTM 培地のヘマチンの代わりにサプリメントとして馬溶血液を 2~5% 添加した培地を使用することを推奨しており、本方法は HTM 法と比較し、 $\beta$ ラクタム系抗菌薬の MIC が高く出る傾向があったことが報告されている<sup>11)</sup>。すなわち、日本化学療法学会に基づいた薬剤感受性試験の実施が、これまで HTM 法では検出が困難であった ABPC の MIC 1 µg/mL (S) や 2 µg/mL (I) 付近の Low-BLNAR 株の検出に有用であると考えられる。本検討で使用した BLNAR 54 株の内、対照法にて測定された ABPC の MIC が 1 µg/mL 或いは 2 µg/mL であった Low-BLNAR 株は 21 株であった。これら Low-BLNAR における ABPC の MIC 一致率 (1 µg/mL 株は +1 管差, 2 µg/mL 株は -1 管差) は 100% であり、Low-BLNAR の検出においても DPS192iX による MIC 測定は有用であると考えられた。さらに、CLSI においても M100-34th Edition より日本化学療法学会推奨の方法と同様、馬溶血液に NAD が添加されたサプリメントも推奨されるようになった。DPS 192iX を用いた方法は CLSI M100-34th Edition にも準拠した測定方法として使用可能であるとともに、機器による自動判定により検査者間での MIC 判定誤差削減に寄与することが可能となる。

一方、本検討では *H. influenzae* の耐性機序を ABPC の MIC とセフィナーゼディスクによる  $\beta$ ラクタマーゼ試験の結果より判定しており、遺伝子レベルでの耐性機序分類と異なる可能性や、本検討で使用した菌株は多くの薬剤に対し感性であったため、耐性株における DPS192iX の薬剤感受性測定精度が十分評価できていない点については留意すべきである。

本検討により、DPS192iX を用いた *Streptococcus* 属及び *H. influenzae* の薬剤感受性精度は、*H. influenzae* において一部の薬剤で VME がいくつか見られたものの概ね良好であることが確認された。適切な発育閾値の設定や薬剤耐性菌早期検出の実用化に向けては、今後更なる検討が求められる。

利益相反：申告すべき利益相反なし

## 文 献

- 1) 原 祐樹, 浅井幸江, 山田直輝, 他. 2017. 腸内細菌科細菌における迅速薬剤感受性検査に関する基礎的検討. 医学検査 66: 530-537.
- 2) 小林沙織, 中村竜也, 楠木まり, 他. 2017. DPS192iX を使用した Extended Spectrum  $\beta$ -lactamase 産生菌の迅速検出に関する検討. 医学検査 66: 649-655.
- 3) 松本紗也加, 大沼健一郎, 西田全子, 他. 2022. DPS192iX 用プレート EPG1 の薬剤感受性測定精度およびジピコリン酸を用いた metallo- $\beta$ -lactamase 検出精度の評価. 日臨微 32 (4): 238-244.
- 4) Clinical and Laboratory Standards Institute. 2024. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 34 th ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- 5) 下地真里有, 上地幸平, 中野安実, 他. 2023. 微生物感受性分析装置 DPS192iX を用いた *Aerococcus urinae* の薬剤感受性試験の検討. 医学検査 72: 557-561.
- 6) U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Devices and Radiological Health. Class II Special Controls Guidance Document: Antimicrobial Susceptibility Test (AST) Systems (Guidance for Industry and FDA). Center for Devices and Radiological Health.  
<https://www.fda.gov/media/88069/download> 2024 年 8 月 8 日現在.
- 7) Takeuchi, N., M. Ohkusu, T. Hoshino, et al. 2017. Emergence of quinolone-resistant strains in *Streptococcus pneumoniae* isolated from pediatric patients since the approval of oral fluoroquinolones in Japan. J Infect Chemother 23 (4): 218-223.
- 8) Arai, K., Y. Hirakata, H. Yano, et al. 2011. Emergence of fluoroquinolone-resistant *Streptococcus pyogenes* in Japan by a point mutation leading to a new amino acid substitution. J Antimicrob Chemother 66 (3): 494-498.
- 9) Seki, T., K. Kimura, ME. Reid, et al. 2015. High isolation rate of MDR group B streptococci with reduced penicillin susceptibility in Japan. J Antimicrob Chemother 70 (10): 2725-2728.
- 10) Ubukata, K., Y. Shibasaki, K. Yamamoto, et al. 2001. Association of amino acid substitutions in penicillin-binding protein 3 with beta-lactam resistance in beta-lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*. Antimicrob Agents Chemother 45 (6): 1693-1699.
- 11) Yamaguchi, K., Y. Hirakata, I. Kobayashi, et al. 2012. A report from the committee on microbroth dilution antimicrobial susceptibility testing. J Infect Chemother 18: 134-143.

Assessment of DPS192iX for susceptibility testing on both *Streptococcus* spp. and *H. influenzae*

Keisuke Nishikawa<sup>1)</sup>, Kenichiro Ohnuma<sup>1) 2)</sup>, Mari Kusuki<sup>1) 2)</sup>, Nami Ishida<sup>1)</sup>, Saori Kobayashi<sup>1)</sup>, Masako Nishida<sup>1)</sup>,  
Sayaka Matsumoto<sup>1)</sup>, Natsuki Yoshida<sup>1)</sup>, Ryohei Umemoto<sup>1)</sup>, Goh Ohji<sup>1) 2) 3)</sup>, Takayuki Miyara<sup>2)</sup>,  
Takamitsu Imanishi<sup>1)</sup>, Yoshihiko Yano<sup>1) 4)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Clinical Laboratory, Kobe University Hospital

<sup>2)</sup>Department of Infection Prevention and Control, Kobe University Hospital

<sup>3)</sup>Division of Infectious Diseases Therapeutics, Department of Microbiology and Infectious Diseases, Kobe University Graduate School of Medicine

<sup>4)</sup>Division of Gastroenterology, Department of Internal Medicine, Kobe University Graduate School of Medicine

We evaluated the performance of DPS192iX (Eiken Chemical Co., Ltd.), which determines MICs hourly, on both *Streptococcus* spp. and *Haemophilus influenzae*. Sixty-eight *Streptococcus* spp. and seventy-eight *H. influenzae* isolates were used in this study. The concordances (within +/−1 difference in each tube) were ≥97% and ≥90% (except imipenem) on *Streptococcus* spp. and *H. influenzae*, respectively. Conversely, very major errors were observed in some drugs, including A/C and S/A on *H. influenzae*. Moreover, we noted that the resistances to levofloxacin and macrolides of *Streptococcus* spp. were confirmed at 5 and 6 h of incubation, respectively. In *H. influenzae*, the resistance to ampicillin of BLPAR and BLNAR/BLPACR strains was detected at 8 and 9 h of incubation, respectively. The results of this study suggest that susceptibility testing using DPS192iX might contribute to the rapid detection of resistant bacteria.