

国際委員会 2016 January CLSI 報告

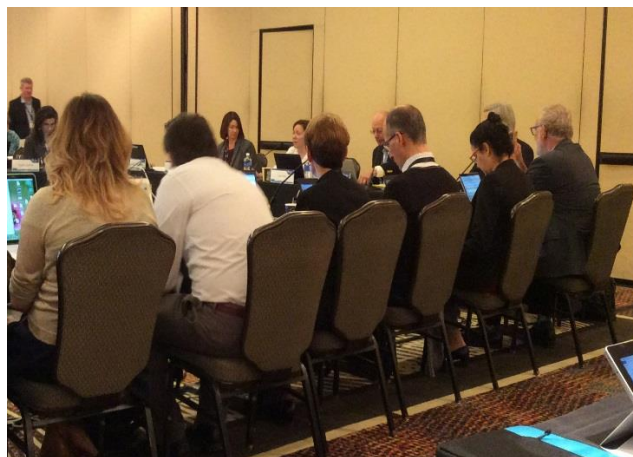
CLSI 9 - 12 January 2016 AST meeting 報告

(2016年1月9日～12日：アリゾナ州テンピ)

館田 一博 (東邦大学), 柳原 克紀 (長崎大学), 大楠 清文 (東京医科大学)

2016年1月9日～1月12日に開催された Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) の Antimicrobial Susceptibility Testing (AST)ミーティングに、本会議から CLSI アドバイザーに就任した館田一博 (東邦大学) と日本臨床微生物学会の国際委員からの派遣で柳原克紀 委員 (東邦大学) および大楠清文 委員 (東京医科大学) が参加した。3日間にわたるプレゼンテーションおよびディスカッションが行われたので、その概要とトピックスをワーキンググループ別に報告したい。なお、今回の会議で議論された事項は2016年6月のASTミーティングまで正式な決定ではなく、最終的な承認の内容はパブリックコメントを受けた上で2016年6月開催のCLSI会議で公表される予定である。

最初に、会議の進行役 Dr. Patel の冒頭の挨拶において、この度、館田一博 先生 (日本) が CLSI アドバイザーに就任した旨、紹介された。



次に、CLSI事務局の Mr. Fine が CLSI Update と題して、さらなる業務の効率化を図るために2名の事務職員を採用したこと、サービス向上のために毎年改訂される M100 のドキュメントを無料公開することを発表した。したがって、M100 のドキュメントの最新バージョン (M100-S26) は以下のサイトにアクセスすれば誰もが無料で閲覧できる。

<http://em100.edaptivedocs.com/GetDoc.aspx?doc=CLSI M100 S26:2016&scope=user>



Text and Tables ワーキンググループ

- Table 2C の comment (14)に以下の文章を追加することが承認された（来年に発刊の M100-S27 で改訂予定）；「For these strains that test *mecA*/PBP 2a negative or cefoxitin susceptible, oxacillin should be reported as susceptible.」この追記の背景には、CNS で *mecA*/PBP 2a が陰性であるにもかかわらず、oxacillin の MIC 値が 0.5 – 2 µg/mL の株をどのように報告するかを明記していなかったためである。

Table 2C. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm)			MIC Interpretive Criteria (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
PENICILLINASE-STABLE PENICILLINS (Continued)									
A	Oxacillin (For <i>S. aureus</i> and <i>S. lugdunensis</i>)	30 µg cefoxitin (surrogate test for oxacillin)	–	–	–	≤2 (oxacillin)	–	≥4 (oxacillin)	For use with <i>S. aureus</i> and <i>S. lugdunensis</i> . (12) Oxacillin disk testing is not reliable. See cefoxitin and comment (5) for reporting oxacillin when testing cefoxitin as a surrogate agent. (13) Cefoxitin is tested as a surrogate for oxacillin; report oxacillin susceptible or resistant based on the cefoxitin result. See comments (5), (8), and (11).
A	Oxacillin (For CoNS except <i>S. lugdunensis</i> and <i>S. pseudintermedius</i>)	30 µg cefoxitin (surrogate test for oxacillin)	–	–	–	≤0.25 (oxacillin)	–	≥0.5 (oxacillin)	For use with CoNS except <i>S. lugdunensis</i> and <i>S. pseudintermedius</i> . (14) Oxacillin MIC interpretive criteria may overcall resistance for some CoNS, because some non- <i>S. epidermidis</i> strains for which the oxacillin MICs are 0.5–2 µg/mL lack <i>mecA</i> . For serious infections with CoNS other than <i>S. epidermidis</i> , testing for <i>mecA</i> or for PBP 2a or with cefoxitin disk diffusion may be appropriate for strains for which the oxacillin MICs are 0.5–2 µg/mL. See comments (5), (8), (11), and (13).
A	Oxacillin (For <i>S. pseudintermedius</i>)	1 µg oxacillin	≥18	–	≤17	≤0.25	–	≥0.5	(15) Neither cefoxitin MIC nor cefoxitin disk tests are reliable for detecting <i>mecA</i> -mediated resistance in <i>S. pseudintermedius</i> .
CEPHEMS (PARENTERAL)									
B	Ceftaroline	30 µg	≥24	21–23	≤20	≤1	2	≥4	(16) For reporting against <i>S. aureus</i> only, including MRSA. (17) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 600 mg every 12 h.

Outreach Ad Hoc ワーキンググループ

- 2016年6月に「One Health – One Medicine – Linking Human, Animal and Environment Health」と題して教育的なワークショップを開催する。
- **CREに関する教育的なツール**を以下のように構築する；Module 1 – Testing, Module 2 – Epidemiology, PowerPoint presentations, Self studies, Journal article.
- 次の将来的な教育ツールとして、**Enterococcus の薬剤感受性試験**を検討する。
- **ケース・スタディー (MRSA と *P. aeruginosa*)**を提供する。
- 現場の臨床検査技師向け (bench techs) に薬剤感受性試験に関する参考資料を提供できないか検討する (例えば, 薬剤, その作用機序, 耐性メカニズムなど)。このガイド作成のために皆さんのご意見を伺いたい。

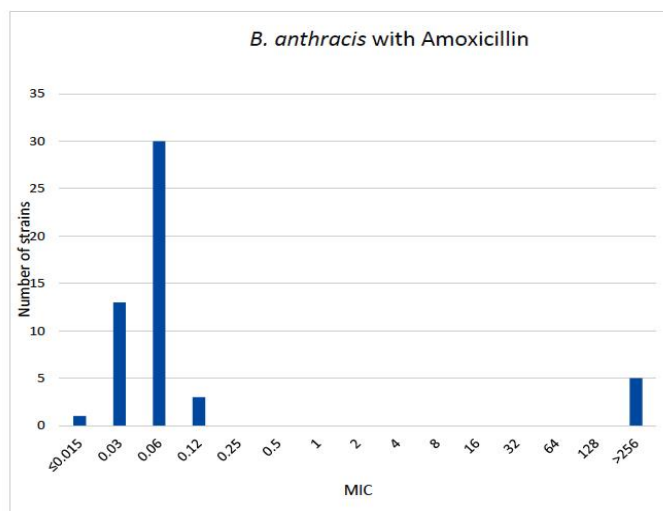
Breakpoint ワーキンググループ

1) Colistin/Polymyxin B Detection Ad Hoc WG

- 前回の CLSI 会議で **Colistin** のブレイクポイント決定について, CLSI と EUCAST とのコラボレーションが必要であることが決議されていた。その後, EUCAST では *Pseudomonas aeruginosa* と *Acinetobacter* spp. の colistin に対するブレイクポイントについて $\leq 2 \mu\text{g/mL}$ を sensitive (S), $> 2 \mu\text{g/mL}$ を resistant (R) と決定した。このブレイクポイントを勘案して, **CLSI では, $\leq 2 \mu\text{g/mL}$ を sensitive (S), $\geq 4 \mu\text{g/mL}$ を resistant (R) との提案がなされ, 承認された。** 議論のなかで, 当初は *Acinetobacter* spp. のみこの基準を適用したいとのことであったが, 最終的には *Pseudomonas aeruginosa* と *Acinetobacter* spp. の双方でこの基準を適用することが決定された。

2) *B. anthracis*/Penicillin Ad Hoc WG

- **炭疽菌の Amoxicillin に対するブレイクポイントは, $\leq 0.12 \mu\text{g/mL}$ を sensitive (S) とすることが承認された。**



3) Gonorrhea Ad Hoc WG

- CDC の Dr. Papp が、近年、淋菌の薬剤耐性化が世界的な脅威となっているなか、淋菌の各種薬剤（azithromycin, cefixime, ceftriaxone, and ciprofloxacin）に対するブレイクポイントにおいて、CLSI と EUCAST とのハーモナイゼーションが必要であることや ECV (Epidemiological Cut-off Values) の設定が喫緊の課題であるとのプレゼンテーションを行った。CLSI と EUCAST とのブレイクポイントの比較および ECV 提案のスライドを以下に示す。なお、今回の会議では提案のみで決議事項はなかった。

Antimicrobial Agent	CLSI Breakpoint	EUCAST Breakpoint	Proposed ECV
Azithromycin	None published	S \leq 0.25 R $>$ 0.5	\leq 1.0
Cefixime	S \leq 0.25	S \leq 0.125 R $>$ 0.125	\leq 0.125
Ceftriaxone	S \leq 0.25	S \leq 0.125 R $>$ 0.125	\leq 0.125
Ciprofloxacin	S \leq 0.06 I 0.12-0.5 R \geq 1.0	S \leq 0.03 R $>$ 0.06	\leq 0.06 (no change)

4) Fluoroquinolone/Enterobacteriaceae Ad Hoc WG

- 腸内細菌科細菌のフルオロキノロン薬（ciprofloxacin, levofloxacin, moxifloxacin）に対するブレイクポイントが CLSI, 米国 FDA, EUCAS, USCAST で異なっているため、今後のハーモナイゼーションが必要であることが議論された。その MIC ブレイクポイント値の比較表が会議で示されたので以下に掲載する（プレゼンテーションの写真撮影のため画像のひずみをご容赦願いたい）。ここで、CLSI が設定しているブレイクポイント（levofloxacin）が高すぎるのではないかとの論文も紹介され、今後、本 WG で検討が必要であると報告された。なお、この論文は以下のサイトからダウンロード（PDF）できる。

<http://aac.asm.org/content/53/3/1074.full.pdf+html?sid=0f17c22b-21d2-4b95-aa06-b956c619f50f>

MIC breakpoints in µg/mL by criteria organization Susceptible/Resistant: Enterobacteriaceae¹

	CLSIa	USA-FDA	EUCASTb	USCAST
Ciprofloxacin	≤1 / ≥4	≤1 / ≥4c	≤0.5 / >1	≤0.25 / ≥1
Levofloxacin	≤2 / ≥8	≤2 / ≥8d	≤1 / >2	≤0.5 / ≥2
Moxifloxacin	-	≤2 / ≥8e	≤0.5 / >1	≤0.25 / ≥0.5

5) Fluoroquinolone/Salmonella Ad Hoc WG

- サルモネラ属菌のフルオロキノロン耐性試験としてナリジクス酸は信頼性が低いこと、pefloxacin (5µg ディスク) によるスクリーニング試験では aac(6)-Ib-cr 遺伝子保有のフルオロキノロン耐性株の検出が困難であることを Table 2A に明記することが示された。その議論の元になった2つの論文は、以下のサイトからPDFをダウンロードして頂きたい。

<http://jcm.asm.org/content/53/11/3411.full.pdf+html>

<http://jcm.asm.org/content/53/11/3411.full.pdf+html>

Table 2A-1. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm)				MIC Interpretive Criteria (µg/mL)				Comments
			S	SDD	I	R	S	SDD	I	R	
QUINOLONES AND FLUOROQUINOLONES for <i>Salmonella</i> spp. (Please refer to Glossary I.)											
(35) For testing and reporting of <i>Salmonella</i> spp. (including <i>S. Typhi</i> and <i>S. Paratyphi</i> A–C). Routine susceptibility testing is not indicated for nontyphoidal <i>Salmonella</i> spp. isolated from intestinal sources. See comment (2).											
(36) The preferred test for assessing fluoroquinolone susceptibility or resistance in <i>Salmonella</i> spp. is a ciprofloxacin MIC test. A levofloxacin or an ofloxacin MIC test can be performed if either agent respectively is the fluoroquinolone of choice in a specific region. Alternative tests as described below can be used with an understanding of their limitations.											
B B O	Ciprofloxacin Levofloxacin Ofloxacin	5 µg	≥31	–	21–30	≤20	≤0.06	–	0.12–0.5	≥1	(36,37) Strains of <i>Salmonella</i> spp. that test non-susceptible, resistant or intermediate to ciprofloxacin, levofloxacin, or ofloxacin, pefloxacin-as-nalidixic-acid, may could be associated with clinical failure or delayed response in fluoroquinolone-treated patients with salmonellosis. If an isolate of <i>Salmonella</i> spp. is resistant or intermediate to one of these fluoroquinolones, it should be considered resistant to all fluoroquinolones. (38) A ciprofloxacin 5 µg disk may not reliably detect all low-level resistance in <i>Salmonella</i> spp.
		–	–	–	–	≤0.12	–	0.25–1	≥2		
		–	–	–	–	≤0.12	–	0.25–1	≥2		
O	Nalidixic acid (surrogate test for ciprofloxacin)	30 µg	≥19	–	44–48	≤42	≤16	–	–	≥32	See comments (36) and (37).
Inv.	Pefloxacin (surrogate test for ciprofloxacin)	5 µg	≥24	–	–	≤23	–	–	–	–	(39) Some isolates of <i>Salmonella</i> spp. may test false susceptible or false resistant to nalidixic acid. Therefore, a nalidixic acid test should not be performed unless no other testing alternatives are available. (40) If pefloxacin is tested, report as fluoroquinolone susceptible or resistant based on the pefloxacin result. (41) Pefloxacin will not detect fluoroquinolone resistance in <i>Salmonella</i> spp. mediated by aac(6)-Ib-cr (37) If a ciprofloxacin, levofloxacin, or ofloxacin MIC test cannot be done, pefloxacin-disk-diffusion may be used as a surrogate test. Because pefloxacin is not available in the United States, a ciprofloxacin

6) Viridans Streptococci/Penicillin Reporting for Endocarditis proposal

- Viridans と bovis グループの streptococci (VBGS)による感染性心内膜炎の治療において、penicillin の MIC 値が $> 0.12 \mu\text{g/mL}$ 場合には gentamicin との併用療法が望ましいとガイドライン (American Heart Association ; AHA および European Society of Cardiology ;ESC)に示されている。この penicillin の MIC 値が $0.125 \mu\text{g/mL}$ と報告されたために、臨床医が gentamicin との併用療法の基準値である $0.12 \mu\text{g/mL}$ を超えていると判断して 8 例中 5 例で併用治療されていたことが問題 (不要な gentamicin の投与がなされた) として提議された (論文 CID レター ; <http://cid.oxfordjournals.org/content/62/2/264.extract>)。すなわち、検査室からは MIC 値の測定上そのまま小数点 3 桁までの報告を行っているが、臨床側は小数点 2 桁までの 0.12 とは異なる (0.12 より大きい) との誤解を招いてしまったことが問題であるので、penicillin の MIC 値測定を $0.125 \mu\text{g/mL}$ で行っても、 $0.12 \mu\text{g/mL}$ と報告すべきだと提案され、これが承認された。

なお、この問題提議が行われた上記の論文タイトル「The Devil is in the Details」(直訳 ; 悪魔は詳細のなかに) は、検査室が測定結果を詳細に報告しても臨床医がその報告の意味を本当に理解していなければ、真に患者の治療に活かされないとの教訓を提示したものと考えられる。やはり、検査室と臨床の緊密なコラボレーションが何より重要であることを再認識させる出来事ではないだろうか。

Methods Application & Interpretation ワーキンググループ

1) Molecular Detection of AR Ad Hoc WG

前々回の CLSI 会議で新規に立ち上げられた遺伝子検査による耐性菌検出に関するワーキンググループである。前回の会議では、FDA で認可された機器・試薬のみを扱うことやメチシリン耐性 *S. aureus*、バンコマイシン耐性 enterococci, ESBL, カルバペネム耐性 Enterobacteriaceae の検出について検討を行うことが決定された。この決議を受け、今回の会議では、具体的に耐性のターゲット遺伝子、検出法、検体種別、結果(遺伝子型と表現型の組み合わせ)、両者の結果が異なった際の解釈、そして最終的に考慮すべきことや報告について、一覧表が提示された。これらの表を PDF で添付するので参考にして頂きたい。おおむね、そのまま採用されるが、表現や言葉が一部変更となるようである。最終版は次回の会議で提示され、審議される予定である。

2) Intrinsic Resistance Ad Hoc WG

- *Morganella morganii* の Intrinsic Resistance として tetracycline を掲載すべきか否かについて議論された。その結果、tigecycline を除いて、*Morganella morganii* の Intrinsic Resistance の表から tetracycline を削除することが承認された。

3) Table 1 Ad Hoc Working Group

- Table 1 B の *Haemophilus* に関するコメントとして、「髄液から分離された *H. influenzae* に関しては、ampicillin や第三世代セフェム薬、そして meropenem の薬剤感受性試験結果を報告する」に変更された。なお、chloramphenicol はこの文中から削除された。

- Table 1A の *Haemophilus influenzae* & *H. parainfluenzae* に関して, **Trimethoprim-sulfamethoxazole** を Group A から Group C へ移動する.
- 同じく, **Ciprofloxacin or levofloxacin or moxifloxacin** を Group C から Group B へ移動する. なお, **cefuroxime** (Group B) と **Gemifloxacin** (Group C) は表から削除する.

4) Anaerobe Ad Hoc Working Group

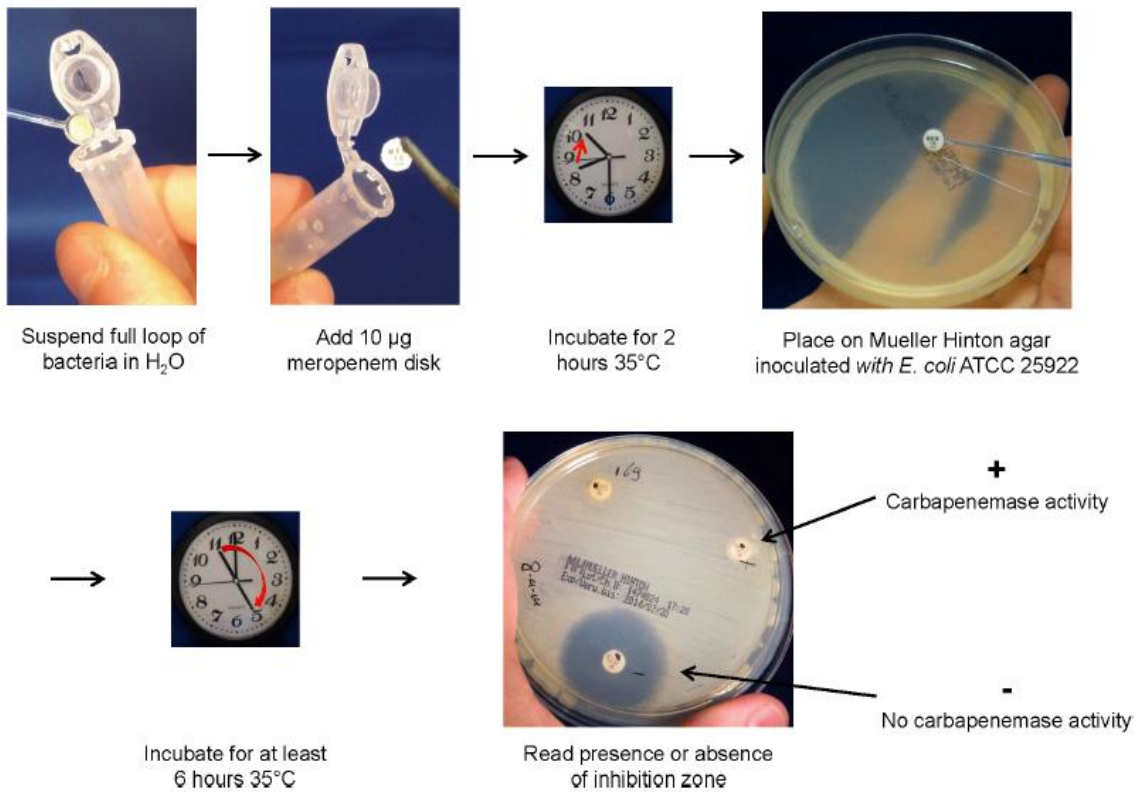
- 嫌気性グラム陽性菌に対する ECV (Epidemiological Cut-off Values)の設定についてデータ収集を行い, 次回の CLSI 会議で検討する.
- *C. difficile* の薬剤感受性試験で微量液体希釈法について検討を行ったが, 寒天平板希釈法と比較して薬剤の種類にもよるが 1-3 管低かったと報告された. したがって, 微量液体希釈法による薬剤感受性試験は *B. fragilis* group のみの推奨を継続せざるを得ない.
- M11-A8 改訂に向けて, 次回の CLSI 会議に変更内容を提示する.
- 嫌気性グラム陰性桿菌に対するブレイクポイントが CLSI と EUCAST で異なることが一覧表として提示され, 特に Piperacillin-tazobactam, Ertapenem, Metronidazole について Breakpoint ワーキンググループとの検討が必要であることが確認された.

CLSI vs EUCAST Breakpoints for Gram-negative anaerobes

Antimicrobial Agent	<u>S-I-R</u>	
	CLSI ¹	EUCAST ²
Ampicillin - sulbactam	8 - 16 - 32	4 - 8 - 16
Piperacillin-tazobactam	32 - 64 - 128	8 - 16 - 32
Imipenem	4 - 8 - 16	2 - 8 - 16
Ertapenem	4 - 8 - 16	1 ----- 2
Metronidazole	8 - 16 - 32	4 -----8
Moxifloxacin	2 - 4 - 8	NA
Clindamycin	2 - 4 - 8	4 -----8
Tigecycline (FDA)	4 - 8 - 16	NA
Chloramphenicol	8 - 16 - 32	8 -----16

5) New Phenotypic Method

- カルバペネマーゼ産生グラム陰性桿菌の新たな検出法として, **Carbapenemase Inactivation Method (CIM)** test が提案された. 本法は Zwaluw らが PLoS One. 2015;10 (3) e0123690 で発表した方法であることが紹介された. なお, この論文は以下のアドレスからダウンロードできる ; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4370852/pdf/pone.0123690.pdf>
- 本法の操作法とデータが発表され, CLSI で今後, 検討・評価に値することが承認された.
- 具体的な操作法は以下のシェーマを参考にして頂きたい (上記の論文から引用).



- 本法の利点として、特殊な試薬や器具を用いないため、どの検査室でも安価で簡単に検査できること、1枚のプレートで8菌株をテストできること、カルバペネマーゼ産生グラム陰性桿菌の検出感度が99%であったことなどが紹介された（下記 Figure 1 と Table 1.を参照）。

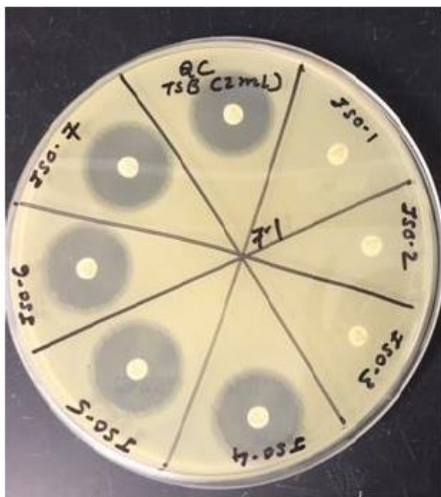


Figure 1. Meropenem disks (10µg) that have been previously incubated with test isolates in 2ml TSB broth for 4 hours were placed on Mueller Hinton Agar plates containing a lawn culture of the indicator organism (*E. coli* ATCC 25922). After overnight incubation, zone diameters measured, ISO-1, ISO-2 and ISO-3 are identified as carbapenemase producer since the disks show no zone around the indicator organism

Table 1. Sensitivity and Specificity of the Modified CIM test.

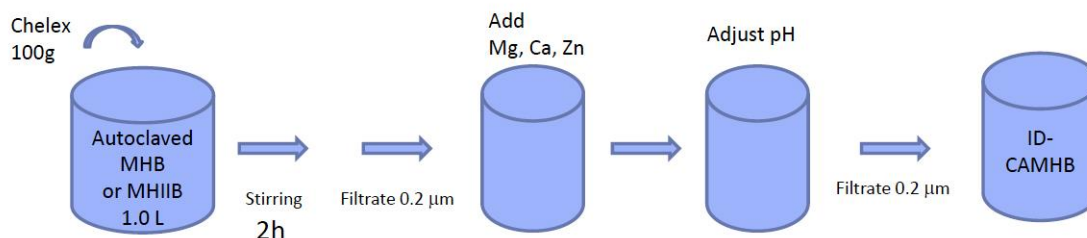
PCR Test Results	Modified CIM Test Results		
	Positive	Negative	Totals
Carbapenemase-Positive	110	1	111
Carbapenemase-Negative	2	29	31
Totals	112	30	142

Methods Development & Standardization ワーキンググループ

- 前回の会議において、塩野義製薬で開発された新規抗菌薬 S-69266 (siderophore cephalosporin)の薬剤感受性試験に関して、本薬剤の作用メカニズムを考慮して通常の CAMHB ではなく、鉄制限下の培地 (cation-binding resin treated MHB) を用いることを承認された。今回の会議では、この微量液体希釈法で用いる**鉄制限下の陽イオン調整ミュラーヒントン培地 ; Iron-depleted cation-adjusted Mueller Hinton Broth (ID-CAMHB)** の作製方法が以下のように提案され、承認された。今後、各 QC 株に対する QC range を設定すること、各 QC 株での MIC 値の再現性を確認する。また、適切な MIC 値 エンドポイントを判定するために、特に Trailing 現象を示す *Acinetobacter* 属の菌株では具体的な例を画像で示すことになった。

Outline of detailed method:

1. Autoclaved MHB or MHIIB return to room temperature
2. Add 100 g Chelex (Bio-Rad) to 1 L of autoclaved MHB or MHIIB
3. Stir at room temperature for approximately 2 hours
4. Filter using 0.2 μm filter
5. Adjust pH to approximately 7.3 by using HCl
6. Add Ca^{2+} (final: 20 - 25 mg/mL), Mg^{2+} (final: 10 - 12.5 mg/mL) and Zn^{2+} (final: 0.5-1.0 mg/mL).
7. Confirm that pH is 7.2-7.4 (Adjust pH by using HCl if pH is out of range)
8. Filter using 0.2 μm filter

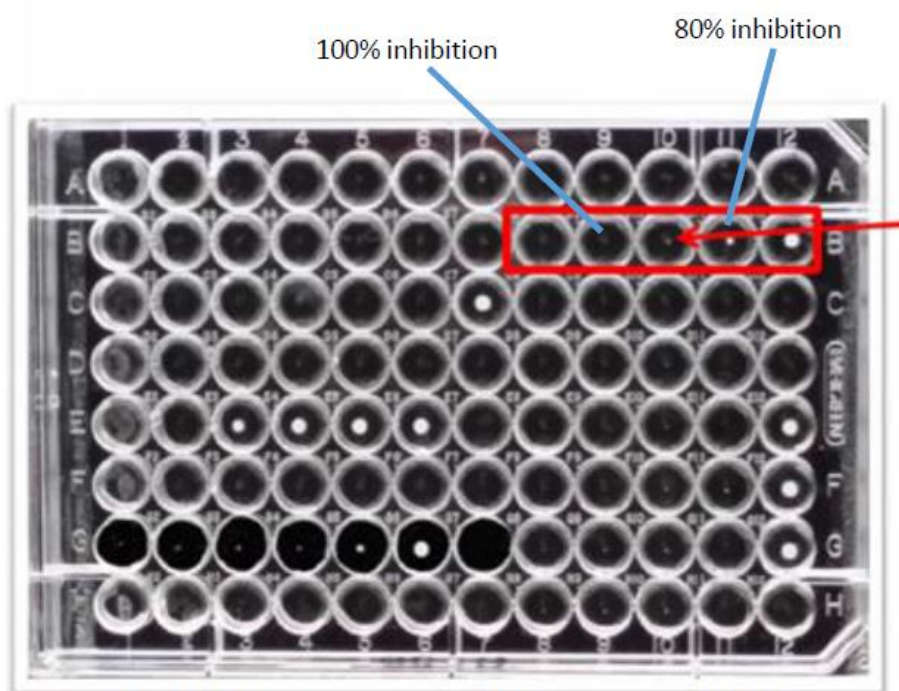


- 前回の会議で **Tedizolid (TZD)** の MIC 値判定時の **Trailing 現象** について M7 および M100 に追記することが承認された。その後、QC 株 *S. aureus* ATCC 29213 (QC range 0.25 - 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を用いて他施設でのサーベイランスを実施した結果、エンドポイントの判定がやはり困難であることが明らかになった。具体的には、下記の表のように、以前は 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と判定した施設が 90%であったが、今回は 1%の施設のみであったことが示された。やはり、Trailing 現象によるエンドポイント判定に個人差が見られることが大きな要因であることから、微少な発育を完全に無視するのか、80%阻止あるいは 100%阻止をエンドポイントとするのかなどをさらに検討して次回の会議で再度、審議することになった。

Tedizolid surveillance: Latin America; central lab read (IHMA): **Retest of subset**
 Original QC: *S. aureus* 29213 MIC = 1 µg/mL; (In range); retest *S. aureus* 29213 MIC = 0.5 µg/mL (in range)

Organism	Value Type	N	<i>S. aureus</i> 29213						
			QC	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2
<i>S. aureus</i>	N	99	1.0			4	5	90	
Original test	Pct					4%	5%	91%	
<i>S. aureus</i> ,	N	99	0.5		1	53	44	1	
Retest	Pct				1%	54%	44%	1%	

- When QC isolate MIC decreased from 1.0 to 0.5 µg/mL, the proportion of isolates at MIC = 1 µg/mL decreased from 90%+ to 1%.
- Clinical database and previous surveillance shows ~99.9% isolates ≤ 0.5 µg/mL



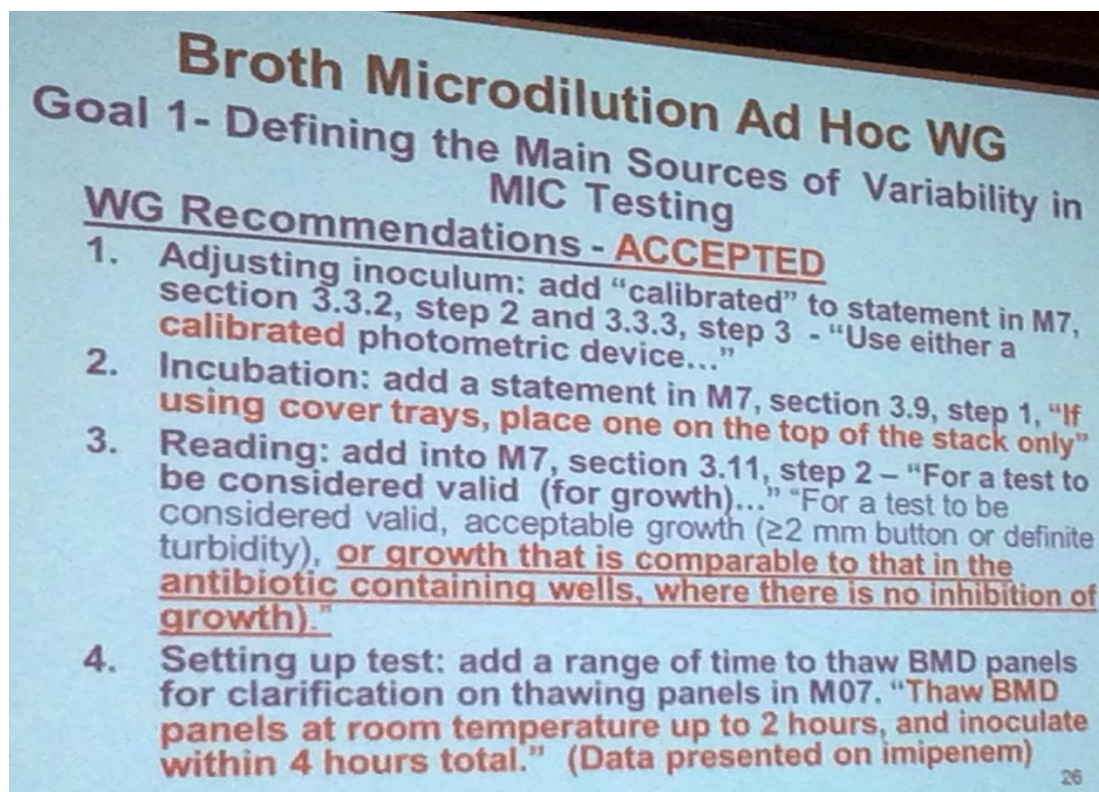
Disk Mass Ad Hoc WG

- 前回の会議において、ディスク法で使用されている薬剤の含有量が CLSI と EUCAST とで異なることが紹介され（以下に再掲）、CLSI でディスク薬剤含有量の変更を行うかについて、1) Better Performance, 2) Standard Disk Content Globally の2つを重点課題として、具体的な細菌と薬剤との組み合わせでデータの比較・検討が実施された。その結果、双方を実現できる可能性がないとの結論に達したため、ディスク薬剤含有量の変更を行うことなく本 Disk Mass Ad Hoc ワーキンググループの役割を終えたことが承認された。

Agent	Disk Mass (mcg)		Relevant Bacteria
	CLSI	EUCAST	
Cefotaxime	30	5	Enterobacteriaceae, Beta strep, Haemophilus
Ceftaroline	30	5	Enterobacteriaceae, Staph, Beta strep & S. pneumoniae
Ceftazidime	30	10	Enterobacteriaceae, P. aeruginosa
Linezolid	30	10	Staph, Beta strep & S. pneumoniae, Enterococcus
Netilmicin	30	10	Enterobacteriaceae, P. aeruginosa, Staph
Nitrofurantoin	300	100	Enterobacteriaceae, Staph, Enterococcus
Penicillin	10	1	Staph, Enterococcus
Piperacillin	100	30	Enterobacteriaceae, P. aeruginosa,
Piperacillin/ Tazobactam	100/10	30/6	Enterobacteriaceae, P. aeruginosa, Haemophilus
Vancomycin	5	30	Beta strep & S. pneumoniae, Enterococcus

微量液体希釈法 Ad Hoc WG

- 前々回および前回の CLSI 会議で報告された 2014 年夏季サーベイ資料の集計結果において、微量液体希釈法(BMD)の施設間によってばらつきが大きかった要因のなかから、以下のような“actionable”な項目のうち具体的に M07 への追記が審議され、1) 菌液 McFarland 0.5 の調整法 (キャリブレーションが実施された濁度計を使用)、2) パネルのインキュベーション (先頭トレイのカバー)、3) Trailing 現象に関する追記、4) BMD 用の凍結パネルの融解時間 (室温での放置時間の制限; 融解は 2 時間以内でインキュベーションまで最大 4 時間以内) について追記文章が以下のように承認された (プレゼンのスライド写真を掲載)。



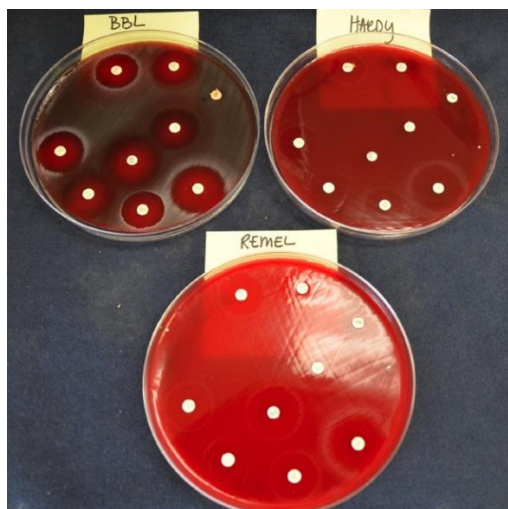
なお、BMD 用の凍結パネルの融解時間について検討は imipenem のデータが以下のように提示された。5 時間以上経過すると 3%以上の不活化が認められたことから、プレートの融解と菌液接種後少なくとも合計 4 時間以内にインキュベーションすることがその根拠となった。

Imipenem concentration expressed as % of target (nominal) concentration
 *Comment: When assaying any drug out of the panel, the concentration may not be exactly 100% of target

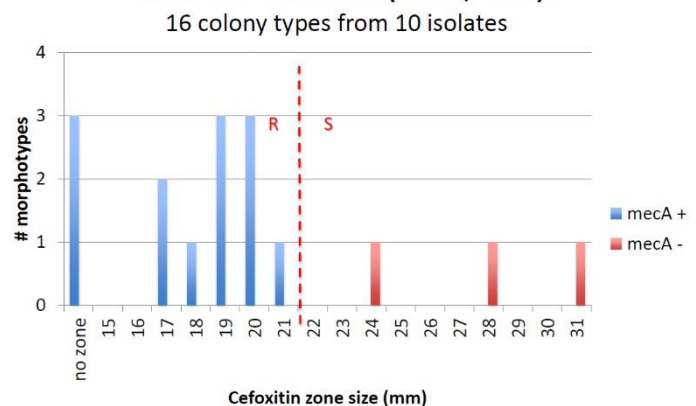
Time in hours	2 mcg/ml	4 mcg/ml
0	94.3*	94.1*
1	93.2	94.6
2	93.1	92.8
3	92.8	92.2
4	92.1	92.1
5	91.0	91.5
6	91.7	90.9
7	91.5	89.4

Atypical *S. aureus* Ad Hoc WG

栄養要求性が変化した、いわゆる small-colony variants (SCV_S)の黄色ブドウ球菌 (atypical *S. aureus*) の薬剤感受性試験をどのように行うかと検討するワーキンググループが立ち上げられ、予備検討の結果が報告された。その結果、1) atypical *S. aureus* は通常のミュラーヒントン培地 (MHA) では発育しないこと、2) 血液追加の BMHA には発育するが培地メーカー (米国で代表的な 3 社) によって発育に大きな違いを認めたこと (下図を参照)、3) MRSA 株と MRSA 株を用いた薬剤感受性試験については発育が良好であった BD 社の BMHA を使用して検討を行った。阻止円の判定を培養 24 時間で行うか、48 時間が望ましいか、さらなる検討が必要であることが示された。今後、これらの追加検討を行い、次回の CLSI 会議で審議することになった。



Results: Prelim studies (UCLA) cefoxitin disk on BMHA (BBL, BD)



Direct Blood Culture AST Ad Hoc WG

本ワーキンググループは前々回の会議で新規に立ち上げられた。前回の会議で、グラム陽性菌 (GPC)とグラム陰性菌 (GNR)に分けて検討を進めていくことが提案された。また、血液培養ボトルの種類が異なる施設において各々検討を実施することが示された。その後、WGでのカンファレンスを行い、まずはグラム陰性菌のディスク法による薬剤感受性試験に関するプロトコールが作成された（本報告の最後にそのドキュメントを添付する）。一方、EUCASTでも具体的な検討は進んでおり、CLSIで提案された方法と以下の2点が異なっていることが紹介された。1) 血液培養液の培地への接種法；CLSI法では培養液4滴を直接培地に滴下して塗布する、EUCAST法では培養液の10倍希釈液を塗布する、2) 培養時間；CLSI法では6～8時間後に判定、EUCAST法では8時間後に判定。これらの違いも踏まえて、今後は他施設での検討を行い（添付のプロトコール参照）、次回のCLSI会議でデータの紹介と審議を行うこととなった。

Quality Control ワーキンググループ

- 新規抗菌薬 **Bis-EDT (Bismuth Ethane Dithiol; Microbion Corporation)** の各 QC 株に対する QC range が微量液体希釈法で以下のように承認された。

Organism	QC Range ($\mu\text{g/mL}$)
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0.12 – 1
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0.5 – 4
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	0.12 – 1
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0.5 – 4
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	0.5 – 4
<i>H. influenzae</i> ATCC 49247	0.015 – 0.06

- Azithromycin** の *Neisseria gonorrhoeae* ATCC 49226 に対する QC range について、ディスク拡散法の生データ（9つの施設）が提示されたが、施設間のデータ変動が大きいことから再度検討して6月のCLSI会議に提出することになった。
- 塩野義製薬で開発された新規抗菌薬 **S-69266** (siderophore cephalosporin)の *E. coli* ATCC 25922 と *P. aeruginosa* ATCC 27853 に対する QC range について、ディスク拡散法の生データが提示されたが、培地メーカーとディスクメーカー間のデータ変動が大きいので、再度検討して6月のCLSI会議に提出することになった。

- **Cefepime/tazobactam** (30/20 µg ディスク) の各 QC 株に対する QC range がディスク拡散法で以下のように承認された。

Organism	QC Range (mm)
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	24 – 30
<i>E. coli</i> ATCC 25922	32 – 37
<i>E. coli</i> NCTC 133353	27 – 31
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	27 – 31
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	25 – 30

- 塩野義製薬で開発された新規抗菌薬 **S-69266** (siderophore cephalosporin) の *E. coli* ATCC 25922 と *P. aeruginosa* ATCC 27853 に対する微量液体希釈法の QC range が、以下のように承認された。

Organism	QC Range (µg/mL)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0.06 – 0.5
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	0.06 – 0.5

- 新規抗菌薬 **Gepotidacin** (GSK2140944 ; トポイソメラーゼ阻害薬) の *N. gonorrhoeae* ATCC 49226 に対する QC range が、寒天平板希釈法で 0.25 – 1 µg/mL と承認された。
- 新規抗菌薬 **Debio 1451** (FabI 阻害薬) の *S. aureus* ATCC 25923 に対する QC range が、ディスク拡散法で 30 – 36 mm と承認された。

次回の AST ミーティング

次回の CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) AST (Antimicrobial Susceptibility Test) ミーティングは、2016 年 6 月 5 日～6 月 7 日に、米国カリフォルニア州サンディエゴで開催されることが報告された。

(文責: 大楠清文)