

日本化学療法学会薬剤感受性検査法検討委員会

Lascufloxacin：ディスク拡散法の 精度管理限界値と臨床的ブレイクポイントの設定

日本化学療法学会薬剤感受性検査法検討委員会

委員長 荒岡秀樹*（虎の門病院臨床感染症科）

担当理事 横田伸一（札幌医科大学医学部微生物学講座）

委員 青木弘太郎（東邦大学医学部微生物・感染症学講座）

石井良和（広島大学 IDEC 国際連携機構 PHIS 環境遺伝生態学分野）

加地大樹（君津中央病院医療技術局臨床検査科）

黒川正美（国立国際医療研究センター病院中央検査部門微生物検査室）

佐々木雅一（東邦大学医療センター大森病院臨床検査部微生物検査室）

菅井基行（国立感染症研究所薬剤耐性研究センター）

田中香おり（岐阜大学科学研究基盤センター嫌気性菌研究分野）

中村彰宏（天理大学医療学部臨床検査学科）

御手洗聡（結核予防会結核研究所抗酸菌部）

山本 剛（大阪大学大学院医学系研究科変革的感染制御システム開発学寄附講座）

米谷正太（杏林大学保健学部臨床検査技術学科）

オブザーバー 東條浩幸（栄研化学株式会社研究開発統括部応用技術研究所第二部第二課）

塩沢 剛（栄研化学株式会社研究開発統括部応用技術研究所第二部第二課）

下條誉幸（栄研化学株式会社研究開発統括部応用技術研究所第二部）

要旨

Lascufloxacin (LSFX) は 2020 年に発売されたフルオロキノロン系抗菌薬であるが、本邦でのみ使用されており Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) や European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) では臨床的ブレイクポイントが設定されていない。2023 年 7 月、三学会合同ブレイクポイント臨床応用検討委員会において LSFX の臨床的ブレイクポイント（最小発育阻止濃度：MIC 値）が設定され、報告された。日本化学療法学会薬剤感受性検査法検討委員会では、LSFX のディスク拡散法による薬剤感受性検査運用のための検討を進めてきた。今回、ディスク拡散法における精度管理限界値と、MIC 値との相関性に基づいた臨床的ブレイクポイントを提案する。提案する LSFX ディスク拡散法の臨床的ブレイクポイントは、肺炎（投与量：75/150 mg）の際は 14 mm、慢性気道感染症（150 mg）の際は 17 mm、慢性気道感染症（75 mg）の際は 20 mm である。

Key words: lascufloxacin, disk diffusion method, quality control parameter, breakpoint

*東京都港区虎ノ門 2-2-2

1. 背景と目的

Lascufloxacin (LSFX) は2020年に発売された本邦でのみ使用されているフルオロキノロン系抗菌薬であり、Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) や European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) では臨床的ブレイクポイントが設定されていない。

2023年7月、三学会合同ブレイクポイント臨床応用検討委員会において臨床的ブレイクポイント（最小発育阻止濃度：MIC値）が設定され、報告された¹⁾。

日本化学療法学会薬剤感受性検査法検討委員会では、LSFXのディスク拡散法による薬剤感受性検査についての検討を進めてきた。今回、ディスク拡散法における精度管理限界値と、MIC値との相関性に基づいた臨床的ブレイクポイントを提案する。

2. LSFX：ディスク拡散法による薬剤感受性検査精度管理限界値の検討

2.1. 対象と方法

検討に参加した施設は、本委員会の委員が所属する11施設（東邦大学医学部、東邦大学医療センター大森病院、結核研究所、杏林大学、君津中央病院、虎の門病院、国立国際医療研究センター、札幌医科大学、天理大学、岐阜大学、および大阪大学）と栄研化学の計12施設であった。

対象菌株は、東邦大学から各施設へ基準株 (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Haemophilus influenzae* ATCC 49247, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619) を配布した。

ディスク拡散法においては、LSFXのディスク含有量は10 µgとし、2ロット分を測定へ供した（栄研化学）。寒天平板培地は菌種別に、*E. coli*, *S. aureus*, および *P. aeruginosa* ではポアメディア® ミュラーヒントンス寒天培地（栄研化学）2ロット分、ミュラーヒントンII寒天培地（ベクトン・ディッキンソン, BD）1ロット分の計3種類を、*S. pneumoniae* ではポアメディア® ミュラーヒントンスヒツジ血液寒天培地（栄研化学）2ロット分およびBBL™ TSA II 5%ヒツジ血液寒天培地（BD）1ロット分、および *H. influenzae* ではポアメディア® ヘモフィルステスト寒天培地（栄研化学）2ロット分およびBBL™ ヘモフィルステスト寒天培地（BD）1ロット分を用いた。また、異なる3日で1日あたり2重測定した。よって、各施設で1株あたり2（ディスクロット）*3（培地）*2（組合せあたりの測定数）*3（測定施行日数）=36のデータを得た。寒天培地上の被験菌を滅菌生理食塩水中でマクファアランドNo. 0.5の濁度に調整し、これを滅菌綿棒で寒天培地へ塗布後、ディスクを1枚貼付した。培養条件は、*E. coli*, *S. aureus*, および *P. aeruginosa* は好気条件 35±2℃で16~18時間、*S. pneumoniae* および *H. influenzae* は5% CO₂ 条件下 35±2℃でそれぞれ20~24時間および16~18時間とした。これらの手順はCLSI M02-Ed14²⁾に準拠した。

精度管理限界値は、①得られたヒストグラムで分布を確認し、②中央値と±2 SDを計算し、③-2 SDと+2 SDをそれぞれ四捨五入して設定した。

2.2. 結果

5株のディスク拡散法測定結果を図1に示した。ここから導き出した、本委員会として提案するLSFXのディスク拡散法における精度管理限界値を表1に示した。

2.3. 付記

S. aureus の精度管理限界値の設定は容易ではなかった。同一の基準株と同一ロットの培地および薬剤含有ディスクを12施設へ配布し各施設で測定を行ったところ、阻止円のヒストグラムは三峰性を示した。上下に外れた値が得られたのはそれぞれ1施設ずつで、これら2施設のデータを

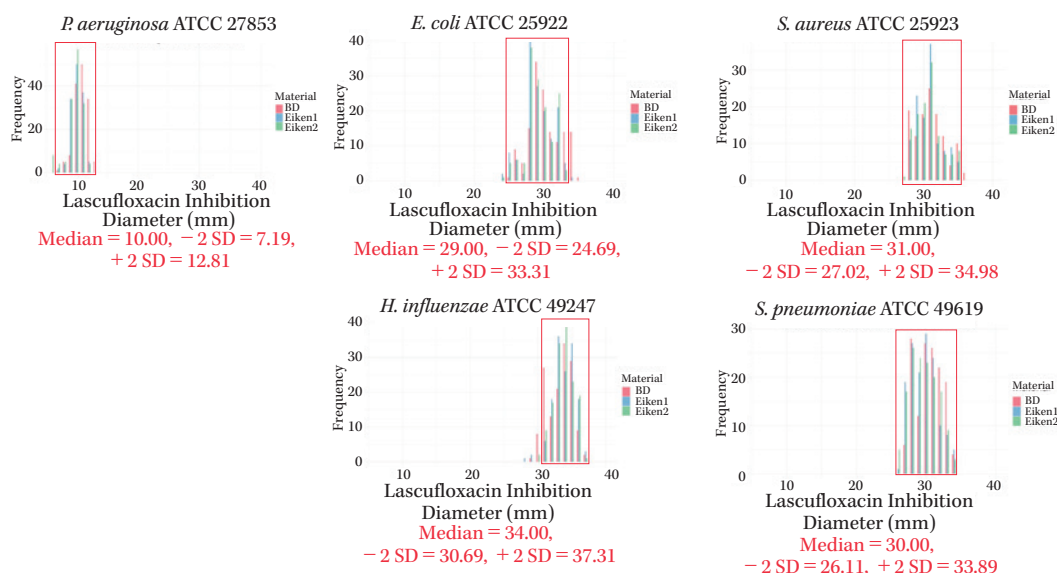


図 1. 5 株のディスク拡散法測定結果と精度管理範囲

表 1. Lascufloxacin のディスク拡散法における精度管理限界値

菌株	- 2 SD (mm)	2 SD (mm)	管理幅 (mm)
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	27	35	8
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	7	13	6
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	26	34	8
<i>E. coli</i> ATCC 25922	25	33	8
<i>H. influenzae</i> ATCC 49247	31	37	6

SD, 標準偏差

外した 10 施設のデータによるヒストグラムは正規分布に近づいた。今回は、*S. aureus* に関してのみ、この 10 施設のデータに基づいて精度管理限界値の設定を行った。上下に外れたデータが得られた測定施設からは、「配布された菌株の阻止円の境界が不明瞭で、判読が難しかった」、「配布された菌株は分離した時点から発育が悪く、阻止円内にも少量のコロニーが生えてきて判読が難しかった」といったコメントがあった。

今回使用した *S. aureus* の基準株の阻止円において境界が不明瞭であったことが、測定値のバラツキの背景にあったことは否定できない。一方で菌株、培地、および薬剤の条件を揃えた試行であったことから、施設間および技師間で目視による読み取り基準について標準化されていないことが一因とも考えられる。

本委員会としてはデータの精査と議論のうえ、外れ値が得られた 2 施設を除外したデータに基づいて *S. aureus* 精度管理株に対する LSFX ディスク拡散法の精度管理限界値を設定することは妥当であるとの結論にいたった。なお、議論の過程では、2 施設を除外することへの反対意見もあった。各施設で今後運用していただき、今回設定した精度管理限界値にご意見がある方は、日本化学療法学会薬剤感受性検査法検討委員会へご連絡いただきたい。

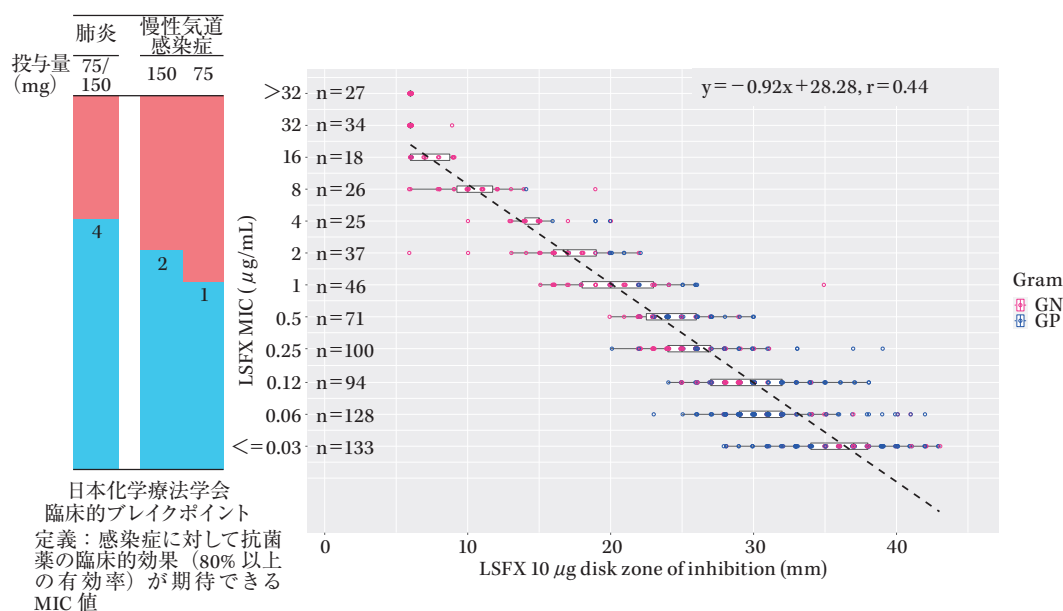


図2. Lascufloxacin の MIC 値とディスク拡散法阻止円径の相関 (n = 739)
GN : Gram-negative bacteria, GP : Gram-positive bacteria

3. LSFx : ディスク拡散法のブレイクポイント設定

3.1. 対象と方法

検討に参加した施設は、2.1. に示した施設と同一の 12 施設であった。

対象菌株は、国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター 薬剤耐性菌バンク (<https://jarbb.jp>) より分与された菌株と、委員所属施設の保存菌株から、LSFX の適応菌種である計 739 株を選定して供した。

ディスク拡散法による薬剤感受性検査は 2.1. に記載した手順のうち、栄研化学の培地 1 ロット分を用いて行った。微量液体希釈法による LSFx の MIC 値の測定には 96 ウェルフォーマットのカスタムフローズンプレート (栄研化学) を用い、測定範囲は 0.03 µg/mL から 32 µg/mL とした。液体培地には菌種別に *E. coli*, *S. aureus*, および *P. aeruginosa* ではミューラーヒントンブイヨン‘栄研’ (栄研化学) を、*S. pneumoniae* および *H. influenzae* では NAD, 酵母エキス, および馬溶血液加ミューラーヒントンブイヨン‘栄研’ (栄研化学) を用いた。寒天培地上の被験菌を滅菌生理食塩水中でマクファーランド No. 1.0 の濁度に調整し、これを 10 倍に希釈後、デスポーザブル 96 ピンプレート (株式会社システム) を用いて 96 ウェルプレートへ接種した。96 ピンプレートによる菌液接種量は約 1.1~1.5 µL であることから、マクファーランド No. 1.0 を約 3.0×10^8 CFU/mL と仮定したときの 1 ウェルに接種される理論的な菌量は約 $3.3 \sim 4.5 \times 10^4$ CFU である。培養条件は、*E. coli*, *S. aureus*, および *P. aeruginosa* は好気条件 $35 \pm 2^\circ\text{C}$ で 16~20 時間、*S. pneumoniae* および *H. influenzae* は好気条件 $35 \pm 2^\circ\text{C}$ で 20~24 時間とした。微量液体希釈法の手順は CLSI M100-Ed34³⁾ に準拠した。

3.2. 結果

図 2 に LSFx の MIC 値とディスク拡散法阻止円径の相関を示した。

これをうけて、ディスク拡散法での臨床的ブレイクポイントを、肺炎 (75/150 mg) の際は 14 mm, 慢性気道感染症 (150 mg) の際は 17 mm, 慢性気道感染症 (75 mg) の際には 20 mm

表 2. Lascufloxacin のディスク拡散法における臨床的ブレイクポイント

疾患	投与量 (mg)	ディスク拡散法 (mm)	MIC ($\mu\text{g/mL}$) *
肺炎	75/150	14	4
慢性気道感染症	150	17	2
	75	20	1

* 参照した臨床的ブレイクポイント (MIC) は文献 1 で設定された値である

と設定した (表 2)。

3.3. 補足説明

微量液体希釈法で測定された MIC 値を解釈するための臨床的ブレイクポイントの定義は、感染症に対して抗菌薬の臨床的効果 (80% 以上の有効率) が期待できる MIC 値とされる⁴⁾。よって、示された臨床的ブレイクポイント以下であれば、感性 (susceptible) と考えられる。

今回、これに対応するディスク拡散法で測定された LSFX 発育阻止円径の臨床的ブレイクポイントを設定した。肺炎の場合 ≥ 14 mm, 慢性気道感染症 (150 mg) の場合 ≥ 17 mm, 慢性気道感染症 (75 mg) の場合 ≥ 20 mm であれば、感性 (susceptible) と考えられる。それぞれ示した基準未満の場合は非感性 (non-susceptible) と考えられる。

4. まとめ

表 1 および表 2 に示したとおり, LSFX ディスク拡散法における精度管理限界値と, MIC 値との相関性に基づいた LSFX ディスク拡散法の臨床的ブレイクポイントを設定した。

5. COI 開示

本委員会での活動は, 下記企業からの試薬・資材の提供を受けて実施されました。

LSFX 原末: 杏林製薬 (株)

薬剤感受性検査のための資材 (フローズンプレート, ディスポーザブル菌液接種器, 寒天培地, LSFX 含有ディスクなど): 栄研化学 (株)

荒岡秀樹は, 塩野義製薬 (株) より講演料を受けている。

石井良和は, (株) 島津製作所の技術アドバイザーとして報酬を受けている。(公財) ルイ・パスツール医学研究センターから奨学 (奨励) 寄附金を受けている。大田区が提供する寄附講座に所属していた。

田中香お里は, 島津ダイアグノスティクス (株) から受託研究費を受けている。

御手洗聡は, 富士フイルム (株), 杏林製薬 (株), 大塚製薬 (株), 日本ベーリンガーインゲルハイム (株), 東ソー (株), 日立造船 (株) および栄研化学 (株) から共同研究費を受けている。

山本 剛は, (株) GramEye より講演料を受けている。

横田伸一, 青木弘太郎, 加地大樹, 黒川正美, 佐々木雅一, 菅井基行, 中村彰宏, 米谷正太は, 申告すべきものなし。

東條浩幸, 塩沢 剛, 下條誉幸は栄研化学 (株) の社員である。

引用文献

- 1) 三学会合同ブレイクポイント臨床応用検討委員会: 呼吸器及び尿路感染症におけるブレイクポイント: 新規抗菌薬の追加 (2023)。日化療会誌 2023; 71: 349-51.

- 2) Clinical and Laboratory Standards Institute: CLSI M02. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard, 14th ed., Wayne, Pa. 2024.
- 3) Clinical and Laboratory Standards Institute: CLSI M100. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 34th ed., Wayne, Pa. 2024.
- 4) 日本化学療法学会抗菌薬感受性測定法検討委員会：呼吸器感染症および敗血症におけるブレイクポイント。日化療会誌 1994; 42: 905-14.