

本CUSTOMER INFORMATION SHEET-1では、薬剤感受性試験用 Etest[®] ダプトマイシンDPC (以下、Etest ダプトマイシン)の使用方法和ミュラーヒントン寒天培地(以下、MHA培地)中のカルシウム濃度の影響をご紹介します。

1. Etest ダプトマイシン 使用方法

- ① 生理食塩水を用いて接種菌液を準備し、菌液濃度が0.5 McFになるように調整し、必ず、0.5 McFを超えていない事を確認して下さい。過剰接種を避けるために塗布前に、スワブから余分な菌液を絞り取して下さい。過剰接種した場合、被検菌がストリップに沿って発育し、間違った高いMIC値を示す場合があります。
- ② 適切なカルシウム濃度(25 - 40 µg/mL)を一定に含むMHA培地のみを使用して下さい。
- ③ *Enterococcus faecalis* ATCC[®] 29212 (1 - 4 µg/mL)と *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (0.25 - 1 µg/mL) **両方**を用いて精度管理を実施して下さい。2菌種を精度管理に用いることによって、感性の結果やブレイクポイント付近のMIC値の結果を確認することを可能にします。精度管理の結果が限界値の範囲外である場合及び精度管理限界値の上限或いは下限周辺で発育阻止円が歪んでいる場合には、異なる製造元のMHA培地を用いて再度精度管理試験を実施して下さい。ただし、*S. aureus* ATCC 29213の精度管理結果については、トラブルシューティングセクションを参照して下さい。
- ④ 様々なエンドポイントパターンの発育阻止円が見られますが、Etest Reading Guideを参照して適切に結果の読み取りを実施して下さい。Etestダプトマイシンを用いてMRSAに対するダプトマイシンのMIC値を測定した場合の例をFigure 1-4に示しています。

※ 注意) ダプトマイシンに対するカルシウム濃度の影響

ダプトマイシンが適切に作用するには、生理的濃度の遊離カルシウム(Ca²⁺)を必要とします。

CLSIでは、微量液体希釈法(以下、BMD法)において、最終濃度が50 µg/mLのカルシウムを含むMHA培地を使用することを定義しています。Etestは、ダプトマイシンの感受性試験に関してFDAで承認されている唯一の寒天培地を用いた方法です。Etestダプトマイシンでは、40 µg/mLのカルシウム層の上にダプトマイシンが0.016 - 256 µg/mLの濃度勾配になるようにコーティングされています。従って、通常のMHA培地を使用することができます。

EtestダプトマイシンとBMD法の比較検討により、25 - 40 µg/mLのカルシウムを含むMHA培地がEtestダプトマイシンの使用に適しているということが確認されています。生物学的に利用可能な遊離カルシウム濃度は、MHA粉末及び市販のMHA培地のブランド及びロット毎で異なっており、その差がEtest ダプトマイシンの試験結果に影響を及ぼす可能性があるため、MHA培地のロット毎に精度管理を実施して下さい。

2. Etest ダプトマイシン 結果の読み取り

明瞭なエンドポイントの場合、発育阻止円がストリップと交わるMIC値を読み取ります。その他のエンドポイントパターンが見られた場合には、下記に従って読み取って下さい。

細長い楕円：細長い楕円状になっている発育阻止円の先端のMIC値を読み取ります。(Figure 1)

ディップ：溝の下部のMIC値を読み取ります。(Figure 2)

トレーリング：もややマイクロコロニーの発育が阻止されているMIC値を読み取ります。(Figure 3)

マイクロコロニー：マイクロコロニーの発育が阻止されているMIC値を読み取ります。(Figure 4)

MRSAを用いたEtest ダプトマイシンでのMIC値(µg/mL)例



Figure 1
S. aureus ATCC[®] 29213
MIC値 = 0.25

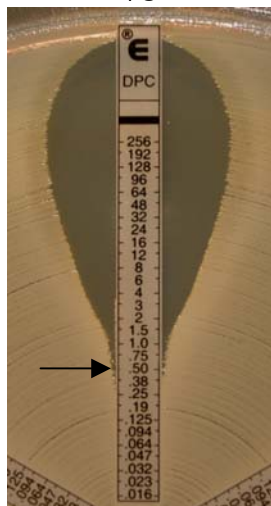


Figure 2
S. aureus MRSA 1795
MIC値 = 0.5

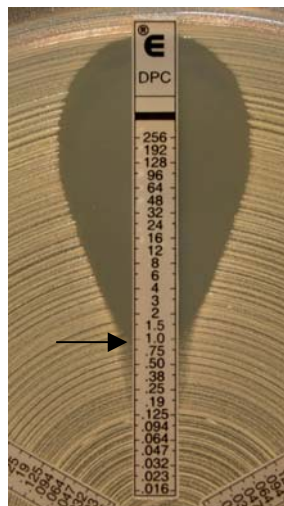


Figure 3
S. aureus MRSA 1832
MIC値 = 1

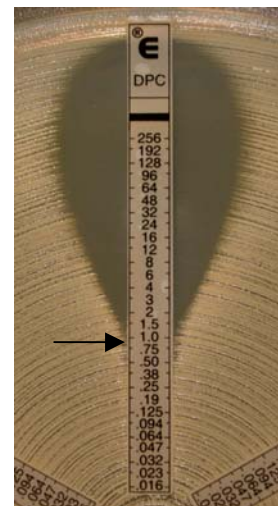


Figure 4
S. aureus MRSA 1800
MIC値 = 1

3. Etest[®] ダプトマイシン トラブルシューティング

- ① MIC値が $>1 \mu\text{g}/\text{mL}$ であった場合、使用中のMHA培地とは異なる製造元のMHA培地を用いて再試験を実施して下さい。
- ② 接種菌が培地表面全体に適度に発育するように菌液量を調整して下さい。過剰な発育が確認された場合には、再試験を実施して下さい。
- ③ Etest ダプトマイシン 結果の読み取りセクション(Figure 1 - 4)を参照し、結果の読み取りを実施して下さい。
- ④ 精度管理と結果のモニタリングを実施して下さい：
 - I) 精度管理結果及び臨床試験での結果をモニタリングすることによって、MIC値とカテゴリ判定の傾向や変化の状況を早期に捉える事ができます。
 - A. MIC値が上昇傾向の場合、下記の可能性が考えられます。
 - ① MHA培地中のカルシウム濃度が低すぎる。
 - ② 寒天培地が厚すぎる。(培地が4.5 mmよりも厚い)
 - ③ 接種菌量が過剰である。
 - ④ エンドポイントの読み取りが不適切である。
 - B. MIC値が下降傾向の場合、下記の可能性が考えられます。
 - ① MHA培地中のカルシウム濃度が高すぎる。
 - ② 寒天培地が薄すぎる。(培地が3.5 mmよりも薄い)
 - ③ 接種菌量が少なすぎる。
 - II) *S. aureus* ATCC[®] 29213を用いた精度管理結果範囲は $0.25 - 1 \mu\text{g}/\text{mL}$ と定義されていますが、 $0.25 \mu\text{g}/\text{mL}$ 前後の結果となる傾向があります。
- ⑤ 保存温度($-22 \sim -18^{\circ}\text{C}$)を守って保存して下さい。

4. Etest ダプトマイシン 製品情報

品目コード	統一商品コード	品名	化学療法学会略号	MIC測定範囲($\mu\text{g}/\text{mL}$)	包装
535000	585005056	Etest ダプトマイシン DPC	DAP	0.016-256	30枚
535008	585005506	Etest ダプトマイシン DPC	DAP	0.016-256	100枚

※ 自己認証番号: 13A2X00243000031

— $22 \sim -18^{\circ}\text{C}$ で保管して下さい。

5. 参考文献

1. Pfaller, MA. *et al.* (2007). Evaluation of the *in vitro* activity of daptomycin against 19,615 clinical isolates of Gram positive cocci collected in North American Hospitals (2002-2005). *DMID*. **57**(4): 459-465.
2. Huang, Y-T. *et al.* (2007). Daptomycin susceptibility of unusual Gram positive bacteria: comparison of results obtained by Etest and the broth microdilution method. *AAC*. **51**(4): 1570-1572.
3. Sader, H. *et al.* (2006). Antimicrobial susceptibility of Gram positive bacteria isolated from European medical centres: results of the Daptomycin Surveillance Programme (2002-2004). *CMI*. **12**(9): 844-852.
4. Jevitt, L. *et al.* (2006). Multicenter evaluation of the Etest and disk diffusion methods for differentiating daptomycin- susceptible from non daptomycinsusceptible *Staphylococcus aureus* isolates. *JCM*. **44**(9): 3098-3104.
5. Sader, H. *et al.* (2006). Daptomycin bactericidal activity and correlation between disk and broth microdilution method results in testing of *Staphylococcus aureus* strains with decreased susceptibility to vancomycin. *AAC*. **50**(7): 2330-2336.
6. Jorgensen, J. *et al.* (2006). Assessment of two commercial susceptibility test methods for determination of daptomycin MICs. *JCM*. **44**(6): 2126-2129.
7. Fuchs, P. *et al.* (2001). Evaluation of daptomycin susceptibility testing by Etest and the effect of different batches of media. *JAC*. **48**(4): 557-561.

バイオメリューは、世界の感染症と戦う臨床検査のリーディングカンパニーです。

製造販売元
シスメックス・バイオメリュー株式会社
〒141-0032 東京都品川区大崎1-2-2 大崎セントラルタワー8F
www.sysmex-biomerieux.jp

