

総説

抗菌薬感受性測定とその測定薬剤について

村谷 哲郎

産業医科大学 医学部 泌尿器科：北九州市八幡西区医生ヶ丘 1-1（〒 807-8555）

Key Words 薬剤感受性測定, 微量液体希釈法, CLSI, 抗菌薬

薬剤感受性測定法の変遷

抗菌薬の感受性を測定する方法としては、様々な方法が存在するが、現在病院細菌検査室および検査センターで採用されている方法は、微量液体希釈法と Kirby-Bauer (KB) 法によるディスク拡散法である。日本臨床衛生検査技師会の報告¹⁾によると 1990 年には、昭和一濃度ディスク拡散法が約 50% を占め、栄研化学トリディスク法約 21%、KB ディスク法 21%、微量液体希釈法 5.7% であった。その後、ディスク拡散法が国際的に KB 法へ統一され、昭和一濃度ディスクおよび栄研トリディスクは販売が中止された。2006 年には、微量液体希釈法が 76.7%、KB ディスク法 21.3%、その他の方法として E-test が数% と報告されている。

つまり、現在では MIC として結果が出せる微量液体希釈法が多数を占めるということである。

微量液体希釈法

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)²⁾ に準拠した微量液体希釈法またはそれと同等な結果が得られる方法としては、マイクロスキャン(シーメンス社)、MIC 2000(栄研化学社)、オプトパネル(極東製薬工業社)、ライサス(日水製薬社)、フェニックス(日本ベクトン・ディッキンソン社)および VITEK 2(シスメックス・ビオメリュー社)などが存在する。これらの方法は、well 数が異なるため、測定可能な抗菌薬数は異なる。しかしながら、いずれにしても、すべての抗菌薬の感受性を測定するこ

とはできない。低濃度の MIC 測定の重要性については、以前に述べた³⁾ ので省略するが、原則 6 点の MIC 測定を行い、主流である 96 穴のプレートを使用した場合、16 薬剤の測定が可能となるが、多くの診療科を擁する病院やクリニックから大規模病院、また、あらゆる診療科を抱える検査センターでは、臨床側のすべてのニーズに応えることは困難である。また、使用可能な薬剤の MIC をすべて報告することは合理的ではなく、代表的な薬剤を選択し測定する必要がある。同系統の薬剤ではほぼ抗菌力、耐性機序が同じ薬剤が採用されている場合、感受性測定がなされている薬剤が使用される傾向にある。抗菌薬販売メーカーにとっては感受性測定のリストに入るか入らないかは重要な問題であり、報告時に同等薬の伝票への記載も考慮されるべきである。また、報告における別の側面として、広域スペクトルの薬剤や切り札的な薬剤などの結果をルーチンでは報告しないまたはルーチンでの測定はしないという方法により、抗菌薬適正使用を誘導するという方法も用いられている。CLSI のグループ分けもこの考え方に基づいており、ルーチンで報告する薬剤とそうでない薬剤が分類されている。

抗菌力測定薬剤の選択

一つの抗菌薬の感受性を測定することによって、同種同効の抗菌薬の感受性を類推することができるように抗菌薬を分類する。その中で感受性測定を行う薬剤は、最も感受性率が高い薬剤を選択するので

はなく、耐性株を最も明確に捉えられる薬剤を選択し、測定した薬剤が感受性であれば、クラスに所属するすべての薬剤が感受性となるように設定するのが基本である。この方法の場合、測定薬剤が耐性でもクラスに属する薬剤が感受性を示す場合が生じることはある程度はやむを得ないことであり、このような株の割合が少なくなるようにクラス分けを行わなければならない。

抗菌薬および測定菌種の分類

本邦で汎用されている抗菌薬は、 β -lactam系、アミノグリコシド系、キノロン系、テトラサイクリン系、マクロライド系、リンコマイシン系、ST合剤、ホスホマイシンであり、MRSA用薬として、vancomycin, teicoplanin, arbekacin, linezolid が用いられている。また、眼科領域や産婦人科領域では chloramphenicol も使用されている。 β -lactam系は、penicillin系、penem系、carbapenem系、cephem系、monobactam系に分類され、cephem系はさらに cephalosporin系と cephamycin系に分類される。さらに β -lactamase阻害剤との合剤も存在する。経口薬お

よび注射薬が存在し、スペクトル、抗菌力、 β -lactamaseに対する安定性や外膜透過性、排出ポンプとの親和性も大きく異なるため、多数の薬剤の測定が必要となるが、薬剤数も多く、すべての薬剤の感受性を測定することはできない。アミノグリコシド系の主な耐性機序の一つとして、アセチル化、アデニル化、リン酸化の3種の修飾酵素によるものがある。これらの酵素は特定の位置の水酸基またはアミノ基を修飾するため、アミノグリコシドの構造式により修飾されるものとされないものが存在する。したがって、アミノグリコシドを1剤で代表することは不可能であり、複数の薬剤の測定が必要である。キノロン系の主な耐性機序は標的酵素の変異であり、薬剤排出システムの影響の受けやすさは異なるものの、汎用されている薬剤の感受性は相関する。minocycline, clindamycin, ST合剤, fosfomycin が適応を持っている菌種では、代わるべき薬剤がないので、測定が必要である。以下に測定すべき薬剤について私見を述べる。

腸内細菌科の菌種は、染色体上に持っている β -lactamaseにより表1のように3種類に分類できる。主な菌種に対する主要な β -lactamの抗菌活性を表2

表1. β -lactamaseによる腸内細菌科の菌種の分類

	Class A	Class C
Group A		
<i>Proteus mirabilis</i>	—	—
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	—
<i>Escherichia coli</i>	—	+**
Group B		
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+*	—
<i>Proteus vulgaris</i>	+*	—
<i>Citrobacter koseri</i>	+*	—
Group C		
<i>Citrobacter freundii</i>	—	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	—	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	—	+
<i>Morganella morganii</i>	—	+
<i>Providencia rettgeri</i>	—	+
<i>Providencia stuartii</i>	—	+
<i>Hafnia alvei</i>	—	+

*広域 β -lactamase (cephalosporinも分解可能)

**プロモーターの構造上発現する頻度は低い

いずれの菌種ともプラスミド性 β -lactamaseであるTEM-1を保有している頻度は高いため、penicillin耐性株は存在する。

表2. 主要なβ-lactamの主な腸内細菌科の菌種に対する基本的な抗菌力

	<i>E. coli</i> ATCC25912	<i>P. mirabilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. oxytoca</i>	<i>C. koseri</i>	<i>C. freundii</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>S. marcescens</i>
Ampicillin	4	2	8	32	32	128	128	>128	>128	128
Ampicillin/ sulbactam	4/2	2/1	4/2	4/2	4/2	8/4	8/4	16/8	16/8	64/32
Piperacillin	2	0.5	2	4	4	16	4	2	4	4
Piperacillin/ tazobactam	2/4	0.5/4	2/4	2/4	2/4	8/4	2/4	2/4	4/4	2/4
Cefazolin	2	4	2	1	2	16	128	>128	128	>128
Cefotiam	0.25	0.5	0.12	0.12	0.12	1	0.5	1	0.5	32
Cefotaxime	0.06	0.03	0.06	0.03	0.03	0.5	0.12	0.25	0.12	0.5
Ceftriaxone	0.06	0.008	0.06	0.03	0.06	0.25	0.12	0.12	0.12	0.25
Ceftazidime	0.25	0.12	0.12	0.12	0.12	0.5	0.5	0.25	0.25	0.5
Cefpirome	0.06	0.12	0.03	0.03	0.03	0.12	0.06	0.06	0.06	0.12
Cefepime	0.06	0.06	0.03	0.03	0.03	0.12	0.03	0.06	0.06	0.12
Cefmetazole	0.5	2	1	0.5	0.5	4	32	>128	>128	16
Flomoxef	0.12	0.25	0.06	0.06	0.06	0.12	0.5	8	16	1
Latamoxef	0.25	0.12	0.12	0.12	0.03	0.12	0.12	0.12	0.12	0.5
Imipenem	0.12	1	0.12	0.12	0.12	0.12	0.25	0.12	0.25	0.5
Meropenem	0.016	0.06	0.016	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
Aztreonam	0.12	0.008	0.06	0.03	0.06	0.12	0.06	0.12	0.06	0.12
Amoxicillin	8	1	8	64	64	128	>128	>128	>128	>128
Amoxicillin/ Clavulanate	4/2	1/0.5	4/2	2/1	2/1	4/2	64/32	64/32	64/32	128/64
Faropenem	0.5	1	1	0.5	0.5	1	1	2	2	8
Cephalexin	8	16	8	4	4	16	>128	>128	>128	>128
Cefaclor	2	2	2	0.5	1	2	32	128	128	>128
Cefuroxime	4	2	4	2	2	32	4	8	4	>128
Cefteram	0.5	0.06	0.25	0.12	0.12	2	0.5	0.5	0.5	2
Cefpodoxime	0.5	0.12	0.5	0.12	0.06	2	2	2	0.5	2
Cefdinir	0.25	0.12	0.25	0.12	0.06	0.5	0.5	4	2	8
Cefditoren	0.5	0.12	0.25	0.25	0.25	2	1	1	1	2
Cefcapene	0.5	0.12	0.5	0.5	0.5	4	0.5	0.5	1	2

に示す。β-lactam をすべて測定することはできないので、測定薬剤を選択しなければならない。Ampicillin と amoxicillin は同等、ampicillin/sulbactam と amoxicillin/clavulanate は同等、piperacillin, piperacillin/tazobactam, cefazolin, cefotiam は個別に測定が必要である。第三世代 cephalosporin である cefotaxime と ceftriaxone の抗菌力はほぼ同等であり、耐性株に対する挙動もほぼ同じである。感受性率については ceftazidime も同じであるが、抗菌力に差を認めるため、測定薬剤を別途考えることも必要である。第四世代 cephalosporin 3 剤の抗菌力はほぼ同等であるが、class C β-lactamase 高度産生株に対しては、cefepime の抗菌力が最も優れており、表 1 の Group C の菌種に対する感受性率は ceftazidime < ceftazidime < cefepime の順であり、ceftazidime に感受性であれば 3 剤に対して感受性、cefepime に感受性であれば cefepime に対して感受性と考えてよい。したがって、ceftazidime や cefepime が採用されている施設では、cefepime のみを測定することは合理的ではない。第三世代経口 cephalosporin は 6 剤存在するが、表 1 の Group A, B の菌種に対してはほぼ同等である。Group C の菌種に対しては、ceftazidime の抗菌力は劣り、cefepime もやや劣る。したがって、cefepime に感受性であれば, ceftazidime, ceftazidime, cefditoren, cefcapene に感受性と考えることができる。

これらのことを勘案し、測定した薬剤のみ MIC を表示し、測定していない薬剤は、報告しないか、同等薬の感受性解釈カテゴリーのみを適用し S, I, R のみを表示する。CLSI では菌種を 17 菌種群に分類し、その分類ごとに抗菌薬を表 3 に示す 6 つのカテゴリーに分け、測定順位および報告順位を設定している。Group A は日常のルーチン検査で測定し報告する薬剤として、1～5 薬剤程度がリストされている。Group B は日常検査で測定するが、選択して報告する薬剤としている。表 4 にグラム陰性菌、表 5 にグラム陽性菌に抗菌力を有する抗菌薬の分類と日本で使用されている主な薬剤について示す。表中の A, B, C は、表 3 に示すものであり、J は日本で汎用されている薬剤で、測定の必要があると考えたものである。また、括弧で示したものは、本邦では使用頻度が低いなどの理由により測定の必要がないと考えた薬剤である。MIC を測定する代表薬剤は、施設毎の採用薬および使用頻度を考えて決める必要がある。6 点の MIC を測定し、96 穴のプレートを用いたとすると 16 薬剤の測定が可能である。表 4 で腸内細菌科は 22 薬剤がリストアップされているので、減らす必要がある。VITEK 2 やフェニックスは 20 薬剤以上が測定可能であるので、薬剤選択は比較的容易である。

表 3. CLSI の感受性試験実施および報告のための抗菌薬選択分類

	分類基準
Group A	日常的に測定し、報告する薬剤
Group B	日常的に測定するが、Group A の同系統薬剤に耐性を示す場合など、必要な場合にのみ報告する。
Group C	Group A や Group B の同系統抗菌薬に耐性を示す流行株が、その施設に蔓延している場合に検査報告する。まれにしか分離されない菌種に対しても検査報告する。感染制御のための疫学調査目的などでも検査報告する。
Group U (Urine)	尿路感染症専用の抗菌薬
Group O (Other)	臨床適応はあるが、米国ではルーチン試験および報告の候補とはならない薬剤
Group Inv. (Investigational)	FDA 承認が得られておらず、研究的な目的で実施される薬剤

表4. グラム陰性菌に抗菌力を有する抗菌薬の分類と日本で使用されている主な薬剤

		腸内細菌科	緑膿菌	インフルエンザ桿菌
β-lactams				
Penicillins	Ampicillin, Amoxicillin	A		A
	Piperacillin		A	
Penicillins with BLIs	Ampicillin/sulbactam, Amoxicillin/clavulanate	B		B
	Piperacillin/tazobactam	B	J	J
Penem	Faropenem	J		
Cephems				
Cephalosporins (Parenteral)	Cefazolin	A		
	Cefotiam	J		
	Cefotaxime, Ceftriaxone	B		B
	Cefoperazone			
	Ceftazidime	C	A	B
	Cefpirome, Cefozopran, Cefepime	B	B	
	Cefsulodin			
Cephalosporins (Oral)	Cephalexin, Cefaclor			C
	Cefotiam			
	Cefixime, Cefteram, Cefpodoxime	J		C
	Cefdinir, Cefditoren, Cefcapene			
Cephameycins	Cefmetazole, Cefoxitin	B		
	Latamoxef			
	Flomoxef	J		
Carbapenems	Imipenem, Panipenem, Biapenem	B	B	C
	Meropenem, Doripenem,	B	B	B
	Tebipenem			
Monobactams	Aztreonam, Carumonam	C	C	C
Aminoglycosides	Gentamicin	A	A	
	Tobramycin	C	B	
	Netilmicin		C	
	Amikacin, Isepamicin	B	B	
Tetracyclines	Tetracycline			
	Minocycline	J		
Quinolones	Ciprofloxacin, Prulifloxacin, Tosufloxacin		B	
	Levofloxacin, Pazufloxacin	J	B	C
	Moxifloxacin, Garenoxacin			
	Sitafoxacin			
Sulfamethoxazole/Trimethoprim	ST	B		A
Chloramphenicol	Chloramphenicol	(C)		(B)
Fosfomycin	Fosfomycin	J		
Macrolides	Erythromycin, Clarithromycin, Azithromycin			C
Ketolides	Telithromycin			(C)
Lipopeptides	Colistin		(J)	
Ansamycins	Rifampicin			

表5. グラム陽性菌に抗菌力を有する抗菌薬の分類と日本で使用されている主な薬剤

		ブドウ球菌	腸球菌	肺炎球菌
β-lactams				
Penicillins	PenicillinG, Ampicillin, Amoxicillin	A	A	A
	Piperacillin Oxacillin	A		
Penicillins with BLIs	Ampicillin/sulbactam, Amoxicillin/clavulanate Piperacillin/tazobactam	J		
Penem	Faropenem			J
Cephems				
Cephalosporins (Parenteral)	Cefazolin	J		
	Cefotiam			
	Cefotaxime, Ceftriaxone			B
	Cefoperazone, Ceftazidime			
	Cefpirome, Cefozopran, Cefepime			B
Cephalosporins (Oral)	Cephalexin, Cefaclor			
	Cefotiam			
	Cefixime, Cefteram, Cefpodoxime			
	Cefdinir	J		J
	Cefditoren, Cefcapene			J
Cephamycins	Cefmetazole			
	Cefoxitin	A		
	Latamoxef			
	Flomoxef			
Carbapenems	Imipenem, Panipenem, Biapenem	J		C
	Meropenem, Doripenem	J		B
	Tebipenem*			
Aminoglycosides	Gentamicin	C	C	
	Tobramycin			
	Netilmicin			
	Amikacin, Isepamicin			
	Arbekacin	J		
Tetracyclines	Tetracycline	(C)	(C)	
	Minocycline	J	J	
Quinolones	Ciprofloxacin, Prulifloxacin	(B)		
	Levofloxacin	B	B	B
	Pazufloxacin			
	Tosufloxacin			
	Moxifloxacin			(B)
	Garenoxacin			J
	Sitafloxacin			
Sulfamethoxazole/Trimethoprim	ST	B		A
Chloramphenicol	Chloramphenicol	(C)	(C)	(C)
Fosfomicin	Fosfomicin			
Macrolides	Erythromycin, Clarithromycin, Azithromycin	B	C	A
	Roxithromycin			
	Rokitamycin			
Ketolides	Telithromycin			
Lincomycins	Clindamycin	B		
Glycopeptides	Vancomycin	B	B	
	Teicoplanin	J	J	
Oxazolidinone	Linezolid	B	B	(C)
Lipopeptides	Colistin			
Ansamycins	Rifampicin			(C)

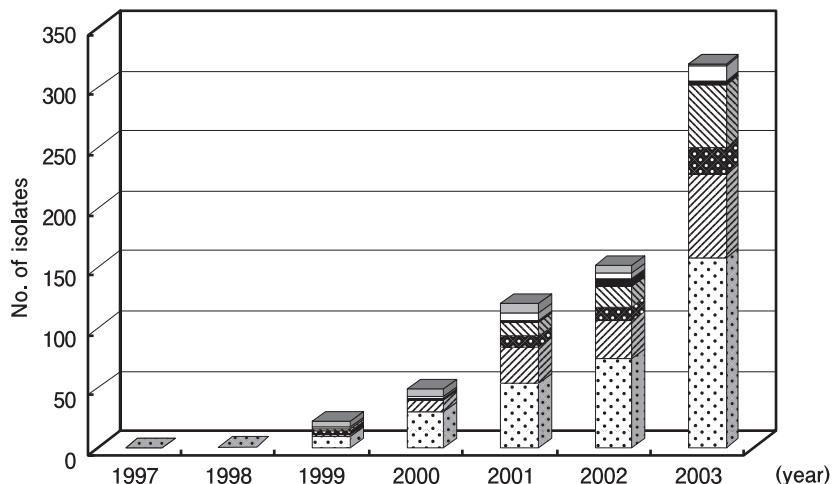
グラム陰性菌

Penicillin, 第二世代以降の cephalosporin および monobactam を分解する外来性の β -lactamase である基質特異性拡張型 β -lactamase (ESBL) 産生株は, 2000 年以降急増しており (図 1)⁴⁾, 現在では, ESBL 産生株のスクリーニングは必須である。分離頻度の高い地域または施設では, 感受性測定の際に clavulanic acid 含有 well を用意し, 確認試験検体を減らすことも考慮すべきである。TEM, SHV type ESBL に対しては cefotaxime や第四世代 cephalosporin が, CTX-M type に対しては ceftazidime が 1 μ g/mL 以下の低い MIC を示す場合がしばしば見られる。これら MIC の低い薬剤により治療可能であるという報告と, 治療効果は劣り, 特に再発率が高いので, 選択されるべきではないという報告がある。CLSI は ESBL 産生 *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* および *Klebsiella oxytoca* については, MIC に関わらずすべての penicillin, cephalosporin および monobactam は耐性と報告するとしている。ESBL 産生株を MIC どおりの解釈カテゴリーで報告すると, クラス分けも成り立たなくなるため, ESBL 産生株であれば, penicillin, cephalosporin および monobactam をすべて R に変換し報告するこ

とにより, この問題は解消される。

緑膿菌に対して, 抗菌力を有する薬剤は少なく, 薬剤の絞込みに苦労はない。キノロン系は抗菌力は強いが, 血中濃度が高くなる ciprofloxacin, prulifloxacin, tosufloxacin, sitafloxacin のいずれかと抗菌力はやや劣るが, 血中濃度が高くなる levofloxacin と pazufloxacin のいずれかを測定すればよいと考える。報告するかどうかは別としても, 今後は多剤耐性株対策として, colistin の測定も考慮されるべきであろう。

インフルエンザ桿菌に対しては, β -lactamase 産生の有無と β -lactam の標的酵素であるペニシリン結合タンパク質の変異を有する BLNAR, BLPACR を確実に報告するために, β -lactamase 試験, ampicillin, amoxicillin/clavulanate の測定は必須と考える。BLNAR に対して抗菌力が強い ceftriaxone, meropenem, piperacillin/tazobactam の測定が必要である。第三世代経口セフェムは cefditoren, ceferam, cefixime の抗菌力が強く, これらのうち 1 剤と耐性であることを知らせるためなどの必要性に応じて, cefdinir などのこれら以外の 1 剤の測定を行うとよいと考える。キノロン系の感受性は現在のところ相関しているので, いずれか 1 剤ですべてを代表してよいと考える。



inpatients*	0	0	14	34	97	113	246
outpatients	0	1	2	4	17	20	58
unknown	0	0	0	0	7	9	7

* No. of isolates

●: urine, ▨: respiratory tract, ■: pus, ▩: feces, ■: blood, □: others, ◻: unknown

図 1. 北部九州・山口地区における ESBL 産生大腸菌の検査材料別分離数の年次推移

グラム陽性菌

ブドウ球菌に対しては、 β -lactamase 産生の有無と MRSA かどうかを見極めることが重要である。MRSA と判断するために、oxacillin と ceftiofuran の測定を行う必要がある。MRSA であれば、すべての β -lactam は使用すべきではないが、併用などを考慮するために、カルバペネムの測定を行うことも考慮されるべきである。キノロン系については、いずれの薬剤もほぼ相関するが、garenoxacin 感受性、他剤耐性株については報告されており、garenoxacin を測定するならば、他剤の測定も必要である。他剤感受性なら garenoxacin も感受性であると言える。*S. aureus* 以外のブドウ球菌属の菌種では teicoplanin 耐性株が存在するため、測定の必要はあると考える。

腸球菌属に有効な薬剤は少なく、測定薬剤は限られる。肺炎球菌に対しては、garenoxacin, sitafloxacin に耐性を示す株は現在のところ存在せず、これらの薬剤と、その他のキノロン 1 剤の測定が必要である。また、もっとも抗菌力が強く、髄膜炎の適応も有する panipenem の測定も必要である。今後は tebipenem の測定も必要となると考えられる。Linezolid や vancomycin を治療薬として用いるケースも存在すると考えられるが、基本的には耐性株は存在しないので、ルーチンでの測定は必要なく、必要に応じて追加測定すればよいと考える。

おわりに

感受性測定に用いる薬剤について、CLSI の基準をベースに私見を述べてきた。このクラス分けについても新しい耐性機序を有する株が出現増加した場合には、これまでの相関が当てはまらなくなる可能性があり、見直しが必要となる。また、新薬が上市された場合には、クラス分けに当てはまるのか新しいクラスとして測定が必要なのかを考える必要がある。新しいクラスの薬剤として測定するためには、どれかの薬剤を削除しなければいけない。

採用されている抗菌薬すべての感受性を測定することは不可能であるが、測定していない薬剤の報告を要求されるケースは存在する。多数の薬剤を測定

するために、ブレイクポイント付近のみの測定を行うことは避けるべきであることについては、以前述べたとおりである³⁾。そのためにも、クラス分けを行い、測定していない抗菌薬の感受性を推定し、解釈カテゴリーだけでも報告することも考慮されるべきであろう。事前にクラス分けについて文書化しておき、報告は実際に感受性測定を行った薬剤だけとすることも良いが、検査結果報告書に記載されている方が、臨床側にとっては都合がよいと考えられる。しかし、検査センターのように多くの施設のニーズに答える場合には、個々の施設の採用薬剤を考慮して、報告することは現実的には困難であるため、事前に文書化して、渡しておくことが現実的である。

一方、多くの薬剤の感受性成績をルーチンで報告せずに、第一選択薬とするべき抗菌薬の感受性成績のみを報告して、抗菌薬の適正使用をコントロールすることを CLSI などが推奨しているが、本邦ではまだこの考え方が容易に受け入れられる状況にはないと思われる。CLSI の指針は非常に参考となるが、本邦と米国では、抗菌薬の使用状況が異なっており、また、同じ薬剤でも用法用量が大きく異なる薬剤も存在する。また、施設毎に患者背景が異なり、第一選択薬とするべき薬剤も異なるため、ルーチンで報告する薬剤の選択も個々に検討されるべきである。報告薬剤の選択においては、検査部門だけでなく、感染症専門医や感染対策部門と連携して決められるべきであり、病院内でのコンセンサスを得ながら、実施されるべきであろう。

参考文献

- 1) 日本臨床衛生検査技師会. 平成 18 年度日臨技臨床検査精度管理調査報告書. 微生物検査部門③微生物検査サーベイ報告; 2006. 531-534.
- 2) Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Nineteenth Informational Supplement. wayne, PA. CLSI document M100-S19. 2009. 29 (3). 152p.
- 3) 村谷哲郎. 抗菌薬感受性測定とその解釈について. Sysmex J Web. 2009; 10 (1). <http://sysmex-success.com/cs/>
- 4) Muratani T, Matsumoto T. Bacterial resistance to antimicrobials in urinary isolates. Int J Antimicrob Agents. 2004; 24, Suppl 1 : S28-31.

Selection of Antimicrobial Agents for Antimicrobial Susceptibility Test

Tetsuro MURATANI

Department of Urology, University of Occupational and Environmental Health, Japan,
1-1, Iseigaoka, Yahata-nishi-ku, Kitakyushu, Fukuoka 807-8555

Key Words Antimicrobial Susceptibility Test, Microdilution Method, CLSI, Antimicrobial Agent