

**chromID™ CPS® Elite 寒天培地/コロンビア CNA5%ヒツジ血液寒天培地(CPSE/CNA)****chromID™ CPS® Elite agar/Columbia CNA+5% sheep blood (CPSE/CNA)**

尿路感染起炎菌の菌数定量 分離、菌数測定、直接又は仮同定

栄養要求性の厳しい細菌の選択分離、溶血性の判定

**用途**

この製品は、2種類の培地を組み合わせた尿検体用分画培地です。

**chromID™ CPS® Elite 寒天培地:**

尿検体用の分離、菌数測定及び同定培地です。

この培地の用途:

- 標準的接種法による検体中菌数測定
- Escherichia coli* 直接同定および下記の細菌の属種と菌種の仮同定(1, 2):
  - *Enterococcus* 属(4)
  - *Klebsiella* 属, *Enterobacter* 属, *Serratia* 属, *Citrobacter* 属(KESC)
  - *Proteus* 属, *Providencia* 属, *Morganella* 属(Proteae)

**コロンビア CNA5%ヒツジ血液寒天培地:**

グラム陽性菌用選択分離培地です(3)。

**原理****chromID™ CPS® Elite 寒天培地:**

chromID™ CPS®は異なる種類のペプトンを組み合わせた豊富な栄養基質と特異的酵素の検出が可能な色素基質から構成されています。

培地中に含まれるトリプトファンによりインドールの検出が促進されます。

高濃度の寒天により *Proteus* 属の遊走を抑制します。

尿路感染症より一般的に分離される細菌の直接同定は下記の原理をもとに行われます:

- E.coli*:  $\beta$ -グルクロニダーゼ( $\beta$ -GUR)および/もしくは  $\beta$ -ガラクトシダーゼ( $\beta$ -GAL)産生によりコロニーがピンク色からワインレッド色に発色(1, 2)。
- Enterococcus* 属:  $\beta$ -グルコシダーゼ( $\beta$ -GLU)産生によりコロニーが青緑色に発色。
- KESC:  $\beta$ -グルコシダーゼ( $\beta$ -GLU)産生によりコロニーが青色から緑色に発色。
- Proteae: デアミナーゼの産生によりコロニーが茶色に発色。

**コロンビア CNA5%ヒツジ血液寒天培地:**

この培地は複数のペプトンが含まれており、栄養要求性の厳しい細菌(レンサ球菌, コリネバクテリアなど)の培養に適しています(3)。

ヒツジ血液が含まれているため溶血反応を確認できます。

これらの基本的な反応により菌の同定が出来ます。

ほとんどのグラム陰性菌および *Bacillus* 属の発育をナリジクス酸、コリスチンによって抑制します。

**キット構成**

REF418229	調製済み培地 平板培地 CPSE/CNA*	20枚(90mm)
-----------	-----------------------------	-----------

\*各シャーレに印字

- CPSE は、chromID™ CPS® Elite 寒天を含む平板部分を同定します。

- CNA は、コロンビア CNA5%ヒツジ血液寒天を含む平板部分を同定します。

**組成****理論値**

性能を確保するため、若干変更される場合があります:  
chromID™ CPS® Elite 寒天培地

カゼインペプトン(ウシ).....	5 g
植物ペプトン.....	5 g
肉ペプトン(ウシまたはブタ).....	8 g
炭水化物.....	1 g
L-トリプトファン.....	0.5 g
リン酸緩衝液.....	1 g
発色酵素基質.....	0.26 g
寒天.....	18 g
精製水.....	1 L
	pH 7.4

**コロンビア CNA5%ヒツジ血液寒天培地**

カゼインおよび肉ペプトン(ウシおよびブタ).....	10 g
動物性タンパク加水分解物(ウシまたはブタ).....	10 g
ハートペプトン(ウシまたはブタ).....	3 g
コーンスターチ.....	1 g
塩化ナトリウム.....	5 g
寒天.....	13.5 g
ヒツジ血液.....	50 mL
ナリジクス酸.....	0.015 g
コリスチン.....	0.010 g
精製水.....	1 L
	pH 7.3

**必要な試薬と器材****試薬:**

- ATCC® 品質管理菌株

**器材:**

- 10  $\mu$ L 白金耳
- ふ卵器

**使用上の注意**

- in vitro* 試験にのみご使用下さい。
- 微生物検査従事者が使用して下さい。
- 本培地には動物由来原料が含まれています。使用動物の由来や衛生状態は保証されていますが、これは感染性病原体による製品汚染がないことを完全に保証するものではありません。従ってこれらの製品は感染性を有するものとして扱い、飲み込んだり吸い込んだりしないよう、通常の安全予防策を守って取り扱うことをお勧めいたします。
- 全ての検査材料、細菌培地、および接種菌液はすべて感染性があるものとして、適切にお取り扱い下さい。検査を通じて、細菌を扱う際の無菌操作の実施と通常操作につきましては以下のガイドラインに基づきお取り扱い下さい。**安全ガイドライン**: CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Current Revision* **操作留意事項**: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH – Latest edition, または各国の規制ガイドラインに従って下さい。
- 本培地を製造原料として使用しないで下さい。
- 有効期限切れの製品は使用しないで下さい。
- パッケージの損傷した製品は使用しないで下さい。

- コンタミネーションの起きている培地、溶血や収縮している培地または水分の浸出している培地は使用しないで下さい。
- 1 検体につき、1 枚の平板培地を使用してください。
- 試験結果の解釈は、患者背景、検体の由来、コロニー形態および顕微鏡学的形態を考慮して下さい。また必要に応じて、その他の試験方法で結果を確認して下さい。

### 貯蔵条件

- 箱未開封の状態、2-8°C下で有効期限まで保管可能です。
- 暗所で保存して下さい。
- 箱開封後セロファン袋中では、2-8°C下で 2 週間保管可能です。

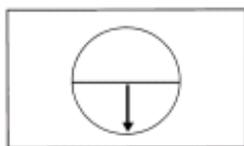
### 検体

この培地に尿検体を直接接種します。

検体の採取や輸送は GLP(Good Laboratory Practices)に準拠し、適切に処理して下さい。

### 使用法

1. 培地を室温に戻します。
2. 必要に応じて培地表面を乾かします。
3. 10 μL 白金耳を使用して検体を下記のように接種します(5、6):
  - 垂直に白金耳を持ち検体に浸し培地の半径に下ろします。
  - chromID™ CPS® Elite 寒天培地に検体を接種します。



(a)



(b)

a) 白金耳で半径に筋を引きます(尿検体が接種できているか確認してください)。

b) 尿検体を追加せず、中央より全体に塗り広げます。

-尿検体を追加せず続けて**コロンビアCNA5%ヒツジ血液寒天培地**に接種します。



4. 好気状態で 35°C±2°Cでふ卵器で培養します。用途に応じて、最新の標準法を参照し適切な温度で培養して下さい。通常 24 時間培養後に結果の読み取りを行いません。

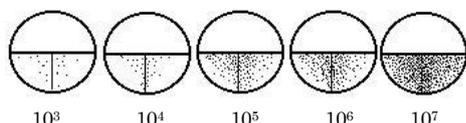
### 判定

**chromID™ CPS® Elite 寒天培地:**

培養後、菌の発育を観察して下さい。

### 菌数定量:

下図を参照してchromID™ CPS® Elite 寒天培地上に発育しているコロニーの密集具合により菌数を求めます(6):

10<sup>3</sup>10<sup>4</sup>10<sup>5</sup>10<sup>6</sup>10<sup>7</sup>

細菌数/mL

### 同定(7):

#### 1. E. coliの直接同定

##### • ピンク色からワインレッド色のコロニー

β-GUR又はβ-GALの不活性を示しているE. coliの数菌株は、薄いピンク色からピンク色を生成します。

#### 2. グループ又は属レベルでの仮同定

##### • 青緑色又は薄い青から緑色の小さいコロニー:

*Enterococcus* 属

##### • 青から緑色のコロニー: KESC グループ

##### • 茶色のハローを伴うコロニー又は茶色の拡散したコロニー:

*Proteaeae*

分離された菌の詳細な同定には追加的試験を行って下さい。生化学的検査が*Enterococcus*属およびKESCグループに使用されている場合は、グラム染色を行ってください。

#### 3. 同定に関する追加ガイダンス

##### • *Staphylococcus saprophyticus*: 小さな明るいピンク色コロニー

##### • *Streptococcus agalactiae*: 青色がかかった紫色~紫色コロニー

##### • 他種類: 他色又は無色のコロニー

いずれの場合も、分離された菌の詳細な同定には追加的試験を行って下さい。

#### コロンビアCNA5%ヒツジ血液寒天培地(8):

- 培養後、細菌の発育を観察します。
- 溶血性についても観察します。
  - α 溶血: 緑色の縁のコロニー
  - β 溶血: 周囲または下が透明のコロニー
- 分離された菌の同定に関しては生化学または免疫学的試験を行って下さい。

### 品質管理

#### プロトコール:

本培地は、下記の標準菌株を用いて試験を行いません。

#### chromID™ CPS® Elite 寒天培地:

- *Escherichia coli* ATCC® 25922™
- *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212™
- *Proteus mirabilis* ATCC® 12453™

#### 精度管理限界値:

菌種	35°C±2°Cでの試験結果	
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922™	24 時間 以内に 発育	ワインレッド色のコロニー
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212™		青緑色のコロニー
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC® 12453™		茶色の拡散したコロニー

#### コロンビアCNA5%ヒツジ血液寒天培地:

- *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923™

#### 精度管理限界値:

菌種	35°C±2°Cでの試験結果
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923™	24 時間以内に発育

### 注意:

培地の用途を考慮し、適切な規制(頻度、菌株数、培養温度等)に従って品質管理を実施することをお勧めします。

**性能**

本性能は、90 mmの平板培地(品番416172 chromID™ CPS® Elite 寒天培地(CPSE)および品番43071 コロンビアCNA5% ヒツジ血液寒天培地)に関するデータを用いて作成されました。

**chromID™ CPS® Elite 寒天培地:**

本品の性能は、通常のワークフローから尿検体を用いてフランスにて評価されました。校正された白金耳を用い、手動で10 μLを接種しました。

本培地のCPSE及びCPSOを旧バージョンと比較しました:chromID™ CPS®(旧品番43821、43829 CPS)及び尿路感染症を引き起こす起炎菌を検出するその他発色性培地。

35°Cで18~24時間培養後、読取りを行いました。

全ての菌株は、質量分析によって同定されました。

300尿検体を用いて試験を行いました。88検体は無菌であると判定され、212検体は少なくとも1種類の菌で陽性であると判定されました。

212陽性尿検体:

- 111検体が *E. coli* で陽性と判定されました。
- 101検体が *E. coli* 以外の1種又は2種以上の菌で陽性と判定されました。

**発育能**

18~24 時間培養後に菌種や属種ごとに得られた菌株の数

	得られた菌株数				
	全培地	CPSE	CPSO	CPS	他培地
<i>E. coli</i>	117	115	115	115	114
KESC	44	42	42	40	40
Proteaeae	24	22	24	21	23
Gram-negative nonfermenters	8	7	7	7	7
Other Gram-negatives	2	2	2	2	2
<b><i>E. coli</i>を除く全グラム陰性菌</b>	<b>78</b>	<b>73</b>	<b>75</b>	<b>70</b>	<b>72</b>
<i>E. faecalis</i>	66	62	62	58	63
Other enterococci	15	14	14	14	13
<i>S. agalactiae</i>	7	5	7	5	6
Other streptococci	3	2	3	2	2
<i>S. aureus</i>	8	7	8	7	8
Other staphylococci	37	33	29	19	31
Other Gram-positives	3	2	2	1	3
<b>全グラム陽性菌</b>	<b>139</b>	<b>125</b>	<b>125</b>	<b>106</b>	<b>126</b>
Yeasts	19	18	19	17	19
<b>合計</b>	<b>353</b>	<b>331</b>	<b>334</b>	<b>308</b>	<b>331</b>

\*一部の尿検体は、同じ菌種または同じ属種に属している数菌株の増殖が可能です。

18~24時間後に得た菌種または属種(95%信頼区間)による感度

	陽性尿検体数*				
	全培地	CPSE	CPSO	CPS	他培地
<b>直接同定</b>					
<i>E. coli</i>	111	108 <b>97.3%</b> 92.3-99.4	109 <b>98.2%</b> [93.6-99.8]	109 <b>98.2%</b> [93.6-99.8]	108 <b>97.3%</b> [92.3-99.4]
<b>仮同定</b>					
<i>Enterococcus</i>	73	70 <b>95.9%</b> [88.5-99.1]	70 <b>95.9%</b> [88.5-99.1]	66 <b>90.4%</b> [81.5-95.3]	70 <b>95.9%</b> [88.5-99.1]
KESC**	38	37 <b>97.4%</b> [86.2-99.9]	37 <b>97.4%</b> [86.2-99.9]	37 <b>97.4%</b> [86.2-99.9]	
<i>Proteaeae</i>	22	21 <b>95.5%</b> [77.2-99.9]	22 <b>100.0%</b> [84.6-100.0]	20 <b>90.9%</b> [72.2-97.5]	22 <b>100.0%</b> [84.6-100.0]

\* : 多菌尿検体の場合は、含有されていることが判明した各菌種または属種に計測されます。

\*\* : その他培地は、KES属種のみを計測します。

18～24時間後に得た *E. coli*(95%信頼区間)に関する発色特異度

陰性尿検体数			
CPSE	CPSO	CPS	他培地
98/101 <b>97.0%</b> [91.6-99.4]	99/101 <b>98.0%</b> [93.0-99.8]	98/101 <b>97.0%</b> [91.6-99.4]	96/101 <b>95.0%</b> [88.8-98.4]

#### 菌数測定

18～24時間後に CPSE 及び CPSO の菌数測定と同等の結果が得られました:

- CPS 培地上においては 96.9%
- 他の培地においては 95.7%

#### コロンビアCNA5%ヒツジ血液寒天培地:

37°C培養で108菌について性能を検討しました。( *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, グループDレンサ球菌 / 腸球菌, *Streptococcus pneumoniae*, ブドウ球菌, *Listeria*属, グラム陰性桿菌、グラム陽性桿菌, 嫌気性菌)

#### 発育支持能:

*Bacillus*属を除きすべてのグラム陽性菌は24時間以内で発育しました。

#### 選択性:

グラム陰性菌26株中23株について48時間の間発育を阻害しました。

*Bacillus* 属 2 株が発育を阻害されました。

#### 溶血性:

下記の溶血性が24時間培養後に観察されました。

- $\beta$  溶血 - *Streptococcus pyogenes* 14 株, *Listeria monocytogenes* 3 株。  
注:  $\beta$  溶血性を特徴としてもたない菌種: ある種のブドウ球菌と *Streptococcus agalactiae* も  $\beta$  溶血を生じました。
- $\alpha$  溶血 - *Streptococcus pneumoniae* 9 株, *Erysipelothrix rhusiopathiae* 2 株。

**留意事項**

菌の発育の度合いは微生物各個体の要求性に左右されます。そのため特殊な発育条件(基質、温度、培養環境など)を必要とする株の場合、培地上で発育しないことがあります。

**chromID™ CPS® Elite 寒天培地:**

- 特定の菌種は、*E. coli*(*Citrobacter*)と同様の特徴的な色のコロニーを生成します。
- *Enterococcus* 属以外の菌種において青緑色のコロニーを形成するものがあります:例) *Streptococcus agalactiae*, (3)。
- $\beta$ -グルコシダーゼを含有する *Proteus vulgaris* のある菌種では、緑色コロニーを形成し培地を褐色に着色するあるいはしない場合があります。

**コロムビアCNA5%ヒツジ血液寒天培地:**

- ある種のグラム陰性菌が発育する場合があります。

**廃棄処理**

使用済みもしくは使用していない試薬の廃棄は他の汚染した廃棄材料と同様、感染性もしくは感染の危険のある製品の取り扱い方法に従って行って下さい。起こりうる危険を適切に考慮の上、各検査室の責任の元、廃棄産物や流出物はそれぞれの有害毒性や度合いを考慮し、地域の適切な規制に従って廃棄して下さい。

**参考文献**

1. MONGET D., ORENGA S., PEYRET M., ROGERDALBERT C. (2008) Milieu de détection et/ou d'identification des bactéries. PCT/FR2008/050185, WO 2008/104681, 1-12.
2. ORENGA S., JAMES A.L., PERRY J.D., PINCUS D.H. (2009). Enzymatic substrates in microbiology. Journal of Microbiological Methods, 79: 139-155.
3. ELLNER P.D., STOESEL C.J., DRAKENFORD E. and al. - A new culture medium for medical bacteriology - Am. J. Clin. Pathol., 1966, vol. 45, p. 502 - 504.
4. SAVARINO A., PRATTICHIZZO F.A., MATTEI R. et al. - Importance of Streptococci and in particular of the Enterococci in urinary tract infections. - Quad. Sclavo. Diagn., 1987 sept, vol. 23, n°3, p. 312-317.
5. McCARTER Y. S., BURD E. M., HALL G. S. and ZERVOS M. (2009) - Cumitech 2C - Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections - Coordinating ed., S. E. Sharp - ASM Press, Washington, DC.
6. European Manual of Clinical Microbiology (1st edition) - ISBN: 978-2-87805-026-4.
7. Statement - NA - 416172 - 416173 - 418206 - 418284 - Certificate of compatibility.pdf. <http://www.biomerieux.com/techlib>.
8. Statement - NA - 43071 - 43079 - Certificate of compatibility.pdf. <http://www.biomerieux.com/techlib>

**記号**

記号	内容
	品番
	製造元
	保管温度
	使用期限
	ロット番号
	添付文書を参照
	<n>回分の試験を含む
	直射日光を避けてください

(問い合わせ先)

製品関連

シスメックス株式会社 CSセンター

〒651-2241 神戸市西区室谷1丁目3番地の2

TEL: 0120-265-034

注文・納期・在庫関連

シスメックス・ビオメリュー株式会社

〒141-0032 東京都品川区大崎一丁目2番2号

大崎セントラルタワー8階

TEL: 03-6834-2669(代表)



シスメックス・ビオメリュー株式会社

東京都品川区大崎一丁目2番2号

大崎セントラルタワー8階

Tel: 03-6834-2669 / Fax: 03-6834-2667

<http://www.biomerieux.co.jp>

bioMérieux SA

Chemin de l'Orme

69280 Marcy-l'Etoile - France

RCS LYON 673 620 399

Tel. 33 (0)4 78 87 20 00

Fax 33 (0)4 78 87 20 90

[www.biomerieux.com](http://www.biomerieux.com)