chromID VRE New (VRE)

chromID VRE New Agar (VRE)

獲得性バンコマイシン耐性*Enterococcus faecium* および*E. faecalis*(VRE)検出および鑑別用色素産生選択分離培地

概要

chromID VRE New はリスクを有する患者対象のバンコマイシン耐性 *Eterococcus faecium* および *E. faecalis*(VRE)検出用色素産生選択分離培地です(1)。

chromID VRE New は *Eterococcus faecium* および *E. faecalis* の鑑別を可能にします。

獲得性バンコマイシン耐性(主に VanA 型と VanB 型) *Enterococcus faecium*、*E. faecalis* は、医療関連感染症の原因になり得る多剤耐性菌です(2)。本耐性菌の検出は、感染症の予防、疫学的調査および *vanA* 遺伝子の転移によるバンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌(VRSA)の出現の予防に特に重要です(3、4)。

本培地は従来の感受性試験に代わるものではありません。

原理

chromID VRE New(特許申請中)は数種類のペプトンを含む豊富な栄養培地です。本培地には 2 種類の発色基質とバンコマイシン(8 µg/mL)を含み抗生物質ミクスチャーにより下記を可能にします:

- VRE を特異的かつ選択的に分離します。
- *E. faecium*と*E. faecalis*をコロニーの色により直接検出が可能です 。
  - *E. faecium*: β-ガラクトシダーゼ産生株は紫色を呈します。
  - *E. faecalis*: α-グルコシダーゼ産生株は青緑色コロニーを呈します。

抗生物質ミクスチャーは以下を抑制します。

- 獲得性バンコマイシン耐性を示さない腸球菌の発育
- バンコマイシン自然耐性の腸球菌(VanC フェノタイプ: *E. gallinarum* と *E. casseliflavus*)の発育
- ほとんどのグラム陰性およびグラム陽性菌、酵母様真菌、カビ

キット構成

	調整済み培地:
REF 43 004	20 枚 (90 mm)
	VRE *

* 各シャーレに印字

組成

精製水中の組成(g/L)

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:

カゼインと肉ペプトン (ブタまたはウシ)	18 g
ハートペプトン (ブタまたはウシ)	3 g
コーンスターチ	1 g
塩化ナトリウム	6 g
寒天	15.0 g
発色基質ミクスチャー	0.12 g
抗生物質ミクスチャー	52.3 mg
精製水	1 L

pH 7.2

必要な試薬と器材

- ふ卵器
- バンコマイシンディスク(30 µg).
- ブレインハート インフュージョン ブイヨン (品番 42 081) (9 mL 試験管培地).

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。**
- 本培地は動物由来の原料を含みます。由来の関する知識、由来動物の衛生状態は感染性のある病原体がいないことを保証するものではありません。これらは潜在的に感染の可能性があるものとして、充分注意の上お取扱い下さい(摂取または吸入しないで下さい)。
- すべての検体、微生物培地、そして検体を接種した製品は伝染性であるものとして適切にお取扱い下さい。試験に用いる細菌グループの無菌操作と通常操作の留意事項は以下のガイドラインに基づきお取扱い下さい。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 または各国の規制のガイドラインに従ってください。
- 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または水分の浸出している培地は使用しないで下さい。
- 一枚の培地に一検体のみを使用して下さい。
- 結果の判定は単一コロニーで行って下さい。
- 本培地に沈殿物やわずかなハローが形成されることがありますが、製品の品質には問題ありません。
- 試験結果の解釈は、患者の背景、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

- **有効期限まで 2-8℃下で外箱に入れて保存して下さい。**
- 外箱から出して保存する場合には、セロファン袋に入れ、**暗所**、2-8℃下で 2 週間まで保存可能です。

検体

あらゆる検体を使用することができます: 便、肛門スワブ。

これらの検体は直接あるいは *van*B 型遺伝子をもつ *Enterococcus* 属の検出率を高めるために増菌したのち、本培地に塗布して下さい(使用法参照)。

- VRE を効率よく検出するために液体輸送培地付きスワブ(フロックドスワブを推奨)を使用することをお勧めいたします。
- 水酸化ナトリウム、グルコン酸クロルヘキシジンのような消毒剤を含む薬剤を投与されている患者から分離された VRE は発育が抑制される可能性があります。

検体の採取および輸送は GLP(Good laboratory practices)に準拠し、適切に処理して下さい。

使用法

検体塗布と結果読み取りを行う場合を除き、この培地を光に暴露しないで下さい。

1. **暗所で培地を室温に戻します。**

2. 検体を塗布します:
   ーchromID VRE New 上に直接接種します。
   ーあるいは 3.3 µg/mL(30 g バンコマイシンディスク 1 枚)バンコマイシンを含むブレインハート インフュージョンブイヨンで 37℃、18-24 時間増菌後、chromID VRE New 上に塗布します。
3. フタを下側にして 37℃、好気環境の暗所にて培養して下さい。通常 24 時間培養後に結果の読み取りを行います。結果が陰性(菌が生えない、発色が見られない)場合にはさらに 24 時間培養して下さい。

判定

培養後、微生物の発育および単離したコロニーの色を観察します。バンコマイシン耐性(VRE)を獲得した *E. faecium* および *E. faecalis* は以下の特徴を示します:

- **紫色コロニー**: ***E. faecium***
- **青緑色コロニー**: ***E. faecalis***

特徴的な色を示すコロニーがグラム陽性球菌であることを確認して下さい。

品質管理

プロトコール:
本培地の発育支持力および選択性は下記の菌株を用いて行われました。

- *Enterococcus faecium* ATCC® 700221
- *Enterococcus faecalis* ATCC® 51299
- *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212

精度管理限界値:

菌株	33-37°C の試験結果
Enterococcus faecium (*van*A) ATCC® 700221	24 時間以内に発育 紫色のコロニーを形成
Enterococcus faecalis (*van*B) ATCC® 51299	24 時間以内に発育 青緑色のコロニーを形成
Enterococcus faecalis ATCC® 29212	48 時間以内は 発育抑制

注意:
培地の用途を考慮し、適切な規制(頻度、菌株の数、培養温度、培養時間等)に従って品質管理を実施されることをお勧めします。

留意事項

- 獲得性バンコマイシン耐性を示す *E. gallinarum* および *E. hirae* のとても稀な株が chromID VRE New 上で発育し、典型的なコロニーを示すことがあります。
- 腸球菌以外の微生物(真菌、グラム陰性桿菌, *Pediococcus* 属を含む)は本培地に発育し、典型的なコロニーを示すことがありますが、異なる形態を示します。
- 発育の度合いは、微生物各個体の栄養要求性に左右されます。それために、ある種の獲得性バンコマイシン耐性 *E. faecium* と *E. faecalis* は特殊な栄養要求性(基質、温度、培養時間など)を示すため、発育しないかあるいは典型的なコロニーを示さない場合があります。
- 多量の検体を直接本培地に塗布した場合は、培養 48 時間後は接種した部位に典型的なバンコマイシン感受性 *E. faecium* と *E. faecalis* が観察されることがあります。

性能

chromID VRE New (品番43004)とchromID VRE (品番43002)を用い、18－24時間培養後(D1)と48時間培養後(D2)についてそれぞれ比較検討しました。
2つの性能評価は540件のヒト検体(便、肛門スワブ)を用い、カナダとアメリカで行なわれました。検体は培地に直接接種あるいはバンコマイシンディスクを含むブレインハート・インフュージョン・ブイヨンで18－24時間増菌した後、培地に接種し、37℃で培養しました。62検体は2種類の培地のうち少なくとも一つで陽性(*E. faecium vanA*および*vanB*)となりました。
注意:分離された全てのVRE株は*E. faecium*でした。収集株を用いた社内試験では*E. faecalis*の検出率と*E. faecium*と同等と結果が得られています。

増菌なし
VRE の検出感度(95%信頼区間)

	chromID™ VRE New (品番 43004)	chromID™ VRE (品番 43002)
D1	*64.1%* [47.2-78.8] ***van*A: 10/12** ***van*B: 15/27**	*59%* [42.1-74.4] ***van*A: 10/12** ***van*B: 13/27**
D2	*97.4%* [86.5-99.9] ***van*A: 11/12** ***van*B: 27/27**	*97.4%* [86.5-99.9] ***van*A: 11/12** ***van*B: 27/27**

VRE の特異度(95%信頼区間)

	chromID™ VRE New (品番 43004)	chromID™ VRE (品番 43002)
D1	*98.8%* [97.4-99.6] **495/501**	*98.4%* [96.9-99.3] **493/501**
D2	*95,6%* [93.4-97.2] **479/501**	*94.4%* [92-96.3] **473/501**

選択増菌後(使用法参照)
VRE の検出感度(95%信頼区間)

	chromID™ VRE New (品番 43004)	chromID™ VRE (品番 43002)
D1	*69%* [55.5-80.5] ***van*A: 11/12** ***van*B: 29/46**	*65.5%* [51.9-77.5] ***van*A: 11/12** ***van*B: 27/46**
D2	*94.8%* [85.6-98.9] ***van*A: 12/12** ***van*B: 43/46**	*91.4%* [80-97.1] ***van*A: 11/12** ***van*B: 42/46**

VRE の特異度(95%信頼区間)

	chromID™ VRE New (品番 43004)	chromID™ VRE (品番 43002)
D1	*98.1%* [96.5-99,1] **473/482**	*96.9%* [94.9-98.3] **467/482**
D2	*97.9%** [96.2-99] **472/482**	*94.8%** [92.4-96.6] **457/482**

* choromID VRE New (品番 43004)は chromID VRE (品番 43002)よりも明らかに高い特異度が得られた。

陰性的中率(VPN)

	chromID™ VRE New (品番 43004)		chromID™ VRE (品番 43002)	
	直接接種	ブレインハート・インフュージョン・ブイヨンで増菌後	直接接種	ブレインハート・インフュージョン・ブイヨンで増菌後
D1	*92.7%* [90.1-94.8]	*95.5%* [93.3-97.2]	*92.3%* [89.7-94.5]	*95.1%* [92.8-96.8]
D2	*95%* [92.7-96.8]	*98.5%* [97-99.4]	*94.9%* [92.6-96.7]	*98.1%* [96.3-99.1]

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危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. MUTO C.A., JERNIGAN J.A., OSTROWSKY B.E. *et al.* – Guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.*, 2003, Vol. 24, p. 362-386.
2. YESIM CETINKAYA, PAMELA FALK, and C. GLEN MAYHALL – Vancomycin-Resistant Enterococci. Clinical Microbiology Reviews, Oct. 2000, p. 686-707.
3. TACCONELLI E. – New strategies to identify patients harbouring antibiotic-resistant bacteria at hospital admission. Clin. Microbiol. Infect., 2006, Vol. 12, p. 102-109.
4. TENOVER F.C., WEIGEL L.M., APPELBAUM P.C. *et al.* – Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolate from a Patient in Pennsylvania. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* – Jan. 2004, Vol. 48, N°1, p. 275-280.
5. NAAS T., FORTINEAU N., SNANOUDJ R. *et al.* – First nosocomial outbreak of Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* expressing a VanD-like phenotype associated with a *van*A genotype. *J. Clin. Microbiol.* – Aug. 2005, Vol. 43, N°8, p. 3642-3649

記号

記号	内容
REF or **REF**	品番
	製造元
	保管温度
	有効期限
LOT	ロット番号
	使用手順を参照
	試験可能数
	遮光保存

(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: 03-6834-2666(代表)

BIOMÉRIEUX

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

bioMérieux sa
69280 Marcy-l'Etoile/France
Tel.33(0)4 78 87 20 00 /
Fax33(0)4 78 87 20 90
http://www.biomerieux.com

The logo is a registered and protected trademark of bioMérieux sa or one of its subsidiaries.