

chromID MRSA (MRSA)

chromID MRSA agar (MRSA)

メチシリン耐性 *Staphylococcus aureus* のスクリーニング用色素産生選択分離培地

用途

chromID MRSA は、慢性保菌者または MRSA のリスクを有する患者のメチシリン耐性 *Staphylococcus aureus* のスクリーニング用色素産生培地です(1,7)。この培地は、従来の感受性試験に代わるものではありません。

MRSA は、院内感染を引き起こす多剤耐性菌です(3, 4, 9)。MRSA 保菌者の検出は、疫学的予防とこれらの感染症の追跡調査のために特に重要です。このような状況において、chromID MRSA は MRSA の積極的な監視に役立ちます。

原理

chromID MRSA は異なる種類のペプトンを組み合わせた豊富な栄養基礎培地で構成されています。また、 α -グルコシダーゼの発色基質とセフォキシチンを含むいくつかの抗生物質を組み合わせるにより、以下を可能とします(2, 6)：

- ヘテロ耐性株を含むメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)の発育。
- α -グルコシダーゼ活性の検出による MRSA 株の直接検出(特許登録済み)：緑色コロニー。

抗生物質ミクスチャーは *Staphylococcus* 属以外のほとんどの細菌と真菌の発育を抑制します。

キット構成

調整済み培地	
REF 43451	平板培地 10 枚(90mm) × 2 パック MRSA*

*各シャーレに印字

組成

精製水中の組成(g/l)

植物性ペプトン、動物性ペプトン(ブタまたはウシ)	20.1
トリス	0.65
発色基質ミクスチャー	0.4
抗生物質ミクスチャー	4.1
寒天	13
pH 7.3	

必要な器材

- ふ卵器
- ブレインハートインフュージョンブイオン(品番 42081)
- トッド・ヒューイット CNA ブイオン(品番 42116)

使用上の注意

- *in vitro* 試験のみにおいて使用して下さい。
- 熟練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。由来に関する知識、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のあるものとして、充分注意の上お取り扱い下さい(摂取または吸入しないで下さい)。
- 全ての検体、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り扱い下さい。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り扱い下さい。安全ガイドライン：CLSI M-29A, «Protection of Laboratory Workers from instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue,

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または水分の浸出している培地は使用しないで下さい。
- 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。
- 性能試験は、この添付文書の操作方法に従い、37°Cで培養した結果を示しています。操作方法を変更すると結果に影響を及ぼすことがあります。

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。
- 箱開封後セロファン袋中では、2-8°C、暗所で2週間保管可能です。

検体

あらゆる検体を使用することができます(主に：鼻、咽頭、会陰など)。鼻および咽頭から採取した検体のみ栄養豊富な液体培地に接種し、増菌した後、寒天培地に接種することができます。

採取や輸送に関しては GLP(Good Laboratory Practices)に準拠し、検体の種別によって適切に処理して下さい。

使用法

A. 直接接種

1. 培地を室温に戻します。
2. 検体を直接 chromID MRSA 上に接種します。
3. フタを下側にして 37°Cで好気培養して下さい。通常 18–24 時間培養後に結果の読み取りを行ないます。18 時間培養後に陽性結果が得られた場合には、これを最終結果として判定を行って下さい。もしも 18 時間培養後も結果が陰性であった場合(発育、発色がみられない)には 24 時間まで培養を延長して下さい。24 時間培養後に結果が陰性の場合には、さらに 24 時間培養を延長することにより、検出感度を上げることができます。

B. 増菌後接種

1. 検体を増菌培地(ブレインハートインフュージョンもしくはトッド・ヒューイット CNA ブイオン)に接種します。
2. 37°C、18-24 時間培養を行ないます。
3. 本培地を室温に戻します。
4. 増菌培地から菌を採取し、chromID MRSA に塗抹して下さい。
5. フタを下側にして 37°Cで好気培養して下さい。通常 18–24 時間培養後に結果の読み取りを行ないます。

性能試験は、この添付文書の操作方法に従い、37°Cで培養し、得られた結果を示しています。培養温度を変更する場合には性能をご確認の上実施する必要があります。

注意：試験条件(増菌培養の有無、培養時間等)は地域の疫学的背景を必ずご考慮の上選択して下さい。

判定

1 つ以上の典型的なコロニーを形成した場合には陽性 (MRSA) と判定して下さい。培地に十分なコロニーが発育した場合には緑色コロニーはより鮮明なコロニーを形成します。

A. 直接接種

- 18-24 時間培養後、微生物の発育とコロニーの出現を観察します。鼻由来の検体において典型的な緑色のコロニーが形成された場合には MRSA と判定します。他の検体で、典型的なコロニーが形成された場合は生化学性状試験や免疫学的試験により *S. aureus* であることを確認し、同定が確認された場合にはメチシリンに対する耐性を確認して下さい。
- 48 時間培養した後、典型的なコロニーが形成された場合には検体に関わらず、同定確認を実施して下さい。

B. 増菌後接種

- 18-24 時間培養後、典型的なコロニーは同定確認を実施して下さい。

品質管理

プロトコール:

本培地の発育支持能は、下記の標準菌株を用いて試験を行いません。

- Staphylococcus aureus* ATCC 43300
- Staphylococcus aureus* ATCC 29213

精度管理限界値:

使用菌株	33-37°Cでの試験結果	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	24 時間以内に発育	緑色コロニー
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	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、菌株数、培養温度)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

- mecA* 遺伝子を保有するもののセフォキシチンに対して低い MIC 値 ($\leq 4 \mu\text{g/ml}$) を示すある種の *S. aureus* 株は、この培地に発育しないことがあります。
- 24 または 48 時間培養後、*mecA* 遺伝子を保有しないある種の *S. aureus* 株は、この培地上で特徴的なコロニー(緑色コロニー)を形成することがあります。
- ある種のコアグラウゼ陰性ブドウ球菌は、薄緑色のコロニーを形成することがあります。ただし 48 時間培養の後、この結果を得た場合は陰性と考えるべきです。
- S. aureus* 以外のある種の細菌 (*Bacillus*、グラム陰性桿菌、腸球菌、ESBL 株) は、MRSA と鑑別可能な外観の異なる緑色コロニーを形成します。
- chromID MRSA 上のコロニーを用いて感受性試験を行なう場合、グリコペチド系薬剤においては、正しい結果が得られない可能性があります。これらの抗生物質では、結果は耐性傾向となります。

性能

3 ヶ所においてヒト臨床検体を用いて MRSA 保菌者のスクリーニングに関する性能を検討しました。

検討 1(フランス)(8)は鼻腔スワブ検体 278 件(凍結検体、陽性と推測される検体 28 件を含む)を用いて実施されました。ピオメリューの chromID MRSA は他 2 種類の培地と比較され

ました:

- 市販のスクリーニング培地の特徴的なコロニーはコアグラウゼ試験により確認する必要があります。
- 疑わしいコロニーの確認試験と組み合わせてコロンビア CNA5%ヒツジ血液寒天培地を使用しました(コアグラウゼ試験および PCR による *mecA* 遺伝子の検出)。

寒天培地に直接検体を接種しました。結果の判定は 33-37°C 好気培養で、18-24 時間培養後と 48 時間培養後に行ないました。

45 検体(凍結検体 23 件を含む)は 3 種類の培地のうち少なくとも 1 種類で陽性となりました。

	MRSA の回収率		
	chromID MRSA	他の培地	CNA + コアグラウゼ試験 + <i>mecA</i> 検出
18-24h	42/45 (S=93.3%) (Sp=98.7%)	38/45 (S=84.4%) (Sp=88.8%)	42/45
48h	43/45 (S=95.6%)	43/45 (S=95.6%)	43/45

S: 検出感度

Sp: 特異度

検討 2(ベルギー)(5)は鼻腔(363 件)、咽頭(47 件)、会陰(46 件)関連スワブまたはその他のタイプの検体(35 件)を含む 491 検体を用いて実施されました。ピオメリューの chromID MRSA はコロンビア 5%ヒツジ血液寒天培地(COS)と比較されました。確認試験(コアグラウゼ試験および PCR による *mecA* 遺伝子の検出)も合わせて実施されました。

検体は寒天培地上に直接接種しました。

結果の判定は 33-37°C 好気培養し、18-24 時間培養後と 48 時間培養後に行ないました。

55 検体はどのような方法においても 2 種類の培地のうち少なくとも 1 種類で陽性となりました。

	直接接種	
	chromID MRSA	COS+コアグラウゼ試験 + <i>mecA</i> 検出
18-24h	35/55 (S=63.6%) (Sp=99.8%)	30/55
48h	54/55 (S=98.1%)	38/55

S: 検出感度

Sp: 特異度

検討 3(ベルギー)は鼻腔スワブ検体 119 件、咽頭スワブ検体 355 件およびスワブ以外の他の咽頭検体 296 件を含む 770 検体を用いて実施されました。

検体は直接培地上、またはブレインハートインフュージョンブイオンおよびトッド・ヒューイット CNA ブイオンを用い増菌後に接種されました。

結果の判定

直接接種: 33-37°C 好気培養し、22-24 時間培養後と 48 時間培養後に結果判定を行ないました。

増菌後培養: 18-24 時間培養後に結果判定を行ないました。

	chromID MRSA 上に直接接種		ブレインハートインフュージョ ンブイオンで増菌後に 接種		トッド・ヒューイット CNA ブイオンで増菌に接種	
	鼻	咽 頭	鼻	咽 頭	鼻	咽 頭
18-24h	17/22 S=77.3 % Sp=100 %	15/22 S=68.2 % Sp=97.9 %*	21/22 S=99.5 % Sp=98.7 %*	17/22 S=77.3 4% Sp=90.7 %*	20/22 S=90.9 % Sp=95.9 %*	19/22 S=86.4 % Sp=92.2 %*
48h	19/22 S=86.4 %	17/22 S=77.3	N/A	N/A	N/A	N/A

S:検出感度 Sp:特異度 *確認試験実施せず

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. NAHIMANA I., FRANCIOLI P., BLANC D. S. – Evaluation of three chromogenic media (MRSA ID, MRSA-Select and CHROMagar MRSA) and ORSAB for surveillance cultures of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. – *J. Clin. Microbiol. and Infect.*, 2006.
2. DAVIES A., PERRY J.D., BUTTERWORTH L.A. et al – An evaluation of MRSA ID: a new chromogenic medium for the isolation and identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. - R2151, Pragues (République Tchèque) 2004 14th, ECCMID.
3. LELIEVRE H. , LINA G., JONES M. E. et al. – Emergence and spread in French hospitals of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with increasing susceptibility to gentamicin and other antibiotics. – *J. Clin. Microbiol.*, Nov. 1999, vol. 37, n°11, p. 3452-3457
4. 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.
5. NONHOFF C., STRUELENS M.J., BRENNER A. et al. -Comparison of MRSA ID medium and enrichment broth culture for detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* carriers by muco-cutaneous surveillance cultures. -Poster, Copenhagen (Danemark) 2005 15 th, ECCMID.
6. PERRY J.D., RENNISON C., BUTTERWORTH L.A. et al. –Evaluation of S. aureus ID, a new chromogenic agar medium for detection of *Staphylococcus aureus*. - *J. Clin. Microbiol.*, Dec. 2003, vol. 41, p. 5695-5698.

7. PERRY J.D., DAVIES A., BUTTERWORTH L.A. et al. –Development and evaluation of a chromogenic agar medium for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. - *J. Clin. Microbiol.*, Oct 2004, vol. 42, n° 10, p. 4519-4523.
8. REVERDY M.E., ORENGA S., ROCHE J.M. et al. -Multiresistant bacteria screening: clinical evaluation of MRSA ID, a new chromogenic medium for the screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. - Poster, Copenhagen (Danemark) 2005 15 th, ECCMID
9. SEVIN E., LARMARAUD-SEVIN O., LEGRAND P. –Approche moléculaire de la résistance à la méticilline de *Staphylococcus aureus*. - *Revue française des laboratoires*, 1999, vol. 315, p. 25-31.
10. C. Nonhoff, O. Denis, A. Brenner, P. Buidin, C. Thiroux, M. Struelens.(Brussels, BE) Comparison of three chromogenic media for rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from screening swabs in hospitalized patients
ECCMID MUNICH 31.03.2007 au 03.04.2007 poster n° 1605

記号

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

(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

臨床(病院、臨床検査センターなど) TEL: 0120-265-034

産業(企業、保健所など) TEL: 0120-022-328

注文・納期・在庫関連

シスメックス・ビオメリュー株式会社

TEL: 03-6834-2666(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

bioMérieux sa
69280 Marcy-l'Etoile/France
Tel.33(0)4 78 87 20 00 /
Fax133(0)4 78 87 20 90
<http://www.biomerieux.com>

