

chromID ESBL (ESBL)**chromID ESBL agar(ESBL)**

基質特異性拡張型 -ラクタマーゼ産生(ESBL)腸内細菌のスクリーニング用色素産生選択分離培地

用途

chromID ESBL は慢性保菌者および患者対象の基質特異性拡張型 -ラクタマーゼ産生腸内細菌のスクリーニング用色素産生選択分離培地です (1, 2, 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。

ESBL 産生腸内細菌は多剤耐性菌であり、院内感染を引き起こす原因菌です(5)。ESBL 産生腸内細菌の保菌者の検出はこれらの感染症の予防、疫学的調査および伝播防止に非常に有用であり、chromID ESBL を使用することにより ESBL 産生腸内細菌を効率よくモニタリングすることが可能です。

原理

chromID ESBL (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。本培地中には下記の成分が含まれています：

- 抗生物質ミクスチャー：セフポドキシム(1)を含み、ESBL 産生腸内細菌を選択的に分離します。
- 2種類の発色基質と1種類の天然基質により ESBL 産生腸内細菌を直接同定します。
- *Escherichia coli*: β-グルクロニダーゼ産生株(β-GUR)はピンク色からワインレッド色を呈します(6)。
- *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* (KESC): β-グルコシダーゼ (β-GLU)産生株は緑色、茶色がかかった緑色または青色を呈します。

Proteaceae (*Proteus*, *Providencia*, *Morganella*) : デアミナーゼ産生株はこげ茶色から明るい茶色を呈します。

菌名または属名を直接同定できますが、ESBL 産生を確認するために追加試験を行う必要があります。

キット構成

REF 43 481	調整済み培地:
	平板培地 20 枚 (90 mm) ESBL *

* 各シャーレに印字

組成

ペプトン (ブタまたはウシ)	17.2 g
L-トリプトファン	0.9 g
Hepes 緩衝剤	0.4 g
発色基質ミクスチャー	6.87 g
抗生物質ミクスチャー	0.38 g
寒天	18 g
精製水	1 L

pH 7.3

必要な試薬と器材**試薬:**

- インドール・TDA 試薬 (Ref. 56 541)
- JAMES 試薬 (Ref. 70542)
- オキシダーゼ試薬 (Ref. 55 635)

器材:

- ふ卵器
- ろ紙

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。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®/NCCLS M-29A, «*Protection of Laboratory Workers from 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。
- 本培地は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。
- パッケージの破損した製品は使用しないで下さい。
- コント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。
- 色調変化の観察が困難となる可能性があるため、培地上のコロニーで直接インドール試験を行うことは避けて下さい。
- 1 枚の培地に対して 1 検体のみを使用して下さい。
- 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。
- 性能試験はこの添付文書に従った使用方法にて得られ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

- **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、直腸スワブ、尿、気道分泌液およびその他の検体。これらの検体は増菌せず、直接本培地に塗布して下さい。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

1. **培地を室温に戻します。**
2. 検体を直接 chromID ESBL に塗布します。

3. 蓋を下にし、好気環境 37 °C で 18-24 時間培養して下さい。

結果が陰性の場合：無色のコロニーはオキシダーゼ試験を実施して下さい(留意事項をご参照下さい)。あるいは検出感度を高めるためにさらに 24 時間培養をして下さい。使用者は最新の標準法に従い、使用目的に応じて適切な温度で培養して下さい。

判定

培養後、微生物の成長およびコロニーの外観を観察して下さい。

ESBL 産生腸内細菌は以下の特徴的な色を示します。

- **ピンク色からワインレッド色**のコロニーあるいは中心部がピンク色からワインレッド色をした半透明のコロニー：*E. coli*
- **緑色コロニー、茶色がかった緑色、青色コロニー**：KESC グループ
菌名を同定するにはさらに生化学試験を行って下さい。
- **こげ茶色から明るい茶色**コロニーあるいはコロニーの大きさは：*Proteae* 属
菌名を同定するにはさらに生化学試験を行って下さい。

いずれの結果でも、ESBL 産生は必ず確認して下さい。

品質管理

プロトコール：

本培地の栄養度および選択性は下記の標準菌株を用いて確認することができます：

- *Klebsiella pneumoniae* ATCC® 700603
- *Escherichia coli* CIP 105903
- *Escherichia coli* ATCC® 25922

精度管理範囲値：

菌種	33-37 °C での試験結果	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC® 700603	24 時間以内に発育	24 時間以内に緑色コロニー
<i>Escherichia coli</i> CIP 105903	24 時間以内に発育	24 時間以内にピンク色コロニー
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	48 時間以内に発育せず	

注意：

培地の用途を考慮し、適切な規制(頻度、菌株数、培養温度および時間など)に従って品質管理を実施されることをお勧めいたします。

留意事項

ESBL 産生腸内細菌が無色コロニーを形成することがあります(特に、*-*グルクロニダーゼをもたない *E. coli* (7)および ESBL 産生が弱く、発育の遅い *P. mirabilis*)。無色コロニーでオキシダーゼ陰性が観察された場合、ESBL 産生菌の疑いがあるため、必ず確認試験を実施して下さい。

- ESBL 産生腸内細菌以外の多剤耐性菌が培地上で発育し、典型的なコロニーを形成することがあります。

● *Pseudomonas* 属は茶色コロニーを示す場合があります。オキシダーゼ試験を行うことにより *Proteae* と区別できます。

● ESBL 非産生腸内細菌が本培地で発育することがあります。これらの菌株はセファロスポリナーゼ高度産生(*E. coli*, *Enterobacter*, etc.) もしくはペニシリナーゼ(K1)高度産生 *Klebsiella oxytoca* である場合がほとんどです。

● *E. coli* 以外のある種の腸内細菌(*Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Salmonella* spp, など)の非典型株はピンク色からワインレッド色を示すことがあります。このような性状の細菌の分離率が高く、地域分布が特徴的である場合には、インドール試験を実施して下さい。

- インドール試験が陽性(インドール・TDA 試験で青色もしくは JAMES 試験でピンク色から赤色)の場合には *E. coli* と同定されます。

- インドール試験が陰性の場合には追加同定試験を行って下さい。

● 培地上に複数菌が存在する場合は、サブカルチャー後、インドール試験を行って下さい。

● 菌の発育度合いは各微生物の栄養要求性に左右されず(特に、*Proteae*)。そのため特殊な発育条件(基質、温度、培養環境など)を必要とする株は発育しない場合があります。

性能

性能はフランスの 2 施設(同様の操作方法による)と、ベルギーの 1 施設で評価を行いました。検体材料は患者および ESBL 産生腸内細菌スクリーニング対象慢性保菌者から採取した腸管スワブ、尿、気管支分泌物を用いました。検体は直接寒天培地に塗抹し、好気環境下で 37 °C、18-24 および 48 °C 培養後に結果の読み取りを行いました。

評価 1 (ベルギー) 173 検体を用いて検討しました。chromID ESBL はマッコンキー寒天培地およびセフトジジムディスクを用いた別法と比較検討を行いました。この培地上で、ディスクの周囲の阻止円の内側に発育したコロニーは ESBL の疑いがあり、確認試験を行う必要があります(菌種名および ESBL 産生の確認)。

19 検体は両培地の内少なくとも 1 つの培地で陽性の結果になりました。

	ESBL 産生腸内細菌の検出率	
	chromID ESBL (ESBL 産生確認の追加試験を実施)	マッコンキー-寒天培地 + セフトジジム ディスク (菌種名と ESBL 産生確認の追加試験を実施)
18-24 時間	19/19 オキシダーゼ試験実施せず (PPV = 67.9% [48.96% ; 82.29%])	13/19 (PPV = 43.3% [27.1% ; 61.13%])
48 時間	19/19 オキシダーゼ試験実施せず (PPV = 57.6% [40.49% ; 73.03%])	13/19 (PPV = 38.2% [23.66% ; 55.29%])

CI: 95% 信頼区間

PPV: 陽性的中率

評価 2 (フランス) 765 検体については同じ操作方法に従い検討を行いました。chromID ESBL は市販のスクリーニング培地(マッコニキ-寒天培地+セフトジジムとドリガルスキ-寒天培地+セフトキシムの分画培地)と比較検討を行いました。分画培地で発育がみられたすべてのコロニーは ESBL の疑いがあり、ESBL 産生および菌種名の確認をする必要があります。

32 検体は両培地のうち少なくとも 1 つの培地で陽性になりました。

ESBL 産生腸内細菌の検出率		
	chromID ESBL (ESBL 産生確認の追加試験を実施)	マッコニキ-寒天培地 + セフトジジム / ドリガルスキ-寒天培地+セフトキシム (菌種名と ESBL 産生確認の追加試験確認を実施)
18 - 24 時間	29/32 オキシダーゼ試験実施せず 32/32 オキシダーゼ試験実施* (PPV = 41.4% [30.43% ; 53.35%])	27/32 (PPV = 17% [11.85% ; 23.73%])
48 時間	31/32 オキシダーゼ試験実施せず 32/32 オキシダーゼ試験実施 (PPV = 30.7% [22.4% ; 40.46%])	27/32 (PPV = 12.7% [8.79% ; 17.93%])

CI: 95% 信頼区間

PPV: 陽性的中率

* 本培地では、無色コロニーについてオキシダーゼ試験を実施し、もしもオキシダーゼ試験が陰性の場合には ESBL を確認することにより、24 時間後にはすべての陽性検体を検出できます。

注意: 性能は各地域の疫学(患者数、菌種および ESBL の種類等)により変動することがあります。

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物や度合いを考慮し、地域の適切な規制に従って廃棄して下さい。

参考文献

- PATERSON D., BONOMO R. - Extended-Spectrum B-lactamase: a clinical update - Clin. Microbiol. Rev. - 2005 - Vol. 18, N° 4 - p. 657-686.

- JACOBY G.A., MEDEIROS A.A. - More extended-spectrum β -lactamases - Antimicrob. Agents Chemother., 1991, vol. 35, p. 1697-1704.
- GLUPCZYNSKI Y., BERHIN C., BAURAING C. and BOGAERTS P. - Novel chromogenic medium from bioMérieux for detection of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* - Poster D-0457 - San Francisco (U.S), 2006 ICAAC.
- GLUPCZYNSKI Y., BERHIN C., BAURAING C. and BOGAERTS P. - Evaluation of a new selective chromogenic medium for detection of Extended-spectrum beta-lactamases-producing *Enterobacteriaceae* - J Clin Microbiol - February 2007, Vol. 45, N°2, p. 501-505.
- JARLIER V. - Bactéries multirésistantes dans les hôpitaux français: des premiers indicateurs au Réseau d'alerte d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin), BEH, 2004, vol. 32-33, p. 148-151.
- KILIAN M., BULOW P. - Rapid identification of *Enterobacteriaceae* - II. Use of a β -glucuronidase detecting agar medium (PGUA Agar) for the identification of *E. coli* in primary cultures of urine samples. - Acta Path. Microb. Scand., 1979, vol. 87, p. 271-276.
- RALOVICH B., IBRAHIM G.A.M., FABIAN A. and al. - "Beta-D-Glucuronidase (BDG) activity of Gram-negative bacteria" - Acta Microbiol. Hung., 1991, vol. 38, p. 283-291.

記号

記号	内容
 REF もしくは REF	品番
	製造元
	保管温度
	有効期限
	ロット番号
	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・ピオメリユー株式会社

TEL: 03-6834-2666(代表)



シスメックス・ピオメリユー株式会社

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

