

**chromID™ Sakazakii (ESPM)***For microbiological control only***chromID™ Sakazakii Agar (ESPM)**乳幼児向け食品およびその製造環境由来検体における *E. sakazakii* の選択分離及び推定同定用発色基質培地**用途**

chromID™ Sakazaki は、L. Restaino らによる R&F *Enterobacter sakazakii* chromogenic plating medium (ESPM) の組成を元にしています(1,2)。  
本培地は食品および環境からの *E. sakazakii* の分離及び推定同定用選択発色基質培地です。  
*E. sakazakii* は乳幼児に重篤な感染症(髄膜炎等)を引き起こしうる日和見食中毒菌です。従って、主に粉乳等の乳幼児向け食品やこれらの製造環境から検出されます。  
本培地は、ISO/TS 22964:2006(3)やFDAのプロトコル(5)等で増菌後の選択分離に使用します。

**原理**

本培地は2種類の発色基質を含み、D-グルコピラノシダーゼとD-セロピオシダーゼの2種類の酵素活性を検出します。  
本培地に含まれる栄養源および炭素源により *E. sakazakii* は発育が促進され、基質を加水分解することにより青灰色～青黒色の典型的なコロニーを形成します。  
抗生物質により、ほとんどのグラム陽性菌、酵母および一部のグラム陰性菌の発育が抑制されます。  
典型的コロニーは24時間培養後に形成されます。  
本培地で得られる色調反応は以下の通りです。

糖アルコール (アドニトール - アラビトール and/or ソルビトール)	基質 (グルコシド and/or セロピオシド)	フェノールレッド 存在下での 色調	属もしくは種
+	-	黄色	腸内細菌 (酵素活性無し)
+	+	黄色～緑色	腸内細菌 (1つ以上の 酵素活性)
-	+	灰青色～黒 青色、稀に 緑色～黒色*	<i>E. sakazakii</i>
-	-	無色または 特有の色素 形成	非発酵菌

\*黄色のコロニーが存在する際は緑色のコロニーが生じる可能性があります。

<b>REF43741</b>	<b>調製済み培地</b> 平板培地 (90mm) 10 枚 × 2 パック ESPM*
-----------------	--

\*各シャーレに印字

**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：	
栄養基質(ウシまたはブタ).....	16g
酵母エキス.....	6g
アドニトール.....	8g
アラビトール.....	5g
ソルビトール.....	10g
塩化ナトリウム.....	5g
寒天.....	14g
指示薬.....	0.1g
抗生物質混合物.....	20ml
発色基質.....	0.25g
精製水.....	1l
pH6.9	

**必要な試薬および器材****試薬：**

- ペプトン緩衝液(Ref. 42042/42043/42111)
- mLST broth + バンコマイシン
- ID32E アピ(Ref. 32407)

**器材：**

- ふ卵器

**使用上の注意**

- **in vitro 試験、微生物試験にのみご使用下さい。**
- **熟練者のみご使用下さい。**
- 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 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。
- 色弱の傾向がある場合、本培地の判定は難しい場合があることをご了承下さい。
- 本培地は取扱い説明書に記載されている操作方法に従って使用して下さい。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で有効期限まで保管可能です。
- 光に暴露しないで下さい。

## 検体

検体の採取や処理に関しては、最新の標準法に従って下さい。

## 使用法

ISO/TS 22964:2006(3)やFDAのプロトコル(5)に従って増菌培養を実施します。

1. 培地を室温に戻します。
2. 37 °Cのインキュベーターで約10分間乾燥させ、余分な水分をとばします。
3. 増菌培地を本培地に接種します。
4. 35-37 °Cまたは41.5 °C、好気条件下で24時間培養します。

## 判定

- 培養後、
  - 典型的なコロニー(灰青色～黒青色、時に緑～黒色)を確認します。
  - 緑色と黄色のコロニーが混在する場合は緑色のコロニーを典型的と判断します。
- 典型的なコロニーは、ID32E アピ(4)などの生化学性状試験を実施して同定、確認します。
- コロニーの外見的特徴は培養48時間後までは維持されます。従って、48時間培養後にのみ確認することも可能です。

## 品質管理

本培地は厳格な品質への要望を満たすよう開発・製造されています。

各ロットの品質管理における菌株試験結果は試験成績書に記載されています(ご要望により提供致します)。

## 留意事項

- *E. sakazakii* 以外の菌株でも、本培地で発育し特徴的なコロニーを形成する場合があります(*E. amnigenus*, *E. cloacae* 等)。従って、増菌過程での選択性は重要です。
- 増殖の度合いは微生物各個体の要求性に左右されます。従って、特殊な要求性(栄養基質、培養温度等)を有する *E. sakazakii* の菌株は発育しないことがあります。

## 性能

- 乳幼児向け食品検体について、菌未接種のもの65件、および人為的に接種したもの30件を用い本培地の性能が評価されました。ペプトン緩衝液での前増菌培養およびmLST broth + バンコマイシンによる増菌培養を経て接種後、chromID™ Sakazakii は41.5 °Cで、培地AおよびBは44 °Cでそれぞれ24時間培養し、菌の増殖を確認しました。

24時間培養後の陽性数/試験数	ChromID™ Sakazakii	培地 A	培地 B
菌未接種	3/65	3/65	3/65
菌接種	30/30	30/30	30/30

- さらに、食品製造環境由来検体8件を用い、chromID™ Sakazakii の性能が評価されました。

24時間培養後の陽性数/試験数	ChromID™ Sakazakii	培地 A	培地 B
検体	1/8*	1/8	1/8

\*黄色のコロニーと混在することにより、コロニーが緑色を呈しました。chromID™ Sakazakii で継代培養後、これら緑色のコロニーは典型的な青黒色を呈しました。

## 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. Restaino L, Frampton EW, Lionberg WC, Becker J A chromogenic plating medium for the isolation and identification of *Enterobacter sakazakii* from foods, food ingredients, and environmental sources. J Food Prot 2006 Feb;69(2):315-22.
2. Restaino L., Frampton E.W., Lionberg W.C, Becker J. New chromogenic plating medium for the isolation of identification of *Enterobacter sakazakii* POSTER IAFP 2005 P1-49
3. Norme ISO/TS 22964 : 2006.Lait et produits laitiers –Détection d'*Enterobacter sakazakii*.
4. Fanjat N, Leclercq A, Joosten H, Robichon D Comparison of the Phenotyping Methods ID 32E and VITEK 2 Compact GN with 16S rRNA Gene Sequencing for the Identification of *Enterobacter sakazakii*. J. of Clinical Microbiology, June 2007, vol. 45 n°6, p 2048.2050.
5. Protocole FDA/CFSAN (2002) : Isolation and enumeration of enterobacter sakazakii from dehydrated powdered infant formula.

## 記号

記号	内容
 または 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
	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

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)

CLSI is a used, pending and/or registered trademark belonging to Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.



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>

bioMérieux, the blue logo VIDAS, SM and chromID are used, pending and/or registered trademarks belonging to bioMérieux SA or one of its