

chromID™ CARBA (CARB)

カルバペネマーゼ産生腸内細菌科 (CPE) のスクリーニング用色素産生選択分離培地

用途

chromID™ CARBA は、カルバペネマーゼ産生腸内細菌科 (CPE) のスクリーニング用色素産生選択分離培地です。特に、KPC および NDM-1 の慢性保菌者、またはハイリスク患者におけるスクリーニングに用いられます (1、2、7、8、9、10)。本培地は、従来の感受性試験方法に置き換わるものではありません。CPE は、多剤耐性菌であり、院内感染や院内での蔓延を引き起こします (3、4)。CPE 保菌者の検出は、これらの感染予防ならびに疫学的なモニタリングに極めて重要です。

原理

本培地は、異なる種類のペプトンを組み合わせた豊富な栄養ベースと以下の物質を含みます：

- CPE を選択的に発育させる抗生物質ミクスチャー
- CPE を最も効果的に分離同定するための 3 種類の発色基質：
 - *Escherichia coli*: β -グルクロニダーゼ (β -GUR) および/または β -ガラクトシダーゼ (β -GAL) を産生する菌株はピンク色からワイン色に発色 (5)
 - *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* (KESC): β -グルコニダーゼ (β -GLU) を産生する菌株は青色がかった緑色から青色がかった灰色に発色

キット構成

調整済み培地		
REF 43 861	平板培地	20 枚 (90mm)
	CARB*	

*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：

カゼインペプトン (ウシ)	5 g
ソイペプトン	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	0.9 g
リン酸緩衝液	1 g
発色基質ミクスチャー	1.4 g
栄養混合物	2.8 g
抗生物質ミクスチャー	0.3 g
寒天	18 g
精製水	1 L
pH7.4	

必要な器材および試薬

試薬

- オキシダーゼ試薬 (品番 55635)

器材

- ふ卵器

使用可能な試薬

- Etest® ストリップ

使用上の注意

- *in vitro* 試験にのみご使用ください。
- 熟練者が使用してください。
- 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ください (摂取または吸入しないでください)。
- 全ての検体、培養物および検体を接種した製品は感染性があるものとして適切にお取り扱いください。被検菌の無菌操作および通常操作の留意事項は以下のガイドラインをご参照ください。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ください。
- 有効期限切れの製品は使用しないでください。
- パッケージの損傷した製品は使用しないでください。
- 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ください。
- 1 プレートに 1 検体のみを使用してください。
- 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。
- 試験結果の解釈は、患者の背景、コロニー形態および顕微鏡学的形態を含めて考慮してください。また必要に応じて、その他の試験方法で結果を確認してください。

保管方法

- 有効期限まで、2-8° C 下で外箱に入れて保存してください。
- 外箱から出してセロファン袋で保存する場合には、暗所、2-8° C 下で 2 週間まで保管可能です。

検体

さまざまな検体を使用することができます (便、直腸スワブなど)。検体は増菌せずに培地に直接塗布して使用してください。

採取や輸送に関しては GLP (Good Laboratory Practices) に準拠し適切に処理してください。

使用法

1. 培地を室温に戻します。
 2. 検体を本培地に直接塗抹します。
 3. フタを下側にして 35±2°C、好気環境で直ちに培養してください。18~24 時間培養後に鑑別を行います。
- 使用者は各自責任の元、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ください。

判定

培養後、微生物の発育とコロニーの色を観察します。

CPE は、次のような特徴のある色を示します：

- **ピンク色からワイン色**のコロニーまたは中心部がピンク色からワイン色の半透明のコロニー： *E. coli*
- **青色がかった緑色から青色がかった灰色**のコロニー： **KESC グループ**
必ず追加試験等により菌種同定を行ってください。

注意: 培地中におけるトリプトファンにより、茶色のハローを有するベージュ色コロニー、または茶色コロニーが観察されることがあります (*Proteeae*)。このような場合、VITEK® 2 GN カードを用いて同定を行う場合には従来の培地でサブカルチャーを行ってください。

いずれの場合も、カルバペネマーゼ産生を確認してください。

品質管理

プロトコール:

本培地の栄養要求性と選択性は、下記の標準菌株を用いて確認を行います:

分離培養後、0.5 McF の濃度に調製した菌液を準備します。さらに滅菌生理食塩水で以下の濃度になるように希釈した菌液を作成します。

- 10⁴ CFU:
Klebsiella pneumoniae ATCC® BAA-1705™
- 10⁵ CFU:
Klebsiella pneumoniae ATCC® 700603™

精度管理限界値:

使用菌株	33-37°Cでの試験結果	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC® BAA-1705™	24 時間以内に発育	24 時間以内に緑色コロニー
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC® 700603™	24 時間以内に発育しない	—

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されることをお勧めします。

留意事項

- CPE 以外のある種の多剤耐性菌は、本培地上で典型的なコロニーを示す場合があります: バンコマイシン耐性 *Enterococcus* 属(特に、*E. faecium* Van A: 小さな青色～青緑色のコロニー)または膜透過性の変化によるカルバペネム耐性腸内細菌科
- ある種の *Pseudomonas* 属は茶色の発色を示します。オキシダーゼ試験によって *Proteeae* と区別する事ができます。
- 本培地を用いたカルバペネマーゼ産生 *Proteeae* の検出については検討していません。
- OXA-48、VIM または IMP のような弱いカルバペネマーゼ産生活性をもつある種の腸内細菌科は、本培地に発育しない場合があります。
- 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。従って、特殊な要求性(基質、温度、酸素要求性等)をもつある種の株においては発育しないことがあります。

性能

本培地の性能は、2 施設(英国およびギリシャ)において同一プロトコルを用いて実施されました。また、カルバペネマーゼ産生腸内細菌科のスクリーニングにおいて感染のリスクが確認された患者と、慢性保菌者からの検体(便および直腸スワブ)を用いて、実施されました。

検体は、本培地に直接塗抹し、35°C±2、好気条件下で 18–24 時間培養後に鑑別を行いました。上記 2 施設において、806 検体(糞便検体 88、直腸スワブ検体 718)を用い、マッコンキー寒天培地+イミペネム(1 mg/L)と比較検討されました。

発育した全てのコロニーについて、グラム染色、菌種同定、カルバペネマーゼ産生の有無を確認しました。PCR 法および改良 Hodge テストのうち、少なくとも一方に陽性を示す検体は 151 確認されました。

感度(95%信頼区間)

chromID™ CARBA	マッコンキー+イミペネム
97.4% [93.4-99.3]	82.1% [75.1-87.9]

特異度(95%信頼区間)

グラム染色無し		グラム染色有り	
chromID™ CARBA	マッコンキー + イミペネム	chromID™ CARBA	マッコンキー + イミペネム
90.7% [88.2-92.8]	46.6% [42.7-50.5]	99.7% [98.9-100.0]	83.8% [80.8-86.6]

1 施設における評価(ギリシャ)では、86 陽性検体を含む 177 検体(直腸スワブ)を用いて CDC 法(6)と比較検討されました。

感度(95%信頼区間)

chromID™ CARBA	マッコンキー+イミペネム	CDC
96.5% [90.1-99.3]	89.5% [81.1-95.1]	98.8% [93.7-100.0]

特異度(95%信頼区間)

グラム染色無し			グラム染色有り		
chromID™ CARBA	マッコンキー + イミペネム	CDC	chromID™ CARBA	マッコンキー + イミペネム	CDC
91.2% [83.4-96.1]	31.9% [22.5-42.5]	80.2% [70.6-87.8]	100% [96.0-100.0]	70.3% [59.8-79.5]	80.2% [70.6-87.8]

廃棄処理

未使用の試薬は、有害化学物質廃棄物の処理手順に従って処分してください。

使用済みの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ください。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ください。

参考文献

1. CDC - Guidance for Control of infections with carbapenem-resistant or carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in acute care facilities - MMWR, 2009, 58(10): 256-260.
2. PERRY J. D., NAQVI Sakeenah Hussain, MIRZA Irfan Ali et al. - Prevalence of faecal carriage of *Enterobacteriaceae* with NDM-1 carbapenemase at military hospitals in Pakistan, and evaluation of two chromogenic media. - Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2011, ISSN:1460-2091.
3. WALSH T.R. - Emerging carbapenemases: a global perspective. International Journal of Antimicrobial Agents, 2010, 36S3: 8-14.
4. NORDMANN P., CUZON G., NAAS T. - The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. Lancet Infectious Disease, 2009, 9: 228-236.
5. ORENGA S., JAMES A.L., PERRY J.D., PINCUS D.H. (2009). Enzymatic substrates in microbiology. Journal of Microbiological Methods, 79: 139-155.
6. Laboratory protocol for detection of carbapenem-resistant or carbapenemase-producing *Klebsiella* spp. and *E. coli* from rectal swabs
-www.cdc.gov/HAI/pdfs/labSettings/Klebsiella_or_Ecoli.pdf
7. VRIONI G., DANIIL I., VOULGARI E., RANELLOU K., KOUMAKI V., GHIRARDI S., KIMOULI M., ZAMBARDI G. and TSAKRIS A. - Comparative evaluation of a prototype medium (chromID CARBA) for detecting carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in surveillance rectal swabs. *J. Clin. Microbiol.*, June 2012, in press.
8. BEREKSI N., GIRAUD D., JOYEUX F. and al. - Evaluation of a chromogenic medium, chromID CARBA, for the detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. - Poster 1718 - London 2012 - 22nd ECCMID.
9. VRIONI G., DANIIL J., VOULGARI E. and al. - Evaluation of a novel chromogenic medium for detecting carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in surveillance rectal swabs - Poster 1717 - London 2012 - 22nd ECCMID.
10. WILKINSON K., ARMES A., RAZA M. and PERRY J.D. - Evaluation of various culture media and procedures recommended for isolation of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. - Poster 2316 - London 2012 - 22nd ECCMID.

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
	遮光

(問い合わせ先)

製品関連

バイオメリュー・ジャパン株式会社

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

バイオメリュー・ジャパン株式会社

TEL: 03-6834-2666 (代表)

*本添付文書は、下記 Web サイトからダウンロードできます。

<http://www.biomerieux-jp.net/>

バイオメリュー・ジャパン株式会社

〒107-0052 東京都港区赤坂二丁目 17 番 7 号赤坂溜池タワー2 階

Tel: 03-6834-2666 / Fax: 03-6834-2667

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

bioMérieux SA

376 Chemin de l'Orme

69280 Marcy-l'Etoile/France

Tel.33(0)4 78 87 20 00 /

Fax33(0)4 78 87 20 90

<http://www.biomerieux.com>

BIOMÉRIEUX

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