

# chromID CPS New (CPS)

## chromID CPS Agar (CPS)

*Escherichia coli*, *Enterococcus* 属, KESC, *Proteaeae* の直接鑑別と尿検体中の菌数定量

### 用途

chromID CPS New は尿検体用の分離、鑑別培地です。

この培地の用途は:

- 標準的接種法による検体中菌数測定
- 下記の細菌の鑑別
  - *Escherichia coli*
  - *Enterococcus* 属
  - *Klebsiell* 属, *Enterobacter* 属, *Serratia* 属, *Citrobacter* 属 (KESC)
  - *Proteus* 属, *Providencia* 属, *Morganella* 属 (*Proteaeae*) (1, 2, 9, 10)。

### 原理

chromID CPS New 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特異的酵素の検出が可能な 3 種類の色素基質から構成されています。

培地中に含まれるトリプトファンによりインドールの検出が促進されます。

高い寒天濃度により *Proteus* 属の遊走を抑制します。

尿路感染症より一般的に分離される細菌の直接鑑別は下記の原理をもとに行われます:

- *E.coli* :  $\beta$ -グルクロニダーゼ ( $\beta$ -GUR) および/もしくは  $\beta$ -ガラクトシダーゼ ( $\beta$ -GAL) 産生によりコロニーがピンク色から赤ワイン色に発色 (3, 4, 9, 10)。
- *Enterococcus* 属 :  $\beta$ -グルコシダーゼ ( $\beta$ -GLU) 産生によりコロニーが青緑色に発色 (5)。
- KESC :  $\beta$ -グルコシダーゼ ( $\beta$ -GLU) 産生によりコロニーが青色がかった緑色から青色がかった灰色に発色。
- *Proteaeae* : デアミナーゼの産生によりコロニーが茶色に発色。

### キット構成

調整済み培地		
REF43 821	平板培地	10 枚(90mm) × 2 パック
REF43 829	平板培地	10 枚(90mm) × 10 パック
CPS*		

\*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:

カゼインペプトン(ウシ) .....	5 g
ソイペプトン .....	5 g
ミートペプトン(ウシもしくはブタ) .....	8 g
炭水化物 .....	1 g
L-トリプトファン .....	0.9 g
リン酸バッファー .....	1 g
発色基質ミクスチャー .....	1.4 g
栄養物質ミクスチャー .....	2.9 g
寒天 .....	18 g
精製水 .....	1 L

pH7.4

### 必要な試薬と器材

#### 試薬:

- インドール-TDA 試薬(品番 56 541)
- JAMES 試薬(品番 70 542)
- オキシダーゼ試薬(品番 55 635)

#### 器材:

- 10  $\mu$ L 白金耳
- ふ卵器
- ろ紙

### 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、十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。
- 1 枚の培地に対して 1 検体のみを使用して下さい。
- 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。
- 色調変化の観察が難しく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。

### 貯蔵条件

- 暗所で保存して下さい。
- 有効期限まで、2-8°C 下で外箱に入れて保存して下さい。
- 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

この培地に尿検体を直接接種します。

検体の採取や輸送は GLP(Good Laboratory Practices) に準拠し、適切に処理して下さい。

### 使用法

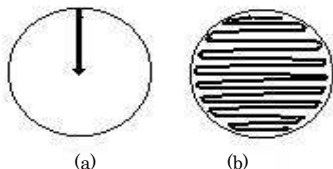
1. 培地を室温に戻します。
2. 必要に応じて培地表面を 37°C のふ卵器で乾かします。

3. 菌液接種

－マニュアル法の場合：

10 μL 白金耳を使用して検体を下記のように接種します：

- ・ 垂直に白金耳を持ち検体に浸し、培地の半径に下ろします(a)(検体が正しく採取されたことを確認します)。
- ・ 新たに検体を加えずに水平に培地全体に広げます(b)。



－PREVI Isola 使用の場合：

PREVI Isola ユーザーマニュアルに従い塗布して下さい。

4. フタを下側にして好気状態で 37°Cでふ卵器で培養します。用途に応じて、最新の標準法を参照し適切な温度で培養して下さい。通常 18-24 時間培養後に結果の読み取りを行います。

判定

培養後、微生物の発育を観察します。

菌数測定：

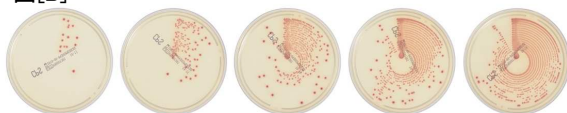
マニュアルで塗布した場合は図[A]、PREVI Isola (15)を用いて塗布した場合は図[B]をそれぞれ参照し、発育しているコロニーの密集具合により菌数を求めます。

図[A]



菌数/mL (10<sup>3</sup>) (10<sup>4</sup>) (10<sup>5</sup>) (10<sup>6</sup>) (10<sup>7</sup>)

図[B]



菌数/mL (10<sup>3</sup>) (10<sup>4</sup>) (10<sup>5</sup>) (10<sup>6</sup>) (10<sup>7</sup>)

菌数測定の結果は白血球数、臨床症状、疫学的背景を含む他の試験を考慮し解釈して下さい(6, 11, 12)。

鑑別：

	ピンク色から赤ワイン色	青緑色	青色がかった緑色～青色がかった灰色	茶色のハローを伴ったベージュ色	インドール試験
<i>E. coli</i>	+	-	-	-	
<i>Enterococcus</i> 属	-	+	-	-	
KESC グループ	-	-	+	-	
インドール産生 <i>Providencia</i> 属 <i>Morganella</i> 属	-	-	-	+	+
<i>P. mirabilis</i>	-	-	-	+	-

1. インドール試験を実施せずに*E. coli*の直接鑑別  
・ピンク色から赤ワイン色のコロニーあるいは中心部がピンク色から赤ワイン色の半透明のコロニー：*E. coli*

2. グループあるいは種レベルの鑑別

・青緑色のコロニーでグラム陽性球菌：*Enterococcus* 属  
青緑色のコロニーあるいはグラム陽性球菌のどちらか一方のみ所見を示した場合は追加試験などを実施し、同定して下さい。

・青色がかった緑色～青色がかった灰色コロニーおよびグラム陰性桿菌：KESC グループ

分離された菌の詳細な同定には生化学的試験を行って下さい。

・茶色のハローを伴うベージュ色コロニーあるいは茶色コロニー：

インドール・TDA試験またはJAMES試験にてインドール試験を実施して下さい：

インドール・TDA試験のR1試験またはJAMES試験をろ紙に滴下し、その上にコロニーを擦り付けます。数秒後、色の変化を観察します。

JAMES試験	インドール・TDA試験	判定	同定
ピンク色～赤色	青色	インドール (+)	インドール産生 <i>Proteus</i> 属, <i>Providencia</i> 属,または <i>Morganella</i> 属
ピンク色～赤色を示さない場合	青色を示さない場合	インドール (-)	<i>Proteus mirabilis</i> オキシダーゼ試験陰性であることを確認して下さい。

3. 推測同定

・不透明な明るいピンク色コロニー：*Staphylococcus saprophyticus*が推測されます。分離菌の同定には追加試験を行って下さい。

・青色がかった紫色コロニー～紫色コロニー：*Streptococcus agalactiae*が推測されます。分離菌の同定には追加試験を行って下さい。

4. その他のコロニー

分離菌を同定するには追加試験を行って下さい。

品質管理

プロトコール：

本培地は、下記の標準菌株を用いて試験を行います。

- ・ *Escherichia coli* ATCC 25922
- ・ *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
- ・ *Proteus mirabilis* ATCC 12453

精度管理限界値：

菌種	33-37°Cでの試験結果	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	24 時間以内に発育	ピンク色から赤ワイン色
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212		青緑色
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453		茶色ハローを伴うインドール陰性のベージュ色

**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、抗菌薬の選択等)に従って品質管理を実施されることをお勧めします。

**性能**

chromID CPS New (品番 43821)、chromID CPS(品番 43541)および他社製発色酵素基質培地を比較しました。

・ *E. coli*として鑑別されたコロニーを使用  
43株の大腸菌を用い、異なる酵素反応について検討が行なわれました。

**検出感度**

	酵素活性		典型的な色を示す <i>E. coli</i> 株数		
	$\beta$ -GUR	$\beta$ -GAL	43541	43821	他の培地
<i>E. coli</i> 株数					
8	-	+	0	8	8
5	+	-	3	4	0
30	+	+	30	30	30
総数 43			33/43	42/43	38/43

chromID CPS New (品番 43821)について、培地中に含まれるいくつかの発色酵素基質により、97.7%の株が直接鑑別されました。

**・臨床検体を用いた性能評価**

臨床検体を用いた2つの性能評価がフランスとドイツの各1施設で行なわれました。

これらの検討の中で、 $10^4$  CFU/mL以上の検体を臨床的に重要な検体(6, 11,12)とし、検討に用いました。

2施設ともに発育支持能、感度、特異度に有意差はみられませんでした。また、大腸菌に対する特異度は100%である結果が得られました。

**検討1(フランス)**

1087件の尿検体を用い、18-24時間、37°C下で3種類の培地(chromID CPS New (品番43821)、chromID CPS (品番43541)および他社製発色酵素基質培地)を用い比較検討されました。

93.65%の尿検体は防腐剤が添加されていません。

検討終了時に、臨床的に重要だと思われる229検体入手し、解析を実施しました。

**1.1 発育支持能**

主な尿路感染症起炎菌の陽性検体数

菌種あるいは 菌グループ	少なくとも一つの培地で 陽性となった尿検体数	培地ごとの陽性尿検体数	
		43821	119
<i>E. coli</i>	119	43821	119
		43541	119
		他の培地	118
KESC	43	43821	43
		43541	42
		他の培地	43
<i>Proteaeae</i>	19	43821	19
		43541	19
		他の培地	18
<i>Enterococcus</i>	35	43821	35
		43541	34
		他の培地	35

**1.2 菌数定量**

3種類の培地において、ほぼ同様の結果が得られました。

**1.3 鑑別****1.3.1 感度**

主な尿路感染症起炎菌の検出感度

	培地	感度	
		%	95% 信頼区間
<i>E. coli</i>	43821	98.32%	[94.06 – 99.8]%
	43541	97.48%	[92.81 – 99.48]%
	他の培地	98.32%	[94.06 – 99.8]%
KESC	43821	97.67%	[87.71 – 99.94]%
	43541	95.35%	[84.19 – 99.43]%
	他の培地	90.70%	[77.86 – 97.41]%
<i>Proteaeae</i>	43821	89.47%	[66.86 – 98.7]%
	43541	94.74%	[73.97 – 99.87]%
	他の培地	89.47%	[66.86 – 98.7]%
<i>Enterococcus</i>	43821	97.14%	[85.08 – 99.93]%
	43541	94.29%	[80.84 – 99.3]%
	他の培地	100.00%	[90 – 100]%

## KESCグループ

*Citrobacter*陽性3検体を用い、検討した結果、chromID CPS New (品番43821)では全て検出されました(感度100%)。他の発色酵素基質培地では偽陰性株 2株が検出されました。

### 1.3.2 発色特異度

229件の尿検体を用い、尿路感染症の主な起炎菌の偽陽性数を用い特異度を評価しました:

#### 発色特異度:

検体中菌種	培地	偽陽性	特異度	
			%	95% 信頼区間
<i>E. coli</i>	43821	0	100%	[96.7 - 100]%
	43541	0	100%	[96.7 - 100]%
	他の培地	2	98.18%	[93.59 - 99.78]%
KESC	43821	2	98.92%	[96.17 - 99.87]%
	43541	1	99.46%	[97.04 - 99.99]%
	他の培地	1	99.46%	[97.04 - 99.99]%
<i>Proteaeae</i>	43821	1	99.52%	[97.38 - 99.99]%
	43541	1	99.52%	[97.38 - 99.99]%
	他の培地	1	99.52%	[97.38 - 99.99]%
<i>Enterococcus</i>	43821	4	97.94%	[94.81 - 99.44]%
	43541	3	98.45%	[95.55 - 99.68]%
	他の培地	4	97.94%	[94.81 - 99.44]%

## 検討2(ドイツ)

523件の尿検体を用い、18-24時間、37℃下で2種類の培地(chromID CPS New (品番43821)および発色酵素基質培地(フランスの検討で使用した培地とは異なるもの))を用い比較検討されました。

95.41%の尿検体は防腐剤(ホウ酸)が添加されています。検討終了時に、臨床的に重要だと思われる212検体(6, 11, 12)を入手し、解析を実施しました。

## 2.1発育支持能

主な尿路感染症起炎菌の陽性検体数

菌種あるいは菌グループ	少なくとも一つの培地で陽性となった尿検体数	培地ごとの陽性尿検体数	
		43821	他の培地
<i>E. coli</i>	114	43821	110
		他の培地	113
KESC	30	43821	28
		他の培地	29
<i>Proteaeae</i>	15	43821	15
		他の培地	15
<i>Enterococcus</i>	61	43821	54
		他の培地	59

## 2.2 菌数定量

2種類の培地において、ほぼ同様の結果が得られました。

## 2.3 鑑別

### 2.3.1 検出感度

	培地	感度	
		%	95% 信頼区間
<i>E. coli</i>	43821	95,61%	[90.06 - 98.56]%
	他の培地	98,25%	[93.81 - 99.79]%
KESC	43821	90,00%	[73.47 - 97.89]%
	他の培地	96,67%	[82.78 - 99.92]%
<i>Proteaeae</i>	43821	80,00%	[51.91 - 95.67]%
	他の培地	66,67%	[38.38 - 88.18]%
<i>Enterococcus</i>	43821	88,52%	[77.78 - 95.26]%
	他の培地	96,72%	[88.65 - 99.6]%

### 2.3.2 発色特異度

212件の検体を用い、尿路感染症の主な起炎菌の偽陽性数を用い特異度を評価しました:

検体中菌種	培地	偽陽性	特異度	
			%	95% confidence interval
<i>E. coli</i>	43821	0	100.00%	[96.31 - 100]%
	他の培地	0	100.00%	[96.31 - 100]%
KESC	43821	0	100.00%	[97.99 - 100]%
	他の培地	0	100.00%	[97.99 - 100]%
<i>Proteaeae</i>	43821	1	99.49%	[97.2 - 99.99]%
	他の培地	1	99.49%	[97.2 - 99.99]%
<i>Enterococcus</i>	43821	1	99.34%	[96.37 - 100]%
	他の培地	0	100%	[97.59 - 99.98]%

## 留意事項

- *Enterococcus* 属以外の菌種において青緑色のコロニーを形成するものがあります: 例) *Streptococcus agalactiae*, またはある種の酵母様真菌(5, 7, 8)。
- *Proteus mirabilis* 以外の菌種においてデアミナーゼ反応陽性、インドール試験陰性を示す場合があります (*P. penneri* および 2~3%の *P. vulgaris*)。
- $\beta$ -グルコシダーゼをもつ *Proteus vulgaris* のいくつかの株では緑色コロニーを形成し培地を褐色に着色するあるいはしない場合があります。
- *Pseudomonas* 属で茶色の着色を起こす場合があります。この場合はオキシダーゼ試験で *Proteaeae* と区別できます。
- ある種の酵母様真菌、*S. agalactiae* および *Staphylococcus* 属は発育しない可能性があります。
- 菌の発育の度合いは微生物各個体の要求性に左右されます。そのため特殊な発育条件(基質、温度、培養環境など)を必要とする株の場合発育しないことがあります。

**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. CARRICAJO A., BOISTE S., THORE J. and al. -Comparative evaluation of five chromogenic media for detection, enumeration and identification of urinary tract pathogens. - *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 1999, vol.18, p. 796-803.
2. CHAUX C., CREPY M., XUEREF S. et al. - Comparison of three chromogenic agar plates for isolation and identification of urinary tract pathogens. - *Clin. Microbiol. Infect.*, 2002, vol. 8, p. 614-645.
3. KILIAN M., BULOW P. - Rapid identification of *Enterobacteriaceae* - II. Use of a  $\beta$ -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.
4. 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.
5. SAVARINO A., PRATTICHIZZO F.A., MATTEI R. et al. -Importance of Streptococci and in particular of the Enterococci in urinary tract infections. - *Quad. Sclavo. Diagn.*, 1987 sept, vol. 23, n°3, p. 312-317.
6. REMIC : Référentiel en microbiologie médicale (bactériologie et mycologie) SFM 3ème Edition 2007
7. KUMARI N., RAI A., JAISWAL C.P. et al. - Coagulase negative Staphylococci as causative agents of urinary tract infections-prevalence and resistance status in IGIMS. - *Patna. Indian J. Pathol. Microbiol.*, 2001 oct ;, vol. 44, n°4, p. 415-419.
8. AL-HEDAITHY S.S., FOTEDAR R. - Prevalence of *Candida tropicalis* in clinical specimens from patients with variable clinical syndromes over a 5-year period. - *Mycoses*, 1997 sept ; vol. 40, n°3-4, p. 111-113.
9. MONGET D., ORENGA S., PEYRET M., ROGETDALBERT C. (2008) Milieu de détection et/ou d'identification des bactéries. PCT/FR2008/050185, WO 2008/104681, 1-12
10. ORENGA S., JAMES A.L., PERRY J.D., PINCUS D.H. (2009). Enzymatic substrates in microbiology. *Journal of Microbiological Methods*, 79: 139-155

11. ECLM (2000) European Urinalysis Guidelines. Scand T Clim Lab Invest, vol 60 :1-96
12. ASPEVALL O., HALLANDER H., GANT V., KOURI T. (2001). European guideline for urinalysis ; a collaborative document produced by European clinical microbiologists and clinical chemists under ECLM (European Confederation of laboratory Medicine) in collaboration with ESCMID (European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases). *Clin Microbiol Infect.*, 2001 : 7 : 173-8

**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

〒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)



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

69280 Marcy-l'Etoile/France

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

Fax133(0)4 78 87 20 90

<http://www.biomerieux.com>