

## BIOMÉRIEUX

REF 413822

043254 - 05 - 2024-05

JP

## ミュラーヒントンE寒天培地

## 用途

## 抗菌薬感受性試験

ミュラーヒントンE寒天培地は、ディスク拡散法による抗菌薬感受性試験、およびETEST®法による最小発育阻止濃度（MIC）を得る試験に用いる培地です。

本培地はEuropean Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing（EUCAST）およびClinical Laboratory and Standards Institute, Inc.（CLSI）の推奨に従って開発されたものです<sup>1,2,3,4,5,6</sup>。

## 説明と原理

本培地の組成は、病理学上みられる細菌のうち栄養要求性が厳しい菌以外の細菌（腸内細菌、非発酵性グラム陰性桿菌、ブドウ球菌、腸球菌）の発育を可能とするとともに、抗菌薬感受性試験の結果への培地成分の干渉を最小限とすることを保証しています<sup>1,2</sup>。

寒天培地中の二価イオンの濃度は、陽イオン依存性を有する抗菌薬に対する感受性を最適な条件で測定できるように調整されています。チミンチミジン（スルホンアミド系薬剤の阻害剤）が低濃度であるためにディスク周囲での発育が抑制され、より正確な阻止円が得られます<sup>7</sup>。

## 培地の組成

## 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） <sup>(a)</sup>	20.5 g
ペプトン混合物（ウシ、植物性） <sup>(a)</sup>	2.35 g
肉エキス（ウシ、ブタ） <sup>(a)</sup>	0.3 g
イオン（塩類）	0.36 g
化合物A <sup>(a)</sup>	0.14 g
ポテトスターチ（植物性）	0.5 g
増殖因子	2.03 g
化合物B <sup>(a)</sup>	0.07 g
寒天（植物性） <sup>(a)</sup>	15.5 g
精製水	1 L
pH 7.3	

<sup>(a)</sup> 重要な原材料

## 使用上の注意

- *in vitro*試験のみにおいて使用して下さい。
- 臨床微生物検査のトレーニングを受けた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があるものとして、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）。
- すべての検体、微生物培地、そして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 M29-A, Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Current Revision. その他の操作留意事項：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。
- 使用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、水分の浸出している培地、または収縮している培地は使用しないで下さい。
- EUCUSTまたはCLSIの標準法以外の基準に従った使用は使用者による検証が必要です。
- 試験結果の解釈には、対象となる菌種（菌種本来の耐性）、疫学的背景、および必要に応じて、実施されたその他の試験の結果を考慮して下さい。
- 本培地と組み合わせて使用する抗菌薬ディスクは、使用者による検証が必要です。

## 必要な試薬と器材

---

### 試薬：

- 抗菌薬ディスク
- ETEST®ストリップ

### 器材：

- 一般的な微生物検査機器
- インキュベーター

## 保管方法

---

- 使用期限まで、2-8°C下で外箱に入れて保存して下さい。
- 外箱から出して袋で保存する場合には、2-8°C下で2週間まで保管可能です。
- パッケージに記載されている製品識別情報がすべて保管容器に記録されていることを確認して下さい：品目番号（01）、ロット番号（10）、使用期限（17）

## 検体

---

この培地は、生体試料を直接培養するものではありません。

平板培地で分離された単一菌を一定量接種して下さい。

## 使用法

---

試薬は使用直前にパッケージから取り出します。

培地を室温に戻します。

### ディスク拡散法による抗菌薬感受性試験

抗菌薬感受性試験を実施する際は、EUCASTまたはCLSIの手順および基準を参照して下さい<sup>1,5,6</sup>。

### ETEST®法によるMICの測定

最新のETEST®の電子化された添付文書を参照して下さい。

## 結果と判定

---

### ディスク拡散法による抗菌薬感受性試験

- EUCASTまたはCLSIの推奨事項を参照して下さい<sup>2,3,5,6</sup>。阻止円の測定、特に再発育や二重阻止円の場合は、EUCASTのリーディングガイドを参照して下さい。
- 培養後、抗菌薬ディスクの周囲の発育阻止円の直径を測定します。得られた値を元にして、各抗菌薬に対する菌株の感受性を判定します（S：感受性、I：中間、R：耐性）。

## ETEST®法によるMICの測定

最新のETEST®電子化された添付文書を参照して下さい。EUCASTまたはCLSIの推奨事項を参照して下さい<sup>4,5</sup>。

**注意：**正しい試験結果を得るために、コロニーが十分発育した状態で判定して下さい。

## 品質管理

### プロトコール：

本培地の性能試験は、下記の標準菌株を用いて行います。

- *Escherichia coli* ATCC® 25922™
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853™

### EUCASTおよびCLSIの基準に基づき予想される結果<sup>3,5</sup>：

抗菌薬	阻止円 (mm)	
	<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922™	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853™
Ampicillin 10 µg	16 - 22	
Ciprofloxacin 5 µg		25 - 33
Gentamicin 10 µg	19 - 26	
Imipenem 10 µg		20 - 28
Tobramycin 10 µg		20 - 26

### 注意：

感受性試験の精度管理はEUCASTまたはCLSIの推奨事項に従って実施して下さい<sup>5,6</sup>。

培地の用途を考慮し、適切な規制（頻度、菌株数、培養温度など）に従って精度管理を実施されることをお勧めします。

## 留意事項

- ミューラーヒントンE寒天培地は、抗菌薬ディスクの周囲に生じる阻止円を標準化するために低栄養の組成となっています。そのため、特に栄養要求性の厳しい菌株はこの培地では発育しません。
- 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、特殊な発育条件を必要とする株の場合、発育しないことがあります。
- 様々な要因（pHやペプトンなど）が感受性に影響を及ぼす可能性があります。阻止円は、微生物と抗菌薬の組み合わせによっては様々な程度の拡散を示し、誤った解釈をもたらす可能性があります。

## 性能

### 増殖性

ミューラーヒントンE寒天培地を用いて、栄養要求性の厳しくない30菌株からなるパネルの試験を実施しました。内訳は、腸内細菌5株、非発酵性グラム陽性桿菌15株、黄色ブドウ球菌5株、腸球菌5株でした。

使用説明書に従い、各菌株について濃度校正した接種液を調製し、無菌スワブを用いて寒天培地の表面全体に接種しました。

すべての菌株は良好に発育し、十分に発達したコロニーを形成しました。

### 真度

EUCASTおよびCLSIによって定義された精度管理株を用いて性能を評価しました<sup>3,5</sup>。

### ディスク拡散法による抗菌薬感受性試験

#### 精度管理株

#### EUCAST推奨による方法：

4つの精度管理菌株 [*E. coli* ATCC® 25922™ (39薬剤)、*S. aureus* ATCC® 29213™ (26薬剤)、*P. aeruginosa* ATCC®

27853™（15薬剤）、*E. faecalis* ATCC® 29212™（11薬剤）] を用い、推奨の抗菌薬との組み合わせで性能評価試験を実施しました<sup>3</sup>。

検査した91の組み合わせのうち98%が許容できる結果を示しました。

#### CLSI推奨による方法：

4つの精度管理菌株を用い、以下の抗菌薬との推奨される組み合わせで性能評価試験を実施しました [ *E. coli* ATCC® 25922™（46薬剤）、*S. aureus* ATCC® 25923™（47薬剤）、*P. aeruginosa* ATCC® 27853™（25薬剤）、*E. coli* ATCC® 35218™（7薬剤） ]。

Amikacin	Imipenem
Amoxicillin + Clavulanic acid	Kanamycin
Ampicillin	Levofloxacin
Ampicillin + Sulbactam	Linezolid
Azithromycin	Mecillinam
Aztreonam	Meropenem
Benzylpenicillin	Minocycline
Cefadroxil	Moxifloxacin
Cefalexin	Mupirocin
Cefepime	Nalidixic acid
Cefixime	Netilmicin
Cefotaxime	Nitrofurantoin
Cefoxitin	Norfloxacin
Cefpodoxime	Ofloxacin
Ceftazidime	Penicillin
Ceftibuten	Piperacillin
Ceftriaxone	Piperacillin + Tazobactam
Cefuroxime	Polymyxin B
Cephalothin	Quinupristin / Dalfopristin
Chloramphenicol	Rifampicin
Ciprofloxacin	Teicoplanin
Clarithromycin	Telithromycin
Clindamycin	Tetracycline
Colistin	Ticarcillin
Doripenem	Ticarcillin + Clavulanic acid
Doxycycline	Tigecycline
Ertapenem	Tobramycin
Erythromycin	Trimethoprim
Fosfomicin	Trimethoprim + Sulfamethoxazole
Fusidic acid	Vancomycin
Gentamicin	

検査した125の組み合わせのうち98%が許容できる結果を示しました。

#### ETEST®法によるMICの測定

##### 精度管理株

6つの精度管理菌株を用い、以下の抗菌薬との推奨される組み合わせで性能評価試験を実施しました [ *E. coli* ATCC® 25922™（58薬剤）、*S. aureus* ATCC® 29213™（58薬剤）、*P. aeruginosa* ATCC® 27853™（34薬剤）、*E. faecalis* ATCC® 29212™（33薬剤）、*E. coli* ATCC® 35218™（8薬剤）、*K. pneumoniae* ATCC® 700603™（5薬剤） ]。

Amikacin	ESBL Cefotaxime
Amoxicillin	ESBL Ceftazidime
Amoxicillin + Clavulanic acid	Fosfomicin
Ampicillin	Fusidic acid
Ampicillin + Sulbactam	Gatifloxacin

Azithromycin	Gentamicin 1024
Aztreonam	Gentamicin 256
Bacitracin	Imipenem
Benzylpenicillin 256	Kanamycin
Benzylpenicillin 32	Levofloxacin
Cefaclor	Linezolid
Cefepime	MBL Imipenem
Cefixime	MBL Meropenem
Cefoperazone + Sulbactam	Mecillinam
Cefotaxime 256	Meropenem
Cefotaxime 32	Minocycline
Cefotetan	Moxifloxacin
Cefoxitin	Mupirocin
Cefpirome	Nalidixic acid
Cefpodoxime	Netilmicin
Ceftaroline	Nitrofurantoin
Ceftazidime	Norfloxacin
Ceftizoxime	Ofloxacin
Ceftriaxone 256	Piperacillin
Ceftriaxone 32	Piperacillin + Tazobactam
Cefuroxime	Polymyxin B
Cephalothin	Quinupristin / Dalfopristin
Chloramphenicol	Rifampicin
Ciprofloxacin	Spectinomycin
Clarithromycin	Streptomycin
Clindamycin	Sulfamethoxazole
Colistin	Teicoplanin
Daptomycin	Tetracycline
Doripenem	Ticarcillin + Clavulanic acid
Doxycycline	Tigecycline
Enrofloxacin	Tobramycin
Ertapenem	Trimethoprim
Erythromycin	Trimethoprim + Sulfamethoxazole
ESBL Cefepime	Vancomycin

検査した196の組み合わせのうち99.48%が許容できる結果を示しました。

#### 再現性-併行精度（精度）

特性が十分に調べられている7分離株からなるパネルを使用しました：*Staphylococcus aureus*（3株）、*Pseudomonas aeruginosa*（1株）、*Enterococcus faecalis*（1株）、*Escherichia coli*（2株）。以下の2つの用途について、ミューラーヒントンE寒天培地（MHE）の精度を確認しました：

- ディスク拡散法による抗菌薬感受性試験（AST）
- ETEST®法による最小発育阻止濃度（MIC）の測定

併行精度の試験は、特性が十分に調べられている菌株からなるパネルを用いて実施しました。各菌株は、1バッチにつき数回供試しました。1菌株を1枚のMHEプレートに接種しました。24時間の培養後に得られた結果を下記に示します：

- MHE、品番413822（90 mm）：1菌株につき4回試験
  - ディスク拡散法：7菌株について試験を行い、95%の併行精度がある結果が得られました
  - ETEST®法によるMICの測定：6菌株について試験を行い、96.41%の併行精度がある結果が得られました

再現性の試験は、特性が十分に調べられている菌株からなるパネルを用いて実施しました。各菌株は、3つのロットにつき1回ずつ供試しました。1菌株を1枚のMHEプレートに接種しました。24時間の培養後に得られた結果を下記に示します：

- MHE、品番413822（90 mm）：
  - ディスク拡散法：7菌株について試験を行い、94.88%の再現性がある結果が得られました

ETEST®法によるMICの測定：6菌株について試験を行い、96.52%の再現性がある結果が得られました

## 正確さ

精度と真度の性能を合わせて、正確さ（Accuracy）に関する結果を得ました。真度については、ディスク拡散法では98%、ETEST®試験では99.48%であり、精度（再現性および併行精度）についてはすべての試験法（ETEST®試験およびディスク拡散法）を含めて94.58～100%であったことから、正確さが実証されました。

## 廃棄処理

未使用の試薬は、通常非危険性廃棄物の処理手順に従って処分して下さい。

使用済み試薬は他の汚染廃棄物と同様に、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処分して下さい。

各検査室の責任の元、生じた廃棄物や流出物はそれぞれの性質および有害性の程度を考慮して取り扱い、地域の適切な規制に従って処理・廃棄して下さい。

## 参考文献

1. EUCAST Disk diffusion method for antimicrobial susceptibility testing – version 2.1, February 2012 ([www.eucast.org](http://www.eucast.org)).
2. EUCAST Disk diffusion method for antimicrobial susceptibility testing – Reading guide – version 2.0, May 2012 ([www.eucast.org](http://www.eucast.org)).
3. EUCAST Routine internal quality control as recommended by EUCAST – version 3.1, February 2013 ([www.eucast.org](http://www.eucast.org)).
4. EUCAST Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters – version 3.1, February 2013 ([www.eucast.org](http://www.eucast.org)).
5. CLSI Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing – M100-S23 – January 2013.
6. CLSI Performance Standards for antimicrobial disks susceptibility tests – M02-A11 – 2012.
7. MURRAY P.R., ZEITINGER J.R. MURRAY P.R., ZEITINGER J.R. – Evaluation of Mueller-Hinton agar for disk diffusion susceptibility tests – *J. Clin. Microbiol.* – 1983 Nov; 18(5): 1269–1271.
8. Statement - NA - 413822 - 413824 - 413825 - Certificate of Compatibility.pdf - <http://www.biomerieux.com>.

## 記号

記号	内容
	品番
	製造元
	保管温度
	使用期限
	ロット番号
	使用説明書を参照
	< n > 回分の試験を含む
	品質管理証明書
	再使用禁止
	製造年月日

## 限定保証

---

bioMérieuxは、使用説明書（IFU）に詳述されている通り、使用、保管、取り扱い、保存期間（該当する場合）、および注意事項に関するすべての手順が厳密に遵守されていることを条件に、記載された使用目的に対する製品の性能を保証します。

上記に明示的に規定されている場合を除き、bioMérieuxはここに、特定の目的または使用に対する商品性および適合性の黙示的保証を含むすべての保証を否認し、IFUに規定されている以外の試薬、ソフトウェア、機器および消耗品（「システム」）の使用について、直接的、間接的または結果的か否かを問わず、すべての責任を否認します。

## 包装形態

---

### 調製済み培地

単回使用のみ、再使用禁止

REF	ユニット/パック	プレートサイズ	略称（各シャーレに印字）
413822	平板培地10枚 × 2パック	90 mm	MHE

使用説明書は弊社ホームページからご覧いただけます。

---

BIOMÉRIEUX、BIOMÉRIEUXのロゴ、CHROMID、CPSは、bioMérieuxまたはその子会社のいずれか、あるいはその会社のいずれかに属する、使用中、保留中、および/または登録済みの商標です。

ATCCの商標および商号、ならびにすべてのATCCカタログ番号は、American Type Culture Collectionの商標です。

CLSIはClinical Laboratory and Standards Institute, Inc.に属する商標です。その他の名称または商標は、それぞれの所有者に帰属します。

欧州連合（規則（EU）2017/746）および同様の要件を持つ国のユーザーの場合：このデバイスの使用中または使用の結果として重大な事故が発生した場合は、製造元および/またはその認定代理人、および国内当局に報告してください。

（問い合わせ先）

ビオメリュー・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

---

ビオメリュー・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

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