

クラスⅠ細菌検査用シリーズ 薬剤感受性（一般細菌・液体培地希釈法）キット

フローズンプレート®‘栄研’

【一般的な注意】

- 本製品は体外診断用医薬品であり、それ以外の目的には使用できない。
- 治療のための抗菌薬の選択は、他の検査結果や臨床症状を考慮して総合的に判断し、担当医師が行うこと。
- 添付文書に記載された内容に従い使用すること。それ以外の方法についての保証はできない。
- 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用すること。

＊【形状・構造等（キットの構成）】

フローズンプレート‘栄研’は、種々の希釈濃度の抗菌薬をマイクロプレートのウエルに分注し、凍結させたものである。

別表「構成製品一覧」に記した抗菌薬から必要な薬剤を選択し、製品同梱の薬剤配列表に記した濃度で、プレート上に組み合わせてある。

感受性プルセラブロス又は感受性 ABCM ブイオンを使用した製品は、培地中にヘミン（ニ生素クロロ〔7,12-ジエチル-3,8,13,17-テトラメチル-21H,23H-ボルフィン-2,18-シプロパノアト（4-）-N²¹,N²²,N²³,N²⁴〕鉄酸（2-））を 0.0005 %含有するため劇薬に該当する。なお該当品には以下の表示がなされている。

劇 フローズンプレート®‘栄研’

【使用目的】

細菌薬剤感受性検査〔最小発育阻止濃度（MIC）の測定〕

【測定原理】

本製品は微量液体希釈法を測定原理としている。

この方法は、Clinical and Laboratory Standards Institute（CLSI）が実施基準を設定し、その後、改訂を重ねて現在に至っている^{1)～4)}。尚、日本では、日本化学療法学会が⁵⁾「微量液体希釈法による MIC 測定法（日本化学療法学会標準法）」を報告している^{5), 6)}。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質・採取法

- 一夜培養した純培養菌を被検菌として使用する。
- 寒天平板上の集落から直接被検菌液をつくる場合は、非選択培地（血液寒天培地等）から釣菌する。選択培地で培養した菌株は使用しないこと。
- 被検菌液を調製する際、菌液が濃すぎるときは、滅菌したパールコア トリプトソイブイオン培地‘栄研’又は滅菌生理食塩水で調整する。

2. 妨害物質・交差反応性

- 純培養菌を用いるので、雑菌汚染のない限り特に影響するものはない。
- 2種類以上の菌が含まれた被検菌を用いると、目的菌の薬剤感受性が測定できないことがある。

【用法・用量（操作方法）】

1. 試薬の調製方法

凍結保存してあったフローズンプレート‘栄研’を冷凍庫から取り出し、室内温度に十分戻してから使用する。凍結融解の繰り返しは避けること。

2. 必要な器具・器材・試料等

- 滅菌生理食塩水（菌液調製用）
- 増殖用培地（パールコア トリプトソイブイオン培地‘栄研’、嫌気性菌用 ABCM プロス等）
- 菌希釈液（滅菌生理食塩水、感受性 ABCM ブイオン‘栄研’、感受性プルセラブロス‘栄研’等）
- McFarland 標準濁度 1 の懸濁液（標準菌濁度液 B‘栄研’）又は McFarland 標準濁度 2 の懸濁液
- 用手法用器具（マイクロピペット、リーディングミラー）
- 自動機器（接種機、判読機）
- その他（白金耳、滅菌綿棒、培養器、プレート用ふた）

3. 測定（操作）法

A. 用手法による操作方法

1) 菌液の調製

- 一夜培養した非選択寒天培地上の被検菌体を釣菌して滅菌生理食塩水又はパールコア トリプトソイブイオン培地‘栄研’等に懸濁する方法（直接法）と、一旦、被検菌体をパールコア トリプトソイブイオン培地‘栄研’等から調製した液体培地 4～5 mL に接種して 35±2℃で 2～6 時間培養した後、滅菌生理食塩水で菌液濃度を調整する方法（増殖法）とがある。菌種別の菌液調製法は、CLSI に記載されている方法に従う²⁾。いずれの場合も、菌液濃度は McFarland 標準濁度 1 と同じ濁度に合わせる。

嫌気性菌の場合は、寒天培地上で 24～48 時間培養した被検菌体を釣菌して嫌気性菌用 ABCM プロスに懸濁するか、又は嫌気性菌用 ABCM プロスで培養して、McFarland 標準濁度 2 と同じ濁度に合わせる。

- (1) の菌液を更に、滅菌生理食塩水で 10 倍希釈して接種用菌液とする。嫌気性菌の場合は、滅菌生理食塩水の代わりに感受性 ABCM ブイオン‘栄研’又は感受性プルセラブロス‘栄研’で 10 倍希釈する。

2) 菌液の接種と培養

- 接種用菌液を約 0.0025 mL ずつ、フローズンプレート‘栄研’の各ウエルに接種する。これにより最終接種菌量は約 5 × 10⁴ CFU（colony forming unit）/ウエルになる。

嫌気性菌の場合は、接種用菌液を約 0.0015 mL ずつ各ウエルに接種する。これにより最終接種菌量は約 1 × 10⁵ CFU/ウエルになる。

＊ (2) 菌種別の菌液調製法、培養条件を以下にまとめる。

菌名	菌液調製	培養条件
＊腸内細菌目細菌、 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 、ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌	直接法又は増殖法	35±2℃；好気環境；16～20 時間
＊ <i>Acinetobacter</i> 属菌、 <i>Burkholderia cepacia</i> complex、 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	直接法又は増殖法	35±2℃；好気環境；20～24 時間
<i>Staphylococcus</i> 属菌	直接法	35±2℃（MRS は 35℃を超えると検出できない場合がある）；好気環境；16～20 時間（オキサシリン、バンコマイシンの場合は 24 時間）
<i>Enterococcus</i> 属菌	直接法又は増殖法	35±2℃；好気環境；16～20 時間（バンコマイシンの場合は 24 時間）
<i>Haemophilus influenzae</i> 及び <i>Haemophilus parainfluenzae</i>	直接法	35±2℃；好気環境；20～24 時間
肺炎球菌、β溶血レンサ球菌、β溶血レンサ球菌	直接法	35±2℃；好気環境；20～24 時間
嫌気性菌	直接法又は増殖法	36±1℃；嫌気環境；46～48 時間
髄膜炎菌	直接法	35±2℃；5%CO ₂ 環境；20～24 時間

3) 菌の発育状況の確認

下記の基準に従い、明らかに菌の発育を認めたものを発育陽性、菌の発育が認められないものを発育陰性とする。

〔発育陽性の判定基準〕

肉眼的に混濁又は直径 1 mm 以上の沈殿が認められた場合

沈殿物の直径が 1 mm 未満であっても沈殿塊が 2 個以上認められた場合

〔発育陰性の判定基準〕

肉眼的に混濁又は沈殿が認められない場合

沈殿物があっても直径が 1 mm 未満で 1 個の場合

B. 機器による操作方法

〔接種機及び判読機による操作の場合〕

- 上記、A. 用手法による操作方法のうち、「2) 菌液の接種と培養の(1)」及び「3) 菌の発育状況の確認」の操作が機器により自動的に行われる。3) 菌の発育状況の確認は、使用する機器の種類により以下の方法で判定される。
- 1) 濁度及び培地色の変化を OD 値により判定する機器の場合
菌の増殖に伴って生じる濁度及び培地色の変化を、波長 550～630 nm での OD 値を測定し、結果はその値又は MIC で表示される。
 - 2) 画像処理により判定する機器の場合
菌の増殖に伴い生じる培地液の変化を撮像素子で撮影し、得られた画像を解析することにより菌の発育の有無を判定し、結果はその画像情報及び MIC で表示される。

＜測定にあたっての注意＞

- 1) 菌液の濃度と接種菌液量は結果に影響することがあるので、必ず McFarland 標準濁度液を用いて指定の濁度に合わせ、規定の液量を接種すること。
 - 2) 菌液は調製後 15 分以内に接種すること。特に嫌気性菌は空气中にさらすと生菌数の減少が起るため、菌液の調製と接種は速やかに行い、嫌気的環境下で培養すること。
 - 3) 菌液を接種したプレートは培養中に菌液の蒸発や雑菌の汚染がないようにプレート用ふたをして培養すること。ふたは、菌液により汚染される可能性があるので直接手で触れないこと。
- ※4) プレートを重ねて培養する場合は 4 枚を限度とし、一番上のプレートにプレート用ふたをすること。
- 5) 判読機により菌の発育状況を確認する場合は、プレート底面部の汚れが結果に影響することがあるので直接手で触れないようにすること。

【測定結果の判定法】

抗菌薬の被検菌に対する MIC は、被検菌の発育を阻止した薬剤濃度系列のうち、最小希釈濃度で表す。

〔判定例〕		薬剤希釈濃度 (μg/mL)								
薬剤希釈濃度		32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	C
菌の発育		－	－	＋	＋	＋	＋	＋	＋	＋

MIC は 16 μg/mL と判定する。 (C: 薬剤不含有培地)

判定の際、薬剤希釈系列中に不連続な発育が認められた場合（スキップ現象）は、判定を保留し、再度試験を行う。再試験において不連続な発育が再現された場合は、汚染菌の混入が無いことを確認したうえで、最終的に発育を阻止した最小希釈濃度をもって MIC とする。

〔判定例〕（スキップ現象の場合）		薬剤希釈濃度 (μg/mL)								
薬剤希釈濃度		32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	C
菌の発育		－	－	＋	＋	－	－	＋	＋	＋

結果に再現性があり、8、4 μg/mL のウエルに発育している菌が汚染菌でない場合、MIC は 16 μg/mL と判定する。

＜判定上の注意＞

- 1) スルファメトキサゾール・トリメトプリム (ST) のウエルは培地に含まれる拮抗物質のため、わずかな発育が見られる場合がある。したがって、対照ウエルに比べ発育が 80 %以上阻止しているときの濃度を MIC とする²⁾。
- ※2) *Staphylococcus* 属菌や *Streptococcus* 属菌に対するクロラムフェニコール、クリンダマイシン、エリスロマイシン、リネゾリド、テジソリド及びテトラサイクリン、*Enterococcus* 属菌に対するクロラムフェニコール、エリスロマイシン、リネゾリド、テジソリド及びテトラサイクリン、一部の薬剤と嫌気性菌の組み合わせなど、菌種と薬剤の組合せによりトレーリング発育が認められる場合がある。ウエル底部に微小発育が続く場合は、トレーリング発育が始まる最初の濃度を MIC とする^{2), 3), 4)}。
- 3) バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌 (VRSA) はわずかしかな分離されていないため、本製品ではその検出性能はまだ確認できていない。VRSA の正確な検出を行うには、CDC (Centers for Disease Control and Prevention : 米国疾病管理予防センター) 等の公的機関が推奨する方法で実施すること。

【性能】

1. 性能

1) 感度

日本化学療法学会の「微量液体希釈法による MIC 測定法 (日本化学療法学会標準法・化療法と略)」に準じて測定し、MIC が明らかで、かつ MIC が 4 倍以上差のある試験菌株 2 株を用いて試験を行うとき、得られた両試験菌株の MIC は 4 倍以上の差を認める。

2) 正確性

化療法に準じて測定した MIC の明らかな試験菌株を用いて試験するとき、得られた MIC は化療法による MIC と ±1 管以内で一致する。

3) 同時再現性

上記 2) 正確性試験により 3 回繰り返し試験を行うとき、±1 管差の範囲内で同一の成績を示す。

2. 測定範囲

製品同梱の薬剤配列表に示した各抗菌薬の希釈系列の範囲。

3. 較正用基準物質に関する情報

本製品は、アメリカン タイプ カルチャー コレクション (ATCC) に収載されている菌株により性能を確認している。

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上 (危険防止) の注意

- 1) 全ての操作は微生物の取扱いに習熟した人の指導のもとに、バイオハザード対策を実施したうえで行うこと。
- 2) 検体 (被検菌) 及び培養物等は感染の危険があるものとして十分に注意して取り扱うこと。
- 3) 感染を避けるため、検査時は使い捨て手袋を着用すること。
- 4) 口によるビベティングはしないこと。
- 5) プレートを輸送する場合は、凍結状態を維持すること。
- 6) ドライアイスはプレート中の抗菌薬に影響するため、ドライアイスの気体を遮断できる袋等を使用すること。

2. 使用上の注意

- 1) プレートは指定の貯蔵方法で保存すること。
- 2) 使用期限を過ぎたプレートは使わないこと。
- 3) プレートは汚染しないように無菌的に取り扱うこと。
- 4) プレートの直射日光への暴露は抗菌薬の力価低下の原因となるため、注意すること。

3. 廃棄上の注意

- 1) 使用後のプレートは、オートクレープ等で滅菌処理した後、廃棄すること。オートクレープを使用する場合は、蒸気を吸い込まないように注意すること。
- 2) 検体に接触した器具や廃液等は、次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素濃度 1,000 ppm 以上、1 時間以上浸漬) 又はグルタルアルデヒド (2 %, 1 時間以上浸漬) による消毒処理、あるいはオートクレープ (121 °C, 20 分以上) による滅菌処理を行うこと。ただし接種機及び判定機の付属機器についてはその取扱説明書に従うこと。
- 3) プレートはポリスチレン (PS)、プレートシールはポリエチレンテレフタレート (PET)、ケースは紙を主な材質としている。
- 4) 滅菌後のプレートや器具等は、医療廃棄物等に関する規定及び、水質汚濁防止法等の各種規制に従い、各施設の責任において処理すること。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法 : -70 °C 以下

有効期間 : 6 か月間

【包装単位】

10 枚 ※他に包装がありますので、お問い合わせください。

*【主要文献】

- 1) National Committee for Clinical Laboratory Standards : NCCLS Approved Standard, M7-A, 1986.
- *2) Clinical and Laboratory Standards Institute : CLSI M07-11th Edition, 2018.
- *3) Clinical and Laboratory Standards Institute : CLSI M11-9th Edition, 2018.
- *4) Clinical and Laboratory Standards Institute : CLSI M100-30th Edition, 2020.
- 5) 日本化学療法学会 : Chemotherapy, **38** : 102-105, 1990.
- 6) 日本化学療法学会 : Chemotherapy, **41** : 183-189, 1993.

パールコア及びフローズンプレートは栄研化学株式会社の登録商標です。

【問い合わせ先】

栄研化学株式会社 お客様相談窓口

フリーダイヤル ☎ 0120-308-421

【製造販売業者の名称及び住所】

栄研化学株式会社

〒329-0114 栃木県下都賀郡野木町野木 143 番地

製造販売元



栄研化学株式会社
栃木県下都賀郡野木町野木 143 番地

別表 「構成製品一覧」

系 統	販売名 フローズンプレート ‘栄研’	構成試薬名 及び成分略号	成 分 名 (含有量は製品同梱の薬剤配列表参照)
β-ラクタム系抗菌薬	ペニシリン系	ペニシリン	ベンジルペニシリンカリウム
		オキサシリン	オキサシリンナトリウム
		アンピシリン	アンピシリンナトリウム
		アモキシシリン	アモキシシリン
		ピペラシリン	ピペラシリンナトリウム
		スルタミシリン	トシル酸スルタミシリン
	セフェム系 セファロスポリン系 (注射用)	セファロチン	セファロチンナトリウム
		セファゾリン	セファゾリンナトリウム
		セフォチアム	塩酸セフォチアム
		セフォペラゾン	セフォペラゾンナトリウム
		セフォタキシム	セフォタキシムナトリウム
		セフチゾキシム	セフチゾキシムナトリウム
		セフメノキシム	塩酸セフメノキシム
		セフトラジジム	セフトラジジム
		セフトリアキソン	セフトリアキソンナトリウム
		セフピロム	硫酸セフピロム
		セフェビム	塩酸セフェビム
		セフォゾプラン	塩酸セフォゾプラン
		**セフィデロコル	セフィデロコルトシル酸塩 硫酸塩水和物
	セフェム系 セファロスポリン系 (経口用)	セファレキシシ	セファレキシシ
		セファクロル	セファクロル
		セフロキサジン	セフロキサジン
		セフィキシム	セフィキシム
		セフジニル	セフジニル
		セフロキシム	セフロキシムナトリウム
		セフボドキシム	セフボドキシムナトリウム
		セフテラム	塩酸セフテラム
		セフカペン	セフカペンナトリウム
		セフジトレン	セフジトレンナトリウム
	セファマイシン系	セフォキシチン	セフォキシチン
		セフメタゾール	セフメタゾールナトリウム
		セフミノクス	セフミノクスナトリウム
	オキサセフェム系	ラタモキセフ	ラタモキセフアンモニウム
		フロモキセフ	フロモキセフナトリウム
	ベネム系	ファロベネム	ファロベネムナトリウム
		イミベネム	イミベネム
	カルバベネム系	メロベネム	メロベネム三水合物
		ビアベネム	ビアベネム
		ドリベネム	ドリベネム水和物
		テビベネム	テビベネム水和物
	モノバクタム系	アズトレオナム	アズトレオナム
合 剤		クラブラン酸・アモキシシリン	クラブラン酸カリウム アモキシシリン
		スルバクタム・セフォペラゾン	スルバクタムナトリウム セフォペラゾンナトリウム
		スルバクタム・アンピシリン	スルバクタムナトリウム アンピシリンナトリウム
		タゾバクタム・ピペラシリン	タゾバクタム ピペラシリンナトリウム
		アズトレオナム・クラブラン酸	アズトレオナム クラブラン酸カリウム
		セフトラジジム・クラブラン酸	セフトラジジム クラブラン酸カリウム

系 統	販売名 フローズンプレート ‘栄研’	構成試薬名 及び成分略号	成 分 名 (含有量は製品同梱の薬剤配列表参照)
β-ラクタム系抗菌薬	合 剤	セフボドキシム・クラブラン酸	セフボドキシムナトリウム クラブラン酸カリウム
		セフトリアキソン・クラブラン酸	セフトリアキソンナトリウム クラブラン酸カリウム
		セフォタキシム・クラブラン酸	セフォタキシムナトリウム クラブラン酸カリウム
		セフピロム・クラブラン酸	硫酸セフピロム クラブラン酸カリウム
β-ラクタム系抗菌薬	アミノグリコシド系	カナマイシン	硫酸カナマイシン
		ゲンタマイシン	硫酸ゲンタマイシン
		ジベカシン	硫酸ジベカシン
		トブラマイシン	トブラマイシン
		アミカシン	硫酸アミカシン
		イセパマイシン	硫酸イセパマイシン
		アルベカシン	硫酸アルベカシン
	マクロライド系	エリスロマイシン	エリスロマイシン
		クラリスロマイシン	クラリスロマイシン
		ロキシスロマイシン	ロキシスロマイシン
		アジスロマイシン	アジスロマイシン二水和物
	リンコマイシン系	リンコマイシン	塩酸リンコマイシン
		クリンダマイシン	塩酸クリンダマイシン
	合 剤	エリスロマイシン・クリンダマイシン	エリスロマイシン 塩酸クリンダマイシン
	キノロン系	ナリジクス酸	ナリジクス酸
		シノキサシン	シノキサシン
		ノルフロキサシン	ノルフロキサシン
		オフフロキサシン	オフフロキサシン
		シプロフロキサシン	塩酸シプロフロキサシン
		ロメフロキサシン	塩酸ロメフロキサシン
		トスフロキサシン	トスフロキサシン
		レボフロキサシン	レボフロキサシン
		バズフロキサシン	バズフロキサシン
		ブルリフロキサシン	UF ^(注)
		ガチフロキサシン	ガチフロキサシン
		シタフロキサシン	シタフロキサシン水和物
		モキシフロキサシン	塩酸モキシフロキサシン
		ガレノキサシン	メシル酸ガレノキサシン水和物
		**ラスクフロキサシン	Ⓜ L ^(注) SFX ラスクフロキサシン塩酸塩
	テトラサイクリン系	テトラサイクリン	TC 塩酸テトラサイクリン
		ドキシサイクリン	DOXY 塩酸ドキシサイクリン
		ミノサイクリン	MINO 塩酸ミノサイクリン
	グリシルサイクリン系	チゲサイクリン	Ⓜ TGC チゲサイクリン
	クロラムフェニコール系	クロラムフェニコール	CP クロラムフェニコール
	オキサゾリジノン系	リネゾリド	LZD リネゾリド
		テジゾリド	TZD テジゾリド
	ポリペプチド系	コリスチン	CL 硫酸コリスチン
		ポリミキシン B	PL 硫酸ポリミキシン B
	グリコペプチド系	バンコマイシン	VCM 塩酸バンコマイシン
		テイコブラニン	TEIC テイコブラニン
	リボペプチド系	ダブトマイシン	DAP ダブトマイシン
その他		ホスホマイシン	FOM ホスホマイシンナトリウム
		ムピロシン	MUP ムピロシン
		スルファメトキサゾール・トリメトプリム	ST スルファメトキサゾール トリメトプリム
		リファンピシン	RFP リファンピシン
		メトロニダゾール	MNZ メトロニダゾール

注) 6-fluoro-1-methyl-4-oxo-7-(1-piperazinyl)-4H-[1,3]thiazeto[3,2-a]quinoline-3-carboxylic acid