

培養同定・一般細菌キット

* I D テ ス ト ・ N F - 1 8

ブドウ糖非発酵性桿菌同定用

【全般的な注意】

- 1.本品は体外診断用医薬品であり、それ以外の目的に使用しないでください。
- 2.測定結果に基づく診断は、臨床症状や他の検査結果等と併せて担当医師が総合的に判断してください。
- 3.添付文書以外の使用方法については保証できませんので、あらかじめご了承ください。

【形状・構造等（キットの構成）】

25 検体用	
・ NF プレート	18 穴×25 枚
・ NF ブイヨン	2.5mL×25 本
・ 滅菌流動パラフィン	20mL×1 本
・ 成績表	13 枚×2 組

主成分	
(NF プレート)	1 プレート中
ブドウ糖	2,000 μg
果糖	4,000 μg
麦芽糖	2,000 μg
ガラクトース	2,000 μg
D-キシロース	2,000 μg
マンニト	4,000 μg
白糖	2,000 μg
乳糖	4,000 μg
エスクリン	500 μg
クエン酸鉄(Ⅲ)水和物	20 μg
尿素	2,000 μg
クエン酸三ナトリウム二水和物	100 μg
2-ニトロフェニル-β-D-ガラクトピラノシド	100 μg
L-リジン塩酸塩	1,000 μg
L-アルギニン塩酸塩	1,000 μg
L-オルニチン塩酸塩	1,000 μg
L-トリプトファン	100 μg
硝酸カリウム	500 μg
硬化ゼラチン	100 μg

** 【使用目的】

細菌中のブドウ糖非発酵性桿菌の同定

**, * 【測定原理】

I D テ ス ト ・ N F - 1 8 は、微量テスト法と数値同定法の理論に基づき、オキシダーゼと 18 種の生化学的性状の陽性・陰性のパターンにより、ブドウ糖非発酵性グラム陰性桿菌を同定するシステムです。

【操作上の注意】

1.被検菌の性質

被検菌は必ず新鮮な純培養菌を用い、接種菌濃度、接種菌液量、滅菌流動パラフィン重層量および各試液添加量は所定の濃度、量を厳守してください。

2.妨害物質

反応の阻害物質として最も一般的なものは、分離培養に用いた培地の培地成分のもち込みがあります。特に糖（ブドウ糖など）を高濃度に含有した培地からのもち込みには十分注意してください。

3.その他

本システムの同定対象菌種以外の菌種をキットに供試した場合、コードなし、あるいは誤同定の原因となります。

【用法・用量（操作方法）】

被検菌の分離および増菌

- 1.検体を血液寒天培地あるいはその他の分離用培地に塗布して、分離培養を行います。
- 2.分離培地上の被検菌がグラム陰性桿菌、ブドウ糖発酵性陰性（これは TSI 寒天培地あるいはヒュー・レイフソン培地で確認します）であることを確認し、それ以外の細菌は除外します。
- 3.被検菌を普通寒天培地等の斜面または平板で増菌培養します。

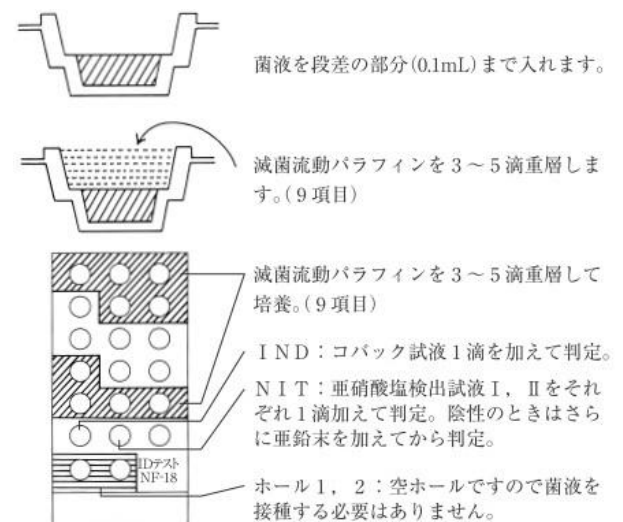
接種菌液の調製

増菌培養した被検菌を白金耳でとり、NF ブイヨン 1 本に浮遊させます。菌濃度は、標準比濁液（菌液 1mL 中に細菌数 1.5×10^8 個相当：McFarland No.1 の 1/2）と同等にします。

菌液の接種

- 1.調製した菌液を滅菌したピペットを用いて吸い上げ、NF プレートの各ホール段差の部分（0.1mL）まで接種します。
- 2.ホール 1 およびホール 2 は空ホールで培地は分注されていませんので菌を接種する必要はありません。

* 菌液接種図解



3.菌液を接種後、次の9項目（記号が白抜きになっています）には、滅菌流動パラフィンを3～5滴重層して空気を遮断します。

GLU FRU MLT XYL MAN
URE LDC ADH ODC

注）被検菌は必ず新鮮な純培養菌を用い、接種菌液濃度、接種菌液量、滅菌流動パラフィン重層量および各試液添加量は所定の濃度・量を厳守してください。

培養

プレートにふたをして、30℃または37℃で22～24時間培養します。

注）培養は所定時間を厳守してください。

判定

培養後、下記の判定表を参照して陽性、陰性を1時間以内に判定します。

項目	強陽性～弱陽性	陰性
GLU	黄色	赤色
FRU	黄色	赤色
MLT	黄色	赤色
GAL	黄色	赤色
XYL	黄色	赤色
MAN	黄色	赤色
SUC	黄色	赤色
LAC	黄色	赤色
ESC	黒色～茶色	淡い黄緑色
URE	赤色	黄色～橙色
CIT	赤色	黄色～橙色
ONPG	黄色	無色
LDC	赤色	黄色
ADH	赤色	黄色
ODC	赤色	黄色
IND	赤色	黄色～無色
NIT	NO ₂	赤色～淡いピンク色
	N ₂	無色
GEL	全体黒色化	粒状

このとき同時に、新鮮培養菌を用いてオキシダーゼテスト、色素産生の有無およびその色を確認し、成績表に記録してください。オキシダーゼはプロファイルの区別に、色素産生性は同定の補助として役立ちます。（ホール1あるいは2にブイヨンの残りを分注しておいて培養後テストをしてもかまいません。）

ゼラチン（GEL）は全体が黒色になっていなくても、わずかに黒色色素の拡散が認められる場合は陽性と判定します。

ただし、下記の2項目は培養後、試薬を加えてから判定します。

成績の記録

1.プレート上で判定した18項目の生化学的性状を陽性は＋、陰性は－と、添付の成績表に記入します。

2.成績表は、生化学的性状の18項目を次のように3性状ずつ集めて6群に分けてあります。

点数	1群	2群	3群	4群	5群	6群
1	ブドウ糖 (GLU)	ガラクトース (GAL)	白糖 (SUC)	尿素 (URE)	リジン (LDC)	インドール (IND)
2	果糖 (FRU)	キシロース (XYL)	乳糖 (LAC)	クエン酸 (CIT)	アルギニン (ADH)	硝酸塩還元 (NIT)
4	麦芽糖 (MLT)	マンニット (MAN)	エスクリン (ESC)	ONPG (ONPG)	オルニチン (ODC)	ゼラチン (GEL)

3.各テストの成績はすべて数字で表し、陰性はすべて0点、陽性は群ごとに次のように点数を与えます。

- ・各群の最初のテスト（例えばブドウ糖、ガラクトースなど）には1点
- ・各群の2番目のテスト（例えば果糖、キシロースなど）には2点
- ・各群の3番目のテスト（例えば麦芽糖、マンニットなど）には4点

4.各テストの点数を群ごとに合計して記入し、それぞれを連結させると、被検菌の生化学的性状は6けたの数字にコード化されます。

IND コバック試液を1滴加えて判定します。このときホール壁面に沿ってリング状に赤色～淡いピンク色を呈したのも陽性となります。

NIT (NO₂: 亜硝酸塩) 亜硝酸塩検出試液ⅠおよびⅡをそれぞれ1滴ずつ加え、3～5分後に判定します。
(N₂: 脱窒素) 亜硝酸塩陰性の場合には、亜鉛末を振って加え、1～2分後に判定します。

硝酸塩還元（NIT）テストの判定法

1.亜硝酸塩検出試液Ⅰ、Ⅱを加えたとき、培地が赤色～淡いピンク色を呈したものを陽性と判定します。この場合は亜鉛末による確認は必要ありません。

IND	NIT		GEL	→	陽性 (2点加算)
	NO ₂	N ₂			
	+				

2.亜硝酸塩検出試液Ⅰ、Ⅱを加えたとき、培地が赤色～淡いピンク色を呈さなかった場合。

①亜鉛末を加えても赤色～淡いピンク色を呈さないときはN₂を陽性と判定、最終判定も陽性としします。

IND	NIT		GEL	→	陽性 (2点加算)
	NO ₂	N ₂			
	-	+			

②亜鉛末を加えたとき赤色～淡いピンク色を呈したときはN₂を陰性と判定、最終判定も陰性と判定します。

IND	NIT		GEL	→	陰性
	NO ₂	N ₂			
	-	-			

硝酸塩還元テストは、培地中の硝酸塩（NO₃）を菌が還元するか否かをみるテストで、還元された亜硝酸塩（NO₂）が培地中に検出されれば判定は陽性としします。しかし、この還元反応は更にNO₂→NO→N₂と進む場合があります、このときも判定は陽性です。ただし、亜硝酸塩検出試液はNO₂としか反応しないため培地色調の変化はありません。そこで、亜鉛粉末を加えることによってNO₃→NO₂の反応を起こさせて培地中にNO₃が残存しているか否かを確認する必要があります。亜鉛粉末の添加によって残存NO₃が検出されなかった場合は、全てのNO₃が消費された硝酸塩還元陽性と判定します。

記入例

IDテスト・NF-18																			
成績表										年月日					患者名				
										検体名					検査者				
グラム染色		陰性桿菌		ブドウ糖 OF		O		オキシダーゼ		+		色常産生		+					
GLU	FRU	MLT	GAL	XYL	MAN	SUC	LAC	ESC	URE	CIT	ONP	LDC	ADH	ODC	IND	NIT	GEL		
+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+		
①	②	④	①	②	④	1	2	4	①	②	4	1	②	4	1	②	④		
③		⑦		⑩		③		②		⑥									
菌名										P. aeruginosa					備考				
追加テスト																			

菌種の選択

18の生化学的性状の成績から得られたコード(プロファイル: 6ケタの数字)と運動性の成績をオキシダーゼ陽性菌ならばIDテスト・NF-18解析プロファイルのAに、

オキシダーゼ陰性菌ならばBに照合することにより、菌種を選択します。
なお、菌種選択の詳細は、IDテスト・NF-18解析プロファイルを参照してください。

【性能】

品質管理の方法

操作方法又は使用方法欄の操作方法により次の性能試験を行うとき、下記の条件に適合する。

(1)感度・正確性試験

次の菌株について操作するとき、得られた18項目の生化学的性状を6群(表1)に分け、各群の成績により点数を配布して得た6桁の数式プロファイルは表2のコードNo.を示す。

株 No.	菌種名
NF-1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
NF-7	<i>Burkholderia cepacia</i>
NF-20	<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>
NF-17	<i>Acinetobacter baumannii</i>

(2)同時再現性試験

上記(1)に示した菌株について3回同時に測定する時、得られた6桁の数式プロファイルは表2に示すコードNo.に一致する。

表 1

点数	1 群	2 群	3 群	4 群	5 群	6 群
1	ブドウ糖 (GLU)	ガラクトース (GAL)	白糖 (SUC)	尿素 (URE)	リジン (LDC)	インドール (IND)
2	果糖 (FRU)	キシロース (XYL)	乳糖 (LAC)	クエン酸 (CIT)	アルギニン (ADH)	硝酸塩還元 (NIT)
4	麦芽糖 (MLT)	マンニット (MAN)	エスクリン (ESC)	ONPG (ONPG)	オルニチン (ODC)	ゼラチン (GEL)

各テストの成績はすべて数字で表し、陰性はすべてゼロ、陽性は群ごとに次のように点数を与える。

- ・各群の最初のテスト(たとえばブドウ糖、ガラクトースなど)には1点
- ・各群の2番目のテスト(たとえば果糖、キシロースなど)には2点
- ・各群の3番目のテスト(たとえば麦芽糖、マンニットなど)には4点

表 2

株 No.	菌種名	コード No.					
		1 群	2 群	3 群	4 群	5 群	6 群
NF-1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	7	0	3	2	6
		7	7	0	3	2	6
NF-7	<i>Burkholderia cepacia</i>	7	7	7	6	5	0
		7	7	7	6	5	4
NF-20	<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	3	4	4	7	0	5
		3	4	6	7	0	5
NF-17	<i>Acinetobacter baumannii</i>	7	7	2	2	0	0

(3)相関性

従来の試験管法による同定と比較して、90%以上の同定一致率を示します。

【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)試薬などが目や口に入った場合には、水で十分に洗い流し、医師等に相談し、指示を受けてください。
- 2)微生物の取扱いは常に感染の危険性があるので、取扱いにあたっては熟練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使用してください。
- 3)検体に接触した器具、試薬および試薬容器などは感染の危険があるものとして取扱ってください。

2.使用上の注意

- 1)使用期限を過ぎた試薬は同定の信頼性が保証できないので使用しないでください。
- 2)使用前に異物混入等の異常が認められたものは使用せずに製造販売元まで連絡してください。

3)袋から出した同定用プレートを、その日のうちに使用しない場合は、デシケーター内など乾燥したところに保存してください。

- * 4)IDテストの使用の際には解析プロファイルが必要です。解析プロファイルについては下記問い合わせ先にご連絡ください。

3.廃棄上の注意

使用後の培地・試薬・器具等は、オートクレーブ等で滅菌したのち、廃棄物に関する規定に従って医療廃棄物または産業廃棄物などに区分して処理してください。

【貯蔵方法、有効期間】

貯蔵方法

室温に保存(但し、30℃以上の場所はさけてください)。

有効期間

製造後 1 年間。

外箱および容器のラベルに使用期限を表示してあります。

*【包装単位】

ID テスト・NF-18 25 検体用	Code06629
NF プレート 100 検体用	Code06617
NF ブイヨン 100 検体用	Code06618
NF 試薬 100 検体用	Code06631

【主要文献】

主要文献

- 1.坂崎利一監訳：グラム陰性菌の同定（除・腸内細菌），
医典礼 1985.
- 2.Giland, G. T.: Glucose Nonfermenting Gram-Negative
Bacteria in Clinical Microbiology, CRC Press (U.S.A.),
1978.
- 3.Garrity, G. M. et al. (ed.): Bergey's Manual of Systematic
Bacteriology 2nd edition Vol.2, Springer-Verlag, USA,
2005.

*【問い合わせ先】

島津ダイアグノスティクス株式会社
カスタマーサポート担当
〒110-0005
東京都台東区上野 3-24-6
電話 03(5846)5707

*【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

島津ダイアグノスティクス株式会社
〒110-0005
東京都台東区上野 3-24-6
電話 03(5846)5611（代）