

この添付文書をよく読んでから使用ください。

体外診断用医薬品

B1017-221



※ 2020年11月改訂（第2版）
2015年3月作成（第1版）

MicroScan

承認番号 20700AMY00075000

クラスⅢ細菌検査用シリーズ

マイクロスキャン Pos シリーズ ID Type 3

Pos ID Type 3

[全般的な注意]

- 本品は体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的に使用しないでください。
- 本品の測定結果は、患者の治療歴、臨床症状、その他関連する検査結果等と合わせて総合的に判断ください。
- 記載された使用方法及び使用目的以外で使用した場合は、本品の性能を保証できません。添付文書に記載された方法で使用するください。
- 微生物感受性分析装置マイクロスキャン各機種の取扱説明書をよく読んでください。
- 下記の包装状態にあるパネルは使用しないでください。
 - a. パウチの中にデシカント（吸湿剤）がなかったり、又はデシカントの袋が破れているもの
 - b. ウェルが変色しているもの（例えば、PH0ウェル、各薬剤ウェル）
 - c. パネルの包装状態が不完全なもの（パウチのシーリングが不完全なものや、穴・裂目があるものなど）

[形状・構造等（キットの構成）]

1. 試験管理部

構成試薬名 (ウェル)	
C	コントロールウェル（細菌生育陰性コントロール）
G	グロースウェル（細菌生育陽性コントロール）
LOC	ロケーションウェル （微生物感受性分析装置マイクロスキャン各機種用パネル識別ウェル）

2. 細菌培養同定試験部：構成製品 ID Type 3

構成試薬名 (ウェル)	成分名
CV	クリスタルバイオレット
MS	バシトラシン
NIT	硝酸カリウム
NOV	ノボビオシンナトリウム
PGR	p - ニトロフェニル - β - D - グルクロニド
IDX	3 - インドキシルリン酸ナトリウム
VP	ブドウ糖
OPT	オプトヒン

構成試薬名 (ウェル)	成分名
PHO	p - ニトロフェニルリン酸
BE	エスクリン、オキシガル
PYR	L - ピロリドニル - β - ナフチルアミド
ARG	L - アルギニン塩酸塩、PR
PGT	p - ニトロフェニル - β - D - ガラクトピラノシド
URE	尿素、PR
MAN	D - マンニトール、PR、CRP
LAC	乳糖、PR、CRP
TRE	トレハロース、PR、CRP
MNS	マンノース、PR、CRP
NACL	塩化ナトリウム
SOR	ソルビトール、PR、CRP
ARA	アラビノース、PR、CRP
RBS	リボース、PR、CRP
INU	イヌリン、PR、CRP
RAF	ラフィノース、PR、CRP
BAC	バシトラシン
PRV	ピルビン酸ナトリウム、PR

PR：フェノールレッド
CRP：クロロフェノールレッド

[使用目的]

グラム陽性細菌の同定

[測定原理]

本品は従来法や発色法の変法を利用して *Micrococcaceae*、*Streptococcaceae* 及び *Listeria monocytogenes* を同定します。同定は、35℃で16～44時間後のpH変化、基質の利用能、抗菌薬存在下での生育などにに基づいています¹⁻⁷。

各同定項目の反応原理は次のとおりです。

- クリスタルバイオレット（CV）
低濃度のクリスタルバイオレット存在下での生育により、streptococci（陽性）とstaphylococci（大部分が陰性）を判別します。
- Micrococcusスクリーン（MS）
低濃度のバシトラシン（0.05µg/mL）存在下での生育により、staphylococci（陽性）とmicrococci（陰性）を判別します。

- ・硝酸塩還元 (NIT)
硝酸塩から亜硝酸塩への還元を、サルファニル酸溶液と α -ナフチルアミン溶液の添加で発色する赤色より検出します。streptococciは陰性で、大部分のstaphylococciは陽性です。
- ・ノボジオシン (NOV)
ある種のstaphylococciは、低濃度のノボジオシン (1.6 μ g/mL) に耐性です。
- ・グリコシダーゼ (PGR、PGT)
被検菌のグリコシダーゼ産生能を合成基質であるp-ニトロフェニル炭水化物複合体を用いて判定します。この複合体がグリコシダーゼにより分解されると、p-ニトロフェノールが生成し、黄色を呈します。
- ・インドキシルフォスファターゼ (IDX)
インドキシルリン酸はインドキシルフォスファターゼにより加水分解され青色の不溶性複合体を生成します。大部分のコアグラウゼ及びDNase陽性のstaphylococciは陽性です。
- ・VP反応 (VP)
ブドウ糖からできるアセチルメチルカビノールは、水酸化カリウム溶液及び α -ナフトール溶液と反応して赤色を呈します。
- ・オプトヒン (OPT)
*Streptococcus pneumoniae*は、オプトヒンに感性です。他のstreptococci及びstaphylococciは耐性です。
- ・フォスファターゼ (PHO)
アルカリフォスファターゼは、p-ニトロフェニルリン酸を無機リン酸とp-ニトロフェノールに分解し、黄色を呈します。
- ・胆汁酸エスクリン (BE)
40%胆汁酸に生育してエスクリンを加水分解する菌種を、エスクリンの分解産物とクエン酸第二鉄が反応して生じる黒い沈殿物より検出します。D群streptococci、ある種のviridans streptococci及びある種のstaphylococciは陽性です。
- ・ピロリドニル- β -ナフチルアミド (PYR)
ピロリドナーゼを産生する菌種は、L-ピロリドニル- β -ナフチルアミドをL-ピロリドンと β -ナフチルアミンに分解します。 β -ナフチルアミンはペプチダーゼ試薬 (p-ジメチル-アミノシンナムアルデヒド) と結合して赤色を呈します。
- ・アルギニン (ARG)
アルギニンの脱水反応により培地がアルカリ性に変化します。この変化により、pH指示薬のフェノールレッドが黄色から赤色へ変化します。
- ・尿素 (URE)
ウレアーゼは尿素を分解してアンモニアを生成します。この結果、pHが上昇し、これをpH指示薬のフェノールレッドで検出します。
- ・炭水化物 (RAF, LAC, TRE, MNS, SOR, ARA, RBS, INU, MAN)
特定の炭水化物の発酵により酸を生成します。この結果、pHが低下し、pH指示薬のフェノールレッドが赤色から黄色へ変化します。
- ・6.5% 食塩 (NACL)
6.5% 食塩に対する耐塩性を菌の生育により判定します。主に腸球菌の検出を目的とします。
- ・バントラシン (BAC)
*Streptococcus pyogenes*は低濃度のバントラシンに感性です。

- ・ビルビン酸 (PRV)
ビルビン酸の利用により酸が生成します。この結果、pHが低下し、pH指示薬のフェノールレッドが赤色から黄色へ変化します。
- ・溶血性 (HEM)
streptococciが産生するストレプトリジンSとOによりヒツジ血加寒天培地中の赤血球が完全又は部分的に溶血します (オフラインテスト)。

[操作上の注意]

測定試料の性質・操作法

- ・「Manual of Clinical Microbiology」で推奨されている方法に従って検体を採取、運搬し、分離培養を行ってください⁸。
- ・本品は対数期法及び定常期法には対応していません。

[用法・用量 (操作方法)]

- 必要な器具・器材・試料等 (品目コード)
微生物感受性分析装置マイクロスキャン各機種
0.5McFarland濁度標準液
 α -ナフチルアミン溶液 30mL (B1010-45A) 又は250mL (B1015-45)
サルファニル酸溶液 30mL (B1010-44A) 又は250mL (B1015-44)
100 μ L用ピペット及び滅菌チップ
 α -ナフトール溶液 30mL (B1010-42A)
水酸化カリウム溶液 30mL (B1010-43A) 又は250mL (B1015-43)
カバートレイ (B1010-56B)
検査室の一般的な器具
リノックイノキュレーター (B1013-4)
イノキュラムH₂O 3mL (B1015-2)
希釈水 (PLURONIC*含有) 25mL (B1015-7)
ワークシート
パネルビューアセット
ミネラルオイル 60mL (B1010-40)
ミネラルオイル 250mL (B1010-40A) : 自動ミネラルオイル重層機能のある機器に使用できます。
プロンプト** (B1026-10D)
精度管理用菌株
ペプチダーゼ試薬 30mL (B1012-30B) 又は250mL (B1015-30)
試薬ディスペンサー (B1013-12A)
リノック (B1018-14)
濁度計
ボルテックスミキサー
バーコードラベル (B1018-129)
トレーリッド (B1018-18)
*PLURONIC®界面活性剤はBASF社の登録商標です。
**プロンプトは3M社の商品です。

2. 測定 (操作) 法

* 1) パネルの準備

本品を保管場所から取り出します。パウチを開封しパネルを取り出します。冷蔵庫に保管していたパネルは、直ちにパウチを開封後パネルを取り出してください。パネルは溶解する前に常温に戻します。パネルの上部にトレーリッドを置いて重ねてください。開封したパネルはその日のうちに使用するか又は廃棄ください。

2) 菌液の調製

CLSIはコロニーの個数を数えることで菌液濃度を定期的に確認することを推奨しています。CLSI M7-A7 section 10.3.1.3を参照ください。最終菌液濃度は *E. coli* ATCC25922で約 5×10^5 CFU/mLに調製することが望ましいとされています⁹。プロンプト法や濁度計を使用せずに調製した菌液は手技に左右されるため、以下の記載に従い注意して菌液を調製ください。

(1) プロンプト法

この方法は、生育の早いグラム陽性球菌の菌液調製に適しています。

a. プロンプト用のチップ、ワズ (Wands) を寒天培地に対して垂直に持ち、18~24時間培養した非選択培地より単離した形態学上同一のコロニーのうち、ワズの先端と同じくらい又はそれより大きい3個のコロニーを釣菌します。この時、寒天培地を突き刺したり、ひっかいたりしないように注意ください。

注) 小さいコロニー (ピンポイントコロニーなど) は直径がワズの先端部より大きくなるまで延長培養します。コロニーの直径がこのサイズまで発育しない場合 (ある種の *streptococci* など) は、他の方法で菌液を調製ください。

b. 片方手でワズを持ち、もう一方手でカラー (環) をつかみ、しっかり引いてワズとカラーを引き離します。カラーをひねったり曲げたりしないでください。またワズの先端は自分自身や周囲の人に向けず、下に向けた状態にしてください。カラーを下の方へゆっくりとスライドさせてワズから取り外します。取り外したカラーは破棄ください。

c. 片方手でワズを持ったまま、もう片方手でプロンプトボットのキャップを折って取り外し、ワズをボットに挿入してしっかりと栓をする要領で装着ください。

d. ボットを激しく8~10回振り混ぜ、ワズの先端から菌を遊離させます。菌が遊離しない場合は、5分間放置した後、再度混和ください。調製した菌液は4時間以内に使用ください。調製後すぐに使用しない場合は、使用前に再度激しく混和ください。

注) プロンプトの使用にあたっては注意が必要です。サイズの小さい菌を釣菌すると誤った同定結果を招く場合があります。

(2) 基準濁度法

この方法は、すべての好気性菌の菌液調製に適しています。また、メチシリン耐性の *staphylococci* を検出する場合にも適しています。

a. 18~24時間培養した非選択培地から、単離した形態学上同一のコロニーのうち、大きいものなら4~5個、小さいものなら5~10個のコロニーを滅菌綿棒などを用いて釣菌します。

b. 3mLのイノキュラムH₂O又は滅菌脱イオン水に懸濁し、最終菌液濃度を0.5McFarlandに調整します。濁度計を用いる場合、0.08±0.02の範囲内であることを確認ください。フタをしっかりと閉めます。

c. ボルテックスミキサーを用いて懸濁液を2~3秒間混和します。

d. 調製した菌液を100μL取り、希釈水25mLに添加します。フタをしっかりと閉め、8~10回転倒混和します。

3) パネルの溶解/分注

パネルの溶解及び菌液の分注はリノック及びリノックイノキュレーターで行います。詳細はリノック取扱説明書を参照ください。その他のシステムを使用する場合は、パネルの各ウェルに115±10μLの菌液を分注して、ウェル中の最終菌液濃度が3~7×10⁵CFU/mLになるようにします。菌の生育力及びコンタミネーションを確認するため、菌液を適切な寒天培地に純培養ください。2種以上のコロニーが培地上に生育した場合は、コロニーを再度分離培養して再試験を行ってください。

4) ミネラルオイルの重層

(1) 項目名にアンダーラインのあるウェル (ARG、URE) にミネラルオイルを少なくとも3滴ずつ重層ください。

(2) これらのウェルは、ミネラルオイルで完全におおう必要がありますが、オイルがウェルからあふれ出さないようご注意ください。

注) 自動ミネラルオイル重層機能のある機器は、この作業が自動で行われます。

5) 培養

パネルは微生物感受性自動分析装置マイクロキャンWalkAway®各機種を用いて培養するか、又は次の手順で培養します。

(1) 培養温度が均一になるよう、パネルを3~5枚ずつ重ねます。

(2) 蒸発を防ぐために、清潔なカバートレイを一番上のパネルに重ねます。カバートレイは再利用できます。アルコールを使わずに洗剤で洗浄後、よく水洗いして自然乾燥してください。

(3) 35℃の恒温器 (non-CO₂) で16~20時間培養します。

6) 精度管理

既知の反応を示す精度管理用菌株を用いて、同定試験項目が許容範囲内であることを確認ください。

同定簡易精度管理

同定簡易精度管理試験では、CLSI M50-Aに基づいて下記品質を確認します¹⁰。事前にCLSI M50-Aドキュメントを参照し、詳細を確認ください。

精度管理用菌株	確認品質	規格	規格外	確認する点
<i>S. bovis</i> ATCC49147	ARA	-	+	製品性能

[測定結果の判定法]

1. パネルの読み取り

パネルは、次の1)~5)の手順に従いパネルビューアセットを用いて目視で読み取り、結果をワークシートへ記入します。また、微生物感受性自動分析装置マイクロキャンWalkAway®各機種及びAutoSCAN-4®などで自動読み取りも可能です。詳細は、各機種の取扱説明書を参照ください。

1) 16~20時間培養後、恒温器からパネルを取り出します。

2) キムワイプなどでパネルの底の水滴や埃をふき取ります。

3) Gウェルに菌の生育が認められず、Gウェルに菌の

- 生育が認められる場合に限り、読み取りを行います。菌の生育は、ウェル全体の濁り、ウェル中央のボタン状の白い沈殿、ウェル全体の粒状の濁りなどとして観察されます。生育が不十分な場合は、ウェルがわずかに白くなるか、あるいは培地に濁りが認められません。
- 4) パネルを目視で読み取る場合は、ワークシートに結果を記入します。
- 5) 同定試験部の読み取り
- (1) CV、MS、NOV、OPT、NACL及びBACは間接光を用いて黒色の背景で、それ以外の項目は白色の背景で読み取ります。
- (2) IDX及びPHOは16～20時間後に読み取ります。
- (3) PGTが陰性かつ炭水化物の反応において陽性が2項目以下の場合は、さらに24時間培養します。
- (4) 16～20時間培養後にPGTが陽性又は炭水化物の反応において陽性が3項目以上の場合は、試薬を滴下します。40～44時間培養後は、陽性の項目数に関係なく試薬を滴下します。
- (5) 試薬を滴下する前に陽性反応をすべて記録しておきます。
- (6) 下記の要領で試薬を滴下ください。
- a. VPウェル：水酸化カリウム溶液と α -ナフトール溶液をそれぞれ1滴ずつ加えます。20分以上反応させ、結果を読み取ります。
- b. NITウェル：サルファニル酸溶液と α -ナフトルアミン溶液をそれぞれ1滴ずつ加えます。5分以上反応させ、結果を読み取ります。
- c. PYRウェル：ペプチダーゼ試薬を2滴加え、2分後に結果を読み取ります。

2. 結果の判定

1) 同定項目の結果

ウェル	試薬滴下及び注意事項	陽性	陰性
CV MS NOV OPT NACL BAC		生育あり	生育なし
NIT	サルファニル酸溶液及び α -ナフトルアミン溶液を各々1滴ずつ加えます。5分間放置後読み取ります。	ピンク色～赤色	無色透明 非常に淡いピンク色
PGR PHO PGT	少しでも黄色を呈したら陽性としします。 NOVを陰性対照とします。	黄色	無色透明
IDX		青色～灰色／沈殿	無色透明 白色沈殿
VP	水酸化カリウム溶液及び α -ナフトール溶液を各々1滴ずつ加えます。20分間以上反応させた後読み取ります。	ピンク色～赤色	無色透明～茶色濁り又は非常に淡いピンク色
BE		褐色～黒色	無色透明～薄茶色

ウェル	試薬滴下及び注意事項	陽性	陰性
PYR	ペプチダーゼ試薬を2滴加え、2分間反応させた後に読み取ります。	赤色/橙色～赤色	黄色～橙色/赤色
ARG		ピンク色/橙色～ピンク色	黄色～橙色
URE		ピンク色	黄色～橙色
RAF LAC TRE MNS SOR ARA RBS INU MAN PRV	少しでも橙色を呈したら陰性としします。	黄色	橙色～赤色
HEM		β 溶血	α 、 γ 溶血
LOC	微生物感受性自動分析装置マイクロスキャン WalkAway®各機種及びAutoSCAN-4®用パネル識別ウェル		

(2) 同定方法

同定はLabProバイオタイプ検索プログラムの陽性率表を用いて行います。本プログラムはマイクロスキャンのデータベースから作成されています。*Streptococcaceae*は27項目、*Micrococcaceae*は18項目の試験結果が、それぞれ9桁及び6桁のバイオタイプナンバーに変換され、同定された菌が相対確率（最高99.99%）の高い順にリストされます。プログラムは*Micrococcaceae*と*Streptococcaceae*の2つに分類されています。同定結果が“非常に稀なバイオタイプ”となったバイオタイプナンバーは、再度バイオタイプ検索プログラムで確認するか、もしくは弊社までお問い合わせください。

(3) 生化学性状の期待値はマイクロバイオリジックス インフォメーションマニュアルの陽性率表を参照ください。

3. 判定上の注意

- CLSI M7-A7では栄養要求性の高いstreptococciに対して馬溶血血液加ミューラーヒントンプロスが推奨されていますが、本品はこの推奨と異なります。本品は栄養要求性の高いstreptococci の同定が可能です。Gウェルに十分な生育が認められない場合は、生化学結果は無効とし、別の方法で検査ください。
- 本パネルは嫌気性グラム陽性球菌の同定には適していません。
- 相対確率が低い場合（＜85%）は、追加試験による確認が必要な場合があります（詳細は、LabProバイオタイプ検索プログラムのオーバーナイトグラム陽性又はマイクロバイオリジックス インフォメーション マニュアルを参照ください）。
- 最終的な検査結果の判定は、細菌の専門知識のある臨床検査技師による判断が必要です。
- バイオタイプナンバーを同一患者の多種の材料から得られた分離株の表現型（フェノタイプ）の同定に用いることはできません。
- バンコマイシン耐性 *E. faecium* と *E. gallinarum* の識別には運動性と色素産生の確認を行ってください。詳細は、マイクロバイオリジックス インフォメーション マニュアルの追加試験欄を参照ください。

[性能]

- 1) 感度／正確性 既知の管理菌株として以下の管理用菌株を用いて試験を行うとき、既知の菌種名を示します。
- | | |
|-------------------------|------------|
| <i>E. faecalis</i> | ATCC 29212 |
| <i>S. aureus</i> | ATCC 29213 |
| <i>S. bovis</i> | ATCC 49147 |
| <i>M. luteus</i> | ATCC 49732 |
| <i>S. pneumoniae</i> | ATCC 49136 |
| <i>S. saprophyticus</i> | ATCC 49907 |
| <i>S. xylosum</i> | ATCC 49148 |
| <i>E. avium</i> | ATCC 49464 |
- 2) 同時再現性 既知の管理菌株について、感度／正確性試験と同様に操作する試験を複数回行うとき、同一の結果を示します。

[使用上又は取扱上の注意]

1. 取扱い上（危険防止上）の注意
- すべての操作において無菌操作及びバイオハザードに対する注意を遵守し、特に菌液を分注したパネルは病原性微生物を含む可能性があるものとして慎重に取り扱ってください。
 - GウェルとOPTウェルには0.005%ヘミンが含まれています。
2. 使用上の注意
- パネル開封後はすみやかに使用し、開封当日に使用しない場合は廃棄ください。
 - 指定された方法以外で貯蔵された製品は、生化学試薬が変色する恐れがあります。貯蔵方法を守り、使用期限内に使用ください。
3. 廃棄上の注意
- 測定に使用したものは廃棄前に必ずオートクレーブにかけてください。
 - 試料には感染性のものが存在する場合がありますので、廃棄する場合には必ず医療廃棄物に関する規定に従って、医療廃棄物又は産業廃棄物等区別して適切に処理ください。

[貯蔵方法・有効期間]

※ 貯蔵方法：2～25℃で遮光して保存
有効期間：12ヶ月

[包装単位]

20パネル（1箱）

[主要文献]

1. Facklam, R. R. 1971. Recognition of the group D streptococcal species of human origin by biochemical and physiological tests. Appl. Microbiol. 23:1131.
2. Facklam, R. R. 1973. Comparison of several laboratory media for presumptive identification of enterococci and group D streptococci. Appl. Microbiol. 26:138

3. Facklam, R. R., and P. B. Smith. 1976. The Gram positive cocci. Human Path. 7:187.
4. Falk, D., and S. J. Guering. 1983. Differentiation of Staphylococcus and Micrococcus spp. with the taxo A bacitracin disk. J. Clin. Microbiol. 18:719.
5. Gross, K. C., M. P. Houghton, and L. B. Senterfit. 1975. Presumptive specification of Streptococcus bovis and other group D streptococci from human sources by using arginine and pyruvate tests. J. Clin. Microbiol. 1:54.
6. Kloos, W. E., and K. H. Schleifer. 1975. Simplified scheme for routine identification of human staphylococcus species. J. Clin. Microbiol. 1:82.
7. MacFaddin, J. F. 1980. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria, 2nd ed., Williams and Wilkins, Baltimore Md.
8. Murray, P. R., E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry, and M. A. Pfaller (eds). 2007. Manual of Clinical Microbiology, 9th ed. American Society for Microbiology, Washington D. C.
9. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically. 2006. Approved Standard M7-A7. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
10. Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems. 2008 CLSI Document M50-A. Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI, Wayne, PA.

[問い合わせ先]

ベックマン・コールター株式会社
お客様サポートセンター
TEL 0120-566-730 または 03-6745-4704

[製造販売元]

ベックマン・コールター株式会社
東京都江東区有明三丁目5番7号 TOC有明ウエストタワー

Beckman Coulter, the stylized logo, and the Beckman Coulter product and service marks mentioned herein are trademarks or registered trademarks of Beckman Coulter, Inc. in the United States and other countries.

© 2020 Beckman Coulter, Inc.
All Rights Reserved.