この添付文書をよく読んでから使用してください。
体外診断用医薬品

B1017-70

※ 2021年6月改訂（第2版）
2015年3月作成（第1版）

承認番号 21700AMY00060000

MicroScan

培養同定・真菌キット

マイクロスキャン RYID パネル

[全般的な注意]

1. 本品は体外診断用のみに使用してください。
2. 試験結果の判定には専門の臨床検査技師の最終判断が必要です。また、最終判断を下す前に必要に応じて追加試験を実施してください。
3. 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してください。
4. マイクロスキャン各機器を使用する場合は当該の機器やソフトウェアの取扱説明書をよく読んでください。
5. 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. パウチの中に乾燥剤がなかったり、又は乾燥剤の袋が破損したりしているもの。
   b. パネルの包装状態が不完全なもの （例えば、パウチのシーリングが不完全なものや、穴・裂目があるもの等）。

[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）	
BNAC	コントロールウェル（β-ナフチルアミド・コントロール）
NPC	コントロールウェル（ニトロフェニル・コントロール）
LOC	ロケーションウェル（マイクロスキャン各機器用パネル識別ウェル）

2. 細菌培養同定試験部

構成試薬名（ウェル）	成分名
HPR	ヒドロキシプロリン-β-ナフチルアミド
ILE	L-イソロイシン-β-ナフチルアミド
PRO	L-プロリン-β-ナフチルアミド塩酸塩
TYR	L-チロシン-β-ナフチルアミド
GLY	グリシン-β-ナフチルアミド塩酸塩
GGLY	グリシルグリシン-β-ナフチルアミド塩酸塩
GLAR	グリシル-L-アルギニン-4-メトキシ-β-ナフチルアミド塩酸塩
GLPR	グリシル-L-プロリン-4-メトキシ-β-ナフチルアミド塩酸塩
AARG	L-アルギニル-L-アルギニン-β-ナフチルアミド
LYAL	L-リジル-L-アラニン-4-メトキシ-β-ナフチルアミド塩酸塩
ALA	L-アラニン-4-メトキシ-β-ナフチルアミド塩酸塩
STY	L-セリル-L-チロシン-β-ナフチルアミド
URE	尿素
	フェノールレッド
IDX	3-インドキシルリン酸二ナトリウム塩
HIS	L-ヒスチジン-β-ナフチルアミド
SUC1	サッカロース クロロフェノールレッド
SUC2	サッカロース クロロフェノールレッド
TRE	トレハロース
AGL1	p-ニトロフェニル-α-D-グルコピラノシド
AGL2	p-ニトロフェニル-α-D-グルコピラノシド
BGL	p-ニトロフェニル-β-D-グルコピラノシド
BGAL	o-ニトロフェニル-β-D-ガラクトピラノシド
BDF	p-ニトロフェニル-β-D-フコピラノシド
AGAL	p-ニトロフェニル-α-D-ガラクトピラノシド
NAG	p-ニトロフェニル-N-アセチル-β-D-グルコサミニド
CELL	p-ニトロフェニル-β-D-セロビオシド
NGAL	p-ニトロフェニル-N-アセチル-β-D-ガラクトサミニド

[使用目的]
酵母及び酵母様真菌の細菌培養同定検査。

[測定原理]
乾燥させた27基質を含むパネルを滅菌水に懸濁した酵母菌液で溶解させます。35～37℃で 4 時間反応させて菌種を同定します。
各同定項目の反応の原理は次のとおりです。

- アミノ酸-β-ナフチルアミド(HPR、ILE、PRO、TYR、GLY、GGLY、GLAR、GLPR、AARG、LYAL、ALA、STY、HIS)
  基質が酵素(通常はアミノ酸アリルアミダーゼ)により加水分解を受けるとβ-ナフチルアミンを遊離します。β-ナフチルアミンは添加したペプチダーゼ試薬中のp-ジメチルアミノシナムアルデヒドと結合してピンクから紫色の複合体を形成します。
  注)アミノ酸-β-ナフチルアミドを加水分解する酵素は正式にはアミノ酸アリルアミダーゼと呼ばれています。アミノペプチダーゼという言葉はしばしばこのアリルアミダーゼと同義語として使われますが、正確には特異性が異なります。この両酵素ともアミノ酸-β-ナフチルアミドを加水分解します。そのため、本法ではこの酵素を分ける必要はありません。また一つのアリルアミダーゼは数種類のアミノ酸-β-ナフチルアミドを加水分解することもあります。
- 炭水化物(SUC1、SUC2、TRE)
  白糖及びトレハロースの利用能がある場合、培地のpH が低下します。pH の低下は指示薬のクロロフェノールレッドによって検出され、紫色が黄色に変化して陽性反応を示します。この炭水化物反応は選択的で従来法の反応とは一致しない可能性があります。
- ニトロフェニル基質(AGL1、BGL、BGAL、AGL2、BDF、AGAL、NAG、CELL、NGAL)
  適切な酵素が存在した場合に、この基質から o-又はp-ニトロフェノールが遊離します。アルカリ領域の pH についてこの物質は黄色を示します。反応が酸性領域の pH で起こった場合、インキュベーションの後、パネルの読み取りの前に NaOH を加えなくてはなりません。試薬を加える前のウェルは無色又はわずかに黄色を呈しています。
- インドキシルリン酸(IDX)
  インドキシルリン酸は、フォスファターゼによって分解され、インドキシルを遊離します。インドキシルは酵素と結合して、不溶性の青又は青灰色のインディゴブルーを生じます。
- 尿素(URE)
  ウレアーゼが尿素を NH_3 と CO_2 に分解し、アンモニアにより弱アルカリ性になります。この結果、フェノールレッドが黄色からピンク／赤紫に変化します。

[操作上の注意]
1. 『American Society for Microbiology Manual of Clinical Microbiology』[9]又はほかの真菌学の指導書の手順に従って酵母の輸送及び分離を行ってください。
   注)本パネルはサブローデキストロース寒天培地(エモンスの変法でも可)で生育した菌を対象にしています。培地に抗生物質が含まれていても問題になるような変化はありませんが、血液、酵母エキス、麦芽エキスを含む培地や発育阻止性真菌培地は使用できません。(合成基質による迅速同定は被検菌中に存在する酵素の働きを基礎にしており、異なる組成の培地は異なった酵素を誘導しますので、その菌が分離された平板培地の組成がテスト結果に影響を与えるためです。)[1), 7), 13)]
2. 常在菌等の汚染がない様、無菌技術によって取り扱ってください。
3. 液体の取扱いは、通常細菌検査室で実施している方法に従ってください。
4. 分離培地は、サブローデキストロース寒天培地を使用してください。
5. 本パネルは酵母及び酵母様真菌(*Prototheca* 等)の同定用です。過剰の菌糸形成の菌株には注意が必要です。
6. 被検菌液の濃度は、濃すぎても薄すぎても結果に影響を与えます。菌液は必ず濁度を標準液と比較しながら適切な濃度に調整してください。

[用法・用量(操作方法)]
1. 必要な器具・器材・試料等(品目コード)
   イノキュラム H_2O (B1015-2)
   0.05N 水酸化ナトリウム(B1015-3)
   ペプチダーゼ試薬(B1012-30B)(2～8℃)
   イースト用濁度標準液(B1015-18)
   カバートレイ(B1010-56B)
   サブローデキストロース寒天培地
   50 μL ピペッター及び滅菌チップ
   滅菌綿棒又は白金耳
   精度管理用菌株
   その他、検査室の一般的な器具:
   滅菌用ガスバーナー又は電気ヒーター
   菌液濃度測定用濁度計
   恒温器(35℃、non-CO_2)
   ボルテックスミキサー
2. 測定(操作)法
   1)パネルの準備
   パネルを冷蔵庫から取り出します。直ちに開封し、パネルを常温に戻してから使用してください。パネルは一番上にカバートレイを置いて重ねます。
   2)菌液の調製
   ① 本パネルには生育中の活性の高い菌を分注してください。もし十分な生育が見られれば、一次分離培養のサブローデキストロース寒天平板上のコロニーも使用できます。必要であれば分離された酵母をサブローデキストロース寒天平板で十分な生育が見られるまで二次培養してください。インキュベーション時間は 30℃で 48 時間、25℃(室温)で 48～72 時間が適当です。
   注)適当量の生育が得られないとき以外は 30℃で48 時間以上の培養は行わないでください。
   ② 滅菌綿棒あるいは白金耳を使ってコロニーを取り 3 mL のイノキュラム H_2O に懸濁します。各菌液をそれぞれイースト用濁度標準液と比較して同程度の濃さに調整してください。
   注)菌体と一緒に培地成分をかき取らない様にしてください。
   (3)ボルテックスミキサーを使って懸濁液を均一になるまで撹拌します。酵母の中には水中に容易に拡散しないものがあるので、ボルテックスミキサーで均一な懸濁液が得られなかった場合 10～15 分静置してからもう一度ボルテックスミキサーにかける必要があります。それでも菌の塊が見られる場合、塊が底に沈むのを待ってか

ら上の均一な部分だけをパネルに分注します。上の均一な部分の濃さが標準液より薄い場合、コロニーを更に加えこれまでの操作を繰り返してください。
注）絶対に菌の塊をパネルに分注しないでください。

3）パネルへの分注
パネルを包装から取り出し、検体番号を記入します。50 µL ずつの菌液を基質の含まれるウェルと 2 つのコントロールウェル（BNAC、NPC）に分注します。パスツールピペットでは正確な分注ができません。

注）autoSCAN-4 及び WalkAway の自動読み取りを使用する場合は LOC ウェルにも分注してください。

注）パネルの各ウェルに 50 µL ずつ菌液を分注した後、基質とよく混ざるようにパネルの四方を軽くたたいてください。

4）培養
① 培養温度が均一になるよう、パネルを 3～5 枚に重ねます。
②清潔なカバートレイを一番上のパネルに重ねます。
③ 35～37℃の恒温器（non-CO_2）で 4 時間培養します。

5）結果の読み取り
4 時間培養後、目視又はマイクロスキャン各機器で結果を読み取ります。

［測定結果の判定法］

1. パネルの読み取り（白い背景で間接光にて読み取ってください。）

1）4 時間反応させた後、下記の要領で試薬を滴下してください。

① BNAC、HPR、ILE、PRO、TYR、GLY、GGLY、GLAR、GLPR、AARG、LYAL、ALA、STY、HIS ウェル：ペプチダーゼ試薬をそれぞれ 1 滴ずつ滴下してください。結果は 30 秒以上 3 分以内に読み取ります。少しでもピンク及び赤色を示したら陽性と読み取ってください。この反応は時間と共に濃くなり、陰性色の黄色も時間と共に褐色がかった橙色に変化します。陰性コントロール（BNAC）と比較しながら判定してください。

注）ペプチダーゼ試薬は少なくとも使用 30 分前に冷蔵庫から取り出してください。この試薬は 4℃で沈殿を生じることがありますが、常温で溶解します。無理に高温で沈殿を溶解すると失活のおそれがあります。

注）BNAC ウェルにペプチダーゼ試薬を加えると黄色を呈します。試薬滴下後の BNAC ウェルに少しでもピンク及び赤色が認められた場合は、ペプチダーゼ試薬を交換してください。

② AGL2、BDF、AGAL、NPC、NAG、CELL、NGAL ウェル：0.05N 水酸化ナトリウム試薬を各1滴ずつ加え、結果を 5 秒以上 5 分以内に読み取ってください。少しでも黄色くなれば陽性と読み取ります。陰性コントロール（NPC）と比較しながら判定してください。

注）これらのウェルは NPC ウェルより暗い色になることがありますがこの場合は陰性反応として読み取ってください。ただし、黄色い色を呈していれば陽性反応として読み取ります。

2）2 種類のコントロールウェルを参考にして判定してください。

① BNAC：β-ナフチルアミド用コントロールでペプチダーゼ試薬を加えた後に、黄色に発色します。
② NPC：ニトロフェニル用コントロールで、NaOH 試薬滴下後も無色でなければなりません。

3）反応の結果をワークシートに記入してください。
（生化学的性状判定表（表 1）を参照してください。）

注）WalkAway では、試薬滴下の必要のないウェルの反応を先に読み取ります。これは試薬の蒸発によってほかのウェルの反応が変化し、そのことによる誤った読み取りを防ぐためです。このため生化学反応を目視確認した場合、反応の色が異なる場合があります。

表 1 生化学的性状判定表

ウェル	試薬	陽性	陰性
HPR ILE PRO TYR GLY GGLY GLAR GLPR AARG LYAL ALA STY HIS	ペプチターゼ試薬を 1 滴滴下、30 秒以上 3 分以内に読み取る。	淡ピンク～濃ピンク又は赤／赤紫が溶液中のどこかに見られた場合 [1]。	黄色／橙
SUC1、2 TRE		淡茶～濃茶／淡黄～濃黄	紫
AGL1 BGL BGAL	NPC ウェルと比較。[2]	淡黄～濃黄	透明
URE		ピンク～赤紫	透明／ベージュ～黄色
IDX		淡青～濃青	透明
AGL2 BDF AGAL NAG CELL NGAL	0.05N NaOH を 1 滴滴下、5 秒以上 5 分以内に読み取る。NPC ウェルと比較。[2]	淡黄～濃黄	透明

1 陽性反応はウェルの全体に広がっていない場合があります。
2 ある種の酵母ではピンクの発色を示すことがありますが、これは陽性反応として読み取ってください。

2. 判定上の注意

※ 1）被検菌菌の同定は LabPro Information Manager（LabPro インフォメーションマネージャー）の Biotype Lookup Program（バイオタイプ検索プログラム）及びベックマン・コールターのウェブサイトを用いて行います。プログラムは菌の同定と相対確率を、最高確率から順に合計 99.9%までリストします。
「非常に稀なバイオタイプ」のバイオタイプナンバーの場合は、LabPro ソフトウェア（Utilities（ユーティリティー）>System（システム）>Biotype Lookup（バイオタイプ検索））を参照するか、ベックマン・コールターのウェブサイトで Biotype Lookup Program（バイオタイプ検索プログラム）を参照、もしくはベックマン・コールター担当者又は代理店までお問い合わせください。

2）一つのバイオタイプ番号に、2 菌種以上の菌名があった場合、追加テストが必要です。コロニーの形態、発育温度、色素産生、顕微鏡による形態等の追加テストを行ってください。これらの操作については真菌の取扱いに関する参考文献を参照してください。[2) - 6)、8)、10) - 12)]

※ 3）同定確率が低い場合（<85%）、最終同定を決定するため追加試験による確認が必要な場合があります（『MicroScan Biotype Lookup Program（バイオタイプ検索プログラム）』又は『Microbiologics information Manual（マイクロバイオロジクス・インフォメーションマニュアル）』を参照してください。）。

※ 4)バイオタイプナンバーは、同じ患者の多種な検体から得た分離株の表現型同定には使用できません。
※ 5)最終的な検査結果の判定には、専門知識のある医療関係者による判断が必要です。菌種に対する同定結果を受け入れる前に、必要に応じて確認テストを実施してください。

[性能]

1.感度／正確性	既知の管理菌株を試験するとき、既知の菌種名を示します。
2.同時再現性	既知の管理菌株について、感度／特異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。

[使用上又は取扱い上の注意]

1. 取扱い上(危険防止上)の注意
   1)ペプチダーゼ試薬、水酸化ナトリウム試薬、そのほか同定基質を眼、皮膚、衣服に接触させないでください。
   2)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扱ってください。
2. 使用上の注意
   1)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してください。
   2)指定された貯法以外で貯蔵された製品は生化学試薬が変色しているおそれがあります。貯法を守り、有効期限内に使用してください。
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。

[貯蔵方法・有効期間]

貯蔵方法:2～8℃で遮光して保存
有効期間:6 箇月

[包装単位]

20 パネル(1 箱)

Warranty Statement

These products are warranted to perform as described in their labeling and MicroScan literature when used in accordance with their instructions. THERE ARE NO WARRANTIES WHICH EXTEND BEYOND THIS EXPRESS WARRANTY AND BECKMAN COULTER DISCLAIMS ANY IMPLIED WARRANTY OF MERCHANTABILITY OR WARRANTY OF FITNESS FOR PARTICULAR PURPOSE. The sole obligation of Beckman Coulter and the purchaser's exclusive remedy for breach of this warranty shall be, at the option of Beckman Coulter to repair or replace the products. In no event shall Beckman Coulter be liable for any proximate, incidental or consequential damages in connection with the products.

References

1) Bobey, D.G., and G.M. Ederer. 1981. Rapid detection of year enzymes by using 4-methylumberyl substrates. J. Clin. Microbiol. 13:393.
2) Callaway, C.J., and L.D. Haley. 1978. Laboratory Methods in Medical Mycology, 4th ed. Centers for Disease control, Atlanta, GA.
3) Emmons, C.W., C.H. Binford, J.P. Utz, and K.J. Kwon- Chung. 1977. Medical Mycology, 3rd ed. Lea and Febiger, Philadelphia, PA.
4) Koneman, E.W., G.D. Roberts, and S.F Wright. 1985. Practical Laboratory Mycology, 3rd ed. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, MD.
5) Kreger-van Rij, N.J.W (ed). 1984. The Yeast-A Taxonomic Study, 3rd ed. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.
6) LaRone, D.H.1987. Medically Important Fungi. A Guide to Identification. 2nd ed. Elsevier Science Publishing Co., New York, NY.
7) Lee, K.L., M.E. Reca, R.R. Watson, and C.C. Campbell. 1975, Identification of yeast phase of pathogenic fungi by the specifity of their aminopeptidase(S). Sabouraudia 13:132.
8) McGinnis, M.R. 1980. Laboratory Handbook of Medical Mycology. Academic Press New York.
9) Merz, W.G. and G.D. Roberts. 1996. Detection and Recovery of Fungi from Clinical Specimens. P.709-722. In P. R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H.Yolken (eds.), Manual of Clinical Microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10) Pore, R.S. 1985, Prototheca Taxonomy. Mycopathol. 90:129-139.
11) Roberts, G.D. 1977. Laboratory identification of fungi, p. 147-160. In E.W. Koneman, and M.S. Britt (ed.), Clinical Microbiology. Health Education Resources, Inc., Bethesda, MD.
12) Warren, N.G., and K. C Hunter. 1996. Candida, Cryptococcus, and Other Yeasts of Medical Importance. P. 723-738. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Yolken (eds.), Manual of Clinical Microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13) Watson, R.R. 1976. Substrates Specificities of Aminopeptidase: A Specific Method of Microbial Differentiation, p. 1-14. In J.R. Norris, and D.W. Ribbons (ed.), Methods in Microbiology, Vol. 9, Academic Press, Inc., New York, NY.

[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

[製造販売業者の氏名又は名称住所]

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.

Made in USA
Beckman Coulter, Inc. EC REP
250 S. Kraemer Blvd.
Brea, CA 92821 United States
www.beckmancoulter.com