

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

B1012-10B

※2021年8月改訂(第2版)
2015年3月作成(第1版)



承認番号 21700AMY00134000

培養同定・一般細菌キット

マイクロスキャン HNID 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)	
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：構成製品 ID

構成試薬名 (ウェル)	成分名
IDX	3-インドキシルリン酸二ナトリウム
NO ₃	硝酸カリウム
NO ₂	亜硝酸カリウム
GLU	ブドウ糖
	フェノールレッド
SUC	サッカロース
	フェノールレッド
MAL	マルトース
	フェノールレッド
FRU	フルクトース
	フェノールレッド
LAC	ラクトース
	フェノールレッド
GAL	o-ニトロフェニル-β-D-ガラクトシド
URE	尿素

構成試薬名 (ウェル)	成分名
ORN	フェノールレッド L-オルニチン-塩酸塩 プロムチモールブルー
IND	L-トリプトファン
PRO	L-プロリン-β-ナフチルアミド塩酸塩
NGL	N-γ-L-グルタミル-α-ナフチルアミド
ZAR	N-α-ベンゾイル-DL-アルギニン-β-ナフチルアミド塩酸塩
AGL	p-ニトロフェニル-α-グルコピラノシド
STA	デンプン
	フェノールレッド
BL	ベンジルペニシリンナトリウム
	フェノールレッド

【使用目的】

ヘモフィルスナイセリア属菌の細菌培養同定検査

【測定原理】

特殊な接種用培地で McFarland3 又は 4 に菌液を調整し、本パネルにこの菌液を分注して好氣的に 35～37℃で4時間反応させます。反応後の pH 変化、ある基質の利用能あるいはほかの生化学的反応で菌種を判定します。β-ラクタマーゼの検出には迅速アシドメトリック法が使われています。9)、13)、17)

各同定項目の反応の原理は次のとおりです。

- ・ インドキシルリン酸 (IDX)
インドキシルリン酸はアルカリホスファターゼによりインドキシルを遊離し、これは酸素分子と結合して青色の不溶性物質を産生します。
- ・ 硝酸 (NO₃)
硝酸が還元されて亜硝酸ができると、N,N-ジメチル-α-ナフチルアミンとスルファニル酸の添加により赤色を呈します。
- ・ 亜硝酸 (NO₂)
亜硝酸が還元されて窒素ガスになると、N,N-ジメチル-α-ナフチルアミンとスルファニル酸を添加しても赤色を呈しません。
- ・ 炭水化物 (GLU、SUC、MAL、FRU、LAC、STA)
それぞれの炭水化物の利用能がある場合、酸を産生して pH が下がります。これをフェノールレッド指示薬で定性します。

- ・ガラクトシダーゼ (GAL)
ガラクトシダーゼは α -ニトロフェニル- β -D-ガラクトシドを加水分解して黄色のニトロフェノールを遊離します。
- ・グルコシダーゼ (AGL)
グルコシダーゼは p-ニトロフェニル- α -D-グルコピラノシドを加水分解して黄色のニトロフェノールを遊離します。
- ・尿素 (URE)
ウレアーゼは尿素を分解してアンモニアを産生します。この pH の上昇を指示薬フェノールレッドによって定性します。
- ・オルニチン (ORN)
オルニチンの脱炭酸反応により培地がアルカリ化され、これを指示薬ブロムチモールブルーで定性します。
- ・インドール (IND)
トリプトファン代謝によりインドールが産生されます。これはインドール試薬の滴下により赤色の輪をつくることにより定性されます。
- ・ペプチダーゼ試薬 (PRO, NGL, ZAR)
特殊なペプチダーゼ産生能は β -ナフチルアミド合成基質を利用して測定されます。有利した β -ナフチルアミドは p-ジメチルアモニウムアルデヒドと反応して赤〜赤紫色を示します。
- ・ β -ラクタマーゼ (BL)
ペニシリン G は β -ラクタマーゼの分解を受け、培地中の pH が下がります。これを指示薬フェノールレッドで定性します。

【操作上の注意】

測定試料の性質・操作法

1. 『Manual of Clinical Microbiology』¹⁾ の手順に従って検体の採取、輸送及び分離を行ってください。
2. 常在菌等の汚染がないよう、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、血液、チョコレート、GV あるいはサイアーマーチン寒天培地等の非選択培地を使用してください。
5. ヘモフィルス属、ナイセリア属、*Branhamella catarrhalis* 及び *Gardnerella vaginalis* のみ測定可能です。
6. バイオタイプナンバーを同一患者の異なる材料からでた分離株の表現型(フェノタイプ)の同定に用いることはできません。

【用法・用量(操作方法)】

1. 必要な器具・器材・試料等(品目コード)
HNID イノキウムブロス (B1015-16) (2~8℃)
ペプチダーゼ試薬 (B1012-30B) (2~8℃)
カバートレイ (B1010-56B)
ミネラルオイル 60mL (B1010-40) 又は 250mL (B1010-40A)
0.5%N,N-ジメチル- α -ナフチルアミン溶液 (B1010-45A)
HNID インドール試薬 (B1015-15) (2~8℃)
0.8%スルファニル酸溶液 (B1010-44A)
50 μ L ビベッター及び滅菌チップ
滅菌綿棒又は白金耳
McFarland3 基準濁度液
McFarland4 基準濁度液
精度管理用菌株

そのほか、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-CO₂)
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、直ちに開封します。パネル及び HNID イノキウムブロスは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

18~24 時間培養した分離培地(血液、チョコレート、GV あるいはサイアーマーチン寒天培地)の形態学的に同様の集落から充分量の菌体を滅菌綿棒あるいは白金耳で採り、HNID イノキウムブロスに添加し、McFarland3 基準濁度度になるように調整します。ナイセリア属は McFarland4 基準濁度度になるように調整します。パネルへの分注の前にボルテックスミキサーで撹拌します。McFarland3 基準濁度度以下の菌液は使用しないでください。

3) パネルへの分注

50 μ L ずつの菌液を基質の含まれる(表示のある)ウェルに分注します。ビベットチップは滅菌済のものを使用します。Micro Scan では、純度点検のために、この菌液のサプカルチャーを推奨しています。

注) マイクロスキャン各機器で自動読み取りをする場合は LOC ウェルにも分注します。

4) ミネラルオイルの重層

URE ウェルにミネラルオイルを 2~3 滴重層してください。ミネラルオイルは基質を完全に覆うようにし、溢れないようにしてください。

5) 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-CO₂)で 4 時間培養します。

6) 結果の読み取り

4 時間培養後、目視あるい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. 目視法でのパネルの読み取り

- 1) 4 時間反応させた後、試薬を滴下する必要のない IDX、GLU、SUC、MAL、FRU、LAC、GAL、URE、ORN、AGL、STA、BL の項目を読み取ります。
- 2) 下記の要領で試薬を滴下してください。
 - ① PRO、NGL、ZAR ウェル：ペプチダーゼ試薬を 1 滴ずつ滴下します。3~5 分後に発色します。
 - ② NO₃、NO₂ ウェル：0.8%スルファニル酸と 0.5% N,N-ジメチル- α -ナフチルアミン溶液をそれぞれ 1 滴ずつ滴下します。3~5 分後に発色します。
 - ③ IND ウェル：HNID インドール試薬を 1~2 滴ずつ滴下します。直ちに発色が始まります。
- 3) 生化学的性状判定表(表 1)を参照しながら、反応の結果をワークシートに記入してください。
- 4) ワークシートからバイオタイプ番号を求め、コードブックと照合して菌種を同定してください。

表 1 生化学的性状判定表

ウェル	試薬	陽性	陰性
IDX		青～灰色の沈殿	透明
NO ₃	0.8%スルファニル酸及び0.5%N,N-ジメチル- α -ナフチルアミンを各1滴加える。3～5分後、読み取る。	ピンク、赤～赤紫	透明～黄
NO ₂	0.8%スルファニル酸及び0.5%N,N-ジメチル- α -ナフチルアミンを各1滴加える。3～5分後、読み取る。	透明～黄色	ピンク、赤～赤紫
GLU SUC LAC	赤色が少しでも見られる場合は陰性。	橙～黄色	淡赤～濃赤／橙
FRU	黄色が少しでも見られる場合は陽性。	淡黄～濃黄／橙	赤～橙
MAL		黄色	赤／黄色、橙
GAL	淡い黄色は陽性。試薬滴下前の IND ウェルを陰性コントロールとして使用可。	黄色	透明
URE		赤～赤紫	黄／淡ピンク
ORN	黄色が少しでも見られる場合は陰性。	緑～青	淡黄～濃黄／緑
IND	HNID インドール試薬を1滴滴下。赤色が少しでも見られる場合は陽性。	赤い輪	黄色
PRO NGL ZAR	ペプチダーゼ試薬を1滴加えて3～5分後に読み取る。ZARの弱い反応は濁った反応を示す。	赤／赤紫	黄／橙
AGL	黄色が少しでも見られる場合は陽性。試薬滴下前の IND ウェルを陰性コントロールとして使用可。	黄色	透明
STA BL	黄色が少しでも見られる場合は陽性。	淡黄～濃黄／橙	赤～橙

2. 自動読み取り(autoSCAN-4)

- 4時間反応させた後、試薬を滴下する前に GLU、SUC、MAL、FRU、LAC、STA、BL にミネラルオイルで重層しておきます。
- 下記の要領で試薬を滴下してください。
 - PRO、NGL、ZAR ウェル：ペプチダーゼ試薬を1滴ずつ滴下します。3～5分後に発色します。
 - NO₃、NO₂ ウェル：0.8%スルファニル酸と0.5% N,N-ジメチル- α -ナフチルアミン溶液をそれぞれ1滴ずつ滴下します。3～5分後に発色します。
 - IND ウェル：HNID インドール試薬を1～2滴ずつ滴下します。直ちに発色が始まります。
- 発色反応時間を待ち、autoSCAN-4に載せて反応の結果を読み取ります。

3. 自動読み取り(WalkAway)

- 4時間反応させた後、試薬を滴下する必要のない IDX、GLU、SUC、MAL、FRU、LAC、GAL、URE、ORN、AGL、STA、BL がまず読み取られます。
- 試薬が PRO、NGL、ZAR、NO₃、NO₂、IND ウェルにそれぞれ滴下された後、反応後の値が読み取られます。

注) 試薬滴下後は、試薬滴下をしないウェルの呈色に試薬が影響を及ぼすことがあります。WalkAway は試薬滴下前に反応を読み取るので問題ありませんが、目視確認の場合、反応の色が異なる場合があります。

4. 判定上の注意

- 同定にはバイオタイプコードブックを使用します。これは MicroScan 独自のデータベースからなり、17項目の試験のコンピュータ解析から同定されます。

これらの試験項目はそれぞれ6桁のバイオタイプ番号に変換されます(この変換方法はコードブックを参照してください。)。コードブックには菌名が最大99.9%までの相対確率とともに表示されており、数菌種可能性があるときには、パーセントとともに表示されています。コード番号が見当たらない場合は、まず、計算ミス、判定ミスがないかを確認します。それもない場合は、新鮮な株を用いてコンタミしないように、再試験することをお勧めします。

- 2) 菌種以上の同定結果が出た場合は、追加試験による確認(X/V法等)が必要です。
- 3) NCCLS ガイドライン(M7-A3, Vol.13, No.25)では *Branhamella catarrhalis* のニトロセロフィン法 β -ラクタマーゼ試験を行うことが推奨されています。¹⁸⁾
- 4) *Haemophilus* sp.のバイオタイプグループは血清型との関連性はありませんので、血清型別試験が必要です。(例えば *Haemophilus influenzae* II とグループ B は同一ではありません。)
- 5) *Neisseria meningitidis* には、麦芽糖非分解の株も時々存在します。これらの株において NGL も陰性を示す場合、*Neisseria gonorrhoeae* と誤同定される場合があります。コードブックか、Microbiologics Information Manual Footnotes の脚注を参照してください。
- 6) チョコレート寒天培地から分離された *H. haemolyticus* が、誤って *H. influenzae* と同定される場合があります。*H. haemolyticus* を *H. influenzae* と区別するには、ウマ血液寒天培地で培養し溶血を確認してください。

【性能】

- 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。
- 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】

- 取扱い上(危険防止上)の注意
 - ペプチダーゼ試薬、インドール試薬を眼、皮膚、衣服に接触させないでください。
 - 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。
- 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してください。
 - 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。
- 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: 10 箇月

【包装単位】

20 パネル (1 箱)

【主要文献】

- 1) Balows, A., W. J. Hausler, K. L. Herrmann, H. D. Isenberg, and H. J. Shadomy (eds.) 1991. Manual of Clinical Microbiology, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 2) Baron, E.S., and A. K. Saz. 1976. Effect of types of media on the production of acid from glucose by so-called glucose-negative strains of *N. gonorrhoeae*. J. Clin. Microbiol. 3:330.
- 3) Brooker, D. C., M. S. Lund, and D. J. Blazevic. 1973. Rapid test for lysine decarboxylase activity in Enterobacteriaceae. Appl. Microbiol. 26:622.
- 4) D'Amato, R.F., L.A. Eriquez, K.M. Tomfohrde, and E. Singerman. 1978. Rapid Identification of *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis* by using enzymatic profiles. J. Clin. Microbiol. 7:77.
- 5) Davis, J.A., J.R. Mitzel, and W.E. Beam, Jr. 1971. Carbohydrate fermentation patterns of *Neisseria meningitidis* determined by a microtiter method. Appl. Microbiol. 21:1072.
- 6) Djurhuus, R. 1981. Ornithine decarboxylase (E.C.4.1.1.17) assay based upon the retention of putrescine by a strong cation-exchange paper. Anal. Biochem. 113:352.
- 7) Enriquez, L.A., and G.B. Knight. 1980. Aminopeptidases highly specific to glutamyl residues from *Neisseria meningitidis* and *Moraxella urethralis*. J. Clin. Microbiol. 12:667.
- 8) Fay, G.D. and A.L. Barry. 1972. Rapid ornithine decarboxylase test for the identification of Enterobacteriaceae. Appl. Microbiol. 23:710.
- 9) Jorgensen, J.H., J.C. Lee, and G.A. Alexander. 1977. Rapid penicillinase paper strip test for the detection of beta-lactamase producing *Haemophilus influenzae* and *Neisseria gonorrhoeae*. Antimicrob. Agent. Chemother. 11:1087.
- 10) Kellogg, Jr., D.S., and E.M. Turner. 1973. Rapid fermentation confirmation of *Neisseria gonorrhoeae*. Appl. Microbiol. 25:550.
- 11) Lampe, A.S. 1981. Nonliquid reagent for detecting nitrate reduction. J. Clin. Microbiol. 14:452.
- 12) Oberhofer, T.R., and A. E. Bach. 1979. Biotypes of *Haemophilus* encountered in clinical laboratories. J. Clin. Microbiol. 10:168.
- 13) Park, C.H., J.S. Lopez, and C.B. Cook. 1978. Acidometric agar plate method for ampicillin susceptibility testing of *Haemophilus influenzae*. Antimicrob. Agent. Chemother. 13:318.
- 14) Plot, P., E. Van Dyck, P.A. Totten, and K.K. Holmes. 1982. Identification of *Gardnerella vaginalis*. J. Clin. Microbiol. 15:19.
- 15) Qadri, S.M. Hussian, and N. Parker. 1981. Clinical evaluation of the rapid carbohydrate degradation microtube method for identification of *Neisseria* species. J. Clin. Microbiol. 14:318.
- 16) Tyagi, A.K., C.W. Tabor, and H. Tabor. 1981. Ornithine decarboxylase from *Saccharomyces cerevisiae*. J. Biol. Chem. 256:12156.
- 17) Weissfeld, A.S., G.D. Sanner, J.R. Childress, J.D. Dyckman, T.W. Huber, and R.P. Williams. 1977.

Feasibility of screening for penicillinase producing *Neisseria gonorrhoeae* from primary culture plates by using a rapid microacidometric test. Antimicrob. Agent. Chemother. 12:703.

- 18) Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. 2006. Approved Standard M7-A7. Clinical and Laboratory Standards Institute, 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

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

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

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.

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.



250 S. Kraemer Blvd.

Brea, CA 92821 United States

www.beckmancoulter.com