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

B1017-2

※※ 2021年6月改訂（第3版）
※ 2016年7月改訂（第2版）

承認番号 21700AMY00135000

MicroScan

嫌気性菌生化学的同定キット

マイクロスキャン RAID 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. 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）

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
BGAL	p-ニトロフェニル-β-D-ガラクトピラノシド
AGAL	p-ニトロフェニル-α-D-ガラクトピラノシド
BPO_4	ビス-p-ニトロフェニルリン酸
NGLU	p-ニトロフェニル-N-アセチル-β-D-グルコサミド
AGL	p-ニトロフェニル-α-D-グルコピラノシド
BGL	o-ニトロフェニル-β-D-グルコピラノシド
PO_4	p-ニトロフェニルリン酸二ナトリウム
AFU	p-ニトロフェニル-α-L-フコピラノシド
MNP	p-ニトロフェニル-α-D-マンノピラノシド
LEU	L-ロイシン-β-ナフチルアミド
MET	D,L-メチオニン-β-ナフチルアミド
LYB	L-リジン-β-ナフチルアミド
LYA	L-リジン-β-ナフチルアミド
GGLY	グリシルグリシン-β-ナフチルアミド
GLY	グリシン-β-ナフチルアミド
PRO	L-プロリン-β-ナフチルアミド
ARG	L-アルギニン-β-ナフチルアミド
PYR	L-ピロリドニル-β-ナフチルアミド
TRY	L-トリプトファン-β-ナフチルアミド
IDX	3-インドキシルリン酸
TRE	トレハロース フェノールレッド
URE	尿素 フェノールレッド
IND	トリプトファン
NIT	硝酸カリウム

［使用目的］

嫌気性菌の細菌培養同定検査

［測定原理］

滅菌脱イオン水で McFarland3 に調整された菌液を測定します。乾燥させた24基質を含むパネルにこの菌液を分注して好気的に 35～37℃で 4 時間反応させます。この反応は既に被検菌中に存在する酵素を測定するもので、菌の生育は必要ありません。反応後の pH 変化、特定の基質の利用能、あるいはほかの生化学的反応で菌種を判定します。

各同定項目の反応の原理は次のとおりです。

- ニトロフェニル基質（BGAL、AGAL、BPO_4、NGLU、AGL、BGL、PO_4、AFU、MNP）o-及び p-ニトロフェニル基質は無色ですが、ある酵素の存在下でこれらの基質は加水分解され、黄色の o-及び p-ニトロフェノールを遊離します。
- アミノ酸-β ナフチルアミド（LEU、MET、LYB、LYA、GGLY、GLY、PRO、ARG、PYR、TRY）
  ある酵素（通常はアミノ酸アリルアミダーゼ）の存在下でこの基質は加水分解を受けβ-ナフチルアミドを遊離します。β-ナフチルアミドは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反応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。

また単一のアリルアミダーゼは異なる複数のアミノ酸β-ナフチルアミドを加水分解します。

・ インドキシルリン酸(IDX)
フォスファターゼにより無機リンとインドキシルに分解され、インドキシルは酵素と結合して不溶性となり、青もしくは青緑色を呈します。

・ トレハロース(TRE)
トレハロースを分解して酸を産生する結果、フェノールレッドがオレンジから黄色に変化します。

・ 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に変化します。

・ インドール(IND)
トリプトファンを代謝してインドールを産生します。キシレンでインドールをブロスから抽出し、エールリッヒ試薬と効果的に反応させるとピンクを呈します。

・ 亜硝酸(NIT)
硝酸から亜硝酸への還元は 0.8%スルファニル酸と、0.5%N,N-ジメチル-α-ナフチルアミンを加えることによって判定できます。

・ カタラーゼ
過酸化水素水が水と炭酸ガスに分解された際発生する泡の有無により判定します。

[操作上の注意]

測定試料の性質、操作法

1. 『V.P.I., Anaerobe Laboratory Manual』[4]、『Wadsworth Anaerobic Bacterilogy Manual 』[10] 、『 C.D.C.'s Laboratory Methods in Anaerobic Bacteriology』[2]、『*Manual of Clinical Microbiology*』[8]の手順に従って常在する嫌気性菌を避けながら検体の採取、輸送及び分離を行ってください。
   注)抗生物質を含む選択培地からのコロニーは使わないでください。(例:LKV カナマイシン/バンコマイシン、BBE 寒天培地、PEA 等)
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. 検体の取扱いは、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、非選択培地である 5%ヒツジ血加の TSA、ブルセラ、BHI 及びコロンビア寒天培地を使用してください。
5. 被菌液の濁度は正確に調整してください。McFarland3 基準濁度以上 McFarland5 基準濁度以下とします。McFarland3 基準濁度以下の場合は、反応が弱かったり、偽陰性になったりします。

[用法・用量(操作方法)]

1. 必要な器具・器材・試料等(品目コード)
   ミネラルオイル(B1010-40)
   カバートレイ(B1010-56B)
   ペプチダーゼ試薬(B1012-30B)(2～8℃)
   0.5%N,N-ジメチル-α-ナフチルアミン溶液(B1010-45A)
   0.8%スルファニル酸溶液(B1010-44A)
   エールリッヒ試薬(B1015-6)(2～8℃)
   キシレン
   50 µL ピペッターおよび滅菌チップ
   3%過酸化水素水
   イノキュラム H_2O 3mL(B1015-2)
   滅菌綿棒又は白金耳
   McFarland 3 基準濁度液
   McFarland 4 基準濁度液
   McFarland 5 基準濁度液
   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
   パネルへの分注の前に、被検菌の耐酸素性、純培養かどうか、グラム染色及びコロニーの形態を観察しておく必要があります。
   24～48 時間培養した非選択培地から充分量の菌体を滅菌綿棒及び白金耳で採り、3 mL イノキュラム H_2O に懸濁します。この菌液は MacFarland3 基準濁度以上、MacFarland5 基準濁度以下になるように調整します。菌液調製後は 15 分以内にパネルに分注してください。
   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)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)ミネラルオイルの重層
   URE 及び IND ウェルにミネラルオイルを 1～2 滴ずつ重層してください。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-CO_2)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、試薬を滴下する必要のない項目を読み取ります。
   ①BGL、AGAL、BPO_4、NGLU、AGL、BGAL、PO_4、AFU、MNP ウェルは NPC ウェル(ニトロフェニル・コントロール無色)を対照として反応を読み取ります。少しでも黄色を示したら陽性と読みとってください。
   ②IDX、URE、TRE ウェルはそのまま読み取ります。
   2)下記の要領で各々のウェルに試薬を滴下して読み取ってください。
   ①LEU、MET、LYB、LYA、GGLY、GLY、PRO、ARG、PYR、TRY、BNAC 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。BNAC ウェル(β-ナフチルアミド・コントロール黄色)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)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取り替えてください。

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。

a. 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。

b. NPC:ニトロフェニル用コントロールで、無色でなければなりません。

③ IND ウェル:キシレンを 1 滴加えて撹拌した後、エールリッヒ試薬を 1 滴滴下して 2～3 分後に読み取ってください。

④ NIT ウェル:N,N-ジメチル-α-ナフチルアミン溶液とスルファニル酸溶液をそれぞれ 1 滴ずつ滴下して 2～3 分後に読み取ってください。

⑤ BGAL ウェル:3%過酸化水素水を 2～3 滴滴下して、2～5 分後に泡の存在を確認してください。

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。

表 1 生化学的性状判定表

ウェル	試薬	陽性	陰性
BGAL AGAL BPO_4 NGLU AGL BGL PO_4[1] AFU MNP	NPC ウェルとの比較。	淡黄～濃黄	透明
LEU MET LYB LYA GGLY GLY PRO ARG PYR TRY	ペプチターゼ試薬を 1 滴滴下、30 秒以上 3 分以内に読み取り、BNAC ウェルと比較。	ピンク～赤紫	黄色～橙
IDX		青色／青い沈殿	透明
TRE		黄色	橙／赤
URE		ピンク～赤	黄～オレンジ
IND	キシレンを 1 滴滴下、撹拌溶解した後、エールリッヒを1滴滴下。2～3 分後読み取る。	ピンク	透明／黄
NIT	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 滴滴下。2～3 分後読み取る。	赤	透明～淡ピンク
カタラーゼ	BGAL に 3%過酸化水素水を 2～3 滴滴下。2～3 分後泡の存在を確認。	大粒の泡	泡の発生無(又は細かい泡/すべてのウェルが同様)

1 PO_4 の陰性反応については、透明もしくは非常に薄い黄色を呈することがあります。

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)本品は嫌気性菌用です。測定前に嫌気性度、純度、グラム染色性及び集落の形態を確認してください。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が必要です。

※※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。

6)米国 FDA の認可が下りていないため、本パネルは目視で結果を読み取ってください。

[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、エールリッヒ試薬、キシレン及び同定基質を眼、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）

References

1) Appel, W. 1974. Peptidases, p. 949-977. In Methods in Enzymatic Analysis, vol. 2. Verlag Chemie International. Deerfield Beach, FL.
2) Dowell, V.R. Jr., and T.W. Hawkins. 1979. Laboratory Methods in Anaerobic Bacteriology, CDC Laboratory Manual, Center for Disease Control, Atlanta, GA. DHEW Publication No. (CDC) 74-8272.
3) Ezaki, T., N. Yamamoto, K. Ninomiya, S. Suzuki, and E.Yabuuchi. 1983. Transfer of Peptococcus indolicus, Peptococcus asaccharolyticus, Peptococcus prevotii, and Peptococcus magnus to the genus Peptostreptococcus and proposal of Peptostreptococcus tetradius sp. Non. Int J. Syst. Bacteriol. 33:683.
4) Holdeman, L.V., E.P. Cato, and W.E.C. Moore (ed). 1977. Anaerobe Laboratory Manual, 4th ed. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA.
5) Killan, M. and P. Bulow. 1976. Rapid diagnosis of Enterobacteriaceae. I. Detection of bacterial glycosidases. ACTA Path.Microbiol. Scand. Sect B 84:245.
6) MacFadden, J.F. 1980. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria, 2nd ed. Williams and Wilkins, Baltimore, MD.
7) Murgier, M., C. Pelissier, A. Lazdunski, and C. Lazdunski. 1976. Existence, localization and regulation of the biosynthesis of aminoendopeptidase in Gram negative bacteria. Eur. J. Biochem. 65:517.
8) Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Ptaller, F.C. Tenover, and R.H. Yolken (eds), 1995. Manual of Clinical Microbiology, 6th ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9) Porschen, R.K., and E.H. Spaulding. 1974. Phosphatase activity of anaerobic organisms. Appl. Microbiol. 27:744.
10) Sutter, V.L., D.M. Citron, and S.M. Finegold (eds.). 1980. Wadsworth Anaerobic Bacteriology Manual. The C.V. Mosby Company, St. Louis, MO.
11) Watson, R.R. 1976. Substrate specificities of aminopeptidases: a specific method for microbial differentiation, p. 1-14. In J.R. Norris and D.W. Ribbons (ed.(. Methods in Microbiology, vol. 9, Academic Press. New York, NY.
12) Westley, J.W., P.J. Anderson, V.A. Close, B. Halpern, and E.M. Lederberg. 1967. Aminopeptidase profiles of various bacteria. Appl. Microbiol. 15:822.

[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

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