

BD BBLCRYSTAL E/NF 同定検査試薬

【開発の経緯及び特徴】

細菌の同定は、古くから生化学反応、糖分解・発酵を基にした方法で行われてきました。1960年代後半には、簡易同定キットが市場に登場し、保存スペースが小さい、有効期間が長い、品質管理が標準化されている、操作が簡便であるなどの利点をもたらしました。

BD BBLCRYSTAL E/NF 同定検査試薬は従来の発色基質を改良した簡易同定法です。腸内細菌科に属する臨床上重要な好気性グラム陰性桿菌、並びにより高い頻度で分解されるブドウ糖非発酵性グラム陰性桿菌を同定するための製品です。

【本質（キットの構成）】

BD BBLCRYSTAL E/NF 同定検査試薬

●反応系に関する成分

位置	基質	成分名及び分量 (μg/基質)		
4-A	アラビノース	L-アラビノース	1750.0	フェノールレッド 3.5
4-B	マンノース	D-マンノース	1500.0	フェノールレッド 3.5
4-C	白糖	白糖	1397.5	フェノールレッド 3.5
4-D	メリビオース	メリビオース一水和物	500.0	フェノールレッド 3.5
4-E	ラムノース	L-ラムノース	1500.0	フェノールレッド 3.5
4-F	ソルビトール	D-ソルビトール	1750.0	フェノールレッド 3.5
4-G	マンニトール	D-マンニトール	900.0	フェノールレッド 3.5
4-H	アドニトール	アドニトール	1250.0	フェノールレッド 3.5
4-I	ガラクトース	D-ガラクトース	750.0	フェノールレッド 3.5
4-J	イノシトール	myo-イノシトール	650.0	フェノールレッド 3.5
2-A	p-n-p-リン酸	p-ニトロフェニルリン酸二ナトリウム六水和物		12.5
2-B	p-n-p-α-β-グルコシド	p-ニトロフェニルα-D-グルコピラノシド		12.5
		p-ニトロフェニルβ-D-グルコピラノシド		12.5
2-C	p-n-p-β-ガラクトシド	p-ニトロフェニルβ-D-ガラクトピラノシド		31.0
2-D	プロリンニトロアニリド	L-プロリン-p-ニトロアニリドトリフルオロ酢酸		35.0
2-E	p-n-p-ビスリン酸	リン酸ビスニトロフェニル		10.0
2-F	p-n-p-キシロシド	p-ニトロフェニルβ-D-キシロピラノシド		15.0
2-G	p-n-p-α-アラビノシド	p-ニトロフェニルα-L-アラビノピラノシド		15.0
2-H	p-n-p-ホスホリルコリン	p-ニトロフェニルホスホリルコリン		15.0
2-I	p-n-p-β-グルクロニド	p-ニトロフェニルβ-D-グルクロニド		10.0
2-J	p-n-p-N-アセチルグルコサミニド	p-ニトロフェニルN-アセチル-β-D-グルコサミニド		20.0
1-A	L-γ-グルタミル-p-ニトロアニリド	塩酸L-γ-グルタミル-p-ニトロアニリド		15.0
1-B	エスクリン	エスクリン		71.0
		クエン酸アンモニウム鉄		25.0
1-C	フェニルアラニン	p-ニトロ-DL-フェニルアラニン		50.0
		クエン酸アンモニウム鉄		150.0
1-D	尿素	尿素	100.0	プロモチモールブルー 6.4
1-E	グリシン	グリシン	350.0	プロモチモールブルー 6.4

位置	基質	成分名及び分量 (μg/基質)		
1-F	クエン酸	クエン酸ナトリウム	400.0	プロモチモールブルー 6.4
1-G	マロン酸	マロン酸二ナトリウム	750.0	プロモチモールブルー 6.4
1-H	テトラゾリウム	塩化トリフェニルテトラゾリウム		75.0
1-I	アルギニン	塩酸L-アルギニン		750.0
		プロモクレゾールパープル		5.0
		クレゾールレッド		0.25
1-J	リジン	塩酸L-リジン	250.0	プロモクレゾールパープル 5.0

【効能効果 (使用目的)】

グラム陰性菌の同定

【測定方法 (測定原理)】

本製品のパネルに含まれる生化学基質・酵素基質を細菌の懸濁液が溶解する。その際、各種基質を微生物が利用・化学分解することにより発酵、酸化がおり指示薬が反応する。その結果に基づき比色判定をする。

表1 BD BBLCRYSTAL E/NF 同定検査試薬 同定可能菌種一覧*

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Flavobacterium breve</i>	<i>Rahnella aquatilis</i>
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Flavobacterium gleum</i>	
<i>Aeromonas caviae</i>	<i>Flavobacterium indologenes</i>	<i>Salmonella arizonae</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
<i>Aeromonas sobria</i>	<i>Flavobacterium odoratum</i>	<i>Salmonella paratyphi A</i>
<i>Aeromonas veronii</i>		<i>Salmonella species</i>
	<i>Hafnia alvei</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	<i>Serratia ficaria</i>
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Serratia fonticola</i>
<i>Burkholderia (Pseudomonas) cepacia</i>	<i>Klebsiella ozaenae</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>
<i>Burkholderia (Pseudomonas) pseudomallei</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Serratia marcescens</i>
	<i>klebsiella rhinoscleromatis</i>	<i>Serratia odorifera 1</i>
<i>Cedecea davisae</i>		<i>Serratia odorifera 2</i>
<i>Cedecea lapagei</i>	<i>Kluyvera ascorbata</i>	<i>Serratia plymuthica</i>
<i>Cedecea neteri</i>	<i>Kluyvera cryocrescens</i>	<i>Serratia rubidaea</i>
<i>Chromobacterium violaceum</i>		
	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	<i>Shewanella putrefaciens</i>
<i>Chryseomonas luteola</i>	<i>Moellerella wisconsensis</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
		<i>Shigella species (S. boydii, S. flexneri を含む)</i>
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	<i>Morganella morgani</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Citrobacter freundii</i>		
<i>Citrobacter (diversus) koseri</i>	<i>Pantoea (Enterobacter) agglomerans</i>	<i>Sphingobacterium multivorum</i>
<i>Edwardsiella hoshinae</i>	<i>Pasteurella aerogenes</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Pasteurella haemolytica</i>	
	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Tatumella ptyseos</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>		
<i>Enterobacter asburiae</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>		<i>Vibrio cholerae</i>
<i>Enterobacter gergoviae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Vibrio damsela</i>
<i>Enterobacter sakazakii</i>	<i>Proteus penneri</i>	<i>Vibrio fluvialis</i>
<i>Enterobacter taylorae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Vibrio hollisae</i>
		<i>Vibrio metschnikovii</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Providencia alcalifaciens</i>	<i>Vibrio mimicus</i>
<i>Escherichia coli serogroup O111</i>	<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Escherichia coli serogroup O157</i>	<i>Providencia rustigianii</i>	<i>Vibrio vulnificus</i>
<i>Escherichia coli AD</i>	<i>Providencia stuartii</i>	
<i>Escherichia fergusonii</i>		<i>Weeksella virosa / zoohelcum</i>
<i>Escherichia hermannii</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<i>Escherichia vulneris</i>	<i>Pseudomonas diminuta</i>	<i>Yersinia enterocolitica group</i>
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	(<i>Y. enterocolitica, Y. frederiksenii, Y. intermedia, Y. kristensenii</i> を含む)
<i>Ewingella americana</i>	<i>Pseudomonas gladioli</i>	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>
	<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	
<i>Flavimonas oryzae</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Yokenella regensburgei</i>
	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	(<i>Koserella trabulsii</i>)
	<i>Pseudomonas vesicularis</i>	
		その他グラム陰性桿菌 (下記に説明) ¹

*最近改訂された名称を掲載。()内は従来の名称。(Holt, J.G., N.R.Krieg, P.H.A. Sneath, J.T.Staley, S.T.Williams[ed.]. 1994. Bergey's manual of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore)

¹「その他のグラム陰性桿菌」とは、E/NF同定検査では比較的不活性で、区別が困難なオキシターゼ陽性の菌種のグループを指します。第1選択の同定結果が「その他のグラム陰性桿菌」と判定した時は、さらに同定を行うため、このセクションの表1, 2, 3を参照下さい。

「その他グラム陰性桿菌」とは下記を含みます。

<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Methylobacterium</i> species
<i>Alcaligenes piechaudii</i>	<i>Moraxella lacunata</i>
<i>Alcaligenes xylooxidans</i> subsp. <i>denitrificans</i>	<i>Moraxella osloensis</i>
<i>Alcaligenes xylooxidans</i> subsp. <i>xylooxidans</i>	<i>Ochrobactrum anthropi</i>
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Oligella urethralis</i>
<i>Burkholderia (Pseudomonas) pickettii</i>	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>
CDC group IV C-2	<i>Pseudomonas fluorescens</i> ²
<i>Comamonas acidovorans</i>	<i>Pseudomonas mendocina</i>
<i>Comamonas testosteroni</i>	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Pseudomonas putida</i> ²

²データベースでは、別に同定されることがあります。

表2 BD BBLCRYSTAL E/NF 同定検査試薬の原理

パネル上の位置	項目名	コード	原理(参照)
4A	アラビノース	ARA	炭水化物の利用により、pHが下がり、指示薬(フェノールレッド)が変化する。 ^{3, 4, 6, 10}
4B	マンノース	MNS	
4C	白糖	SUC	
4D	メリビオース	MEL	
4E	ラムノース	RHA	
4F	ソルビトール	SOR	
4G	マンニトール	MNT	
4H	アドニトール	ADO	
4I	ガラクトース	GAL	
4J	イノシトール	INO	
2A	p-n-p-リン酸	PHO	無色のアリアル置換グリコシドまたはリン酸エステルの酵素の加水分解により黄色のp-ニトロフェノールが放出される。 ^{5, 8, 9, 12, 14}
2B	p-n-p- α - β -グルコシド	BGL	
2C	p-n-p- β -ガラクトシド	NPG	
2D	プロリンニトロアニリド	PRO	無色のアミド基質の酵素の加水分解により黄色のp-ニトロアニリドが放出される。 ^{5, 8, 9, 12, 14}
2E	p-n-p-ビスリン酸	BPH	無色のアリアル置換グリコシドまたはリン酸エステルの酵素の加水分解により黄色のp-ニトロフェノールが放出される。 ^{5, 8, 9, 12, 14}
2F	p-n-p-キシロシド	BXY	
2G	p-n-p- α -アラビノシド	AAR	
2H	p-n-p-ホスホリルコリン	PHC	
2I	p-n-p- β -グルクロニド	GLR	
2J	p-n-p-N-アセチルグルコサミニド	NAG	
1A	L- γ -グルタミル-p-ニトロアニリド	GGL	無色のアミド基質の酵素の加水分解により黄色のp-ニトロアニリドが放出される。 ^{5, 8, 9, 12, 14}
1B	エスクリン	ESC	エスクリンの加水分解により、鉄イオンの存在下では黒色の沈殿物が発生する。 ¹¹
1C	フェニルアラニン	PHE	フェニルアラニンの酸化性脱アミノ作用により、鉄イオンの存在下では、茶色となる。 ^{3, 11}
1D	尿素	URE	尿素的加水分解と、その結果できるアンモニアにより、pH指示薬の色(プロモチモールブルー)が変化する。 ^{3, 7, 11}
1E	グリシン	GLY	グリシンの化学分解により、アルカリ性代謝物が発生し、それがpH指示薬の色を変化させる(プロモチモールブルー)。
1F	クエン酸	CIT	クエン酸塩の利用により、アルカリ性代謝物が発生し、それがpH指示薬の色を変化させる(プロモチモールブルー)。 ^{3, 15}
1G	マロン酸	MLO	マロン酸の利用により、アルカリ性代謝物が発生し、それがpH指示薬の色を変化させる(プロモチモールブルー)。 ¹¹
1H	テトラゾリウム	TTC	テトラゾリウム化合物の還元により、赤色のホルマザンが形成される。
1I	アルギニン	ARG	嫌気性異化作用により、pHが上がり指示薬の色(プロモクレゾールパープル)が変化する。 ^{3, 13}
1J	リジン	LYS	

表3 BD BBLCRYSTAL E/NF 同定検査試薬にて使用される試薬

位置	項目名	コード	陽性	陰性
4A	アラビノース	ARA	金色/黄	オレンジ/赤
4B	マンノース	MNS	金色/黄	オレンジ/赤
4C	白糖	SUC	金色/黄	オレンジ/赤
4D	メリビオース	MEL	金色/黄	オレンジ/赤
4E	ラムノース	RHA	金色/黄	オレンジ/赤
4F	ソルビトール	SOR	金色/黄	オレンジ/赤
4G	マンニトール	MNT	金色/黄	オレンジ/赤
4H	アドニトール	ADO	金色/黄	オレンジ/赤
4I	ガラクトース	GAL	金色/黄	オレンジ/赤
4J	イノシトール	INO	金色/黄	オレンジ/赤
2A	p-n-p-リン酸	PHO	黄	無色
2B	p-n-p- α - β -グルコシド	BGL	黄	無色
2C	p-n-p- β -ガラクトシド	NPG	黄	無色
2D	プロリンニトロアニリド	PRO	黄	無色
2E	p-n-p-ビスリン酸	BPH	黄	無色
2F	p-n-p-キシロシド	BXY	黄	無色
2G	p-n-p- α -アラビノシド	AAR	黄	無色
2H	p-n-p-ホスホリルコリン	PHC	黄	無色
2I	p-n-p- β -グルクロニド	GLR	黄	無色
2J	p-n-p-N-アセチルグルコサミニド	NAG	黄	無色
1A	L- γ -グルタミル-p-ニトロアニリド	GGL	黄	無色
1B	エスクリン	ESC	茶/栗色	澄明/麦わら色
1C	フェニルアラニン	PHE	金色/濃オレンジ	黄
1D	尿素	URE	明るい緑青/青	黄/緑
1E	グリシン	GLY	明るい緑青/青	黄/緑
1F	クエン酸	CIT	明るい緑青/青	黄/緑
1G	マロン酸	MLO	明るい緑青/青	黄/緑
1H	テトラゾリウム	TTC	ピンク/赤*	澄明
1I	アルギニン	ARG	赤/紫	黄/茶
1J	リジン	LYS	赤/紫	黄/茶

*沈殿物が見られるとは限らない。

【用法・用量（操作法）】

リッド：リッドは個々に包装されています。開封せず、2～25℃で保存し、冷凍はしないで下さい。ホイルの包装に穴またはひび割れがないか、包装を検査して下さい。包装が損傷を受けている場合は、使用しないで下さい。元の包装に入ったリッドは、指示どおり保存した場合、有効期間までは反応が維持されます。

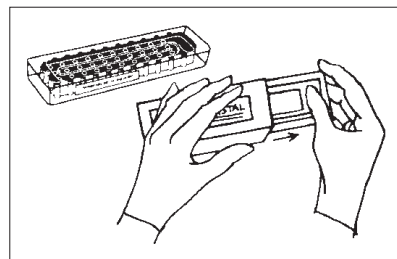
ベース：ベースは、BBLCRYSTAL培養トレイに、10個ずつ1セットの計2セットが包装されています。ベースは空気汚染を最小限に抑えるため、表面を下向きにして重ねてあります。開封後は、使用するまで、ほこりのない環境で2～25℃にて保存して下さい。未使用のベースは（表面を下向きにして）トレイに入れ、ビニール袋に入れて保存して下さい。パネルの培養には空のトレイを使って下さい。

プロス：BBLCRYSTAL グラム陰性菌用プロスは、プロス10本1セットで合計2セット包装されています。ひび割れや漏れ等がないかどうか、チューブを検査して下さい。漏れ、チューブまたはキャップの損傷、ないしは汚染があるように見える（くもり、濁り）場合には、使用しないで下さい。プロスは2～25℃にて保存して下さい。有効期間はチューブのラベルに示されています。この液は、BBLCRYSTAL E/NF用パネルに使用することが出来ます。

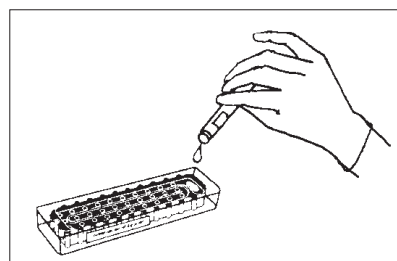
受け取り次第、BD BBLCRYSTAL E/NF 同定検査試薬は2～25℃で保存して下さい。キットやその他の部品を冷蔵保存する場合は、いずれも使用前に15～25℃に戻して下さい。

検査手順：本検査は、オキシダーゼとインドールの検査結果を必要とします。BBLCRYSTAL E/NF用パネルのセットアップの前に、非選択分離培地で培養開始後24時間以内の培養菌について、オキシダーゼとインドールの検査を行います。試薬の添付文書による指示に従い、オキシダーゼとインドールの検査を行って下さい。

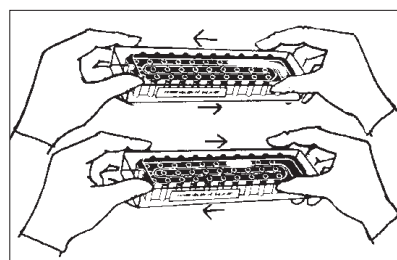
1. リッドを袋から取り出し、乾燥剤を捨てます。密封された袋からいったん取り出したリッドは、1時間以内に使用して下さい。袋に乾燥剤が入っていなかった場合は、パネルを使用しないで下さい。



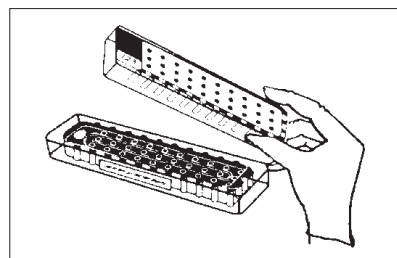
2. プロスを取り出し、患者の検体番号をラベルに記入します。無菌操作法を用いて、滅菌綿棒（ポリエステル製は用いない）の先端、または木製のアプリケーション棒やプラスチック製ディスプレイ白金耳で、トリプチケースソイ5%ヒツジ血液寒天培地等から、よく分離された大きな（直径2～3mmまたはそれ以上の）コロニーを1個（あるいは、同じ形態の小さなコロニー4～5個）釣菌します。マッコンキー寒天平板培地も使用可能です。
3. グラム陰性菌用プロスにコロニーを懸濁させます。
4. 再びプロスにキャップをして、約10～15秒間ボルテックスミキサーで攪拌します。
5. ベースを手にとり、患者の検体番号を側壁に記入します。
6. 調製した菌液全量をベースのターゲットエリアに注ぎます。



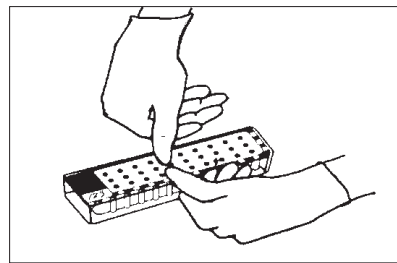
7. 両手でベースを持ち、静かに揺らして菌液を溝に沿って流し、全ての反応ウェルを満たします。余分な液はターゲットエリアに揺り戻し、ベースを机の上に置きます。



8. リッドの位置を揃えて、ラベルのついたリッドの端がベースのターゲットエリアの1番上にくるようにします。

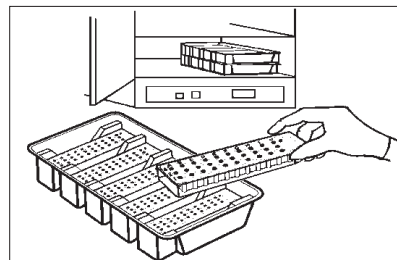


9. 少し抵抗が感じられるまで下に押します。各側面のリッドの端に親指を置き、パネルの中心部に向けリッドがしかるべき位置にぱちっとはまるまで（2回「ぱちっ」という音を聞く）同時に下の方に押します。

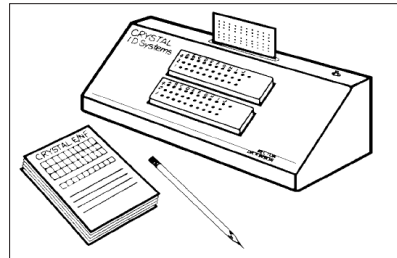


純培養菌チェック用平板：ベースへの接種前もしくは後に滅菌白金耳を使って、プロス用の懸濁液を1滴、純培養チェックのために寒天平板培地（適切な培地ならいずれでもよい）に接種します。試験管とキャップはバイオハザード容器に捨てます。寒天平板を35～37℃にて18～24時間培養します。必要であれば、純培養チェック用寒天平板培地は追加検査や血清学検査にも使用できます。

培養：接種したパネルを培養トレイに入れます。1枚のトレイに10枚のパネルが入ります。（パネル2枚×5列）。全てのパネルを、非CO₂孵卵器内で湿度40～60%にて、表面を下に向けて（大きな窓が上に、ラベルが下に向くように）培養します。培養中、トレイを重ねる場合2枚が限度です。E/NFパネルの培養時間は、35～37℃で18～20時間です。



判定：指示された培養時間が過ぎたら、パネルを孵卵器から取り出します。パネルは、BBLCRYSTALライトボックス又はパネルビューアーを使って、表面を下に向けて（大きな窓が上に、ラベルが下に向くように）判定します。反応の解釈にはカラーチャートならびに表3を参照して下さい。結果の記録にはBBLCRYSTAL E/NF報告用紙を使用して下さい。



BD BBLCRYSTALプロファイル番号の計算：陽性となった各検査結果には、検査の位置にある横の列に対応して、4, 2, 1の数値が与えられます。陰性の結果にはいずれも0の数値が与えられます。各縦の列の各陽性結果から与えられた数値を次に合計します。こうして10桁の数字が生まれますが、これがプロファイル番号です。

例：

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-
2	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-
1	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
プロファイル番号	5	4	6	0	2	4	4	3	7	1

こうして得られたプロファイル番号とオフライン検査結果（インドールとオキシダーゼ）を、BBLCRYSTALコンピュータコードブックで判定します。マニュアルコードブックを利用することも可能です。

本製品に含まれるもの：

- リッド 20個
- ベース 20個
- グラム陰性菌用プロス 2.2±0.1mL 20本
- プロス1リットル当たりの成分
- NaCl 8.50g

3-モルフォリノプロパン・スルホン酸 0.8372g

培養トレイ

2個

BBL CRYSTAL E/NF報告用紙

1冊

本製品以外に準備する器材：

滅菌綿棒（ポリエステル製綿棒は用いない）、非CO₂孵卵器（温度35～37℃；湿度40～60%）、BBLCRYSTAL ライトボックス/パネルビューアー（BBLCRYSTALカラーチャートを含む）、BBLCRYSTAL同定システムコンピュータコードブック、非選択平板培地（例：トリプチケースソイ5%ヒツジ血液寒天培地）、BBL DMACAインドル試薬スポイト、BBLオキシダーゼ試薬スポイト。

その他、臨床検体の調製、保存、取扱いに必要な器具と白衣が必要です。

【操作上の留意事項】

検体の採取と分離培養法：本検査は、臨床検体を直接使用するものではありません。トリプチケースソイ5%ヒツジ血液寒天培地等の平板培地からの分離菌をご使用下さい。マッコンキー寒天平板培地も使用可能です。検査用分離菌は、24時間以内の純培養菌でなければなりません。ポリエステル製綿棒の中には、パネルの接種で問題を起こすものもあるので、菌液の調製には、綿製の綿棒をご使用下さい。密封された袋からいったん取出したリッドは、高性能を確保するために必ず1時間以内に使用して下さい。使用の時まで、リッドはビニール袋に入れておいて下さい。

培養中に反応ウェルからの菌液の蒸発を防ぐため、使用する孵卵器内は加湿して下さい。望ましい湿度は40～60%です。BD BBLCRYSTAL同定検査試薬及び臨床検体に用いるその他の診断薬の有用性は、検体それ自体の質に直接影響されます。検体の採取、輸送、初代分離培地への接種法については、*Manual of Clinical Microbiology*（臨床微生物学マニュアル）に述べられている方法を使用することを強くお勧めします。¹

使用者による品質管理：ロット毎に、下記のように品質管理試験を行うことをお勧めします。

1. BBLCRYSTAL E/NFパネルを、指示された手順に従い、*Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495を用いてセットアップして下さい。（「検査手順」欄参照）。
2. 培養前にパネルを、最適には3分間（但し5分未満）15～25℃で放置します。
3. ライトボックス又はパネルビューアーとBBLCRYSTAL E/NFカラーチャートを用いて、反応を判定し、記録して下さい。
4. 反応ウェルのいずれかが、カラーチャートに従って陽性を示す場合（3～5分後）は、このロットのパネルは使用できません。
5. 全ての反応ウェルが陰性の場合、35～37℃で18～20時間、パネルの培養を行って下さい。
6. BBLCRYSTALライトボックス又はパネルビューアーとBBLCRYSTAL E/NFカラーチャートを用いて、反応を判定し、報告用紙に結果を記録して下さい。
7. 記録された反応と表4にある反応とを比較します。

その他の品質管理試験用菌株の予想試験結果は表5にあります。

表4 BD BBLCRYSTAL E/NF 同定検査試薬用品質管理菌

パネル上の位置	項目名	コード	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 33495
4A	アラビノース	ARA	+
4B	マンノース	MNS	+
4C	白糖	SUC	+
4D	メリビオース	MEL	V
4E	ラムノース	RHA	+
4F	ソルビトール	SOR	+
4G	マンニトール	MNT	V
4H	アドニトール	ADO	+
4I	ガラクトース	GAL	+
4J	イノシトール	INO	+
2A	p-n-p-リン酸	PHO	V
2B	p-n-p- α - β -グルコシド	BGL	+
2C	p-n-p- β -ガラクトシド	NPG	+
2D	プロリンニトロアニリド	PRO	V
2E	p-n-p-ビスリン酸	BPH	V
2F	p-n-p-キシロシド	BXY	+
2G	p-n-p- α -アラビノシド	AAR	(+)
2H	p-n-p-ホスホリルコリン	PHC	-
2I	p-n-p- β -グルクロニド	GLR	-
2J	p-n-p-N-アセチルグルコサミニド	NAG	-
1A	L- γ -グルタミル-p-ニトロアニリド	GGL	+
1B	エスクリン	ESC	+
1C	フェニルアラニン	PHE	-
1D	尿素	URE	V
1E	グリシン	GLY	-
1F	クエン酸	CIT	+
1G	マロン酸	MLO	+
1H	テトラゾリウム	TTC	+
1I	アルギニン	ARG	V
1J	リジン	LYS	+

+ =陽性反応 - =陰性反応 V =場合により異なる反応 (+) =通常は陽性だが、時に陰性

表5 BD BBLCRYSTAL E/NF 同定検査試薬用 その他の品質管理菌株

パネル上の位置	コード	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Acinetobacter lwoffii</i> ATCC 17925	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 35030	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 35032
4A	ARA	V	-	-	+	-
4B	MNS	+	-	-	+	V
4C	SUC	-	-	+	+	-
4D	MEL	+	-	-	V	-
4E	RHA	+	-	-	+	-
4F	SOR	+	-	-	+	-
4G	MNT	+	-	-	+	-
4H	ADO	-	-	-	+	-
4I	GAL	+	-	+	+	+
4J	INO	-	-	-	-	-
2A	PHO	V	-	+	V	V
2B	BGL	-	-	+	V	-
2C	NPG	+	-	-	+	-
2D	PRO	-	-	-	-	+
2E	BPH	V	-	+	V	-
2F	BXY	-	-	-	+	-
2G	AAR	(-)	-	-	(+)	-
2H	PHC	-	-	+	-	V
2I	GLR	+	-	-	-	-
2J	NAG	-	-	-	+	-
1A	GGL	-	-	V	+	+
1B	ESC	-	-	+	V	-
1C	PHE	-	-	+	-	-
1D	URE	-	V	+	V	+
1E	GLY	-	V	V	-	+
1F	CIT	-	-	(+)	+	+
1G	MLO	-	-	-	+	+
1H	TTC	(+)	-	V	+	+
1I	ARG	V	-	V	(+)	+
1J	LYS	+	-	-	V	V

+ = 陽性反応 - = 陰性反応 V = 場合により異なる反応 (+) = 通常は陽性だが、時に陰性
 (-) = 通常は陰性だが、時に陽性

【性能】

再現性：臨床検査機関3施設で評価を行い、E/NF用基質（30基質）反応の再現性を検討しました。その結果、個々の基質の反応再現性は96.3～100%であり、BD BBLCRYSTAL E/NF 同定検査試薬の再現性は99.6%と判定されました。

相関性：①社内試験 BD BBLCRYSTAL E/NF 同定検査試薬の性能は、臨床分離菌と保存株を用いて、現在市販されている同定キットとの比較検討を行いました。並行して検査した169株の腸内細菌及び非腸内細菌の分離菌（45種）の検査結果を分析し、異なる同定結果が出た場合は、他の同定キットを使って相違を検討しました。これらの結果は下記のとおりです。

N=169	追加試験なしの同定	追加試験を伴う同定	同定不能または誤同定
BD BBLCRYSTAL E/NF 同定検査試薬	163 (96.4%)	167 (98.8%)	2 (1.2%)

②社外試験 BD BBLCRYSTAL E/NF 同定検査試薬の性能は、臨床検査機関に到着する新鮮なルーティンの分離菌並びに臨床検査機関が選択した同定済み分離菌の双方を使用して、3施設の臨床検査機関でそれぞれ評価検討を行いました。

これらの臨床検査機関が用いている同定法によって検査された新鮮な臨床分離菌299株のうち、本検査は96.7%（289株）を正確に同定しました。この中には、2～3種類の細菌が同定されたため、くい違いを検討するために追加試験を行った16のケースも含まれています。

また、これらの臨床検査機関が用いている同定法によって、検査された同定済み臨床分離菌291株のうち、本検査は96.9%（282株）を正確に同定しました。この中には、2種類の細菌が同定されたため、くい違いを検討するために追加試験を行った8つのケースも含まれています。

【使用上又は取り扱い上の注意】

BD BBLCRYSTAL E/NF 同定検査試薬は、本添付文書で指定されているE/NF菌株の同定用です。表1に記載されていない菌種は、本検査の対象ではありません。

本検査は特有な培養条件を用いていますので、個々の検査の予想値は、従来法の結果と異なる場合があります。BD BBLCRYSTAL E/NF 同定検査試薬の精度は、特定の設計をした試験の統計的利用と独自のデータベースに基づいています。

抗血清が利用できる時は、サルモネラ菌、サルモネラ菌サブグループ3、赤痢菌属、病原性大腸菌A～D、コレラ菌などを選択した微生物の生化学的同定を抗原分析によって確認して下さい。^{2, 6}

ポリエステル製の綿棒で菌液を調製すると、菌液に粘りが出る可能性があるため、菌液の調製には綿製の綿棒のみを使用して下さい。菌液に粘りが出ると、ウェルを満たすための量に不足がでる恐れがあります。封印された袋からいったん取り出したリッドは、高性能を確保するために必ず1時間以内に使用して下さい。使用の時まで、リッドはビニール袋に入れておいて下さい。

接種後、基質の反応を最大にするため、パネルは表面を下に向けた（大きな窓が上に、ラベルが下に向くように）状態で培養します。

コロニーはトリプチケースソイ5%ヒツジ血液寒天培地等から採取して下さい。マッコンキー寒天平板培地の使用も可能です。

本検査は、臨床検体を直接使用するものではありません。

平板培地、綿棒、グラム陰性菌用ブロス、オキシダーゼまたはインドール検査に使用したろ紙、パネルを含む全ての器材は、使用后、廃棄前にオートクレーブで滅菌、または焼却して下さい。

【貯法・有効期間】

貯法： 2～25℃

有効期間：12ヶ月

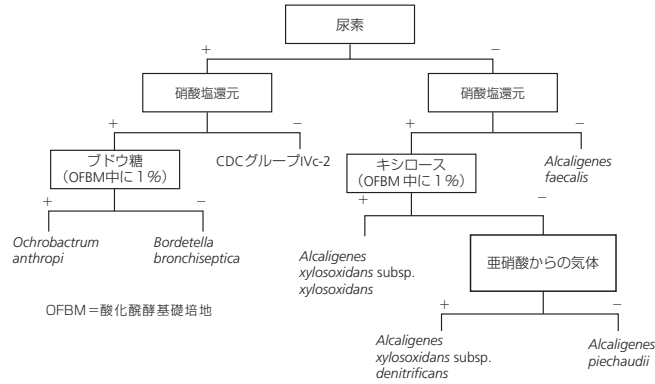
【包装単位】

20検体用

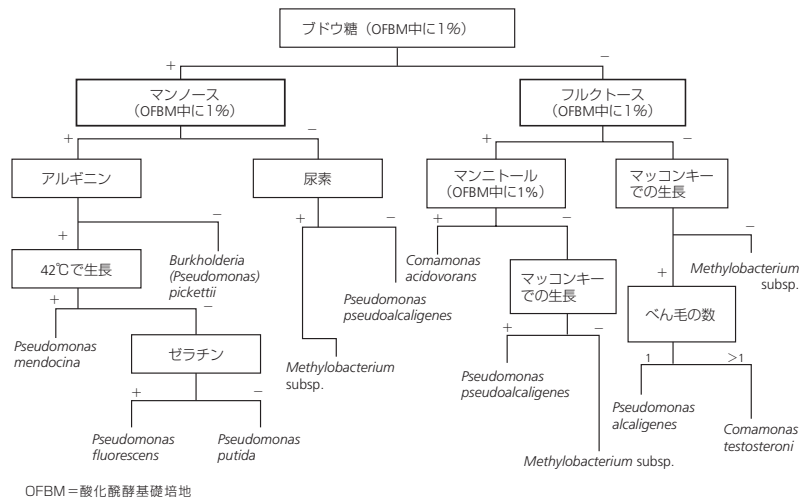
【主要文献】

1. Bachman, B., and R.H. Weaver. 1951. Rapid microtechniques for identification of cultures. V. Reduction of nitrates. *Am. J. Clin. Pathol.* 21:195-196
2. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover. 1995. *Manual of Clinical Microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Baron, E.J., and S.M. Finegold. 1990. *Bailey and Scott's diagnostic microbiology*, 8th ed. The C.V. Mosby Company, St. Louis.
4. Cowan, S.T., and K.J. Steel. 1974. *Manual for the identification of medical bacteria*. 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
5. Edberg, S.C., and C.M. Kontnick. 1986. Comparison of β -glucuronidase-based substrate systems for identification of *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.* 24:368-371
6. Ewing, W.H. 1986. *Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
7. Ferguson, W.W., and A.E. Hook. 1943. Urease activity of *Proteus* and *Salmonella* organisms. *J. Lab. Clin. Med.* 28:1715-1720
8. Kämpfer, P., O. Rauhoff, and W. Dott. 1991. Glycosidase profiles of members of the family *Enterobacteriaceae*. *J. Clin. Microbiol.* 29:2877-2879
9. Kilian, M., and P. Bulow. 1976. Rapid diagnosis of *Enterobacteriaceae* 1: detection of bacterial glycosidases. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B.* 84:245-251.
10. Le. Minor, L. 1972. *Le Diagnostic de Laboratoire des Bacilles a Gram Negatif Enterobacteries*. Tom. 1, 4th ed. Editions de La Tourelle, St. Mandé-94, France.
11. MacFaddin, J.F. 1980. *Biochemical tests for identification of medical bacteria*, 2nd Ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
12. Manafi, M., W. Kneifel, and S. Bascomb. 1991. Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial diagnostics. *Microbiol. Rev.* 55:335-348.
13. Moeller, V. 1955. Simplified tests for amino acid decarboxylases and for arginine dihydrolase system. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 36:158-172
14. Muytjens, H.L., J. van der Ros-van de Repe, and H.A.M. van Druten. 1984. Enzymatic profiles of *Enterobacter sakazakii* and related species with special reference to the ∞ -glucosidase reactions and reproducibility of the test system. *J. Clin. Microbiol.* 20:684-686.
15. Simmons, J.S. 1926. A culture medium for differentiating organisms of typhoid-colon-aerogenes groups and for isolation of certain fungi. *J. Infect. Dis.* 39:209-214.

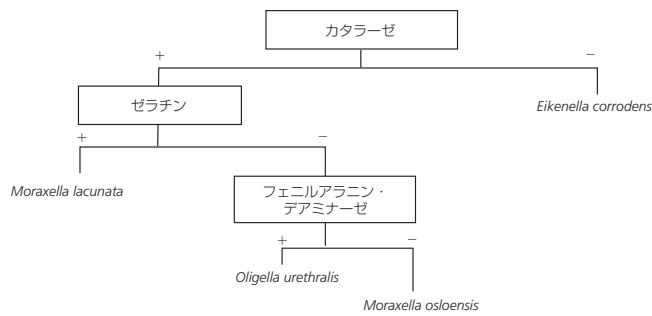
その他のグラム陰性桿菌
図 No. 1 (周毛による移動)



その他のグラム陰性桿菌
図 No. 2 (極毛による移動)



その他のグラム陰性桿菌
図 No. 3 (非移動性)



参考文献：1. Gilardi, G. L., Identification of Glucose-Nonfermenting Gram-Negative Rods, 1/90
2. Manual of Clinical Microbiology, 5th Edition, American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1991



日本ベクトン・ディッキンソン株式会社
東京都港区赤坂8-5-26 赤坂DSビル 〒107-0052
ホームページアドレス：<http://www.bd.com/jp/>

◆ 製品に関するお問合せ / カタログ・価格表のご請求
お客様情報センター 0120-8555-90
(BDダイヤル) Fax 024-593-5761