

バクテアラート3D用培養ボトル

※※

***i* A S T培養ボトル (好気用) (品番 259786)**
***i* N S T培養ボトル (嫌気用) (品番 259785)**
***i* L Y M培養ボトル (強酸性食品・飲料用) (品番 259788)**

バクテアラート 3D 微生物培養検査システム
バクテアラート 3D コンビネーション
バクテアラート 3D 60
バクテアラート 3D Dual-T

共用

この添付文書をよく読んでから使用して下さい。

※※〔はじめに〕

バクテアラート 3D シリーズは、検体中の微生物の存在を確認するシステムです。本システム専用の培養・測定装置と付属品である各種培養ボトルを用いることにより簡易、迅速な培養検査が可能です。操作は、検体を接種した培養ボトルを装置にセットするだけです。培養ボトルは培養・測定装置で自動培養され、微生物の増殖により代謝産生される二酸化炭素をモニタリングすることにより、検体中の微生物の存在の有無を自動判定します。

〔特徴〕

- 検体中の微生物存否の簡易迅速検査が可能です。
- 微生物の増殖に伴う代謝産物である二酸化炭素を分離培養ボトル底部の二酸化炭素センサーと装置の検出器により客観的に測定できます。
- 陽性検体の場合、判定結果がリアルタイムに表示されるため、迅速な報告が可能です。

〔キットの構成〕

- 包装内容
 - i* A S T培養ボトル (好気用) …………… 40mL×100本
基本組成：トリプケースソイブイオン
 - i* N S T培養ボトル (嫌気用) …………… 40mL×100本
基本組成：トリプケースソイブイオン
 - i* L Y M培養ボトル (強酸性食品・飲料用) …………… 20mL×100本
基本組成：炭素源強化培地
- 本品を使用する際に必要な器具および試薬
 - 使い捨て手袋
 - 滅菌済み注射針、シリンジ等
 - エアウェイ針 (滅菌済み) (品番233766)
 - ピペット
 - i* L Y M培養ボトルに固体検体を用いる場合
 - A P Tブイオン
 - ポテトデキストロースブロス
 - 1N塩酸または10%酒石酸溶液
 - i* A S T培養ボトル、*i* L Y M培養ボトルの蓋を開けて検体を接種する場合
 - 培養ボトル用キャップシール (品番279787)

〔使用目的〕

検体中の微生物の存否検査

〔測定方法 (測定原理)〕

培養および測定は専用装置を使用します。検体を接種した培養ボトル中で微生物の増殖により二酸化炭素が産生され、その濃度変化を分離培養ボトル底部の二酸化炭素センサーが検知して緑色から黄色へと変化します。この経時的変化を装置内の発光ダイオードと光検出器が10分ごとに反射光散乱光として測定し、微生物の存在を自動判定します。

〔貯法・使用期限〕

遮光下、15～30℃で保存してください。

使用期限は、各ボトルに記載してあります。

〔包装単位〕

i A S T培養ボトル (好気用) ……………40mL×100本 Code 259786
i N S T培養ボトル (嫌気用) ……………40mL×100本 Code 259785
i L Y M培養ボトル (強酸性食品・飲料用)
……………20mL×100本 Code 259788

※※〔参考文献〕

- Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, DiGuseppi JL, Willert M, Mirrett S, et al: BacT/ALERT: an Automated Colorimetric Microbial Detection System. J Clin Micro 1990 ; 28 (7), 1608-1612.
- Widmer AF, Frei, R : Decontamination, Disinfection, and Sterilization. In : Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry, ML, Pfaller, MA (eds.) : Manual of Clinical Microbiology, ed. 9. Washington, D.C., American Society for Microbiology, 2007, pp. 65-96.
- The United States Pharmacopeia, 2014 edition, USP 38-NF 33, <71>, Sterility Tests.
- The United States Pharmacopeia, 2014 edition, USP 38-NF 33, <1227> Validation of Microbial Recovery from Pharmacopeial Articles.
- European Pharmacopoeia, 8th edition, Chapter 2.6.1., Sterility, 2014.
- European Pharmacopoeia, 8th edition. Chapter 2.6.27. Microbiological Control of Cellular Products, 2014.
- CLSI/NCCLS. Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media ; Approved Standard—Third Edition. CLSI/NCCLS document M22-A3. Wayne, PA : NCCLS ; 2004.
- Carrol CC, Weinstein, MP. Manual and Automated Systems for Detection and Identification of Microorganisms. In : Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds.) : Manual of Clinical Microbiology, ed.9. Washington, D.C., American Society for Microbiology, 2007, pp. 193.

〔問い合わせ先〕

シスメックス株式会社

〒141-0032 東京都品川区大崎一丁目2番2号
大崎セントラルタワー8階
TEL.0120-022-328

シスメックス・バイオメリュー株式会社

〒141-0032 東京都品川区大崎一丁目2番2号
大崎セントラルタワー8階
TEL.03-6834-2666(代表)

製造販売元 シスメックス・バイオメリュー株式会社

〒141-0032 東京都品川区大崎一丁目2番2号
大崎セントラルタワー8階



9300375/9300095 B-en-2010/10
9300116 A-en-2010/08
9300376 B-en-2010/10

※※〔試験の性能特性〕

BacT/ALERT 3Dシステム (Dual-Tシステムを含む) を用いた代替法による無菌試験と薬局方に従った無菌試験の比較試験を実施しました (表1)^{3, 5}。培養法で用意した接種菌体を用いて1.0mL中に100 CFU未満ずつ含むように菌液を調製し、各培養ボトルおよび試験管へ1mLずつ接種しました。各菌種に関し、*i* A S Tと*i* N S Tについては少なくともN=40、*i* L Y Mについては少なくともN=30で試験を実施し、各培養ボトルについて複数ロットを用いて試験しました。データは、一台のBacT/ALERT 3Dシステムを使用し、各培養ボトルを薬局方^{3, 5, 6}に従って20-25℃および/または30-35℃で培養しました。薬局方の無菌試験法で使用する試験管については、毎日目視で結果を確認しました。下記表のUSP/EP Growth Promotion Testに記載されている日数は、全試験管での平均検出時間 (time-to-detection ; TTD) を示しています。

表1 *i* A S T培養ボトル

菌種名 [†]	接種 (CFU/bottle)	培養温度 (℃)	検出時間(日数)*	
			BacT/ALERT® <i>i</i> A S T培養ボトル	USP/EP Growth Promotion Test
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC® 16404 TM	35	32.5	2.23	—
		22.5	4.16	3.0
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC® 6633 TM	7	32.5	0.76	1.0
		22.5	1.84	2.0
<i>Candida albicans</i> ATCC® 10231 TM	25	32.5	1.11	13.0 [‡]
		22.5	2.01	3.0
<i>Kocuria rhizophila</i> ATCC® 9431 TM	22	32.5	1.40	>14.0 [§]
		22.5	3.16	4.0 [§]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 9027 TM	36	32.5	0.93	1.0
		22.5	1.89	—
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 8739 TM	24	32.5	0.67	2.0
<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 10788/ATCC® 6538 TM	20	32.5	1.00	2.0
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC® 19615 TM	13	32.5	0.87	3.0
<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC® 9610 TM	13	32.5	1.02	2.0

表2 *i* N S T培養ボトル

菌種名 [‡]	接種 (CFU/bottle)	培養温度 (℃)	検出時間(日数)*	
			BacT/ALERT® <i>i</i> N S T培養ボトル	USP/EP Growth Promotion Test
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC® 25285 TM (without blood)	17	32.5	1.97	5.0
<i>Bacteroides vulgatus</i> ATCC® 8482 TM (with blood)	19	32.5	3.36 [†]	5.0
<i>Clostridium sporogenes</i> NCTC 12935/ATCC® 11437 TM	28	32.5	0.86	1.0
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC® 19404 TM	37	32.5	0.95	1.0
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 8739 TM	24	32.5	0.55	2.0
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC® 11827 TM	5	32.5	6.33	10.0
<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 10788/ATCC® 6538 TM	20	32.5	0.80	2.0
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC® 19615 TM	13	32.5	0.77	3.0
<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC® 9610 TM	13	32.5	1.00	2.0

表3 *i* L Y M培養ボトル

菌種名 [‡]	平均検出時間(日数)*			
	接種 (CFU/bottle or tube)	培養温度 (℃)	BacT/ALERT® 培養ボトル	USP/EP Growth Promotion Test
<i>A. brasiliensis</i> ATCC® 16404 TM	35	32.5	2.15	—
	35	22.5	4.08	3
	25	32.5	1.15	13 [†]
<i>C. albicans</i> ATCC® 10231 TM	25	22.5	1.99	3

*全試験の平均値を示します。22.5℃と記載のある試験は、20-25℃で管理されるBacT/ALERT 3D Dual-Tシステムのモジュールで実施されました。

[†]複数の菌株保存機関の菌株が掲載されている場合、BioBall®が性能試験に用いられました。使用可能な場合、対応するATCC®の参照番号が記載されています。

[‡]試験管5本のうち1本のみ13日目で陽性判定されました。

[§]21 CFR 610.12の無菌試験にて推奨されています。

〔操作法〕

1. 培養ボトル

培養ボトルは検体情報などを記入し使用して下さい。

2. 検体の採取・前処理

1) 検体は無菌的に採取して下さい。

2) 抗生物質を含んだ検体の場合、偽陰性を示す場合があります。使用前に米国薬局法又は欧州薬局法に従い、検体の種類、用量、静菌作用がないかバリデーションを行って下さい。

3) *i* L Y M培養ボトルで固体、半固体（ペースト状のものなど）の検体を培養する場合、下記の通り前処理をして下さい。

①APTブイオンの調製においては、1N塩酸または10%酒石酸溶液を用いてpH 4.5に調整してから滅菌して下さい。

②無菌的に検体をAPTブイオンに加え（目安として検体10gにブイオン20mL）、よく混和して下さい。

4) *i* L Y M培養ボトルで濃縮果汁やCO₂センサーに影響を与える添加物（酢酸など）を含む検体を培養する場合、滅菌精製水で検体を希釈することが薦められます。

3. 検体の接種

1) 接種前に培養ボトル上部をアルコール綿か同様のもの で消毒して下さい。

2) 液体の検体は、注射器などを用いて無菌的に接種して下さい。ただし、*i* A S T培養ボトル・*i* L Y M培養ボトルについては3) の方法で接種しても構いません。

3) 固体や半固体の検体は、下に記す方法でボトルの蓋を開けて検体を接種して下さい（*i* A S T培養ボトル・*i* L Y M培養ボトル）。

①金締冠の中央部を引っ張り、その後引き下げて片側だけをきり、まわすようにして外して下さい。外す途中で金属が切れたりした場合、危険ですのでその後はできるだけ手を使わずに器具を用いて行って下さい。

②無菌的にゴム栓を外し、検体を接種して下さい。

③ゴム栓をはめ直し、*i* A S T培養ボトル用キャップシールまたは*i* L Y M培養ボトル用キャップシールを用いて封栓して下さい。

注：キャップシールの上から蓋をし、しっかりと密閉して下さい。

4) 検体接種後、速やかに装置にセットして下さい。

4. 培養・判定

培養ボトルを装置にセットした後、陽性または陰性と判定されるまで培養します。自動的に陽性判定されます。

〔操作上の留意事項〕

1. 培養ボトル

1) *i* A S T培養ボトル・*i* N S T培養ボトルを15℃以下に保存した場合、沈殿が発生することがありますが加温により消失します。このため、培養ボトルは使用前に必ず室温に戻してから使用して下さい。

2) 培養ボトルの使用前には、必ず損傷や汚染の確認をし、液漏れのあるものは使用しないで下さい。培地は通常透明ですが、抗凝固剤の影響により、わずかに乳白色を帯びていたり、沈殿の痕跡がみられることがあります。これらの現象と汚染による混濁とを混同しないようにしてください。ボトル底部の二酸化炭素センサーが黄色化しているものや液体培地に濁りのあるボトルは微生物汚染の可能性があるため使用しないで下さい。

3) 培養ボトルの容器にはポリカーボネートが含まれており、消毒剤の種類によっては、劣化を引き起こす可能性がありますので、消毒剤の商品ラベルにあるポリカーボネートへの適合性をご確認の上、ご使用下さい。

4) 培養に供する検体中に、好気性菌と嫌気性菌が混在する可能性のある場合は、好気用と嫌気用ボトル等、2本以上のボトルで試験を行うことを推奨します。

2. 検体採取

培養ボトルへの雑菌の混入は、誤って陽性と判定される可能性があるため、正しい検体の採取、輸送、取扱い、前処理が極めて重要です。各検査室の手順に従って、検体の採取および処理を注意して行って下さい。

3. 検体の接種

1) *i* L Y M培養ボトルに接種する検体量は最大20mLです。最大量を超える量の検体は接種しないでください。

2) ボトルの通気

① *i* A S T培養ボトル

・通常、通気の必要はありません。

② *i* N S T培養ボトル

・ボトル内は陰圧下で嫌气的条件になっていますので外部からの気体の混入を避けるため、通気口は開けず、複数回に亘る検体注入も控えてください。

・気体が混入した場合、検出時間が長くなる事があります。太い注射針を使った場合は、気体が混入する可能性があるため、注射針は27ゲージが推奨されます。

③ *i* L Y M培養ボトル

・ボトル内は陰圧下で嫌气的条件になっています。このため、好気性菌の確認を目的とする場合には、接種後に1～5分間エアウェイ針の穿刺による通気を行ってください。蓋を開けて検体を接種した場合には通気の必要はありません。

・安全キャビネット内で、ゴム栓をアルコールなどで消毒した後、通気を行ってください。

4. 培養

1) 検体接種後の培養ボトルは感染の危険性があるものとして取り扱って下さい。

2) 検体を接種した培養ボトルを装置にセットするのが遅れた場合や、セットする前に培養を行った場合は、目視により微生物増殖の微候をボトル底部の二酸化炭素センサーで確認して下さい。微生物が増殖した場合、センサーは緑色から黄色に変化します。増殖が確認された場合は、判定結果陽性として取り扱い、確認試験を行って下さい。

3) 稀に、特殊な培養条件を必要とする菌が発育しない場合があります。培養前に目的の菌がある程度特定でき、培養条件が特殊であることが判っている場合、培地に補助物質を添加するなどの処置を行って下さい。

－*Bacteroides vulgatus*種（嫌気性菌）

4) 陽性と判定された培養ボトルは直ちに装置から取り出して下さい。

注：*i* L Y M培養ボトルにおいて、酵母菌が検体中に存在する場合、ガスが大量に排出されるため、気圧でボトルが破損する場合があります。検体が陽性で、酵母菌が存在すると疑われる場合は、特に取り扱いに注意して下さい。

〔測定結果の判定法〕

装置にセットした培養ボトルの判定は、付属のソフトウェアで装置の持つ3つのアルゴリズム（陽性判定基準）に従い自動的に判定されます。

1. 陽性と判定された培養ボトルは、一時的に通気を行い、培養により発生したガスを抜き、染色鏡検と培養（サブカルチャー）による確認試験を行って下さい。鏡検が陰性の場合は、偽陽性の可能性もあるので再度培養ボトルを装置にセットして下さい。再度培養ボトルを使用する場合、ゴム栓をし、キャップシールを用いて封栓して下さい（*i* A S T培養ボトル・*i* L Y M培養ボトル）。

2. 陰性と判定された培養ボトルは、廃棄前に染色鏡検または培養で陰性であることを確認して下さい。

3. まれに、検体中に含まれる抗生物質の影響などにより、微生物の発育が阻害されて陽性判定が出ない場合があります。

4. 下記菌種の中には、*i* A S T培養ボトル・*i* N S T培養ボトルの培地中に含まれる抗凝固薬に感受性があり、陽性判定が出ない場合がある菌があります。

－*Haemophilus influenzae*、*Neisseria meningitides*、

Neisseria gonorrhoeae（好気性菌）

－*Peptostreptococcus anaerobius*（嫌気性菌）

5. *Bacillus*属の中には、*i* L Y M培養ボトルで培養した際、検体又は培地のpHが菌の発育可能な範囲より低いため、発育しないものがあります。この現象は培地のpHを1N塩酸または10%酒石酸溶液で調整したことで起こる場合があります。

6. *Penicillium*属や*Aspergillus*属のある種の菌や、温度に過敏な真菌等では非発育となったり、検出に必要なCO₂量を満たない場合があります。

7. 陰性と判定されたボトルから得られた検体でグラム染色を行う場合、培地成分やエマルジョンオイル、スライドガラスから移った少数の発育不能の菌を含み、グラム染色が偽陽性と判定される場合があります。

〔品質管理〕

試験成績書は各培養ボトルのロットごとに発行しています。必要であれば、ユーザーマニュアル、CLSI® document M22-A3、USP<71>、EP2.6.1、EP2.6.27に従って施設毎に培養ボトルの品質管理をおこなってください。

〔使用上または取扱い上の注意事項〕

1. 一般的な注意事項

- この添付文書をよく読み、記載されている操作法に従って使用して下さい。
- 本品は体外診断用医薬品ではありません。疾患の診断、予防、治療には使用しないで下さい。
- 使用期限を過ぎた培養ボトルは使用しないで下さい。
- 使用前に異物混入や破損等の異常が認められた培養ボトルは使用しないで下さい。
- パクテアラート 3D シリーズの使用に際しては、必ず取扱説明書の指示に従って操作して下さい。
- 培養ボトルの内容物が、こぼれたりもれたりした場合は、5%次亜鉛素酸ソーダの10倍希釈液でふきとって下さい。
- パクテアラート 3D シリーズと培養ボトルのバリデーションを適切に行ってください。パクテアラート 3D シリーズと培養ボトルをヒト又は生物由来製品を含む医療用製品の出荷判定に使用する場合は、適切な規制当局に必要な条件を確認してください。

2. 危険防止上の注意事項

- 微生物の扱いは常に感染の危険性があるので、取り扱いにあたっては、熟練した技術者の指導のもとに、バイオハザード対策を実施した上で行って下さい。
- 検体に接触した器具、培地および培養ボトルなどは、使い捨て手袋を使用し、すべて感染の危険性があるものとして取り扱って下さい。汚染物質を誤って摂取したり、傷口に接触させてしまった場合は、すぐに医師の診察を受けて下さい。
- 検体接種時および培地のサンプリングに際しては、針刺し事故等に十分注意して下さい。

4) 陽性ボトルから培地へのサンプリングに際しては、液体培地の噴出に十分注意して下さい。

3. 廃棄上の注意事項

使用後の培地、器具などはオートクレーブ等で滅菌した後、廃棄物に関する法令、条例などに従って医療廃棄物または産業廃棄物などに区別して処理して下さい。