BacT/ALERT® *i* FAプラス

適用

BacT/ALERT *i* FA プラス培養ボトルは、種々の好気性および通性の微生物（細菌および菌類）の強化された回収および検出のための定性的手順で、BacT/ALERT 微生物検出システムと共に使用します。試験目的に応じてBacT/ALERT システムおよび培養ボトルを検証する場合は、施設の責任の元で実施します。

概要および説明

BacT/ALERT微生物検出システムおよびBacT/ALERT *i* FAプラス培養ボトルは、微生物検出システムと培養培地の両方であり、製造工程または無菌製造製品中に存在しうる種々の好気性および通性の微生物の増殖と検出に適した、栄養物および環境条件をもつ中和特性が含まれます。接種されたボトルは装置に入れられ、そこで培養され、BacT/ALERT *i* FAプラス培養ボトルで増殖する微生物の存在について継続的にモニタリングされます。

テストの原理

BacT/ALERT検出システムは、比色検出センサーおよび反射光を利用して、培地中に溶解した二酸化炭素（CO_2）の存在および産生をモニタリングします。試験サンプル中に微生物が存在する場合は、微生物が培地内の物質を代謝するにつれて、二酸化炭素が産生されます。微生物の増殖によってCO_2が産生されると、各培養ボトルの底部に取り付けられたガス透過性センサーの色が青緑色から黄色に変わります。[1]色がより明るくなると、システムがモニタリングする反射率が増加します。ボトルの反射率が、装置により10分毎にモニタリングされ、記録されます。

試薬

注意： 病原体を伝搬する可能性があることを想定し、サンプルおよび接種された培養ボトルを取り扱って下さい。接種されたすべてのボトルは施設の手順にしたがって消毒して下さい。[2]

BacT/ALERT® *i* FA プラス（淡緑色に色コード化） – BacT/ALERT *i* FA プラスディスポーザブル培養ボトルには、30 mL の複合培地と 1.6 g の吸着性ポリマービーズが含まれています。本培地は、純水中にカゼインペプトン（1.0%重量／容量パーセント）、酵母エキス（0.45%重量／容量パーセント）、大豆ペプトン（0.3%重量／容量パーセント）、肉ペプトン（0.1%重量／容量パーセント）、ポリアネトールスルホン酸ナトリウム（SPS）（0.083%重量／容量パーセント）、メナジオン（0.00005%重量／容量パーセント）、ヘミン（0.0005%重量／容量パーセント）、L-システイン（0.03%重量／容量パーセント）、ピルビン酸（0.1%重量／容量パーセント）、塩酸ピリドキシン（0.001%重量／容量パーセント）、ニコチン酸（0.0002%重量／容量パーセント）、パントテン酸（0.0002%重量／容量パーセント）、塩酸チアミン（0.0001%重量／容量パーセント）、その他の複合アミノ酸および炭水化物の物質を含みます。ボトルには、真空下にある N_2、O_2、CO_2 の気体を含みます。培地の成分は、特定の性能要件を満たすために調整されることがあります。

注意： BacT/ALERT 培養ボトルにはポリカーボネー トが含まれます。消毒剤の中にはポリカーボネート表面に使用できないものがあり、ボトルの劣化を引き起こすことがあります。BacT/ALERT 培養ボトルの表面に使用する前に、消毒剤のポリカーボネートへの適合性を確認して下さい。

注意： BacT/ALERT *i* FA プラス培養ボトルの増殖培地で、まれに培養条件が難しい一部の微生物が増殖しない、または増殖が非常に遅くなる可能性があります。特定の培地および培養条件を必要とする、培養条件が難しい稀な微生物が疑われる場合は、回収のために、代替方法、添加物の追加、または培養時間の延長を考慮する必要があります。

注意： まれに、BacT/ALERT *i* FAプラス培養ボトルの成長培地で増殖するけれども、陽性と判断するため十分な二酸化炭素を産生しない微生物もあります。

その他に必要なもの

BacT/ALERT®微生物検出システム
滅菌済みエアウェイ針/継代培養ユニット
滅菌済のニードルおよびシリンジ
ディスポーザブル手袋
病原体で汚染された可能性のある材料のための適切なバイオハザード廃棄物用容器

bioMérieuxから入手可能な材料

BacT/ALERT®微生物検出システム
滅菌済みエアウェイ針/継代培養用ユニット

保管方法

BacT/ALERT *i* FA プラス培養ボトルはすぐに使用できる状態にあります。室温（15～30°C）で直射日光から避けて、直立状態で保存します。使用期限は各ボトルのラベル上に印刷されています。使用期限日を超えているボトルは使用しないで下さい。ボトルが 15°C 未満の温度に曝された場合は、沈殿物が形成することがありますが、ボトルが室温まで暖められると消失します。使用前に、ボトルは必ず室温状態にして下さい。

不安定性の化学的または物理的徴候

使用前に、BacT/ALERT *i* FAプラス培養ボトルに破損または劣化（変色）の徴候がないか、検査する必要があります。破損、漏れ、または劣化の徴候があるボトルは廃棄して下さい。撹拌されていないボトル内の培地は透明ですが、抗凝固剤SPSのためにわずかにオパール色になったり、微量の沈殿が起こる可能性があります。オパール色を濁度と混同しないで下さい。培地が濁度、黄色のセンサー、または過度のガス圧力を示すボトルを使用しないで下さい。これらは汚染の徴候の可能性があります。

装置

使用前に適切なBacT/ALERT微生物検出システムのユーザーマニュアルを確認して下さい。

BacT/ALERT *i* FAプラス培養ボトルのテスト手順

事前のコメントおよび注意

1. 特定の抗菌化合物が存在する、またはその製剤法のため、テストするサンプルが抗菌性をもつ場合があります。抗菌性が中和されない場合、偽陰性の結果を起こすことがあります。日常的な使用の前に、米国薬局方（USP）または欧州薬局方（EP）に記載されたバリデーション要件にしたがって、ユーザーは、BacT/ALERT *i* FA プラス培養ボトルの各サンプルタイプおよび容量について、方法の適合性を確認する必要があります。[3,4,5,6]
2. 病原体を伝搬する可能性があることを想定し、注意してディスポーザブル手袋を使用し、接種されたボトルを取り扱って下さい。汚染された材料が摂取されたり、覆われていない裂傷、損傷、または他の皮膚の損傷部位と接触した場合は、直ちに医師に連絡して下さい。
3. 汚染物質がこぼれた場合は、5%次亜塩素酸ナトリウムの1:10希釈剤を使って直ちに除染して下さい。許容された方法で洗浄物質を廃棄します。
4. 接種された培養ボトルおよびサンプル採取ニードルは施設の手順にしたがって消毒して下さい。[2]
5. 好気性および嫌気性微生物を含む可能性のあるサンプルを培養する場合は、全体的な回収を最善にするため、1つ以上の気体タイプの培養ボトルを使用することを**強く推奨します**。
6. 訓練を受けた検査室担当員がこれらのボトルを使用して下さい。

サンプル収集およびバリデーション

1. テスト用のサンプルは無菌手技を使って収集し、テスト前に滅菌状態に維持する必要があります。
2. 各ボトルでは 10 mL 以上のサンプルを試験できません。水中の懸濁液など非栄養物サンプルを試験する場合は、ボトルに追加するサンプル容量は必ず 10 mL 未満にして下さい。

ボトルの準備

1. 試験前にボトルを目視点検して下さい。破損、漏れ、または変色の徴候がある場合はボトルを使用しないで下さい。濁度、過度のガス圧力、黄色のセンサー、または増殖の徴候がある場合は、ボトルを使用しないで下さい。これらは汚染の徴候の可能性があります。
2. 適切なサンプル情報を使って、各BacT/ALERT *i* FAプラス培養ボトルをラベルします。ボトルのラベル（#,🕒）のアイコンは、ユーザーが定義できます。ボトルは必ず室温状態にして下さい。
3. プラスチック製の押し上げ式ふたを取り外し、滅菌済のアルコールパッドまたは同等品でセプタムを消毒します。
4. **BacT/ALERT 培養ボトルを再使用しないで下さい。** 接種された BacT/ALERT 培養ボトルは、検査室のプロトコルにしたがって廃棄して下さい。接種されたBacT/ALERT 培養ボトルはオートクレーブまたは焼却処理が適切です。[2]
5. コアリング装置（鈍針など）を使ってセプタムに穴を開けると、ボトルの漏れを起こすことがあります。

ボトルの接種および培養

1. BacT/ALERT *i* FA プラス培養ボトルへのサンプルの接種は、ニードルおよびシリンジを使ってゴム製セプタムを介して行えます。ボトルの推奨最大サンプル容量の 10 mL を超えて充填しないで下さい。
2. 検出時間を最適にするには、接種後できるだけすぐにBacT/ALERT微生物検出システムに装填する必要があります。BacT/ALERT装置へのボトルの装填手順および取り出し手順はユーザーマニュアルに記載されています。
3. 装置内にボトルを入れておく時間は、個々のニーズに合わせて変更することができます。

注意： **陽性の培養ボトルを継代培養する時は、これらが過剰に充填されているか、またはガスを大量に産生する微生物を含む可能性があるため、一般的な注意が必要です。陽性の培養ボトルの内容物は、高い内部圧力下にある可能性があります。**

4. 生存能力のある培養を確保し、ガス圧力の過度の蓄積を避けるために、陽性の信号を受け取ったらすみやかにボトルを装置から取り出して下さい。自己分解またはその他の理由のため生存能力を失った培養を避けるため、ユーザーは信号が陽性であったボトルを直ちに継代培養をすることを考慮して下さい。
5. 陽性の培養ボトルは、継代培養、染色、または廃棄を行う前に一時的に通気して、微生物の代謝中に発生したガスを放出します。
6. 陽性ボトルは、陽性の信号を確認するため、継代培養して塗抹する必要があります。継代培養は、ニードルおよびシリンジ、または滅菌済みエアウェイ針/継代培養ユニットを使って実施します。

品質管理

培養ボトルの各ロットに試験成績証明書が入手できます。希望する場合は、個々の検査室が BacT/ALERT *i* FA プラス培養ボトルの品質管理試験を実施できます。BacT/ALERT のユーザーマニュアル、USP <71>[3]、EP 2.6.1[5]、 EP 2.6.27[6]、または CLSI M22-A3[9] を参照して下さい。

装置

QCおよび較正手順用に各装置にBacT/ALERT反射率スタンダードキットが付いています。すべての品質管理が、通常のシステムメンテナンスの一環である必要があります。詳細については、BacT/ALERTのユーザーマニュアルを参照して下さい。

結果

陽性または陰性の培養ボトルは、BacT/ALERT微生物検出システムに含まれる決定ソフトウェアによって判定されます。BacT/ALERT装置が培養ボトルを陽性または陰性のいずれかに判断するまで、いかなる操作も必要としません。

テストの制約

1. 試験目的に応じて BacT/ALERT システムおよび培養ボトルを検証する場合は、施設の責任の元で実施します。医療製品（ヒト用生物製剤を含む）の発売のために、BacT/ALERT システムおよび培養ボトルを検討しているユーザーはまず、要件に関して該当する規制機関と相談して下さい。
2. 接種された培養ボトルがBacT/ALERT装置に直ちに装填されなかった場合、または装置に入れる前に培養されていた場合は、ボトルに微生物の増殖がないか目視点検して下さい。微生物の増殖が明らかな場合は、ボトルを陽性として処理し、継代培養と塗抹標本で確認します。
3. BacT/ALERTによって陽性と判定されたサンプルには、塗抹標本によって陽性である微生物であっても、通常の継代培養培地では増殖しないものが含まれている可能性があります。これが疑われる場合は、特別の培地にサンプルを継代培養して下さい。また、BacT/ALERT陽性サンプルには、通常の塗抹標本方法では見つからず、検出と回収には塗抹標本および継代培養の両方で特別の培地を必要とする場合があります。
4. *Haemophilus influenzae*、*Neisseria meningitidis*、および*Neisseria gonorrhoeae* の一部の株はSPSに感受性があり、そのため、これらの株による増殖が見られなかったり、CO_2産生が低くなる可能性があります。[7]
5. *Penicillium*、*Aspergillus*、または他の温度感受性の菌類は増殖しない場合もあり、または増殖しても陽性と判断されるだけ十分な CO_2 を産生しない場合があります。
6. 陰性ボトルからのグラム染色標本には、培養培地の成分、染色試薬、油浸オイル、またはスライドガラスから由来する非生菌が含まれることがあります。これらの場合、グラム染色が偽陽性結果を出す場合があります。
7. 本製品は診断用ではありません。本テストの結果は、疾患を診断するため、患者の疾患の治療、軽減、処置、または予防の目的に使用しないで下さい。

抗菌剤の中和

この培地内での抗菌剤の中和は、サンプルのマトリックスおよびサンプル内に存在する微生物の種類とレベルによって変わります。BacT/ALERT *i* FAプラス培養ボトルを日常的に使用する前に、ユーザーは、存在する可能性のあるすべての抗菌剤が効果的に中和されているために各サンプルタイプを検証し、方法の適合性を評価する必要があります。

テストの性能

BacT/ALERT 3D デュアル-T システムおよび USP/EP 無菌試験の手順 [3,5,6]、または FDA 21 CFR 610.12 培地性能試験の手順を比較するために接種試験を実施しました。接種菌は、培養法または製造元で指示された方法で再溶解した BioBall™で調製されました。[8] 各微生物は 1.0 mL の希釈剤で希釈し、ボトルおよびチューブ当たり 100cfu 未満レベルで接種しました。 各微生物は、 22.5°C または 32.5°C にインキュベートされた BacT/ALERT ボトルで、15 回繰り返し試験しました。データは単一の BacT/ALERT 3D デュアル-T システムおよび複数ロットの BacT/ALERT ボトルを使って作成しました。参照文献に示されているように、繰り返し試験のブイヨンチューブと BacT/ ALERT ボトルを共に試験し、20～25°C または 30～35°C で培養しました。[3,5,6] 目視で確認できる増殖があるかどうか、USP/EP ブイヨンチューブを毎日検査しました。USP/EP 培地性能試験の列に示された日数は、すべての繰り返し試験における平均的検出日数（TTD）を示しています。

表A

			検出時間（日数）[a]	
微生物[b]	**接種（CFU/ボトル）**	**培養温度（°C）**	**BacT/ALERT® *i* FAプラス培養ボトル**	**USP/EP培地性能試験**
Aspergillus brasiliensis NCPF 2275 / ATCC® 16404™	34	32.5 22.5	2.0 4.0	4.0
Bacillus subtilis NCTC 10400 / ATCC® 6633™	28	32.5 22.5	0.7 1.8	1.0
Candida albicans NCPF 3179 / ATCC® 10231™	29	32.5 22.5	2.7 2.7	3.8
Escherichia coli NCTC 12923 / ATCC® 8739™	25	32.5	0.6	1.0
Kocuria rhizophila ATCC® 9431™	13	32.5 22.5	1.7 3.6	6.0
Pseudomonas aeruginosa NCTC 12924 / ATCC® 9027™	30	32.5 22.5	0.9 2.1	2.0
Staphylococcus aureus NCTC 10788 / ATCC® 6538™	24	32.5	0.9	2.0
Streptococcus pyogenes ATCC® 19615™	16	32.5	0.7	2.0
Yersinia enterocolitica ATCC® 9610™	13	32.5	1.1	2.0

[a] 繰り返し試験の平均値

[b]1つ以上の菌株保存リファレンスが記されている場合は、性能試験でBioBall™のみが使用されました。
利用可能な場合は、同等のATCC®のリファレンス番号が記載されています。[8]

DISCLAIMER（免責条項）

bioMérieux specifically disclaims all warranties, express or implied, of the suitability of the instrument and disposables (the "System") and disclaims all liability, whether direct, indirect or consequential, for any use other than as set forth in the Instructions for Use (IFU). Customer acknowledges and agrees that use of the System for testing of sample types or for indications other than those described in the IFU is done solely at the Customer's own risk. Customer acknowledges and agrees that it is Customer's sole and exclusive responsibility to validate the System for any such intended use, and to determine whether the System is suitable for that intended use. The performance of any validation studies and the subsequent use of the System based on Customer's validation studies shall be the Customer's sole risk and responsibility.

参考文献

1. Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, DiGuiseppi JL, Willert M, Mirrett S, et al: BacT/ALERT: an Automated Colorimetric Microbial Detection System. *J Clin Micro* 1990;28(7), 1608-1612.
2. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)* Fifth Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.
3. The United States Pharmacopeia, 2009 edition, USP 34 – NF 29, <71>, Sterility Tests.
4. The United States Pharmacopeia, 2009 edition, USP 34 – NF 29, <1227> Validation of Microbial Recovery from Pharmacopeial Articles.
5. European Pharmacopoeia, 7th edition. Chapter 2.6.1. Sterility.
6. European Pharmacopoeia, 7th edition . Chapter 2.6.27. Microbiological Control of Cellular Products.
7. 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.
8. Cundell AM, Chatellier S, Schumann P, et al: Equivalence of Quality Control Strains of Microorganisms Used in the Compendial Microbiological Tests: Are National Culture Collection Strains Identical? *PDA J Pharm Sci and Tech* 2010; 64, 137-155.
9. CLSI/NCCLS. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard*—Third Edition. CLSI/NCCLS document M22-A3. Wayne, PA: NCCLS; 2004.

注文情報

bioMérieux

BacT/ALERT® *i* FAプラス

100個入りケース REF 412990

滅菌済みエアウェイ針/継代培養ユニット

100個入り箱 REF 233766

テクニカルサポートに関しては、米国内の場合、bioMérieuxカスタマーサービス（1-800-634-7656）にお問い合わせ下さい。米国外の場合は、最寄りのbioMérieux代理店にお問い合わせ下さい。

記号一覧

記号	意味
REF	品番
	製造元
	保管温度
	使用期限
LOT	ロット番号
	添付文書を参照
	<n>回分の試験を含む
	天地無用
	再使用禁止
	ラテックスフリー

添付文書はキットに添付されているか、www.biomerieux.com/techlibからダウンロードできます

bioMérieux、青いロゴ、BacT/ALERT、BioBallは、bioMérieuxまたはその子会社の使用済み、申請済み、または登録済みの商標です。
ATCCの商標およびトレードネーム、ATCCカタログ番号のすべては、American Type Culture Collectionの商標です。
CLSIは臨床・検査標準協会の商標です。
その他の名称または商標は、それぞれの所有者の財産です。

©BIOMÉRIEUX 2012

bioMérieux, Inc.
100 Rodolphe Street
Durham, North Carolina 27712 USA
www.biomerieux.com