

この添付文書をよく読んでからご使用ください。

Strep B Carrot Broth™ 「ニッスイ」

B 群レンサ球菌選択増菌・鑑別用培地

本添付文書中に記載されている製品名 Strep B Carrot Broth™ One-Step と本製品 Strep B Carrot Broth™ 「ニッスイ」は同一製品です。

使用目的

Strep B Carrot Broth™ 「ニッスイ」は、妊婦の膣入口部ならびに肛門部から採取した検体から B 群レンサ球菌 (GBS) の検出を目的とした選択増菌・鑑別用培地です。この培地は、妊婦が保菌する GBS の定性的検出の補助として用いられます。

概要と原理

女性の膣入口部ならびに肛門部における GBS の保菌率は約 10～35% です⁽¹⁾。GBS は新生児に対して重篤な疾患と死亡の原因となるため、膣入口部ならびに肛門部からの採取検体から GBS を検出することは新生児 GBS 感染症予防のために重要です。GBS による新生児敗血症および髄膜炎の発生率は地域および人種による差異はありますが、現在のところ出生数 1,000 当たり 0.5～3 例であると報告されています⁽²⁾。早期発見と適切な治療により、現在死亡率は低下傾向にあります⁽³⁾。

米国疾病対策予防センター (The Centers for Disease Control and Prevention; CDC) は、全妊婦に対する膣入口部ならびに肛門部から採取したスワブ検体の GBS スクリーニングについて、妊娠 35～37 週に増菌培地を用い、続いて羊血液寒天培地や他の適切な培地によるサブカルチャーを行うことを推奨しています。Strep B Carrot Broth™ One-Step のような選択増菌・鑑別培地の使用は、CDC の GBS 感染症予防対策の一つです⁽⁴⁾。Strep B Carrot Broth™ One-Step は、従来の培養方法と比較すると、培養時間の短縮と GBS を同定するための追加培養の必要性を減少させることが報告されています^(5-9, 23-26)。

デンプン、ペプトン、血清、および葉酸経路阻害剤のような基質との反応による淡いオレンジ色からオレンジ色さらに赤橙色への色素産生は、β 溶血を示す GBS に特徴的です。1977 年に Islam によってデンプン血清含有寒天培地が最初に紹介されて以来、その原処方にも多くの改良が加えられてきました⁽¹⁰⁾。

Strep B Carrot Broth™ One-Step には、ペプトンやデンプン、緩衝液など、β 溶血を示す GBS の色素検出に必要な成分が含まれています。この培地の利点は、わずか 16 時間で陽性結果が得られ、結果が陰性でない限り血液寒天培地へのサブカルチャーを必要としません。増菌培地を用いた方法は、直接塗抹法よりも保菌された GBS の検出感度が高いことが報告されています。β 溶血を示す GBS は、臨床検体から分離された全 GBS 株の 95.3～99.5% を占めています⁽¹⁸⁻²⁰⁾。Block らと Czerepuszko らによる二つの異なる研究では、Strep B Carrot Broth™ One-Step と PCR 法または PNA FISH™ 法をそれぞれ組み合わせて使用できることが報告されています^(24, 26)。

組成

培地 1,000mL あたりの成分*:

Strep B Carrot Broth™ 「ニッスイ」	
ペプトン	25.0g
デンプン	20.0g
選択剤	12.2g
MOPS (3-モルホリノプロパンスルホン酸)	11.0g
リン酸二ナトリウム	8.5g
デキストロース	2.5g
ピルビン酸ナトリウム	1.0g
硫酸マグネシウム	20.0g

最終 pH 7.0±0.2 (25°C)

*性能基準に合うように成分量を調整または追加

外観

Strep B Carrot Broth™ 「ニッスイ」はやや不透明な無色の液体培地です。培地底部に白い沈殿物がある場合がありますが、培地の性能に問題はありませぬ。

貯法・使用期限

本製品は非常に光に敏感のため、遮光のうえ、高温多湿と凍結を避け、2～8°C で保存してください。また、劣化や汚染の兆候がある場合や使用期限が過ぎている場合は使用しないでください。使用期限が切れた場合や製品が適切に保管されていない場合には、最適な反応性が得られません。製品ラベルに記載の使用期限は、本貯法どおりに保管され未使用の製品に適用されます。

本製品以外に必要な器材および試薬

10μL の定量性マイクロチューブ、検体輸送容器、検体輸送培地、スワブ、インキュベーターなどの標準的な微生物学的消耗品および装置、ならびに必要な応じた血清学および生化学的試薬を使用します。なお、Liquid Amies、Amies Gel、Liquid Stuart's および Stuart's Gel 中に保存された膣・肛門部より採取した検体は、Strep B Carrot Broth™ 「ニッスイ」で使用する適切な検体です。

注意 ; U.S. Federal law restriction については、Strep B Carrot Broth™ 「ニッスイ」の英文 IFU (製品同梱) の Page 3 を参照してください。

検査の手順

検査材料:

本試験の検査材料は、妊婦の膣入口部ならびに肛門部から採取したスワブ検体です。

検体の輸送と保存:

Liquid Amies、Amies gel、Stuart's liquid および Stuart's Gel に保存された膣入口部ならびに肛門部から採取されたスワブ検体を使用して培地の評価を行いました。採取した検体を保存する場合、製造元が検討した結果、ゲル状の輸送培地入りの採取キット (Liquid Amies、Amies Gel、Liquid Stuart's および Stuart's Gel) の場合は 2～8°C で最長 4 日間、フロックスワブ

(TransPRO™ Liquid Amies) で採取した場合は 2～8℃ で最長 5 日間まで、オレンジ色を呈しました。24 時間室温で保存後に輸送した場合、GBS の回収が低下しました。検体は速やかに検査室に直接提出し、極端な温度変化のない環境での保管が必要です。処理が遅れる場合は、適切な輸送培地に検体を接種し、培養するまで冷蔵してください。

検体の収集に関する情報については、記載されている参考文献をご参照ください⁽²⁻⁵⁾。

使用方法：







1. Strep B Carrot Broth™ 「ニッスイ」の使用する本数のみを冷蔵庫から取り出し、室温にもどします。
2. チューブのキャップを外し、検体スワブを挿入します。ゲル状の輸送培地中に保存されたスワブを使用する場合は、液体培地中でスワブを回転させてゲルを乳化させます。振とうや混和、ボルテックス等の操作は避けてください。スワブの軸をチューブの高さより若干低い位置で注意深く切断し、スワブをチューブ内に残します。チューブにキャップをし、**スクリュウをしっかりと閉めてください**。チューブの底部を嫌気の状態とするために、キャップをしっかりと密封することが重要です。
3. 検体を接種したチューブを 35～37℃ で培養します。
4. 16 時間後にチューブを観察し、淡いオレンジ色、オレンジ色または赤橙色への発色または GBS に典型的な球状コロニーの有無を確認します。後述の「結果の解釈」をご参照ください。もしオレンジ色が認められない場合は 24 時間まで継続して培養します。
5. 24 時間後にオレンジ色が認められない場合は羊血液寒天培地でサブカルチャーを行います。羊血液寒天培地を 35～37℃、5～10% CO₂ 環境下で 18～24 時間培養します。GBS に典型的な β 溶血を示すまたは非溶血のコロニーを確認します。GBS が疑われるコロニーについては、群別ラテックス凝集試験を実施してください。
検体中の菌を確実に接種するために 3 秒以上ブロス中でスワブを旋回させれば、スワブをチューブに入れた状態でなくても、培養結果に影響はありません。また、必要に応じて、フロックスワブから輸送培地 30μL を Strep B Carrot Broth™ 「ニッスイ」に分注し培養しても問題ありません。

結果の解釈

Strep B Carrot Broth™ 「ニッスイ」において、β 溶血を示す GBS が増殖すると 16～24 時間以内に淡いオレンジ色、オレンジ色、赤橙色に色調が変化します。このような発色が見られた場合は、検体中の β 溶血を示す GBS の存在を意味します。検体中の GBS 数が少ない場合は、ブロス全体がオレンジ色に変わるのではなく、スワブ上またはブロス内に小さなオレンジ色から赤橙色の球状コロニーまたは縞状の変化が観察され、GBS は陽性と判定します。結果の解釈および色調パターンと GBS 生育の特徴は以下の表に示すとおりです。

24 時間まで培養	結果の解釈/対応
淡いオレンジ色～赤橙色	GBS 陽性
色の変化なし	暫定的陰性/ 弱い β 溶血を示す、または非溶血の GBS の存在を確認するため、羊血液寒天培地へサブカルチャーを実施

陽性の色調パターン

	淡いオレンジ色	オレンジ色	赤橙色
GBS 2+～3+ 陽性発色パターン			
	完全な発色	球状の発色	縞状の発色
GBS コロニー数に応じた発色パターンの特徴	 GBS 2+～3+	 GBS 1+	 GBS 1+ または以下

注意事項

1. 完全に同定するためには、純培養のコロニーに対して生化学的試験や免疫学的試験、または遺伝学的手法や質量分析による試験を実施することを推奨します。
2. 稀に少数の GBS は β 溶血を引き起こさないことがあります。Strep B Carrot Broth™ 「ニッスイ」による GBS 検出は β 溶血を示すコロニーのみです。β 溶血を示す GBS は臨床検体から分離された全 GBS 株の 95.3～99.5% で生じます⁽¹⁸⁻²⁰⁾。このような理由により、*S. agalactiae* ATCC® 13813 は特徴的なオレンジの色素を産生しないので、品質管理の目的には使用しないでください。
3. 使用方法の章で概説したように、ゲル状の輸送培地を適切に乳化しないと、GBS の適切な発色および回収が阻害される場合があります。
4. Strep B Carrot Broth™ 「ニッスイ」の性能は、活性炭を含む輸送スワブでは検証されていません。
5. Strep B Carrot Broth™ 「ニッスイ」の性能は、ヒト DNA の存在下では検証されていません。
6. *E. faecalis* のいくつかの株は、膣入口部ならびに肛門部から採取したスワブ検体中に 10⁵CFU/mL 以上存在した時、GBS 株の培養と回収を抑制することがあります。
7. 陰性と判定されたチューブは、羊血液寒天培地にサブカルチャーする前に転倒混和してください。
8. Strep B Carrot Broth™ 「ニッスイ」は感受性試験には対応していません。非選択培地へのサブカルチャーが必要です。
9. 膣入口部ならびに肛門部から採取したスワブ検体を室温で 24 時間以上保存することは避けてください。発色および GBS の回収に影響を及ぼします。
10. GBS 血清型 VII、VIII および IX は、Strep B Carrot Broth™ 「ニッスイ」で性能が確認されていません。
11. Strep B Carrot Broth™ 「ニッスイ」の臨床的な性能は、臨床試験で実施された以外の輸送スワブでは確認していません。

培地の性能概要

以後の性能試験は本製品の製造元である Hardy Diagnostics にて取得したデータです。以下の「性能上の特性」に示す前向き臨床試験においては、標準法による GBS の全体の陽性率は 21.1% (163/771) であり、そのうちの 4.3% (7/163) は非溶血の GBS でした。

性能上の特性

Strep B Carrot Broth™ One-Step の性能を、膣入口部ならびに肛門部から採取したスワブ検体を用いて、米国の4つの異なる地域の病院で評価しました。Strep B Carrot Broth™ One-Step における GBS の検出状況を LIM Broth による選択的増菌を行った後のルーチン培養と比較しました。一方、Strep B Carrot Broth™ One-Step による増菌培養後、全例を続いて羊血液寒天培地へサブカルチャーを行い、生化学性状試験により同定しました。これらの選択増菌後、それぞれの羊血液寒天培地上で増殖した微生物をグラム染色、カタラーゼ試験、ラテックス凝集反応を用いて GBS の同定を行いました。

884 検体を対象とし、ルーチン培養に対して試験を行い、113 検体は試験の登録基準を満たさなかったため、分析から除外しました。試験を行った残りの有効な 771 検体のうち、35～37°C で 24 時間培養後、Strep B Carrot Broth™ One-Step においてオレンジ色を呈した 143 検体は GBS 陽性であり、LIM Broth を標準法としたルーチン培養（以下、LIM 標準法）により得られた結果と一致しました。その結果を表 1 に示しています。性能評価に使用した検体は、3つの異なるタイプの輸送スワブ/培地、すなわち Liquid Stuart's Sponge (n=284)、Liquid Amies Sponge (n=111) および Liquid Amies ESwab (n=376) で採取・輸送されました。

結果が乖離した分離株を Brucella Broth と共に CryoSavers™ で凍結し、製造元に移送しました。各分離株の同定（β溶血を示す GBS、非溶血の GBS、または GBS 以外の菌）を確認しました。これらのうち陽性の菌株（β溶血を示す GBS または非溶血の GBS）を陰性の膣・肛門部検体中に検出限界濃度（10³CFU/mL）に調整し、Strep B Carrot Broth™ One-Step における発色と、続いて羊血液寒天培地における培養により、GBS の検出率を検証しました。結果は表 1 下部の詳細を参照ください。

LIM 標準法で検出された GBS 陽性検体と、Strep B Carrot Broth™ One-Step による選択増菌後の暫定陰性を羊血液寒天培地にサブカルチャーした結果と比較すると、18 検体が一致しており、合計 161 検体が真の陽性でした。LIM 標準法には培養同定された β溶血を示す GBS および非溶血の GBS が含まれています。結果は表 2 下部の詳細を参照してください。

最小検出感度

Strep B Carrot Broth™ 「ニッスイ」の検出限界（Limit of Detection; LoD）を測定するために、GBS の二つの β溶血を示す ATCC® 株を 10 倍ずつ連続希釈後、培地に接種し、色調変化を評価しました。オレンジ色の陽性反応が認められた最低濃度を LoD と決定し、その Strep B Carrot Broth™ 「ニッスイ」による

表 1. LIM 標準法と Strep B Carrot Broth™ One-Step 発色反応結果との比較

施設	陽性	偽陽性 ¹	偽陰性 ²	陰性	感度 (%)	95% 信頼区間 (CI)		特異性 (%)	95% 信頼区間 (CI)	
1	47	1	4	141	92.2	81.5	96.9	99.3	96.1	99.9
2	35	4	8	136	81.4	67.4	90.3	97.1	92.9	98.9
3	26	0	2	83	92.9	77.4	98.0	100.0	95.6	100.0
4	35	3	6	240	85.4	71.6	93.1	98.8	96.4	99.6
全体	143	8	20	600	87.7 ³	81.8	91.9	98.7 ³	97.4	99.3

¹ LIM 標準法では陰性で Strep B Carrot Broth™ One-Step で陽性が 8 検体認められました。すべての分離株を再試験し、これらの不一致を製造元で確認しました。これらの中で 6 つの分離株は、LIM 標準法では陰性であり、Strep B Carrot Broth™ One-Step において陽性の発色反応を示し、羊血液寒天培地上でサブカルチャーした結果、β溶血を示す GBS であることが確認されました。1 検体は GBS 分離株が凍結されておらず検証できませんでしたが、もう 1 つの検体は羊血液寒天培地上に β溶血を示すコロニーを有していました。しかしながら、*Proteus* が培地上にスウォーミング（遊走）し、β溶血を示すコロニーを分離することができませんでした。

² LIM 標準法では陽性で Strep B Carrot Broth™ One-Step が陰性であった 20 検体について、これらの分離株を再試験し、製造元で確認しました。14 検体は LIM 標準法で β溶血を示す GBS 分離株が培養され、元々の検体では Strep B Carrot Broth™ One-Step の色調反応は陰性でしたが、サブカルチャーで β溶血を示す GBS として確認され、続いて Strep B Carrot Broth™ One-Step 陽性の発色反応が確認されました。2 つの分離株は非常に弱い β溶血を示す GBS として同定されましたが、Strep B Carrot Broth™ One-Step において発色反応を生じませんでした。4 つの分離株は、Strep B Carrot Broth™ One-Step において発色反応を呈しない非溶血の GBS であることが確認されました。

³ 非溶血の GBS は培地の色調変化では検出できず、サブカルチャーが必要であるが、5 検体が非溶血の GBS でした。これらの結果を真の陰性として考慮すると、LIM 標準法による β溶血を示す GBS の回収と Strep B Carrot Broth™ One-Step 発色反応での検出率を比較した時、観察された全体的な感度と特異度の値は、それぞれ 90.4% (141/156) [95% CI:84.7-94.1] と 98.4% (605/615) [95% CI:97.0-99.1] でした。

表 2. LIM 標準法と Strep B Carrot Broth™ One-Step 発色反応および暫定的陰性のサブカルチャーと生化学的性状による検証

施設	陽性	偽陽性 ¹	偽陰性 ²	陰性	感度 (%)	95% 信頼区間 (CI)		特異性 (%)	95% 信頼区間 (CI)	
1	50	0	1	142	98.0	89.7	99.7	100.0	97.4	100.0
2	43	6	0	134	100.0	91.8	100.0	95.7	91.0	98.0
3	28	0	0	83	100.0	87.9	100.0	100.0	95.6	100.0
4	40	5	1	238	97.6	87.4	99.6	97.9	95.3	99.1
全体	161	11	2	597	98.8	95.6	99.7	98.2	96.8	99.0

¹ LIM 標準法では陰性で Strep B Carrot Broth™ One-Step で陽性が 11 検体認められました。すべての分離株を再試験し製造元で検証しました。Strep B Carrot Broth™ One-Step の発色反応に続くサブカルチャーによって回収されたすべての分離株は、GBS であることが確認され、LIM 標準法の偽陰性でした。

² LIM 標準法では陽性で Strep B Carrot Broth™ One-Step が陰性であった 2 検体の不一致について、これらの分離株を表 1 の乖離した検体の検証と同様に製造元で試験しました。LIM 標準法で検出した β溶血を示す GBS 分離株は、確かに β溶血を示す GBS であることが確認されました。

20回の反復試験により確認しました。Strep B Carrot Broth™「ニッスイ」は、*S. agalactiae* ATCC®12386 および *S. agalactiae* ATCC®12403 において、1 スwab検体に 10³CFU/mL 含む(30CFU /チューブ) 場合、検出することができました。

反応性

LoD の濃度 (10³CFU/mL) において、既知の 9 つの血清型のうち 7 つに相当する 54 種類の ATCC® 標準株と臨床 GBS 株が Strep B Carrot Broth™「ニッスイ」で検出されました。本研究で使用した GBS 血清型は、Ia、Ib、II、III、IV、V および VI でした。9 つの既知血清型に未決定の型の 4 株も含めました。GBS すべての β 溶血を示す株は、Strep B Carrot Broth™「ニッスイ」においてオレンジ色を呈し、非溶血の株はオレンジ色を呈しませんでした。羊血液寒天培地へのサブカルチャーによって検出することができました。

特異性

GBS に系統発生的に関連するか、または膣入口部ならびに肛門部より検体採取したスワブに存在する可能性のある 78 種類の非標的菌種 10⁸CFU/mL を添加し、Strep B Carrot Broth™「ニッスイ」で試験を行いました。試験したすべての菌種を以下の表 3 に示します。24 時間培養後、すべての Strep B Carrot Broth™「ニッスイ」について、発色反応を評価しました。Strep B Carrot Broth™「ニッスイ」が発色反応を呈しない時に非標的菌種を増殖させるかどうかを確認するために、すべての陰性検体を非標的菌種の適切な培地にサブカルチャーをしました。試験した全菌種は Strep B Carrot Broth™「ニッスイ」で陰性を示しましたが、増菌培養後のサブカルチャーで非標的菌種の 45/78 (57.7%) が検出されました。

表 3. 分析特異性試験における非標的微生物のリスト

微生物		
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Providencia alcalifaciens</i>
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	<i>Enterococcus flavescens</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Enterococcus raffinosus</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Enterococcus saccharolyticus</i>	<i>Salmonella</i> serotype Typhi
<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>arizonae</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Hafnia alvei</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Klebsiella aerogenes</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Citrobacter braakii</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Lactobacillus leichmannii</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Clostridium novyi</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
<i>Clostridium sporogenes</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	<i>Moraxella cartarrhalis</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Enterococcus cecorum</i>	<i>Pediococcus acidilacti</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
<i>Enterococcus dispar</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>

共存微生物の影響

Strep B Carrot Broth™「ニッスイ」を用いて、低濃度の標的微生物が高濃度の非標的微生物の共存下で回収できるかどうかを検査しました。Strep B Carrot Broth™「ニッスイ」からサブカルチャーして回収したすべての菌を用いました。高濃度 (1.5×10⁸CFU/mL) の非標的微生物を LoD 濃度の各標的微生物と混合し、Strep B Carrot Broth™「ニッスイ」に接種しました。標的微生物が回収されない場合には、回収されるまで非標的微生物の濃度を 10 倍段階希釈しました。Strep B Carrot Broth™「ニッスイ」は標的微生物の発色反応を生じ、本研究で用いた非標的微生物の一つを除き、すべての高濃度 (1.5×10⁸CFU/mL) の存在下で β 溶血および非溶血の GBS 株を回収できました。回収に影響した唯一の微生物は *E. faecalis* ATCC®29212 でした。*E. faecalis* ATCC®29212 の濃度が 10⁵CFU/mL 以下のとき、*S. agalactiae* ATCC®12386 は発色反応を生じました。*E. faecalis* ATCC®29212 の濃度が 10⁶CFU/mL 以下の場合、非溶血の *S. agalactiae* ATCC13813 はサブカルチャーで回収できました。

その他物質による影響

膣入口部ならびに肛門部から採取したスワブ検体に存在する可能性がある、一般的に使用される、あるいは遭遇する内因性および外因性物質について、Strep B Carrot Broth™「ニッスイ」における増菌または発色反応への潜在的影響について検討しました。下表に試験物質を示しています。GBS 陰性検体中の臨床考慮される最も高い濃度では、いずれの物質に対しても影響は認められませんでした。

外因性物質		
区分	物質/供給者	サンプルマトリックス ¹ 中の濃度
下痢止め薬	Pepto-Bismol® (次サリチル酸ビスマス溶液)	1% v/v
	Imodium A-D® (塩酸ロペラミド)	2% w/v
ボディオイル	ニュートロジーナボディオイル	2% v/v
ボディパウダー	ゴールドボンドボディパウダー	1% w/v
避妊ゲル	Options Gynol II® (ノキシノール-9)	0.59% w/v
浣腸液	生理食塩液	0.25% v/v
潤滑ゲル	K-Y® ゼリー	0.57% w/v
経口緩下薬	マグネシアのミルク	1.78% v/v
	Dulcolax® (ピコスルファートナトリウム溶液)	1% w/v
ポリソルベート 80	Tween®80	10% v/v
直腸緩下薬	Fleet® グリセリン坐剤	10% v/v
局所痔核軟膏	Preparation-H®	0.26% w/v
膣用かゆみ止め	Vagisil® クリーム	0.41% w/v
膣用抗真菌薬	Monistat® (硝酸ミコナゾール)	0.29% w/v
	Lotrimin® (クロトリマゾール)	0.29% w/v
内因性物質		
ヒト羊水	Medfusion	2% v/v
ヒト糞便	Central Coast Pathology	2% v/v
ヒト胎便	LEE Biosolutions	2% v/v
ヒト尿	Central Coast Pathology	2% v/v
ヒト全血液	In-house	2% v/v
ムチン	Sigma, M2378	0.05% w/v

¹ 1g=1mL と仮定して C₁V₁=C₂V₂ を用いて計算した膣・肛門部検体に添加した物質質量。

培養条件

推奨される培養時間の範囲を決定するために、35°Cで12～24時間、GBSの9つのβ溶血を示す株および1つの非溶血の株を用いて、LoD付近の濃度でStrep B Carrot Broth™「ニッスイ」の性能を検討しました。増菌後、5%羊血液を含むトリプチックソイアガープレートに2時間ごとにサブカルチャーし、GBSの存在を確認しました。試験したすべてのβ溶血を示すGBSは、16時間までに何らかのオレンジの発色を生じ、20時間までに明確なオレンジ色から赤橙色の発色を認めました。試験した非溶血の株を含むすべての微生物は、12時間のStrep B Carrot Broth™「ニッスイ」のサブカルチャーで回収できました。これらの結果からStrep B Carrot Broth™「ニッスイ」の培養時間の範囲を16～24時間としました。

検体の安定性

いくつかの検体輸送スワブを用いて、Strep B Carrot Broth™「ニッスイ」でGBSを検出するため、保存条件を検討しました。スワブにGBSおよび腔細菌叢に一般的に見られる微生物からなる擬似検体をスパイクし、室温および冷蔵で保存後、0、24、48、72、96および120時間後にStrep B Carrot Broth™「ニッスイ」に接種しました。本試験では8種類のGBS株をLoD付近の擬似検体にスパイクしました。非標的微生物を含む擬似検体は、*E. faecalis*、*E. coli*、*C. albicans* および *L. acidophilus* から構成されていました。本試験では、Liquid Amies（フロックスワブ液体輸送システム）およびHealthlink 移送システムの4つのタイプ（スポンジ状のLiquid Amies および Liquid Stuart、ゲル状のAmies Gel および Stuart Gel を用いた TransPRO™ スワブ）を使用しました。

Strep B Carrot Broth™「ニッスイ」は、GBS株を100%（8/8）検出し、Healthlink スワブのLiquid Amies、Stuart's liquid、Amies Gel、およびStuart's Gelに2～8°Cで最大96時間保存したところ、オレンジ色を呈しました。これらのGBS株は、2～8°Cで120時間まで保存したフロックスワブTransPRO™ Liquid Amiesにおいてもオレンジ色を呈しました。試験したすべての輸送培地は、検体を24時間室温で保存した場合はGBSの検出が低下しました。

再現性

この試験を開始する前に、製造元から提供された分離株12株のパネルを用いて、再現性試験を実施しました。3つの異なる研究施設で5労働日に3回試験を行いました。施設ごとに少なくとも1人の検査員と2人の技師によって行われ、互いの結果はブラインドとしました。再現性パネルの菌株は、Strep B Carrot Broth™「ニッスイ」を用いて、24時間で95%を超える発色結果をもたらしました。試験したすべての非溶血のGBS分離株（100%）を、羊血液寒天培地にサブカルチャーして確認しました。

品質管理

製造元では適切な品質管理用の微生物および品質条件によって当該製品の各ロットを試験し、その結果をCertificates of Analysis (COA) に概説しています。製造元では、以下の微生物を検定に使用しています。

検査微生物	接種方法*	培養			予想される結果	
		温度	大気要求性	時間	結果	反応
<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC®12386	A	35°C	好気性	16～24時間	陽性	生育 明るいオレンジ色 や赤橙色の変化
<i>Streptococcus agalactiae</i> 臨床株	A	35°C	好気性	24時間	陽性	生育 淡いオレンジ色の 変化
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC®19615	A	35°C	好気性	24時間	陽性	生育 色の変化なし
<i>Escherichia coli</i> ATCC®25922	B	35°C	好気性	24時間	陰性	部分的から 完全に抑制： 色の変化なし
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC®12453	B	35°C	好気性	24時間	陰性	部分的から 完全に抑制： 色の変化なし

各ロットの品質管理試験は、製造元のWebサイトから入手できるCOAに記載されています。https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/Hardy_COA.aspx

* 接種方法

方法 A

分離した3～5個のコロニーを釣菌し少量のトリプチックソイブロス（Tryptic Soy Broth; TSB）に懸濁させ、4～5時間培養します。その濁度を0.5 McFarlandに合わせます。その細胞懸濁液をTSBまたは生理食塩水で1:100に希釈します。定量性マイクロチューブで10uLを試験培地に接種し、チューブあたり約10³から10⁴CFUとなります。

方法 B

方法Aと同様に細胞懸濁液(0.5 McFarland相当)を調製します。TSBで1:10に希釈します。方法Aと同様に、定量性マイクロチューブで10uLを試験培地に接種すると、プレートあたり10⁴から10⁵CFUになります。非抑制プレート（例えばTryptic Soy Agar; TSA）に同時に接種して陽性対照とします。

参考文献

1. Regan, J.A., Klebanoff, M.A., Nugent, R.P. 1991. *The epidemiology of group B streptococcal colonization in pregnancy*. Vaginal Infections and Pregnancy Study Group. *Obstet. Gynecol.*; 77:604-10.
2. Schrag, S.J., E.R. Zell, R. Lynfield, et al. 2002. *A population-based comparison of strategies to prevent early-onset group B streptococcal disease in neonates*. *N. Engl. J. Med.* 25;347(4):233-9.
3. Schuchat, A. 2001. *Group B streptococcal disease: from trials and tribulations to triumph and trepidation*. *Clin. Infect. Dis.* 5;33(6):751-6.
4. The Centers for Disease Control and Prevention. 2010. *Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease*. Revised Guidelines. MMWR 59 (RR-10). Internet: <http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/rr/rr5910.pdf>
5. Overman, S.B., D.D. Eley, B.E. Jacobs, J.A. Ribes. 2002. *Evaluation of methods to increase the sensitivity and timeliness of detection of Streptococcus agalactiae in pregnant women*. *J. Clin. Microbiol.*; 40(11):4329-31.
6. de la Rosa, M., M. Perez, C. Carazo, L. Pareja, J.I. Peis and F. Hernandez. 1992. *New Granada Medium for detection and identification of group B streptococci*. *J. Clin. Microbiol.*; 30:1019-1021.
7. Garcia Gil, E., M.C. Rodriguez, R. Bartolome, B. Berjano, L. Cabero and A. Andreu. 1999. *Evaluation of the Granada Agar plate for detection of vaginal and rectal group B streptococci in pregnant women*. *J. Clin. Microbiol.*; 37:2648-2651.
8. Rosa-Fraile, Manuel, J. Rodriguez-Granger, M. Cueto-Lopez, A. Sampedro, E. Biel Gaye, J.M. Haro and A. Andreu. 1999. *Use of Granada Medium to detect group B streptococcal colonization in pregnant women*. *J. Clin. Microbiol.*; 37:2674-2677.
9. Rosa-Fraile, Manuel, A. Sampedro, J. Varela, M. Garcia-Pena, and G. Gimenez-Gallego. 1999. *Identification of a peptide pigment from mammal albumins responsible for enhanced pigment production by group B streptococci*. *Clin. Diag. Lab. Imm.*; 6:425-426.
10. Islam, AKMS. 1977. *Rapid recognition of group B streptococci*. *Lancet* 309(8005):256-257.
11. B. Spellerberg, B. Pohl, G. Haase, S. Martin, J. Weber-Heynemann and R. Luticken. 1999. *Identification of Genetic Determinants for the Hemolytic Activity of Streptococcus agalactiae by ISS1 Transposition*. *J. Bacteriol.*; 181: 3212-3219.
12. Hardy Diagnostics and Fleury Medical Diagnostic Center. 2004. *Evaluation of Three Methods for Recovery of Group B Streptococci*. A poster presentation at American Society for Microbiology 104th General Meeting, New Orleans, LA.
13. National Center for Infectious Diseases, et al. 2002. Revised Guidelines from CDC: *Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease*. MMWR Recommendations and Reports/51(RR11);1-22. Internet: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5111a1.htm>.
14. Rosa-Fraile, M. et al. 2005. *Specimen Storage in Transport Medium and Detection of Group B Streptococci by Culture*. *J. Clin. Microbiol.*; 43:928-930.
15. Schreckenberger et al. 2005. *Evaluation of Strep B Carrot Broth™ and LIM Broth Methods for Recovery of Group B Streptococci (GBS): Results of a Multi-Center Trial*. A poster presentation at American Society for Microbiology, 105th General Meeting, Atlanta, GA.
16. DiPersio, J. 2005. *GBSPreservation by Strep B Carrot Broth™ Inoculated with Patient Specimens*. Unpublished data.
17. Facklam, R. et al. 2006. *Evaluation of Accuracy of Strep B Carrot Broth™ in the Detection of Different Serotypes of Group B Streptococci (GBS)*. A poster presentation at American Society for Microbiology, 106th General Meeting, Orlando, FL.
18. Young, Uh et al. 1998. *Serotypes and Biochemical Reaction Patterns of Group B Streptococci*. *Korean J. Clin. Path.*; 18:386-390.
19. Merrit, K. and Jacobs, N. 1978. *Characterization and Incidence of Pigment Production by Human Clinical Group B Streptococci*. *J. Clin. Microbiol.*; Vol. 8, No. 1, p. 105-107.
20. Noble, M., Bent, J., West, A. 1983. *Detection and identification of group B streptococci by use of pigment production*. *J. Clin. Path.*; 36:350-352.
21. de la Rosa, M., R. Villareal, D. Vega, C. Miranda, and A. Martinezbrocal. 1983. *Granada Medium for Detection and Identification of Group B Streptococci*. *J. Clin. Microbiol.*; Vol. 18, No. 4, p.779-785.
22. Rosa-Fraile, Manuel, J. Rodriguez-Granger, A. Haidour-Benamin, J.M. Cuerva, and A. Sampedro. 2006. *Granadaene: Proposed Structure of the Group B Streptococcus Polyenic Pigment*. *J. Clin. Microbiol.*; Vol. 72, No. 9, p.6367-6370.
23. da Gloria Carvalho, M., R. Facklam, D. Jackson, B. Beall, and L. McGee. 2009. *Evaluation of Three Commercial Broth Media for Pigment Detection and Identification of a Group B Streptococcus (Streptococcus agalactiae)*. *J. Clin. Microbiol.*; Vol. 47, No. 12, p.4161-4163.
24. Block, T., E. Munson, A. Culver, K. Vaughan, and J. Hryciuk. 2008. *Comparison of Carrot Broth- and Selective Todd-Hewitt Broth-Enhanced PCR Protocols for Real-Time Detection of Streptococcus agalactiae in Prenatal Vaginal/Anorectal Specimens*. *J. Clin. Microbiol.*; Vol. 46, No. 11, p.3615-3620.
25. Church, D.L., H. Baxter, T. Lloyd, B. Miller, and S. Elsayed. 2008. *Evaluation of Strep B Carrot Broth™ versus Lim Broth for Detection of Group B Streptococcus Colonization Status of Near-Term Pregnant Women*. *J. Clin. Microbiol.*; Vol. 46, No. 8, p.2780-2782.
26. Czerepuszko, D.J., and M.J. Lewis. 2010. *Comparison of LIMBroth with PNA FISH to Carrot Broth with PNA FISH for Identification of Group B Streptococcus in Prenatal Vaginal/Rectal Specimens*. A poster presentation at American Society for Microbiology, San Diego, CA.

ATCC は、American Type Culture Collection の登録商標です。

PNA FISH は、AdvanDx, Inc., Woburn, MA の商標です。

製造元 : HARDY DIAGNOSTICS
1430 West McCoy Lane, Santa Maria,
CA 93455, USA
Phone: (805) 346-2766 Fax: (805) 346-2760
www.HardyDiagnostics.com

Strep B Carrot Broth™ は、Hardy Diagnostics の商標または登録商標です。
Copyright © Hardy Diagnostics. All rights reserved.
Hardy Diagnostics の製造施設および品質管理システムは、ISO13485 の
認証を受けています。



Copyright © Nissui Pharmaceutical Co., Ltd. All rights reserved.

発売元 :  日水製薬株式会社
〒110-8736 東京都台東区上野 3-24-6
問い合わせ : 03-5846-5707
<https://www.nissui-pharm.co.jp/>