

## A. L. A 塩化物ディスク取扱い説明書

<細菌検査の迅速・簡便なスクリーニング用試薬>

RML 21-115 (25テスト)

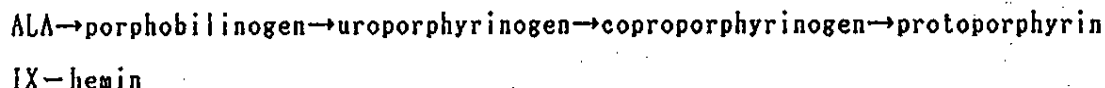
### 用途

本製品はHaemophilus species によって、ポルフィリンを合成するので、このポルフィリンをUV下に検出して、Haemophilus species を鑑別できる。

### 原理と経緯

H. parainfluenza, H. parahemolyticus のような Haemophilus species は delta-Aminolevulinic Acid (A.L.A.・ $\delta$ -アミノレブリン酸)からHemin(ヘミン)前駆体を合成する能力があるので、成長培地中にヘミン(X factor)を必要としない。

この生体合成は次のように行われる。



合成されたポルフィリンは長波長UV(360nm)のもとで蛍光赤色を呈する。

4)

White及びGranickは、Haemophilus influenzae, Haemophilus aegyptius, Haemophilus canis(Hemin Dependent Strains)については、A.L.A.塩化物をヘミンへ転換する能力が全て欠けていて、これらの菌株を成長させるためには、ヘミンに依存性を有することを見いだした。

1)

Bibersteinらは、Haemophilus 株のA.L.A.に対する作用についての研究で、成長過程の中でヘミンを必要としない菌株は A.L.A. をポルフィリンへ転換する能力のあることを見いだした。

### 試薬の組成

A.L.A.塩化物	2.0mM
硫酸マグネシウム	0.8mM
磷酸塩緩衝液	1.0mM
pH 6.9 ±0.2 @25℃	

## 使用上の注意

- (1) 本試薬は、体外診断にのみ使用し、専門の訓練を受けた人が使用する。
- (2) 微生物感染防止の注意が必要であり、検査使用後の材料、容器、培地は滅菌して廃棄する。

## 試薬の保存

- (1) 本製品は直ちに使用が出来るよう調整したものであり、特別な準備を必要としない。
- (2) 本製品は使用時まで本容器中で2～8℃の温度で保存し、凍結してはならない。

## 試薬の劣化

有効期限の過ぎた製品は使用してはならない。

## 検体の採取、保存、及び輸送

- (1) 検査室は(検体の採取に当り)適当な採取容器を準備し、その使用法について十分に習得しておくこと。
- (2) 検体は過度の過熱や冷却を避けて、遅れることなく検査室に輸送すること。  
もし、検査の実施について、何等かの遅れが見込まれる場合は、検体はAmie や Stuart, Cary-Blair, 還元済みの培地、ガス置換したチューブ、TransgrowやJembec システム等のような適当な輸送培地に入れておくこと。

## 臨床検査に係る検体の一般的通則

- (1) 検体の量は試験を実施するのに充分であること。
- (2) 正しく採取され、かつ、感染部位を反映していること。
- (3) 検体の汚染が無いよう十分な注意が払われるべきこと。
- (4) 検体は速やかに、検査室に届けられること。
- (5) 検体はどのような抗生物質であっても、患者に投与される前に採取すべきこと。  
もし、治療が開始している場合には、検体送付の際にその旨を付記すること。  
検体の採取、輸送に関するこれ以上の詳細はASMマニュアル第3版(1980)の“Collection, Handling and Processing of Specimens”の項を参照のこと。

## 操作法

本試薬では通常の臨床細菌検査用器具が必要である。

### <A法>

- (1) A.L.A.ディスクをペトリ皿に置き、40μlの滅菌清浄水加える。この場合ディスクに過剰の水を加えてはならない。もし、過剰に水を加えると、基質に対する接種材

料の割合を薄めることになる。

(2) 検査用の *Haemophilus* の 2 ~ 3 コロニーをディスクに接種する。

ペトリ皿の蓋に水を飽和させたロ紙を置き、ディスクを湿った状態に保ち 1 ~ 6 時間 35℃で培養する。

(3) 暗室で長波長 UV (360nm) を用いて蛍光を観察する。赤ないしオレンジ色の蛍光を呈するときは、陽性とする。

#### < B法 >

(1) A.L.A. ディスクをピンセットでつかみ、A.L.A. ディスクの縁にコロニーを接種する。

(2) 次に、この A.L.A. ディスクを、“黒一本線印”を下にして、発育因子を含まない寒天平板 (agar of original plate) の上にのせる。

ディスクに必要な水分は培地に含まれる水分によって補われる。

(3) 水に浸したロ紙をペトリ皿の蓋に入れ、ディスクを湿った状態を保つようにして 35℃で 1 時間培養し、接種したディスクの縁の蛍光を観察する。陰性の場合には培養、蛍光観察を 6 時間まで行い、結果を出す。

(4) 暗室で長波長 UV を用いて蛍光を観察する。赤ないしは、オレンジ色の蛍光を呈するときは、陽性とする。

#### 結果の解釈

(1) porphyrins, uroporphyrin, coproporphyrin 及び protoporphyrin は長波長 UV のもとで赤い蛍光を発するが、これらの物質はヘミン生体合成過程の中間生成物である。

(2) *Haemophilus parainfluenza* と *Haemophilus parahemolyticus* は、これらの中間生成物について陽性であり、一方 *Haemophilus influenza* と *Haemophilus hemolyticus* は陰性である。

3)

(3) Kilian は UV を用いる蛍光試験が Kovacs 試薬を用いるボルホピリノーゲン試験よりも感度が高いことを見だし、蛍光試験で強い陽性結果が得られるようになった。

(4) 蛍光試験あるいはボルホピリノーゲン試験での陽性は X 因子必要性の無いことを意味する。

#### 品質管理

操作法に記述した方法に従って *H. influenzae* 及び *H. para-influenzae* を接種する。

*H. influenzae* は蛍光を示さないが、*H. parainfluenza* は蛍光を示す。

注：ここに記述した品質管理用の菌は例として又使用上のガイダンスとして掲げたものである。

### 適用の制限

- (1) 24時間以上培養した菌は使用しない。
- (2) Haemophilus以外の菌には使用出来ない。
- (3) 精度の良い結果を得るために多量の菌を接種しなければならない。
- (4) 本製品は基質が感光性であるので遮光しなければならない。

### 参考資料

1. Biberstein, E.L., Mini, P.D. and M.G. Gills, Action of Haemophilus Cultures on a O-amino-levulinic Acid, J. Bact., 86:814-819, 1963.
2. M. Killian, A Taxonomic Study of the Genus Haemophilus with the Proposal of a New Species, Journal of General Microbiology, 1976, 93, 9:62.
3. M. Killian, A Rapid Method for the Differentiation of Haemophilus Strains, Acti. Path. Microbiol., Scand., Sect. B, 82:835-842, 1974.
4. White, D.C. and S. Granick, 1963, Hemin Biosynthesis in Haemophilus, J. Bacteriol., 85:842-850.



## コスモ・バイオ株式会社

〒103 東京都中央区日本橋本町4-13-5  
 業務部 03(3663)0722 臨床検査薬営業部 03(3663)0724  
 機器部 03(3663)0720 FAX 03(3663)3428  
 研究試薬営業部 03(3663)0723  
 FAX 03(3663)0725

(860601)