

製品概要

API® STAPHは、*Staphylococcus*属、*Micrococcus*属および*Kocuria*属を同定するために定性的に標準化されたキットです。プレートにあるマイクロチューブでの生化学試験と専用のデータベースを用いて同定を行います。

菌液の接種・分注は手動、プレートの判定は目視で行い、菌名同定用ソフトウェア (アピウェブ) を用いて同定結果を得ます。

このシステムで同定可能な菌種リストは、アピウェブ内で公開されているテクニカルプロシチャーで閲覧可能です。

原理

API® STAPH プレートは、乾燥基質を含む20個のマイクロチューブで構成されています。API® STAPH 培地で調製した菌液を分注し、乾燥基質を再溶解します。培養中に代謝反応があった場合、自発的に色が変化するか、あるいは添加試薬を加えることによって色が変化します。反応は、判定表に従って判定し、同定は菌名同定用ソフトウェア (アピウェブ) を使用して行います。

キットの構成

25 テスト (バイオメリユー品番 20500)

- API® STAPH プレート(STR) 25ストリップ
- API® STAPH 培地(MED STAPH) 25本
- 培養容器 (蓋・トレイ)(INCUB) 25セット
- 成績記入用紙(SHEET) 25枚
- 使用説明書は当社ウェブサイトからダウンロード可能です。 (<https://resourcecenter.biomerieux.com/>)

組成

プレートの組成

API® STAPH プレートの組成は本使用説明書の判定表に記載の通り。

培地の組成

API® STAPH 培地 6 mL	Yeast extract	0.5 g
	Bactopeptone (bovine/porcine origin)	10 g
	NaCl	5 g
	Trace elements	10 mL
	Demineralized water	to make 1000 mL
	pH: 7.0 - 7.4	

表示量は、使用する原材料の力価に応じて調製されます。

本品を使用の際に必要な試薬および器具

試薬

- ミネラルオイル (バイオメリユー品番 70100)
- マクファアランド スタンダード (バイオメリユー品番 70900) No.0.5
- 添加試薬:
 - VP 1 + VP 2試薬 (バイオメリユー品番 70422)
 - NIT 1 + NIT 2試薬 (バイオメリユー品番 70442)
 - ZYM A試薬 (バイオメリユー品番 70494)
 - ZYM B試薬 (バイオメリユー品番 70493)

器具

- アピピペット (バイオメリュー品番 234-1S) または類似品
- 試験管立て
- アンブルプロテクター
- デンシマット (バイオメリュー品番 99234) (オプション)
- 一般的な微生物試験に必要な器具
- アピウェブ ライセンス (バイオメリュー品番 424275)

使用上の注意

- **研究・産業分野の試験目的のみにご使用ください。診断目的には使用できません。**
- **熟練者をご使用ください。**本製品は熟練者による使用を目的としています。
- 本キットには動物由来製品が含まれます。使用動物の由来や衛生状態は保証されていますが、このことは感染性病原体による製品汚染が全く無いことを完全に保証するものではありません。従ってこれらの製品は感染性を有するものとして扱い、飲込んだり吸い込んだりしないよう、一般的な安全予防策を守って取り扱うことをお勧めします。
- 検査材料、細菌培養、および接種菌液はすべて感染性があるものとして、適切に取り扱う必要があります。検査全体を通じて、細菌を扱う際には無菌操作の実施と一般的な注意を払う必要があります。"NCCLS M29-A, Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue; Approved Guideline - December 1997".を参照して下さい。取り扱い注意事項の追加情報としては、"Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, HHS Publication No. (CDC) 93-8395, 3rd Edition (May 1993)" または、各国で現在使用されている規定に準拠して下さい。
- 使用期限が過ぎた製品は使用しないで下さい。
- 使用前に全ての内容物に破損がないか確認して下さい。
- カップが変形している、乾燥剤の小袋が開いているなど、破損したプレートは使用しないで下さい。
- プレートは、一度のみ使用し、再利用しないで下さい。
- 試薬を室温に戻してから使用して下さい。
- テクニカルブローシャーに記載された性能データは、本書に記載された操作方法に従って試験をして得られたものです。方法の変更や改変は、同定結果に影響する可能性があります。
- 試験結果の解釈は、サンプルの由来、分離菌株のコロニー形態や鏡像、必要に応じて実施された他の検査の結果を考慮して行ってください。
- ZYM B試薬の新しいアンブルを開封したら、品質管理試験を実施することを推奨します。

保管条件

プレートおよび培地はパッケージに記載の有効期限まで2-8℃で保管して下さい。

検体の採取及び前処理

API® STAPHに分離培養前のサンプルを直接接種しないでください。

供する菌株は、一般的な細菌検査法に従って適切な培地で分離培養する必要があります。

使用方法

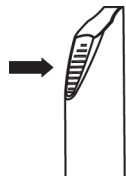
プレートの準備

1. 湿潤環境を保つためにトレイの穴に約5 mLの蒸留水や脱塩水、(またはガス(例えば、Cl₂、CO₂ など)を放出する可能性のある添加物や化学薬品を含まない水)を入れて下さい。
2. トレイの端に検体名を記入して下さい (蓋に検体番号を記載した場合、操作中に置き間違える可能性があります)。
3. 使用直前に包装を開封してプレートを取り出します。
4. プレートを培養容器に入れます

菌液の調製

1. 菌株をコロンビア血液寒天培地や同等の培地にサブカルチャーし、18-24時間、36℃ ± 2℃ で培養して下さい。
2. 同定試験用菌株が *Micrococcaceae* 科の一般的な特徴を有していることを確認します (形態学的検査、グラム染色、カタラーゼ試験)。また単一に分離されていることを確認して下さい。
3. 次の手順に従ってAPI® STAPH 培地のアンプルを開封します。

次の手順に従ってアンプルを注意深く開封します:



- アンプルをアンプルプロテクターに差し込んで下さい。
- アンプルプロテクターに入ったアンプルを片手で垂直位置に持って下さい (白いプラスチックキャップが上になるように立てます)。
- キャップをできる限り下方方向に押し込みます。
- キャップの溝面部分に親指を置き、前方に押し出してアンプルの先端部を折ります。
- アンプルをアンプルプロテクターから取り出し、次の使用のために近くに置きます。
- キャップを注意深く取り除きます。

4. 分離培地からコロニーを釣菌し、API® STAPH 培地に接種します。培養時間が18時間-24時間と短く新鮮なコロニーを使用して下さい。よく懸濁後、マクファーランド スタンダードと比較またはデンシマットを用いて、マクファーランド濁度0.5の均一な菌液を調製します。菌液は、直ちに使用してください。

プレートへの菌液分注

1. アピピペットを使用して、API® STAPH 培地で準備した菌液を分注します。チューブ部分のみに菌液を分注し、カップ部分には分注しないで下さい (チューブ部分に若干少なめに分注して下さい)。チューブ底部に気泡が形成されるのを避けるため、プレートを僅かに前方に傾けて、アピピペットの先をカップの側面に付けて操作して下さい。
2. 嫌気状態にするため、ADHおよびUREの試験項目には、ミネラルオイルを凸面状になるまで重層します。
3. 培養容器に蓋をします。
4. 36℃ ± 2℃、18時間-24時間好気条件で培養します。

判定と解釈

プレートの判定

1. 培養後、次の試験に添加試薬をそれぞれ1滴ずつ添加し、“判定表” およびアピウェブの“色見本”を参照してプレートの読み取りを行います。
 - VP試験: VP 1およびVP 2試薬を1滴ずつ添加し、10分静置します。**紫がかったピンク色**になれば**陽性**と判定します。添加後10分後に**僅かにピンク色**になった場合は、陰性として考慮してください。
 - NIT試験: NIT 1およびNIT 2試薬を1滴ずつ添加します。添加後10分後に**赤色**になれば**陽性**と判定します。
 - PAL試験: ZYM AおよびZYM B試薬 (*) を1滴添加ずつします。添加後10分後に**紫色**になれば**陽性**と判定します。添加試薬の添加後10分後に**ピンクがかったベージュ色**または**極薄い紫色**になった場合には**陰性**と判定します。
(*) ZYM Bのアンプルを新しく開封したら、品質管理試験を実施することを推奨します。
この品質管理試験を実施する場合には、劣化した試薬を排除するために、“品質管理”に記載されている菌株ATCC® 700404™を使用することを推奨します。
2. 全ての結果を成績記入用紙に記入して下さい。

リゾスタフィン耐性試験

当該試験を実施するキットの製造元の使用説明書に従い、リゾスタフィン耐性試験を行ってください。

リゾスタフィン耐性が認められる場合、陽性と判定します。得られた結果は21番目の試験項目として成績記入用紙に記入します。

解釈

プロファイル番号の決定

成績記入用紙上で、各試験項目は3項目ずつのグループに分けられ、各項目に1、2、4の数値が付与されています。グループ毎に陽性反応を示した項目の数値を加算し、7桁のプロファイル番号を算定します。

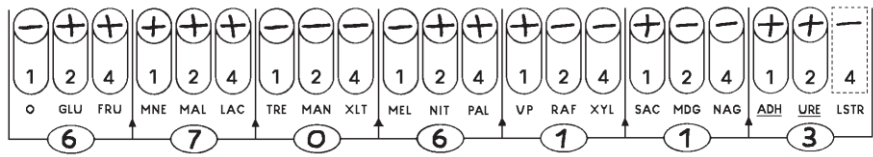
同定

同定は、アピウェブ 菌名同定用ソフトウェアを用いて行います。

- API® システムでは、分析対象の微生物とその生化学反応におけるデータの特徴に基づいた方法を用いて微生物を同定します。一連の様々な生化学基質に対する各菌種の典型的な反応を推定するために、既知の菌株から十分なデータが収集されました。典型的な生化学反応パターンが認められない場合は、可能性のある菌種のリストが表示されるか、その菌株はデータベースには含まれない菌種であるという結果となります。ソフトウェアコメントおよび/または印刷されるレポートには、最終的な同定結果を得るために必要な追加試験項目が記載されます。それでも同定結果が得るのに不十分な場合には、微生物学の参考文献や書籍を参照してください。
- 特定の菌種は、スラッシュライン (混合) 分類群に含まれる場合があります。これは、表示された複数の分類群で、バイオパターンが同じであるために起こります。スラッシュラインに含まれる分類群を判別するために、追加試験を実施する場合があります。

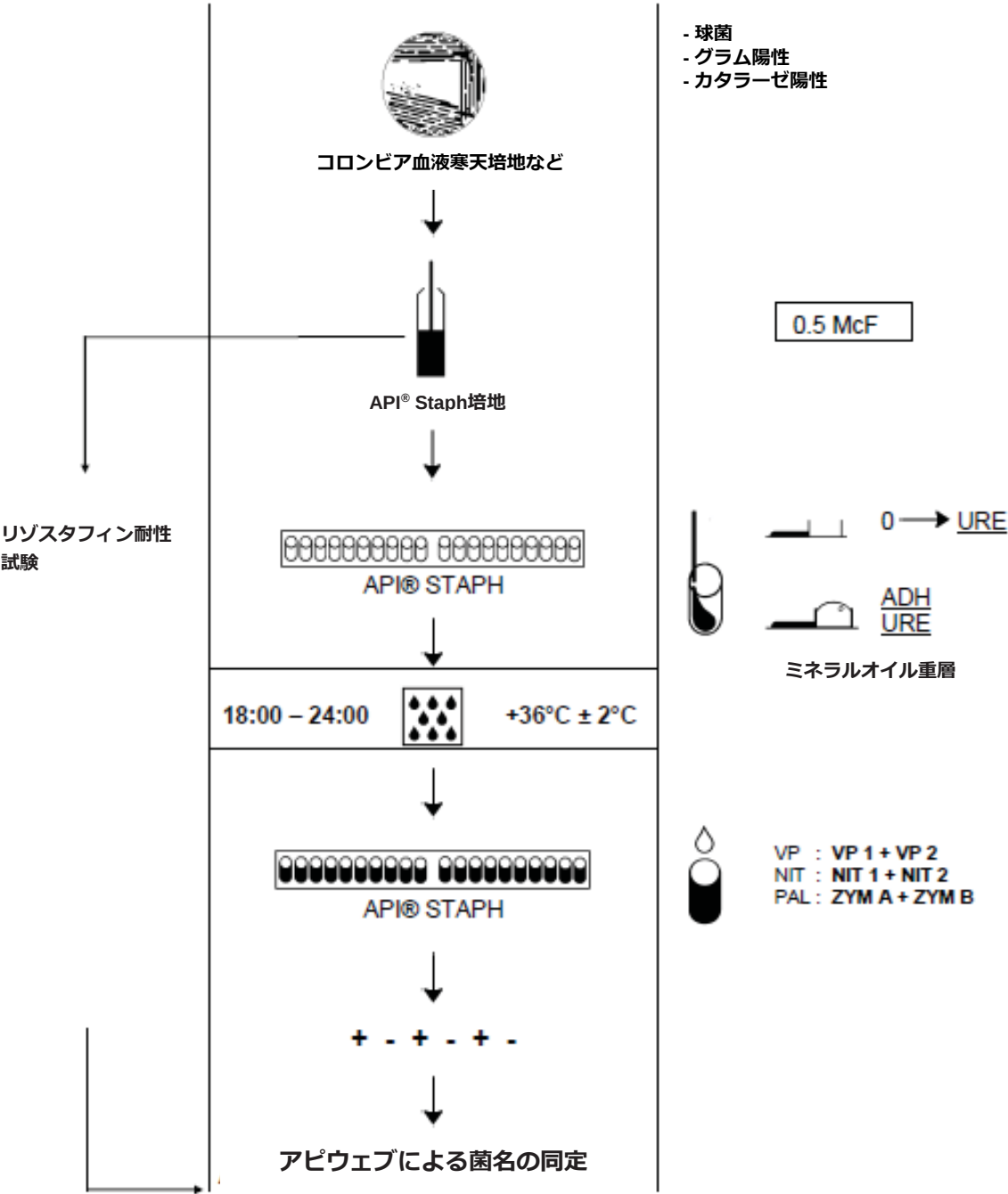
追加試験は、テクニカルプロシャーに記載されています。

以下に、プロファイル番号の例を示します。



6 706 113 *Staphylococcus epidermidis*

使用方法



判定表

試験項目	有効成分	QTY (mg/ カップ)	反応/ 酵素	結果	
				陰性	陽性
0	なし		陰性コントロール	赤色	-
GLU	D-グルコース	1.56	陽性コントロール (D-グルコース)	赤色*	黄色
FRU	D-フルクトース	1.4	酸性化 (D-フルクトース)		
MNE	D-マンノース	1.4	酸性化 (D-マンノース)		
MAL	D-マルトース	1.4	酸性化 (マルトース)		
LAC	D-ラクトース (bovine由来)	1.4	酸性化 (ラクトース)		
TRE	D-トレハロース	1.32	酸性化 (D-トレハロース)		
MAN	D-マンニトール	1.36	酸性化 (D-マンニトール)		
XLT	キシリトール	1.4	酸性化 (キシリトール)		
MEL	D-メリビオース	1.32	酸性化 (D-メリビオース)		
NIT	硝酸カリウム	0.08	硝酸塩の亜硝酸塩への還元	<u>NIT 1 + NIT 2試薬 添加10分後に判定</u> 無色-淡いピンク色 赤色	
PAL	β-ナフチルリン酸 ナトリウム	0.0244	アルカリフォスファターゼ	<u>ZYM A + ZYM B試薬 添加10分後に判定</u> 無色 / ピンク色がかったベージュ / 極薄い紫色 紫色	
VP	ピルビン酸ナトリウム	1.904	アセチルメチルカルビノール 産生 (voges proskauer)	<u>VP 1 + VP 2試薬 添加10分後に判定</u> 無色-薄ピンク色 紫色-ピンク色	
RAF	D-ラフィノース	1.56	酸性化 (ラフィノース)	赤色	黄色
XYL	D-キシロース	1.4	酸性化 (キシロース)		
SAC	D-サッカロース (スクロース)	1.32	酸性化 (サッカロース)		
MDG	α-メチル-D- グルコピラノシド	1.28	酸性化 (α-メチル-D- グルコピラノシド)		
NAG	N-アセチル- D- グルコサミン	1.28	酸性化 (N-アセチル- D-グルコサミン)		
ADH	L-アルギニン	1.904	アルギニンジヒドロラーゼ	黄色	オレンジ色-赤色
URE	尿素	0.76	ウレアーゼ	黄色	赤色-紫色

酸性化の試験項目は、陰性コントロール (0) および陽性コントロール (GLU) と比較して判定してください。

*MNEおよびXLTの前後の項目が陽性かつこれらの項目がオレンジ色である場合は、MNEおよびXLTの結果を陰性と判定してください。

表示量は、使用する原材料の力価に応じて調製されます。

一部のカップには、動物由来の製品、特にペプトンが含まれています。

品質管理

本培地、プレートおよび試薬は、製造の様々な工程において体系的に品質管理が行われています。

合理的品質管理試験は、輸送 / 保管後の本製品の性能を確認するために用いることができます。この合理的品質管理試験は、CLSI® M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systemsに関連・参照しており、使用説明書に記載の使用方法和適合範囲に従って実施します。

この合理的品質管理試験は、*Staphylococcus capitis* ATCC® 35661™を用いてXYLの性能評価を実施することによって実施できます。当社で実施した試験から、XYLが本プレートを評価する上で最も信頼性が高い項目であることが確認されています。本プレートをを用いる際には、*Staphylococcus capitis* ATCC® 35661™を試薬劣化の確認のために使用してください。

総合的品質管理試験を実施する必要がある場合、以下の菌株を用いて各項目の陽性および陰性反応を確認してください。

1. *Staphylococcus capitis* ATCC® 35661™
2. *Staphylococcus xylosus* ATCC® 700404™
3. *Staphylococcus lentus* ATCC® 700403™

	0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL
1	-	+	+	+	-	-	-	V	-	-
2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3	-	+	+	+	+	+	+	+	V	+

	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE
1	+	-	+	-	-	-*	-	-	+	-
2	+	+	V	-	+	+	-	+	-	+
3	+	V	V	+	+	+	+	+	-	-

* 本結果は使用する培地により異なります。

上記の結果は、ヒツジ血液寒天培地で培養したコロニーを用いて得られたプロファイルです。

各国の定める規則に従って、本キット使用者の責任のもとで品質管理を実施して下さい。

品質管理株は、同定性能ではなく、反応性能を考慮して選択されています。

一般に、品質管理株は、単一の分類群、低い識別、または混合分類群として同定されます。

すべての反応が適合の場合においても、ATCC®株の同定結果が誤同定となる可能性があります。

注記: 菌種名は随時変更される可能性があるため、最新の情報については公式の分類法を参照してください。

テクニカルブロシャー：菌名同定用ソフトウェアに関する情報

次の項目は、テクニカルブロシャーに詳しく記載されています。

- 本手法の使用制限
- 同定表 (%)
- 性能

テクニカルブロシャーを参照するには、次の手順に従ってください:

- アピウェブにログイン後
 - 次のマークをクリックします 
 - “テクニカルブロシャー”をクリックします

廃棄処理

使用済みもしくは未使用の試薬の廃棄に関しては他の汚染した廃棄材料と同様、感染性もしくは感染の危険のある製品の取扱方法に従って行ってください。起こりうる危険を適切に考慮の上、各検査室の責任の元、廃棄産物や流出物はそれぞれの危害毒性や度合いを考慮し、地域の適切な規制に従って廃棄してください。

参考文献

1. BALDELLON CH., MEGRAUD F.
Characterization of *Micrococcaceae* Strains Isolated from the Human Urogenital Tract by the Conventional Scheme and a Micromethod. (1985) J. Clin. Microbiol., 21, 3, 474-477.
2. BRUN Y., FLEURETTE J., FOREY F.
Micromethod for Biochemical Identification of Coagulase Negative Staphylococci. (1978) J. Clin. Microbiol., 8, 5, 503-508.
3. GEMMELL C.G., DAWSON J.E.
Identification of Coagulase-Negative Staphylococci with the API STAPH system. (1982) J. Clin. Microbiol., 16, 5, 874-877.
4. GIGER O., CHARILAOU C.C. and CUNDY K.R.
Comparison of the API Staph-Ident and DMS Staph-Trac Systems with Conventional Methods used for the Identification of Coagulase-Negative Staphylococci. (1984) J. Clin. Microbiol., 19, 1, 68-72.
5. KLOOS W.E., TORNABENE T.G., SCHLEIFER K.H.
Isolation and Characterization of Micrococci From Human Skin, Including Two New Species : *Micrococcus lylae* and *Micrococcus kristinae*. (1974) Int. J. Syst. Bacteriol., 24, 1, 79-101.
6. LANGLOIS B.E., HARMON R.J., AKERS K.
Identification of Staphylococcus Species of Bovine Origin with the DMS STAPH-TRAC System. (1984) J. Clin. Microbiol., 20, 2, 227-230.
7. MADDUX R.L., KOEHNE G.
Identification of *Staphylococcus hyicus* with the API STAPH Strip. (1982) J. Clin. Microbiol., 15, 6, 984-986.
8. MURRAY P.R., BARON E.J., JORGENSEN J.H., PFALLER M.A., YOLKEN R.H.
Manual of Clinical Microbiology. 8th Edition. (2003) American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. PASCOLI L., CHIARADIA V., MUCIGNAT G., SANTINI G.
Identification of Staphylococci by the API STAPH, Sceptor, Rosco and Simplified Lyogroup Systems. (1986) Eur. J. Clin. Microbiol., 5, 6, 669-671.
10. RADEBOLD K., ESSERS L.
Evaluation of the API-STAPH Micro-System for Routine Identification of Staphylococci. (1980) Arzt. Lab 26, 236-238.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute, M50-A, Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems; Approved Guideline, Vol. 28 n° 23.

シンボルマーク

記号	内容
	品番
	製造元
	保管温度
	使用期限
	ロット番号
	再利用禁止
	取扱説明書を参照
	<n> 回分の試験を含む
	製造日
	湿潤環境

製品に関する保証

当社は当該製品に関する使用方法、保管条件、使用期限及び注意事項等のすべての手順が、使用説明書に記載されているとおりに遵守されている限り、用途に明示した性能を保証します。

上記した内容を逸脱し使用された場合は、当社は当該製品の商品性及び、特性の目的または使用の適合性に関して保証いたしません。またこのような場合、試薬、ソフトウェア、機器及び消耗品に関する一切の責任も負いません。

改訂履歴**改訂カテゴリ**

N/A	変更なし(初版)
Correction	誤植の修正
Technical Changes	製品に関連した情報の追加、変更およびあるいは削除
Administrative	技術関連ではない変更

注記: 軽微な誤記、言い回し、フォーマットの変更は改訂履歴には含まれません。

変更日	文書番号	カテゴリ	内容
2017/03	07468M	Administrative	シンボルマーク 改訂履歴 製品に関する保証 使用方法
		Technical Change	キットの構成 判定及び解釈 判定表
2019/05	07468N	Administrative	bioMérieuxテンプレートとスタイルガイドに従い、RECAST規制に準拠するための改善
2021/04	07468O	Correction	品質管理

BIOMERIEUX, the BIOMERIEUX logo, ATB, API, APIWEB and ATB NEW are used, pending, and/or registered trademarks belonging to bioMérieux, or one of its subsidiaries, or one of its companies.

CLSI is a trademark belonging to Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

The ATCC trademark and trade name and any and all ATCC catalog numbers are trademarks of the American Type Culture Collection.

Any other name or trademark is the property of its respective owner.

BIOMÉRIEUX**バイオメリュー・ジャパン株式会社**

東京都港区赤坂二丁目17番7号

赤坂溜池タワー2階

Tel: 03-6834-2666 / Fax: 03-6834-2667

<https://www.biomerieux-industry.com/ja>

bioMérieux SA

376 Chemin de l'Orme

69280 Marcy-l'Etoile - France

RCS LYON 673 620 399

Tel. 33 (0)4 78 87 20 00

Fax 33 (0)4 78 87 20 90

www.biomerieux.com

bioMérieux SA – Japanese 9