

体外診断用医薬品

**2017年10月改訂(第6版)
*2015年1月改訂(第5版)

クラスⅢ細菌検査用シリーズ
グルコース非発酵性グラム陰性桿菌キット

ラップ アイディー キット ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌同定用キット
Rap ID NF Plus SYSTEM

【全般的な注意】

- ・ 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に行ってください。
- ・ 本品は、体外診断用のみ使用し、他の目的では使用しないでください。
- ・ 本添付文書の記載に従って、使用すること。記載された操作方法及び使用方法以外での使用については、結果の信頼性を保証できません。

【形状、構造等(キットの構成)】

- NF プラスパネル
- NF プラス試薬
- ナイトレイト A 液
- スポットインドール
- イノキュレーション液(菌浮遊液調整用)

パネル(1パネル中)

ウェル	成分	分量
1	アルギニン	50 µg
2	アリファティックチオール	10 µg
3	トリグリセライド	50 µg
4	p-ニトロフェニルリン酸塩	5 µg
	プロリン-β-ナフチルアミド	5 µg
5	p-ニトロフェニル-N-アセチルβ-D-グルコサミド	5 µg
	ピロリジン-β-ナフチルアミド	5 µg
6	p-ニトロフェニル-α-D-グルコシド	5 µg
	γ-グルタミル-β-ナフチルアミド	5 µg
7	p-ニトロフェニル-β-D-グルコシド	5 µg
	トリプトファン-β-ナフチルアミド	5 µg
8	o-ニトロフェニル-β-D-ガラクトシド	5 µg
	N-ベンジル-アルギニン-β-ナフチルアミド	5 µg
9	尿素	12.5 µg
	トリプトファン	20 µg
10	グルコース	50 µg
	硝酸ナトリウム	50 µg

【使用目的】

ブドウ糖非発酵及び一部のブドウ糖発酵グラム陰性桿菌の同定検査
本品で同定できる菌種は以下の通りです

- | | |
|--------------------------------------|---|
| <i>Acinetobacter spp.</i> | <i>Actinobacillus ureae</i> |
| ・ <i>Aeromonas spp.</i> | |
| <i>Aero. caviae</i> | <i>Aero. hydrophila</i> |
| <i>Aero. veronii-biogroup sobria</i> | <i>Aero. veronii-biogroup veronii</i> |
| <i>Agrobacterium radiobacter</i> | |
| ・ <i>Alcaligenes spp.</i> | |
| <i>Alc. faecalis</i> | <i>Alc. piechaudii</i> |
| <i>Alc. xylosoxidans</i> | |
| <i>Bergeyella zoohelcum</i> | <i>Bordetella bronchiseptica</i> |
| ・ <i>Brevundimonas spp.</i> | |
| <i>Brev. diminuta</i> | <i>Brev. vesicularis</i> |
| ・ <i>Burkholderia spp.</i> | |
| <i>Burk. gladioli</i> | <i>Burk. cepacia</i> |
| <i>Burk. pseudomallei</i> | |
| CDC IVC-2 | <i>CDC NO-1</i> |
| <i>Chromobacterium violaceum</i> | <i>Elizabethkingia meningoseptica</i> * |
| ・ <i>Comamonas spp.</i> | |
| <i>Com. acidovorans</i> | <i>Com. testosteroni</i> |
| ・ <i>Flavobacterium spp.</i> | |
| <i>Flavo. breve</i> | <i>Flavo. IIb</i> |
| <i>Flavo. Ili</i> | |
| ・ <i>Kingella spp.</i> | |
| <i>King. dentrificans</i> | <i>King. kingae</i> |

Methylobacterium spp.

- ・ *Moraxella*
- Morax. atlantae*
- Morax. lacunata*
- Morax. nonliquefaciens*

- Morax. catarrhalis*
- Morax. lincolni*
- Morax. osloensis*

Myroides odoratus **

Neisseria weaveri/elongata

Ochrobactrum anthropi(Vd)

・ *Oligella spp.*

Olig. Ureolytica(IVe)

Olig. urethralis

・ *Pasteurella spp.*

Past. aerogenes

Past. haemolytica

Past. multocida

Past. pneumotropica

Plesiomonas shigelloides

・ *Pseudomonas spp.*

Ps. aeruginosa

Ps. alcaligenes

Ps. fluorescens/putida

Ps. luteola

Ps. Mendocina(Vb-2)

Ps. oryzihabitans

Ps. pseudoalcaligenes

Ps. Stutzeri(Vb-1)

Pseudomonas group 2

Psychrobacter phenylpyruvicus

Ralstonia pickettii **

Roseomonas spp.

Shewanella putrefaciens

・ *Sphingobacterium spp.*

Sph. multivorum(IIK-2)

Sph. spiritivorum(IIK-3)

Sphingomonas paucimobilis

Stenotrophomonas maltophilia

Suttonella indologenes

・ *Vibrio spp.*

V. alginolyticus

V. cholerae

V. damsela

V. fluvialis/furnissii

V. hollisae

V. mimicus

V. parahaemolyticus

V. vulnificus

Weeksella Virosa(IIf)

【測定原理】

本品は、NF プラスパネル、NF プラス試薬、ナイトレイト A 液、スポットインドール、イノキュレーション液よりなります。NF プラスパネルの各反応槽にはおのおの加水分解反応等の基質が含まれており、これらの基質と被検菌株との生化学反応により生じる色調の変化を観察することにより被検菌株を同定します。

《各反応槽の原理》

○一次反応

ウェル	テストコード	反応原理
1	ADH	アミノ酸の加水分解により生成する塩基性物質により pH が上昇し、指示薬が呈色
2	TRD	基質の代謝により pH が下がり、指示薬が呈色
3	EST	脂質の加水分解による脂肪酸の遊離により、pH が下がり、指示薬が呈色
4	PHS	無色のアリル配糖体またはアリル置換リン酸エステルの酵素的加水分解により、黄色の p-、または o-ニトロフェノールが遊離
5	NAG	
6	aGLU	
7	BGLU	
8	ONPG	
9	URE	尿素的加水分解により pH が上昇し、指示薬が呈色
10	GLU	炭水化物の代謝により pH が下がり、指示薬が呈色

○二次反応

ウェル	テストコード	反応原理
4	PRO	アリルアミド基の酵素的加水分解により遊離するβ-ナフチルアミドをNFプラス試薬により検出
5	PYR	
6	GGT	
7	TRY	
8	BANA	
9	IND	トリプトファンの利用により生成するインドールをスポットインドールにより検出
10	NO3	硝酸イオンの利用により生じる亜硝酸塩をナイトレイトA液により検出

【操作上の注意】

- 被検菌株は純培養でなければなりません。検査前にグラム染色やオキシダーゼテストにより確認を行ってください。
- オキシダーゼテストの結果は18番目のテストとして取り扱ってください。
- 検体に応じ、最適な培地を選択してください。推奨培地は以下の通りです。
 ≪非選択培地≫
 5~7%ヒツジ血液加トリプチケースソイ寒天培地
 トリプチケースソイ寒天培地
 チョコレート寒天培地
 マッコンキー寒天培地
 ニュートリエント寒天培地
- 18~24時間培養後、検査を行ってください。成長の遅い菌種では48時間培養後、検査を行ってください。
- 被検菌株をイノキュレーション液に懸濁させ、マックファーランド#1以上（ただし、マックファーランド#3以下）の濁度となるよう調整してください。
- 菌液は、調整後15分以内にNFプラスパネルに接種してください。
- 純培養の確認と追加テストの必要性を考慮し、菌液を摂取し、寒天培地等で18~24時間、培養することが推奨されます。
- 使用したピペット等は感染性廃棄物として、所定の処置後、廃棄してください。

【用法・用量（操作方法）】

●使用前の準備

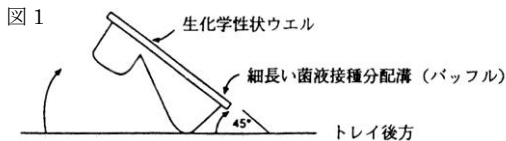
- 冷所で保存してあるパネルと試薬を必要な分だけ取り出し、室温に戻します。室温に戻したパネルは当日中に使用してください。
**
- 以下の物品はキットに含まれていませんが、本品の使用の際に必要です。
滅菌綿棒、又は菌液調整用ループ
マックファーランド#1 基準液
パストゥールピペット
インキュベーター（35~37℃）
NFプラスコードコンパディウム

●菌液の調整

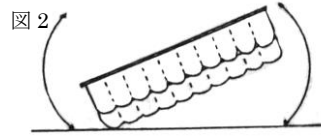
- 操作上の注意を参考にし、イノキュレーション液1mlに菌体を懸濁させます。

●パネルへの注入

- NFプラスパネルの菌液注入口（Peel to Inoculate と印字のある部分）のシールを少しはがします。
- 調整した菌液全量をピペットにてパネルの注入口より分注します。
- パネルを後方に45°傾けます（図1）。



- この状態で菌液が均等に各ウェルに分配されるよう、左右にゆっくりと3、4回揺らします（図2）。



- パネルを水平に戻し、そのまま静かに手前に傾けて菌液を均等に各反応槽に分配します（図3）。分配に失敗したパネルは使用できません。また、このとき、菌液が天井部のシールカバーに触れないよう、静かに移してください。

図3



- 反応槽に気泡が生じたものは、パネルを静かに打ちつけ、気泡を除いてください。

●インキュベーション

- パネルをキットに付属しているインキュベーショントレイに移し、好気的条件下、35~37℃で4時間培養します。

●一次反応

- 培養後のパネルを白紙の上に置き、パネルをしっかり手で押さえ、反応槽のシールを左の方へ剥がします。
- 補助試薬を一切加えずに、次項に従い判定します。
- 反応槽10の色調をレポートフォームに記録します。

●二次反応

- 反応槽4~8にNFプラス試薬を、反応槽9にスポットインドールを、反応槽10にナイトレイトA液をそれぞれ2滴、滴下してください。
- 滴下後30秒~3分の間に、次項に従い判定してください。

【測定結果の判定法】

- 以下の呈色反応表を参考に各反応槽の陽性・陰性を判定し、レポートフォームに記載します。
- 陽性と判定された反応槽に割り当てられた数値（1,2,4）をブロック毎に合算し、6桁のマイクロコードを作成します。
- 作成した6桁のマイクロコードの結果を踏まえて、コードブックにより菌名を検索します。

●呈色反応表

○一次反応

ウェル	テストコード	判定		コメント
		陽性	陰性	
1	ADH	赤	黄色 又は 薄橙色	明確な赤のみ陽性と判定。
2	TRD	黄又は 黄橙色	赤又は 橙色	ウェル全体が黄又は黄橙色に呈色するとき陽性と判定。ウェルの上層に赤色が認められるときは、ゆっくりと攪拌し、アウトライン上を判定。
3	EST	黄色、 黄橙色 又は 淡橙色	赤又は 暗橙色	ウェル全体が黄、黄橙色または薄橙色に呈色するとき陽性と判定。ウェルの上層に赤色が認められるときは、ゆっくりと攪拌し、アウトライン上を判定。
4	PHS	黄	透明 又は 黄褐色	濃淡に関係なくウェル全体が黄色に呈色したときは陽性と判定。
5	NAG			
6	aGLU			
7	BGLU			
8	ONPG			

9	URE	赤	黄 黄橙色 又は 橙色	ウェル全体が赤色に呈色した ときのみ陽性と判定。
10	GLU	黄	青 青緑 又は 緑	ウェル全体が黄色に呈色した ときのみ陽性と判定。

○二次反応

ウェル	テスト コード	判定		コメント
		陽性	陰性	
4	PRO	紫、赤紫、 赤暗い橙 又は暗い ピンク	透明、黄 褐色、薄 橙色又は 非常に薄 いピンク	明確な呈色のみ陽性と判 定。薄いものは陰性と判 定
5	PYR			
6	GGT			
7	TRY			
8	BANA			
9	IND	茶又は黒	橙又は赤	わずかでも茶又は黒に呈 色したものは陽性と判 定。その他の色は全て陰 性と判定
10	NO3	赤又は橙	透明、黄 褐色又は 黄	わずかでも赤またはオレ ンジに呈色したものは陽 性と判定

【性能】

- ・ 感度・特異性試験
下記、標準菌を検体に用法及び用量に従い試験を行うとき、結果として導かれる同定菌名が標準菌と一致し、かつ同定確率は80%以上であること。
《標準菌》
ATCC 13253 (*Flavobacterium meningosepticum*)
- ・ 同時再現性試験
感度・特異性と同様に操作する試験を同一ロットにつき3回以上行うとき、同一の結果を示すこと。

【使用上又は取扱い上の注意】

試験に使用したインキュレーション液チューブ、パネル、反応槽カバーシール、その他汚染した物品は、使用后オートクレーブ等で滅菌後廃棄してください。

本品は、細菌同定用の試薬ですが、同種中の菌株の中でもバリエーションが存在します。分離菌の最終同定には、検体の由来、空気への耐性、細胞の形態又は種々の培地上のコロニーの特徴等を考慮に入れる必要があります。

【貯蔵方法、有効期間】

貯蔵方法：2～8℃
有効期間：9ヶ月

【包装】

20テスト分/箱

【主要文献】

1. Arai, T. M., M. Otake, S. Enomoto, S. Goto, and S. Kuwahara, 1970. Determination of *Pseudomonas aeruginosa* by biochemical test methods. II. Acylamidase test, a modified biochemical test for the identification of *Pseudomonas aeruginosa*. Jpn. J. Microbiol. 14:279-284.
2. Baumann, P., M. Doudoroff, and R. Y. Stanier, 1968. A study of the *Moraxella* group II. Oxidase-negative species (genus *Acinetobacter*). J. Bacteriol. 95:1520-1541.
3. Blazevic, D. J. and G. M. Ederer, 1975. Principles of biochemical tests in diagnostic microbiology. John Wiley & Sons, New York, NY.
4. Cerney, G., 1978. Studies on the aminopeptidase test for the distinction of Gram-negative from Gram-positive bacteria. Europ. J. Appl. Microbiol. 5:113-122.
5. Clark, W.A., D. G. Hollis, R. E. Weaver, and P. Riley, 1984. The identification of unusual pathogenic Gram-negative bacteria, Centers for Disease Control. Atlanta, GA.
6. Cowan, S. T. 1974. Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria, 2nd Edition, Cambridge

University Press, London.

7. Eriqez, L. A., A. P. Jones, and N. E. Hodinka. 1991. Enzymatic test system for the rapid identification of non-fermentative and selected glucose-fermenting Gram-negative rods. Abstract C217. Annual Meeting, American Society for Microbiology, Washington, DC.
8. Finegold, S. M., W. J. Martin, and E. G. Scott. 1978. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 5th Ed. C. V. Mosby Co., St. Louis Mo.
9. Gilardi, G. L. 1972. Infrequently encountered *Pseudomonas* species causing infections in humans. Ann. Intern. Med. 72:211-215.
10. Gilardi, G. L. 1976. *Pseudomonas* species in clinical microbiology. Mt. Sinai J. Med. 43:710-726
11. Gilardi, G. L., S. Hirschi, and M. Mandel. 1975. Characteristics of yellow-pigmented nonfermentative bacilli (groups Ve-1 and Ve-2) encountered in clinical bacteriology. J. Clin. Microbiol. 1:384-389.
12. Gilardi, G. L. 1978. Glucose nonfermenting Gram-negative bacteria in clinical microbiology. CRC Press, West Palm Beach, FL.
13. Guilbert, G. G. 1970. Determination of Enzymes. In: Methods of Enzymatic Analysis, p. 43-51. Pergamon Press, New York, NY.
14. Henriksen, S. D. 1973. *Moraxella*, *Acinetobacter*, and the *Mimeia*, Bacteriol. Rev. 37:522-561.
15. Holt, J., N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Stanley, and S. T. Williams. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th ed. Williams and Wilkins, Baltimore, MD.
16. Hugh, R. 1970. A practical approach to the identification of certain nonfermentative Gram-negative rods encountered in clinical specimens. J. Conf. Public Health Lab. Directors. 28:168-187.
17. Humble, W. M., A. King, and I. Phillips. 1977. Api Zym. A single rapid system for the detection of bacterial enzymes. J. Clin. Pathol. 30:275-277.
18. Kilian, M. and P. Bulow. 1976. Rapid diagnosis of Enterobacteriaceae. I. Detection of bacterial glycosidases. Acta Pathol. Microbiol. Scan. Sect. B. 84:245-251.
19. Kiska, D. L., A. Kerr, M. C. Jones, J. A. Caracciolo, B. Eskridge, M. Jordan, S. Miller, D. Hughes, N. King, and P. H. Gilligan. 1995. Evaluation of four commercial identification systems for glucose non-fermenters from cystic fibrosis patients. Abstract C312. Annual Meeting, American Society for Microbiology, Washington, DC.
20. Kiska, D. L., A. Kerr, M. C. Jones, J. A. Caracciolo, B. Eskridge, M. Jordan, S. Miller, D. Hughes, N. King, and P. H. Gilligan. 1996. Accuracy of four commercial systems for the identification of *Burkholderia cepacia* and other Gram-negative nonfermenting bacilli recovered from patients with cystic fibrosis. J. Clinical Microbiol. 34:886-891.
21. Kitch, T., M. R. Jacobs, and P. C. Appelbaum. 1991. Evaluation of the 4hr NF Plus method for identification of 86 Gram-negative non-fermentative rods. Abstract C215. Annual Meeting, American Society for Microbiology, Washington, DC.
22. Kitch, T., M. R. Jacobs, and P. C. Appelbaum. 1992. Evaluation of the 4-hour RapID NF Plus method for identification of 345 Gram-negative non-fermentative rods. J. Clin. Microbiol. 30:1267-1270.
23. MacFadden, J. F. 1980. Biochemical tests for identification of medical bacteria, 2nd Ed. Williams and Wilkins, Baltimore, MD.
24. Mulczyk, M. and A. Szewczuk. 1970. Pyrrolidonyl peptidase in bacteria. A new colorimetric test for differentiation of Enterobacteriaceae. J. Gen. Microbiol. 61:9-13.
25. Murray, P.R., E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Tenover, Eds. 1995. Manual of Clinical Microbiology, 6th Edition, American Society for Microbiology, Washington, DC.
26. Nagatsu, T., M. Hino, H. Fuyamada, T. Hayakawa, S. Sakakibara, Y. Nakagawa, and T. Takemoto. 1976. New chromogenic substrates for x-prolyl dipeptidyl-aminopeptidase. Anal. Biochem. 74:466-476.
27. Nord, C. E., A.A. Linberg, and A. Dahlback. 1975. Four hour tests for the identification of Enterobacteriaceae. Med. Microbiol. Immunol. 161:231-238.
28. Peterson, E. H. and E. J. Hsu. 1978. Rapid detection of

- Gram-negative bacteria by aminopeptidase profiles. *J. Food Sci.* 43:1853:1856.
29. Pickett, J. M., D. G. Hollis, and E. J. Bottone. 1991. Miscellaneous Gram-negative bacilli, p. 410-428. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 5th Ed. American Society for Microbiology, Washington, DC.
30. Stanier, R.Y., N. J. Palleroni, and M. Doudoroff. 1966. The aerobic pseudomonads: a taxonomic study. *J. Gen. Microbiol.* 43:159-271.
31. Watson, R. R. 1976. Substrate specificities of aminopeptidases. A specific method for microbial identification. *Methods In Microbiol.* 9:1-14.
32. Westley, J. R., P. J. Anderson, V. A. Close, B. Halpern, and E. M. Lederberg. 1967. Aminopeptidase profiles of various bacteria. *Appl. Microbiol.* 15:822-825

【問い合わせ先】**

株式会社 アムコ

東京都千代田区飯田橋 4-8-7

TEL : 03-3265-4261 FAX : 03-3265-2796

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

●製造販売業者

株式会社 アムコ

東京都千代田区飯田橋 4-8-7

TEL : 03-3265-4261

●外国製造業者

業者名 : リーメル社 (Remel. Inc.)

国 名 : 米国