

※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
培養同定・一般細菌キット

ラップ アイディー キット コリネバクテリア及び同属細菌同定用キット

Rap ID CB 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下さい。
- ・ 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）】

- CB Plus パネル
- CB Plus 試薬
- ナイトレイト A 液
- ナイトレイト B 液
- 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	グルコース	100 µg
2	スクロース	100 µg
3	リボース	100 µg
4	マルトース	100 µg
5	p-ニトロフェニル-α-D-グルコシド	5 µg
6	p-ニトロフェニル-β-D-グルコシド	5 µg
7	p-ニトロフェニル-N-アセチル-β-D-グルコサミンド*	5 µg
8	p-ニトロフェニル-グルコシド	5 µg
9	p-ニトロフェニル-β-D-ガラクトシド	5 µg
10	p-ニトロフェニルリン酸塩	10 µg
11	トリプチリン	100 µg
12	プロリン-β-ナフチルアミド	2.5 µg
13	トリプトファン-β-ナフチルアミド	2.5 µg
14	ピロリジン-β-ナフチルアミン	2.5 µg
15	ロイシル-グリシン-β-ナフチルアミド	2.5 µg
16	ロイシン-β-ナフチルアミド	2.5 µg
17	尿素	60 µg
18	硝酸カリウム	30 µg

【使用目的】

糞便・尿・消化液・穿刺液におけるコリネバクテリア及び同属細菌の同定検査

本品で同定できる菌種は以下の通りです。

- ・ *Corynebacterium* spp.
 - C. accolens*
 - C. afermentans ss lip*
 - C. argentoratense*
 - C. bovis*
 - C. diphtheriae*
 - C. jeikeium (JK)*
 - C. matruchotii*
 - C. propinquum (ANF3)*
 - C. pseudotuberculosis*
 - C. striatum*
 - C. urealyticum (D-2)*
- CDC Group F-1
- CDC Group II
 - ・ *Listeria* spp.
 - L. grayi/murrayi*
 - L. ivanovii*
 - L. seeligeri*
 - ・ *Actinomyces* spp.
 - A. israelii*
- ・ *C. afermentans ss aferm*
- C. amycolatum*
- C. auris*
- C. cystitidis*
- C. glucuronolyticum*
- C. kutscheri*
- C. minutissimum*
- C. pseudodiphtheriticum*
- C. renale*
- C. ulcerans*
- C. xerosis*

CDC Group G (G/LD)

- L. innocua*
- L. monocytogenes*
- L. welshimeri*

A. naeslundii

- A. neuii (Group I)*
- A. viscosus*
- ・ *Arcanobacterium* spp.
 - Ar. bernardiae* *
 - Ar. pyogenes*
- Bifidobacterium* spp. (Gp E)
- Brevibacterium* spp. (Gp B)
- Dermabacter hominis*
- Exiguobacterium acetylicum*
- Microbacterium* spp.
- Rhodococcus equi*
- Turicella otitidis*
- A. odontolyticus*
- Ar. haemolyticum*
- Brevibacterium casei*
- Cellulomonas* spp. (Gp A3/A4)
- Erysipelothrix rhusiopathiae*
- Leifsonia aquatic* *
- Oerskovia* spp.
- Rothia* spp.

【測定原理】

本品は、CB Plus パネル、CB Plus 試薬、ナイトレイト A 液、ナイトレイト B 液、イノキュレーション液よりなります。CB Plus 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	GLU	炭水化物の代謝で生成される酸性物質により pH がさがり、指示薬が呈色
2	SUC	
3	RIB	
4	MAL	
5	aGLU	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遊離した黄色の o-又は p-ニトロフェノールを検出
6	BGLU	
7	NAG	
8	GLY1	
9	ONPG	
10	PHS	
11	EST	
12	PRO	アリルアミド基の酵素的加水分解により遊離した β-ナフチルアミドを CB Plus 試薬により検出
13	TRY	
14	PYR	
15	LGLY	
16	LEU	
17	URE	尿素的加水分解により塩基性物質が生じ、pH が上昇、指示薬が呈色
18	NIT	硝酸塩の利用により亜硝酸塩が生成され、ナイトレイト A、B 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カタラーゼ試験により確認を行ってください。
- ・ 本品では、有芽胞グラム陽性桿菌を試験できません。
- ・ 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。
 - 5～7%ヒツジ血液加トリプチケースソイ寒天培地
 - コロンビア培地
 - ブレインハートインフュージョン基礎培地
- ・ 72 時間以内培養の菌株を検体に使用してください。十分に発育している菌株は 24 時間培養のものを、非常に発育の遅い菌株は 72 時間培養のものをを使用することを推奨します。
- ・ 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 #4 と同程度の濁度となるよう、調整してください。
- ・ 菌液は、調整後 15 分以内に CB Plus 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 24～48 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

1. 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。

＊ ＊

2. 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#4 基準液

パスツールピペット

インキュベータ（35～37℃）

CB Plus コードコンベンディウム

3%過酸化水素溶液（カタラーゼ試験用）

●前試験

1. 被検菌株のカタラーゼ試験を行います。カタラーゼ試験の結果はパネルリッドの Catalase 欄に記録します。

2. 被検菌株の色素産生を観察します。菌株が黄色の色素を産生した場合、パネルリッドの Yellow Pigment 欄に陽性（+）と記録します。その他の色の色素を産生していた場合、全て陰性です。

●菌液の調整

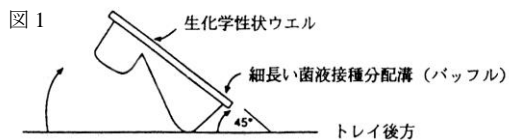
1. 操作上の注意を参考にし、イノキュレーション液 2ml に菌体を懸濁させます。

●パネルへの注入

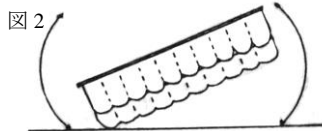
1. CB Plus パネルの菌液注入口（Peel to Inoculate と印字のある部分）のシールを少しはがします。

2. 1. で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。

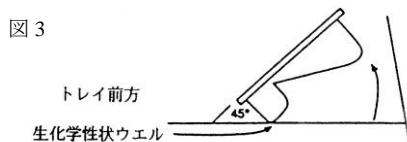
3. パネルを後方に 45° 傾けます（図 1）。



4. 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）。



5. 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。



6. 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

1. 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、好气的条件下、35～37℃で 4 時間培養します。ただし、6 時間は越えないようにしてください。

●一次反応

1. 培養後のパネルを白紙の上に置き、パネルをしっかりと手で押さえ、反応槽のシールを左の方へ剥がします。

2. 反応槽 12～16 に CB Plus 試薬を 2 滴ずつ滴下します。

3. 反応槽 18 にナイトレイト A 液、ナイトレイト B 液を 1 滴ずつ滴下します。

4. その他の槽には補助試薬を加えず、次項に従い、判定してください。

い。判定は、補助試薬添加後、30 秒～1 分の間に行います。

【測定結果の判定法】

1. 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。

2. CAT と PIG は、前試験で行ったカタラーゼ試験と色素産生の結果をレポートフォームに記載します。

3. 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、7桁のマイクロコードを作成します。

4. 作成した 7 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	GLU	黄、金、 又は薄い 黄橙色	赤又は暗 橙色	明確な黄、金または黄橙色のみ陽性と判定。その他の色調は陰性
2	SUC			
3	RIB			
4	MAL			
5	α GLU	黄	透明、又は 黄褐色	濃淡に関係なく黄の呈色は全て陽性と判定。反応槽ごとに色調が異なることもある。他の反応槽の色調と比べて判定しないこと。
6	β GLU			
7	NAG			
8	GLY1			
9	ONPG			
10	PHS			
11	EST	黄又は 黄橙色	赤又は 橙色	明確な黄及び黄橙色のみ陽性と判定。
12	PRO	紫、赤又は 暗いピンク	黄又は薄 橙色	指定された色調の呈色のみ陽性と判定。非常に薄い色調は陰性と判定
13	TRY			
14	PYR			
15	LGLY			
16	LEU			
17	URE	赤又は暗 い赤橙色	黄又は 橙色	明確な赤又は暗赤橙色のみ陽性と判定
18	NIT	赤又は ピンク	透明又は 非常に薄 いピンク	明確な赤、ピンク色のみ陽性と判定

【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すること。

《標準菌》

ATCC 10701 (*Corynebacterium pseudodiphtheriticum*)

ATCC 842 (*Bifidobacterium polymixa*)

ATCC 19411 (*Actinomyces pyogenes*)

ATCC 43734 (*Corynebacterium jeikeium*)

ATCC 690 (*Corynebacterium striatum*)

・ 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】

試験に使用したイノ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：12 ヶ月

【包装】

20 テスト分/箱

【主要文献】

1. Baron, E. J., L. R. Peterson and S. M. Finegold, Eds. 1994. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, 9th ed. Mosby, St. Louis.
2. Cartwright, C. P., F. Stock, P. M. Kruczak-Filipov and V. J. Gill. 1993. Rapid method for presumptive identification of *Corynebacterium jeikeium*. J. Clin. Microbiol. 31:3320-3322.
3. Coyle, M. B. and B. A. Lipsky. 1990. Coryneform bacteria in infectious disease: clinical and laboratory aspects. Clin. Microbiol. Rev. 3:227-246.
4. Eriquez, L. A. and J. K. Marler. 1996. Rapid differentiation and identification of corynebacteria and other selected gram-positive bacilli using single-substrate enzymatic tests. Abstract C-393, Abstracts of the 96th General Meeting of the American Society for Microbiology, Washington, DC.
5. Freney, J., et. al. 1991. Evaluation of API Coryne in comparison with conventional methods for identifying Coryneform bacteria. J. Clin. Microbiol, 29:38-41.
7. Funke, G., A. Von Graevenitz, J. E. Clarridge III, and K. A. Bernard. 1997. Clinical Microbiology of Coryneform Bacteria, Clin. Microbiol. Rev. 10:125-159.
8. Gavin, S. E., et. al. 1992. Evaluation of the Rapid CORYNE identification system for *Corynebacterium* species and other coryneforms. J. Clin. Microbiol. 30:1692-1695.
9. George, M. J. 1995. Clinical significance and characterization of *Corynebacterium* species. Clin. Microbiol. Newsletter. 17:177-179.
10. Grasmick, A. E. and D. A. Bruckner. 1987. Comparison of rapid identification methods and conventional substrates for identification of *Corynebacterium* Group JK isolates. J. Clin. Microbiol. 25:1111-1112.
11. Guilbert, G. G. 1970. Determination of Enzymes. In: Methods of Enzymatic Analysis, pp. 43-51. Pergamon Press, New York, NY.
12. Hollis, D. G., F. O. Sottnek, W. J. Brown and R. E. Weaver. 1980. Use of the rapid fermentation test in determining carbohydrate reactions of fastidious bacteria in clinical laboratories. J. Clin. Microbiol. 12:620-623.
13. Hudspeth, M. et. al. 1997. Premarket evaluation prototype panel for identification of *Corynebacterium* species and Gram-positive rods. Abstract C459, Abstracts of the 97th General Meeting, American Society for Microbiology, Washington DC.
14. Isenberg, H. D. 1992. Clinical Microbiology Procedures Handbook. Vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, DC.
16. MacFaddin, J. F. 1980. Biochemical Tests for identification of Medical Bacteria. 2nd Ed. Williams and Wilkins, Baltimore, MD.
17. Murray, P. E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover and R. H. Tenover, Eds. 1995. Manual of Clinical Microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington DC.
18. O'Leary, W. M. 1989. Practical Handbook of Microbiology. CRC Press, Boca Raton, FL.
19. Sneath, P. H., N. S. Mair, M. E. Sharpe and J. G. Holt, Eds. 1986. Bergy's Manual of Systematic Bacteriology. Williams and Wilkins, Baltimore, MD.
20. Watson, R. R. 1976. Substrate specificities of aminopeptidases: a specific method for microbial differentiation, pp. 1-14. In: Methods in microbiology, vol. 9. J. R. Norris and D. W. Ribbons, Eds. Academic Press, New York, NY.
21. Watson, R. R. 1976. Substrate specificities of aminopeptidases. A specific method for microbial identification. Methods in Microbiol. 9:1-14

【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