

体外診断用医薬品

**2017年10月改訂(第7版)
*2015年1月改訂(第6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 ナイセリア・ヘモフィルス菌同定用キット
Rap ID NH 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)】

- NHパネル
- ナイトレイト A 液
- ナイトレイト B 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	ブロリン-p-ニトロアニリド	5 µg
2	γ-グルタミル-p-ニトロアニリド	6 µg
3	α-ニトロフェニル-β,D-ガラクトシド	12.5 µg
4	グルコース	100 µg
5	スクロース	100 µg
6	トリブチリン	25 µg
7	レサズリン	5 µg
8	p-ニトロフェニルリン酸塩	5 µg
	亜硝酸ナトリウム	60 µg
9	オルニチン	40 µg
	硝酸ナトリウム	15 µg
10	尿素	18 µg
	トリプトファン	8 µg

【使用目的】

ナイセリア・ヘモフィルス菌の同定検査
本品で同定できる菌種は以下の通りです。

- ・ *Aggregatibacter spp.* *
- ・ *Agg. Actinomycetemcomitans* *
- ・ *Agg. Aphrophilus* *
- ・ *Cardiobacterium hominis* *Eikenella corrodens*
- ・ *Gardnerella vaginalis*
- ・ *Haemophilus spp.*
- ・ *H. ducreyi* *H. haemolyticus*
- ・ *H. influenzae* *H. parahaemolyticus* *
- ・ *H. parainfluenzae* *H. segnis*
- ・ *Kingella spp.*
- ・ *K. denitrificans* *K. kingae*
- ・ *M. Groups Moraxella*
- ・ *M. atlantae* *M. catarrhalis*
- ・ *M. lacunata* *M. nonliquefaciens*
- ・ *M. osloensis*
- ・ *Neisseria spp.*
- ・ *N. cinerea* *N. elongata ss nitroreducens* *
- ・ *N. flavescens* *N. gonorrhoeae*
- ・ *N. lactamica* *N. meningitidis*
- ・ *N. mucosa* *N. sicca/subflava*
- ・ *N. weaveri/elongate* *
- ・ *Oligella spp.*
- ・ *O. urethralis* *O. ureolytica*
- ・ *Pasteurella multocida* *Psychrobacter phenylpyruvicus* *
- ・ *Suttonella indologenes* *

【測定原理】

本品は、NHパネル、ナイトレイト A 液、ナイトレイト B 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。NH 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	PRO	無色のアミド化合物の酵素的加水分解による黄色の p-ニトロフェノールの遊離
2	GGT	
3	ONPG	無色の配糖体の加水分解による黄色の α-ニトロフェノールの遊離
4	GLU	糖の代謝による生成物で pH が下がり、指示薬が呈色
5	SUC	
6	EST	脂肪酸エステルの加水分解による脂肪酸の遊離。これにより pH が下がり、指示薬が呈色
7	RES	レサズリンが還元され、蛍光のレゾルフィンが生成
8	PO4	無色のリン酸エステルの加水分解による黄色の p-ニトロフェノールの遊離
9	ORN	オルニチンの利用により塩基性物質が生じ、指示薬が呈色
10	URE	尿素の加水分解により、塩基性物質が生じ、指示薬が呈色

○二次反応

ウェル	テストコード	反応原理
8 注)	NO2	還元により消費される亜硝酸塩の残存をナイトレイト A、B 液により検出
9	NO3	硝酸塩の還元によって生じる亜硝酸塩をナイトレイト A、B 液により検出
10	IND	トリプトファンの代謝により生成されるインドールをスポットインドールにより検出

注) 上咽頭、鼻咽頭から分離した *Neisseria gonorrhoeae* と思われる菌種によるテストで、PRO のみ陽性で、その他の結果が陰性だった場合のみ行います。このとき NO2 が陰性であると、*Neisseria gonorrhoeae* と判定されます。

【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。
- ・ 本品で同定される球桿菌は双球菌と類似しているため、形状・グラム染色による特徴を注意深く観察してください。
- ・ 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。
《選択培地》
セア-マーチン寒天培地
マーチン-ルイス寒天培地
ニューヨークシティ寒天培地
《非選択培地》
チョコレート寒天培地
普通寒天培地
5~7%ヒツジ血液加トリブチケースソイ寒天培地
トリブチケースソイ寒天培地
- ・ 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 #3 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 NH 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

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。

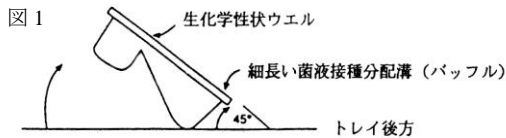
滅菌綿棒、又は菌液調整用ルーブ
マックファーランド#3 基準液
パスツールピペット
インキュベーター（35～37℃）
NH コードコンペンディウム

●菌液の調整

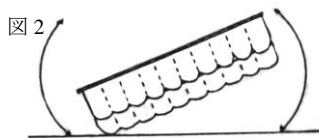
1. 操作上の注意を参考にし、イノキュレーション液 1ml に菌体を懸濁させます。

●パネルへの注入

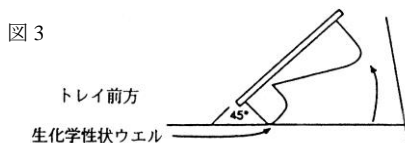
1. NH パネルの菌液注入口（Peel to Inoculate と印字のある部分）のシールを少しはがします。
2. 1. で調整した菌液全量をピペットにてパネルの注入口より分注します。
3. パネルを後方に 45° 傾けます（図 1）。



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、好氣的条件下、35～37℃で 1 時間（注）または 4 時間培養します。注）生殖器由来の *Gonococci* 同定で選択培地使用の場合

●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. 補助試薬を一切加えずに、次項に従い、判定してください。

●二次反応

1. 反応槽 9 にナイトレイト A 液を 2 滴、さらにナイトレイト B 液を 2 滴加えます。
2. 反応槽 10 にスポットインドールを 2 滴加えます。
3. 1 分間放置後、5 分以内に次項を参考に判定を行ってください。
4. 反応槽 8 については、測定原理の注意事項に従い行います。

【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. 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、4 桁のマイクロコードを作成します。
3. 作成した 4 桁のマイクロコード、グラム染色、オキシダーゼテスト、NO₂ テストの結果を踏まえて、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	PRO	黄色	透明又は黄褐色	わずかでも黄色の呈色が見られたときは陽性と判定
2	GGT			
3	ONPG			
4	GLU	黄又は黄褐色	赤又は橙色	明確な黄色又は黄褐色の呈色のみ陽性と判定
5	SUC			
6	EST	黄又は黄褐色	赤又は橙色	ウェル全体が黄又は黄褐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
7	RES			
8	PO4	黄色	透明、黄褐色又は薄黄色	明確な黄色のみ陽性と判定
9	ORN	赤、赤紫色又は紫	黄色又は橙色	赤～紫色の呈色のみ陽性と判定
10	URE			

○二次反応

ウェル	テストコード*	判定		コメント
		陽性	陰性	
8	NO ₂	透明又は黄褐色	ピンク又は赤色	わずかでも赤又はピンクに呈色したものは陰性
9	NO ₃	赤又は橙色	黄色	わずかでも赤又は橙色に呈色したものは陽性
10	IND	茶又は黒	赤又は橙色	わずかでも茶又は黒に呈色したものは陽性

【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 9913 (*Neisseria sicca*)

・ 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：6 ヶ月

【包装】

20 テスト分/箱

【主要文献】

1. Balows, A., W.J. Hausler, K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy, eds. 1991. Manual of Clinical Microbiology, 5th Edition, American Society for Microbiology, Washington, DC.
2. Barnes, E.H. and J.F. Morris. 1957. A quantitative study on the phosphatase activity of *Micrococcus pyogenes*. *J. Bacteriol.* 73:100-104.
3. Blazevic, D.J. and G.M. Ederer. 1975. Principles of biochemical tests in diagnostic microbiology. John Wiley & Sons, New York, NY.
4. Bovre, K. 1984. Genus II. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1 N.R. Krieg and J.G. Holt, Eds. pp 296-303, Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
5. Boyce, J. M. and E.B. Mitchell, Jr. 1985. Difficulties in differentiating *Neisseria cinerea* from *Neisseria gonorrhoeae* in rapid systems used for identifying pathogenic *Neisseria* species. *J. Clin. Microbiol.* 22:731-734.
6. Doern, G.V. and S.A. Morse. 1980. *Branhamella* (*Neisseria*) *catarrhalis*: criteria for laboratory identification. *J. Clin. Microbiol.* 11:193-195.
7. Doern, G.V. and K.C. Chapin, 1987. Determination of biotypes of *Haemophilus influenzae* and *Haemophilus parainfluenzae*. A comparison of methods and a description of a new biotype (VIII) of *H. influenzae*. *Diag. Microbiol. Inf. Dis.* 7:269-272.
8. Dolter, J., L. Bryant, and J.M. Janda. 1990. Evaluation of five rapid systems for the identification of *Neisseria gonorrhoeae*. *Diag. Microbiol. Inf. Dis.* 13; 265-276.
9. Eriquez, L.A. and N.E. Hodinka. 1983. The development of a test system for the rapid differentiation of *Neisseria* and *Haemophilus*. *J. Clin. Microbiol.* 18:1032-1039.
10. Guilbert, G.G. 1970. Determination of Enzymes. In: Methods of Enzymatic Analysis, p.43-51. Pergamon Press, New York, NY.
11. Hoke, C. and N.A. Vedros. 1982. Taxonomy of the *Neisseriae*; fatty acid analysis, aminopeptidase activity, and pigment extraction. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 32:51-56.
12. Kellog, D.S. Jr., K.K. Holmes, and G.A. Hill. 1976. Laboratory diagnosis of gonorrhoeae. CUMITECH 4 (S. Marcus and J.C. Sherris, Coord. eds.) American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Killian, M. 1985. *Haemophilus*. In: Manual of Clinical Microbiology, 4th Edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
14. Killian, M. and E.L. Biberstein. 1984. Genus II. *Haemophilus*. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1. N. R. Krieg and J. G. Holt, Eds. pp. 558-570, Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
15. Knapp, J.S., P.A. Totten, M.H. Mulks, and B.H. Minshew. 1984. Characterization of *Neisseria cinerea*, a nonpathogenic species isolated on Martin-Lewis medium selective for pathogenic *Neisseria* spp. *J. Clin. Microbiol.* 19:63-67.
16. Morrello, J.A., W.M. Janda, and M. Bonhoff. 1985. *Neisseria* and *Branhamella*. In: Manual of Clinical Microbiology, 4th Edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
17. T. Nagatsu, 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.
18. Peterson, E.H. and E.J. Hsu, 1978. Rapid detection of Gram-negative bacteria by aminopeptidase profiles. *J. Food Sci.* 43:1853-1856.
19. Phillips, J.E. 1984. Genus III. *Actinobacillus*. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1. N.R. Krieg and J.G. Holt, Eds. pp. 570-575. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
20. Rosalki, S.B. 1975. Gamma glutamyl transpeptidase. In: Advances in clinical chemistry: 17. (O. Bacanski and A.L. Latner, Eds.) Academic Press, New York, NY.
21. Riou, J.Y. 1977. Diagnostic bacteriologique des especes des genres *Neisseria* et *Branhamella*. *Ann. Bull. Clin.* 35:73-87.
22. Snell, J.J.S. 1984. Genus IV. *Kingella*. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol. 1. N.R. Krieg and J.G. Holt, Eds. pp. 307-310. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
23. Vedros, N.A. 1984. Genus I. *Neisseria*. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1. N.R. Krieg and J.G. Holt, Eds. pp. 290-296. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
24. Watson, R. R. 1976. Substrate specificities of aminopeptidases. A specific method for microbial identification. *Methods in Microbiol.* 9:1-14.
25. Westly, 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