

**製品概要**

API® 20 STREPはレンサ球菌および腸球菌に関連する菌種を同定するために、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ブローシャーで閲覧可能です。

**原理**

API® 20 STREP 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® GP 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、自発的に色が変わるか、あるいは添加試薬を加えることによって色が変わります。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 20600)

- API® 20 STREP プレート 25ストリップ
- API® GP培地 25本
- 培養容器 (蓋・トレイ) 25セット
- 成績記入用紙 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® 20 STREP 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® GP 培地 2 mL	L-cystine	0.5 g
	Tryptone (bovine/porcine origin)	20 g
	Sodium chloride	5 g
	Sodium sulfite	0.5 g
	Phenol red	0.17 g
	Deminerlized water	to make 1000 mL
	pH: 7.4 - 7.6	

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**

- サスペンションメディウム 2 mL (バイオメリユー品番 70700)
- 添加試薬:
  - NIN試薬 (バイオメリユー品番 70491)
  - VP 1 + VP 2試薬 (バイオメリユー品番 70422)
  - 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)
- ミネラルオイル (バイオメリユー品番 70100)
- マクファーランド スタンダード (バイオメリユー品番 70900) No.4
- コロンビア5%ヒツジ血液寒天培地 (バイオメリユー品番 43041)
- シェドラーブイオン (オプション)

## 器具

- ・滅菌綿棒 (ピオメリュー品番 70610)
- ・アピピペット (ピオメリュー品番 234-1S) または類似品
- ・試験管立て
- ・アンプルプロテクター
- ・嫌気ジャー
- ・デンシマツト (ピオメリュー品番 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 (ピオメリュー品番 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。
- ・テクニカルプロシヤ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検鏡像、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試薬の新しいアンプルを開封したら、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℃で保存して下さい。

## 検体の採取および前処理

API® 20 STREPに分離培養前のサンプルを直接接種しないでください。

試験に供する菌株は、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

### コロニーの選択

試験を行う菌株が *Streptococcaceae* 科の一般的な特徴を有していることを確認します (グラム染色、カタラーゼ試験)。

1. 溶血性を21番目の試験項目として成績記入用紙に記録します。
2. よく分離したコロニーを釣菌し (注記1)、0.3 mL滅菌精製水に接種してよく懸濁します。
3. この菌液をコロンビアヒツジ血液寒天培地 (注記2) に流し入れるか滅菌綿棒で培地の表面全体に塗り広げて下さい。
4. 嫌気条件下で36℃ ± 2℃、24時間 (± 2時間) で培養して下さい。

**注記1:** β-溶血性のレンサ球菌および腸球菌は24時間培養後大きなコロニーを形成します。それ以外のレンサ球菌は48時間培養後、釣菌して下さい。栄養要求性の厳しい菌 (48時間培養後小さなコロニーを形成する) については、以下の方法に従って下さい。:

1. 1 mLのシエドラブイオンに菌を接種して36℃ ± 2℃で5時間培養します。
2. 菌液全量をコロンビアヒツジ血液寒天培地に流し入れます。過剰な菌液は取り除いて下さい。
3. 嫌気条件下で36℃ ± 2℃、18-24時間培養します。

**注記2:** 肺炎球菌が疑われる場合は十分な菌量を得るために、寒天培地を2枚培養して下さい。

**注記3:** 他の互換性のある培地も製造元の使用説明書に従って使用可能です。

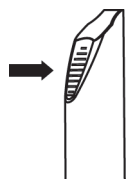
## プレートの準備

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、Cl<sub>2</sub>、CO<sub>2</sub> 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. 次の手順に従ってサスペンションメディウム (2 mL) のアンプルを開封します。または添加物を含まない滅菌水 2 mLが入った試験管を使用することもできます。

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。

2. 滅菌綿棒を使用し、前培養した培地から全てのコロニーを掻きとり、サスペンションメディウム (2 mL) のアンプルに接種します。
3. 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4以上の濃い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. プレートの前半 (VPからADH) まで菌液を分注して下さい。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、アピペットの先をカップの側面に付けて操作して下さい。:
  - VPからLAPまで: それぞれのカップ部分に約100 µLずつ分注します。
  - ADH: チューブ部分のみに分注します。
2. プレートの残り半分 (RIBからGLYG) :
  - 使用説明書の“菌液の調製”に従ってAPI® GP 培地のアンプルを開封し、菌液の残り (0.5 mL)をAPI® GP 培地に接種した後、よく懸濁します。
  - この新しく調製した菌液をチューブ部分のみに分注します。
3. 下線の付いた (ADHからGLYG) の嫌気条件の試験項目には、凸面状になるまでミネラルオイルを重層します。
4. 培養容器に蓋をします。
5. 好気条件下で36°C ± 2°Cで培養します。4時間-4時間半培養後に一次判定をし、必要に応じて24時間 (± 2 時間) 後に二次判定をしてください。

## 判定および解釈

### プレートの判定

培養4時間後:

1. 添加試薬の添加:

- VP試験: VP 1試薬とVP 2試薬をそれぞれ1滴ずつ添加します。
- HIP試験: NIN試薬を2滴添加します。
- PYRA, αGAL, βGUR, βGAL, PALおよびLAP試験: ZYM A試薬およびZYM B試薬をそれぞれ1滴ずつ添加します(\*)。

(\*) ZYM Bの新しいアンプルを開封したら品質管理試験を実施して下さい。

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® 700400™を使用することを推奨します。

2. 10分間後、“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。必要に応じて、PYRAからLAPチューブの過剰な試薬を脱色するために、プレートを強い光 (1000Wランプ、10分間) に暴露して下さい。

### 3. 以下の場合には、再培養が必要になります:

- low discrimination;
- unacceptable または doubtful profile;
- 以下の注釈が示されたプロファイルの場合:

ID NOT VALID BEFORE 24 HOURS OF INCUBATION

これらの場合、24時間後に ESC, ADH および RIB から GLYG の各項目について再度読み取りを行って下さい。

**酵素反応** (HIP, PYRA, αGAL, βGUR, βGAL, PAL, LAP) および VP については **再度読み取りは行わないで下さい**。

### 4. 全ての結果を成績記入用紙に記入して下さい。

## 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。

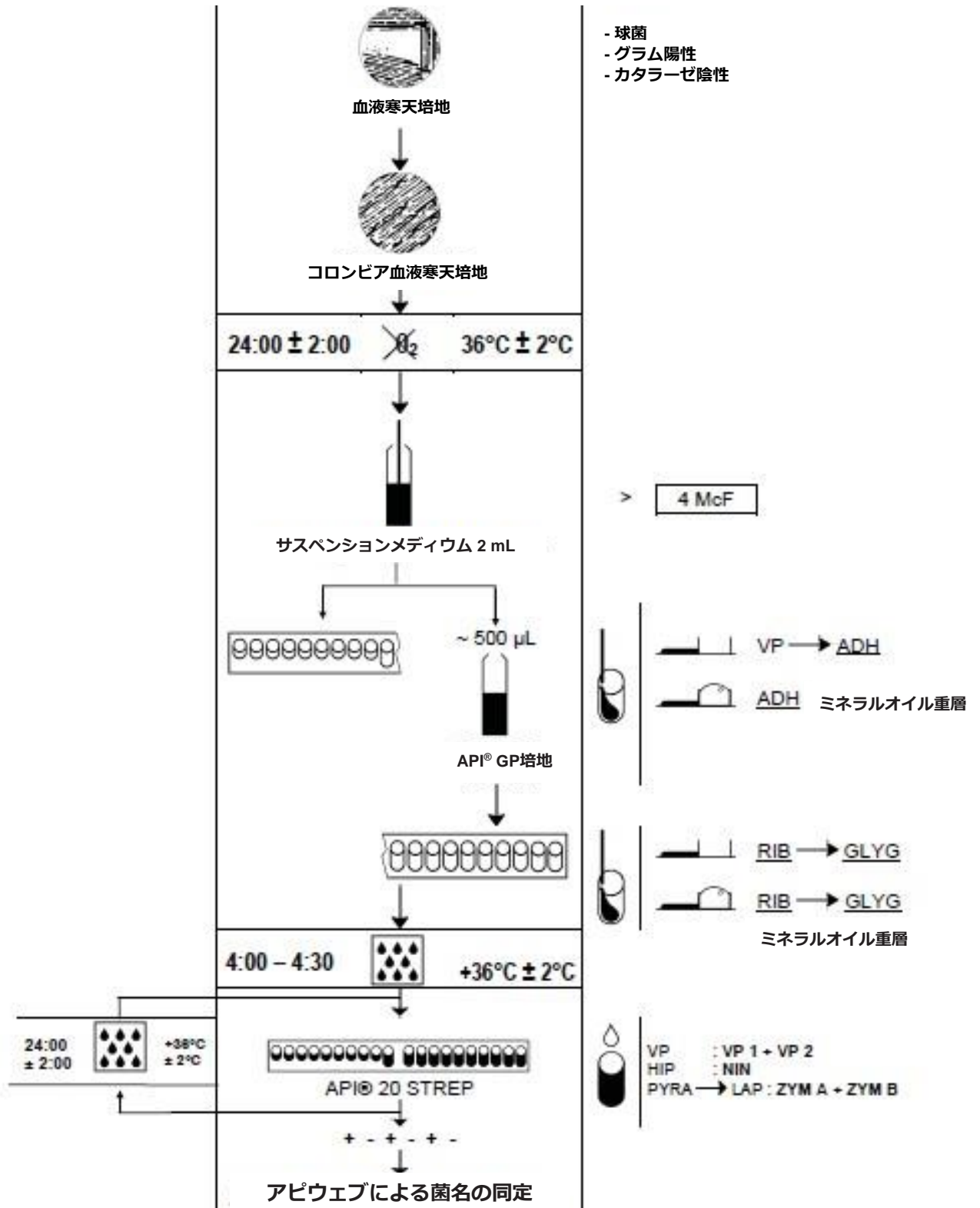
以下に、プロファイル番号の例を示します。

4 h	24 h	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	
+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
VP	HIP	ESC	PYRA	αGAL	βGUR	βGAL	PAL	LAP	ADH	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG	βHEM			
4 h				5		2		4		0		5		5		5		0					
24 h				5		2		4		0		7		7		7		0					

### 5 240 550 / 5 240 770 *Streptococcus mutans*

**注記:** 溶血反応結果は21番目の項目として記入します。β-溶血反応は陽性と判定し、数値4を記入します。それ以外の溶血反応は陰性と判定し、数値0を記入します。この試験は、特定の菌種の同定に有用な場合があります。

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	
VP	ピルビン酸ナトリウム	1.9	アセトイン産生 (voges proskauer)	VP 1 + VP 2試薬 添加10分後に判定 <sup>3)</sup> 無色 / ピンク色-赤色			
HIP	馬尿酸ナトリウム	0.4	加水分解 (馬尿酸)	NIN試薬 添加10分後に判定 無色/薄い青色 / 青みがかった灰色 / 暗い青色 / 紫色			
ESC	エスクリン クエン酸第二鉄	1.16 0.152	β-グルコシダーゼ 加水分解(エスクリン)	4時間	24時間	4時間	24時間
				無色 / 薄黄色	無色 / 薄黄色 / 明るい灰色	黒色 / 灰色	黒色
PYRA	ピログルタミン酸-β- ナフチルアミド	0.0256	ピロリドニルアリル アミダーゼ	ZYM A + ZYM B試薬 添加10分後に判定 (PYRAからLAP) <sup>1)</sup> 必要に応じて、強い光をあて脱色して下さい。 無色 / 極薄いオレンジ色 / オレンジ色			
αGAL	6-ブロモ-2-ナフチル- αD-ガラクトピラノシド	0.0376	α-ガラクトシダーゼ	無色		紫色	
βGUR	ナフトール AS-BI- グルクロン酸	0.0537	β-グルクロニダーゼ	無色		青色	
βGAL	2-ナフチル-βD- ガラクトピラノシド	0.0306	β-ガラクトシダーゼ	無色 / 極薄い紫色		紫色	
PAL	2-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	無色 / 極薄い紫色		紫色	
LAP	L-ロイシン-β- ナフチルアミド	0.0256	ロイシンアミノ ペプチダーゼ	無色		オレンジ色	
ADH	L-アルギニン	1.9	アルギニンジヒドロラーゼ	黄色		赤色	
RIB	D-リボース	1.4	酸性化 (リボース)	4時間	24時間	4時間	24時間
				赤色	オレンジ色 / 赤色	オレンジ色 / 黄色	黄色
ARA	L-アラビノース	1.4	酸性化 (アラビノース)	赤色	オレンジ色 / 赤色	オレンジ色 / 黄色	黄色
MAN	D-マンニトール	1.36	酸性化 (マンニトール)	赤色	オレンジ色 / 赤色	オレンジ色 / 黄色	黄色
SOR	D-ソルビトール	1.36	酸性化 (ソルビトール)	赤色	オレンジ色 / 赤色	オレンジ色 / 黄色	黄色
LAC	D-ラクトース (bovine origin)	1.4	酸性化 (ラクトース)	赤色	オレンジ色 / 赤色	オレンジ色 / 黄色	黄色
TRE	D-トレハロース	1.32	酸性化 (トレハロース)	赤色	オレンジ色 / 赤色	オレンジ色 / 黄色	黄色
INU	イヌリン	5.12	酸性化 (イヌリン)	赤色	オレンジ色 / 赤色	オレンジ色 / 黄色	黄色
RAF	D-ラフィノース	3.12	酸性化 (ラフィノース)	赤色	オレンジ色 / 赤色	オレンジ色 / 黄色	黄色
AMD	でんぷん <sup>2)</sup>	2.56	酸性化 (アミドン)	赤色	オレンジ色 / 赤色	オレンジ色 / 黄色	黄色



試験項目	基質	QTY (mg/ カップ)	反応/ 酵素	成績	
				陰性	陽性
<u>GLYG</u>	グリコーゲン	1.28	酸性化 (グリコーゲン)	赤色またはオレンジ色	明るい黄色

<sup>1)</sup>24時間後の二次判定時、ZYM AおよびZYM B試薬添加チューブ中に沈殿物が出現することがありますが、この現象は正常です。

<sup>2)</sup>でんぷんの酸化は他の糖の酸化よりもしばしば反応性が弱いことがあります。

<sup>3)</sup>10分後に薄ピンク色が見られた場合は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については、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法と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、*Streptococcus equi* spp *zooeidemicus* ATCC® 700400™を用いてARAの性能評価を行うことによって実施できます。当社で実施した試験から、ARA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、*Streptococcus equi* spp *zooeidemicus* ATCC® 700400™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2菌株を用いて各項目の陽性および陰性反応を確認して下さい。

1. *Streptococcus equi* spp *zooeidemicus* ATCC® 700400™
2. *Streptococcus*® *uberis* ATCC® 700407™

	VP	HIP	ESC	PYRA	αGAL	βGUR	βGAL	PAL	LAP	ADH
1	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+
2	+	+	+	V	V	+	-	-*	+	+

	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG
1	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+
2	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-

\*本結果は使用する培地により異なります。

- 接種菌液はデンシマットを用いてマクファーランド濁度4.5-5.5に調製
- プロファイル判定は以下の通り:
  - VPからLAP : 4時間培養後
  - ADHからGLYG : 24時間培養後
- コロンビアヒツジ血液寒天培地で培養

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。

## テクニカルブローチャー：菌名同定用ソフトウェアに関する情報

次の項目は、テクニカルブローチ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

テクニカルブローチ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 
  - “テクニカルブローチャー”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. APPELBAUM P.C., CHAURUSHIYA P.S., JACOBS M.R., DUFFETT A.  
Evaluation of the Rapid Strep System for Species Identification of Streptococci. (1984) J. Clin. Microbiol., 19, 588-591.
2. BALL L.C., COLMAN G.  
A Comparison of Conventional Methods and API Galleries for the Identification of Streptococci. (1982) International Meeting on Streptococci and Streptococcal Diseases, LUND SWEDEN, 41-42.
3. BANNISTER M.F., BENSON C.E. and SWEENEY C.R.  
Rapid Species of Identification of Group C Streptococci Isolated from Horses. (1985) J. Clin. Microbiol., 21, 524-526.
4. COLMAN G., BALL L.C.  
Identification of Streptococci in a Medical Laboratory. (1984) J. Appl. Bact., 57, 1-14.
5. FACKLAM R.R., RHODEN D.L., SMITH P.B.  
Evaluation of the Rapid Strep System for the Identification of Clinical Isolates of *Streptococcus* Species. (1984) J. Clin. Microbiol., 20, 894-898.
6. HUMAN R.P. and TILLOTSON G.S.  
Identification of *Gardnerella vaginalis* with the API 20 Strep System. (1985) J. Clin. Microbiol., 21, 985-986.
7. KLOOSTERMAN R.E., CULLEN K.D., McCLATCHEY K.D.  
Comparison of Two Commercial Systems for the Rapid Identification of Streptococci. (1984) ASM ST. LOUIS C198.
8. MacGOWAN A.P., MARSHALL R.J., REEVES D.S.  
Evaluation of API 20 STREP System for Identifying *Listeria* Species. (1989) J. Clin. Path, 42, 548-550.
9. RUOFF K.L., KUNZ L.J.  
Use of the Rapid STREP System for Identification of Viridans Streptococcal Species. (1983) J. Clin. Microbiol., 18, 1138-1140.
10. TILLOTSON G.S.  
An Evaluation of the API 20 Strep System. (1982) J. Clin. Path., 468-472.
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
2019/09	07625M	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

BIOMERIEUX, the BIOMERIEUX logo, ATB, API and APIWEB 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](http://www.biomerieux.com)