

**製品概要**

API® CORYNEは、コリネ型細菌を24時間で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内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ャーで閲覧可能です。

**原理**

API® CORYNEプレートは、酵素反応試験または炭水化物の発酵試験のための乾燥基質を含む20個のマイクロチューブで構成されています。酵素反応試験では、濃厚な菌液を接種して酵素基質を溶解します。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。

発酵試験では、専用の培地 (pH 指示薬を含む) で調製した菌液を接種して糖基質を溶解します。炭水化物の発酵による酸性化を pH 指示薬の自発的な色調変化によって検出します。

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**

12 テスト (バイオメリユー品番 20900)

- API® CORYNE プレート 12 ストリップ
- API® GP Medium (アンプル) 12 本
- API® Suspension Medium, 3 mL (アンプル) 12 本
- マクファーランドスタンダード (バイオメリユー品番. 70900)
- 培養容器 (蓋・トレイ) 12 セット
- 成績記入用紙 12 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® CORYNE 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 Medium 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
	Demineralized water	to make 1000 mL
	pH: 7.4 - 7.8	
API® Suspension Medium 3 mL	Demineralized water	
McFarland Standard 6	BaSO <sub>4</sub>	2.88 10 <sup>-4</sup> mol/L

表示量は、使用する原材料の力価に応じて調整されます。

## 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 (バイオメリュー品番 70100)
- 添加試薬：
  - NIT 1 + NIT 2試薬 (バイオメリュー品番 70442)
  - PYZ試薬 (バイオメリュー品番 70492)
  - ZYM A試薬 (バイオメリュー品番 70494)
  - ZYM B試薬 (バイオメリュー品番 70493)
- 過酸化水素水 (3%)
- コロンビア5%ヒツジ血液寒天培地 (バイオメリュー品番 43041)またはトリプケースソイ5%ヒツジ血液寒天培地 (バイオメリュー品番 43001)

### 器具

- 滅菌綿棒 (バイオメリュー品番 70610)
- 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。"CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers from; Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline– Current revision*" 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 - CDC/NIH- Latest edition" 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および、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

プレートとAPI® GP Mediumは2-8°Cで外箱に記載の使用期限まで保管してください。

API® Suspension Mediumは2-30°Cで外箱に記載の使用期限まで保管可能です。

### 検体の採取および前処理

API® CORYNE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

コロニーを分離したら、グラム陽性、無芽胞、通性嫌気性桿菌であることを確認して下さい。:

1. 溶血性のタイプの確認をします。
2. よく分離された単一コロニーを採取し、0.3 mLの滅菌精製水に懸濁します。
3. 平板培地（トリブケースソイ 5 %ヒツジ血液寒天培地またはコロソビア 5 %ヒツジ血液寒天培地）の表面全体を2.で準備した菌液で浸すか、滅菌綿棒を使って無菌的に表面全体に塗抹します。
4. 37°Cで24-48時間培養します。

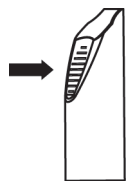
### プレートの準備

1. 培養容器（トレイと蓋）を準備します。湿潤環境を保つためにトレイのくぼみに約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）を放出する可能性が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. API® Suspension Mediumのアンブルを開封します。

次の手順に従ってアンブルを注意深く開封します:



- アンブルをアンブルプロテクターに差し込んで下さい。
- アンブルプロテクターに入ったアンブ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ってます）。
- 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ブルの先端部を折ります。
- アンブルをアンブルプロテクターから取り出し、次の使用のためにアンブルプロテクターを近くに置きます。
- キャップを注意深く取り除きます。

2. 滅菌綿棒を使用して、先述の「コロニーの選択」で準備した継代培養プレートから全てのコロニーを回収し、API® Suspension Mediumのアンブルに接種します。培養時間が24-48時間と短く、新鮮な菌体を使用してください。
3. よく混合されていることを確認し、キットに含まれるマクファーランドスタンダードとの比較、またはデンシマツトで測定することにより、マクファーランド濁度6よりも濃い濁度の菌液を調製します。調製した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. 前半の11試験項目(NIT～GEL)に菌液を接種して下さい。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、ピペットチップまたはアピピペットの先をカップの側面に付けて操作します。:
  - NIT～ESC 試験項目: 各カップに約100 - 150 μLの菌液を接種します。
  - URE 試験項目: チューブ部分にのみ菌液を接種します。
  - GEL 試験項目: カップおよびチューブの両方に菌液を接種します。
2. 後半の9試験項目(Q～GLYG):
  - 「使用上または取扱い上の注意」の章に従って、API® GP Mediumのアンブルを開けます。残りの菌液約0.5 mLをAPI® GP Mediumに移し入れて、よく混和します。
  - 菌液をチューブ部分のみに接種します。
3. 下線の付いた試験項目 (URE, Q～GLYG) のカップには、液面が凸状になるまでミネラルオイルを滴下します。
4. 培養容器に蓋をします。
5. 好気条件下で36 ± 2°Cで24時間 (±2時間) 培養して下さい。

## 判定と解釈

### プレートの判定

培養後：

1. 試薬を添加してください：
  - NIT 試験項目：NIT 1およびNIT 2試薬をそれぞれ1滴ずつ滴下します。
  - PYZ 試験項目：PYZ試薬を1滴滴下します。
  - PyrA, PAL, βGUR, βGAL, αGLU, βNAG 試験項目：ZYM AおよびZYM B (\*)を1滴ずつ滴下します。  
(\* ) 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ください。この品質管理試験を実施する場合には、ZYM B試薬の状態を確認するため、「品質管理」に記載されている**ATCC® 27402™ 株**を使用することを推奨します。
2. 10分後、判定表に従って全ての反応の判定を行って下さい。必要に応じて、プレートに強い光(1000W)を10秒間照射して、PyrA~βNAGのチューブ内の過剰な試薬を脱色させてください。
3. カタラーゼ試験を実施します（21番目の試験とします）：ESCまたは |GEL| 試験項目に3% 過酸化水素水を1滴添加して下さい。1分後、**泡**の発生が見られた場合、**陽性**とします。
4. 成績記入用紙に全ての判定結果を記入します。

### 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、API® CORYNE プレートから7桁のプロファイル番号を得ます。カタラーゼ反応は21番目の試験として加え、陽性の場合には4を加算します。

### 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や知見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に関する提案が記載されます。追加試験を行っても同定結果を得るには不十分な場合には、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、追加試験が必要な場合があります。

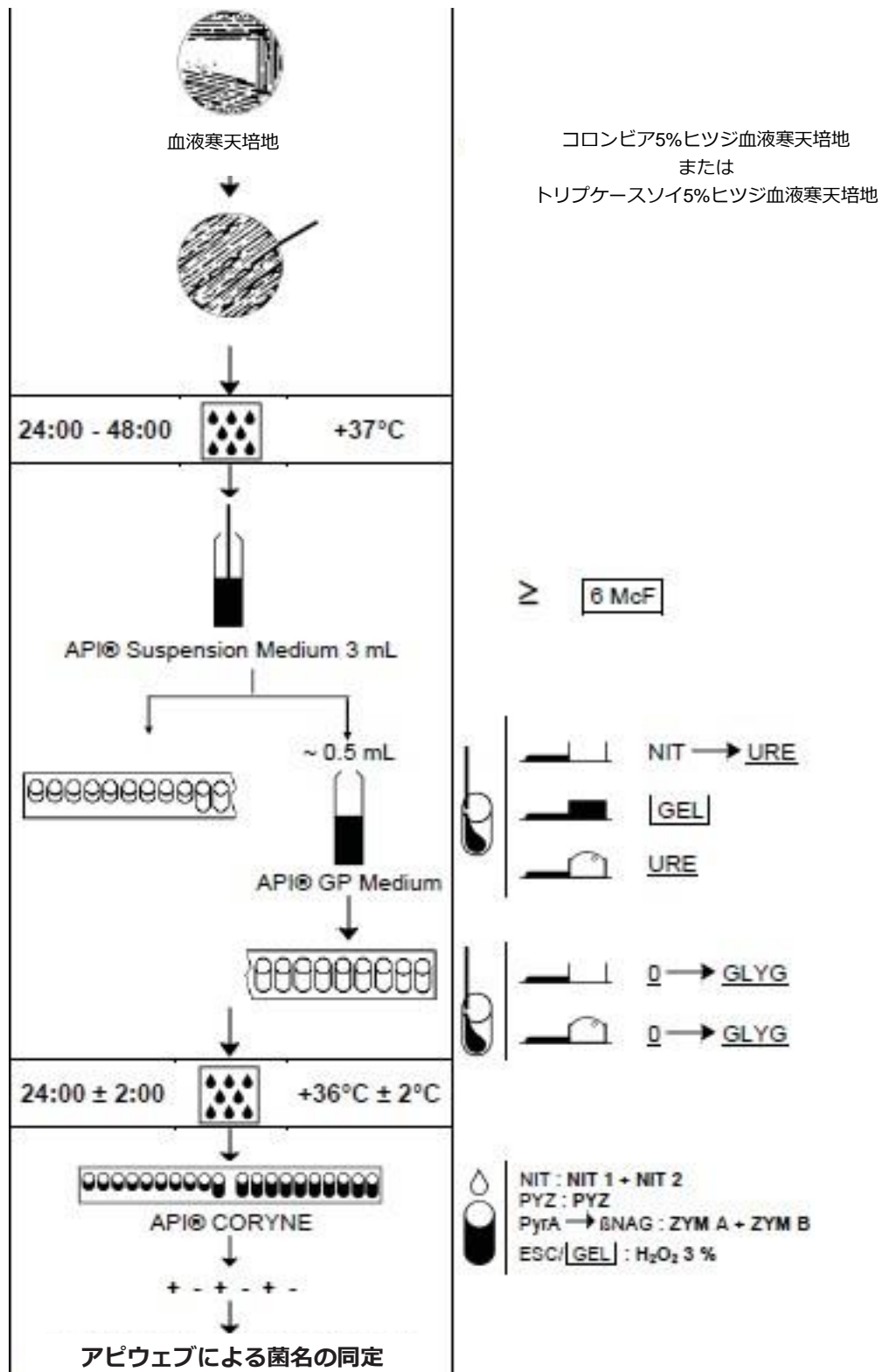
追加試験は、テクニカルプロシチャーに記載されています。

以下に、プロファイル番号の例を示します。

+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
NIT	PYZ	PyrA	PAL	βGUR	βGAL	αGLU	βNAG	ESC	URE	GEL	O	GLU	RIB	XYL	MAN	MAL	LAC	SAC	GLYG	CAT
4			2			1			2			7			2			0		

**4 212 720 *Trueperella pyogenes***

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
NIT	Potassium nitrate	0.136	Nitratesの還元	NIT 1 + NIT 2 試薬滴下 / 10分後に判定 無色 / 極淡いピンク色   暗いピンク色 / 赤色	
PYZ	Pyrazinecarboxamide	0.56	Pyrazinamidase	PYZ試薬滴下 / 10分後に判定 無色 / 極淡い茶色 / 極淡いオレンジ色   茶色 / オレンジ色	
PYRA	Pyroglutamic acid- $\beta$ -naphthylamide	0.0256	Pyrrolidonyl arylamidase	ZYM A + ZYM B試薬滴下 (PyrA - $\beta$ NAG) / 10分後に判定 無色 / 淡いオレンジ色   オレンジ色	
PAL	2-Naphthyl- phosphate	0.0244	Alkaline phosphatase	無色 / ベージュ / 淡い紫色	紫色
$\beta$ GUR	Naphthol ASBI-glucuronic acid	0.0548	$\beta$ -Glucuronidase	無色 / 淡い灰色 / 淡いベージュ	青色
$\beta$ GAL	2-Naphthyl- $\beta$ D-galactopyranoside	0.0312	$\beta$ -Galactosidase	無色 / ベージュ / 淡い紫色	紫色
$\alpha$ GLU	2-Naphthyl- $\alpha$ D-glucopyranoside	0.0308	$\alpha$ -Glucosidase	無色 / ベージュ / 淡い紫色 / 淡い緑色	紫色
$\beta$ NAG	1-Naphthyl-N-acetyl- $\beta$ D-glucosaminide	0.0348	N-Acetyl- $\beta$ -glucosaminidase	無色 / ベージュ / 淡い紫色 / 淡い茶色 / 淡い灰色	茶色
ESC	Esculin Ferric citrate	0.546 0.078	$\beta$ -Glucosidase (esculin)	無色 / 灰色	黒色
URE	Urea	0.76	Urease	黄色 / オレンジ色	赤色 / ピンク色
GEL	Gelatin (bovine origin)	0.6	加水分解 (gelatin)	黒色素の拡散なし	黒色素の拡散
0	ネガティブコントロール	-	発酵	赤色 / オレンジ色	黄色 / オレンジ色- 黄色
GLU	D-Glucose	1.56	発酵 (glucose)		
RIB	D-Ribose	1.4	発酵 (ribose)		
XYL	D-Xylose	1.4	発酵 (xylose)		
MAN	D-Mannitol	1.36	発酵 (mannitol)		
MAL	D-Maltose	1.4	発酵 (maltose)		
LAC	D-Lactose (bovine origin)	1.4	発酵 (lactose)		
SAC	D-Saccharose (sucrose)	1.32	発酵 (saccharose)		
GLYG	Glycogen	1.28	発酵 (glycogen)		
CAT	(ESC または GEL 試験)	-	Catalase	Hydrogen peroxide (3%) / 1分後に判定 発泡なし   発泡あり	

表示量は、使用する原材料の力価に応じて調整されます。

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対しては、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、参照文書CLSI® M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systemsに関連しており、使用説明書に記載の使用方法和以下に示す適合基準に従って実施します。

この合理的品質管理試験は、*Corynebacterium renale* ATCC® 19412™を用いてXYL試験項目の性能評価を行うことによって実施できます。当社が実施した試験から、XYL試験項目が本プレートを評価するうえで最も信頼性が高いことが確認されています。*Corynebacterium renale* ATCC® 19412™を本プレートの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. *Corynebacterium renale* ATCC® 19412™
2. *Cellulosimicrobium cellulans* ATCC® 27402™
3. *Microbacterium testaceum*\* ATCC® 15829™ (データベースに含まれていません)

	NIT	PYZ	PyrA	PAL	βGUR	βGAL	αGLU	βNAG	ESC	URE
1	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+
2	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
3	-	+	-	V	-	+	+	-	+	-

	GEL	Q	GLU	RIB	XYL	MAN	MAL	LAC	SAC	GLYG	CAT
1	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
2	V	-	+	+	+	-	+	-	+	V	+
3	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

これはコロンビア5%ヒツジ血液寒天培地 (バイオメリュー品番43041) で培養した菌株を用いて得られるプロファイルです。デンシマットでマクファーランド濁度6~7に調製した菌液を使用しています。

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。

すべての反応が品質管理において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。

## テクニカルブロッシャー：菌名同定用ソフトウェアに関する情報

次の項目は、テクニカルブロッ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

テクニカルブロッシャーにアクセスするには、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 
  - “テクニカルブロッシャー”をクリックします

## 廃棄処理










未使用のAPI® Suspension Mediumおよびマクファーランドスタンダードは無害廃棄物として適切に廃棄して下さい。

未使用の(API® Suspension Mediumおよびマクファーランドスタンダードを除く) 試薬 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。各検査室の責任の元、廃棄物や廃液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. BORIING S.I., KONEMAN E.W., HARRIS E.E., ALLEN S.D.  
Identification of *Corynebacterium* species with the RAPID CORYNE System. (1993) Atlanta, ASM Meeting, Abstract N° C330.
2. FRENEY J., DUPERRON M.T., COURTIER C., HANSEN W., ALLARD F., BOEUFGRAS J.M., MONGET D., FIEURETTE J.  
Evaluation of API CORYNE in Comparison with Conventional Methods for Identifying Coryneform Bacteria. (1991) J. Clin. Microbiol., 29, 38-41.
3. FUNKE G., RENAUD F.N.R., FRENEY J. et al.  
Multicenter evaluation of the updated and extended API (Rapid) Coryne database 2.0. (1997) J. Clin. Microbiol., 35, 3122-3126.
4. GAVIN S.E., LEONARD R.B., BRISEIDEN A.M., COYIE M.B.  
Evaluation of the Rapid CORYNE Identification System for *Corynebacterium* Species and Other Coryneforms. (1992) J. Clin. Microbiol., 30, 1692-1695.
5. KERR K.G., HAWKEY P.M., IACEY R.W.  
Evaluation of the API CORYNE System for Identification of *Listeria* species. (1993) J. Clin. Microbiol., 31, 749-750.
6. MIKI K., SAKO H., INOUE K., SAKAZAKI R.  
Evaluation of the API CORYNE identification system for nonsporeforming, Gram-positive rods. (1993) Journal of the Association Rapid Method and Automation in Microbiology, 5, 131-135.
7. PEIOUX Y., CANIAUX I.  
Identification des corynebactéries et germes apparentés - Apport d'une nouvelle galerie d'identification : API CORYNE. (1990) Feuilles de Biologie, 31 (177), 27-34.
8. SOTO A., ZAPARDIEI J., SORIANO F.  
Evaluation of API CORYNE system for identifying coryneform bacteria. (1994) J. Clin. Pathol., 47, 756-759.
9. 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。

Release Date	Part Number	Change Type	Change Summary
2019/06	07886J	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, APIWEB and ATB NEW are used, pending, and/or registered trademarks belonging to bioMérieux, or one of its subsidiaries, or one of its companies.

CISI 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.

For users in the European Union (Regulation (EU) 2017/746) and in countries with similar requirements: Should a serious incident occur during the use of this device or as a result of its use, please report it to the manufacturer and/or their authorized representative as well as to your national authority.

**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)

bioMérieux SA – Japanese 9