

製品概要

API® 50 CHB/E 培地は*Bacillus*属および関連菌種、および*Enterobacteriaceae*科および*Vibrionaceae*科に帰属するグラム陽性桿菌を同定する目的で使用します。本培地は調製済であり、API® 50 CH プレートで49種類の炭素源に対する発酵能を確認するために使用します。

注: 以前、*Enterobacteriaceae*科に含まれていた属は、*Enterobacterales*目に属する7つの科 (*Budviciaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae*, *Hafniaceae*, *Morganellaceae*, *Pectobacteriaceae*, *Yersiniaceae*) に再分類されました。

このため、API® 50 CHで同定可能な腸内細菌科細菌は、*Enterobacteriaceae*科および上記のその他の科にも属します。

原理

API® 50 CHB/E 培地で被検菌の菌液を調製し、プレートの各チューブに分注します。培養中、発酵により炭素源から酸が生成されるとpHの低下に伴い指示薬の色が変化します。得られた生化学プロファイルから、菌名同定用ソフトウェアを用いて、菌種を同定します。

API® 20 E プレートは、API® 50 CHの追加試験として使用します (*Bacillus*属および関連菌種では任意ですが、*Enterobacteriaceae*科と*Vibrionaceae*科では必須です)。

キットの構成

10テスト

- API® 50 CHB/E 培地アンプル 10本
- 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/>)

培地の組成

API® 50 CHB/E 培地 10 mL	Ammonium sulfate	2 g
	Yeast extract	0.5 g
	Tryptone (bovine/porcine origin)	1 g
	Disodium phosphate	3.22 g
	Monopotassium phosphate	0.12 g
	Trace elements	10 mL
	Phenol red	0.17 g
	Demineralized water	1000 mL
	pH: 7.4-7.8 at +20°C/+25°C	

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及び器具**試薬**

- *Bacillus*属と関連菌種の場合
 - API® 50 CH (バイオメリユー品番 50300)
 - API® 20 E (バイオメリユー品番 20100)
 - API® 20 E 添加試薬: TDA試薬 (バイオメリユー品番 70402), JAMES試薬 (バイオメリユー品番 70542), VP1+2試薬 (バイオメリユー品番 70422) およびNIT1+2試薬 (バイオメリユー品番 70442)
 - ミネラルオイル (バイオメリユー品番 70100)
 - 0.85%滅菌生理食塩液 5 mL (バイオメリユー品番 20230)
 - マクファールランド スタンダード (バイオメリユー品番 70900) : No. 2
- *Enterobacteriaceae*科および*Vibrionaceae*科の場合
 - API® 50 CH (バイオメリユー品番 50300)
 - API® 20 E (バイオメリユー品番 20100)
 - API® 20 E添加試薬: TDA試薬 (バイオメリユー品番 70402), JAMES試薬 (バイオメリユー品番 70542), VP1+2試薬 (バイオメリユー品番 70422) およびNIT1+2試薬 (バイオメリユー品番 70442)
 - ミネラルオイル (バイオメリユー品番 70100)
 - サスペンションメディウム 5 mL (バイオメリユー品番 20150)
 - マクファールランド スタンダード (バイオメリユー品番 70900) : No. 4

器具

- 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
- アンブルプロテクター
- 滅菌精製水または滅菌生理食塩水 1mL
- デンシマット (ピオメリュー品番 99234) (オプション)
- アピウェブ ライセンス (ピオメリュー品番 424275)
- 一般的な微生物試験に必要な器具

使用上の注意

- **微生物管理試験のみにご使用ください。**
- **熟練者のご使用ください。** 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。
- 培地を室温に戻してから使用して下さい。
- アンブルは、一度のみ使用し、再利用しないで下さい。
- テクニカルブローシャ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、患者の病歴、検査材料の由来、分離菌株のコロニー形態や鏡像及び、必要に応じて実施された他の検査の結果 (特に薬剤感受性パターンの結果) を考慮して行ってください。

保管条件

培地はパッケージ記載の有効期限までで2-8℃で保存して下さい。

検体の採取及び前処理

API® 50 CHB/E 培地は臨床材料や他の検体に対して直接使用することはできません。

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

Bacillus属の場合

コロニーの選択

1. 菌株が純培養されていることを確認します。
2. *Bacillus*属の一般的な特徴(好気性、芽胞性桿菌、通常グラム陽性)を有していることを確認します。
3. 普通寒天培地で培養します。
 - 被検菌の至適発育温度が不明な場合は、数枚の寒天培地を異なる温度で培養します。
 - 遅発育菌の場合は、十分な菌量が得られるように2枚の寒天培地に培養します。
 - 中温菌 ; 25℃-45℃で16時間-18時間培養
 - 低温菌 ; 20℃で18時間-48時間培養
 - 高温菌 ; 55℃で12時間-16時間培養
4. *Bacillus lentus*は、滅菌前の普通寒天培地に尿素を1 g/L添加することにより増殖が促進されます。

プレートの準備

API® 50 CHおよびAPI® 20 Eの使用説明書を参照して下さい。

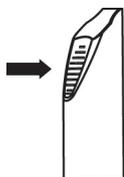
菌液の調製

菌液は、調製後直ちに使用して下さい。

• デンシマットを使用する場合:

1. API® 50 CHプレート用接種菌液:

• 次の手順に従ってAPI® 50 CHB/E培地を開封します:



- 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、次の使用のために近くに置きます。
- キャップを注意深く取り除きます。

• コロニーを数個釣菌します。

• API® 50 CHB/E 培地のアンブルで、マクファーランド濁度2になるように菌液を調製します。

2. API® 20 Eプレート用接種菌液

- 上記手順に従って0.85%滅菌生理食塩液 (5 mL) のアンブルを開けて下さい。
- コロニーを数個釣菌します。
- マクファーランド濁度2になるように菌液を調製します。

• デンシマットを使用しない場合:

1. API® 20 E プレート用接種菌液:

- 1 mL滅菌生理食塩水を含む試験管を用意します。
- スワブで培地上のコロニーを全て掻き取ります。
- アンブルに濃厚菌液 (S) を調製します。
- 上記の手順に従って0.85%滅菌生理食塩液 (5 mL) のアンブルを開けて下さい。
- 濃厚菌液 (S) を適量滴下して、マクファーランド濁度2に調整します (マクファーランドスタンダードで濁度を比較します)。この時、滴下数 (n) を記録しておきます。

2. API® 50 CH プレート用接種菌液:

- 上記手順に従ってAPI® 50 CHB/E 培地のアンブルを開けて下さい。
- 上記で記録した滴下数 (n) の2倍量 (2n) の濃厚菌液 (S) をAPI® 50 CHB/E 培地に接種します。

• 菌液を均一にします。

プレートへの菌液分注

API® 50 CHおよびAPI® 20 E の使用説明書を参照して下さい。

1. チューブ部分 (カップ部分を除く) にAPI® 50 CHB/E 培地で調製した菌液を分注して下さい。

注記: ミネラルオイルの重層は任意ですが、偏性好気性菌の場合には、重層しないで下さい。

2. API® 20 E プレートの最後の8試験はAPI® 50 CH プレートと重複しているため、API® 20 E プレートの最初の12試験のみ菌液を分注します。GLU試験はNIT反応を調べるために分注します。

プレートの培養

• 培養:

- 高温菌では、発生ガスを捕捉するためにチューブの底部を上にしてAPI® 50 CH プレートを少し傾け、55°C ± 2°Cで3時間-3時間半、6時間-6時間半、および24時間 (± 2時間) 培養します。
- その他の菌種では、29°C ± 2°Cで24時間 (± 2時間) および 48時間 (± 6時間) 培養します。

注記: API® 20 E プレートも必ず同じ条件で培養してください。

Enterobacteriaceae科の場合

コロニーの選択

1. 菌株が純培養されていることを確認します。
2. トリプケースソイ寒天培地などの普通寒天培地を用いて37℃で18時間-24時間培養します。
3. 被検菌がEnterobacteriaceae科またはVibrionaceae科の特徴を有することを確認します。

プレートの準備

API® 50 CHおよびAPI® 20 E 使用説明書を参照して下さい。

菌液の調製

菌液は、調製後直ちに使用して下さい。

- デンシマットを使用する場合:
 1. 上記の手順に従ってAPI® 50 CHB/E 培地のアンプルを開けて下さい。
 2. コロニーを数個釣菌します。
 3. API® 50 CHB/E 培地のアンプルでマクファーランド濁度0.5になるように菌液を調製します。
- デンシマットを使用しない場合:
 1. 上記の手順に従ってAPI® 50 CHB/E 培地のアンプルを開けて下さい。
 2. コロニーを数個釣菌し、滅菌精製水1 mLに懸濁してマクファーランド濁度4になるように菌液を調製します。
 3. 調製した菌液をAPI® 50 CHB/E 培地のアンプルに移し入れます。
- 菌液を均一にします。
- API® 20 E プレート用の菌液は、API® 20 Eの使用説明書に従って調製します。

プレートへの菌液分注

API® 50 CH およびAPI® 20 E 使用説明書を参照して下さい。

1. チューブ部分 (カップ部分を除く) にAPI® 50 CHB/E 培地に調製した菌液を接種し、ミネラルオイルを全ての試験に重層します。
2. API® 20 E プレートの最初の11試験に菌液を接種します。

プレートの培養

- 好気条件下で、36℃ ± 2℃ 24時間 (± 2時間) および 48時間 (± 6時間) 培養します。

判定及び解釈

Bacillus属の場合

プレートの判定

API® 50 CHの使用説明書を参照して下さい。

1. 結果の判定:
 - 高温菌は、3時間-3時間半、6時間-6時間半、および24時間 (± 2時間) 培養後に読み取りを行います。
 - その他の菌種は、24時間 (± 2時間) および48時間 (± 6時間) 培養後に読み取りを行います。
2. API® 50 CH プレート:
 - 陽性的場合、酸化によって培地中のフェノールレッド指示薬が**黄色**に変化します。
 - エスクリン試験 (番号25) は、赤色から**黒色**に変化します。

注記: 陽性反応が2回目の読み取りで陰性になった場合、陽性と最終判定とします。(これは、ペプトンからアンモニアが産生され、アルカリ化が生じたことに起因します)。

 - 結果を成績記入用紙に記入します。
3. API® 20 E プレート:
 - 添加試薬は最後の読み取りの直前に添加します。
 - 判定方法は、API® 20 E 使用説明書を参照して下さい。最初の11試験とGLU試験を用いたNIT反応を最終判定のために記録します。

解釈

最後の読み取りで得られた生化学プロファイルをアピウェブ 菌名同定用ソフトウェアを用いて同定します。

注記: 生化学プロファイルの用途:

- 他の結果とともに分類学の研究に使用できます。
- 同定菌株の特徴付けや相互比較に使用できます。

Enterobacteriaceae科の場合

プレートの判定

API® 50 CHおよびAPI® 20 Eの使用説明書を参照して下さい。

1. 24時間 (± 2時間) および 48時間 (± 6時間) 培養後、読み取りを行います。

2. API® 50 CHプレート:

- 陽性の場合、酸化によって培地中のフェノールレッド指示薬が**黄色**に変化します。
- エスクリン試験 (番号25) は、赤色から**黒色**に変化します。

注記: 陽性反応が2回目の読み取りで陰性になった場合、陽性を最終判定します。(これは、ペプトンからアンモニアが産生され、アルカリ化が生じたことに起因します)。

- 結果を成績記入用紙に記入します。

3. API® 20 Eプレート:

- 添加試薬は最後の読み取りの直前に添加します。
- 判定方法は、API® 20 E 使用説明書を参照して下さい。最初の11試験とGLU試験を用いたNIT反応を最終判定のために記録します。

解釈

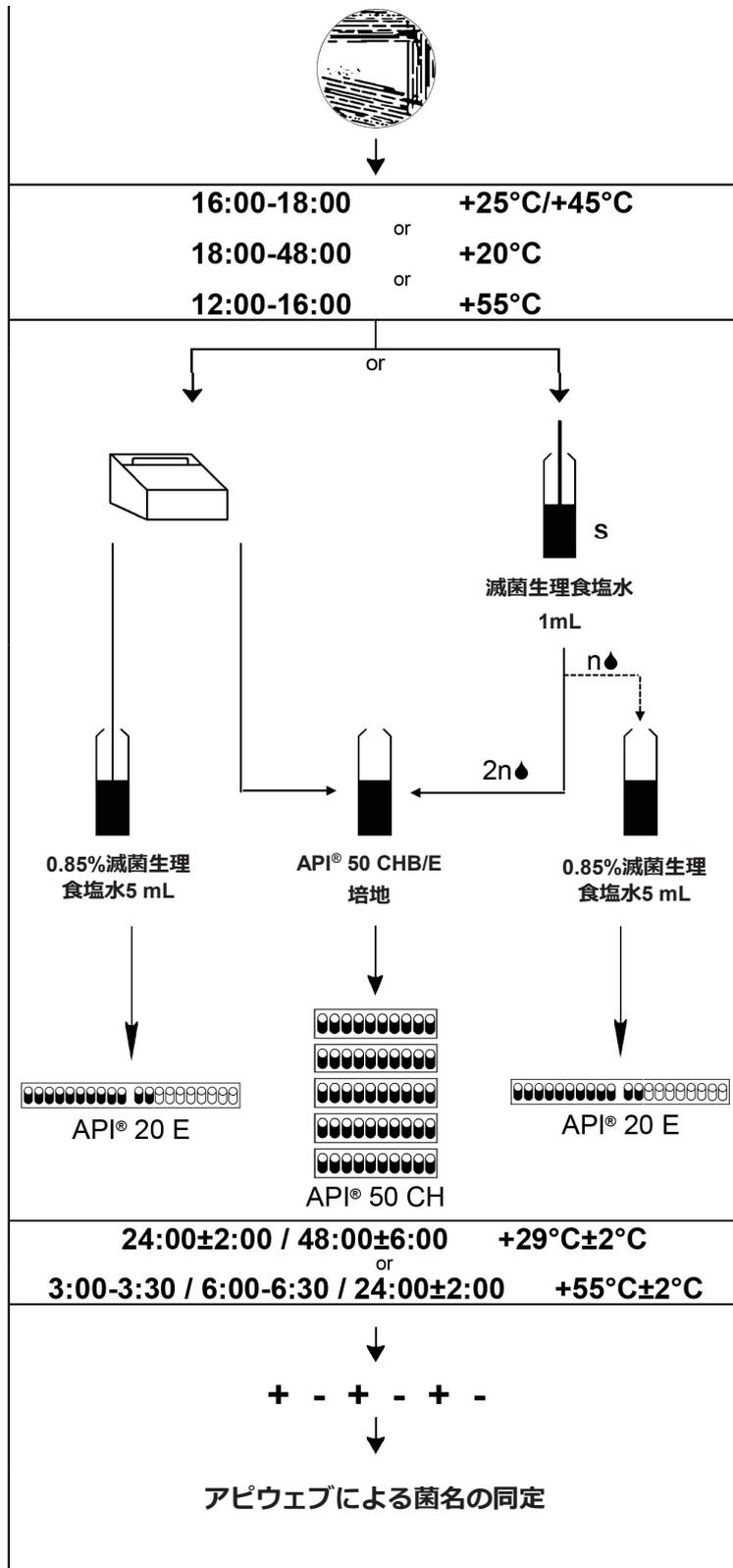
最後の読み取りで得られた生化学プロファイルをアピウェブ 菌名同定用ソフトウェアを用いて同定します。

注記: 生化学プロファイルの用途:

- 他の結果とともに分類学の研究に使用できます。
- 同定菌株の特徴付けや相互比較に使用できます。

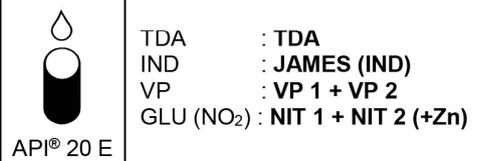
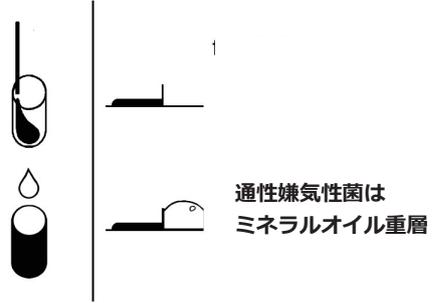
使用方法

Bacillus属の場合

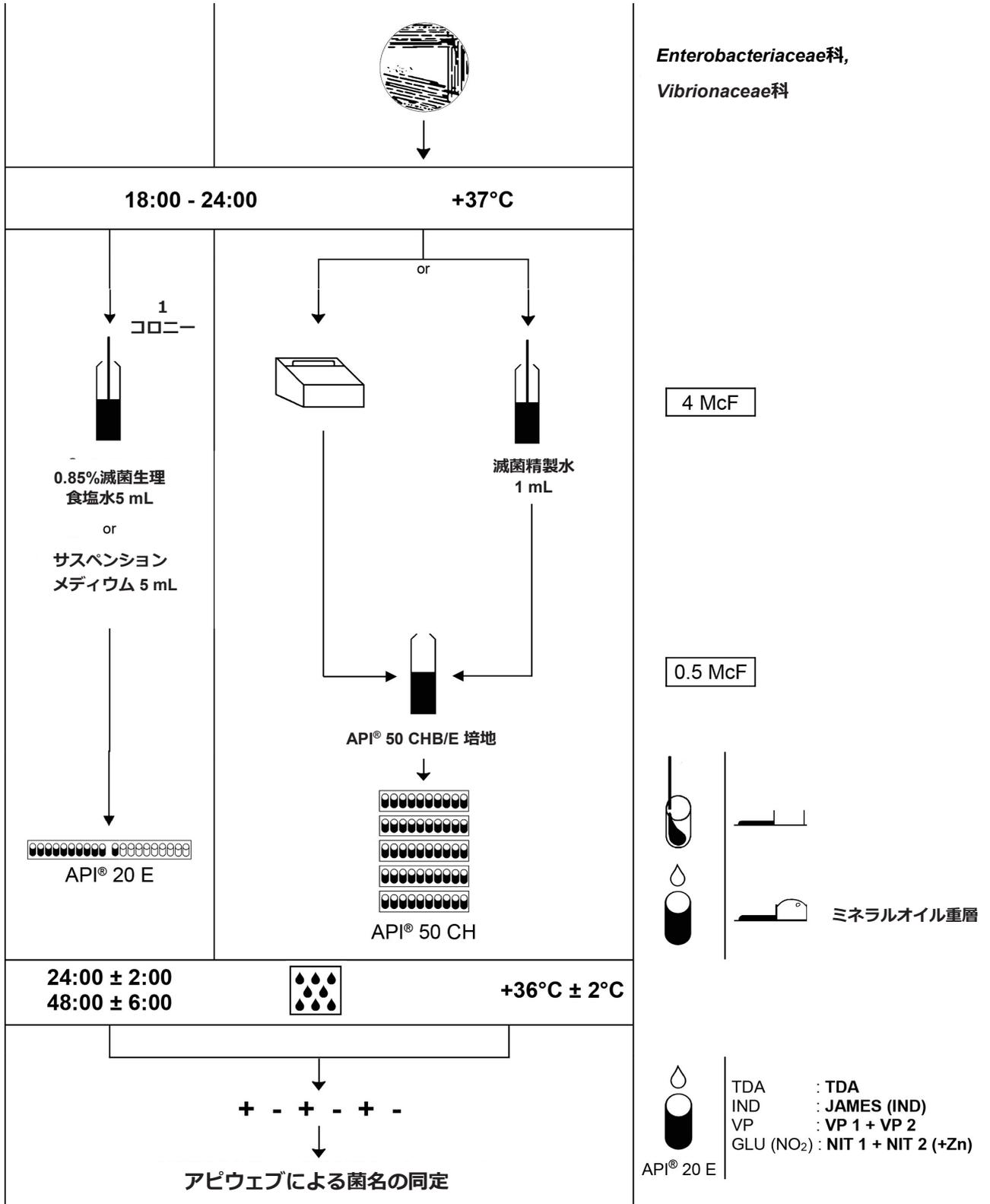


*Bacillus*属および関連菌種

2 McF



Enterobacteriaceae科の場合



品質管理

培地およびプレートに対しては、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。施設毎にプレートの品質管理を実施する場合には、以下の菌株を使用してください。

Bacillus属: *Paenibacillus polymyxa* ATCC® 43865™

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
24h	-	+	-	-	+	+	+	-	-	V	+	+	+	+	-	V	-	-
48h	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	V	-	-

	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
24h	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
48h	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	V	+	+

	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49
24h	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48h	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

上記結果は30℃の培養で得られたものです。

Enterobacteriaceae科: 推奨:

1. *Klebsiella pneumoniae* ssp. *pneumoniae* ATCC® 35657™ または:
2. *Providencia alcalifaciens* ATCC® 9886™

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
1.	24h	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+
	48h	-	+	-	V	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+
2.	24h	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	
	48h	-	V	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	

	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
1.	24h	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
	48h	+	+	-	+	+	V	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
2.	24h	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	48h	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	
1.	24h	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
	48h	+	-	-	+	V	-	-	-	+	+	-	+	+	-
2.	24h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	V	+	-	-
	48h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-

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。

テクニカルプロシヤール：菌名同定用ソフトウェアに関する情報

次の項目は、テクニカルプロシヤール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

テクニカルプロ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 
 - “テクニカルプロシャー”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

Bacillus属および関連菌種

1. FINLEY N., FIELDS M.L. Heat Activation and Heat-induced Dormancy of *Bacillus stearothermophilus* spores. (1962) Appl. Microbiol., 10, 231-236.
2. LE MINOR L., VERON M. Bactériologie Médicale. 2ème édition. (1989) Flammarion Médecine Sciences.
3. LOGAN N.A., BERKELEY R.C.W. Identification of *Bacillus* strains Using the API System. (1984) J. Gen. Microbiol., 130, 1871-1882.
4. LOGAN N.A., CARMAN J.A., MELLING J. and BERKELEY R.C.W. Identification of *Bacillus anthracis* by API Tests. (1985) J. Med. Microbiol., 20, 75-85.
5. MURRAY P.R., BARON E.J., PFALLER M.A., TENOVER F.C., YOLKEN R.H. Manual of Clinical Microbiology. 7th Edition. (1999) American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. PRETORIUS I.S., DE KOCK M.J., BRITZ T.J., POTGIETER H.J. and LATEGAN P.M. Numerical Taxonomy of alpha-amylase producing *Bacillus* species. (1986) J. Appl. Bacteriol., 60, 351-360.
7. SELDIN L., PENIDO E.G. Identification of *Bacillus azotofixans* using API Tests. (1986) Antonie van Leeuwenhoek, 52, 403-409.
8. SNEATH P.H.A., MAIR N.S., SHARPE E., HOLT J.G. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. (1986) Williams and Wilkins - Vol. 2.

Enterobacteriaceae科および**Vibrionaceae**科

1. BRISOU B., RICHARD C., VIEU J.F., BUISSIÈRE J. Comparaison de Souches de *Salmonella typhimurium* isolées chez l'Homme et chez le Pigeon dans la Région Toulonnaise. (1975) Med. Mal. Infect. 5, 554-556
2. CHOUTEAU J., VIEU J.F., BRAULT G. Epidémiologie de l'Infection Hospitalière à Providencia dans un Hôpital Général. (1974) Med. Mal. Infect. 4, 575-578.
3. DESCAMPS P., VERON M., LE MINOR S., BUISSIÈRE J. Phénotypes et Marqueurs Epidémiologiques de *Salmonella typhimurium*. (1982) Rev. Epidem. et Santé Publ. 30, 423-435
4. GAVINI F., IZARD D., LECLERC H., DESMONCEAUX M., GAYRAL J.P. Carbon Sources Assimilation Tests: Comparison Between a Conventional Method and a Microtechnic (API), in Study of *Enterobacteriaceae*. (1980) Zbl. Bakt. Hyg., I Abt. Orig. C 1, 182-187
5. GOOR M., MERGAERT J., VERDONCK L., RIJCKAERT C., VAN TOMME R., SWINGS J., KERSTERS K., DE LEY J. The Use of API Systems in the Identification of Phytopathogenic Bacteria. (1984) Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent, 49, 499-507
6. KRIEG N.R., HOLT J.G. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. (1984) Williams and Wilkins – Vol 1.
7. LE MINOR L., VERON M. Bactériologie Médicale. 2ème édition. (1989) Flammarion Médecine Sciences.
8. MERGAERT J., VERDONCK L., KERSTERS K., SWINGS J., BOEUFGRAS J.M., DE LEY J. Numerical Taxonomy of *Erwinia* Species Using API Systems. (1984) J. Gen. Microbiol, 130, 1893-1910
9. MURRAY P.R., BARON E.J., PFALLER M.A., TENOVER F.C., YOLKEN R.H. Manual of Clinical Microbiology. Seventh Edition. (1999) American Society for Microbiology, Washington, D.C
10. RICHARD C., POPOFF M., PRATS PASTOR G. Etude Bactériologique d'Infections Urinaires Intra-hospitalières à *Proteus rettgeri* Fermentant le Lactose. (1974) Ann. Biol. Clin. 32, 149-154
11. VERON M. Nutrition et Taxonomie des *Enterobacteriaceae* et Bactéries Voisines. I. Méthode d'Etude des Auxanogrammes. (1975) Ann. Microbiol. (Inst. Past.) 126 A, 267-274.
12. VERON M., LE MINOR L. Nutrition et Taxonomie des *Enterobacteriaceae* et Bactéries Voisines. Résultats d'Ensemble et Classification. (1975) Ann. Microbiol. (Inst. Past.) 126 B, 111-123
13. VERON M., LE MINOR L. Nutrition et Taxonomie des *Enterobacteriaceae* et Bactéries Voisines. III. Caractères Nutritionnels et Différenciation des Groupes Taxonomiques. (1975) Ann. Microbiol. (Inst. Past.), 126 B, 125-147.

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

改訂カテゴリー

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	カテゴリー	内容
2020-10	07964-H	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

ビオメリュー・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'Étoile - 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