
この添付文書をよく読んでから使用してください。

研究・産業分野用検査キット

※※2016年5月改訂（第6版）

※2015年3月改訂（第5版）

※品番 **10300**

Listeria（アピ リステリア）

リステリアの同定用システム

■概要

アピ リステリアは、リステリアを同定するために標準化されたシステムで、縮小サイズの試験と専用データベースで構成されています。本同定システムの同定可能菌種は、本添付文書の最後にある“陽性率表”に示されています。

■原理

アピ リステリアには、酵素活性または炭水化物の発酵試験のための乾燥基質を含む10のマイクロチューブで構成されています。培養中に基質が代謝されることにより色が変化します。色の変化は自発的または添加試薬を加えることにより起こります。反応は、判定表に従って判定し、本添付文書中のプロファイリストまたは同定ソフトウェアを使用して行います。

※※ ■包装内容（10テスト）

ーアピ リステリアプレート	10枚
ーサスペンションメディウム（2mL）	10本
ーZYM B	1セット
└R1：ZYM B溶媒	1本
└R2：ZYM B試薬（ZYM B）	1本
ー培養容器	10組
ー成績記入用紙	10枚
ー添付文書	1部

■組成

プレート

アピリステリアプレートに使用されている基質は、本添付文書中の判定表に記載されています。

培地

サスペンションメディアウム 2 mL	脱イオン水
-----------------------	-------

※※添加試薬

R1：ZYMB溶媒 5 mL	メタノール……………30 mL ジメチルスルホキシド (DMSO) ……70 mL
R2：ZYMB試薬	ファストブルーBB …………… 0.14 g

表示使用量は、使用する力価に応じて調製されています。

※■本キットを使用する際に必要な試薬及び器具

試薬 / 機器

- －マクファースランドスタンダード（品番70900）： 濁度1
- －APIWEB®同定用ソフトウェア（品番40011）（ピオメリュー 社製）

器具

- －アピピペット（品番70250）
- －アンプルプロテクター（品番70901）
- －アンプル立て（品番70200）
- －微生物試験用実験器具類

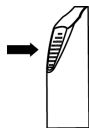
その他関連試薬

- －ALOA®寒天培地（品番AEB520079、AEB520080）

■取り扱い注意事項

- ・ 微生物制御試験用
- ・ 微生物試験従事者による使用のみ可
- ・ 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、これは感染性病原体による製品汚染がな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、通常の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、及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通常の注意を払う必要があります。この件に関しては、“CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*; *Approved Guideline* - Current revision”を参照してください。取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程に準拠してください。
- ・ 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
- ・ 使用する前に、各試験用試薬及び包装に破損がないことを確認してください。
- ・ カップなどの変形が見られるプレートは使用しないでください。
- ・ 使用前に試薬を室温に戻してください。

- ・ カップなどの変形が見られるプレートは使用しないでください。
- ※ 以下の手順に従い、注意してアンプルを開けてください。
 - －アンプルをアンプルプロテクターに差し込んでください。
 - －アンプルプロテクターに入ったアンプルを片手で垂直に持ってください（白色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向に押します。
 - －キャップの溝面部分に親指を置き、前に押出してアンプル先端部を折ります。
 - －アンプルをアンプルプロテクターから取り出し、次の使用のため近くに置きます。
 - －キャップを注意深く取り除きます。



- ・ 提示された性能データは、本書に記載された操作方法を用いて得られたものです。方法の変更や修正は、同定結果に影響する可能性があります。
- ・ 検査結果の解釈は、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検像及び必要に応じて実施される他の検査結果（特に薬剤感受性パターンの結果）を考慮して行う必要があります。

※※■貯法

プレート：

アピ リステリアプレートは、包装に表示されている使用期限まで2～8℃で保存してください。

培地：

サスペンションメディウムは、包装に表示されている使用期限まで2～30℃で保存してください。

添加試薬：

添加試薬は、暗所で包装に表示されている使用期限まで2～8℃で保存してください。

ZYM B試薬は、暗所で包装に表示されている使用期限まで2～8℃で保存してください。

アンプルを開封し、滴下瓶に試薬調製後は、2週間以内に使用してください。また、試薬を開封した日時を滴下瓶に記入して管理してください。

ZYM B試薬は光に敏感な試薬であるため、使用後は直ぐに冷蔵庫に戻して保管してください。

調製後のZYM B試薬が黄色～琥珀色を呈していることを確認してからご使用ください。

※※■添加試薬の使用方法

- ・ 本添付文書中の“取扱い注意事項”で指示されている方法でZYM B (R1) 溶媒のアンプルを開け（キャップは滴下に使用します）、ZYM B (R2) 試薬のボトルに移してください。
- ・ 添加試薬を1滴滴下します。
- ・ 使用後、注意して試薬瓶を密閉し、“貯法”の項に従って保管してください。

※■検体（採取及び前処理）

臨床材料や他の検体を直接使用してアピリステリアで検査することはできません。検査に使用する菌株は、通常の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。臨床検査以外では微生物の分離に特にALOA®寒天培地が使用できません。

■操作方法

コロニーの選択

- ・ 菌株が純培養されていることを確認します。
- ・ リステリア菌であることを確認します：グラム陽性桿菌、多形性、25℃で運動性を示し37℃で示さない、カタラーゼ陽性、オキシダーゼ陰性。
- ・ しばしば検体にいくつかのタイプのリステリアと一緒に混入することがあるため、よく分離されたコロニーを血液寒天培地で純培養することをお勧めします。36±2℃で24時間培養してください。

注意：アピ リステリアプレートに使用する菌を培養するために下記の培地が使用できます。：

- ーコロニアまたはトリブケースソイ基礎の非選択性血液寒天培地（抗生剤含有可）
- ーアピ リステリア中で細菌の酵素活性を阻害するようなマックブライド（McBride）寒天培地を除く、選択培地が使用可能。マックブライド寒天培地を使用する場合は、血液寒天培地で継代培養してください。

プレートの準備

- ・ 培養容器（トレイ及び蓋）を準備し、約3 mLの蒸留水または脱イオン水（またはCl₂、CO₂などのガスを放出する可能性のある添加物や化合物を含有しない水）を凹凸のあるトレイに入れて、湿潤環境を作ります。
- ・トレイのフラップ部分に、試験に用いる菌株の情報（検体番号等）を記載します。（操作中に蓋がプレート間で入れ替わる危険があるため、蓋に記入することは避けてください。）
- ・ 包装を開封してプレートを取り出します。
- ・ プレートを培養容器に入れます。
- ・ 乾燥剤を廃棄してください。

菌液の調製

- ・ 本添付文書中の“取扱い注意事項”で指示されている方法でサスペンションメディアウム(2mL)のアンフルを開けます。
- ・ アピピペットを使ってよく分離されたコロニー数個を釣菌します。採取した菌は、培養時間が18～24時間の若いものを使用してください。
- ・ マクファーランド濁度1になるように菌液を調製し、直ちに使用してください。
- ・ 溶血性のタイプを観察し、成績記入用紙に記録してください。この結果は、追加試験として利用できます。

プレートへの菌液接種

- 各チューブに調製菌液を接種してください。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、アピピペットの先をカップの側面に付けて操作します。
- **[DIM]** 試験 (約 100 μ L) には、カップとチューブの両方に菌液を接種します。その時、凸面のメニスカスの形成を避けてください。
- ESC~TAG試験のチューブ部分 (約50 μ L) のみ菌液を接種します。

注意：菌液の接種量は重要です。チューブへの接種量が不十分または過剰になると偽陽性または偽陰性の原因になることがあります。

- 培養容器に蓋をしてください。
- 36 $\pm$ 2 $^{\circ}$ Cで18~24時間、好気条件下で培養してください。

■判定及び解析

プレートの判定

- [DIM]** 試験にZYM B試薬を1滴添加してください。
- 本添付文書内の判定表に従って3分以内に全ての反応を判定してください。
- 成績記入用紙に陽性または陰性 (+/-) を記入します。
- 溶血性のタイプについても成績記入用紙に記入してください。この結果は、プレートの解析には考慮されません。

解析

同定はプロファイル番号を用いて行います。

- 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つずつのグループに分けられ、各項目に1、2、4の数値が与えられています。グループ毎に陽性反応を示した数値が加算され、4桁のプロファイル番号が得られます。

※ 同定：

専用データベース (V 2.0) を使用して実施します。

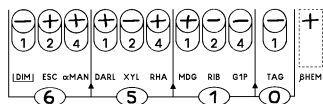
*プロファイルリストを用いる場合：

本添付文書内のリストから該当するプロファイル番号を探し出します。

プロファイルリストは、全てのプロファイル番号を網羅していないため、該当するプロファイル番号が見つからない場合、APIWEB®アピウェブで検索してください。

*APIWEB®同定ソフトウェアを用いる場合：

コンピュータのキーボードを使って4桁のプロファイル番号を入力します。



6 510 *Listeria monocytogenes*

■品質管理

本培地、プレート及び試薬は、各製造工程において体系的に品質管理が行われています。出荷後の本品の性能が許容範囲内であることを確認するために合理的品質管理試験を実施できます。試験は次の手順に従って実施してください。この方法は、CLSI M50-Aに記述された基準に該当しています。本品の基質の中で最も保存環境等の影響を受けやすい”DIM” “XYL” の性能評価を *Listeria innocua* ATCC® 33090™を用いて実施します。この試験によって、試薬の劣化を検出することが可能です。

統合的品質管理試験が必要な場合には、大部分の項目を対象に陽性または陰性を示すことを、下記の3菌種を用いて試験を実施してください。

1. *Listeria innocua* ATCC® 33090™

2. *Listeria ivanovii* ATCC® BAA-139™

3. *Listeria monocytogenes* ATCC® 19115™

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	DIM	ESC	αMAN	DARL	XYL	RHA	MDG	RIB	G1P	TAG
1.	+	+	+	+	−	+	+	−	−	−
2.	+	+	−	+	+	−	V	−	+*	−
3.	−	+	+	+	−	+	+	−	−	−

* 稀に陰性（−）を示します。

- ・ 上記結果はコロニアヒツジ血液寒天培地で培養したもので得られたプロファイルです。
- ・ 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ください。

■使用制限

- ・ アピ リステリアは、専用のデータベースに含まれているリステリア属に属する菌種の同定のみを行います（“陽性率表”を参照してください）。データベースに含まれない菌種の同定やデータベースに含まれていない菌種であることを確認する目的には使用できません。
- ・ 単一分離菌から得られた純培養菌のみを使用してください。

■期待値結果の範囲

各種生化学性状反応の期待値結果の範囲については本添付文書の最後に記載されている“陽性率表”を参照してください。

※■性能

24時間培養後：

本データベースに属する保存菌株及び各種材料由来の菌株641株が検討されました：

−98.6%の菌株が正確に同定されました（追加試験を含む）。

−0.5%の菌株は同定不能でした。

−0.9%の菌株は誤同定でした。

■廃棄処理

使用後試薬、未使用試薬及び汚染された器具類は、感染の危険性があるものとして適切に廃棄してください。廃棄物や廃液の取扱いは、その種類や危険度に応じて適切な規程の元に各施設で責任を持って処理及び廃棄（外部専門業者に処理及び廃棄依頼）を行ってください。

■主要文献

1. BEUMER R.R., TE GIFFEL M.C., KOK M.T., ROMBOUTS F.M. Confirmation and identification of *Listeria* spp. (1996) Lett. Appl. Microbiol., 22 (6), 448-52.
2. BILLE J. *Listeria*. (1991) Méd. et Hyg., 49, 621-624.
3. BILLE J., CATIMEL B., BANNERMAN E. *et al.* API LISTERIA, a new and promising One Day System to Identify *Listeria* isolates. (1992) Appl. Environ. Microbiol., 58, 1857-1860.
4. BOERLIN P., ROCOURT J., PIFFARETTI J.C. Taxonomy of the Genus *Listeria* by using Multilocus Enzyme Electrophoresis. (1991) Int. J. Syst. Bacteriol., 41, 59-64.
5. FUJISAWA T., MORI M. Evaluation of media for determining haemolytic activity and that of API Listeria system for identifying strains of *Listeria monocytogenes* (1994) J. Clin. Microbiol., 32 (4), 1127-9.
6. KERR K.G., ROTOWA N.A., HAWKEY P.A. *et al.* Evaluation of the Mast ID and API 50 CH Systems for Identification of *Listeria* spp. (1990) Appl. Environ. Microbiol., 56, 657-660.
7. MacGOWAN A.P., MARSHALL R.J., REEVES D.S. *et al.* Evaluation of the API 20 STREP System for Identifying *Listeria* species. (1989) J. Clin. Pathol., 42, 548-550.
8. MacLAUCHLIN J. The identification of *Listeria* species (1997) Int. J. Food Microbiol., 38 (1), 77-81.
9. ROCOURT J., CATIMEL B. Caractérisation biochimique des espèces du genre *Listeria*. (1985) Zbl. Bakt. Hyg., A 260, 221-231.
10. ROCOURT J. Listériose humaine : épidémiologie et prévention. (1991) La lettre de l'infectiologue, VI, 14-18.
11. SNEATH P.H.A., MAIR N.S., SHARPE M.E., HOLT J.G. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Ninth Edition Vol. 2 (1986) Williams and Wilkins, Co., Baltimore, MD.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute, M50-A, Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems; Approved Guideline, Vol 28 n° 23.

■問い合わせ先

シスメックス株式会社

〒141-0032 東京都品川区大崎一丁目2番2号 大崎セントラルタワー8階

TEL 0120-022-328

シスメックス・バイオメリュー株式会社

〒141-0032 東京都品川区大崎一丁目2番2号 大崎セントラルタワー8階

TEL 03-6834-2666 (代表)

■製造販売業者の氏名または名称及び住所

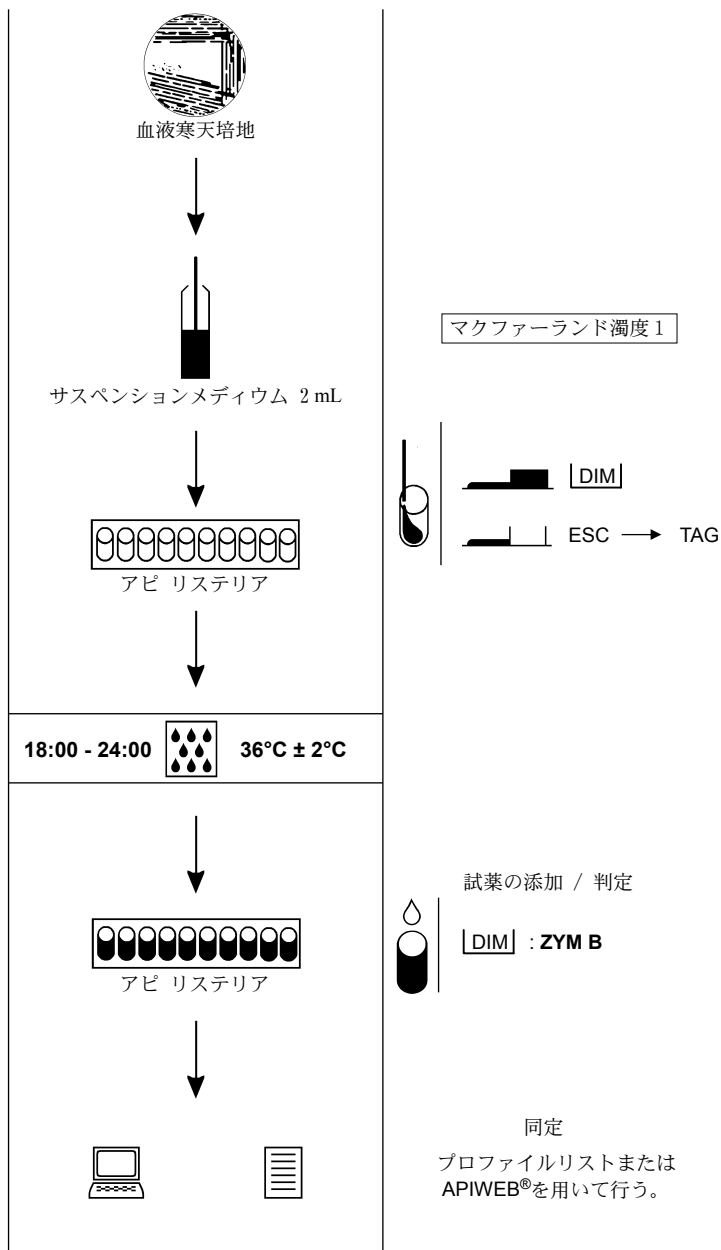
シスメックス・バイオメリュー株式会社

〒141-0032 東京都品川区大崎一丁目2番2号 大崎セントラルタワー8階

※※ 本添付文書は、下記Webサイトからダウンロードできます。

<http://products.sysmex-biomerieux.net/>

操作手順



プロファイルリスト

2 150	<i>Listeria ivanovii</i>	3 750	<i>Listeria ivanovii</i>
2 170	<i>Listeria ivanovii</i>	3 770	<i>Listeria ivanovii</i>
2 250	<i>Listeria ivanovii</i>	6 010	<i>Listeria monocytogenes</i>
2 310	<i>Listeria seeligeri/ivanovii</i>	6 110	<i>Listeria monocytogenes/innocua</i>
2 311	<i>Listeria welshimeri</i>	6 120	<i>Listeria grayi</i>
2 330	<i>Listeria ivanovii</i>	6 130	<i>Listeria grayi</i>
2 340	<i>Listeria ivanovii</i>	6 150	<i>Listeria monocytogenes</i>
2 350	<i>Listeria ivanovii</i>	6 310	<i>Listeria seeligeri/welshimeri</i>
2 370	<i>Listeria ivanovii</i>	6 311	<i>Listeria welshimeri</i>
2 410	<i>Listeria monocytogenes</i>	6 410	<i>Listeria monocytogenes</i>
2 510	<i>Listeria monocytogenes</i>	6 450	<i>Listeria monocytogenes</i>
2 550	<i>Listeria monocytogenes/ivanovii</i>	6 510	<i>Listeria monocytogenes</i>
2 711	<i>Listeria welshimeri</i>	6 520	<i>Listeria grayi</i>
2 750	<i>Listeria ivanovii</i>	6 550	<i>Listeria monocytogenes</i>
2 770	<i>Listeria ivanovii</i>	6 701	<i>Listeria welshimeri</i>
3 110	<i>Listeria seeligeri/innocua/ivanovii</i>	6 711	<i>Listeria welshimeri</i>
3 120	<i>Listeria grayi</i>	7 110	<i>Listeria innocua</i>
3 130	<i>Listeria grayi/ivanovii</i>	7 111	<i>Listeria welshimeri</i>
3 150	<i>Listeria ivanovii</i>	7 120	<i>Listeria grayi</i>
3 170	<i>Listeria ivanovii</i>	7 130	<i>Listeria grayi</i>
3 210	<i>Listeria seeligeri/ivanovii</i>	7 301	<i>Listeria welshimeri</i>
3 250	<i>Listeria ivanovii</i>	7 310	<i>Listeria seeligeri/welshimeri/innocua</i>
3 270	<i>Listeria ivanovii</i>	7 311	<i>Listeria welshimeri</i>
3 300	<i>Listeria seeligeri/ivanovii</i>	7 320	<i>Listeria grayi</i>
3 310	<i>Listeria seeligeri/ivanovii</i>	7 330	<i>Listeria grayi</i>
3 311	<i>Listeria welshimeri</i>	7 500	<i>Listeria innocua</i>
3 330	<i>Listeria ivanovii</i>	7 510	<i>Listeria innocua</i>
3 340	<i>Listeria ivanovii</i>	7 511	<i>Listeria welshimeri</i>
3 350	<i>Listeria ivanovii</i>	7 520	<i>Listeria grayi</i>
3 360	<i>Listeria ivanovii</i>	7 530	<i>Listeria grayi</i>
3 370	<i>Listeria ivanovii</i>	7 701	<i>Listeria welshimeri</i>
3 510	<i>Listeria innocua</i>	7 710	<i>Listeria welshimeri/innocua</i>
3 520	<i>Listeria grayi</i>	7 711	<i>Listeria welshimeri</i>
3 711	<i>Listeria welshimeri</i>	7 720	<i>Listeria grayi</i>
3 730	<i>Listeria ivanovii</i>		

■判定表

試験項目	基質	反応	結果	
			陰性	陽性
DIM	酵素基質	<i>L. innocua</i> / <i>L. monocytogenes</i> の鑑別	<u>ZYM B / 3分以内</u> 薄いオレンジ色 ピンクベージュ色 灰ベージュ色	
ESC	エスクリン クエン酸鉄	加水分解（エスクリン）	薄い黄色	黒色
α MAN	4-ニトロフェニル- α D-マンノピラノシド	α -マンノシダーゼ	無色	黄色
DARL	D-アラビトール	酸性化（D-アラビトール）	赤色 / オレンジ～赤色	黄色 / 黄色～オレンジ色
XYL	D-キシロース	酸性化（キシロース）		
RHA	L-ラムノース	酸性化（ラムノース）		
MDG	メチル- α D-グルコピラノシド	酸性化（メチル- α D-グルコピラノシド）		
RIB	D-リボース	酸性化（リボース）		
GIP	グルコース-1-リン酸塩	酸性化（グルコース-1-リン酸）		
TAG	D-タガトース	酸性化（タガトース）		

- ・ 表示使用量は、使用する力価に応じて調製されています。
- ・ 特定のカップには動物由来の原料として特にペプトンが含有しています。

陽性率表 (36 ± 2 °C、18~24時間 ± 2 時間培養、単位%)

API® <i>Listeria</i> V2.0	DIM	ESC	αMAN	DARL	DXYL	RHA	MDG	RIB	G1P	TAG
<i>List.grayi</i>	99	100	99	99	1	16	33	100	0	0
<i>List.innocua</i>	99	100	98	100	2	66	98	0	0	0
<i>List.ivanovii</i>	88	100	0	99	97	4	99	33	91	0
<i>List.monocytogenes</i>	0	100	98	97	0	98	99	0	5	0
<i>List.seeligeri</i>	97	100	5	99	99	0	99	0	0	0
<i>List.welshimeri</i>	90	100	96	100	98	76	99	0	0	97

製造販売元 シスメックス・ビオメリュー株式会社

〒141-0032 東京都品川区大崎一丁目2番2号 大崎セントラルタワー8階

