

この添付文書をよく読んでから使用してください。

体外診断用医薬品

※※2017年6月改訂（第9版）

※2016年5月改訂（第8版）

承認番号 16200AMY00227000

品番 **20 500**

培養同定・一般細菌キット

アピスタフ

(API Staph)

ブドウ球菌とミクロコッカス、その他の関連菌種の同定用

【全般的な注意】

- 本品は、体外診断用であり診断以外の目的に使用しないでください。
- 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判断してください。
- 添付文書以外での使用方法については保証致しません。
- 使用する機器の添付文書等をよく読んでから使用してください。

【形状・構造等（キットの構成）】

＜構成試薬の名称＞

1. アピスタフ プレート（基質）の成分

	基質	記号
(1)	ブドウ糖	GLU
(2)	果糖	FRU
(3)	D-マンノース	MNE
(4)	マルトース	MAL
(5)	乳糖	LAC
(6)	D-トレハロース	TRE
(7)	D-マンニトール	MAN
(8)	キシリトール	XLT
(9)	D-メリビオース	MEL
(10)	硝酸カリウム	NIT
(11)	β-ナフチルリン酸ナトリウム	PAL
(12)	ピルビン酸ナトリウム	VP
(13)	D-ラフィノース	RAF
(14)	D-キシロース	XYL
(15)	白糖	SAC

(16)	α -メチル-D-グルコシド	MDG
(17)	N-アセチル-D-グルコサミン	NAG
(18)	L-アルギニン	ADH
(19)	尿素	URE

2. アピスタフ液体培地の成分

－酵母エキス	0.5g
－バクトペプトン（ウシ／ブタ由来）	10g
－塩化ナトリウム	5g
－微量元素溶液	10mL
脱イオン水で1000mLになるように調製	
pH：7.0 - 7.4	

<付属品>

－培養容器	25組
－成績記入用紙	25枚

【使用目的】

ブドウ球菌及びマイクロコッカスの同定

【測定原理】

<原理>

アピスタフ プレートは乾燥基質を含む20のマイクロチューブで構成されています。アピスタフ液体培地で調製された菌液を接種し、乾燥基質を溶解します。培養中の代謝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、同定は同定ソフトウェアを利用して行います。

<特徴>

アピスタフはブドウ球菌とマイクロコッカス、*Kocuria* 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。

【操作上の注意】

- 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スタフで試験することはできません。試験に使用する菌株は、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。
- アピスタフは、専用のデータベースに含まれてい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。

- ・ 単一コロニーの純培養菌のみを使用してください。

※【用法・用量（操作方法）】

＜試薬の調製方法＞

- ・ VP 1、VP 2、NIT 1、NIT 2、ZYM A 及びZYM B 試薬はアンプルを転倒し垂直に保ち、試薬をすべて滴ビンに移し入れてください。または、乾燥ピペットを用いて、試薬をすべて滴ビンに移し入れてください。
- ・ 添加試薬は暗所に2～8℃で保存（ZYM A 試薬、VP 1 試薬およびNIT 1 試薬は2～30℃で保存）してください。使用期限は、外箱の☒マークに記載してあります。滴ビンに移し替えた試薬は、移し替えた日付を滴ビンに記入し、ZYM Bは2週間以内、それ以外は1ヶ月以内に使用してください。
- ・ ZYM A 試薬は2～8℃で保存中に沈殿が生じることがありますが、性能に影響はありません。このような場合、試験室内に放置して、沈殿が消失してから使用してください。
- ・ ZYM B 試薬は光に敏感な試薬であるため、使用時にのみ冷蔵庫から取り出し、使用後はすぐに戻してください。長時間、試薬を試験室内に放置しないでください。調製後、ZYM B 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。
- ・ ZYM B試薬の有効性を確認するために、本添加試薬を調製後、最初に使用する際は、アンプル毎に品質管理試験を行ってください。品質管理試験菌株は、品質管理の項目に記載の *Staphylococcus xylosus* ATCC® 700404TM を用いることをお勧めします。

＜必要な器具・器材・試料等＞

本品を使用の際に必要な試薬及び器具

試薬

- －ミネラルオイル（品番70100）
- －添加試薬：VP 1 + 2 試薬（品番70422）
NIT 1 + 2 試薬（品番70442）
ZYM A 試薬（品番70494）
ZYM B 試薬（品番70493）
- －マクファーランドスタンダード（品番70900）
- －APIWEB® 同定ソフトウェア（品番 40011）（バイオメリュー製品）

器具

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

＜測定（操作）法＞

プレートの準備

- 培養容器（トレイと蓋）を準備し、約5 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。

菌液の調製

- コロンビア血液寒天培地（またはP寒天培地）に菌株をサブカルチャーし、18～24時間、36±2℃で培養します。
- 同定試験用菌株が *Micrococcaceae* 科であることを形態学的検査、グラム染色、カタラーゼ試験等を行ない確認してください。また、単一に分離されていることを確認してください。
- 本添付文書中の“使用上または取扱い上の注意”で指示されている方法でアピスタフ液体培地のアンブルを開けます。
- 培養時間が18～24時間の新鮮なコロニーを使用してマクファーランド濁度0.5の菌液を調製し、直ちに使用してください。

プレートへの菌液接種

- アピピペットを用いてアピスタフ液体培地をマイクロチューブに分注します。チューブ部分にのみ菌液を接種し、カップ部分には接種しないでください（マイクロチューブ部分に少し多めに分注します）。チューブ底部に気泡が形成されるのを避けるため、プレートを少し前方に傾けて、アピピペットの先をカップの側面に付けて操作します。
- 嫌気状態にするため、ADHとUREに凸面状になるまでミネラルオイルを滴下してください。
- 培養容器に蓋をしてください。
- 36 ± 2℃で18～24時間培養してください。

【測定結果の判定法】

プレート判定

- 培養後、次の項目に添加試薬をそれぞれ1滴ずつ滴下し、判定表に従って全ての反応の読み取りを行なってください：
－VP 試験：VP1 及び VP2 試薬
10 分後に紫色を呈すれば陽性です。10分後に淡いピンク色または薄いピンク色が観察された場合は陰性です。

－NIT 試験：NIT 1 及び NIT 2 試薬

10 分後に赤色を呈すれば陽性です。

※※－PAL 試験：ZYM A 及び ZYM B 試薬

10 分後に紫色を呈すれば陽性です。10 分後に無色、ピンクがかったベージュ色、または非常に淡い紫色が観察された場合は陰性です。

- 成績記入用紙に全ての判定結果を記入します。

リゾスタフィン耐性試験

以下の手順または培地の製造元が推奨する手順に従い、P寒天培地でリゾスタフィン耐性試験を行ないます。

P寒天培地の表面に菌液（約 10^7 個/mL）を分注します。

36 ± 2℃で10～20分間乾燥させます。

寒天培地の表面にリゾスタフィン溶液（200 µg/mL）を1滴滴下します。

35～37℃で18～24時間培養します。

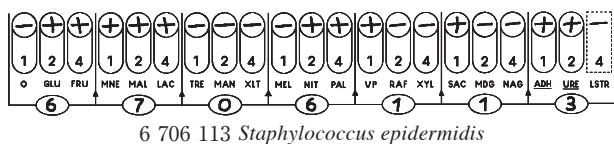
培養した菌の全体または一部に溶菌が認められた場合、リゾスタフィン酵素感受性とします。

この試験結果は21番目の試験とします。リゾスタフィン耐性の場合は陽性としてください。

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、7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 5.0）を利用して実施します。
* 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7桁のプロファイル番号を入力します。



【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。合理化した品質管理は、輸送／保管後にアピスタフの性能を確認するために用いられます。本法は、添付文書の測定法に準じて実施され、またCLSI® M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systemsの基準を満たしています。

XYLの性能評価には*Staphylococcus capitis* ATCC® 35661™が用いられます。バイオメリュー社により実施された試験では、XYLがアピスタフを評価をする上で最も信頼

性が高い項目であることが確認されています。本試薬を用いる際には*Staphylococcus capitis* ATCC® 35661TMを試薬劣化の確認のために使用することができます。

プレートの広範囲の品質管理試験を実施する場合は、下記の3種類の試験菌株を用い、アピスタフ試験項目の陽性および陰性反応を確認してください。

1. *Staphylococcus capitis*

2. *Staphylococcus xylosus*

3. *Staphylococcus lentus*
- ATCC® 35661TM

ATCC® 700404TM

ATCC® 700403TM

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

	0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL		NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE
1.	-	+	+	+	-	-	-	V	-	-		+	-	+	-	-	-*	-	-	+	-
2.	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-		+	+	V	-	+	+	-	+	-	+
3.	-	+	+	+	+	+	+	+	V	+		+	V	V	+	+	+	+	+	-	-

* この結果は、使用する培地により変化することがあります。
上記結果はヒツジ血液寒天培地で培養したコロニーから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。

- 【性能】
- 感度・正確性

標準試験菌株を用いて、「用法・用量（操作方法）」欄に記載の方法に従って試験するとき、その同定結果は、用いた標準試験菌株の菌種名と一致します。

● 同時再現性

標準試験菌株を用いて、「用法・用量（操作方法）」欄に記載の方法に従って3回同時に試験するとき、同定結果は3回とも用いた標準試験菌株の菌種名と一致します。

● 測定範囲

本品の使用は、ブドウ球菌、マイクロコッカス及び*Kocuria*の同定に限られます。

- < 相関 >
- 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1,689株が検討されました：

-88.6 %の菌株が正確に同定されました（追加試験を含む）。

-4.6 %の菌株は同定不能でした。

-6.7 %の菌株は誤同定でした。

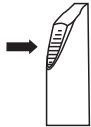
【使用上または取扱い上の注意】

＜取扱い上（危険防止）の注意＞

- 体外診断用医薬品及び微生物制御検査用
- 微生物試験従事者が使用してください。
- 本キットにはペプトン等の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、飲込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、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。

＜使用上の注意＞

- 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。
- 以下の手順に従い、注意してアンプルを開けてください。
 - ー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。
 - ー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）。
 - ーキャップをできる限り下向に押します。
 - ー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。
 - ー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。
 - ーキャップを注意深く取り除きます。
- 添付文書に示されている相関データは、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。
- 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検像及び必要となった際に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。
- 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。



<廃棄上の注意>

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を依頼する）を行ってください。

【貯蔵方法・有効期間】

アピスタフ プレート（基質）及びアピスタフ液体培地は、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。有効期間は1年です。使用期限は、プレートのパッケージおよび外箱の☒マークに記載してあります。

【包装単位】

25回用

【主要文献】

1. BALDELLON CH., MEGRAUD F. Characterization of *Micrococcaceae* Strains Isolated from the Human Urogenital Tract by the Conventional Scheme and a Micromethod. (1985) J. Clin. Microbiol., 21, 3, 474-477.
2. BRUN Y., FLEURETTE J., FOREY F. Micromethod for Biochemical Identification of Coagulase Negative Staphylococci. (1978) J. Clin. Microbiol., 8, 5, 503-508.
3. GEMMELL C.G., DAWSON J.E. Identification of Coagulase-Negative Staphylococci with the API STAPH system. (1982) J. Clin. Microbiol., 16, 5, 874-877.
4. GIGER O., CHARILAOU C.C. and CUNDY K.R. Comparison of the API Staph-Ident and DMS Staph-Trac Systems with Conventional Methods used for the Identification of Coagulase-Negative Staphylococci. (1984) J. Clin. Microbiol., 19, 1, 68-72.
5. KLOOS W.E., TORNABENE T.G., SCHLEIFER K.H. Isolation and Characterization of Micrococci From Human Skin, Including Two New Species : *Micrococcus lylae* and *Micrococcus kristinae*. (1974) Int. J. Syst. Bacteriol., 24, 1, 79-101.
6. LANGLOIS B.E., HARMON R.J., AKERS K. Identification of *Staphylococcus* Species of Bovine Origin with the DMS STAPH-TRAC System. (1984) J. Clin. Microbiol., 20, 2, 227-230.
7. MADDUX R.L., KOEHNE G. Identification of *Staphylococcus hyicus* with the API STAPH Strip. (1982) J. Clin. Microbiol., 15, 6, 984-986.
8. MURRAY P.R., BARON E.J., JORGENSEN J.H., PFALLER M.A., YOLKEN R.H. Manual of Clinical Microbiology. 8th Edition. (2003) American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. PASCOLI L., CHIARADIA V., MUCIGNAT G., SANTINI G. Identification of Staphylococci by the API STAPH, Sceptor, Rosco and Simplified Lyogroup Systems. (1986) Eur. J. Clin. Microbiol., 5, 6, 669-671.
10. RADEBOLD K., ESSERS L. Evaluation of the API-STAPH Micro-System for Routine Identification of Staphylococci. (1980) Arzt. Lab 26, 236-238

11. 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 CSセンター

〒651-2241 神戸市西区室谷1丁目3番地の2

TEL 0120-265-034

シスメックス・バイオメリユー株式会社

〒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】

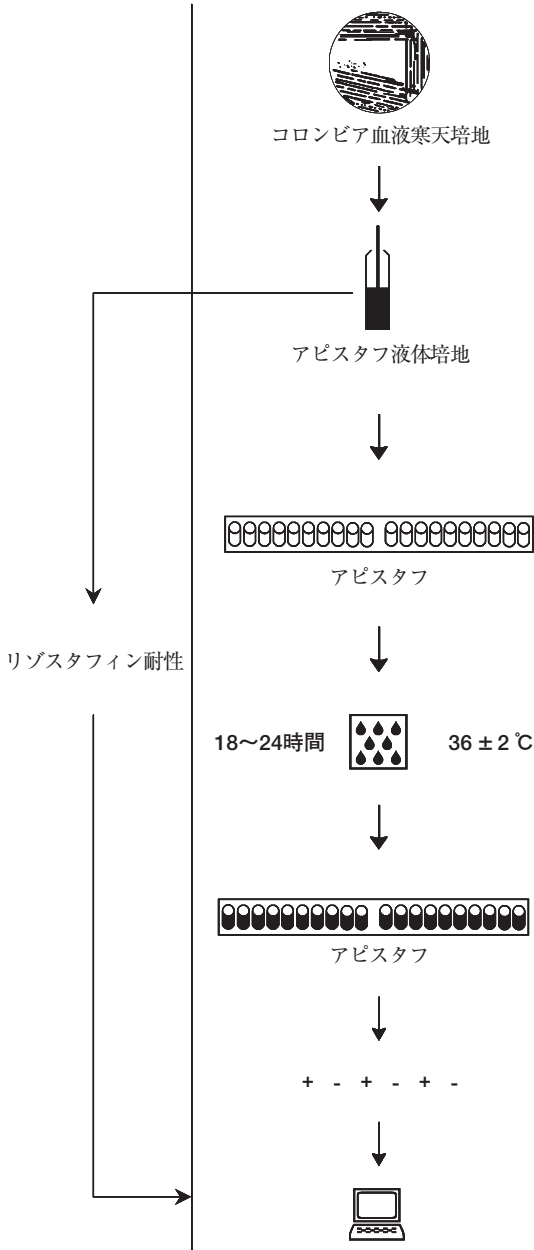
シスメックス・バイオメリユー株式会社

〒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



- 球菌
- グラム陽性
- カタラーゼ陽性

菌液調製

マクファーランド濁度0.5



0 → URE

ADH
URE

ミネラルオイルを重層

添加試薬



VP : VP 1 + VP 2 試薬

NIT : NIT 1 + NIT 2 試薬

PAL : ZYM A + ZYM B 試薬

判定

同定

APIWEB®を用いて行う。

※※■判定表

試験項目	基質	反応 / 酵素	結果	
			陰性	陽性
0	なし	陰性コントロール	赤色	—
GLU	ブドウ糖	(陽性コントロール) (D-グルコース)	赤色 *	黄色
FRU	果糖	酸性化 (D-フルクトース)		
MNE	D-マンノース	酸性化 (D-マンノース)		
MAL	マルトース	酸性化 (マルトース)		
LAC	乳糖	酸性化 (ラクトース)		
TRE	D-トレハロース	酸性化 (D-トレハロース)		
MAN	D-マンニトール	酸性化 (D-マンニトール)		
XLT	キシリトール	酸性化 (キシリトール)		
MEL	D-メリビオース	酸性化 (D-メリビオース)		
NIT	硝酸カリウム	硝酸塩の亜硝酸塩への還元	NIT 1 試薬 + NIT 2 試薬 / 10分後に判定 無色-淡いピンク色 赤色	
PAL	β-ナフチルリン酸ナトリウム	アルカリホスファターゼ	ZYM A 試薬 + ZYM B 試薬 / 10分後に判定 無色、ピンクがかったベージュ色、非常に淡い紫色 紫色	
VP	ビルビン酸ナトリウム	アセチルメチルカルビノール産生 (Voges Proskauer)	VP 1 試薬 + VP 2 試薬 / 10分後に判定 無色-淡いピンク色 紫色-ピンク色	
RAF	D-ラフィノース	酸性化 (ラフィノース)	赤色	黄色
XYL	D-キシロース	酸性化 (キシロース)		
SAC	白糖	酸性化 (サッカロース)		
MDG	α-メチル-D-グルコシド	酸性化 (α-メチル-D-グルコシド)		
NAG	N-アセチル-D-グルコサミン	酸性化 (N-アセチル-D-グルコサミン)		
ADH	L-アルギニン	アルギニンジヒドロラーゼ	黄色	オレンジ色-赤色
URE	尿素	ウレアーゼ	黄色	赤色-紫色

酸性化のテスト項目の判定は、陰性コントロール (0) 及び陽性コントロール (GLU) と比較して行なってください。

* MNE 及び XLT の前後の項目が陽性で、かつこれらの項目がオレンジ色を呈している場合は、MNE 及び XLT の結果を陰性としてください。

陽性率表 (36± 2℃、18~24時間培養、単位%)

API® Staph	V5.0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL
<i>Koc.varians/rosea</i>	91	92	8	1	1	8	1	0	0	0	75	4	8	4	8
<i>Kocuria kristinae</i>	99	96	99	90	9	84	3	0	0	0	6	3	93	0	0
<i>Micrococcus</i> spp	2	4	0	1	0	1	0	0	0	0	8	15	1	0	0
<i>Staph.aureus</i>	100	100	95	96	88	91	80	0	1	83	97	78	1	0	0
<i>Staph.auricularis</i>	100	99	36	72	10	90	9	0	0	81	0	1	0	0	0
<i>Staph.capitis</i>	100	99	80	43	22	2	36	0	0	86	23	90	0	0	0
<i>Staph.caprae</i>	100	99	70	10	75	74	10	1	0	99	95	99	0	0	0
<i>Staph.carnosus</i>	100	100	99	0	99	99	99	0	0	99	83	83	0	0	0
<i>Staph.chromogenes</i>	100	100	99	79	100	100	13	0	0	96	96	1	0	0	1
<i>Staph.cohnii cohnii</i>	100	99	66	99	2	97	88	33	0	21	66	94	0	0	0
<i>Staph.cohnii ureal.</i>	100	100	99	98	98	99	94	64	0	1	94	87	0	0	0
<i>Staph.epidermidis</i>	100	99	70	99	81	2	0	0	1	80	84	68	1	0	0
<i>Staph.haemolyticus</i>	99	75	5	99	80	91	60	0	1	78	15	57	0	0	0
<i>Staph.hominis</i>	98	94	41	97	50	86	28	0	1	82	27	70	1	0	0
<i>Staph.hyicus</i>	100	99	99	0	87	99	0	1	0	90	90	15	0	0	0
<i>Staph.lentus</i>	100	100	100	100	100	100	100	7	99	92	21	57	100	99	99
<i>Staph.lugdunensis</i>	100	89	88	99	66	99	0	0	0	99	16	99	0	0	0
<i>Staph.saprophyticus</i>	100	99	2	97	90	99	88	22	1	35	14	79	1	0	0
<i>Staph.schleiferi</i>	100	80	100	0	1	71	0	0	0	99	97	99	0	0	0
<i>Staph.sciuri</i>	99	99	99	99	70	93	98	0	0	83	67	30	0	16	16
<i>Staph.simulans</i>	100	100	57	11	95	92	73	4	0	83	27	38	0	4	4
<i>Staph.warneri</i>	99	99	50	98	19	96	70	0	0	23	16	90	0	0	0
<i>Staph.xylosus</i>	100	100	92	81	85	95	90	30	9	82	75	67	11	82	82

SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR
4	0	1	1	29	95
90	12	0	0	0	97
1	0	1	11	11	91
97	2	90	80	80	1
40	0	15	90	1	1
50	0	1	85	35	10
0	0	1	99	60	1
0	0	100	100	0	1
99	0	31	89	95	1
2	0	9	2	1	1
1	0	98	0	99	1
97	4	18	73	88	10
98	13	83	85	1	1
97	4	50	43	84	1
99	2	93	100	68	1
100	28	100	0	1	1
100	0	90	1	50	1
96	1	70	30	65	1
0	0	94	99	0	1
95	7	68	0	0	1
97	2	90	97	84	1
99	0	6	77	97	1
87	10	80	5	90	1

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

