

培養同定・一般細菌キット

I D テ ス ト ・ E B - 2 0

** ブドウ糖発酵性グラム陰性桿菌同定用

【全般的な注意】

- 1.本品は体外診断用医薬品であり、それ以外の目的に使用しないでください。
- 2.測定結果に基づく診断は、臨床症状や他の検査結果等と併せて担当医師が総合的に判断してください。
- 3.添付文書以外の使用方法については保証できませんので、あらかじめご了承ください。

【形状・構造等（キットの構成）】

・ ID テスト・EB プレート	25 検体用 20 穴×25 枚
・ ID テスト・EB ブイヨン	2.5mL×25 本
・ 滅菌流動パラフィン	20mL×1 本
・ 成績表	13 枚×2 組

反応系に関連する成分

(ID テスト・EB プレート)	1 プレート中
チオ硫酸ナトリウム	100 μg
クエン酸鉄(Ⅲ)水和物	30 μg
エスクリン	100 μg
フェニルアラニン	100 μg
トリプトファン	100 μg
ピルビン酸ナトリウム	10 μg
クエン酸ナトリウム	1000 μg
リジン塩酸塩	1000 μg
アルギニン塩酸塩	1000 μg
オルニチン塩酸塩	1000 μg
2-ニトロフェニル-β-D-ガラクトピラノシド	100 μg
尿素	2000 μg
マロン酸二ナトリウム	450 μg
アドニット	1500 μg
イノシトール	1000 μg
ラフィノース	1000 μg
ラムノース	1500 μg
ソルビトール	1000 μg
白糖	1000 μg
マンニット	1000 μg
アラビノース	1000 μg

* 【使用目的】

ブドウ糖発酵性桿菌の同定

* 【測定原理】

I D テ ス ト ・ E B - 2 0 は、微量テスト法と数値同定法の理論に基づき開発されたもので、オキシダーゼテストと、20 種の生化学的性状に運動性を加えた 21 種の性状の陽性・陰性のパターンにより、ブドウ糖発酵性グラム陰性桿菌を同定するシステムです。

【操作上の注意】

1.被検菌の分離および増菌

被検菌は必ず新鮮な純培養菌を用い、接種菌液濃度、接種菌液量、滅菌流動パラフィン重層量および各試液添加量は所定の濃度・量を厳守してください。

2.妨害物質

反応の阻害物質として最も一般的なものは、分離培養に用いた培地の培地成分のもち込みがあります。特に糖（ブドウ糖など）を高濃度に含有した培地からのもち込みには十分注意してください。

3.その他

- 1)本システムの同定対象菌種以外の菌種をキットに供試した場合、コードなし、あるいは誤同定の原因となります。
- 2)本システムにより、*Salmonella*, *Shigella* に同定された株については血清学的試験法による確認が必要です。

【用法・用量（操作方法）】

被検菌の分離および増菌

- 1.検体を血液寒天培地あるいはその他の分離用培地に塗布して、分離培養を行います。
- 2.分離培地上の被検菌がグラム陰性桿菌、ブドウ糖発酵性陽性（これは **TSI 寒天培地**あるいは**ヒューレイフソソ培地**で確認します）であることを確認し、それ以外の細菌は除外します。
- 3.被検菌を普通寒天培地（斜面または平板）で増菌培養します。

接種菌液の調製

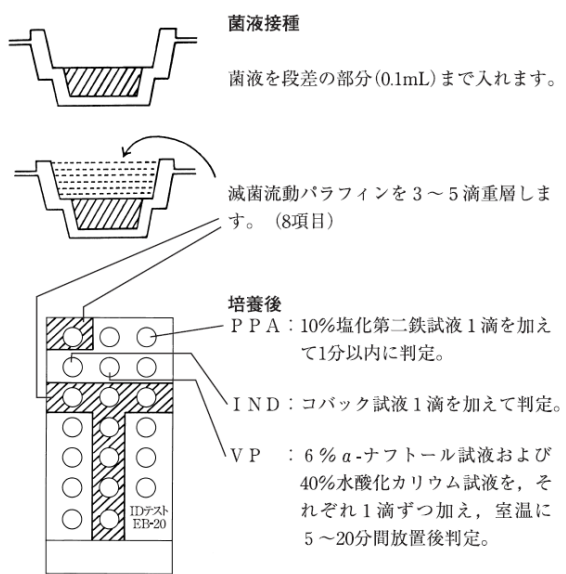
増菌培養した被検菌を白金耳でとり、ID テスト・EB ブイヨン 1 本に浮遊させます。菌濃度は標準比濁液（菌液 1mL 中に細菌数 3×10^8 個相当:McFarland No.1）と同等にします。
注）ビブリオ属菌等の好塩菌については、EB ブイヨンにあらかじめ滅菌した 20%NaCl 溶液 0.4mL（最終 NaCl 濃度約 3%）を加えて用いると成績の信頼性が高まります。

菌液の接種

- 1.調製した菌液を滅菌したピペットを用いて吸い上げ、I D テスト・EB プレートの各ホールの段差の部分（0.1mL）まで接種します。
- 2.菌液を接種後、次の 8 項目（記号が白抜きになっていす）には、添付の滅菌流動パラフィンを 3～5 滴重層して空気を遮断します。

H₂S LDC ADH ODC URE INO SOR ARA

図解



注) 被検菌は必ず新鮮な純培養菌を用い、接種菌液濃度、接種菌液量、滅菌流動パラフィン重層量および各試液添加量は所定の濃度・量を厳守してください。

培養

プレートにふたをして、37℃で18～20時間培養します。
注) 培養は所定時間を厳守してください。

判定

培養後、下記の判定表を参照して陽性、陰性を1時間以内に判定します。

項目	強陽性～弱陽性	陰性
H ₂ S	黒色～灰色	淡い黄色～無色
ESC	黒色～茶色	淡い黄色
PPA	深緑色	褐色～無色
IND	赤色	黄色～無色
VP	赤色～ピンク色	無色
CIT	青色	黄緑色～黄色
LDC	赤色	橙色～黄色
ADH	赤色	橙色～黄色
ODC	赤色	橙色～黄色
ONPG	黄色	無色
URE	赤色～ピンク色	橙色～黄色
MALO	青色	黄緑色～黄色
ADO	黄色	紫色
INO	黄色	紫色
RAFF	黄色	紫色
RHA	黄色	紫色
SOR	黄色	紫色
SUC	黄色	紫色
MAN	黄色	紫色
ARA	黄色	紫色

このとき同時に、新鮮培養菌を用いてオキシダーゼテストを行い、成績表に記入します。

硫化水素(H₂S)は、全体が黒色になっていなくても、黒色沈殿が認められる場合は陽性と判定します。ただし、下記の3項目は培養後、判定試薬を加えてから判定します。

PPA 10%塩化第二鉄試液1滴を加えて1分以内に判定します。

IND コバック試液1滴を加えて判定します。

VP VP試液(6% α -ナフトール試液および40%水酸化カリウム試液)をそれぞれ1滴ずつ加え、室温に5～20分間放置後判定します。この際、白金耳等がかき混ぜると反応が早まります。

成績の記録

- プレート上で判定した20の生化学的性状を陽性は＋、陰性は－と、添付の成績表に記入します。
 - 運動性の項目は、SIM 確認培地等で判定した成績を記入します。
 - 成績表は、運動性を除く生化学的性状20項目を次のように3性状ずつ集めて7群に分けてあります。
- | 点数 | 1群 | 2群 | 3群 | 4群 | 5群 | 6群 | 7群 |
|----|------------------------|------------|------------|------------|--------------|-------------|-------------|
| 1 | 硫化水素(H ₂ S) | インドール(IND) | リジン(LDC) | ONPG(ONPG) | アドニット(ADO) | ラムノース(RHA) | マンニット(MAN) |
| 2 | エスクリン(ESC) | VP(VP) | アルギニン(ADH) | 尿素(URE) | イノシトール(INO) | ソルビトール(SOR) | アラビノース(ARA) |
| 4 | PPA(PPA) | クエン酸(CIT) | オルニチン(ODC) | マロン酸(MALO) | ラフィノース(RAFF) | 白糖(SUC) | |
- 各テストの成績はすべて数字で表し、陰性はすべて0点、陽性は群ごとにつぎのように点数を与えます。
 - 各群の最初のテスト(たとえば硫化水素、インドール、リジンなど)には1点。
 - 各群の2番目のテスト(たとえばエスクリン、VP、アルギニンなど)には2点。
 - 各群の3番目のテスト(たとえばPPA、クエン酸、オルニチンなど)には4点。
 - 各テストの点数を群ごとに合計して記入し、それぞれを連結させると、被検菌の生化学的性状は7ケタの数字にコード化されます。

記入例

IDテスト-EB-20																				
成績表										年月日		患者名								
										検体名		検査者								
グラム染色		グラム陰性桿菌				ブドウ糖OF		F		オキシダーゼ		-								
HS	ESC	PPA	IND	VP	CTT	LDH	ADH	ODC	SPX	URE	ALU	ADG	ENO	RAF	BHA	SOB	SUC	MAN	ARA	糖分解
-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1	②	4	1	②	④	①	2	4	①	②	④	①	②	④	①	②	④	①	②	-
②		⑥				①		⑦		⑦		⑦		⑦		③				
菌名		K. pneumoniae																		

菌種を選択

20 の生化学的性状の成績から得られたコード（プロファイル：7 ケタの数字）をオキシダーゼ陰性菌ならば ID テスト・EB-20 解析プロファイルの A に、オキシダーゼ陽性菌ならば B に照合することにより、菌種を選択します。なお、菌種選択の詳細は、ID テスト・EB-20 解析プロファイルを参照してください。

【性能】

1. 感度、正確性試験

管理菌株について操作するとき、得られた 7 桁の数式プロファイルはあらかじめ規定されたコードを示す。

2. 同時再現性試験

3 回同時に測定するとき得られた 7 桁の数式プロファイルは、3 回とも一致する。

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上の注意

- 1) 試薬などが目や口に入った場合には、水で十分に洗い流し、医師等に相談し、指示を受けてください。
- 2) 微生物の取扱いは常に感染の危険性があるので、取扱いにあたっては熟練した人の指導のもとに、バイオハザード対策を実施したうえで使用してください。
- 3) 検体に接触した器具、試薬および試薬容器などは感染の危険があるものとして取扱ってください。

2. 使用上の注意

- 1) 使用期限を過ぎた試薬は同定の信頼性が保証できないので使用しないでください。
- 2) 使用前に異物混入等の異常が認められたものは使用せずに製造販売元まで連絡してください。
- 3) 袋から出した同定用プレートを、その日のうちに使用しない場合は、デシケーター内など乾燥したところに保存してください。
- 4) ID テストの使用の際には解析プロファイルが必要です。あらかじめ、お手元にあることを確認してください。解析プロファイルの入手については下記問い合わせ先にご連絡ください。

3. 廃棄上の注意

使用後の培地・試薬・器具等は、オートクレーブ等で滅菌したのち、廃棄物に関する規定に従って医療廃棄物または産業廃棄物などに区分して処理してください。

【貯蔵方法、有効期間】

貯法

室温に保存（但し、30℃以上の場所はさけてください）。

有効期間

製造後 1 年間。

外箱および容器のラベルに使用期限を表示してあります。

【包装単位および関連製品】

ID テスト・EB-20 25 検体用 Code 06626
ID テスト・EB 試薬 100 検体用 Code 06628

【主要文献】

1. 坂崎利一，田村和満：腸内細菌上・下，近代出版，1992。
2. Garrity, G. M. *et al.* (ed.) : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd edition vol.2, Springer - Verlag, USA, 2005.
3. J.J. Farmer III, *et al.* : Biochemical identification of new species and biogroups of *Enterobacteriaceae* isolated from clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.*, **21**(1), 46~76, 1985.

【問い合わせ先】

島津ダイアグノスティクス株式会社
カスタマーサポート担当
〒110-0005
東京都台東区上野 3-24-6
電話 03(5846)5707

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

島津ダイアグノスティクス株式会社
〒110-0005
東京都台東区上野 3-24-6
電話 03(5846)5611（代）