



BETA LYSIN DISK TI No. 21120

INTENDED USE

REMEL's Beta Lysin Disk is a reagent-impregnated disk recommended for use in qualitative procedures to detect the production of CAMP factor by group B streptococci.

SUMMARY AND EXPLANATION

Christie, Atkins, and Munch-Petersen observed a lytic phenomenon when hemolytic and nonhemolytic group B streptococci were grown in a zone of staphylococcal beta lysin activity.¹ The CAMP test, named after the originators, detects the production of a proteinlike compound which group B streptococci produce. This substance acts synergistically with the beta toxin produced by some strains of *Staphylococcus aureus* to produce potent hemolysis. A filter paper disk impregnated with beta lysin may be used as a substitute for the beta lysin producing staphylococcus strain.

PRINCIPLE

The CAMP test is based on the formation of a zone of synergistic hemolysis at the intersect point of the Beta Lysin Disk and the group B streptococci on sheep blood agar. The reaction is caused by the beta toxin reacting with sphingomyelin in the sheep membrane to produce ceramide and leads to disorganization of the lipid bilayer of the sheep erythrocyte membrane, resulting in an area of complete lysis that is shaped like an arrowhead or crescent.²

REAGENTS

Beta Lysin Disk (25 Disks/Vial) (REMEL #21-120)
Reactive Ingredient: Beta Lysin obtained from *Staphylococcus aureus*

PRECAUTIONS

This product is *For In Vitro Diagnostic Use* and should be used by properly trained individuals. Precautions should be taken against the dangers of microbiological hazards by properly sterilizing specimens, containers, and media after their use. Directions should be read and followed carefully.

STORAGE

This product is ready for use and no further preparation is necessary. The product should be stored in its original container at 2-8°C until used. Allow product to come to room temperature before use. Do not incubate prior to use.

PRODUCT DETERIORATION

This product should not be used if (1) the color has changed from light beige, (2) the expiration date has passed, (3) the desiccant has changed from blue to pink, or (4) there are other signs of deterioration. Protect disks from moisture by removing from the vial only those disks necessary for testing. Promptly replace the cap and return the vial to 2-8°C.

SPECIMEN COLLECTION, STORAGE, AND TRANSPORTATION
Specimens should be collected and handled following recommended guidelines.³

MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

(1) Loop sterilization device, (2) Inoculating loop, swab, collection containers, (3) Incubators, alternative environmental systems, (4) Supplemental media, (5) Quality control organisms, (6) Forceps.

PROCEDURE

1. Allow a Blood Agar (TSA w/ 5% Sheep Blood) plate to equilibrate to room temperature.
2. Using forceps, place a Beta Lysin Disk on the agar surface.
3. Streak the streptococcal isolate approximately 2-3mm from the edge of the disk.
4. Incubate aerobically or in 5-10% CO₂ for 18-24 hours at 35-37°C.
5. Observe for a crescent-shaped zone of hemolysis at the intersection of the disk and the organism to indicate a positive test.

INTERPRETATION OF THE TEST

Positive Test - crescent-shaped zone of hemolysis

Negative Test - no hemolytic zone or a small helmet-shaped hemolytic zone

QUALITY CONTROL

All lot numbers of the Beta Lysin Disk have been tested using the following quality control organisms and have been found to be acceptable. Testing of control organisms should be performed in accordance with established laboratory quality control procedures. If aberrant quality control results are noted, patient results should not be reported.

CONTROL	INCUBATION	RESULTS
<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC® 12386	Aerobic, 18-24h @ 35-37°C	Positive
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC® 12344	Aerobic, 18-24h @ 35-37°C	Negative

LIMITATIONS

1. Isolate tested should be a streptococcus.
2. Sheep blood agar plates containing unwashed sheep erythrocytes that have not been pretested for anti-camp factor may give a false negative CAMP test.
3. Some group A streptococci may demonstrate a helmet-shaped zone of hemolysis, especially if incubated in CO₂.
4. An agar depth of 1.5mm will result in the most distinct zone of hemolysis.
5. The Beta Lysin Disk for CAMP factor is for the presumptive identification of group B streptococci. Further testing is recommended for confirmation.

BIBLIOGRAPHY

1. Christie, R., N.E. Atkins, and E. Munch-Petersen. 1944. Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 23:193-195.
2. Bernheimer, A.W., R. Linder, and L.S. Avigad. 1979. Infect. Immun. 23:838.
3. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover. 1995. Manual of Clinical Microbiology. 6th ed. ASM, Washington, D.C.

ベータリジンディスク取扱説明書

<細菌検査の迅速・簡便なスクリーニング用試薬>

Cat. No. RML 21-120

用途

本製品は、ヒツジ血液寒天上で Group B Streptococci (B群レンサ球菌) が遊出する CAMP 因子を検出するものである。

原理と検査系統

CAMP 因子は B 群レンサ球菌が細胞外に遊出する熱的に安定な、拡散性のあるもので、特定のブドウ球菌性のベータリジンで処理した反動物の赤血球を溶血させる性質がある。

(3)

Christie らは溶血性、あるいは非溶血性の B 群レンサ球菌がブドウ球菌性ベータリジンの活性化域で成長した場合の溶血現象を認めている。そして Hunch-Peterson らが Staphylococcus (ブドウ球菌) の遊出するベータリジンとの CAMP 反応を用いた試験システムを開発した。

試薬組成の組成成分

ベータリジンディスクは B 群レンサ球菌による CAMP 反応を検出するに十分な Staphylococcus aureus SS 697 からのベータリジンを含んでいる。

本試薬組成以外に必要とするべき器具

- 1) ヒツジ血液寒天プレート : 抗 CAMP 因子について予備テストしたものを使用する。
例えば、RML 01-203 を使用するとよい。
- 2) 一般器具類 : 通常の細菌検査に使用するもの。

使用上の注意

- (1) 本試薬は、体外診断にのみ使用し、専門の訓練を受けた人が使用する。
- (2) 微生物感染防止の注意が必要であり、検査使用後の材料、容器、培地は滅菌して廃棄する。

試薬の保存

- (1) 本試薬は、直ぐに使用することができる。
- (2) 本試薬は、使用するまで2～8℃の冷暗所に保存する。
凍結または過熱してはいけない。

試薬の安定性

本試薬は、有効期間を過ぎたものを使用してはならない。

検体の採取・保存・輸送

- (1) 検査室は(検体の採取に当り)適当な採取容器を準備し、その用法について十分に習得しておくこと。
- (2) 検体は過度の過熱や冷却を避けて、遅れることなく検査室に輸送すること。
もし、検査の実施について、何等かの遅れが見込まれる場合は、検体はAmieやStuart, Cary-Blair, 還元済みの培地、ガス置換したチューブ、TransgrowやJemec システム等のような適当な輸送培地に入れておくこと。

臨床検査に際する検体の———

- 1) 検体の量は試験を実施するのに充分であること。
- 2) 正しく採取され、かつ、感染部位を反映していること。
- 3) 検体の汚染が無いよう十分な注意が払われるべきこと。
- 4) 検体は速やかに、検査室に届けられること。
- 5) 検体はどの様な抗生物質であっても、患者に投与される前に採取すべきこと。
もし、治療が開始している場合には、検体送付の際にその旨を付記すること。

検体の採取、輸送に関するこれ以上の詳細はASMマニュアル第3版(1980)の“Collection, Handling and Processing of Specimens”の項を参照のこと。

薬作法

本検査においても通常の臨床細菌検査用器具を使用するとよい。

- (1) ヒツシ血液寒天プレートを35℃に暖める。
- (2) 次にプレート上にペークリンディスクをのせ、ディスクの縁から2～3mmのところレンサ球菌の分離体を線状に塗抹し、大気又は5～10%炭酸ガス雰囲気中で18～24時間インキュベートする。

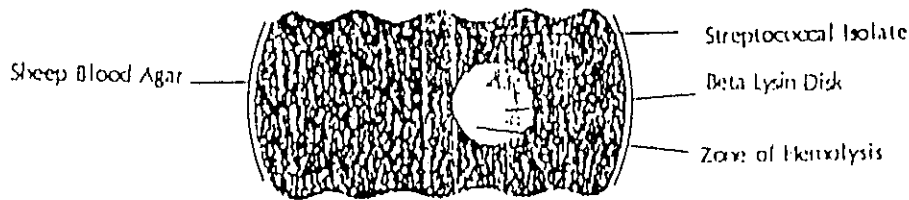


図 レンサ球菌分離体塗抹の例

結果の判定

- (1) 陽性ではベータリジンディスクとレンサ球菌分離体との接点に明確な“三日月型”の溶血帯が現れる。
- (2) 陰性では次のような現象である。
 - ① 溶血帯が現れない。これはB群以外のレンサ球菌のSPPである。
 - ② 小さいヘルメット型の溶血帯が現れる。これはA群あるいは他のレンサ球菌、ブドウ球菌に特徴的なものである。
- (3) この試験を補完するために他のテストの結果、例えばSET、バントラシン感受性エスクリン加水分解法、馬尿酸塩ディスク迅速法(例えば、RML 21-085)を併用するとよい。

品質管理

既知のB群及び非B群レンサ球菌をコントロールとして使用するとよい。

適用の改良点

- (1) 分離体がレンサ球菌SPPであるか否かについては、カクラーゼで判断する。
- (2) 抗CAMP因子の、予備テストをしていない未洗ヒツジ赤血球を含むヒツジ血液寒天プレートの使用は、CAMPテストでfalse-negativeの結果となる可能性がある。
- (3) A群レンサ球菌のあるものは大きな溶血帯を示すことがあるが、これはB群レンサ球菌の作る三日月型溶血帯と容易に区別することが出来る。
- (4) 血液プレートを吸める時は、温冷溶解を起こさぬよう注意する。
- (5) 明確な溶血帯を得るためには、寒天の深さを1.5mmにすると良い。
- (6) B群レンサ球菌を正確に鑑別するためには、2回以上の検査を行うことが望ましい。
- (7) B群レンサ球菌の迅速簡便方法としては、馬尿酸塩ディスク迅速法(RML 21-085)を適用するとよい。

RML

21120
L/N 204646

remel

Remel Inc. 913-888-0939
12076 Santa Fe Drive 800-255-6730
Lenexa, Kansas 66215 913-888-5884 fax
www.remel.com

Certificate of Quality
04/07/05

=====

PRODUCT: 21120 LOT: 204646 EXPIRATION: 2005/10/04

PRODUCT DESCRIPTION: BETA LYSIN DISK

This product has been manufactured, processed, and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. Representative samples were tested per Remel Quality Control specifications and were found to meet performance criteria for this product.

CHALLENGE ORGANISMS	SOURCE	RESULTS
Streptococcus agalactiae	ATCC 12386	POSITIVE
Streptococcus pyogenes	ATCC 19615	NEGATIVE

Microbial Load:

Product is evaluated for performance specifications only.

Appearance: LIGHT BEIGE DISKS WITH RESIDUE

pH: NA

Unit: VIAL

Volume: 25 DISK/VIAL

Storage: 2-8C

Reference IFU:

A. Waddle
Quality Control Supervisor

