

[技術コーナー]

コアグララーゼ試験およびラテックス凝集反応：
Staphylococcus 属の鑑別におけるピットフォール

三澤慶樹¹⁾・吉田 敦²⁾・奥住捷子²⁾

¹⁾ 東京大学医学部附属病院感染制御部

²⁾ 獨協医科大学病院感染制御センター

(平成 26 年 10 月 30 日受付)

コアグララーゼ試験およびラテックス凝集反応は、簡便で安価な *Staphylococcus* 属の鑑別試験として微生物検査の領域で頻回に使われている。遊離型コアグララーゼを試験する試験管法は、凍結乾燥されたウサギ血漿を滅菌生理食塩水で溶解するのが通常であるが、trypticase soy broth などの液体培地で溶解するとコアグララーゼの感度は上昇する。また、ラテックス凝集試薬は 2 種類市販されており、試薬メーカーによって結果が異なることもある。それぞれの検査の特徴を理解した上で *Staphylococcus* 属の鑑別に利用することが重要である。

Key words: ブドウ球菌の同定, コアグララーゼ試験, ラテックス凝集反応

はじめに

細菌学は、1980 年の命名規約変更に伴い、それまで生化学的性状を主としていた分類法が遺伝子学的手法を用いた分類に取って代わった。日常検査ではキット化が進み、自動同定機器が急速に普及し、近年では質量分析による菌種同定が行われつつある。

しかし、古くから知られている菌種の性質を的確に検出する基本的検査法が忘れ去られていないだろうか。たとえば、コアグララーゼ試験はブドウ球菌の同定試験として最も良く知られた検査であるが、その奥深さを知る人は少ない。

今回、コアグララーゼ試験とラテックス凝集反応について掘り下げ、コアグララーゼ反応を調べる方法が様々あること、試薬メーカーの違いで反応が変わること、仕様書には書かれていない優れた方法が存在することなどを紹介し、その長所と短所、検査の限界点を探る。

コアグララーゼ試験

ブドウ球菌のコアグララーゼ検査法の歴史は古く、1903 年には Loeb がガチョウの血漿と *Staphylococcus aureus* 菌液を混合し培養することで血漿が強く凝固することを見出した¹⁾。1908 年には Much が血漿と *S. aureus* をスライドガラス上で混合すると凝集塊を作る現象を報告している²⁾。

日本でも 1950 年代には 3 つの試験方法が確立されていた³⁾。1 つは試験管法 (tube coagulase test) であり、コアグララーゼ (別名: 遊離型コアグララーゼ) の検出に用いられる。コアグララーゼは菌が増殖する過程で菌体外に分泌される物質で、ヒトや動物の血漿中に存在するプロトロンビンに類似した CRF (coagulase-reacting factor) と呼ばれる物質に作用して、トロンビン様物質に活性化し、その結果フィブリノーゲンがフィブリンとなって血漿凝固が起こると考えられている^{4)~6)}。コアグララーゼは古くから酵素の一種として考えられてきたが、コアグララーゼそのものに酵素活性は全くなく、あくまで CRF の結合タンパクとしての性質を有する物質で、血漿凝固という一連の反応のトリガーとなっている⁷⁾⁸⁾。

2 つ目はスライド法 (のせガラス法) で、こちらは Clumping factor の試験に用いられる。Clumping factor は結合型コアグララーゼとも呼ばれており、菌体表面に存在する物質が血漿中のフィブリノーゲンに直接

著者連絡先: (〒113-8655) 東京都文京区本郷 7-3-1
東京大学医学部附属病院感染制御部
三澤慶樹
TEL: 03-3815-5411 (ex. 35028)
FAX: 03-5800-8796
E-mail: misawa-ky@umin.org

Table 1

小酒井の方法

1. ウサギまたはヒト血漿を血沈の場合と同様にクエン酸ソーダ (3.8% クエン酸ナトリウム) を用いて無菌的に採血する。
2. 血漿を滅菌ピジョンで 10 倍に希釈し, 1 ml を滅菌試験管に分注する。
3. 試験菌株をピジョンで 16-24 時間培養し, 0.1 ml を前述の試験管に入れよく混和し, 37°C で加温する。
4. 1 時間毎に血漿凝固が起こっているか観察し, 3 時間まで凝固が起こらなければ 37°C で翌朝まで加温後, 観察する。
5. それでも凝固が起こらなければコアグラージェ陰性と判断する。

桑原の方法

1. ウサギ血液を無菌的に採取し, 血液 3 に対し 3.8% クエン酸ナトリウム 1 を加え, 1,500 rpm, 10 分遠心して血漿を作成。
2. 血漿を滅菌生理食塩水で 10 倍に薄め, 小試験管に 0.5 ml ずつ分注。
3. 18 ~ 20 時間培養した試験菌株を 1 白金耳量接種し 37°C で保温。
4. 37°C で 1 時間, 2 時間, 3 時間に観察し, 凝固またはフィブリンの析出を見れば陽性。

作用して菌同士が絡まり, 凝塊を形成する反応である。そのため, 厳密にはコアグラージェの試験ではない。

3 つ目は現在ほとんど行われていない血漿平板法である。それぞれの試験法について解説する。

1) 試験管法

試験管法の試薬であるウサギプラズマ '栄研' (栄研化学) の仕様書には, 凍結乾燥した 1 ml ウサギ血漿を 7 ml の滅菌生理食塩水で溶解し, 0.5 ml に分注した溶解液へ被検菌を白金耳接種して 37°C, 3 時間培養後に判定。凝固が認められなかった場合, 翌日まで培養し判定すると記載されている。しかし, 試験管法の歴史を紐解くと様々な使用方法が存在していたことがわかる。

小酒井 (1954 年) は, ウサギ血漿をピジョンで 10 倍に薄めて 1 ml 分注し, ピジョンで培養した被検菌液を 0.1 ml 加えている (Table 1)³⁾。桑原 (1960 年) は, ウサギ血漿を滅菌生理食塩水で 10 倍に薄め, 判定時間を 1 時間, 2 時間, 3 時間で判定すると記載している (Table 1)⁹⁾。善養寺ら (1965 年) は滅菌生理食塩水で 10 倍に希釈したウサギ血漿 0.5 mL に, ピジョン培養液 0.5 ml 加えて 37°C で 1~3 時間加温し, コアグラージェ陽性を確認するとしている¹⁰⁾。また, 三辺 (1964 年) は, ウサギ血漿をピジョンで 5 倍に希釈した 0.5 ml 溶液に, ピジョン培養液 (または菌液浮遊液) 0.5 ml を加え, 37°C に加温し 3 時間後に観察する。大多数が 3 時間以内に血漿凝固するが, 凝固しなければさらに 18 時間培養後観察するとしている¹¹⁾。その他, いくつかの文献は希釈培養液に brain heart infusion broth (BHI broth) を用いるなど上記の方法と多少の違いはあるが, おおよそ同様の方法を

用いている¹²⁾¹³⁾。

面白いことに, いずれの方法もウサギ血漿を生理食塩水または液体培地で 5 倍から 10 倍希釈しているが, 栄研化学の仕様書に記載された 7 倍希釈 (1 ml 乾燥プラズマを 7 ml で溶解) の記述は見当たらない。おそらく 5 倍から 10 倍のあいだを採用したと思われるが詳細は不明である。

いくつかの文献では, 希釈液に生理食塩水でなく, ピジョンや BHI broth を用いており, 寺山は, 生理食塩水で希釈するよりも broth を用いた方が微弱産生菌でも確実に反応が認められると記載している¹²⁾。Williams らは, ブドウ球菌 297 株を調査し, Plasma saline よりも Plasam broth のほうが鋭敏にコアグラージェ陽性を捉えることができると報告しており (Table 2)¹⁴⁾, broth による希釈のほうが生理食塩水よりも感度が良いようである。

しかし, broth による試験は菌の成長が良好に進むため, いったん形成された血漿凝固塊が staphylokinase (fibrinolysin) によって溶かされて反応が消えることがある³⁾¹⁰⁾¹²⁾。接種菌量と頻回の観察に加え, フィブリン塊などの溶液状態を注意深く観察する必要がある。

ウサギ血漿の採取に用いる抗凝固剤には, クエン酸ナトリウムがコアグラージェ反応を最も鋭敏に捉えることができる。筆者もヒト血漿を採取しコアグラージェ試験を試したことがあるが, クエン酸ナトリウムが最も早い時間で凝固することを確認している。しかし, 試験菌がクエン酸を分解する菌であると正確な反応がわからない可能性があるため, EDTA やヘパリンなど別の抗凝固剤を使用するほうが安全である³⁾¹²⁾。また,

Table 2. Coagulase test in 1/25 plasma broth and 1/5 plasma saline : colony inoculated direct

	Plasma saline +	Plasma saline -	Totals
Plasma broth +	161	53	214
Plasma broth -	1	82	83
Totals	162	135	297

¹⁴⁾抜粋

Table 3. Staphylococcus 属のコアグララーゼおよび clumping factor と分離される主な動物種

菌名	生化学的性状 ¹⁶⁾		動物種 ^{26) 27)}
	コアグララーゼ	Clumping factor	
<i>S. aureus</i>	+	+	ヒト, ネコ, ニワトリ, ブタ, ウマ, イヌ, ウシ
<i>S. pseudintermedius</i>	+	-	イヌ, ネコ, ヒト
<i>S. intermedius</i>	+	d	ハト
<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i>	+	-	イヌ, ネコ
<i>S. delphini</i>	+	-	ハト, ウマ, イルカ
<i>S. lutrae</i>	+	-	カワウソ
<i>S. hyicus</i>	d	-	ブタ, ニワトリ
<i>S. lugdunensis</i>	-	+	ヒト
<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>schleiferi</i>	- ^a	+	ハト, イヌ, ネコ, ヒト
<i>S. sciuri</i>	-	+	ネコ
<i>S. condimenti</i>	-	- ^b	食品, ヒト

+ : 90% 以上陽性, - : 90% 以上陰性, d : 11%-89% 陽性

^{a)}偽コアグララーゼ産生株の報告あり²⁷⁾

^{b)}偽陽性報告あり²²⁾

ヒト血漿は多くがコアグララーゼに対する抗体を含んでおり、反応が不安定になるため、複数個体のウサギ血漿が最良とされている⁴⁾¹²⁾。

2) スライド法 (のせガラス法)

ウサギ血漿をスライドガラスに滴下し、その傍らに集落からかき取った菌体を生理食塩水で均一菌液にし、ウサギ血漿と混合する。陽性の場合には1分間ぐらいで菌の粗大な凝集塊を形成する。3分間待って凝集しなければ陰性とする³⁾⁴⁾¹²⁾。この方法は自己凝集を起こす菌を事前に判断できる利点がある。しかし、生理食塩水で菌液を作ってから血漿と混ぜ合わせると凝集の起こりが弱いため、血漿に直接菌を混ぜたほうが良いという文献もある¹⁵⁾。

スライド法を行う場合に重要なのは、新鮮な菌体を使用することである。7.5% 食塩加培地で、3~4 日経過した菌体では反応が弱くなり、血液寒天培地でも培養4日では反応が弱くなる傾向がある³⁾¹⁵⁾。また、ヒトから分離される Clumping factor 陽性株は、Table 3 に示すように、*S. aureus* はもちろんのこと、*Staphylo-*

coccus lugdunensis, *Staphylococcus schleiferi* subsp. *schleiferi* も陽性となる¹⁶⁾。

スライド法は、菌塊が上手に混ざらない菌株があること、凝集が見にくいこと、さらには本来凝集するはずの *S. aureus* で凝集しないことがあるため¹⁷⁾、現在ではラテックス凝集反応にとって代わっている。

3) 血漿平板法

滅菌した普通寒天 (Difco Nutrient agar が安定している) にウサギ血漿を 20% 加えてよく混合したものを 15 ml シャーレに分注し平板培地とする。微量の試験菌株を点状に培地へ接種し、35℃ 一夜培養するとコアグララーゼ陽性菌は集落周囲にプラズマ凝固の白濁環を形成する。コアグララーゼ陽性で staphylokinase (fibrinolysin) 産生菌は、いったん形成された白濁環を溶解するため、集落に接した部分に透明輪を形成する (Fig. 1)³⁾¹⁰⁾¹²⁾。血漿を培地に加える際、寒天培地の温度が高すぎるとうまく反応が現れない⁴⁾。

この方法は、コアグララーゼ産生能や staphylokinase 産生能の強い集落を選び出す場合には便利だが、培地

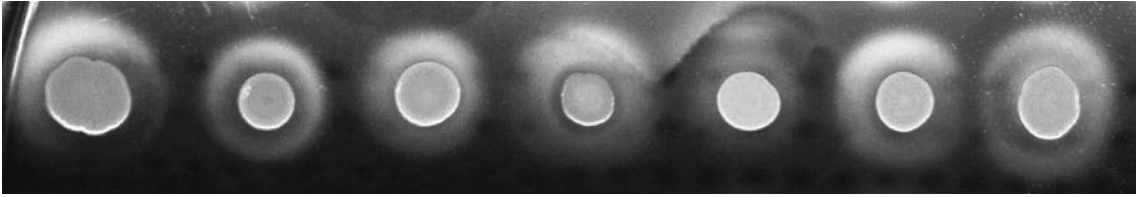
Fig. 1. 血漿平板法による *S. aureus* の白濁環

Table 4. 使用方法の異なる試験管法の比較

希釈液	判定時間	菌数 (%)			
		-	1+	2+	3+
生理食塩水 (一白金耳)	3時間	25 (12.5)	7 (3.5)	8 (4.0)	160 (80.0)
	18-20時間	10 (5.0)	10 (5.0)	11 (5.5)	169 (84.5)
生理食塩水 (少量接種)	3時間	13 (6.5)	18 (9.0)	16 (8.0)	153 (76.5)
	18-20時間	1 (0.5)	6 (3.0)	16 (8.0)	177 (88.5)
TSB (少量接種)	3時間	10 (5.0)	15 (7.5)	20 (10.0)	155 (77.5)
	18-20時間	0 (0.0)	3 (1.5)	1 (0.5)	196 (98.0)

作成に多量の血漿を必要とし、少数の菌株を調べるには不向きである⁴⁾。また、試験管法と一致しない株もあるため³⁾現在では行われていない。

使用方法の違いによる試験管法の感度

ウサギ血漿の希釈液には、生理食塩水だけでなくBHIなどのbrothを使用していた歴史を前述した。

今回、接種菌量と希釈液の違いが試験管法の感度ほどの程度影響を与えるか比較検討した。対象株は、1患者1株としてmethicillin-susceptible *S. aureus* 147株、methicillin-resistant *S. aureus* 53株、計200株を用いた。凍結乾燥されたウサギプラズマ‘栄研’の1ボトルに、滅菌生理食塩水7mlで溶解した液とtrypticase soy broth (TSB; BD) 7mlで溶解した液の2種類を用意し、試験管に溶解液をそれぞれ0.5ml分注した。血液寒天培地で一夜培養しておいた対象株を、生理食塩水溶解液には一白金耳量接種（白濁する程度）と白金線で少量接種（極わずか白濁する程度）の2通り、TSB溶解液には白金線で少量接種した。35℃、3時間培養後、一度判定し、18-20時間培養時に再度判定した。判定基準は臨床微生物検査ハンドブックを参照し、試験管を傾けても凝固塊が崩れないまたはほとんど崩れないものを(3+)、傾けると崩れながらも凝固塊を認めるものを(2+)、フィブリン塊

を認めるものを(1+)、凝固せずフィブリン塊を認めないものを(-)とした¹⁸⁾。

結果をTable 4に示す。生理食塩水溶解液への接種菌量の違い（一白金耳接種と白金線少量接種）による影響を比べると、一白金耳量接種した場合、3時間判定で3+を示す株が少量接種の方法より多かったが（一白金耳：少量=80%：76.5%）、陰性を示す株も多かった（一白金耳：少量=12.5%：6.5%）。18-20時間判定では、一白金耳接種よりも少量接種の方が3+を示す株が多く、陰性を示す株は少量接種の方が少なかった（一白金耳：少量=5%：0.5%）。

希釈液の違いによる影響を比べると、3時間判定では、生理食塩水溶解液、TSB溶解液ともに陽性率にほとんど差はなかったが、18-20時間判定では、TSB溶解液の3+判定数が生理食塩水溶解液よりも多く（TSB溶解液：生理食塩水溶解液=88.5%：98.0%）、陰性判定数は生理食塩水溶解液で1株、TSB溶解液では認めなかった。これは、コアグラーゼが菌の増殖とともに産生されるため、生理食塩水よりも発育条件の良いTSBでコアグラーゼ量が多くなったためと考えられる。

また、3時間判定で3+または2+であったが、18-20時間判定で判定レベルが低下する株は、生理食塩水一白金耳量接種の場合2株(3+→2+；1株、3+→1+；

Table 5. ラテックス凝集試薬の比較

試薬名	S. lugdunensis (n=15)			
	陰性	弱陽性	陽性	陽性率 (%)
スタフォレックス (三菱化学)	10	1	4	33.3
スタフィロ LA (デンカ生研)	9	2	4	40.0
Pastrex Staph plus (BioRad)	5	2	8	66.7
ドライスポットスタフィテクトプラス (関東化学)	7	4	4	53.3

1株), 生理食塩水少量接種の場合2株 (3+→2+; 1株, 3+→1+; 1株), TSB少量接種の場合2株 (3+→1+; 1株, 2+→1+; 1株) で, 3法ともに株数は変わらなかった。

以上より, TSBでウサギ血漿を溶解するほうが生理食塩水で溶解するよりも判定しやすく, 陰性を見逃さない傾向にある。

ラテックス凝集反応

スライドコアグララーゼ試験から発展したラテックス凝集試験は, 現在2種類の試薬が存在する。ひとつはフィブリノーゲンと clumping factor, protein A に対する抗体をラテックス粒子に感作させた試薬であり, スタフォレックス (三菱化学), スタフィロ LA (デンカ生研), PS ラテックス (栄研化学) として市販されている。もうひとつはフィブリノーゲン, clumping factor, protein A に加え, S. aureus の莢膜多糖体血清型5と血清型8に対するモノクローナル抗体が感作してあり, Pastrex Staph plus (BioRad), ドライスポットスタフィテクトプラス (関東化学) として市販されている。2種類の試薬は, 配合されている抗体の違いだけでなく, 前者は陰性コントロールがないのに対し, 後者は陰性コントロールがついている。

多くの S. aureus はどちらのラテックス凝集試薬にも反応するが, まれに clumping factor と protein A を標的とするラテックス凝集試薬に反応しない株が存在する¹⁹⁾²⁰⁾。これは, 細胞壁に存在する clumping factor と protein A を覆い隠すほどの莢膜多糖体が産生されるため, ラテックス抗体が反応できないと考えられている¹⁹⁾。

ラテックス凝集試薬は S. aureus だけでなく, 他のブドウ球菌にも凝集反応を示す。特に clumping factor 陽性ブドウ球菌である Staphylococcus intermedius, S. lugdunensis, S. schleiferi subsp. schleiferi, Staphylococcus sciuri はラテックス試薬に凝集反応を示すとされている (Table 3)。また, Staphylococcus saprophyticus や Staphylococcus condimentii では非特異的

にラテックス凝集を起こすため^{21)~23)}, 陰性コントロールの実施は重要である。

S. lugdunensis は, ラテックス試薬に凝集するとされているが, 当院で分離された S. lugdunensis 15株に対し, 4社のラテックス試薬にて凝集反応を行ったところ, 陽性反応を示した割合は33.3%~66.7%と試薬メーカーによって異なっていた (Table 5)。Clumping factor 陽性ブドウ球菌であっても, 実際は菌株や試薬によって凝集しないことがある。

このように, ラテックス凝集試験の実施は簡便で迅速な検査法であるが, 時としてその判定解釈は複雑となりうる。

試験管コアグララーゼ試験とラテックス凝集反応の長所と短所

試験管コアグララーゼ試験の長所は, コアグララーゼ陽性ブドウ球菌とコアグララーゼ陰性ブドウ球菌を判定できることにある。Staphylococcus pseudintermedius はコアグララーゼ産生能が弱いことで知られており²⁴⁾, 当院で分離された S. pseudintermedius 株でも生理食塩水でウサギ血漿を溶解した試験管法では血漿凝固しない株を認めている。しかしながら, TSBで溶解した試験管法では全ての株が血漿凝固している。当然だが, S. aureus とこれ以外のコアグララーゼ陽性ブドウ球菌は, 条件さえ整えばウサギ血漿を凝固させることができる。短所は, ラテックス凝集反応に比べ判定までに時間がかかることであろう。

ラテックス凝集反応の長所は, 試験管コアグララーゼ試験とは逆に簡便かつ短時間で判定可能なところにある。そのため, ラテックス凝集反応を試験管コアグララーゼ試験の代わりとして使用する施設が多いようである²⁰⁾²⁵⁾。短所は, コアグララーゼ陽性ブドウ球菌だけでなく, 一部のコアグララーゼ陰性ブドウ球菌にも凝集するため, S. aureus と誤同定してしまう可能性があること。また, 前述した clumping factor と protein A に対する抗体を用いたラテックス凝集試薬では陰性を示す S. aureus も存在すること, 非特異反応を示す偽

陽性菌種が存在することなどが挙げられる。ラテックス試薬を用いる場合は、このような菌種が存在することを念頭において検査を実施すべきである。

おわりに

自動同定機器が低い同定確率や見慣れないブドウ球菌名を示した場合、おそらく多くの施設がコアグラゼ試験やラテックス凝集反応を試みると思われる。その際、検査の性能や仕組みを理解した上で行うことが肝要である。

文 献

- 1) Loeb, L. 1903. The Influence of certain Bacteria on the Coagulation of the Blood. *J Med Res* 10: 407-419.
- 2) Much, H. 1908. Ober eine vorstufe des fibrinfermentes in kulturen von Staphylokokkus aureus. *Biochemische Zeitschrift* (now published as *Eur. J. Biochem.*) 14: 143-155.
- 3) 小酒井望. 1954. 新しい検査法 ブドウ球菌 Coagulase 検査法. *臨床病理* 2: 166-168.
- 4) 桑原章吾. 1962. ブドウ球菌—新しく細菌検査をはじめめる人のために—. *モダンメディア* 8: 308-320.
- 5) Murray, M, P Gohdes. 1959. Role of coagulase reacting factor in the activation of fibrinogen. *J Bacteriol* 78: 450-451.
- 6) 福武勝博, 藤田佳展, 岡田正司. 1960. Staphylocoagulase の凝血作用. *臨床病理* 8: 63-66.
- 7) 森田隆司. 1999. ブドウ球菌コアグラゼと血液凝固機序. *臨床と微生物* 26: 189.
- 8) 善養寺浩, 寺山 武, 五十嵐英夫. 1999. コアグラゼ型別法の誕生. *臨床と微生物* 26: 185-188.
- 9) 桑原章吾. 1960. ブドウ球菌の検査法. *臨床検査* 4: 345-349.
- 10) 善養寺浩, 大久保暢夫. 1965. 各種細菌の同定検査 化膿球菌の同定検査. *臨床検査* 9: 1128-1132.
- 11) 三辺武右衛門. 1964. 耳鼻咽喉科材料の細菌検査. *臨床検査* 8: 201-206.
- 12) 寺山 武. 1976. ブドウ球菌の分離・同定法. *モダンメディア* 22: 387-398.
- 13) 福見秀雄. 1995. ブドウ球菌の型別法とその臨床応用. *臨床病理* 2 (特集号): 166-176.
- 14) Williams, R, GJ Harper, AA Miles. 1943. Slide test for coagulase positive staphylococci. *Lancet* 1: 736-738.
- 15) 蓑 茂上, 高椋卯吉, 堀 陽. 1960. 血漿を吸着乾燥した濾紙を用いての Slide coagulase test について. *臨床病理* 8: 59-62.
- 16) Versalovic, J. American Society for Microbiology. 2011. *Manual of clinical microbiology*, 10th ed. ASM Press, Washington, DC.
- 17) Essers, L, K Radebold. 1980. Rapid and reliable identification of *Staphylococcus aureus* by a latex agglutination test. *J Clin Microbiol* 12: 641-643.
- 18) 小栗豊子. 2011. 臨床微生物検査ハンドブック第4版. p. 146-148, 三輪書店.
- 19) Ruane, PJ, MA Morgan, DM Citron, et al. 1986. Failure of rapid agglutination methods to detect oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 24: 490-492.
- 20) 田澤庸子, 佐々木裕美, 古畑由紀江, 他. 2010. *Staphylococcus aureus* 検出ラテックス凝集キット ドライスポット スタフィテクトプラスの結果に影響した培地と培養時間. *日本臨床微生物学会誌* 20: 134-137.
- 21) Berke, A, RC Tilton. 1986. Evaluation of rapid coagulase methods for the identification of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 23: 916-919.
- 22) Misawa, Y, A Yoshida, S Okugawa, et al. 2014; in press. First reported case of *Staphylococcus condimenti* infection associated with catheter-related bacteremia. *New Microbes and New Infections*.
- 23) Gregson, DB, DE Low, M Skulnick, et al. 1988. Problems with rapid agglutination methods for identification of *Staphylococcus aureus* when *Staphylococcus saprophyticus* is being tested. *J Clin Microbiol* 26: 1398-1399.
- 24) Talan, DA, D Staatz, A Staatz, et al. 1989. *Staphylococcus intermedius* in canine gingiva and canine-inflicted human wound infections: laboratory characterization of a newly recognized zoonotic pathogen. *J Clin Microbiol* 27: 78-81.
- 25) 渋谷理恵, 齊藤広将, 横山一紀, 他. 2013. 幅広い微生物検査を目指して—検出度は低い—but 医学的に重要な細菌・真菌感染症の検査法 *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus haemolyticus* など. *臨床と微生物* 40: 509-514.
- 26) Sasaki, T, S Tsubakishita, Y Tanaka, et al. 2010. Multiplex-PCR method for species identification of coagulase-positive staphylococci. *J Clin Microbiol* 48: 765-769.
- 27) Vandenesch, F, C Lebeau, M Bes, et al. 1994. Clotting activity in *Staphylococcus schleiferi* subspecies from human patients. *J Clin Microbiol* 32: 388-392.

The tube coagulase test and latex agglutination: Pitfall in the identification of *Staphylococcus* sp.

Yoshiki Misawa¹⁾, Yoshida Atsushi²⁾, Katsuko Okuzumi²⁾

¹⁾Department of Infection Control and prevention, the University of Tokyo Hospital

²⁾Division of Infection Control, Dokkyo Medical University Hospital

The tube coagulase test and latex agglutination for *Staphylococci* are frequently used as easy and cheap differentiation tests. It is usual that tube coagulase test is made by dissolving freeze-dried rabbit plasma with sterile saline, but the sensitivity of tube coagulase test rises when dissolved in liquid mediums such as trypticase soy broth. The results of latex agglutination tests can be varied by the different reagents and manufacturers. For proper identification of *Staphylococcus* species, it is important to understand the characteristics and performance of each test used on daily basis.