api® Manual

THE WAY FORWARD FOR BACTERIAL IDENTIFICATION

API 20 E

장내세균 및 그람 음성간균의 동정

원리 010
시약 010
배지와 시약의 성분 010
스트립과 배지의 보관 010
시약의 보관 010
시약의 이용 010
사용상 주의사항 011
실험방법 011
사용한 재료의 처리 012
제한점 012
QC 012
판독표 013
검사방법 014
READING / LECTURE - INTERPRETATION 015
REF. 20 100 : 25 strips 016

API 20 E | 장내세균 및 그람 음성간균의 동정

원리

- API 20 E 스트립은 건조된 기질을 함유하고 있는 20개의 튜브로 되어 있다.
- 이 테스트 튜브들에 세균 부유액을 접종하고 배양시키면 배양 시간 동안 생성된 반응 산물들에 의해 색이 변화되거나 보조 시약의 첨가로 색이 변화되며 이를 통해 결과를 판단한다.
- 배양 후 인터넷 사이트 api*web*™ (https://apiweb.biomerieux.com)에 접속하여 동정 결과를 판독한다.

시약

Kit 구성(25 테스트)

- API 20 E 25 strips
- 배양용 박스 25개
- 결과지 25장
- Package insert 1부
- Clip seal 1개

보조 시약(별도구매)

- API Suspension medium, 5ml (ref. 20 150) / API NaCl 0.85% Medium, 5ml(ref. 20 230)
- Reagent kit (ref. 20 120)
  [TDA, JAMES, VP 1, VP 2, NIT 1, NIT 2] or
  낱개포장 시약 : TDA (ref.70 402)
  JAMES (ref.70 542)
  VP 1 + VP 2 (ref.70 422)
  NIT 1 + NIT 2 (ref.70 442)
- Zn 시약 (ref.70 380)
- Oxidase test (ref.55 635)
- Mineral oil (ref.70 100)
- Identification software (api*web*™)
- PSIpettes (ref.70 250)

기타 보조 시약

- API OF medium (ref.50 110) : 발효 및 산화반응에 대한 테스트
- API M medium (ref.50 120) : 혐기성 미생물의 운동성 테스트

필요한 실험 기자재

- 35 ~37 ℃ incubator
- Refrigerator
- Bunsen burner
- Marker pen

배지와 시약의 성분

Suspension Medium 5 ml	Demineralized water	
TDA reagent 5 ml	Ferric chloride H_2O	3.4 g qsp 100 ml
JAMES reagent 5 ml	Compound J 2183 (confidential) HCl 1N	0.5 g qsp 100 ml
VP 1 reagent 5 ml	Potassium hydroxide H_2O	40 g 100 ml
VP 2 reagent 5 ml	α-naphthol Ethanol	6 g 100 ml
NIT 1 reagent 5 ml	Sulfanilic acid Acetic acid H_2O	0.4 g 30 g 70 ml
NIT 2 reagent 5 ml	N,N-dimethyl-1-naphthylamine Acetic acid H_2O	0.6 g 30 g 70ml
Zn reagent	Zinc dust	10g

스트립과 배지의 보관

스트립은 알루미늄 파우치에 흡습제와 함께 보관되어 있으므로 개봉 후 사용하지 않은 스트립은 clip seal을 이용하여 잘 밀봉해 두어야 한다. 사용 후 스트립은 2~8℃에서 보관하며 첫 개봉 후 10개월 까지 사용할 수 있다.

시약의 보관

포장에 명시된 유효 기간까지 2~8℃의 암소에서 보관한다 (TDA, VP1, NIT1은 2~30℃에서 보관하고, Zn은 8~30℃에서 보관한다).
시약은 앰플을 개봉하고, 스포이드가 달린 유리병에 옮겨 담은 후 한 달 정도 사용이 가능하다 (개봉한 날짜를 병의 label에 기록할 것).
JAMES 시약은 빛에 매우 약하므로 알루미늄 호일로 싸서 냉장 보관하고 장시간 동안 실온에 방치하여서는 안된다.

시약의 이용

다음 시약들은 사용하기 전에 미리 실온(20~30℃)에 꺼내 둔다.

(1) API 20E reagent
앰플의 뚜껑에 엄지손가락을 올려 놓고 다른 손으로 몸체를 잘 잡은 후 뚜껑의 평평한 부분에 힘을 가해 앰플 윗 부분을 절단한다.
거꾸로 세운 후 뚜껑을 부드럽게 눌러서 시약이 떨어지도록 한다.

(2) TDA, VP1,VP2, NIT1,NIT2
앰플을 열고 시약을 한 방울씩 떨어뜨려 사용한다.

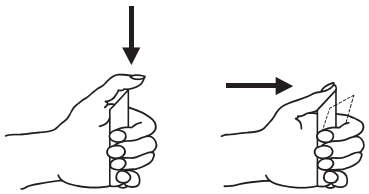
(3) JAMES reagent
시약의 앰플을 열고, 완전히 건조된 파이펫을 이용해서 건조된 활성 성분이 들어있는 dropper-bottle에 용액을 옮겨 담고 뚜껑을 잘 닫은 후 내용물이 잘 섞일 수 있도록 흔들어준다 . 완전히 녹을 때까지 5~10분 간 기다렸다가 사용한다 .

(4) Zn reagent
병뚜껑을 열고 약 2~3mg의 파우더를 덜어서 테스트 하고자하는 큐플에 넣는다. 사용 후 뚜껑을 조심스럽게 닫고 보관한다 .

(5) Oxidase test
- Colony를 백금이로 따서 Whatman paper나 disc에 균을 묻힌다.
- Oxidase 시약 ampoule을 깨서 시약 한 방울을 균위에 떨어 뜨린다.
- 10초~30초 사이에 보라색으로 변하면 양성 결과로 기록한다.

사용상 주의사항

- 체외 진단용으로만 사용한다.
- 감염성이 있는 시약에 대해 주의 사항을 만들고 무균적으로 사용하도록 한다.
- 검체나 시약을 입으로 파이펫팅 하지 않는다.
- 유효 기간이 지난 시약은 사용하지 않는다.
- 사용하기 전에 실온에 꺼내 두었다가 사용한다.
- 앰플을 열 때 주의한다.



– 앰플을 수직이 되도록 한 손으로 잡는다. (흰색 뚜껑이 위로 가도록)
– 뚜껑을 가능한 한 아래로 꾹 누른다.
– 엄지손가락으로 뚜껑의 평평한 부분을 쥔다.
– 뚜껑 안의 앰플의 윗 부분을 잘라내기 위해서 뚜껑의 평평한 부분에 엄지손가락을 놓고 압력을 가한다.
– 스포이드 뚜껑이 없는 앰플의 경우에는 조심스럽게 뚜껑을 제거한다.
– 스포이드 뚜껑이 있는 경우에는 앰플의 윗부분을 돌려서 수직을 유지하고 모든 시약을 스포이드 병에 담는다.

- 미생물 실험이 끝난 모든 시약은 감염 될 가능성이 있으므로 적절한 조작을 하여야 한다.
- 임상 가검물과 배양된 미생물은 감염의 위험이 있으므로 숙련된 검사자에 의해 주의해서 다루어져야 한다. 무균 조작과 유용한 조작상의 유의 사항은 다음의 과정을 통해 준수하여야만 한다. "CLSI / NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue : Approved Guideline* - Current revision"
  추가적인 실험은 "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH - Latest edition"을 참조하거나 각 나라의 규정에 따라 유의하여 조작한다.
- 실험이 끝나면 실험에 사용한 모든 제품은 완전 멸균 상태로 폐기 처리해야 한다.
- 테스트 결과의 해석은 환자의 병력, 검체의 종류 및 현미경적 소견을 고려하여 미생물학자에 의해서 이루어져야 한다. 만약 필요하다면 다른 종류의 테스트 결과 특히 항생제 감수성 검사를 시행한다.

실험방법

스트립의 준비

- Incubation box를 준비하고 약 5ml의 멸균 증류수를 tray에 부어서 수분을 유지하도록 한다.
- Tray의 끝에 균주의 정보를 기록한다.
- 스트립을 tray 위에 올려놓는다.

접종액의 준비

- Suspension medium (5ml)의 앰플을 열고 하나의 colony를 취한 후 골고루 부유되도록 한다 .

* **NOTE** : 대부분의 *Vibrio* species는 호염성이므로 NaCl 0.85% 용액에 부유시킨다.

스트립의 접종

- CIT, VP, GEL 은 큐플까지 균액으로 가득 채운다.
  나머지는 큐플을 제외하고 튜브만 채운다.
- ADH, LDC, ODC, H_2S, URE는 혐기적인 조건을 만들어 주기 위해 광유(mineral oil)로 큐플을 채운다.
- 스트립 위에 뚜껑을 덮는다.
- 호기적인 상태에서 36℃ ± 2℃, 18~24시간 동안 배양한다.
- Weekend incubation : API 20 E의 생화학적인 반응들은 배양 후 18~24시간이 지나야 리딩할 수 있다. 만약 24시간 후에 리딩할 수 없으면 배양기에서 꺼내서 냉장고에 보관하면서 반응을 확인한다.

* **TIP**



API 20 E | 장내세균 및 그람 음성간균의 동정

스트립의 판독

- 36℃ ± 2℃에서 18~24시간 배양 후 판독표를 참조하여 결과를 읽는다.
- 결과지에 발생한 모든 결과를 기록한다 .
- 만약 glucose가 양성이거나 3개 이상의 테스트가 양성이면 보조시약을 첨가한다.
  - TDA test :TDA 시약을 한 방울 떨구어 짙은 갈색으로 변하면 양성으로 기록한다.
  - IND test :JAMES 시약을 한 방울 첨가 하고 바로 결과를 리딩한다. 큐플 전체가 분홍색으로 변하면 양성이다 .
  - VP test : VP 1과 VP 2를 각각 한 방울씩 첨가하고 10분 기다린 후 결과를 리딩한다. 분홍색이나 빨간색이 양성이다. 10분 이후에 나타나는 옅은 분홍색은 음성으로 간주한다.
  - Nitrites(NO_2), N_2 gas(N_2) : GLU tube에 NIT 1과 NIT 2시약을 한 방울씩 떨군 후 2~5분 기다린다 .빨간색은 양성(NO_2)이고 노란색은 음성이다. 음성 반응은 nitrogen으로의 환원에 의할 수도 있다 (간혹 bubble이 생김). 음성일 경우에 Zn을 2~3mg 떨구고 5분 후에 여전히 노란색으로 남아있으면 nitrogen(N_2)으로의 환원이고 분홍색이나, 빨간색으로 변하면 이는 tube에 여전히 남아 있던 nitrate(NO_3)가 zinc에 의해서 환원되었음을 의미한다.

* **NOTE** : nitrate 환원반응과 indole 생성 반응은 가장 마지막에 이루어져야 한다 (이 반응들은 gas를 생성함으로써 다른 반응들에 간섭현상을 일으킴).

- 만약에 glucose가 음성이고 양성 반응이 3개 이하이면 보조시약을 첨가하지 말고 다음과 같이 진행한다.
  - API OF medium 2개의 앰플에 균을 접종하여 glucose의 대사과정을 확인한다.
  - MacConkey ager에 계대 배양 한다 .
  - 운동성 Check :API M Medium에 접종 혹은 현미경 관찰
  - 24시간 재 배양
  - 시약의 첨가
  - strip의 결과와 Supplementary test 결과를 Reading Table을 참조하여 결과지에 기록한다.

결과의 해석

- 발생된 반응은 numerical profile로 코드화되어 진다.
- 결과지 위에 테스트를 3개씩 묶어서 양성일 경우에 차례대로 1, 2, 4의 값으로 계산하여 7자리의 숫자로 만든 후 api*web*™에 접속하여 결과를 얻는다. (api*web*™ 주소 : https://apiweb.biomerieux.com)
- 경우에 따라서 7자리의 결과가 부족할 경우에는 다음과 같은 추가 테스트를 수행한다 .
  - Nitrate의 nitrites로의 환원 (NO_2)
  - Nitrates의 N_2로의 환원 (N_2)
  - 운동성 (MOB)
  - MacConkey agar medium에서의 성장 (McC)
  - Glucose의 산화 (OF-O)
  - Glucose의 발효(OF-F)등의 추가적인 반응들을 합치면 9자리의 결과를 얻을 수 있다.

사용한 재료의 처리

앰플, 피펫, 팁 그리고 스트립 모두는 사용 후 멸균 처리하여 폐기처분한다.

제한점

- 간혹 *Klebsiella*나 *Proteus*같은 경우에는 glucose가 양성이었다가 음성으로 변환되는 경우도 있다. 예를 들어 bluish-green색으로 보인다. 이런 반응은 음성으로 기록하며 Identification Table을 참조한다.
- 각 스트립은 스트립 별 데이타 베이스에 없는 미생물을 동정하는데는 사용할 수 없다. *Salmonella* spp.와 *shigella* spp.의 경우에는 동정한 후 혈청학적인 확인이 필요하다.

QC

- 배지와 스트립 그리고 시약은 각각의 제조 과정의 여러 단계에서 체계적으로 조절된다.
- 스트립에 대한 자체 품질관리를 확인하고자 하면 다음의 균주를 사용하도록 한다.

	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H_2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	NO_2	N_2
1	+	−	+	+	−	−	−	−	+	−	−	+	+	−	+	+	−	+	−	+	+	−
2	+	−	V	−	V	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
3	+	+	−	V	+	−	−	−	−	+	−	+	+	V	+	+	+	+	+	+	+	−
4	−	−	−	+	V	+	+	+	−	−	V	+	−	−	−	−	V	−	−	−	+	−
5	+	−	+	−	+	−	V	−	−	V	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	V

1. *Escherichia coli* ATCC 25922
2. *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 51331
3. *Enterobacter cloacae* ATCC 13047
4. *Proteus mirabilis* ATCC 35659
5. *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae* ATCC 35657

판 독 표

TESTS	ACTIVE INGREDIENTS	QTY (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTS	
				NEGATIVE	POSITIVE
ONPG	2-nitrophenyl-βD-galactopyranoside	0.223	β-galactosidase (Ortho NitroPhenyl-βD-Galactopyranosidase	colorless	yellow (1)
ADH	L - arginine	1.9	Arginine DiHydrolase	yellow	red / orange (2)
LDC	L - lysine	1.9	Lysine DeCarboxylase	yellow	red / orange (2)
ODC	L - ornithine	1.9	Ornithine DeCarboxylase	yellow	red / orange (2)
CIT	trisodium citrate	0.756	CITrate utilization	pale green / yellow	blue-green / blue (3)
H_2S	sodium thiosulfate	0.075	H_2S production	colorless / greyish	black deposit / thin line
URE	urea	0.76	UREase	yellow	red / orange (2)
TDA	L- tryptophane	0.38	Tryptophane DeAminase	TDA / immediate yellow	TDA / immediate reddish brown
IND	L- tryptophane	0.19	INDole production	JAMES / immediate colorless pale green / yellow	JAMES / immediate pink
VP	sodium pyruvate	1.9	acetoin production (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / 10 min colorless	VP 1 + VP 2 / 10 min pink / red (5)
GEL	Gelatin (bovine origin)	0.6	GELatinase	no diffusion	diffusion of black pigment
GLU	D-glucose	1.9	fermentation / oxidation (GLUcose) (4)	blue / blue-green	yellow / greyish yellow
MAN	D-mannitol	1.9	fermentation / oxidation (MANnitol) (4)	blue / blue-green	yellow
INO	inositol	1.9	fermentation / oxidation (INOsitol) (4)	blue / blue-green	yellow
SOR	D-sorbitol	1.9	fermentation / oxidation (SORbitol) (4)	blue / blue-green	yellow
RHA	L-rhamnose	1.9	fermentation / oxidation (RHAmnose) (4)	blue / blue-green	yellow
SAC	D-sucrose	1.9	fermentation / oxidation (SACcharose) (4)	blue / blue-green	yellow
MEL	D-melibiose	1.9	fermentation / oxidation (MELibiose) (4)	blue / blue-green	yellow
AMY	amygdalin	0.57	fermentation / oxidation (AMYgdalin) (4)	blue / blue-green	yellow
ARA	L-arabinose	1.9	fermentation / oxidation (ARAbinose) (4)	blue / blue-green	yellow
OX	(see oxidase test package insert)		cytochrome - OXidase	(see oxidase test package insert)	

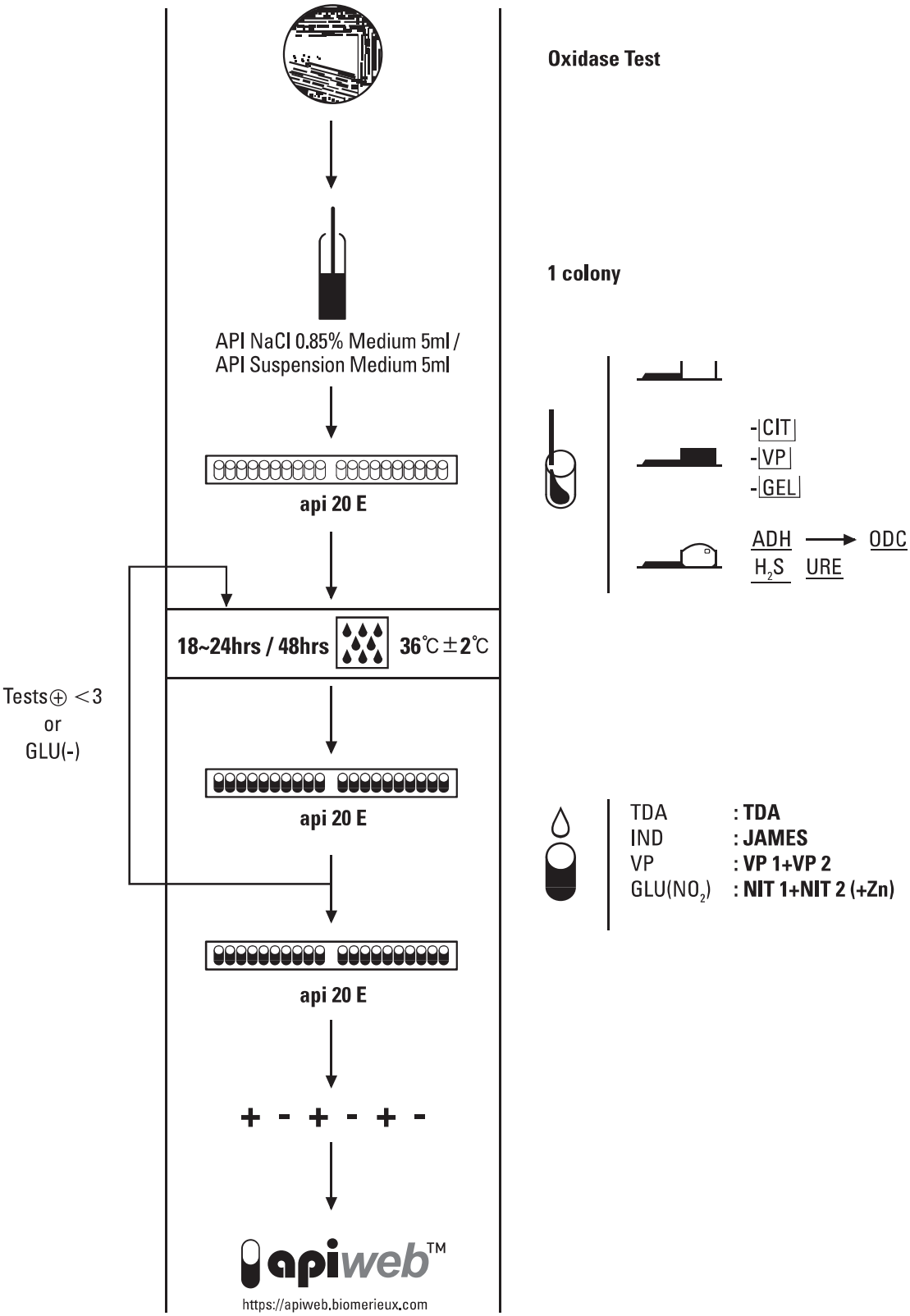
SUPPLEMENTARY TESTS

TESTS	ACTIVE INGREDIENTS	QTY (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTS	
				NEGATIVE	POSITIVE
Nitrate reduction GLU tube	potassium nitrate	0.076	NO_2 prodution	NIT 1 + NIT 2/2-5 min yellow	NIT 1 + NIT 2/2-5 min red
			reduction to N_2 gas	Zn / 5 min orange-red	Zn / 5 min yellow
MOB	API M Medium or microscope	-	motility	non-motile	motile
McC	MacConkey medium	-	growth	absence	presence
OF-F OF-O	glucose (API OF Medium)	-	fementation : under mineral oil oxidation : exposed to the air	green green	yellow yellow

(1) 옅은 노랑색은 양성 (2) 36~48시간 배양 후 orange color는 음성 (3) 큐플에서 리딩(aerobic)
(4) 발효는 튜브의 아랫부분에서 시작됨, 산화는 큐플에서 시작됨 (5) 10분후의 옅은 pink color는 음성으로 판정

API 20 E | 장내세균 및 그람 음성간균의 동정

검사방법



api® 20 E

READING / LECTURE - INTERPRETATION

Klebsiella pneumoniae pneumoniae ATCC 35657



ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
+	−	+	−	+	−	+*	−	−	+*	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Enterobacter cloacae ATCC 13047



ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
+	+	−	+	+	−	−	−	−	+	−	+	+	−	+	+	+	+	+	+

Proteus mirabilis ATCC 35659



ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
−	−	−	+	±*	+	+	+	−	−	−*	+	−	−	−	−	−	−	−	−

Stenotrophomonas maltophilia ATCC 51331



ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
+	−	−*	−	−*	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−

Escherichia coli ATCC 25922



ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
+	−	+	+	−	−	−	−	+	−	−	+	+	−	+	+	−	+	−	+

** 반응 결과는 시간의 경과에 따라 변화될 수 있습니다. / 위 예제들이 설명서의 판독표를 대체할 수는 없습니다.

api® 20 E

API 20 E V4.1	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NO2	N2	MOB	McC	OF/O	OF/F
Buttiauxella agrestis	100	0	0	85	25	0	0	0	0	0	0	100	100	0	1	99	0	92	99	100	0	100	0	100	100	100	100
Cedecea davisae	99	89	0	99	75	0	0	0	0	89	0	100	100	10	0	0	100	0	100	1	0	99	0	87	100	100	100
Cedecea lapagei	99	99	0	0	75	0	0	0	0	90	0	100	99	0	0	0	0	1	100	1	0	99	0	87	100	100	100
Citrobacter braakii	50	45	0	99	75	81	1	0	4	0	0	100	100	1	100	100	1	91	99	99	0	100	0	95	100	100	100
Citrobacter freundii	90	24	0	0	75	75	1	0	1	0	0	100	99	25	99	99	99	82	40	99	0	98	0	95	100	100	100
Citrobacter koseri/amalonaticus	99	75	0	100	97	0	1	0	99	0	0	100	100	25	99	99	1	1	98	99	0	100	0	95	100	100	100
Citrobacter koseri/farmeri	99	2	0	100	25	0	1	0	99	0	0	100	100	1	99	99	99	80	99	99	0	100	0	95	100	100	100
Citrobacter youngae	100	50	0	1	80	80	0	0	1	0	0	100	100	0	95	100	1	0	25	100	0	95	0	95	100	100	100
Edwardsiella hoshinae	0	0	100	99	50	94	0	0	99	0	0	100	100	0	0	1	100	0	0	1	0	100	0	100	100	100	100
Edwardsiella tarda	0	0	100	99	1	75	0	0	99	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	96	100	100	100
Enterobacter aerogenes	99	0	99	99	82	0	1	0	0	85	0	99	99	99	99	99	99	99	99	99	0	100	0	97	100	100	100
Enterobacter amnigenus 1	99	25	0	99	40	0	0	0	0	75	0	100	100	0	1	100	99	99	99	99	0	100	0	92	100	100	100
Enterobacter amnigenus 2	99	80	0	99	80	0	0	0	0	75	0	100	100	0	99	100	1	99	99	99	0	100	0	100	100	100	100
Enterobacter asburiae	100	25	0	99	80	0	0	0	0	10	0	100	99	25	100	0	99	0	100	100	0	100	0	95	100	100	100
Enterobacter cancerogenus	100	75	0	99	99	0	0	0	0	89	0	100	100	0	1	100	1	1	100	100	0	100	0	99	100	100	100
Enterobacter cloacae	98	82	1	92	90	0	1	0	0	85	0	99	99	12	90	85	96	90	99	99	0	100	0	95	100	100	100
Enterobacter gergoviae	99	0	32	100	75	0	99	0	0	90	0	100	99	23	1	100	99	100	99	100	0	100	0	90	100	100	100
Enterobacter intermedius	99	0	0	99	1	0	0	0	0	2	0	100	97	0	88	99	40	100	99	99	0	100	0	92	100	100	100
Enterobacter sakazakii	100	96	0	91	94	0	1	0	25	91	10	100	100	75	8	99	99	99	99	99	0	100	0	96	100	100	100
Escherichia coli 1	90	1	74	70	0	1	3	0	89	0	0	99	98	1	91	82	36	75	3	99	0	100	0	95	100	100	100
Escherichia coli 2	26	1	45	20	0	1	1	0	50	0	0	99	90	1	42	30	3	3	1	70	0	98	0	5	100	100	100
Escherichia fergusonii	96	1	99	100	1	0	0	0	99	0	0	100	99	1	0	87	0	1	99	99	0	100	0	93	100	100	100
Escherichia hermannii	100	0	1	100	1	0	0	0	99	0	0	100	100	0	0	99	25	0	99	99	0	100	0	99	100	100	100
Escherichia vulneris	100	30	50	0	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	1	95	7	95	95	99	0	100	0	100	100	100	100
Ewingella americana	99	0	0	0	75	0	0	0	0	95	1	99	99	0	0	1	0	1	50	1	0	100	0	60	100	100	100
Hafnia alvei 1	75	0	99	98	50	0	10	0	0	50	0	99	99	0	1	99	0	0	25	99	0	100	0	85	100	100	100
Hafnia alvei 2	50	0	99	99	1	0	1	0	0	10	0	99	98	0	1	1	1	0	0	1	0	100	0	0	100	100	100
Klebsiella oxytoca	99	0	80	0	89	0	78	0	99	80	0	100	100	99	100	99	99	100	100	100	0	100	0	0	100	100	100
Klebsiella pneumoniae ssp ozaenae	94	18	25	1	18	0	1	0	0	1	0	99	96	57	66	58	20	80	97	85	0	92	0	0	100	100	100
Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae	99	0	73	0	86	0	75	0	0	90	0	100	99	99	99	99	99	99	99	99	0	100	0	0	100	100	100
Klebsiella pneumoniae ssp rhinoscleromatis	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	100	90	90	75	75	1	99	10	0	100	0	0	100	100	100
Kluyvera spp	95	0	25	99	60	0	0	0	80	0	0	100	99	0	25	93	89	99	99	99	0	95	0	94	100	100	100
Leclercia adecarboxylata	99	0	0	0	0	1	0	0	99	0	1	100	99	0	2	100	66	99	99	100	0	100	0	100	100	100	100
Moellerella wisconsensis	97	0	0	0	40	0	0	0	15	1	0	100	1	0	0	0	100	99	0	0	0	90	0	0	0	100	100
Morganella morganii	1	0	10	98	1	1	99	93	99	0	0	99	0	0	0	0	1	0	0	0	0	98	0	95	100	100	100
Pantoea spp 1	85	1	0	0	13	0	1	0	1	9	1	100	99	1	26	1	98	26	59	61	0	85	0	85	100	100	100
Pantoea spp 2	99	1	0	0	99	0	1	0	53	62	4	100	99	36	82	90	98	81	99	99	0	85	0	85	100	100	100
Pantoea spp 3	99	1	0	0	21	0	1	0	1	86	15	100	99	34	1	97	93	23	65	97	0	85	0	85	100	100	100
Pantoea spp 4	86	1	0	0	29	0	1	0	59	1	1	99	100	10	32	99	72	89	99	99	0	85	0	85	100	100	100
Proteus mirabilis	1	0	0	99	50	75	99	99	1	1	82	98	0	0	0	0	1	0	0	0	0	93	0	95	100	100	100
Proteus penneri	1	0	0	0	1	20	100	99	0	0	50	99	0	0	0	0	100	0	1	0	0	99	0	85	100	100	100
Proteus vulgaris group	1	0	0	0	12	83	99	99	92	0	74	99	1	1	0	1	89	0	66	1	0	100	0	94	100	100	100
Providencia alcalifaciens/rustigianii	0	0	0	0	80	0	0	100	99	0	0	99	1	1	0	0	1	0	0	1	0	100	0	96	100	100	100
Providencia rettgeri	1	1	0	0	74	0	99	99	90	0	0	98	82	78	1	50	25	0	40	1	0	98	0	94	100	100	100
Providencia stuartii	1	0	0	0	85	0	30	98	95	0	0	98	3	80	0	0	15	0	0	0	0	100	0	85	100	100	100
Rahnella aquatilis	100	0	0	0	50	0	0	1	0	99	0	100	100	0	98	99	100	97	100	98	0	100	0	6	100	100	100
Raoultella ornithinolytica	100	0	99	99	99	0	85	0	100	66	0	100	100	99	100	100	100	100	100	100	0	100	0	0	100	100	100
Raoultella terrigena	100	0	99	6	52	0	0	0	0	75	0	99	99	99	99	99	100	100	100	99	0	100	0	0	100	100	100
Salmonella choleraesuis ssp arizonae	98	75	97	98	75	99	0	0	1	0	0	100	99	0	99	99	1	78	0	99	0	100	0	99	100	100	100
Salmonella choleraesuis ssp choleraesuis	0	15	99	99	6	64	0	0	0	0	0	100	99	0	98	99	0	20	0	0	0	100	0	95	100	100	100
Salmonella ser.Gallinarum	0	1	100	1	0	25	0	0	0	0	0	100	100	0	0	1	0	0	0	100	0	100	0	0	100	100	100

API 20 E V4.1	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NO2	N2	MOB	McC	OF/O	OF/F
Salmonella ser.Paratyphi A	0	5	0	99	0	1	0	0	0	0	0	100	99	0	99	98	0	96	0	99	0	100	0	95	100	100	100
Salmonella ser.Pullorum	0	1	75	100	0	85	0	0	0	0	0	100	100	0	0	100	0	0	0	75	0	100	0	0	100	100	100
Salmonella typhi	0	1	99	0	0	8	0	0	0	0	0	100	99	0	99	0	0	99	0	0	0	100	0	97	100	100	100
Salmonella spp	1	56	82	93	65	89	0	0	1	0	1	99	100	40	99	86	1	90	1	99	1	100	0	95	100	100	100
Serratia ficaria	99	0	0	0	100	0	0	0	0	40	90	100	100	50	99	74	99	99	100	99	0	92	0	100	100	100	100
Serratia fonticola	99	0	73	99	75	0	0	0	0	0	0	100	100	97	100	99	30	99	99	99	0	99	0	91	100	100	100
Serratia liquefaciens	95	1	78	98	80	0	2	0	0	59	65	100	99	80	98	2	99	72	97	97	0	100	0	95	100	100	100
Serratia marcescens	94	0	95	95	96	0	25	0	1	70	87	100	99	85	98	1	99	68	97	25	0	95	0	97	100	100	100
Serratia odorifera 1	95	0	95	99	95	0	0	0	99	50	99	100	99	99	99	99	99	99	99	99	0	99	0	100	100	100	100
Serratia odorifera 2	95	0	96	1	95	0	0	0	99	50	99	100	99	99	99	99	1	99	99	95	0	99	0	100	100	100	100
Serratia plymuthica	99	0	0	0	65	0	0	0	0	65	50	100	90	70	70	1	99	85	98	98	0	99	0	50	100	100	100
Serratia rubidaea	99	0	30	0	92	0	1	0	0	71	82	99	99	75	1	3	99	95	99	99	0	100	0	85	100	100	100
Shigella spp	1	0	0	1	0	0	0	0	29	0	0	99	63	0	7	7	1	20	0	50	0	100	0	0	100	100	100
Shigella sonnei	96	0	0	93	0	0	0	0	0	0	0	99	99	0	1	75	1	1	0	99	0	100	0	0	100	100	100
Yersinia enterocolitica	80	0	0	90	0	0	98	0	50	5	0	99	99	25	98	1	99	4	75	75	0	98	0	2	100	100	100
Yersinia frederiksenii/intermedia	99	0	0	75	1	0	99	0	99	1	0	100	99	25	99	99	99	1	99	99	0	98	0	5	100	100	100
Yersinia kristensenii	80	0	0	80	0	0	99	0	97	0	0	100	99	10	99	0	0	0	99	99	0	98	0	5	100	100	100
Yersinia pestis	68	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	99	99	0	70	0	0	0	30	30	0	47	0	0	99	100	100
Yersinia pseudotuberculosis	98	0	0	0	1	0	99	0	0	0	0	99	97	0	0	76	0	50	25	50	0	95	0	0	100	100	100
Aeromonas hydrophila gr.	98	90	25	1	25	0	0	0	85	25	90	99	99	1	3	5	97	1	75	75	100	97	0	95	99	99	99
Aeromonas hydrophila gr.	99	97	80	1	80	0	0	0	85	80	97	97	99	9	9	1	80	1	75	5	100	97	0	95	99	99	99
Aeromonas salmonicida ssp salmonicida	1	60	1	0	0	0	0	0	1	0	75	50	54	0	0	0	0	0	1	0	100	98	0	1	99	99	99
Grimontia hollisae	1	0	0	0	0	0	0	0	94	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	0	99	99	99
Photobacterium damselae	1	99	75	0	1	0	98	0	0	10	1	50	0	0	0	0	1	0	0	0	100	100	0	25	99	99	99
Plesiomonas shigelloides	95	99	100	100	0	0	0	0	100	0	0	99	0	99	0	0	0	0	0	0	100	99	0	95	99	99	99
Vibrio alginolyticus	0	0	98	75	60	0	1	0	100	10	75	99	100	0	1	0	100	0	10	1	100	47	0	100	99	94	94
Vibrio cholerae	98	1	94	97	75	0	0	0	99	58	92	98	98	0	0	0	94	0	5	0	100	96	0	100	96	99	99
Vibrio fluvialis	95	99	0	0	1	0	0	0	80	0	75	75	80	0	1	0	75	0	36	75	100	100	0	100	99	99	99
Vibrio mimicus	99	0	99	99	50	0	0	0	99	1	99	99	99	0	0	0	0	0	0	0	100	95	0	100	95	99	99
Vibrio parahaemolyticus	0	0	100	99	50	0	1	0	100	1	75	100	99	0	0	1	1	0	12	50	100	63	0	100	98	99	99
Vibrio vulnificus	99	0	91	90	25	0	0	0	99	1	99	99	75	0	0	0	1	0	90	0	99	54	0	100	99	99	99
Pasteurella aerogenes	99	0	0	80	0	0	99	0	0	0	0	99	0	97	0	1	99	0	0	75	75	100	0	0	100	100	100
Pasteurella multocida 1	4	0	0	25	0	0	0	0	99	0	0	29	1	0	1	0	75	0	0	99	0	90	0	0	2	23	23
Pasteurella multocida 2	7	0	0	45	0	0	0	0	99	0	0	44	99	0	99	0	99	0	0	0	69	90	0	0	2	23	23
Pasteurella pneumotropica/Mannheimia haemolytica	60	0	1	10	0	0	25	0	15	7	3	35	12	12	12	1	35	1	2	1	80	99	0	0	9	33	33
Acinetobacter baumannii/calcoaceticus	0	0	0	0	51	0	1	0	0	5	5	99	0	0	0	0	0	99	1	99	0	3	0	0	90	98	0
*Bordetella/Alcaligenes/Moraxella spp**	0	0	0	0	52	0	14	1	0	25	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	95	62	1	75	75	0	0
Burkholderia cepacia	50	0	25	16	78	0	0	0	0	1	43	60	1	0	0	0	13	0	7	20	90	40	0	99	88	97	0
Chromobacterium violaceum	0	99	0	0	75	0	0	0	14	0	99	99	0	0	0	0	10	0	0	0	99	75	0	99	99	99	99
Chryseobacterium indologenes	5	0	0	0	12	0	90	0	75	0	80	0	0	0	0	0	0	0	0	99	20	0	0	57	90	10	
Chryseobacterium meningosepticum	77	0	0	0	20	0	1	0	85	0	90	0	0	0	0	0	0	0	0	99	6	0	0	48	93	6	
Eikenella corrodens	0	0	75	99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	95	0	1	1	49	49	
Myroides /Chryseobacterium indologenes	0	0	0	0	50	0	75	0	0	1	75	0	0	0	0	0	0	0	0	99	0	0	0	84	2	2	
Ochrobactrum anthropi	15	0	0	0	30	0	25	1	0	15	0	1	0	0	0	0	0	0	10	90	42	60	99	99	47	0	
Pseudomonas aeruginosa	0	89	0	0	92	0	25	0	0	1	75	50	0	0	0	0	1	10	1	25	97	12	56	97	100	98	0
Pseudomonas fluorescens/putida	0	75	0	0	75	0	0	0	0	10	27	25	0	0	0	0	25	1	20	99	26	0	100	96	93	0	
Pseudomonas luteola	86	75	0	0	94	0	0	0	0	25	13	84	0	1	0	1	1	15	1	85	0	30	0	100	91	94	0
Pseudomonas oryzihabitans	0	0	0	0	69	0	0	0	0	25	1	10	0	1	0	1	0	10	0	45	0	7	0	100	99	99	0
Non-fermenter spp	1	1	0	0	37	0	1	0	0	15	9	9	0	0	0	1	1	1	1	93	48	35	99	85	49	0	
Shewanella putrefaciens group	0	0	0	80	75	75	1	0	0	0	75	1	0	0	0	0	1	0	0	2	99	96	0	100	96	9	0
Stenotrophomonas maltophilia	70	0	75	1	75	1	0	0	0	0	90	1	0	0	0	0	0	0	0	1	26	1	100	91	49	0	

24~48 hrs (35~37 ℃)

API 20 E Ref. 20 100 : 25 strips

**Brucella spp possible*

BIOMÉRIEUX KOREA