

体外診断用医薬品

承認番号：16200AMY00355000

**2017年10月改訂（第6版）

*2015年1月改訂（第5版）

クラスⅢ細菌検査用シリーズ
嫌気性菌生化学的同定キット

ラップ アイディー キット 嫌気性細菌同定用キットⅡ

Rap ID ANAII SYSTEM

【全般的な注意】

- 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行ってください。
- 本品は、体外診断用にのみ使用し、他の目的では使用しないでください。
- 本添付文書の記載に従って、使用すること。記載された操作方法及び使用方法以外での使用については、結果の信頼性を保証できません。

【形状、構造等（キットの構成）】

- ANA II パネル
- ANA II 試薬
- スポットインドール
- イノキュレーション液（菌浮遊液調整用）

パネル（1パネル中）

ウェル	成分	分量
1	尿素	20 µg
2	p-ニトロフェニル-β-D-ジサッカリド	5 µg
3	p-ニトロフェニル-α-L-アラビノシド	5 µg
	ロイシル-グリシン-β-ナフチルアミド	4 µg
4	o-ニトロフェニル-β-D-ガラクトシド	5 µg
	グリシン-β-ナフチルアミド	4 µg
5	p-ニトロフェニル-α-D-グルコシド	5 µg
	ブロリン-β-ナフチルアミド	4 µg
6	p-ニトロフェニル-β-D-グルコシド	4 µg
	フェニルアラニン-β-ナフチルアミド	2.5 µg
7	p-ニトロフェニル-α-D-ガラクトシド	4 µg
	アルギニン-β-ナフチルアミド	2.5 µg
8	p-ニトロフェニル-α-L-フコシド	4 µg
	セリン-β-ナフチルアミド	4 µg
9	p-ニトロフェニル-N-アセチル-β-D-グルコサミン	5 µg
	ピロリドニル-β-ナフチルアミド	4 µg
10	p-ニトロフェニルリン酸塩	5 µg
	トリプトファン	0.5 µg

【使用目的】

嫌気性細菌の同定検査

本品で同定できる菌種は以下の通りです

- *Bacteroides* spp.
 - B. caccae*
 - B. fragilis*
 - B. stercoris*
 - B. thetaiotaomicron*
 - B. vulgatus*
- Bilophila wadsworthia*
- Campylobacter gracilis*
- Capnocytophaga* spp.
 - *Fusobacterium*
 - F. mortiferum*
 - F. nucleatum*
 - Odoribacter splanchnicus* *
 - Parabacteroides merdae* *
 - *Porphyromonas* spp.
 - Porph. asaccharolytica*
 - Porph. gingivalis*
 - *Prevotella* spp.
 - Pr. bivia*
 - Pr. buccalis/veroralis*
 - Pr. denticola*
- B. eggerthii*
- B. ovatus*
- B. pyogenes* *
- B. uniformis*
- Campylobacter ureolyticus* *
- F. necrophorum*
- F. varium*
- Parabacteroides distasonis* *
- Porph. endodontalis*
- Pr. buccae*
- Pr. corporis*
- Pr. disiens*

- Pr. intermedia*
- Pr. melaninogenica*
- Pr. oris*
- Pseudoflavonifractor capillosus* *
- *Mobiluncus* spp.
 - Mob. curtisii*
- Wolinella* sp.
 - *Actinomyces* spp.
 - A. bovis*
 - A. meyeri*
 - A. odontolyticus*
 - A. viscosus*
- Arcanobacterium pyogenes* *
- Bifidobacterium* spp.
 - *Clostridium* spp.
 - C. baratii*
 - C. bifermentans*
 - C. botulinum II*
 - C. cadaveris*
 - C. difficile*
 - C. hastiforme*
 - C. innocuum*
 - C. novyi A*
 - C. perfringens*
 - C. septicum*
 - C. sporogenes*
 - C. tertium*
- Collinsella aerofaciens* *
- Eubacterium limosum*
 - *Lactobacillus* spp.
 - L. acidophilus*
 - L. catenaforme*
 - L. jensenii*
- *Propionibacterium* spp.
 - Prop. Acnes*
 - Prop. propionicum* *
- *Anaerococcus* spp. *
 - Ana. hydrogenalis* *
 - Ana. tetradius* *
- Blautia producta* *
- Gemella morbillorum*
- Micromonas micros* *
- Peptoniphilus asaccharolyticus* *
- Peptostreptococcus anaerobius*
- Staphylococcus saccharolyticus*
 - *Streptococcus*
 - Str. constellatus*
- Veillonella* spp.
- Pr. loescheii*
- Pr. oralis Group*
- Tannerella forsythia* *
- Mob. mulieris*
- Tissierella praeacuta*
- A. israelii*
- A. naeslundii*
- A. turicensis*
- Atopobium minutum* *
- C. beijerinckii*
- C. botulinum I*
- C. butyricum*
- C. clostridioforme*
- C. glycolicum*
- C. histolyticum*
- C. limosum*
- C. paraputrificum*
- C. ramosum*
- C. sordellii*
- C. subterminale*
- C. tetani*
- Eggerthella lenta* *
- L. casei*
- L. fermentum*
- Prop. Granulosum*
- Ana. prevotii* *
- Fingoldia magna* *
- Peptoniphilus indolicus* *
- Str. intermedius*

【測定原理】

本品は、ANA II パネル、ANA II 試薬、スポットインドール、イノキュレーション液よりなります。ANA II パネルの各反応槽にはおのおの加水分解反応等の基質が含まれており、これらの基質と被検菌株との生化学反応により生じる色調の変化を観察することにより被検菌株を同定します。

●各反応槽の原理

○一次判定

ウェル	テストコード	反応原理
1	URE	尿素の加水分解により pH が上昇し、指示薬が呈色
2	BLTS	無色のアリル配糖体またはアリル置換リン酸エステルの酵素的加水分解により遊離した黄色の o-又は p-ニトロフェノールを検出
3	aARA	
4	ONPG	
5	aGLU	
6	BGLU	
7	aGAL	
8	aFUC	
9	NAG	
10	PO4	

○二次判定 (試薬添加後)

ウェル	テストコード	反応原理	
3	LGY	アリルアミド基の酵素的加水分解により遊離した β-ナフチルアミドを ANA II 試薬により検出	
4	GLY		
5	PRO		
6	PAL		
7	ARG		
8	SER		
9	PYR		
10	IND		トリプトファンの利用により生成されるインドールをスポットインドールにより検出

【操作上の注意】

- 被検菌株は嫌気性条件下で純培養されたものでなければなりません。検査前にグラム染色で純培養を確認してください。
- 検体に応じ、最適な培地を選択してください。推奨培地は以下の通りです。
 - 《選択培地》
 - フェニルエチルアルコール寒天培地
 - エッグヨーク寒天培地
 - パロマイシン/バンコマイシン添加寒天培地
 - カナマイシン/バンコマイシン添加寒天培地
 - 《非選択培地》
 - 5~7%ヒツジ血液添加ブルセラ培地
 - コロンビア寒天培地
 - ブレイン-ハートフュージョン寒天培地
 - CDC 嫌気性菌用ヒツジ血液寒天培地
- 塩化パラジウムやその他の還元性のある物質を含んだ還元性培地では酵素活性が抑制されるため、使用しないで下さい。
- カナマイシン加胆汁エスクリン培地やバクテロイデス胆汁エスクリン寒天培地 (BBE 寒天培地) では鉄-エスクリン複合体により判定に妨害を与えるため、使用しないで下さい。
- 単糖または二糖類を含有する培地はグリコシダーゼ活性を抑制または減少させるので使用しないで下さい。最も一般的なシェドラー寒天培地はグリコシダーゼ活性を阻害するのに十分なブドウ糖を含有しています。
- 72 時間以内培養の菌株を検査に使用してください。通常は 18~24 時間培養後のものを使用してください。
- 被検菌株をイノキュレーション液に懸濁させ、マックファーランド #3 と同程度の濁度となるよう、調整してください。
- 菌液は、調整後 15 分以内に ANA II パネルに接種してください。
- 純培養の確認と追加テストの必要性を考慮し、菌液を摂取し、寒天培地等で 18~24 時間、培養することが推奨されます。
- 使用したピペット等は感染性廃棄物として、所定の処置後、廃棄してください。

【用法・用量 (操作方法)】

●使用前の準備

- 冷所で保存してあるパネルと試薬を必要な分だけ取り出し、室温に戻します。室温に戻したパネルは当日中に使用してください。
**
- 以下の物品はキットに含まれていませんが、本品の使用の際に必要です。
滅菌綿棒、又は菌液調整用ループ
マックファーランド #3 基準液
パステールピペット
インキュベーター (35~37℃)

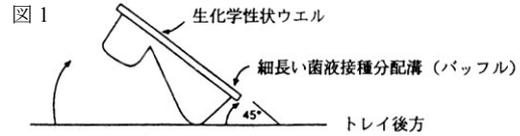
ANA II コードコンペンディウム

●菌液の調整

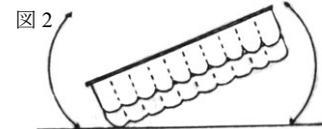
- 操作上の注意を参考にし、イノキュレーション液 1ml に菌体を懸濁させます。

●パネルへの注入

- ANA II パネルの菌液注入口 (Peel to Inoculate と印字のある部分) のシールを少しはがします。
- 調整した菌液全量をピペットにてパネルの注入口より分注します。
- パネルを後方に 45° 傾けます (図 1)。

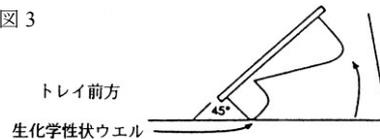


- この状態で菌液が均等に各ウェルに分配されるよう、左右にゆくりと 3、4 回揺らします (図 2)。



- パネルを水平に戻し、そのまま静かに手前に傾けて菌液を均等に各反応槽に分配します (図 3)。分配に失敗したパネルは使用できません。また、このとき、菌液が天井部のシールカバーに触れないよう、静かに移してください。

図 3



- 反応槽に気泡が生じたものは、パネルを静かに打ちつけ、気泡を除いてください。

●インキュベーション

- パネルをキットに付属しているインキュベーショントレイに移し、好気的条件下、35~37℃で 4 時間培養します。ただし、6 時間以上は培養しないで下さい。

●一次判定

- 培養後のパネルを白紙の上に置き、パネルをしっかり手で押さえ、反応槽のシールを左の方へ剥がします。
- 補助試薬を一切加えずに、次項に従い、判定してください。

●二次判定

- ANA II 試薬を反応槽 3~9 に 2 滴ずつ加えます。
- スポットインドールを反応槽 10 に 2 滴加えます。
- 追加試薬添加後、30 秒放置し、その後次項に従い判定してください。ただし、追加試薬添加後、2 分以内に判定を行ってください。

【測定結果の判定法】

- 以下の呈色反応表を参考に各反応槽の陽性・陰性を判定し、レポートフォームに記載します。
- 陽性と判定された反応槽に割り当てられた数値 (1,2,4) をブロック毎に合算し、6 桁のマイクロコードを作成します。
- 作成した 6 桁のマイクロコードを踏まえて、コードブックにより菌名を検索します。

●呈色反応表

<グラム陽性桿菌、球菌用>

○一次判定

ウェル	テストコード	判定		コメント
		陽性	陰性	
1	URE	赤色又は紫色	黄色から橙色	暗性色の橙色、赤みがかった橙色は陰性。
2	BLTS	黄色	透明、黄褐色又は	明確な黄色のみ陽性と判定。薄い黄色、または
3	aARA			
4	ONPG			

5	aGLU		非常に薄い黄色	黄色を暗示させる程度のものは陰性。
6	BGLU			
7	aGAL			
8	aFUC			
9	NAG			
10	PO4			

○二次判定（試薬添加後）

ウェル	テストコード	判定		コメント
		陽性	陰性	
3	LGY	紫色、赤紫色、赤色又は薄いピンク色	黄色、橙色、又は薄いピンク色	試薬添加後少なくとも30秒以上放置し、2分以内で判定を終了させること。陽性で表現した色調以外は陰性と判定。薄く陰った色合いは陰性。
4	GLY			
5	PRO			
6	PAL			
7	ARG			
8	SER			
9	PYR			
10	IND	青色、又は青緑色	その他の色（黄色、紫色、ピンク色、赤色）	色彩、明暗など濃淡に関係なく青色または青緑色は全て陽性。

<グラム陰性桿菌用>

○一次判定

ウェル	テストコード	判定		コメント
		陽性	陰性	
1	URE	赤色又は紫色	黄色から橙色	暗色の橙色、赤みがあった橙色は陰性。
2	BLTS	黄色又は明黄色	透明又は淡黄色	薄くても黄色の呈色があれば陽性。両側の陽性呈色槽の黄色に影響を受け、透明又は白濁色が薄い黄色に染まって見える時があるが、その場合はパネルを持ち上げ真横から見ると、その影響を受けずに正確に判定出来る。この時、明らかに薄い黄色に染まって見える場合は陽性と判断する。
3	aARA			
4	ONPG			
5	aGLU			
6	BGLU			
7	aGAL			
8	aFUC			
9	NAG			
10	PO4			

○二次判定（試薬添加後）

ウェル	テストコード	判定		コメント
		陽性	陰性	
3	LGY	紫、赤紫、赤暗い橙又は薄いピンク	黄色、橙色又は淡ピンク	試薬添加後30秒放置して、2分以内で判定を終了させること。ピンク色の色調が少しでも見えたら陽性と判定。
4	GLY			
5	PRO			
6	PAL			
7	ARG			
8	SER			
9	PYR			
10	IND	青色又は青緑色	その他の色（黄色、紫色、ピンク色、赤色）	色彩、明暗、濃淡などに関係なく青色又は青緑色は全て陽性と判定。

【性能】

・ 感度・特異性試験

下記、標準菌を検体に用法及び用量に従い試験を行うとき、結果として導かれる同定菌名が標準菌と一致し、かつ同定確率は80%以上であること。

《標準菌》

ATCC 8492 (*Bacillus distasonis*)

ATCC 8503 (*Bacteroides uniformis*)

ATCC 9714 (*Clostridium sordellii*)

・ 同時再現性試験

感度・特異性と同様に操作する試験を同一ロットにつき3回以上行うとき、同一の結果を示すこと。

【使用上又は取扱い上の注意】

試験に使用したイノキュレーション液チューブ、パネル、反応槽カバーシール、その他汚染した物品は、使用后オートクレーブ等で滅菌後廃棄してください。

本品は、細菌同定用の試薬ですが、同種中の菌株の中でもバリエーションが存在します。分離菌の最終同定には、検体の由来、空気への耐性、細胞の形態又は種々の培地上のコロニーの特徴等を考慮に入れる必要があります。

【貯蔵方法、有効期間】

貯蔵方法：2～8℃

有効期間：9ヶ月

【包装】

20テスト分/箱

【主要文献】

- Allen, S. D., J. A. Siders, and L. M. Marler. 1985. Isolation and Examination of Anaerobic Bacteria. p. 413-433. In: E. H. Lennette, A. Balows, W. J. Hausler, Jr., and H. J. Shadomy (eds.), Manual of Clinical Microbiology. 4th Edition, Am. Soc. Microbiol., Washington, D. C.
- Appelbaum, P. C., C. S. Kaufman, J. C. Keifer, and H. J. Venbrux. 1984. Comparison of Three Methods for Anaerobic Identification, J. Clin. Microbiol. 18:615-621.
- Appelbaum, P. C., J. W. Depenbusch, and C. S. Kaufman. 1984. Evaluation of a 4h Method for Identification of Anaerobes. Abstr. Ann. Mtg., Am. Soc. Microbiol., Washington, D. C. C153.
- Barnes, E.H., and J. F. Morris. 1957. A quantitative study of the phosphatase activity of *Micrococcus pyogenes*. J. Bacteriol. 73:100-104.
- Blazevic, D. J. and G. M. Ederer. 1975. Principles of biochemical tests in diagnostic microbiology. John Wiley & Sons. New York, N.Y.
- Burdash, N. M., K. A. Corey, P. J. Fortuna, M. L. Beasley, E. R. Bannister, and J. P. Manos. 1984. Anaerobe Identification Using the RapID ANA System. Abstr. Ann. Mtg., Am. Soc. Microbiol., Washington, D. C. C150.
- Celig, D. M. and P. C. Schreckenberger. 1991. Clinical Evaluation of the RapID ANA II Panel for Identification of Anaerobic Bacteria. J. Clin. Microbiol. 29:457-462.
- Dellinger, C. A. and L. V. Moore. 1986. Use of the RapID ANA System to Screen for Enzymatic Activities that Differ Among Species of Bile-Inhibited Bacteroides. J. Clin. Microbiol. 23:289-293.
- Dowell, V. R., Jr. and T. M. Hawkins. 1977. Laboratory Methods in Anaerobic Bacteriology, CDC Laboratory Manual. DHEW Publ. no. (CDC)78-8272. Centers for Disease Control, Atlanta, GA.
- Fay, G. D. and A. L. Barry, 1974. Methods for Detecting Indole production by Gram Negative Nonsporeforming Anaerobes. Appl. Microbiol., 15:822-825.
- Finegold, S. M., W. E. Shepard, and E. H. Spaulding. 1977. Practical Anaerobic Bacteriology. Cumitech 5. (W. E. Shepard, coord. ed.). Amer. Soc. Microbiol., Washington, D. C.
- Guilbert, G. G. 1970. Determination of Enzymes. In: Methods of Enzymatic Analysis. p. 43-51. Pergamon Press, New York, N.Y.
- Hamilton, L. T., C. Ayer, and D. N. Wright. 1985. Clinical Comparison of Anaerobe Identification Systems. Abstr. Ann. Mtg., Am. Soc. Microbiol., Washington, D. C. C159.
- Hansen, S. L. and W. A. Pope. 1984. Comparison of the RapID ANA System to the Minitek Anaerobe System II for Identification of Anaerobes. Abstr. Ann. Mtg., Am. Soc. Microbiol., Washington D. C. C147
- Holdeman, L. V., E. P. Cato, and W. E. C. Moore. 1987. Anaerobe Laboratory Manual, 4th Edition. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA.
- Holdeman, L. V., E. P. Cato, and W. E. C. Moore, 1987. Anaerobe Lab Manual Update. Supplement to the 4th Edition. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA.
- Kaplan, R.L., M. J. Orbrian, and W. Landua, 1985, Comparative Evaluation of the IDS RapID ANA and the API Anident Systems. Abstr. Ann. Mtg., Am. Soc. Microbiol., Washington, D. C. C163.
- Karachewski, N. O., E. L. Busch, and C. L. Wells. 1984. Evaluation of the PRAS II, RapID ANA and API 20A Systems for Identification of Anaerobic Bacteria. Abstr. Ann. Mtg., Am. Soc. Microbiol., Washington, D. C. C148.
- Kilian, M. and P. Bulow. 1976. Rapid Detection and Identification of Enterobacteriaceae I. Detection of Bacterial Glycosidases. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B. 84: 245-251.
- Lennette, E. H., A. Balows, W. J. Jausler, Jr., and H.J. Shadomy, eds.

1985. Manual of Clinical Microbiology, 4th Edition. Amer. Soc. Microbiol., Washington, D. C.
21. Mangels, J., D. Berkley, and S. Wood. 1984. Comparison of the RapID ANA and API 20A Systems for the Identification of Clinical Anaerobe Isolates. Abstr. Ann. Mtg., Am. Soc. Microbiol., Washington, D. C. C152.
 22. Marler, L. M., J. A. Siders, L. C. Wolters, Y. Pettigrew, B. L. Skitt, and S. D. Allen. 1991. Evaluation of the New Rapid ANA II System for the Identification of Clinical Anaerobic Isolates. J. Clin. Microbiol. 29:874-878.
 23. Morgenstem, F. 1984, Rapid 4 hour Enzymatic Characterization of Clinical Anaerobic Isolates. Abstr. Ann. Mtg., Am. Soc. Microbiol., Washington, D. C. C154.
 24. Nagatsu, T., M. Hino, H. Fuyamada, T. Hayakowa, S. Sakakibara, Y. Nakagowa, and T. Takemoto. 1976. New chromogenic substrates for X-prolyl dipeptidyl-aminopeptidase. Anal. Biochem. 74:466-476.
 25. Niles, A. C. and P. R. Murray. 1985. Laboratory Evaluation of API 20A, API Anident and IDS RapID ANA, Abstr. Ann. Mtg., Am. Soc. Microbiol., Washington, D. C. C161.
 26. Peterson, E. H. and E. J. Hsu. 1978. Rapid detection of Gram-negative bacteria by aminopeptidase profiles. J. Food. Sci. 43:1853-1856.
 27. Ristow, K. L., P. C. Schreckenberger, D. M. Celig, M. A. Ulanday, and L. J. LeBeau. 1984. Evaluation of the RapID ANA System for the Identification of Anaerobic Bacteria from Clinical Specimens. Abstr. Ann. Mtg., Am. Soc. Microbiol., Washington, D. C. C151.
 28. Rosalki, S. B. 1975. Gamma glutamyl transpeptidase. In: Advances in clinical chemistry: 17. (O. Bacanski and A. L. Latner, eds.), Academic Press, New York, N.Y.
 29. Sutter, V. L. and W. T. Carter. 1972. Evaluation of Media and Reagents for Indole Spot Tests in Anaerobic Microbiology, J. Clin. Pathol. 58:335-339.
 30. Sutter, V. L., D. M. Citron, M. A. C. Edelstein, and S. M. Finegold. 1985. Wadsworth Anaerobic Bacteriology Manual, 4th Edition. Star Publishing Company, Belmont, CA.
 31. Syed, S., W. J. Loesche, and C. Pearson. 1984. Efficiency of the RapID ANA System for the Identification of Oral and Nonoral Bacteria. Abstr. Ann. Mtg., Am. Soc. Microbiol., Washington, D. C. C155.
 32. Tharagonet, D., P. R. Sisson, C. M. Roxby, H. R. Ingham, and J. B. Selkon. 1977. The API Zym System in the identification of Gram-negative Anaerobes, J. Clin. Pathol. 30:505-509.
 33. Watson, R. R. 1976. Substrate specificities of animopeptidases. A specific method for microbial identification. Methods in Microbiol. 9:1-14.
 34. Westley, J. R., P. J. Anderson, V. A. Close, B. Halpern, and E. M. Lederberg. 1967. Aminopeptidase profiles of various bacteria. Appl. Microbiol. 15:822-825.

【問い合わせ先】**

株式会社 アムコ
 東京都千代田区飯田橋 4-8-7
 TEL : 03-3265-4261 FAX : 03-3265-2796

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

●製造販売業者
 株式会社 アムコ
 東京都千代田区飯田橋 4-8-7
 TEL : 03-3265-4261

●外国製造業者
 業者名 : リーメル社 (Remel. Inc.)
 国名 : 米国