

** ご使用の際は、電子化された添付文書をよくお読みください

コレラ菌キット
コレラ菌AD「生研」

【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. 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判断してください。
- ** 3. 電子化された添付文書以外での使用方法については、結果の信頼性を保証致しません。
4. 本品には、保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれていますので、誤って目や口に入れたり、皮膚に付着した場合には水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。
5. 試薬容器、付属品等は当検査以外の目的に転用しないでください。

【形状・構造等(キットの構成)】

- | | | |
|--------------------------|-----|----|
| 1. 感作ラテックス a (液剤) | 2mL | 1本 |
| コレラ菌抗原因子 a に対するモノクローナル抗体 | | |
| 2. 感作ラテックス b (液剤) | 2mL | 1本 |
| コレラ菌抗原因子 b に対するモノクローナル抗体 | | |
| 3. 感作ラテックス c (液剤) | 2mL | 1本 |
| コレラ菌抗原因子 c に対するモノクローナル抗体 | | |
| 4. 対照ラテックス (液剤) | 2mL | 1本 |

添付品

- | | |
|-----------|-----|
| スライド凝集反応板 | 55枚 |
|-----------|-----|

【使用目的】

コレラ菌の血清型別²⁾ ³⁾ ⁴⁾ ⁵⁾ 及び検体からのコレラ菌の検出

【測定原理】

コレラ菌抗原因子に対するモノクローナル抗体を感作したラテックス粒子は検体中のコレラ菌と特異的に反応して凝集します。本品はこの抗原抗体反応を利用したスライドラテックス凝集反応法を測定原理としています。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質・採取法
 - 1) 分離菌株の血清型別には、検査材料から「厚生省監修微生物検査必携」¹⁾等の方法に従って分離され、細菌学的及び生化学的性状がコレラ菌と一致した被検菌を検体とします。
 - 2) 患者検体からの直接検出には、コレラ菌感染が疑われる人の水様便を検体とします。
2. 妨害物質・妨害薬剤
検体中の粘性物質及び固形物質が判定に影響を与える場合があります。妨害物質の除去については【用法・用量(操作方法)】を参照してください。

【用法・用量(操作方法)】

1. 準備する器具及び試薬
 - 1) コレラ菌AD「生研」
 - 2) 白金線又は白金耳
2. 試薬の調製
 - 1) 各試薬はそのまま使用します。
 - 2) 使用時には常温(15～25℃)に30分以上放置してから使用してください。
3. 操作法 1
 - 1) **分離菌株の血清型別**
 - 1) スライドラテックス凝集反応
(1) スライド凝集反応板の4つのサークルに感作ラテックス a, 感作ラテックス b, 感作ラテックス c 及び対照ラテックスを、それぞれ1滴ずつ滴加します。

- (2) 被検菌を白金線等で少量採取し、スライド凝集反応板上で各ラテックス液と少しずつ混ぜ合わせながら均一となるように撹拌します。
 - (3) スライド凝集反応板を約10秒間、前後に傾斜させて判定します。
- 2) 妨害物質の除去
分離菌株の血清型別において凝集が不明瞭な場合又は対照ラテックスに凝集が認められる場合には、以下の方法で加熱処理を行います。
 - (1) 被検菌を生理食塩液等に1mg/mL以上の濃度となるように浮遊します。
 - (2) 沸騰水浴中(100℃)で10分間加熱します。
 - (3) 放冷後、この加熱菌液をスライド凝集反応板の4つのサークルに1滴(25μL)ずつ滴加します。
 - (4) 各ラテックス液をそれぞれ1滴スライド凝集反応板上に滴加し、白金線等で均一となるように撹拌します。
 - (5) スライド凝集反応板を約30秒間、前後に傾斜させた後判定します。

4. 操作法 2

患者検体からの直接検出

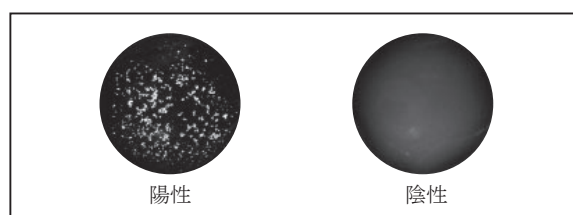
本品による直接検出はスクリーニングであり、最終的なコレラ菌の確認は培養試験等により行ってください。

- 1) スライドラテックス凝集反応
 - (1) 検体をスライド凝集反応板上の2つのサークルに1滴(25μL)ずつ滴加します。
 - (2) 感作ラテックス a と対照ラテックスの各1滴ずつを検体に滴加し、白金線等で均一となるように撹拌します。
 - (3) スライド凝集反応板を約1分間、前後に傾斜させて判定します。
- 2) 妨害物質の除去
検体中の粘性物質及び固形物質が判定に影響を与える場合がありますので、それぞれ以下の方法で処理を行ってその影響を除去します。
 - (1) 患者検体中に固形物質が認められる場合には、以下の方法で遠心処理を行います。
 - ① 患者検体を遠心分離(1 000rpm, 5分間)します。
 - ② 遠心上清を用いて、直接検出の操作法に従って反応させます。
 - (2) 患者検体からの直接検出で凝集が不明瞭な場合又は対照ラテックスに凝集が認められた場合には、以下の方法で加熱処理を行います。
 - ① 患者検体をそのまま沸騰水浴中(100℃)で10分間加熱します。
 - ② 放冷後、直接検出の操作法に従って反応させます。

【測定結果の判定法】

判定は十分な光量下で目視で行い、感作ラテックスが明らかな凝集を示したものを陽性とし、対照ラテックスが凝集した場合は、非特異凝集とします。

判定図



分離菌株の血清型別

血清型の判定は以下のように行います。

感作ラテックスa及びbが陽性の場合 ……小川型
感作ラテックスa及びcが陽性の場合 ……稲葉型
感作ラテックスa, b及びcが陽性の場合…彦島型
感作ラテックスaが陰性の場合… *V. cholerae* non-O1

患者検体からの直接検出

判定は以下に行います。

感作ラテックス a が陽性の場合
…検体中に感作ラテックスaの検出感度以上のコレラ菌が存在している可能性があります。
感作ラテックス a が陰性の場合
…検体中にコレラ菌が存在しないか又は検出感度以下のコレラ菌が存在している可能性があります。
対照ラテックスに凝集が認められた場合
…判定保留とします。上記妨害物質の除去操作を行ってから再試験するか又は他法(培養試験等)で再試験してください。

「判定上の注意」

- 1) 小川型のコレラ菌は反応時間を延長したときに、感作ラテックス c に凝集が認められる場合があるので注意してください。
- 2) 菌体との攪拌は均一となるよう注意して行ってください。不十分だと正しく判定されない場合があります。
- 3) 反応時間は必ず守ってください。反応時間を延長した場合には菌体の自己凝集又は粘性物質の影響で陽性と紛らわしい像を示す場合があります。
- 4) 感作ラテックス及び対照ラテックスと混合する菌量は同程度としてください。極端に違う場合は正しい結果が出ない場合があります。

【性能】

1. 感度
 - 1) 感作ラテックスaは小川型、稲葉型コレラ菌の 10^8 個/mLの $25\mu\text{L}$ と反応させたとき陽性を示します。
 - 2) 感作ラテックスbは小川型コレラ菌の 10^8 個/mLの $25\mu\text{L}$ と反応させたとき陽性を示します。
 - 3) 感作ラテックスcは稲葉型コレラ菌の 10^8 個/mLの $25\mu\text{L}$ と反応させたとき陽性を示します。
2. 正確性
 - 1) 感作ラテックス a はスライド凝集反応にて小川型、稲葉型の両方のコレラ菌と目視で強い凝集を示します。
 - 2) 感作ラテックス b はスライド凝集反応にて小川型コレラ菌とのみ凝集し、稲葉型コレラ菌とは目視で凝集が認められません。
 - 3) 感作ラテックス c はスライド凝集反応にて稲葉型コレラ菌とのみ凝集し、小川型コレラ菌とは目視で凝集が認められません。
 - 4) 対照ラテックスはスライド凝集反応にて小川型、稲葉型の両方のコレラ菌と目視で凝集が認められません。
3. 同時再現性
感度、正確性について同一検体を用いて5回以上試験を行ったとき、同一の成績を示します。

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上(危険防止)の注意
 - 1) 本品で試験を行う被検菌はコレラ菌(四種病原体等)の可能性がありますが。コレラ菌(*V. cholerae* O1)の確定には、本品による血清型別試験と、コレラ毒素の産生またはコレラ毒素遺伝子の確認等、追加試験が必要です。なお、コレラ菌と確定された場合、取扱いにあたっては四種病原体等の取扱い基準に従ってください。
 - 2) 本品は感染性の臨床検体を対象としていますので、検体の採取、キットの操作、試料及び器具の廃棄の各場面において感染の危険のあるものとして取扱い、保護具(眼鏡、手袋、マスク等)を着用の上、十分注意して操作してください。なお、コレラ菌はバイオセーフティレベル(BSL)2の病原体に該当します。
 - 3) 試薬が誤って皮膚に付着したり、目や口に入った場合には水で十分に洗い流す等の処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。

2. 使用上の注意

- 1) 本品は凍結をさけ、貯法に従い保存してください。凍結させた試薬は、品質が変化して正しい結果が得られないことがありますので使用しないでください。
 - 2) ラテックス試薬は、使用の直前に十分に攪拌して、均一な懸濁液とし、瓶を垂直に立てて滴加してください。
 - 3) 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
 - 4) スライド凝集反応板は点線部を折り立てて使用してください。
 - 5) 試薬のキャップは取り違えないようにしてください。
 - 6) 製造番号の異なる試薬を組み合わせたり、混ぜ合わせて使用しないでください。また、同一製造番号の試薬であっても試薬間の注ぎ足しは測定誤差を生じる原因となりますので避けてください。
- #### 3. 廃棄上の注意
- 1) 検体中には感染性物質が存在する可能性がありますので、廃液、使用済み器具などは、次のいずれかの方法で滅菌処理を行ってください。
 - (1) 最終濃度3.5vol%グルタルアルデヒド溶液に、30分以上浸漬する。
 - (2) 0.5w/v%次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素5 000ppm)に、1時間以上浸漬する。
 - (3) 121℃で20分以上高圧蒸気滅菌をする。
 - 2) 本品には保存剤としてアジ化ナトリウムが0.08w/v%含まれています。アジ化ナトリウムは、鉛管、銅管と反応して爆発性の強い金属アジドを生成することがありますので、廃棄の際は多量の水と共に流してください。
 - 3) 試薬及び器具等を廃棄する場合には、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従って処理してください。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法 10℃以下に凍結を避けて保存
有効期間 1年
(外箱に表示の使用期限内にご使用ください。)

【包装単位】

コレラ菌AD「生研」 50回用 (商品番号 230157)

◎当社別売品として次の製品も用意しておりますので、ご利用下さい。

スライド凝集反応板 55枚入 (商品番号 230294)

【主要文献】

- 1) 厚生省監修:コレラ菌、微生物検査必携、細菌・真菌検査、第3版、日本公衆衛生協会、D-83(1987)。
- 2) Sakazaki, R. et al.: Somatic antigen variation in *Vibrio cholerae*, Japan. J. Med. Sci. Biol., 24, 93(1971)。
- 3) Shimada, T. et al.: A serogroup of non-O1 *Vibrio cholerae* possessing the Inaba antigen of *Vibrio cholerae* O1, J. Appl. Bacteriol., 64, 141(1988)。
- 4) Shimada, T. et al.: *Vibrio fluvialis*: A new serogroup (19) possessing the Inaba factor antigen of *Vibrio cholerae* O1, Japan. J. Med. Sci. Biol., 40, 153(1987)。
- 5) Shimada, T. et al.: A bioserogroup of marine vibrios possessing somatic antigen factors in common with *Vibrio cholerae* O1, J. Appl. Bacteriol., 62, 453(1987)。

***【問い合わせ先】

デンカ株式会社 試薬学術担当
〒103-8338 東京都中央区日本橋室町二丁目1番1号
フリーダイヤル 0120-206-072
受付時間 9:00~17:00 (土日祝日・弊社休業日を除く)

* 製造販売元

デンカ株式会社

新潟県五泉市木越字鏡田1359番地1