体外診断用医薬品

＊＊2023年 4月改訂(第6版)
＊2020年 4月改訂(第5版)

承認番号　16200EZZ01434000

** 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

クラスⅢ細菌検査用シリーズ
大腸菌キット

病原大腸菌免疫血清「生研」

混合１，混合２，混合３，混合４，混合５，混合６，混合７，混合８，混合９
O1，O26，O86a，O111，O119，O127a，O128，O44，O55，O125，O126，O146，O166，
O18，O114，O142，O151，O157，O158，O6，O27，O78，O148，O159，O168，O20，
O25，O63，O153，O167，O8，O15，O115，O169，O28ac，O112ac，O124，O136，O144，
O29，O143，O152，O164，O74，O91，O103，O121，O145，O161，O165，
H-2，H-4，H-5，H-6，H-7，H-9，H-10，H-11，H-12，H-16，H-18，H-19，H-20，
H-21，H-27，H-28，H-34，H-40，H-41，H-42，H-45，H-51

【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．病原大腸菌は特定の血清型を示す場合が多いことから，血清型を調べることにより病原大腸菌を推定することができます。ただし，病原大腸菌として知られる血清型を示しても，病原性を持たない株があることから，病原大腸菌の決定には病原因子の検出が必要です[1) 2)]。
** ４．電子化された添付文書に記載された操作法に従って使用してください。記載された操作法及び使用目的以外での使用については，結果の信頼性を保証致しません。
** ５．使用する機器の電子化された添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用してください。

【形状・構造等(キットの構成)】

１．単品
１）O群血清
(1)混合血清
混合１，混合２，混合３，混合４，混合５，混合６，混合７，混合８，混合９
各混合血清　各2mL×1本
各血清型に対する抗病原大腸菌O群型血清(混合1-8：ブタ又は，ブタ及びウサギ血清，混合９：ウサギ血清)他を含有する液剤で，検出対象は下記の型です。保存剤としてアジ化ナトリウムを0.08w/v%含みます。
混合１：O1，O26，O86a，O111，O119，O127a，O128
混合２：O44，O55，O125，O126，O146，O166
混合３：O18，O114，O142，O151，O157，O158
混合４：O6，O27，O78，O148，O159，O168
混合５：O20，O25，O63，O153，O167
混合６：O8，O15，O115，O169
混合７：O28ac，O112ac，O124，O136，O144
混合８：O29，O143，O152，O164
混合９：O74，O91，O103，O121，O145，O161，O165
(2)単味血清
O1，O26，O86a，O111，O119，O127a，O128，O44，O55，O125，O126，O146，O166，O18，O114，O142，O151，O157，O158，O6，O27，O78，O148，O159，O168，O20，O25，O63，O153，O167，O8，O15，O115，O169，O28ac，O112ac，O124，O136，O144，O29，O143，O152，O164，O74，O91，O103，O121，O145，O161，O165
病原大腸菌各O群型免疫血清　各2mL×1本
各血清型に対する抗病原大腸菌O群型ウサギ血清他を含有する液剤で，検出対象の血清型はラベルに記載してあります。保存剤としてアジ化ナトリウムを0.08w/v%含みます。

２）H血清
H-2，H-4，H-5，H-6，H-7，H-9，H-10，H-11，H-12，H-16，H-18，H-19，H-20，H-21，H-27，H-28，H-34，H-40，H-41，H-42，H-45，H-51
病原大腸菌各H型免疫血清　各5mL×1本
各血清型に対する抗病原大腸菌H型ウサギ血清他を含有する液剤で，検出対象の血清型はラベルに記載してあります。保存剤としてアジ化ナトリウムを0.08w/v%含みます。

２．セット品
１）病原大腸菌免疫血清「生研」１号セット(N)
下記に記載の血清59本(混合血清9本，単味血清50本)のセット品です。
混合１，混合２，混合３，混合４，混合５，混合６，混合７，混合８，混合９
O1，O26，O86a，O111，O119，O127a，O128，O44，O55，O125，O126，O146，O166，O18，O114，O142，O151，O157，O158，O6，O27，O78，O148，O159，O168，O20，O25，O63，O153，O167，O8，O15，O115，O169，O28ac，O112ac，O124，O136，O144，O29，O143，O152，O164，O74，O91，O103，O121，O145，O161，O165
２）病原大腸菌免疫血清「生研」２号セット
下記に記載の血清22本のセット品です。
H-2，H-4，H-5，H-6，H-7，H-9，H-10，H-11，H-12，H-16，H-18，H-19，H-20，H-21，H-27，H-28，H-34，H-40，H-41，H-42，H-45，H-51

【使用目的】

糞便から分離した大腸菌の血清学的型別

【測定原理】

本品と対応する型特異抗原を持つ大腸菌を混和させたとき，抗原抗体反応により，菌体の凝集塊が生じます。この反応を目視にて観察して血清型別を行います。

【操作上の注意】

１．測定試料の性質，採取法
１）検体は「厚生省監修　微生物検査必携」[3)]等の方法に従って分離され，生化学的性状試験によって大腸菌と同定された菌株を使用してください。
２）複数の株が混在している場合には正しく判定できない可能性がありますので，菌株は必ず純培養されたものであることを確認してください。

２．妨害物質・妨害薬剤
本試験で使用する例示した培地等の非選択培地では，反応に対する妨害性は確認されておりません。

３．その他
１）培養は必ず例示した培地などの非選択性培地を用いてください。選択培地を用いた場合，抗原の産生が不十分であったり，自己凝集が起きやすい傾向があります。

2）スライド凝集法で試料と本品を混合する際は，スライドグラス上の複数の血清が交互汚染を起こさないように注意してください。
3）H型別試験は運動性を示す株について行ってください。

【用法・用量(操作方法)】

1．準備する器具，機材，培地

1）O群別試験
(1)寒天培地
非選択性培地；普通寒天培地，Heart Infusion寒天培地：斜面培地又は平板培地
(2)孵卵器(37℃)
(3)ピペット(5mL用)
(4)小試験管(容量5～7mL)
(5)生理食塩液
(6)オートクレーブ(121℃)又は沸騰水浴装置
(7)遠心分離機(900×g以上：卓上型遠心機で3 000rpm以上)
(8)ホワイトマーカーなど
(9)スライドグラス
(10)マイクロピペット及びチップ(5～10μL用，30μL用)
(11)白金線又は白金耳
(12)蛍光灯スタンド

2）H型別試験
(1)半流動培地
0.3%半流動培地：通気性キャップを付けた試験管に入れ滅菌クレイギー管を挿入したもの
(2)孵卵器(37℃)
(3)液体培地
Brain Heart Infusion液体培地，Heart Infusion液体培地など：培地量10mL以上
(4)1vol%ホルマリン加生理食塩液
(5)ピペット(5mL用)
(6)小試験管(容量5～7mL)
(7)生理食塩液
(8)恒温水槽(50℃)
(9)白金線又は白金耳
(10)蛍光灯スタンド

2．試薬の調製方法
本品はそのまま使用します。

3．操作法

1）O群別試験
混合血清を用いた凝集反応によりスクリーニングを行い，次に，陽性を示した混合血清に含まれる単味血清を用いた凝集反応によりO群を特定します。
(1)培養
検体を寒天培地で好気的条件下，37℃で一夜(18～24時間)培養します。
(2)試料の調製
①ピペットで小試験管に小分けした生理食塩液3mLに，マッチ棒の頭3～5倍程度の菌体を浮遊します。
②121℃で15分間，又は100℃で60分間加熱処理します。
③900×gで20分間遠心分離し，上清を捨て，沈渣に0.5mLの生理食塩液を加え均一に浮遊して試料とします。
(3)スライド凝集法
a．混合血清
①ホワイトマーカーなどでスライドグラスを数区画に分け，区画毎に各混合血清を1滴(約30μL)滴加します。
②試料が自己凝集を起こしていないことを確認するために，1区画には対照として混合血清の代わりに生理食塩液を30μL滴加します。
③マイクロピペットを用いて試料5～10μLを混合血清及び生理食塩液と混ざらないようにスライドグラス上の各区画に滴加します。
④白金線又は白金耳を用いて試料と混合血清及び生理食塩液をよく混和します。
⑤スライドグラスを前後に傾斜させながら1分間反応させて凝集の有無を観察します。
b．単味血清
混合血清で陽性と判定された場合，その混合血清を構成する単味血清を用い，上記と同様の方法で試験します。

2）H型別試験
(1)運動性の増強
①クレイギー管の入った半流動培地を用い，クレイギー管内部に検体を接種します。
②37℃で培養し，半流動培地内を通過した菌をクレイギー管の外側から釣菌します。
③この操作を3～5回繰り返し行って運動性を増強します。
(2)培養
運動性を増強した検体を液体培地に接種し，37℃で一夜(18～24時間)静置培養します。
(3)試料の調製
増殖を確認した培養液に，1vol%ホルマリン加生理食塩液を等量加え，十分に混合して試料とします。
(4)試験管凝集法
①22本の小試験管を用意し，各血清名を記入します。
②それぞれの小試験管に表示の血清を3滴ずつ滴加します。
③試料が自己凝集を起こしていないことを確認するために，対照として，血清の代わりに生理食塩液100μLを加えた小試験管を1本用意します。
④23本すべての小試験管に試料0.5mLを加えます。
⑤各小試験管の内容物をよく振り混ぜ，50℃恒温水槽中で1時間反応させた後，凝集を観察します。

【測定結果の判定法】

1．O群別試験
凝集の観察は，目視で蛍光灯スタンド等の透過光下で行います。
1）最初に，試料が生理食塩液との反応で乳白色の均一な懸濁液となり，凝集していないことを確認します。
2）各血清との反応では，1分間以内に透明な背景に凝集塊が生じる強い凝集が観察されたものだけを陽性とし，1分以降に遅れて出現する凝集や乳白色の背景に凝集塊が観察される微弱な凝集は陰性とします。

混合血清の結果	判定及び追加試験
いずれかの混合血清が陽性の場合	陽性となった混合血清を構成する単味血清でO群別試験を行います。
いずれの混合血清も陰性の場合	検体のO群は本品に含まれるO群には該当しないと判定します。

単味血清の結果	判定
単独の単味血清が陽性の場合	陽性を示した単味血清名を検体のO群と判定します。
複数の単味血清が陽性の場合	判定保留とします。
いずれの単味血清も陰性の場合	検体のO群は本品に含まれるO群には該当しないと判定します。

2．H型別試験
凝集の観察は，目視で蛍光灯スタンド等の十分な光量下で行います。
1）最初に，試料が生理食塩液との反応で凝集していないことを確認します。
2）各血清との反応では，綿状の凝集が観察されたものを陽性とし，均一な浮遊液のままのものを陰性とします。

H血清の結果	判定
単独のH血清が陽性の場合	陽性となったH血清名を検体のH型と判定します。
複数のH血清が陽性の場合	判定保留とします。
いずれのH血清も陰性の場合	判定保留とします。

「判定上の注意」
1) O群血清の場合
(1)試料と生理食塩液で自己凝集が見られる場合は，集落の再選択後に試験を繰り返してください。
(2)複数の混合血清に陽性を示す菌株は，本品に含まれないO群である場合がほとんどですが，確認のため，陽性を示した混合血清を構成する単味血清を用いて試験してください。
(3)複数の単味血清が陽性を示した場合は，定量凝集反応[2)]で確認する必要があります。
(4)混合血清のみでO群の判定を行わないでください。分離菌株の中には混合血清に凝集しても単味血清に凝集しない菌株があります。
(5)スライド凝集法によるO群の判定は確定ではありません。O群の確定には定量凝集反応による血清型参照株との凝集価の比較が必要です。
2) H血清の場合
(1)試料と生理食塩液で自己凝集が見られる場合は，集落の再選択後に試験を繰り返してください。
(2)鞭毛の反応による凝集塊はこわれやすいので，判定の際には試験管を振らずに観察してください。また，1時間の反応で凝集が不鮮明な場合は，反応時間をさらに1時間延長してください。
(3)複数の血清で判定陽性となった場合は，菌株の純培養を確認した後に再試験を行ってください。
(4)いずれの血清にも陰性を示した場合には，その菌株が本品に含まれないH型か，あるいは，鞭毛の発育が十分でない可能性があります。
(5)H型別試験の判定では，検体の鞭毛の状態が大きく影響します。運動性があり，H型別試験で陽性とならない株が運動性増強操作をさらに繰り返すことにより，型別できる場合があります。

【性　能】
1．感度
管理用陽性検体(該当するO群またはH型の大腸菌。O群血清 各10^7～10^8個／テスト，H血清 各10^7～10^9個／テスト)を用いて試験を行ったとき，陽性と判定されます。

2．正確性
管理用陽性検体(該当するO群またはH型の大腸菌。O群血清 各10^7～10^8個／テスト，H血清 各10^7～10^9個／テスト)及び管理用陰性検体(本シリーズに含まれるO群またはH型の大腸菌，ただし，管理用陽性検体と同一のO群またはH型のものを除く。O群血清　各10^7～10^8個／テスト，H血清　各10^7～10^9個／テスト)を用いて試験を行ったとき，管理用陽性検体は陽性と判定され，管理用陰性検体は陰性と判定されます。

3．同時再現性
管理用陽性検体(該当するO群またはH型の大腸菌。O群血清 各10^7～10^8個／テスト，H血清 各10^7～10^9個／テスト)を用いて3回試験を行ったとき，全て陽性と判定されます。

4．較正用基準物質
国立感染症研究所より分与された大腸菌血清型参照株

【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腸管出血性大腸菌(四種病原体等)の可能性があります。腸管出血性大腸菌の確定には，ベロ毒素の産生または遺伝子の確認等，追加試験が必要です。なお，腸管出血性大腸菌であると確定された場合，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性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。また口によるピペッティングを行わないでください。なお，病原大腸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) 本品が，誤って目や口に入っ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) 本品は凍結を避け，貯蔵方法に従い保存してください。凍結させた場合，品質が変化して正しい成績が得られないことがあります。また，使用時には常温(15～25℃)に戻してから使用してください。
2) 本品は，指定された条件で保管し，使用期限を過ぎたものは使用しないでください。
3) 製造番号の異なる試薬を混ぜ合わせて使用しないでください。また，同一ロット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。
4) 試薬のキャップは取り違えないようにしてください。

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，検体，廃液，使用済みの容器及び検査に使用したすべての器具類は，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分間以上浸漬する。
(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分間以上高圧蒸気滅菌をする。
2) 本品は，アジ化ナトリウムを0.08w/v%含んでいます。アジ化ナトリウムは，鉛や銅と反応して爆発性のある重金属アジ化物を生成することがありますので，大量の水とともに廃棄してください。
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】
1) 貯蔵方法　2～10℃に保存
2) 有効期間　1年
(外箱，ラベルに表示の使用期限内にご使用ください。)

【包装単位】
病原大腸菌免疫血清「生研」単品
O群血清　　各2mL×1本

コードNo.	血清名	コードNo.	血清名
210500	混合１	210791	O78
210517	混合２	210807	O148
210524	混合３	210814	O159
210531	混合４	210821	O168
210548	混合５	210838	O20
210555	混合６	210845	O25
210562	混合７	210852	O63
210579	混合８	210869	O153
215741	混合９	210876	O167
210586	O1	210883	O8
210593	O26	210890	O15
210609	O86a	210906	O115
210616	O111	210913	O169
210623	O119	210920	O28ac
210630	O127a	210937	O112ac
210647	O128	210944	O124
210654	O44	210951	O136
210661	O55	210968	O144
210678	O125	210975	O29
210685	O126	210982	O143
210692	O146	210999	O152
210708	O166	211002	O164
210715	O18	215758	O74
210722	O114	215765	O91
210739	O142	215772	O103
210746	O151	215789	O121
210753	O157	215796	O145
210760	O158	215802	O161
210777	O6	215819	O165
210784	O27		

H血清　　各5mL×1本

コードNo.	血清名	コードNo.	血清名
211019	H-２	211125	H-１９
211026	H-４	211132	H-２０
211033	H-５	211149	H-２１
211040	H-６	211156	H-２７
211057	H-７	211163	H-２８
211064	H-９	211170	H-３４
211071	H-１０	211187	H-４０
211088	H-１１	211194	H-４１
211095	H-１２	211200	H-４２
211101	H-１６	211217	H-４５
211118	H-１８	211224	H-５１

セット品

コードNo.	品　名	包　装
200754	病原大腸菌免疫血清「生研」1号セット(N) 混合1,混合２,混合３,混合４,混合５, 混合６,混合７,混合８,混合９ O1,O26,O86a,O111,O119, O127a,O128,O44,O55,O125, O126,O146,O166,O18,O114, O142,O151,O157,O158,O6, O27,O78,O148,O159,O168, O20,O25,O63,O153,O167, O8,O15,O115,O169,O28ac, O112ac,O124,O136,O144,O29, O143,O152,O164,O74,O91, O103,O121,O145,O161,O165	各2mL ×59本
200082	病原大腸菌免疫血清「生研」２号セット H-2,H-4,H-5,H-6,H-7,H-9, H-10,H-11,H-12,H-16,H-18, H-19,H-20,H-21,H-27,H-28, H-34,H-40,H-41,H-42,H-45, H-５１	各5mL ×22本

【主要文献】

1) 坂崎利一：*Escherichia* 属，腸内細菌＜下巻＞，第3版，75(1992).
2) 坂崎利一：食水系感染症と細菌性食中毒，180(1991).
3) 厚生省監修:腸管病原性大腸菌，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-30(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

F2-22/R06