

** 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
コレラ菌キット

コレラ菌免疫血清「生研」

混合、稲葉型、小川型

【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。
- ** 4. 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。
5. 使用済みの容器は他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. コレラ菌稲葉型、小川型混合免疫血清 2mL×1本
コレラ菌抗原稲葉型、小川型に対するウサギ免疫グロブリン他を含有する液剤で、保存剤としてアジ化ナトリウムを0.08w/v%含みます。
・コレラ菌免疫血清「生研」混合
2. コレラ菌稲葉型免疫血清 2mL×1本
コレラ菌抗原稲葉型に対するウサギ免疫グロブリン他を含有する液剤で、保存剤としてアジ化ナトリウムを0.08w/v%含みます。
・コレラ菌免疫血清「生研」稲葉型
3. コレラ菌小川型免疫血清 2mL×1本
コレラ菌抗原小川型に対するウサギ免疫グロブリン他を含有する液剤で、保存剤としてアジ化ナトリウムを0.08w/v%含みます。
・コレラ菌免疫血清「生研」小川型

各血清が含有する因子抗体は下記のとおりです。

コレラ菌免疫血清「生研」	含有する因子抗体
混合	A B C
小川	B
稲葉	C

【使用目的】

コレラ菌の血清型の決定

【測定原理】

本品と対応する抗原を持つコレラ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することで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
検体は「厚生省監修 微生物検査必携」¹⁾等の方法に従って純分離され、生化学的性状試験によって *Vibrio cholerae* と同定された菌株を使用します。
2. 妨害物質・妨害薬剤
本試験で使用する例示した培地では、反応に対する妨害性は確認されておられません。
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血清を混合する際は、スライドガラス上に滴加した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) 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。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。
- 4) 使用後はキャップをしっかりと閉め、貯蔵方法に従い保存してください。

【用法・用量(操作方法)】

1. 準備する器具、機材、培地
 - 1) 小試験管(容量5～7mL)
 - 2) 生理食塩液
 - 3) ピペット(5mL用)
 - 4) マイクロピペット及びチップ(5～10μL用)
 - 5) 蛍光灯スタンド
 - 6) 白金線又は白金耳
 - 7) スライドガラス
 - 8) ホワイトマーカーなど
 - 9) 孵卵器(37℃)
 - 10) 寒天培地(普通寒天培地、Heart Infusion(HI)寒天培地など：斜面培地又は平板培地)
 - 11) 必要に応じてオートクレーブ(121℃)又は沸騰水浴装置遠心分離機(900×g以上：卓上型遠心機で3 000rpm以上)
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) 培養
検体を寒天培地で好氣的条件下、37℃で一夜(18～24時間)培養します。
 - 2) 試料の調製
マッシュ棒の頭3～5倍程度の菌体を掻き取り、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
 - (1) 混合血清
ホワイトマーカーなどでスライドガラスを数区画に分け、混合血清を1滴(約30μL)滴加します。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血清の代わりに生理食塩液を30μL滴加します。マイクロピペットを用いて試料を5～10μLずつ血清及び生理食塩液の上方におき、白金線又は白金耳を用いて各々よく混和します。スライドガ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。
 - (2) 単味血清
混合血清で陽性と判定された場合、稲葉型血清及び小川型血清を用いて上記と同様の方法で試験します。

【測定結果の判定法】

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。
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。
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
混合血清が陽性の場合	単味血清で型別試験を行います。
混合血清が陰性の場合	判定保留とします。

単味血清の結果	判 定
小川型血清のみ陽性の場合	小川型とします。
稲葉型血清のみ陽性の場合	稲葉型とします。
両血清が陽性の場合	彦島型とします。
両血清が陰性の場合	判定保留とします。

「判定上の注意」

- 1) 試料と生理食塩液に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) 稲葉型血清は、混合血清、小川型血清に比較して反応が遅い場合があります。
- 3) コレラ菌の中には生菌で型別不能な株があります。混合血清で陰性の場合には以下の方法で加熱試料を調製し再び混合血清で試験を行ってください。加熱試料で混合血清が陰性の場合に *V. cholerae* non O1 と判定します。
 - (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た後、121℃で15分間、又は沸騰水中で60分間加熱処理します。
 - (2) 900×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加熱試料とします。
- 4) 混合血清に陽性で単味血清に陰性を示した場合は、加熱菌で再試験してください。
- 5) 混合血清のみでコレラ菌の推定を行わないでください。
- 6) 血清型O1であり、コレラ毒素を産生する *V. cholerae* は、三類感染症の病原菌として扱われます。病原菌の決定にはコレラ毒素産生の確認が必要です。
- 7) *V. cholerae* O140(従来ハカタ株：serogroup Hakataと称称)は、A因子は持っていませんがC因子を持っており、本血清による型別試験で稲葉型と判定されます²⁾。
- 8) *V. fluvialis* のある株はC因子を持つことが報告されています³⁾。また、海水ビブリオbioserogroup 1875(仮称)は、B因子またはC因子を持つとの報告があります⁴⁾。従ってこれらの株は本血清で陽性と判定される可能性があります、生化学的性状試験によってコレラ菌と区別することができます。
- 9) 小川型は微量にC因子を持ち、稲葉型血清に弱く反応する場合があります。彦島型との判定は稲葉型血清に強く反応した場合のみとします。

【性 能】

1. 感度
コレラ菌の標準株を用い、本血清1滴(約30μL)と対応する抗原を有する菌株の浮遊液5～10μLを反応させたとき、目視にて顆粒状の凝集像が確認されます。
2. 正確性
感度試験と同様に試験を行ったとき、対応する抗原を有する標準株とのみ凝集し、それ以外の標準株とは目視にて凝集が認められません。
3. 同時再現性
対応する抗原を有する標準株と3回以上試験を行ったとき、すべて凝集が認められます。

【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。コレラ菌(*V. cholerae* O1またはO139)の確定には、本品等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の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。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) 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5000ppm)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】

コードNo.	品 名	包 装
200396	コレラ菌免疫血清「生研」セット (混合血清1本、型血清2本) 混合、稲葉型、小川型	各2mL×3本
213723	コレラ菌免疫血清「生研」混合	2mL×1本
213730	コレラ菌免疫血清「生研」稲葉型	2mL×1本
213747	コレラ菌免疫血清「生研」小川型	2mL×1本

【主要文献】

- 1) 厚生省監修：経口感染症、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) 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)。
- 3) 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)。
- 4) 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)

コレラ菌免疫血清「生研」 付表

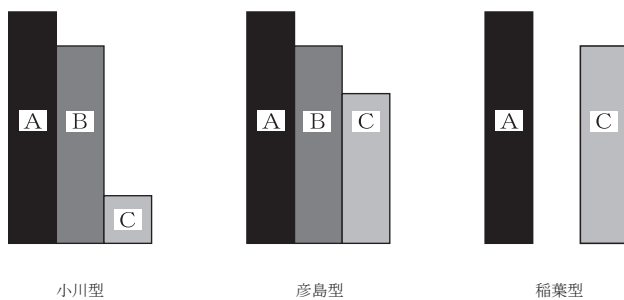
コレラ菌の抗原因子と血清型の反応

血清型	抗原因子	コレラ菌免疫血清「生研」		
		混合 (ABC) ^{※1}	小川型 (B)	稲葉型 (C)
小川型	A B (C)	+	+	－ (＋ ^{※2})
稲葉型	A C	+	－	+
彦島型	A B C	+	+	+
O140: Serogroup Hakata	C D	+	－	+

※1：各血清に含まれる因子抗体

※2：遅れて観察される凝集

コレラ菌抗原因子構造模式図



* 製造販売元

デンカ株式会社

新潟県五泉市木越字鏡田 1 3 5 9 番地 1