

\*\* 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

細菌毒素検出キット  
SET-RPLA「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. 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. 本品の構成試薬の一部には、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。

## 【形状・構造等(キットの構成)】

- |                              |        |    |
|------------------------------|--------|----|
| 1. 感作ラテックス抗A                 | 5mL    | 1本 |
| ブドウ球菌エンテロトキシンA抗体(ウサギ)感作ラテックス |        |    |
| 2. 感作ラテックス抗B                 | 5mL    | 1本 |
| ブドウ球菌エンテロトキシンB抗体(ウサギ)感作ラテックス |        |    |
| 3. 感作ラテックス抗C                 | 5mL    | 1本 |
| ブドウ球菌エンテロトキシンC抗体(ウサギ)感作ラテックス |        |    |
| 4. 感作ラテックス抗D                 | 5mL    | 1本 |
| ブドウ球菌エンテロトキシンD抗体(ウサギ)感作ラテックス |        |    |
| 5. 対照ラテックス                   | 5mL    | 1本 |
| 6. 対照エンテロトキシンA               | 0.5mL分 | 1本 |
| 凝集価は瓶ラベルに表示してあります。           |        |    |
| 7. 対照エンテロトキシンB               | 0.5mL分 | 1本 |
| 凝集価は瓶ラベルに表示してあります。           |        |    |
| 8. 対照エンテロトキシンC               | 0.5mL分 | 1本 |
| 凝集価は瓶ラベルに表示してあります。           |        |    |
| 9. 対照エンテロトキシンD               | 0.5mL分 | 1本 |
| 凝集価は瓶ラベルに表示してあります。           |        |    |
| 10. 希釈液                      | 50mL   | 2本 |

## 【使用目的】

消化管由来ブドウ球菌のエンテロトキシンの検出

## 【測定原理】

ブドウ球菌エンテロトキシンに対する抗体で感作したラテックス粒子は、検体中のエンテロトキシン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逆受身ラテックス凝集反応法<sup>1) 2)</sup>を測定原理としています。

## 【操作上の注意】

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」(日本公衆衛生協会)等の方法に従って分離され、生化学的性状試験等によってブドウ球菌と同定された菌株を検体としてください。

## 【用法・用量(操作方法)】

1. 準備する器具及び試薬
- 1) ブレイン・ハート・インフュージョン(BHI)等の液体培地
- 2) 96ウェルマイクロプレート(V型)
- 3) 小試験管
- 4) ピペット
- 5) ドロップパー(25 $\mu$ L, 又は25 $\mu$ Lマイクロピペット)
- 6) ダイリューター(25 $\mu$ L, 又は25 $\mu$ Lマイクロピペット)
- 7) マイクロプレート用ミキサー
- 8) その他(黒紙、プレートカバー、マーキング用テープ、湿潤箱)
- 9) 遠心分離機(900 $\times$ g以上: 卓上遠心機で約3 000rpm以上)

## 2. 試薬の調製

キット内の感作ラテックス(抗A~抗D)、対照ラテックス及び希釈液はそのまま使用します。  
対照エンテロトキシン(A~D)はそれぞれ希釈液0.5mLを加え溶解して使用します。溶解後の対照エンテロトキシンは2~10℃に保存し、3箇月以内に使用してください。3箇月以上の保存が必要な場合は小分けして-20℃以下に凍結して保存してください。ただし、凍結融解は繰り返さないでください。  
また、試薬使用時には常温(15~25℃)に30分間以上放置してから使用してください。

## 3. 検体の調製

被検菌株をブレイン・ハート・インフュージョン(BHI)等の培地に接種し、37℃で18~20時間振盪培養します。培養後、培養液を3 000rpm、20分間遠心し、上清を検体とします。

## 4. 逆受身ラテックス凝集反応

## 培養上清

- 1) 小試験管4本にそれぞれ0.9mLの希釈液を入れます。
- 2) 検体0.1mLを第1管目の小試験管に入れます。新しいピペットで内容を混和し、その0.1mLを第2管目に入れます。
- 3) 同様な操作を繰り返し、1:10, 1:100, 1:1 000, 1:10 000の検体希釈液を作製します。(10倍階段希釈)
- 4) ドロップパーを用いて希釈液をマイクロプレートの最後穴の5穴に25 $\mu$ Lずつ滴加します。
- 5) 同一のドロップパーで1:10 000の検体希釈液を吸い上げ、その下の5穴に25 $\mu$ Lずつ滴加します。
- 6) 同様な操作を1:1 000, 1:100, 1:10の検体希釈液についても行い、5系列の希釈系列をマイクロプレート上で作ります。
- 7) 感作ラテックス(抗A~抗D)及び対照ラテックスをそれぞれの系列にドロップパーで25 $\mu$ Lずつ滴加します。
- 8) マイクロプレート用ミキサーで十分振盪します。
- 9) マイクロプレートを室温に18~20時間静置後、判定します。この時、反応液の蒸発を防ぐためにプレートにカバーをするか湿潤箱に入れます。

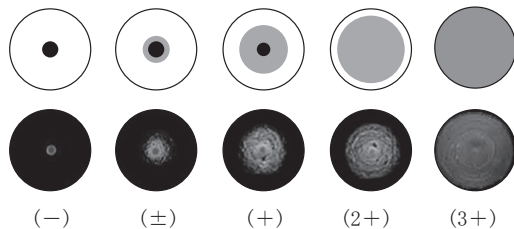
## 対照エンテロトキシン

- 1) マイクロプレート4系列にドロップパーを用いてすべての穴に希釈液25 $\mu$ Lずつを滴加します。
- 2) 各対照エンテロトキシン(A~D)を4本のダイリューターに吸いあげ、最後の穴を除いて2倍階段希釈をします。(最後の穴は各ラテックス試薬の陰性対照となります。)
- 3) 感作ラテックス(抗A~抗D)をそれぞれ対応する対照エンテロトキシンの系列にドロップパーで25 $\mu$ Lずつ滴加します。
- 4) 以後の操作は通常の逆受身ラテックス凝集反応の場合と同じに行います。

## 【測定結果の判定法】

結果の判定は、明るい平坦な場所に黒紙を敷き、その上にマイクロプレートを置いて、上方から各穴のラテックス凝集像を目視で観察します。ラテックス沈降像の判定は、次の写真の基準に従って行います。

#### 判定像



感作ラテックスで(+)以上を陽性とします。

対照ラテックスが(+)以上の凝集を示した場合は非特異凝集とみなします。

#### 「判定上の注意」

- 【用法・用量(操作方法)】 4. 逆受身ラテックス凝集反応  
対照エンテロトキシンに従って各対照エンテロトキシンと対応する感作ラテックスとを反応させ、試薬及び凝集像の確認を行ってください。
- 最後穴のラテックスと希釈液との反応において(+)以上の凝集が見られた場合は、ラテックスが自然凝集を起こしているので使用しないでください。
- 反応時間は定められた時間で行ってください。  
また、操作開始後は、速やかに全操作を行い、各検体の反応時間が一定となるように操作してください。
- 臨床症状等から被検検体のエンテロトキシン産生性が強く疑われ、4. 逆受身ラテックス凝集反応  
培養上清の試験法で陰性と判定された場合には、同、  
対照エンテロトキシン  
の操作法に従って検体の2倍階段希釈を行ってください。

#### 【性能】

##### 性能

- 感度  
当社で調製した管理用精製エンテロトキシンA, B, C及びD<sup>3)</sup>(SET-A, SET-B, SET-C, SET-D各100ng/mL)を用いて試験を行ったとき、各感作ラテックスは、それぞれ対応する管理用精製エンテロトキシンに対して、64～128倍の値を示します。
- 正確性  
上記SET-A, SET-B, SET-C, SET-D(各100ng/mL)を用いて試験を行ったとき各感作ラテックスは、対応する型のエンテロトキシンとのみ反応し、対応しない型のエンテロトキシンとは反応を認めません。
- 同時再現性  
対応するそれぞれの管理用精製エンテロトキシン(上記SET-A, SET-B, SET-C, SET-D)を用いて3回以上試験を行ったとき、すべて64～128倍の値を示します。
- 最小検出感度  
各感作ラテックスの最小検出感度は1～2ng/mLです。

#### 【使用上又は取扱い上の注意】

- 取扱い上(危険防止)の注意
  - 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、検体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、十分注意をして操作してください。なお、黄色ブドウ球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。
  - 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理を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。
- 使用上の注意
  - 本品は凍結をさけ、貯法(2～10℃)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成績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。
  - 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
  - ラテックス試薬は、使用の直前に振盪攪拌して均一な懸濁液としてから使用してください。
  - 試薬のキャップは取り違えないようにしてください。
  - マイクロプレートは必ずキズ、汚れのないものを使用してください。
  - マイクロプレートのウェルは強くこすらないでください。

- 検体を加えるとき、ウェルの壁に付着させないでください。
- 検体相互間の汚染を防ぐため、検体をサンプリングする際、同一チップの使用は避けてください。
- 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

- 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。
  - 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。
  - 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。
  - 121℃で20分間以上高圧蒸気滅菌をする。
- 本品の構成試薬の一部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。
 

|           |          |
|-----------|----------|
| 感作ラテックス抗A | 0.08w/v% |
| 感作ラテックス抗B | 0.08w/v% |
| 感作ラテックス抗C | 0.08w/v% |
| 感作ラテックス抗D | 0.08w/v% |
| 対照ラテックス   | 0.08w/v% |
| 希釈液       | 0.08w/v% |
- 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 2～10℃に保存

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】

SET-RPLA「生研」 20回用 (商品番号 230058)

◎当社別売品として次の製品も用意してありますので、ご利用ください。

96ウェルマイクロプレート(V) 10枚入 1箱  
(商品番号 230591)

#### 【主要文献】

- 新垣正夫ら：ブドウ球菌エンテロトキシン検出法としての逆受身ラテックス凝集反応の検討，東京衛研年報，32，128(1981)。
- 小田隆弘ら：ラテックス凝集反応を用いたブドウ球菌エンテロトキシンの食品等からの検出，福岡市衛試報，4，33(1979)。
- 小田隆弘：SP-Sephadexクロマトグラフィーを用いたブドウ球菌エンテロトキシンA, B, C2の簡易精製，日細誌，33，743(1978)。

#### \*\*【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