

** 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

PET-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. 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 5mL×1本
ウエルシュ菌エンテロトキシン抗体(ウサギ)感作ラテックス
保存剤としてアジ化ナトリウムを0.08w/v%含みます。
- * 2. 対照ラテックス 5mL×1本
保存剤としてアジ化ナトリウムを0.08w/v%含みます。
3. 対照エンテロトキシン(凍結乾燥) 0.5mL分×1本
凝集価は瓶ラベルに表示してあります。
- * 4. 希釈液 50mL×1本
保存剤としてアジ化ナトリウムを0.08w/v%含みます。

【使用目的】

消化管由来ウエルシュ菌のエンテロトキシンの検出

【測定原理】

阪口ら¹⁾の方法に準じて精製したウエルシュ菌エンテロトキシンに対する特異抗体²⁾を感作したラテックス粒子は、試料中のエンテロトキシンと特異的に反応して凝集を起こします。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) ウエルシュ菌培養液を検体とする場合は、「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ウエルシュ菌と同定された菌株を使用してください。
 - 2) 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。
2. 妨害物質
糞便を検体とする場合、検体により10～40倍の希釈において感作ラテックス及び対照ラテックスが非特異凝集を起こすことがあります。このような場合は、対照ラテックスの凝集がなくなるまで検体を希釈してから再試験を行ってください。一般的に、ウエルシュ菌による食中毒患者糞便には非常に高濃度(本品による凝集価640～40960倍、社内データ)のエンテロトキシンを含んでいるので、高希釈した検体を使用すれば糞便成分の影響は受けません。
3. その他
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。

【用法・用量(操作方法)】

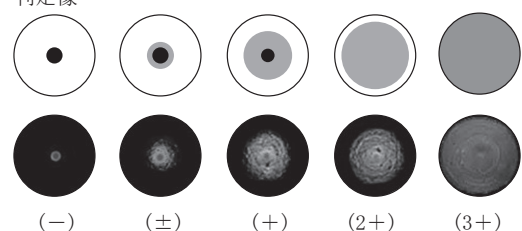
1. 準備する器具及び試薬
 - 1) チオグリコール酸塩培地(培地組成^{*1}は文章末に記載)
 - 2) エンテロトキシン産生用培地³⁾(培地組成^{*2}は文章末に記載)

- 3) 生理食塩液
- 4) 96ウェルマイクロプレート(V)
- 5) ドロッパー(25μL, 又はマイクロピペット)
- 6) ダイリューター(25μL, 又はマイクロピペット)
- 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、マーキングテープ、湿潤箱など)
- 9) 遠心分離機(900×g以上:卓上遠心機で約3000rpm以上)
2. 試薬の調製
 - 1) 感作ラテックス、対照ラテックス及び希釈液はそのまま使用します。
 - 2) 対照エンテロトキシンは希釈液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) 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²⁾
 - 1) 糞便
発病初期患者糞便を生理食塩液で10倍乳剤とし、十分に攪拌した後3000rpmで20分間遠心し、上清を試験試料とします。
 - 2) ウエルシュ菌培養液
被検菌株をチオグリコール酸塩培地で37℃で18～20時間培養後、75℃で20分間加熱処理します。(芽胞形成が悪いときは、チオグリコール酸塩培地培養と加熱処理を2～3回繰り返します)次いで、エンテロトキシン産生用培地に接種し、37℃で18～48時間培養します。培養後、培養液を3000rpmで20分間遠心し、上清を試験試料とします。
4. 操作法(逆受身ラテックス凝集反応)
 - 1) 1試料につき、マイクロプレート2系列にドロッパーを用いて、すべての穴に希釈液を25μLずつ滴加します。
 - 2) 最前列の2穴にドロッパーを用いて試料を25μLずつ滴加します。
 - 3) 最前列の希釈試料を2本のダイリューターにそれぞれ吸いあげ、最後の穴を除いて2倍階段希釈をします。(最後の穴はラテックス試薬の陰性対照となります。)
 - 4) 感作ラテックス及び対照ラテックスを、それぞれの系列に25μLずつ滴加します。
 - 5) ラテックス沈降像及び試薬の確認は試料のかわりに対照エンテロトキシンを用い、前記と同様な操作を行います。
 - 6) マイクロプレート用ミキサーで十分に振盪します。
 - 7) 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、プレートをカバーするか又は湿潤箱に入れます。

【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沈降像を目視で観察します。
ラテックス沈降像の判定は、次の模式図及び写真を参考にを行います。

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. 操作法(逆受身ラテックス凝集反応)に従って対照エンテロトキシンと感作ラテックスを反応させ、試薬及び凝集像の確認を行ってください。
- 最後の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。
- 糞便によっては、10～40倍の希釈において感作ラテックス及び対照ラテックスに反応することがあるので注意してください。(【操作上の注意】 2. 妨害物質を参照してください。)

【性能】

- 感度
管理用精製ウエルシュ菌エンテロトキシン(100ng/mL)を用いて試験を行ったとき、64～128倍の値を示します。
- 正確性
管理用精製ウエルシュ菌エンテロトキシン(凝集価64～128倍)に対してウエルシュ菌エンテロトキシン抗体(ウサギ)を用いて凝集阻止反応を行ったとき、凝集が3管以上阻止され16倍以下の凝集を示します。
- 同時再現性
管理用精製エンテロトキシン(100ng/mL)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
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、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、ウエルシュ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。
 - 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。
- 使用上の注意
 - 本品は凍結をさけ、貯法に従い保存してください。凍結させた場合は、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。また、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。
 - 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。
 - ラテックス試薬は使用時に十分振り混ぜ、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。
 - 試料を加えるとき、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。
- 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、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。
 - 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5 000ppm)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。

- 構成試薬中の感作ラテックス、対照ラテックス、希釈液は、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。
- 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、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
230034	PET-RPLA「生研」	20回用

別売品

コードNo.	品名	包装
230591	96 ウエルマイクロプレート(V)	10枚入×1箱

【主要文献】

- Sakaguchi, G., et al.: Simplified method for purification of *Clostridium perfringens* type A enterotoxin, Appl. Microbiol., 26, 762(1973).
- 坂崎利一編：ウエルシュ菌エンテロトキシンの検出法，食中毒，中央法規出版，698(1981)。
- Duncan, C. L., et al.: Improved medium for sporulation of *Clostridium perfringens*, Appl. Microbiol., 16, 82(1968)。

※【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)

※1：チオグリコール酸塩培地の組成

カゼインペプトン	17.0g
大豆ペプトン	3.0g
ブドウ糖	6.0g
塩化ナトリウム	2.5g
チオグリコール酸ナトリウム	0.5g
L-シスチン	0.25g
亜硫酸ナトリウム	0.1g
カンテン	0.7g
精製水	1 000mL
pH 7.0	

※2：エンテロトキシン産生用培地の組成

(Duncan-Strong培地 ³⁾ が一般的に用いられます。)	
酵母エキス	4.0g
プロテオースペプトン	15.0g
可溶性デンプン	4.0g
チオグリコール酸ナトリウム	1.0g
リン酸水素二ナトリウム・7H ₂ O	10.0g
精製水	1 000mL
pH 7.5	

* 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