

クロストリジウムディフィシルキット

*GEテスト イムノクロマトーCD GDH/TOX

【全般的な注意】

- 1)本キットは体外診断用医薬品です。体外診断用医薬品以外の目的に使用しないでください。
- 2)本電子化された添付文書をよく読んでから使用してください。電子化された添付文書に記載された操作方法に従って使用してください。記載した操作方法および使用目的以外での使用については、信頼性を保証致しかねます。
- 3)測定結果に基づく診断は、臨床症状や他の検査結果と併せて総合的に判断してください。
- 4)すべての検体は感染性のあるものとして扱い、防護具(眼鏡、手袋、マスク等)を着用の上、十分に注意をして操作を行ってください。
- 5)眼や皮膚に試薬が触れないように注意してください。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処置を行い、必要があれば医師の手当を受けてください。

【形状・構造等(キットの構成)】

構成試薬

- ①テストプレート・・・・・・・・・・ 20 テスト
- ストレプトアビジン・・・・・・・・ 1200ng/テスト
- オリゴヌクレオチド結合タンパク質・・・・ 600ng/テスト
- 金コロイド結合抗クロストリジオイデスディフィシル
- (GDH)モノクローナル抗体(マウス)・・・・ 112ng/テスト
- 金コロイド結合抗トキシン A モノクローナル抗体
- (マウス)・・・・・・・・・・ 60ng/テスト
- 金コロイド結合抗トキシン B モノクローナル抗体
- (マウス)・・・・・・・・・・ 40ng/テスト
- オリゴヌクレオチド結合抗クロストリジオイデスディフィシル
- (GDH)モノクローナル抗体(マウス) 56ng/テスト
- ビオチン結合抗トキシン A モノクローナル抗体
- (マウス)・・・・・・・・・・ 32ng/テスト
- ビオチン結合抗トキシン B モノクローナル抗体
- (マウス)・・・・・・・・・・ 32ng/テスト
- ②検体希釈液・・・・・・・・・・ 20 本

付属品

- ①試料ろ過フィルター・・・・・・・・ 20 個
- ②綿棒(糞便採取用)・・・・・・・・ 20 本
- ③スタンド・・・・・・・・・・ 2 個

**【使用目的】

糞便又は培養分離株中のクロストリジオイデスディフィシル抗原及び毒素(トキシン A 及びトキシン B)の検出(クロストリジオイデスディフィシル感染の診断補助)

【測定原理】

本品は、イムノクロマトグラフィー法による糞便中のクロストリジオイデスディフィシル抗原(グルタメートデヒドロゲナーゼ(以下、GDH と略す))及び毒素(トキシン A 及び B)の検出試薬です。
本品の感作金コロイド塗布部には、金コロイド結合抗 GDH モノクローナル抗体(マウス)、オリゴヌクレオチド I 結合

抗 GDH モノクローナル抗体(マウス)、金コロイド結合抗トキシン A モノクローナル抗体(マウス)、金コロイド結合抗トキシン B モノクローナル抗体(マウス)、ビオチン結合抗トキシン A モノクローナル抗体(マウス)及びビオチン結合抗トキシン B モノクローナル抗体(マウス)が塗布されています。また、ニトロセルロースメンブレン上の G 部にはオリゴヌクレオチド I' 結合タンパク質(オリゴヌクレオチド I と I' は互いに相補鎖をなしています)、T 部にはストレプトアビジン、C 部には抗マウス IgG ポリクローナル抗体(ウサギ)が固相化されています。

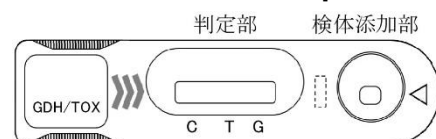
検体希釈液で希釈した糞便検体をテストプレートの検体添加部に滴下すると、GDH を含んだ検体の場合、感作金コロイド塗布部において金コロイド結合抗 GDH 抗体とオリゴヌクレオチド I 結合抗 GDH 抗体と免疫複合体を形成します。すなわち、GDH が存在する場合には、金コロイド結合抗 GDH モノクローナル抗体-GDH-オリゴヌクレオチド I 結合抗 GDH モノクローナル抗体の免疫複合体が形成されます。ニトロセルロースメンブレン上をクロマトグラフィーの原理により移動したこれらの複合体は G 部において DNA-DNA の相互反応により固相化されているオリゴヌクレオチド I' 結合タンパク質に捕捉されます。捕捉された複合体は金コロイドを含んでいるために金コロイドの着色が認められます。

また、毒素を含んだ検体の場合、感作金コロイド塗布部において金コロイド結合抗トキシン抗体とビオチン結合抗トキシン抗体と免疫複合体を形成します。すなわち、トキシン A が存在する場合には、金コロイド結合抗トキシン A モノクローナル抗体-トキシン A-ビオチン結合抗トキシン A モノクローナル抗体の免疫複合体が、トキシン B が存在する場合には、金コロイド結合抗トキシン B モノクローナル抗体-トキシン B-ビオチン結合抗トキシン B モノクローナル抗体の免疫複合体が形成されます。ニトロセルロースメンブレン上をクロマトグラフィーの原理により移動したこれらの複合体は T 部において固相化されているストレプトアビジンに捕捉されます。捕捉された複合体は金コロイドを含んでいるために金コロイドの着色が認められます。

一方、GDH または毒素を含まない検体の場合、免疫複合体が形成されないため、G 部または T 部に金コロイドの着色は認められません。

また、C 部には抗マウス IgG ポリクローナル抗体が固相化されており、GDH または毒素の有無にかかわらず、試料溶液が正常に移動すると、金コロイド結合抗 GDH モノクローナル抗体または金コロイド結合抗トキシンモノクローナル抗体が捕捉され金コロイドの着色が認められます。

【テストプレートの外観図及び各部名称】



【操作上の注意】

1.測定試料の性質、採取法

- 1)供試する検体は新鮮な糞便検体を使用し、採取後速やかに検査を行ってください。すぐに検査できない場合、採取後 72 時間までは 4℃で保存してください。⁹⁾
- 2)糞便検体は十分に混和し使用してください。
- 3)検体希釈液で希釈した検体は直ちに検査に使用し、保存しないでください。
- 4)試料ろ過フィルターを検体希釈液チューブにしっかりと取り付けてください。
- 5)検体採取量が過剰の場合や糞便に不溶物が多い場合、フィルターが目詰まりを起こし、はずれやすくなる場合があります。フィルターが詰まった際には、無理にろ過せずに再度検体採取からやり直し、新しい検体希釈液と試料ろ過フィルターを使用してください。
- 6)糞便量が過剰な場合、又は、粘性が強い場合、検体を生理食塩水または検体希釈液で 2～3 倍程度に希釈を行ってから、検査を行ってください。(希釈した検体を用いる場合も本添付文書に記載した検体滴下量を滴下してください。)
- 7)ホルマリン、ポリビニルアルコールで保存した検体は使用しないでください。
- 8)検体は自然に排出された糞便を使用してください。

2.妨害物質

本品は、下記の物質で検討した濃度まで判定に影響は認められませんでした。

ムチン(4% w/v)、イントラファット[®]注(4% v/v)、血液(40% v/v)、ヘモグロビン(500mg/dL)、硫酸バリウム(5% w/v)、ステアリン酸／パルミチン酸(50% w/v)、メトロニダゾール(0.25% w/v)、バンコマイシン(0.25% w/v)、ピオチン(ビタミン B₇)(2mg/mL)

【用法・用量（操作方法）】

試薬の調製方法

- ①テストプレート：そのまま使用します。
- ②検体希釈液：そのまま使用します。
テストプレート、検体希釈液ともに室内温度(15～30℃)に戻してから使用してください。
テストプレートは、使用直前にアルミ袋から取り出し、直ちに使用してください。

操作方法

**1.検体の採取方法

糞便検体の形状に合わせて、検体を採取します。

- ・液状／半液状：約 50 μ L
- ・固形：約 50mg

なお、付属の綿棒を用いる場合は、下記の方法で採取します。

- ・液状／半液状：綿球に充分しみ込ませて採取します。
- ・固形：綿棒を軽く覆う程度採取します。

培養分離株の場合は、48 時間以上嫌気培養した選択分離培地上に発育したコロニー複数個を付属の綿棒で採取します。

**2.試料の調製方法

- 1)検体希釈液チューブのアルミシールをはがします。
- 2)採取した検体を検体希釈液に入れ、試料が均一になるように充分攪拌して懸濁させます。

なお、付属の綿棒を用いて採取した場合は、下記の方法で調製します。

検体を採取した綿棒を検体希釈液に浸し、チューブの外側から綿球部分をもみながら綿球より糞便を落とし、試料が均一になるように充分攪拌して懸濁させます。

攪拌後、チューブの上から綿球部分をつまんで、綿球より試料を絞り出しながら綿棒を引き抜きます。
培養分離株の場合は、McFarland No.3 以上の濁度となるように懸濁して調製します。

3.操作方法

- 1)試料の入った検体希釈液に試料ろ過フィルターを確実に装着し、ゆっくりと逆さまにしてから、チューブをつまんでテストプレートの検体添加部に 3 滴滴下します。
- 2)室内温度(15～30℃)で 20 分間水平に静置します。
- 3)判定部に出現するラインの有無を目視で確認します。

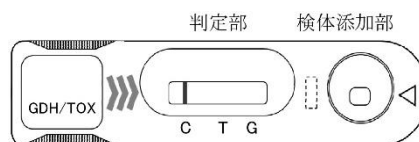
【測定結果の判定法】

判定は、試料溶液を滴下して 20 分経過後、速やかに行います。

判定は以下の基準に従って実施してください。

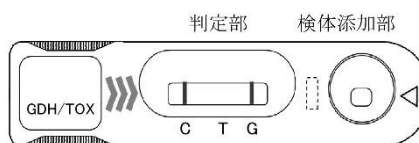
①陰性

判定部の C 部のみにラインが出現した場合は陰性と判定します。抗原(GDH)陰性は、クロストリジオイデスディフィシルが存在しないか、検出感度未満であったことを示します。毒素(トキシシン)陰性は、クロストリジオイデスディフィシルトキシシンが存在しないか、検出感度未満であったことを示します。



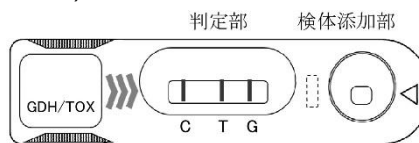
②抗原陽性

判定部の G 部及び C 部にラインが出現した場合は抗原(GDH)陽性と判定します。



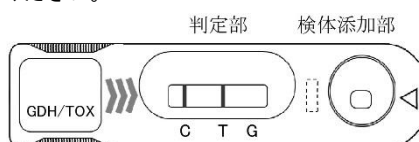
③抗原／毒素陽性

抗原陽性の場合、毒素の結果判定を行います。判定部の G 部に加え、T 部にラインが出現した場合は、抗原(GDH)／毒素(トキシシン)陽性と判定します。



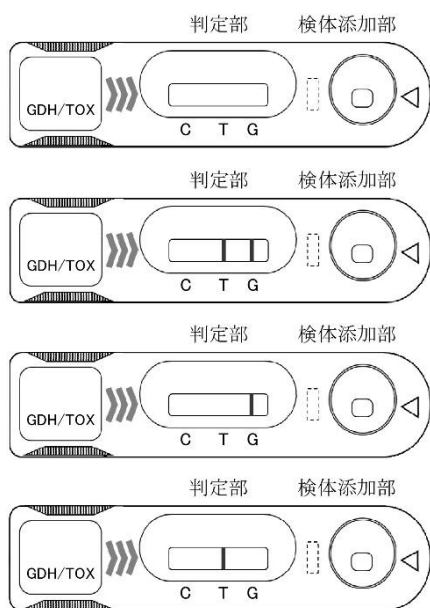
④判定保留

稀に G 部陰性、T 部陽性となる場合があります。この場合は判定保留とし、再試験を実施するか、他の試験方法を実施してください。



⑤判定不能(再試験)

G 部、T 部ラインの有無に関係なく、C 部にラインが出現しない場合は測定が適切に行われていないことが考えられます。別のテストプレートを用いて再試験を行ってください。



【判定に関わる注意事項】

- 1) 判定は試料溶液を滴下して 20 分静置後、速やかに行ってください。長時間(1 時間以上)放置すると、非特異反応等により、稀にラインが出現し正しく判定できない場合があります。
- 2) 本品は、糞便中のクロストリジオイデスディフィシル抗原(GDH)及び毒素(トキシン)を検出する試薬であり、疾患の有無を判定するものではありません。本品による判定が陰性であってもクロストリジオイデスディフィシル抗原(GDH)または毒素(トキシン)の濃度が検出限界以下である場合がありますので、必要に応じてクロストリジオイデスディフィシル分離用培地を用いた培養試験または培養分離株を用いた毒素検出を行ってください。診断は、臨床症状、これらの検査結果を含め総合的に判断してください。^{1), 7), 8)}
- 3) C 部のラインは、測定が適切に行われたかどうかを確認するためのもので、陽性ラインの比較対照になるものではありません。
- 4) 本品は、クロストリジオイデスディフィシル抗原(GDH)及び毒素(トキシン)の有無を判定する定性試薬であり、反応ラインの濃淡によって定量性を判断することはありません。

【臨床的意義】

クロストリジオイデスディフィシルは、偽膜性大腸炎、抗菌薬や抗腫瘍薬投与後の下痢症及び腸炎の主な起因菌として知られています。また、偏性嫌気性菌でありながら、芽胞の存在により酸素、消毒薬、乾燥などにも強い耐性を示すため、しばしば院内感染の原因にもなります。¹⁾ 本品は、イムノクロマトグラフィー法を測定原理とし、糞便中のクロストリジオイデスディフィシル抗原(GDH：グルタマートデヒドロゲナーゼ)及び毒素(トキシン A 及び B)を検出する試薬で、臨床診断において迅速な検査結果を提供するものです。^{2)~6)}

【性能】

性能

所定の操作方法により社内管理検体を用いて、感度、正確性、同時再現性の各試験をおこなった場合、下記の規格に適合します。

1. 感度試験

精製抗原(GDH)を含んだ管理検体を試料として試験する場合、抗原陽性を示す。

精製毒素(トキシン A またはトキシン B)を含んだ管理検体を試料として試験する場合、各々毒素陽性を示す。

2. 正確性試験

陰性管理検体を試料として試験する場合、陰性を示す。抗原(GDH)陽性管理検体を試料として試験する場合、抗原陽性を示す。

毒素(トキシン A またはトキシン B)陽性管理検体を試料として試験する場合、各々毒素陽性を示す。

3. 同時再現性試験

陰性管理検体を試料として 3 回同時に試験する場合、全て陰性を示す。

抗原(GDH)陽性管理検体を試料として 3 回同時に試験する場合、全て抗原陽性を示す。

毒素(トキシン A またはトキシン B)陽性管理検体を試料として 3 回同時に試験する場合、各々全て毒素陽性を示す。

4. 最小検出感度

抗原検出：GDH 0.18ng/mL

毒素検出：トキシン A 0.73ng/mL

トキシン B 0.73ng/mL

5. 交差反応性試験

① 細菌

管理検体に下記微生物をマクファーランド 0.5(1.5 × 10⁸CFU/mL 相当)以上になるように添加し、交差反応性試験を検討した結果、抗原・毒素検出において影響は見られませんでした。

Bacillus cereus, *Bacillus subtilis*, *Bacteroides fragilis*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Citrobacter freundii*, *Clostridium beijerinckii*, *Clostridium bifermentans*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium histolyticum*, *Clostridium innocuum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium septicum*, *Clostridium sordellii*, *Clostridium sporogenes*, *Clostridium tertium*, *Clostridium tetani*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Porphyromonas asaccharolytica*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* Typhimurium, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio cholerae*
・ *Clostridium sordellii* VPI9048 は本品の毒素検出と交差反応を示した。

② ウイルス

管理検体に下記の濃度でウイルスを添加し、交差反応性を検討した結果、影響は見られませんでした。

	濃度(TCID ₅₀ ^{注1} /mL)
ロタウイルス	9.6 × 10 ⁵
アデノウイルス 1 型	6.2 × 10 ⁵
アデノウイルス 3 型	1.2 × 10 ⁷
アデノウイルス 40 型	1.1 × 10 ⁵
アデノウイルス 41 型	2.0 × 10 ⁵

注 1 TCID₅₀ : 50% tissue culture infections dose

**相関性試験

1)糞便検体 163 例について、本品と対照法との相関性を検討したところ、下表 1～4 の成績が得られました。

①抗原検出

表 1.対照法(A 法：酵素免疫測定法)との相関性

		対照法(A 法)		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	87	3	90
	陰性	1	72	73
計		88	75	163

検討例数 n=163 例

全体一致率 97.5%(159 例／163 例)

陽性一致率 98.9%(87 例／ 88 例)

陰性一致率 96.0%(72 例／ 75 例)

表 2. 対照法(B 法：分離培養法)との相関性

		対照法(B 法)		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	89	1	90
	陰性	9	64	73
計		98	65	163

検討例数 n=163 例

全体一致率 93.9%(153 例／163 例)

陽性一致率 90.8%(89 例／ 98 例)

陰性一致率 98.5%(64 例／ 65 例)

②毒素検出

表 3. 対照法(C 法：酵素免疫測定法)との相関性

		対照法(C 法)		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	52	1	53
	陰性	6	104	110
計		58	105	163

検討例数 n=163 例

全体一致率 95.7%(153 例／163 例)

陽性一致率 89.7%(52 例／ 58 例)

陰性一致率 99.0%(104 例／105 例)

表 4. 対照法(D 法：イムノクロマト法)との相関性

		対照法(D 法)		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	51	2	53
	陰性	1	109	110
計		52	111	163

検討例数 n=163 例

全体一致率 98.2%(160 例／163 例)

陽性一致率 98.1%(51 例／ 52 例)

陰性一致率 98.2%(109 例／111 例)

2)臨床検体(培養分離株 82 検体)について、本品と対照法との相関性を検討したところ、下表 5～8 の成績が得られました。

①抗原検出

表 5.対照法(E 法：酵素免疫測定法)との相関性

		対照法(E 法)		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	82	0	82
	陰性	0	0	0
計		82	0	82

検討例数 n=82 例

全体一致率 100%(82 例／ 82 例)

陽性一致率 100%(82 例／ 82 例)

陰性一致率 —

表 6.対照法(F 法：質量分析法)との相関性

		対照法(F 法)		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	82	0	82
	陰性	0	0	0
計		82	0	82

検討例数 n=82 例

全体一致率 100%(82 例／82 例)

陽性一致率 100%(82 例／82 例)

陰性一致率 —

②毒素検出

表 7.対照法(G 法：酵素免疫測定法)との相関性

		対照法(G 法)		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	57	0	57
	陰性	0	25	25
計		57	25	82

検討例数 n=82 例

全体一致率 100%(82 例／ 82 例)

陽性一致率 100%(57 例／ 57 例)

陰性一致率 100%(25 例／ 25 例)

表 8.対照法(H 法：PCR 法)との相関性

		対照法(H 法)		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	57	0	57
	陰性	0	25	25
計		57	25	82

検討例数 n=82 例

全体一致率 100%(82 例／ 82 例)

陽性一致率 100%(57 例／ 57 例)

陰性一致率 100%(25 例／ 25 例)

較正用基準物質

クロストリジオイデスディフィシル培養液より精製した抗原(GDH)、毒素(トキシン A 及びトキシン B)を用いて調製した試料を較正用基準物質とした。

【使用上又は取扱い上の注意】

1.取扱い上（危険防止）の注意

検体は感染の恐れがあるものとして取扱ってください。検査にあたっては感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用してください。

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。凍結させた試薬は使用しないでください。
- 2)有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
- 3)異なる製造番号のキット中の試薬を、組み合わせたり混ぜて使用しないでください。
- 4)綿棒は糞便採取以外に使用しないでください。また、体外に排泄された糞便からの検体採取に用い、直接人体からの検体採取(直腸採取)には使用しないでください。
- 5)検体希釈液がチューブの下方にない場合や、液中に気泡がある場合は、チューブを振ったり、軽く叩いたりして、検体希釈液をチューブの下方に集めた後にアルミシールをはがしてください。
- 6)テストプレートは、開封したまま室内に長時間放置しないでください。吸湿等の影響により所定の性能を示さない恐れがあります。
- 7)検体が飛散した場合は、次亜塩素酸ナトリウム(有効塩素濃度 5000ppm)により拭取ってください。

3.廃棄上の注意

- 1)検体に接触した器具・試薬及び試験容器等は感染の危険があるものとし、オートクレーブ(121℃、20 分以上)などで滅菌するか、または次亜塩素酸ナトリウム(有効塩素濃度 1000ppm)に 30 分間以上浸すなどの処理をしてください。
- 2)検査に使用した試薬・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及び水質汚濁防止法等の規定に従って医療廃棄物、産業廃棄物、または、感染性廃棄物として処理してください。

【貯蔵方法、有効期間】

貯蔵方法

2～8℃で保存してください。

有効期間

製造日から 12 ヶ月

外箱および容器のラベルに使用期限を表示してあります。

* 【包装単位】

GE テスト イムノクロマト-CD GDH/TOX

20 回用 Code 07853

【主要文献】

- 1.加藤はる、加藤直樹： *Clostridium difficile* 感染症と細菌学的検査. 日本臨床微生物学雑誌 2002; 12(3): 115 -122.
- 2.仲宗根勇 他： *Clostridium difficile* ToxinA および ToxinB 検出用試薬, TOX A/B QUIK CHEK 「ニッスイ」 の一次性能評価. JARMAM 2007; 18(2): 109-116.
- 3.豊川真弘 他： *Clostridium difficile* 関連下痢症の迅速診断における糞便中 toxin A および toxin B 同時検出キットの有用性に関する検討. 感染症学雑誌 2007; 81(1): 33 - 38.
- 4.中川莉彩 他： *Clostridium difficile* トキシン迅速検査キットの評価と微生物学的検討. 感染症学雑誌 2010; 84 (2): 147-152.
- 5.沢辺悦子 他： *Clostridium difficile* 感染症の迅速診断における糞便中 *C. difficile* 抗原およびトキシン A/B 同時検出キット : *C. DIFF* QUIK CHEK COMPLETE の有用性に関する検討. 日本臨床微生物学雑誌 2011; 21(4): 253 - 259.
- 6.山本由香梨 他： *C. DIFF* QUIK CHEK コンプリートによる *Clostridium difficile* 抗原およびトキシン A/B 検出評価と運用について. 医療と検査機器・試薬 2013; 36(3): 349-353.
- 7.Stuart H. Cohen, et al.: Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults: 2010 Update by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases Society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2010; 31(5): 431 -455.
- 8.Christina M. Surawicz, et al.: Guideline for Diagnosis, Treatment, and Prevention of *Clostridium difficile* Infections. *Am J Gastroenterol.* 2013; 108: 478-498.
- 9.日本臨床微生物学会：腸管感染症検査ガイドライン 2010; 20(1): 1-3

* 【問い合わせ先】

島津ダイアグノスティクス株式会社
カスタマーサポート担当
〒110-0005
東京都台東区上野 3-24-6
TEL 03(5846)5707

* 【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

製造販売元
島津ダイアグノスティクス株式会社
〒110-0005
東京都台東区上野 3-24-6
TEL 03(5846)5611(代)