

(1→3)-ベータ-D-グルカンキット

β-グルカン テストワコー

(比濁時間分析法)

〔全般的な注意〕

- (1) 本製品は体外診断用であり、それ以外の目的に使用しないで下さい。
- (2) この添付文書に記載された使用方法に従って使用して下さい。記載された使用方法および使用目的以外での使用については、測定値の信頼性を保証しかねます。
- (3) 測定機器は取扱説明書に従い適切な条件下で使用して下さい。
- (4) 測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果と併せて担当医師が総合的に判断して下さい。
- (5) 本品のリムルス試薬はヒト血清成分を使用していますので、ウイルス感染等の危険があるものとして、検体と同様に十分注意して取り扱って下さい。なお、使用しているヒト血清成分は、HBs抗原、HIV-1/HIV-2抗体およびHCV抗体検査を行い、陰性の結果を得ています。

〔形状・構造等(キットの構成)〕

- (1) リムルス試薬(LAL)
(カプトガニ血球抽出物)

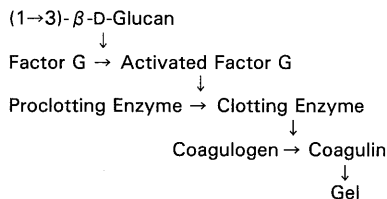
*〔使用目的〕

血清中又は血漿中の(1→3)-β-D-グルカンの測定(深在性真菌感染の診断補助)

〔測定原理〕

前処理液に試料を加え、加熱することにより試料中のエンドトキシン活性等を抑えます。

前処理した試料をリムルス試薬と反応させると、試料中の(1→3)-β-D-グルカンは、下図に示すファクターGより始まるカスケード反応を開始させ、濁りを伴うゲル化を引き起こします。試料中の(1→3)-β-D-グルカン量と反応液があらかじめ設定された濁度に達するのに要した時間(Tg)との間の用量反応関係に基づき、試料中の(1→3)-β-D-グルカン量を求める事ができます。



〔操作上の注意〕

- (1) 測定試料の性質、採取法
 - (イ) 血漿中の(1→3)-β-D-グルカンを測定する場合は、抗凝固剤としてヘパリン(日本薬局方ヘパリンナトリウム注射液)を使用して下さい。また血漿分離を行う際は、2～10℃、半径10cmのローターで毎分3,000回転、40秒間遠心分離するか150g※1、10分間遠心分離して下さい。
 - ※1: 半径10cmのローターで毎分1,200回転を目安として下さい。
 - (ロ) (1→3)-β-D-グルカンの汚染のない真空採血管を使用して下さい。
 - (ハ) 検体採血時には(1→3)-β-D-グルカンの汚染に注意して下さい。

(二) 検体採取後できるだけ早く前処理を行い測定して下さい。保存の必要な場合は、(1→3)-β-D-グルカンの汚染のない容器に-80℃以下で凍結保存し、1か月以内に使用して下さい。
- (2) 妨害物質・妨害薬剤
ビリルビン、溶血は測定値にほとんど影響を与えません。
- (3) その他
 - (イ) 指定された反応温度、反応時間以外での使用は避けて下さい。
 - (ロ) 本項目は使用する器具および測定中の環境から汚染を受ける場合があります。測定の際は適切な器具を使用し、採血から測定までの過程で汚染を受けないように十分注意して下さい。
 - (ハ) 市販の真空採血管および分注に使用するチップまたはガラスピペット類は(1→3)-β-D-グルカンの汚染がないことを確認してから使用して下さい。

(二) (1→3)-β-D-グルカンの除去法として器具を十分洗浄・乾燥した後、250℃で2時間乾熱滅菌して下さい。

(ホ) 測定時には(1→3)-β-D-グルカンの汚染に注意して下さい。

(ヘ) バイアル瓶の中は減圧になっていますので、開栓時は内容物を飛散させないように静かに開けて下さい。

- (ト) リムルス試薬の測定用試験管の下部は、トキシノメーターの測光部分に当たりますので、手で触れて汚さないようにして下さい。
- (チ) リムルス試薬をトキシノメーターにセットする際に液面に気泡がないことを確認してからセットして下さい。大きな気泡ができた場合には、試験管の下部をはじくようにして気泡を取り除いて下さい。
- (リ) 測定範囲の上限を超える検体については、前処理した検体をβ-グルカン前処理済み検体用希釈液で希釈して測定して下さい。得られた値に希釈倍数を乗じたものが測定値となります。
- (ヌ) 前処理した検体が著しく濁っている場合は、毎分3,000回転で約20分間遠心分離を行い、その上清を前処理検体として測定して下さい。

〔用法・用量(操作方法)〕

(1) 試薬の調製方法

リムルス試薬: そのまま使用して下さい。

(2) 付属品

ゲル化時間とβ-グルカン濃度の関係表

** (3) 必要な器具・機材・試料等

- トキシノメーター MT シリーズ MT-6500、MT-5500、MT-358、MT-258、MT-251
- サーモステーション TS-100
- 乾熱滅菌済アルミキャップ(別売品)
- エンドトキシン測定用試験管-S(別売品)
- ピペット(別売品)
- チップ(別売品)
- ボルテックスミキサー
- β-グルカン検体前処理液(別売品)
- β-グルカン前処理済み検体用希釈液(別売品)
- LAL コントロールワコー(別売品)

(4) 測定法: ゲル化時間とβ-グルカン濃度の関係表を使用して測定する

〈検量線情報の入力〉

ゲル化時間とβ-グルカン濃度の関係表よりトキシノメーターに検量線情報を全て入力し一次式による解析を設定します。

〈検体の前処理法〉

β-グルカン検体前処理液 0.9 mL にヘパリン加血漿又は血清 0.1 mL を加え攪拌後、70℃で10分間加熱し、氷冷後前処理検体(試料)として使用して下さい。

〈標準操作法〉

	試 料	濃度既知の陽性試料	陰性試料
リムルス試薬 (0.2 mL用)	前処理検体 0.2 mL	前処理した コントロール 0.2 mL	コントロール 溶解液 0.2 mL
トキシノメーター MT-シリーズ(37℃)(中心波長 660 nm)で ゲル化時間(Tg)を測定する。			

ゲル化時間(Tg)とは透過光量比が92%以下まで低下するのに要する反応時間です。

** <トキシノメーター MT-6500、MT-5500で測定する場合>

- ** ① トキシノメーター MT-6500、MT-5500の「取扱説明書」の測定操作法に準じ、測定可能な状態にしてください。トキシノメーター MT-358、MT-258、MT-251の場合はそれぞれの「取扱説明書」を参照して下さい。温度表示が37(±0.5)℃になっていることを確認して下さい。
- ② キャップオープナーの筒部をリムルス試薬のアルミキャップに差し込み、ゆっくり30～40度曲げ次に逆方向に曲げてアルミキャップとゴムキャップを同時にはずし、直ちに乾熱滅菌済アルミキャップを被せて下さい。
- ③ 使用する検量線のロットと使用する試薬のロットが同じであることを確認します。
- ** ④ 試料 0.2 mL をリムルス試薬(0.2 mL用)に加え、試薬が十分溶けたことを確認してから、泡が立たないようにボルテックスミキサーで数秒間攪拌した後、トキシノメーター MT-6500、MT-5500にセットして下さい。このとき緑色のLEDが点滅しているポジションに挿入して下さい。
- ⑤ リムルス試薬セット後、自動的に測定を開始します。測定が開始されますと測定位置横の緑色ランプが点灯します。
- ⑥ 反応時間が終了すると緑色ランプが消えます。
- ⑦ 測定を終了して下さい。
- ⑧ 測定結果は、得られた試料のゲル化時間(Tg)を、添付のゲル化時間とβ-グルカン濃度の関係表から作成した検量線に当てはめ、試料中の(1→3)-β-D-グルカン濃度を求めます。
- なお、検体は前処理の段階で10倍に希釈されています。従って、検体中の(1→3)-β-D-グルカン濃度は、検量線から求めた濃度を10倍した値となります。
- ⑨ 陰性試料、濃度既知の陽性試料を同様に測定し、陰性試料のゲル化時間は90分以上であること、陽性試料は付属品のゲル化時間とβ-グルカン濃度の関係表より作成した検量線にゲル化時間を当てはめて(1→3)-β-D-グルカン濃度を算出し、既知濃度の±20%であることを確認して下さい。
- 陰性試料、濃度既知の陽性試料にはLAL コントロールワコーを使用して下さい。
- 陰性試料のゲル化時間が90分以下の時または陽性試料の(1→3)-β-D-グルカン濃度が既知濃度の20%以上の場合は、使用器具または測定操作中の汚染等が考えられますので再度測定を行って下さい。

〔測定結果の判定法〕

カットオフ値⁽⁶⁾ 11 pg/mL ((1→3)-β-D-グルカンとして)

〈判定上の注意〉

- (1) 検体によっては測定中に非特異的濁りを生じて正しい測定結果が得られない場合があります。測定結果に疑問がある場合には、反応タイムコースあるいは希釈試験等により非特異的濁りの有無を確認して下さい。
希釈にはβ-グルカン前処理済み検体用希釈液を用いて下さい。
- (2) セルロース系透析膜による血液透析を受けた患者およびレンチナン等の真菌由来の(1→3)-β-D-グルカン製剤の投与を受けた患者の検体は、測定値に正誤差を与える場合があります。
- (3) 術後、一過性に(1→3)-β-D-グルカンが上昇する場合があります。
- (4) 高濃度のエンドトキシンは測定値に正誤差を与える場合があります。

*〔性能〕

〈性能〉

- (1) 感度
(イ) (1→3)-β-D-グルカン 0 pg/mL の水を試料として操作した場合のゲル化時間は、90分以上です。
(ロ) 特定濃度の標準液((1→3)-β-D-グルカン 3.3 pg/mL)を試料として操作した場合のゲル化時間は、25～55分の範囲内です。
- (2) 正確性
既知濃度の管理用血漿を測定するとき、既知濃度の±20%以内にあります。
- (3) 同時再現性
同一検体を4回同時に測定するとき、測定値のCV値は7%以下です。
- (4) 測定範囲
(1→3)-β-D-グルカン濃度 0.6 pg/mL～60 pg/mL です。検体中の(1→3)-β-D-グルカン濃度は、検体の前処理によって10倍に希釈されますので、6 pg/mL～600 pg/mL です。

〈相関性試験成績〉

検体	血漿	血清
相関係数	r = 0.989 (n = 80)	r = 0.959 (n = 99)
回帰式	y = 0.943 x + 2.4	y = 0.973 x + 5.7
y	本品(pg/mL)	本品(pg/mL)
x	A社製品 (発色合成基質法, PCA処理法, pg/mL)	A社製品 (発色合成基質法, PCA処理法, pg/mL)

〈較正用の基準物質(標準物質)〉

社内標準

〔使用上又は取扱い上の注意〕

〈取扱い上(危険防止)の注意〉

- (1) 試薬が誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には、直ちに大量の水で洗い流し、必要があれば医師の手当等を受けて下さい。
- (2) ガラスピペット使用の際は直接口で吸わないよう、必ず安全ピペッター等を使用して下さい。
- (3) バイアル瓶の開栓はアルミキャップ部分で怪我をしないよう慎重に行ってください。

〈使用上の注意〉

- (1) 試薬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下さい。
- (2) 誤って凍結させた試薬は使用しないで下さい。正しい結果が得られないことがあります。
- (3) 試薬の開封後はなるべく早く使用し、保存しないで下さい。
- (4) 本品中の容器、付属品は他の目的に転用しないで下さい。

〈廃棄上の注意〉

- (1) 廃棄に際しては、廃棄物の処理及び清掃に関する法律(廃棄物処理法)及び排水基準に従って適切に処理して下さい。
- (2) 検体と接触した試薬及び試薬容器等は、感染の危険性があるものとして処理して下さい。

〔貯蔵方法・有効期間〕

- (1) 貯法 2～10℃保存
- (2) 有効期間 製造後3年間

〔包装単位〕

(コード番号)	(品名)	(包装)
417-57501	β-グルカン テストワコー	0.2 mL用×50

〔主要文献〕

- (1) Mori, T., Ikemoto, H., et al. : Evaluation of Plasma (1→3)-β-D-Glucan Measurement by the Kinetic Turbidimetric Limulus Test, for the Clinical Diagnosis of Mycotic Infections, Eur. J. Clin. Chem. and Clin. Biochem., **35**, 553-560(1997).

- (2) Kakinuma, A., Asano, T., et al. : Biochem. Biophys. Res. Commun., **101**, 434-439(1981).
- (3) Morita, T., Tanaka, S., Nakamura, T. and Iwanaga, S. : A new (1→3)-β-D-glucan coagulation pathway found in Limulus ameobocytes. FEBS Lett., **129**, 318-321(1981).
- (4) 中村隆範, 森田隆司, 平永万寿代, 宮田敏行, 岩永貞昭 : 日本細菌学雑誌, **38**, 781-803(1983).
- (5) Stone, B. A. and Clarke, A. E. : Chemistry and Biology of (1→3)-β-D-Glucans, 11-12, La Trobe University Press, Victoria, Australia (1992).
- (6) 原田和明, 土谷正和, 他 : 第6回エンドトキシン・シンポジウム講演記録集, 7-12(1993).
- (7) 原田和明, 土谷正和, 他 : 第40回毒素シンポジウム予稿集, 155-158(1993).
- (8) 当社社内データ

〔問い合わせ先〕

富士フイルム 和光純薬株式会社
臨床検査薬 カスタマーサポートセンター
〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号
Tel : 03-3270-9134(ダイヤルイン)

〔別売〕

(コード番号)	(品名)	(包装)
413-57601	β-グルカン検体前処理液	0.9 mL×50
461-49191	β-グルカン前処理済み検体用希釈液	0.9 mL×10
455-00111	乾熱滅菌済アルミキャップ	10個入×10
458-00081	エンドトキシン測定用試験管-S	10本入×5
**477-92101	サーモフィッシャー フィンピペット F2	100-1000 μL 1本
**474-92111	サーモフィッシャー フィンピペット F2	20-200 μL 1本
*455-01191	BCチップワコー EXT	100本
*455-01211	BCチップワコー 200-R	100本
*458-01201	BCチップワコー 1000-R	100本
481-91061	ベノジェクトⅡ真空採血管(ヘパリンナトリウム)	3 mL用×50本入
461-38601	LAL コントロールワコー	0.5 mL用×10

製造販売元

富士フイルム 和光純薬株式会社
大阪市中央区道修町三丁目1番2号

Wako

18.01.15K09