

PicoGene® *Campylobacter* spp. Kit  
RGT007A

1. 特徴

PicoGene® *Campylobacter* spp. Kit (以下、本製品) は、プローブ法を用いたリアルタイム PCR によりカンピロバクター属菌を検出する試薬です。本製品には、反応に必要なプライマー、プローブ、ホットスタート DNA ポリメラーゼ、dNTPs 等が含まれております。事前の試薬調製作業が不要で、サンプルと混合するだけでリアルタイム PCR 測定が可能です。またモバイル リアルタイム PCR 装置 PicoGene® PCR1100 に最適化しており、本製品を用いることでオンサイトで迅速に測定結果を得ることが可能です。

2. 製品内容

試薬入り 8 連 PCR チューブ × 2 セット (計 16 テスト分)

3. 保存方法

冷凍保管: -10 ~ -30°C

4. 使用目的

サンプル中のカンピロバクター属菌の検出

5. 測定原理

本製品は、TaqMan® プローブ法<sup>1)</sup>を原理としたカンピロバクター属菌を検出するためのリアルタイム PCR 用試薬です。拭き取りスワブ、増菌培養液等をサンプルとして使用します。本製品にはカンピロバクター属菌の 16S rRNA をターゲットとしたプライマー、プローブのセットが予め含まれており、サンプル中のカンピロバクター属菌を特異的に検出することができます。また本製品は内部コントロール(Quasar670)の増幅を検出することで、PCR 反応が正常に行われているかを確認することができます。

6. 使用方法

(1) 必要な器具及び装置

- ① 本製品; PicoGene® *Campylobacter* spp. Kit
- ② モバイル リアルタイム PCR 装置 PicoGene® PCR1100
- ③ PicoGene® 測定チップ MCP1100 または MCP2000
- ④ マイクロピペット(1~1,000 µL)
- ⑤ フィルター付きチップ
- ⑥ 氷 (クラッシュアイス) または保冷剤・冷却ブロック等
- ⑦ ポルテックスミキサー
- ⑧ 滅菌マイクロチューブ

(2) 操作手順

・サンプルの準備

サンプルを予め増菌培養する場合は「カンピロバクター試験法(定性法) NIHSJ-02: 2019」又は「ISO 10272-1:2017(Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. -)」を参照して下さい。

・核酸精製

核酸抽出液を本製品のサンプルとして直接使用した際に、抽出方法やサンプル由来の反応阻害物質によって PCR の反応性や検出感度に低下が見られる場合があります。内部コントロール(Quasar670)の増幅と照らし合わせ、反応阻害物質による偽陰性が疑われた場合にはサンプルを希釈して測定に使用する、もしくは市販の核酸精製キットで反応阻害物質の影響を除いてください。

・反応液の調製

- (a) 冷凍保存していた 8 連 PCR チューブから必要本数を切り取り室温で解凍します。解凍後は保冷して取り扱い、速やかに使用して下さい。
- (b) サンプル 5µL を本製品に添加し、ピペッティングまたはホルテックスにて穏やかに混合し試料を調製します。

・PicoGene® PCR1100 による測定

- (a) PicoGene® PCR1100 の測定条件を設定します。反応時間は約 25 分です。なお PicoGene® PCR1100 の詳しい操作方法については装置に添付されている取扱説明書を参照してください。

表. 測定条件

Cycle	50	Denature temp.	95
Det. sens.	2	Hot start time	15
RT temp.	60	Denature time	4
RT time	1	Pump Lv.	M
An&Ex temp.	60	Predetection Lv.	50
An&Ex time	15		

- (b) 混合後の反応液を 18µL 分取し、PicoGene® 測定チップへ注入して下さい。分取及び注入時は気泡が測定チップへ入らないように注意して下さい。
- (c) PicoGene® PCR1100 の設定が完了し、[測定チップ挿入]の画面になりましたら装置に PicoGene® 測定チップをセットし、挿入扉を閉めて「START」ボタンを押して測定を開始して下さい。
- (d) 測定が終了していることを確認した後は、装置から使用済みの測定チップを取り出して、廃棄の基準に従って処理して下さい。

■ 増幅曲線/検量線の一例

本製品及び PicoGene® PCR1100 を用いた増幅曲線及び検量線の一例を示します。

- ・陽性コントロール: ATCC® 700819DQ™
- ・陰性コントロール: 10mM Tris Buffer

【増幅曲線】

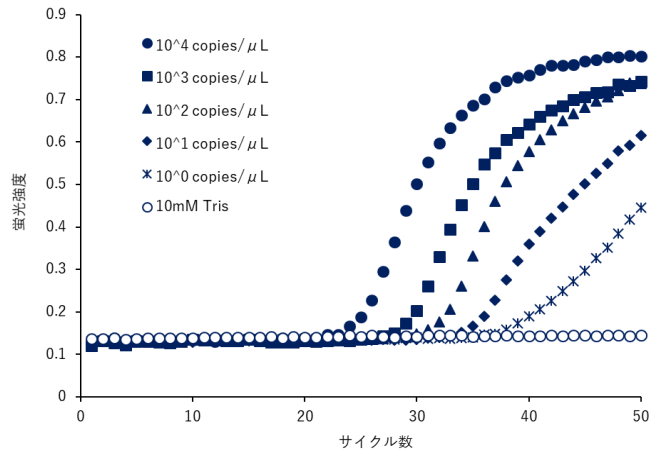


図. コントロールを用いた希釈系列の増幅曲線例

【検量線】

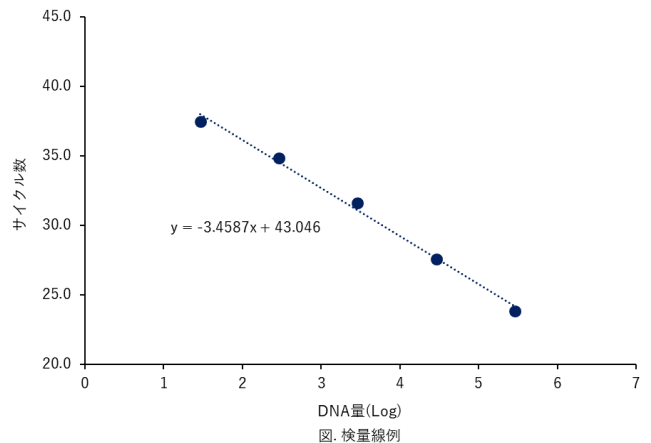


図. 検量線例

7. 操作上の留意事項

本製品は劣化を防ぐため以下に留意し取り扱いください。

- ① -10 ~ -30°C で冷凍保存する。  
【注意】 -30°C 以下の低温保管は避けてください。
- ② 蛍光プローブ保護のため遮光して保存してください。
- ③ 測定の際には必要な本数だけ取り出して解凍して使用してください。凍結融解はなるべく避けてください。
- ④ サンプルとの混合後は速やかに PCR を行ってください。
- ⑤ サンプルを取り扱う際はコンタミネーション防止の為、慎重に取り扱いください。
- ⑥ チューブの壁面やキャップに液が付着した場合はスピンドウン等で試薬を落とした後、十分混合してからご使用ください。
- ⑦ 使用するサンプル由来の成分によって PCR 反応に影響を受けることがあります。内部コントロールの結果を参考にサンプルの再調製や希釈をおこなった後に再測定をしてください。必要に応じて市販の核酸精製キット等の使用もご検討ください。

8. 検出感度

- ・25 ゲノムコピー/テスト  
( ATCC® 700819DQ™ ; Quantitative Genomic DNA )

#### 9. 検出可能な菌種

以下のカンピロバクター属菌について、全て陽性反応を示した。

<i>C.coli</i> ATCC33559	<i>C.jejuni</i> ATCC33291
<i>C.jejuni</i> ATCC BAA-1153	<i>C.coli</i> ATCC43478
<i>C.jejuni</i> ATCC29428	<i>C.jejuni</i> ATCC33560
<i>C.jejuni</i> ATCC49943	

#### 10. 交差性

以下の10種の微生物について、全て陰性反応を示し、交差反応は認められなかった。

<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Salmonella thphimurium</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Streptococcus suis</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Krebshella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

#### 11. 使用上又は取り扱い上の注意事項

- (1) サンプル採取・取扱いについては必要なバイオハザード対策をとってください。
- (2) 感染性のおそれがあるサンプルの取り扱いおよび廃棄については、適切な保護具（手袋、保護メガネ、マスクなど）を着用し、使用する国や地域の規制に従ってください。感染症を伝播する危険があります。
- (3) 本製品は、カンピロバクター属菌検出を目的とした検査のみご使用ください。ヒト、動物由来の検体を用いた医療、診断の目的には使用できません。
- (4) 遺伝子検査の知識や経験をもたない場合、検査結果の判定を誤る危険性がありますので、本製品の使用に当たっては遺伝子検査の知識、経験を有した技術者の指導の下で検査を実施してください。
- (5) 本製品は従来のカンピロバクター属菌検査法の培養法とは異なり遺伝子検出法ですので、カンピロバクター属菌の生菌のみを検出するものではありません。したがって、本製品による判定結果が培養法と異なる場合があります。
- (6) 本製品の性能に由来しない事由（操作方法を誤った場合等）による誤った判定、またその判定に由来して発生した事項に対して、当社は一切の責任を負いません。
- (7) 外袋に表示されている使用期限内に使用してください。
- (8) 本製品及び測定チップを廃棄する際は、適切な保護具（手袋、保護メガネ、マスクなど）を着用し、医療廃棄物等に関する規定及び水質汚濁防止法等の各種規制に従い、各施設の責任において処理してください。  
(測定チップ MCP1100/MCP2000 主要材料：COP)

#### 12. 参考文献

- 1) Holland P M. et al.: Proc Natl Acad Sci USA. 88, 7276-7280 (1991)
- 2) ISO 10272-1:2017(Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. -)
- 3) カンピロバクター試験法（定性法）NIHSJ-02：2019

#### 13. お問い合わせ先

日本板硝子株式会社  
神奈川県相模原市緑区西橋本5-8-1  
ビジネス・イノベーション・センター  
☎042-775-1532

**日本板硝子株式会社**