

** 2025 年 12 月改訂

* 2023 年 4 月改訂

ライヒマニ用 *アキュディア™ ビタミン B₁₂ 定量用基礎培地

** —— 基本組成 (1 L 分) U. S. P. の組成に準拠 ——

カザミノ酸	15 g	塩酸ピリドキサル	4 mg
L-シスチン	400 mg	塩酸ピリドキサミン	800 μg
DL-トリプトファン	400 mg	葉酸	200 μg
硫酸アデニン	20 mg	リン酸二水素カリウム	1 g
塩酸グアニン	20 mg	リン酸一水素カリウム	1 g
ウラシル	20 mg	硫酸マグネシウム	400 mg
キサンチン	20 mg	塩化ナトリウム	20 mg
塩酸チアミン	1 mg	硫酸第一鉄	20 mg
リボフラビン	1 mg	硫酸マンガン	20 mg
ビオチン	10 μg	L-アスパラギン	200 mg
ニコチン酸	2 mg	ブドウ糖	40 g
パラアミノ安息香酸	2 mg	酢酸ナトリウム (無水)	20 g
パントテン酸カルシウム	1 mg	アスコルビン酸	4 g
塩酸ピリドキシン	4 mg		

pH 6.2 ± 0.1

* —— 使用菌株ならびに保存法 ——

Lactobacillus leichmannii ATCC 7830

滅菌したアキュディア™ ライヒマニ保存用培地を試験管に高層に凝固させ、菌体を白金線でせん刺し、37 °C で 18 ~ 24 時間培養します。培養後は冷所に保管し、1 週間に 2 回以上植継ぎします。

* —— 接種菌液の調製法 ——

試験管に約 5 mL ずつ分注、滅菌したアキュディア™ ライヒマニ接種用培地 (pH 6.9 ± 0.1) に試験前日移植、37 °C で 16 ~ 20 時間培養後、菌体を遠心分離、培養時濃度の滅菌定量用基礎培地 5 mL で菌体洗浄操作を 3 回行い、最後に透過度 50 %前後の菌体浮遊液を作製、接種菌液とします。

—— 標準液の調製法ならびに Response する範囲 ——

25 %エタノールで 1 μg/mL 濃度のビタミン B₁₂ 溶液を作製、標準原液とします。

冷所に保存、有効期間 2 ヶ月間。

0.01 ~ 0.2 ng/tube (5 mL) (通常 0.01 ~ 0.1 ng)

** —— 10 %ポリソルベート 80 溶液 (10 mL の場合) の調製法 ——

三角フラスコなどの容器にポリソルベート 80 (市販品) 1 g を秤量し、9 mL の精製水を加えて、スターラー等でよく攪拌して均一にしてから使用します。

※ポリソルベート 80 を冷蔵保存している場合は、使用前に室温に戻してください。

** —— 基礎培地の調製法ならびに試料添加法 ——

本品 8.3 g をビーカーに秤量し、精製水 80 ~ 90 mL を加えて 2 ~ 3 分間煮沸溶解します。冷却後 pH 6.2 ± 0.1 に補正し、必要ならばろ過し、ろ液にあらかじめ 10 %に調製したポリソルベート 80 溶液 2.0 mL を加えてからメスシリンダーに移し精製水で全量を 100 mL とします。この溶液を培養液量の 1/2 量 (たとえば 5 mL 培養のときは 2.5 mL) ずつ培養試験管に分注、Response 範囲内の数段階濃度のビタミン B₁₂ 標準液ならびに被検液を添加後、精製水を加えて 2 倍量 (5 mL) とし、121 °C で 5 分間高圧蒸気滅菌します (下表参照)。

	不含・ 菌無接種	不含・菌接種 (ブランク)	1	2	3	4	5	6
ビタミンB ₁₂ 含量 (ng)	0	0	0.01	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1
基礎培地分注量 (mL)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
標準液分注量 (mL)	0	0	0.25	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5
精製水分注量 (mL)	2.5	2.5	2.25	2.0	1.5	1.0	0.5	0

—— 接種ならびに培養 ——

試料添加の各試験管ならびに無添加の試験管1本に接種菌液を1滴ずつ加え、37℃で16～24時間培養します。酸滴定の場合は72時間培養します。

** —— 測定法 ——

比濁法 - 光電比色計 (540～660 nm) を用い、ビタミンB₁₂ 不含・菌無接種培地の透過度を100%に合わせ、ビタミンB₁₂ 不含・菌接種培地のブランク (盲検) 値を読み、次にこれを透過度100%になるように合わせて各段階濃度液の透過度を測定して検量曲線を求めます。同時に操作した3～5段階濃度の被検体透過度から内挿法でビタミンB₁₂ 含量を決定します。

酸滴定法 - BTB 試液 2～4滴 (2 mL 培養のとき) を加え 0.05 mol/L NaOH で滴定します。

注意

※培養温度は一定 (± 0.5℃以内) でないと正しい定量値が得られません。

※菌株の Response が悪くなった場合やハイブランクの場合には数日間接種培地または保存培地に毎日植継ぎします。

—— 使用上又は取扱い上の注意事項 ——

1. 一般的な注意事項

** 1) この取扱説明書をよく読み、記載されている操作法に従って使用してください。

2) 使用期限を過ぎた製品は品質を保証できないので使用しないでください。

3) 使用前に異物混入等の異常が認められたものは使用せずに製造元まで連絡してください。

4) 開封後はなるべく早く使用してください。保存する場合は密栓して汚染、吸湿等に注意してください。

2. 危険防止上の注意事項

1) 試薬などが目や口に入った場合には、水で十分に洗い流し、医師等に相談し、指示を受けてください。

2) 微生物の取扱いは常に感染の危険性があるので、取扱いにあたっては熟練した人の指導のもとに、バイオハザード対策を実施したうえで使用してください。

3) 検体に接触した器具、試薬および試薬容器などは感染の危険があるものとして取扱ってください。

3. 廃棄上の注意事項

使用後の培地・試薬・器具等は、オートクレーブ等で滅菌したのち、廃棄物に関する規定に従って医療廃棄物または産業廃棄物などに区分して処理してください。

—— 貯法・使用期限 ——

〔貯 法〕 冷暗所 (2～10℃) で密栓保存。

〔使用期限〕 製造後3年間。

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 ——

ライヒマニ用 アクキュディア™ ビタミンB₁₂ 定量用基礎培地 50 g …… Code 05819

** —— お問い合わせ先 ——

〒110-0005 東京都台東区上野3-24-6

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

電話：03(5846)5707

* 製造販売元

島津ダイアグノスティクス 株式会社

東京都台東区上野3-24-6 〒110-0005 TEL 03(5846)5611 (代)