

取扱説明書

リビール™ イムノクロマトキット *E. coli* O157:H7

使用目的

リビール™ イムノクロマトキット *E. coli* O157:H7 は、食品ならびに環境中の *Escherichia coli* O157:H7 を迅速に検出することができます。最短 8 時間で、対象菌の検出および推定同定が可能です。

AOAC Official MethodsSM (2000.13) 評価試験では、本キットのコンプリートシステム (8 時間用) が以下のマトリックスにおいて、*E. coli* O157:H7 の検出に有効な方法であることが確認されています。さらに AOAC Official MethodsSM (2000.14) 評価試験では、本キットのコンプリートシステム (20 時間用) が以下のマトリックスにおいて、*E. coli* O157:H7 の検出に有効な方法であることが確認されています。

8 時間用	生挽き牛肉、生牛肉角切り、アイスバーグレタス洗浄液
20 時間用	生挽き牛肉、生牛肉角切り、アイスバーグレタス洗浄液、アップルサイダー、ステンレス鋼表面の環境スワブサンプル

検出原理

本キットでは専用培地を使用し、*E. coli* O157:H7 の増殖に必要な栄養素や因子を速やかに供給することで、8~20 時間以内に結果を得ることが可能です。その後、増菌培養後の試料液をスポイトを用いてテストストリップ上のサンプルポートに 5 滴 (または 120 µL) 滴下し、室温で 15 分間反応させます。

試料液は、コロイド金粒子と結合した抗 *E. coli* O157:H7 特異抗体を含む試薬ゾーンを毛細管現象により通過し、試料液中に抗原が存在する場合、金標識抗体と結合します。形成された抗原-抗体複合体は試薬ゾーンを離れ、抗 *E. coli* O157:H7 抗体が固定化されたニトロセルロース膜上の捕捉ゾーンへ移動します。ここで金標識を伴う免疫複合体が捕捉・集積され、可視的なラインとして表示されます。また、残りの試料液は膜の末端へ移動し、廃液リザーバーに吸収されます。

また、試薬ゾーンには独自抗原に結合した金標識コンジュゲートも含まれています。これは *E. coli* O157:H7 抗原の有無に関わらず、試料液によって溶出されます。この金標識コントロールインジケータは膜内を移動し、コントロールゾーン (独自抗原に対する抗体) に到達すると捕捉・集積され、可視的なラインを形成します。コントロールゾーンには、*E. coli* O157:H7 抗原の有無に関係なく必ずラインが形成されるため、検査が正常に機能していることが確認できます。

対象使用者

本キットは、*E. coli* O157:H7 の分離および同定に関する適切な無菌操作技術に習熟した担当者による使用を想定して設計されています。

製品情報

カタログ製品番号：9750

リビール™ イムノクロマトキット *E. coli*O157:H7 コンプリートシステム (8 時間用)

#		入り数/箱
1	リビール™ イムノクロマトキット <i>E. coli</i> O157:H7 テストストリップ	20 枚
2	使い捨てスポイト	20 本
3	8 時間培地	20 袋
4	使い捨てストマッカー用バッグ	20 袋
5	計量カップ	1 個

カタログ製品番号：9751

リビール™ イムノクロマトキット *E. coli*O157:H7 コンプリートシステム (20 時間用)

#		入り数/箱
1	リビール™ イムノクロマトキット <i>E. coli</i> O157:H7 テストストリップ	20 枚
2	使い捨てスポイト	20 本
3	20 時間培地	20 袋
4	使い捨てストマッカー用バッグ	20 袋
5	計量カップ	1 個

カタログ製品番号：9755

リビール™ イムノクロマトキット *E. coli*O157:H7 テストストリップ

#		入り数/箱
1	リビール™ イムノクロマトキット <i>E. coli</i> O157:H7 テストストリップ	20 枚
2	使い捨てピペット	20 本

その他必要な器具と資材の例

共通

- 最低 25 g の計量が可能な秤
- タイマー
- 滅菌精製水

8 時間用

- ポリプロピレン製またはガラス製試験管 (13×100 mm)
- インキュベーター (42±1°C)
- 使い捨てスポイト (5 mL 用)
- ウォーターバスまたは同等品

20 時間用

- インキュベーター (36±1°C)

保管条件

テストストリップは 2～30℃、粉末培地は室温（15～30℃）で保存してください。

異なる品目への適用

妥当性確認されている対象品目の最新リスト、または特定品目に関するバリデーション試験については、Neogen 担当者までお問い合わせください。

注意事項

1. 使用期限切れの培地やテストストリップは使用しないでください。
2. 水和した培地は、調製後 6 時間以内に使用してください。
3. 指定されていない培養時間や培養温度を使用すると、誤った結果が得られる可能性があります。
4. サンプルバッグは、培養中に空気交換ができるよう完全に密閉せず緩めに閉じてください。これは、十分かつ検出可能な菌の増殖に不可欠です。
5. 8 時間培地を使用する場合は、あらかじめ滅菌精製水を 42±1℃に温めて使用してください。
6. 8 時間培地を使用する場合は培養後 4 時間以内に、20 時間培地を使用する場合は培養後 8 時間以内に試験を行ってください。
7. 適切な微生物学的実験室作業手順（GLP）を遵守してください。

培地・試料液調製および増菌培養

増菌法 1（8 時間用）

1. 8 時間培地（アルミパウチ 1 袋、滅菌不要）をストマッカー用バッグに入れ、あらかじめ 42℃に温めた滅菌精製水 225 mL を加えます。
2. バッグ上部から 5～7 cm の位置をしっかりと持ち、完全に溶解するまで激しく混和します。
3. 使用するまでストマッカー用バッグをラック等に置きます。調製した培地は 42℃で保持可能ですが、最良の結果を得るために必ず 6 時間以内に、できるだけ早く使用するようになしてください。
4. マトリックス 25 g（室温）を 8 時間培地入りバッグに加えます。
5. バッグ上部をしっかりと持ちもみ込みながら混和し、さらに左右に振って完全に混合します。あるいは、ストマッカーで 2 分間ホモジナイズします。
6. バッグを軽く閉じ、ラック等に置き、42±1℃で 8 時間培養します。

増菌法 2（20 時間用）

1. 20 時間培地*（アルミパウチ 1 袋、滅菌不要）をストマッカー用バッグに入れ、あらかじめ 36℃に温めた滅菌精製水 225 mL を加えます。バッグ上部から 5～7 cm の位置をしっかりと持ち、完全に溶解するまで激しく混和します。
2. 使用するまでストマッカー用バッグをラック等に置きます。調製した培地は 36℃で保持可能ですが、最良の結果を得るためにできるだけ早く使用し、必ず 6 時間以内には使用するようになしてください。
3. マトリックス 25 g（室温）を 20 時間用培地入りバッグに加えます。
4. バッグ上部をしっかりと持ち、もみ込みながら混和し、さらに左右に振って完全に混合します。あるいは、ストマッカーで 30 秒間ホモジナイズします。

5. バッグを軽く閉じ、ラック等に置き、 $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ で20時間培養します。

*20時間用培地は、USDA/FSISで使用されている以下3種類の培地いずれかに代替することも可能です。^{4,5,6,7}

- ノボビオシン加トリプチケースソイブロス
- ノボビオシンおよびカゼイン酸消化物添加トリプチケースソイブロス
- ノボビオシン加 EC 培地

注意：生挽き牛肉、牛肉角切り、アイスバーグレタス洗浄液、アップルサイダー、環境スワブ以外のマトリックスを用いる場合は、増菌法2（20時間）の手順に従ってください。また、夾雑菌が多いマトリックスの場合は、培養温度を $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ から $42\pm 1^{\circ}\text{C}$ に上げてください。

加熱処理（8時間用のみ）

1. インキュベーターから培養液を取り出し、よく混合した後、ポリプロピレン製またはガラス製試験管に約5 mL 移します。
2. ポリプロピレン製の場合は沸騰水中で20分間、ガラス製の場合は沸騰水中で10分間加熱します。なお、代替法として試験管のキャップをしっかり閉め、電子レンジに入れて沸騰させ、すぐに停止させることもできます。
3. 試験管を室温（ $15\sim 30^{\circ}\text{C}$ ）まで冷却します。なお、冷却を早める場合は、試験管に水が入らないように注意しながら流水で冷却してください。

反応

増菌法1（8時間用）

1. 必要な数のテストストリップを取り出します。冷蔵保管していた場合は室温に戻してください。
2. 以下の注意事項を参照のうえ、付属の使い捨てスポイトを用いて加熱処理をした培養液を吸い上げます。
 - 試料液をボルテックス、攪拌、振とうなどで混ぜないでください
 - 試料底部の沈殿物を攪拌しないようにしてください
 - 沈殿物ではなく液体部分のみを接種してください
3. スポイトをテストストリップのサンプルポート上で垂直に保持し、自然落下で5滴滴下します。ピペッターを使用する場合は、 $120\ \mu\text{L}$ を滴下してください。
4. 15分後、直ちに（60秒以内に）試験結果を観察・記録します。

増菌法2（20時間用）

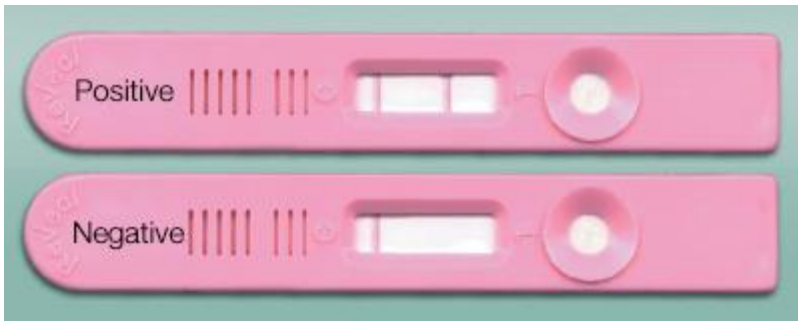
1. 必要な数のテストストリップを容器から取り出します。
2. 培養液をインキュベーターから取り出し、十分に混和します。
3. スポイトをテストストリップのサンプルポート上で垂直に保持し、自然落下で5滴滴下します。ピペッターを使用する場合は、 $120\ \mu\text{L}$ を滴下してください。
4. 15分後、直ちに（60秒以内に）試験結果を観察・記録します。

注意：試料を規定量滴下した後、テストストリップ内で流れが確認できない場合は、さらに1滴追加してください。粒子状物質が存在すると、試験のクロマトグラフィー流動を開始するために必要な液量の一部が置換されることがあります。



結果判定

1. 15分以内にコントロールラインとテストラインの両方が出現した場合：陽性
2. 15分以内にコントロールラインのみが出現した場合：陰性
3. コントロールラインが出現しない場合：無効 →新たなテストストリップを用いて再検査すること



確認試験

推定陽性となった場合は、FDA-BAM または FSIS に記載された培地を用いて、培養による確認試験を行うことを推奨しています。^{4,5,6,7}

注意：再試験を実施した場合、同じ結果が得られない場合があります。これは、菌が試料全体に均一に分布しているとは限らず、再試験において対象菌が含まれない可能性があるためです。

廃棄

テストストリップ、スポイトおよびサンプルカップ、各増菌培地等は、適用されるすべての地域の規制に従い、オートクレーブ処理、漂白剤処理等を行った上で廃棄してください。

安全性

関連する製品安全データシート（SDS）を参照してください。

利用規約

ご利用規約全文は以下のリンクからご覧いただけます。<https://www.neogen.com/terms-and-conditions>

保証

NEOGEN Corporation は、製品の原材料が標準的な品質であることを除き、明示または黙示を問わずいかなる保証も行いません。材料に欠陥がある場合、NEOGEN は製品を交換いたします。購入者は、本製品の使用に関するすべてのリスクと責任を負うものとします。本製品の商品性、またはいかなる目的に対する製品の適合性も保証しません。NEOGEN は、本製品の使用により直接的または間接的に生じる特別損害もしくは結果的損害、または費用を含むいかなる損害についても責任を負わないものとします。

参考文献

1]Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8th Edition (1998), published and distributed by AOAC International, 481 N. Frederick Ave., Suite 500, Gaithersburg, MD 20877-2504 USA.

- [2]Edwards, P.R., and Ewing, W.H., Identification of Enterobacteriaceae, 3rd Ed., Burgess Publishing Co., Minneapolis, MN (1972).
- [3]Gray, L.D., Manual of Clinical Microbiology, 6th Ed., Edited by Murray, P.R., Baron, J.B., Tenover, F.C., and Tenover, F.C., and Tenover, F.C., and Tenover, F.C., American Society of Microbiology, Washington, D.C. pages 450-456 (1995).
- [4]Sharar, A. and Rose, B.; Revision 4 of Laboratory Communication #38 Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat; FSIS publication (1994).
- [5]Cray Jr., W., et al.; Revision #1; 9-6-99 of Laboratory Communication, Chapter 5: Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat; FSIS publication (1999).
- [6]USDA/FSIS Microbiology Laboratory Guidebook, 3rd Ed., Rev. 3 (10/25/02)
- [7]FSIS Constituent Update, Protecting Public Health Through Food Safety and Food Defense, Volume 9, Issue 3 (01/25/08).

NEOGEN は、Neogen 社の商標です
ネオジェンジャパン株式会社
<https://www.neogen.jp/>

NEO-444-A (202602)/90104M_9755_Reveal-E-coli_Kit-Insert_en-US

