

# 取扱説明書

## リビール™ 2.0 イムノクロマトキットリステリア属菌

### 使用目的

リビール™ 2.0 イムノクロマトキットリステリア属菌は、食品ならびに環境中のリステリア属菌を迅速に検出することができます。27～30 時間以内に、対象菌の検出および推定同定が可能です。

AOAC Research Institute の Performance Tested Method<sup>SM</sup> (PTM) 評価試験では、本キットが以下のマトリックスにおいて *Listeria spp.* の検出に有効な方法であることが確認されています。また、包含性試験の結果、本キットは *Listeria grayi* を除くすべての *Listeria spp.* を検出することが示されています。

加熱処理カニ肉、スモークサーモン、パルメザンチーズ、殺菌液卵、アイスクリーム、2%ミルク、デリターキー、ホットドッグ、冷凍調理ハンバーガー、ペパロニ、セラミックタイル、プラスチック、ステンレス鋼、シーリングコンクリート表面からのスポンジまたはスワブサンプル

### 検出原理

本キットでは *Listeria* Enrichment Single-Step (LESS) 培地を使用し、食品および環境マトリックス中に存在するリステリア属菌を選択的に増菌します。その後、増菌培養後の試料液を加熱処理し、室温に戻した培養液をサンプルカップに 200  $\mu$ L 分注します。テストストリップを挿入し、室温で 20 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リステリア属菌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、抗リステリア属菌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。

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。これはリステリア属菌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ーは膜内を移動し、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、リステリア属菌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、リステリア属菌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：9807

リビール™ 2.0 イムノクロマトキットリステリア属菌 コンプリートシステム（食品用）

#		入り数/箱
1	リビール™ 2.0 イムノクロマトキット リステリア属菌テストストリップ	20 枚
2	使い捨てスポイト	20 本
3	使い捨てサンプルカップ	20 本
4	食品用 LESS 培地	20 袋
5	使い捨てストマッカー用バック	20 袋
6	計量カップ	1 個

カタログ製品番号：9806

リビール™ 2.0 イムノクロマトキットリステリア属菌 コンプリートシステム（環境用）

#		入り数/箱
1	リビール™ 2.0 イムノクロマトキット リステリア属菌テストストリップ	20 枚
2	使い捨てスポイト	20 本
3	使い捨てサンプルカップ	20 本
4	環境用 LESS 培地	20 袋
5	環境サンプリングセット（ふき取りスポンジ）	20 セット
6	使い捨てストマッカー用バッグ	20 袋
7	計量カップ	1 個

カタログ製品番号：9707

リビール™ 2.0 イムノクロマトキットリステリア属菌 テストストリップ

#		入り数/箱
1	リビール™ 2.0 イムノクロマトキット リステリア属菌テストストリップ	20 枚
2	使い捨てスポイト	20 本
3	使い捨てサンプルカップ	20 本

## その他必要な器具と資材の例

- 最低 25 g の計量が可能な秤
- タイマー
- サンプルカップラック
- 滅菌精製水
- インキュベーター（30±1℃）
- ウォーターバスまたはヒーターブロック（80℃）
- ガラス試験管

## 保管条件

テストストリップは室温（15～30℃）、環境サンプリングセットおよび粉末培地は 30℃未満で保管してください。

## 注意事項

1. LESS 培地をオートクレーブ処理しないでください。
2. 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。
3. 水和した培地は、当日中に使用してください。
4. 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。
5. 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。
6. 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（食品用）

1. LESS 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、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. マトリックス 25 g を LESS 培地入りバッグに加え、ストマッカーで 30 秒間ホモジナイズします。
4. 30±1℃で 27～30 時間培養します。

### 増菌法 2（環境スポンジ用）

1. ふき取りスポンジの吸水後体積を基準として、培地：スポンジが約 10：1 となる量の LESS 培地を調製します。なお、一般的なサンプリングスポンジ（約 80×40×4 mm）では、培地 100 mL が推奨されます。
2. LESS 培地（アルミパウチ、滅菌不要）をストマッカー用バッグに入れ、滅菌精製水 100 mL を加えます。
3. 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。
4. ふき取り後のスポンジを LESS 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 30 秒間ホモジナイズします。
6. 30±1℃で 27～30 時間培養します。

### 増菌法 3（環境スワブ用）

1. LESS 培地（アルミパウチ、滅菌不要）をストマッカー用バッグに入れ、滅菌精製水 100 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. 調製した LESS 培地を、滅菌試験管に 10 mL ずつ分注します。
4. ふき取り後のスワブを LESS 培地入り試験管内に折り入れ、キャップをしっかりと締め、上下に数回反転させて混合します。なお、代替法としてボルテックスミキサーを用いて混合することもできます。
5. 30±1℃で 27～30 時間培養します。

## 加熱処理

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、ガラス試験管に約 2 mL 移します。

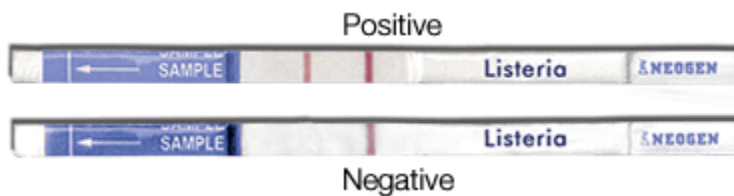
2. ガラス試験管を 80°Cのウォーターバスまたはヒートブロックに入れ、20 分間加熱します。
3. 試験管を室温（15～30°C）まで冷却します。

## 反応

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. ピペッターまたは付属の使い捨てスポイトを用いて、加熱処理した試料液 200 μL（または 8 滴）をサンプルカップに分注します。
3. テストストリップの矢印が下向きになるようカップに挿入し、室温で 20 分間反応させます。
4. 20 分後、直ちに（60 秒以内に）試験結果を観察・記録します。

## 結果判定

1. 20 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. 20 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



注意：コントロールゾーンにラインが表示されない一方で、テストラインが強く出た場合は、加熱処理した試料を新しい LESS 培地で 1:100 に希釈し、再度試験を実施してください。

## 確認試験

推定陽性となった場合は、FDA-BAM<sup>1</sup> または USDA-MLG<sup>2</sup> 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。

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、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、

## 参考文献

[1] <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam>

[2] <https://www.fsis.usda.gov/news-events/publications/microbiology-laboratory-guidebook>

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-443-A (202602)/Reveal\_2.0\_List\_ES\_0519

