

【食品検査用試薬】

NH イムノクロマト O103 《取扱説明書》

※本キットをご使用になる前に必ずお読みください。

【開発の経緯】

腸管出血性大腸菌は、大規模食中毒事例や死亡例が報告されており、食品衛生上最も重要視されている食中毒原因菌の1つとして知られています。近年、腸管出血性大腸菌の中でも O157 以外の O 抗原を持つ大腸菌による感染症例数が増加傾向にあり、O26、O111、O103 などが注目されています。大腸菌 O103 による集団感染事例は 2000 年に米国¹⁾、2006 年に日本とノルウェー²⁾で報告されています。また、「腸管出血性大腸菌 O103 の検査法について」(食安輸発 1218 第 4 号)(以下、公定検査法)が発出される等、食品中の大腸菌 O103 の検査の重要性はますます高まっています。

本品は、イムノクロマト法を用いた食品中の大腸菌 O103 検出キットで、簡単な操作で短時間に結果を得ることができます。

【本品の特徴】

- 1) 1ステップの簡単な操作のため、習熟を必要としません。
- 2) 迅速に結果が得られます。
- 3) 特別な検出装置を必要としません。

【キットの内容】

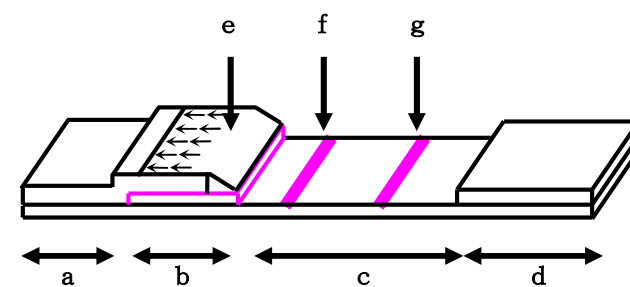
- | | |
|--------------------------|-------------------------------------------------|
| 1) 構成品 | 2) 成分 |
| A: テストストリップ…………… 2テスト×10 | ① 試薬含有部
金コロイド標識抗大腸菌 O103 抗体(ウサギ) |
| B: 取扱説明書…………… 1部 | ② 展開部
抗大腸菌 O103 抗体(ウサギ)
抗ウサギ免疫グロブリン抗体(ヤギ) |
| C: ビニールパウチ袋…………… 1枚 | |

【目的】

- 1) 食品に含まれる大腸菌 O103 の検出。
注1: 本キットは大腸菌 O103 検出用の試薬のため、ペロ毒素産生の有無は確認できません。

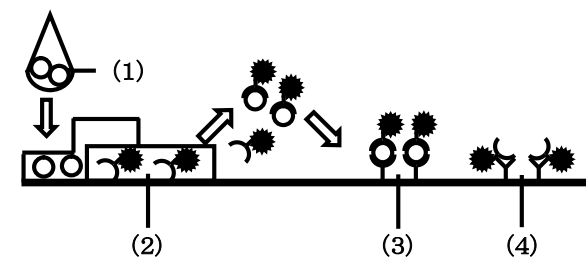
【テストストリップ各部名称および検出原理】

1) テストストリップ各部名称



- 試料滴下部 (手で触れないよう注意してください。)
- 試薬含有部
- 展開部
(手で触れたり、キズをつけないよう注意してください。)
- 吸収パッド
- 測定項目記載位置
- テストライン出現位置 (試料滴下部末端より約 30mm)
- コントロールライン出現位置 (試料滴下部末端より約 38mm)

2) 検出原理



テストストリップの試料滴下部に試料溶液を滴下すると、試薬含有部に含まれる金コロイド標識抗大腸菌 O103 抗体(2)が溶解し、試料溶液中の大腸菌 O103(1)と複合体を形成します。これらの複合体は展開部を毛細管現象により移動し、テストライン出現位置に固定化された抗大腸菌 O103 抗体(3)に捕捉され、金コロイドによる赤紫色のラインが出現します。本キットはこの赤紫色のラインを目視により確認し、試料溶液中の大腸菌 O103 の有無を判定します。

一方、試料溶液中の大腸菌 O103 の有無に関わらず、余剰の金コロイド標識抗体が展開部をさらに移動し、コントロールライン出現位置に固定化された抗ウサギ免疫グロブリン抗体(4)に捕捉され、赤紫色のラインを形成します。このラインの有無により、試料溶液が展開部を正常に移動したことを確認します。

【使用上または取り扱い上の注意事項】

1) 使用上の注意事項

- ① 本キットをご使用になる際には、取扱説明書をよく読み、記載された試験方法に従って使用してください。
- ② 使用期限の過ぎたキットは使用しないでください。使用期限はキット外装ラベルおよびテストストリップアルミ包装に記載されています。
- ③ 本キットは食品中から大腸菌 O103 を検出するための試薬であり、臨床的診断を下す目的で使用することはできません。
- ④ 試料中の成分の影響により、偽陽性が示される可能性があります。本キットで陽性を示した試料については、公定検査法等他の方法により、必ず確認を行ってください。
- ⑤ 試料溶液の調製に使用する器具ならびに試薬類(培地を含む)の使用方法等については、それぞれの製造元もしくは販売元にご確認ください。
- ⑥ 本取扱説明書は検査担当者のガイドラインとして作成されています。各操作手順や各々の食品におけるアプリケーションの妥当性については自ら検証してください。
- ⑦ 商品の仕様については、予告なく変更になる場合があります。

2) 危険防止上の注意事項

- ① 本キットの検出対象である大腸菌 O103 は微量でも感染する可能性があります。大腸菌 O103 や、それ以外の微生物による感染を防止するために、試験を実施する際には保護手袋、保護メガネ等を着用するなど十分留意してください。
- ② 試験を実施する際には、適切な設備・施設で行い、責任ある管理者の指導のもとで標準的な微生物検査手順にて実施してください。
- ③ 誤って試料溶液等が目や口に入った場合には、直ちに水道水で洗い流す等の応急処置を行い、医師の手当てを受けてください。
- ④ 本キットによる試験実施後、身体に異常を感じた場合には、直ちに医師の手当てを受けてください。

3) 廃棄上の注意事項

- ① 試験に使用したテストストリップや増菌培地、試料および試料溶液の残り等は、感染の可能性があると考え、必ずオートクレーブ処理(121℃、20分)、もしくは0.1%次亜塩素酸ナトリウム溶液に1時間以上浸すなどの適切な滅菌処理を施してください。
- ② 本キットならびに試料および試料溶液の残りなどを廃棄する場合には、当該地域の廃棄物に関する規定に従い、衛生面、環境面に十分配慮し廃棄してください。

【貯法・使用期限】

- 1) 貯法: 冷蔵(2~8℃)、遮光にて保存してください。また、凍結は避けてください。
- 2) 使用期限: 製造日より12ヶ月。

【包装単位】

NH イムノクロマト O103 20テスト入

【参考文献】

- 1) John T. Brooks, et al. Non-O157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Infections in the United States, 1983-2002. The Journal of Infectious Diseases, Vol.192, No. 8, 1422-1429 (2005).
- 2) Barbara Schimmer, et al. Outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Norway caused by stx2-positive *Escherichia coli* O103:H25 traced to cured mutton sausages. BMC Infectious Diseases, Vol.8, 41 (2008).
- 3) 厚生労働省「腸管出血性大腸菌 O103 の検査法について」(平成 24 年 12 月 18 日食安輸発 1218 第 4 号)。

【販売元および問い合わせ先】

キット外装ラベルに記載

【製造元】

〒300-2646 茨城県つくば市緑ヶ原 3-3
 日本ハム株式会社 中央研究所
 電話:029(847)7825/FAX:029(848)1256
 URL: <http://www.rdc.nipponham.co.jp>

【試料溶液の調製】

※ 試料溶液の調製方法は、公定検査法³⁾を元に記載しています。

1) 必要な機器・器材

ストマッカー袋(フィルター付を推奨)、ストマッカー、インキュベーター、オートクレーブ、増菌用培地、ほか

2) 試料の調製

- ① 被検食品から 200g 以上を採取してください。なお、表面汚染が考えられる場合には、表面部 300～500cm² を厚さ 0.2～0.3cm に薄く削り取ってください。
- ② 採取した検体の全体を細切にし混和した後、その 25g をストマッカー袋に秤量して試料としてください。

3) 増菌培養

- ① ストマッカー袋中の試料 25g に対して、mEC 培地(あるいはノボピオシン加 mEC 培地) 225mL を加え、1 分間ストマッカー処理を行ってください。
- ② ストマッカー袋ごと、35±1℃ で 18～22 時間培養してください。

4) 試料溶液の調製

- ① 培養終了後、ストマッカー袋をインキュベーターより取り出し、培養液の飛散に注意しながら、緩やかに攪拌してください。
- ② 滅菌済みピペットを用いて、培養液 5mL をガラス試験管に分注し、オートクレーブ滅菌(121℃、20 分)してください。
- ③ オートクレーブ滅菌終了後、室温まで十分冷却し、試料溶液としてください。

注 1: 本キットは生菌でも検出可能ですが、試験者の安全確保のため、滅菌済み培養液にて試験を行うことを推奨します。

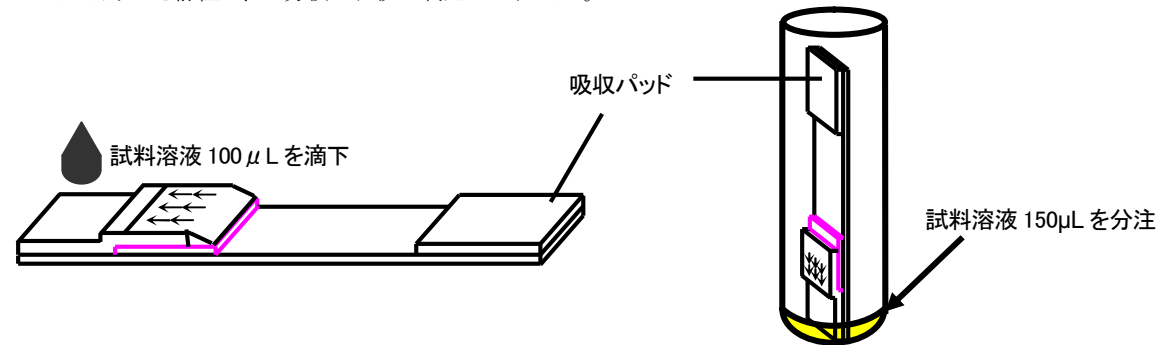
注 2: 培養液の残りは、本キット試験実施後の確定試験に使用できる可能性があるため、試験終了まで滅菌せず保存してください。

注 3: チーズ等の油分を多く含む試料溶液を試験に使用する場合は、展開不良を防止するため試料溶液を培地等で希釈してから試験を行うことを推奨します。

【試験操作】

1) NH イムノクロマト O103 試験操作

- ① テストストリップをアルミ包装のまま室温に戻し、使用直前にアルミ包装から取り出してください。
- ② 取り出したテストストリップの吸収パッドに油性ペン等を用いて、試料名もしくは検体番号等を記入してください。
- ③ テストストリップを水平な台の上に静置し、試料滴下部に試料溶液 100μL を滴下してください(下記左図)。もしくは、試料溶液 150μL を試験管に分注し、テストストリップの試料滴下部が試料溶液に浸かるようにテストストリップを試験管に添加してください(下記右図)。
- ④ テストストリップを静置し、15 分後に目視で判定してください。



注 1: テストストリップは吸湿の影響により、正しい結果が得られないことがあるため、室温に戻してからアルミ包装から取り出してください。

また、使用しないテストストリップは乾燥剤とともに添付のビニールパウチ袋に入れ冷蔵保存してください。

注 2: テストストリップの試料滴下部および展開部には、直接手などで触れたり、キズをつけないよう注意してください。テストストリップを持つ場合には、吸収パッドを持つようにしてください。

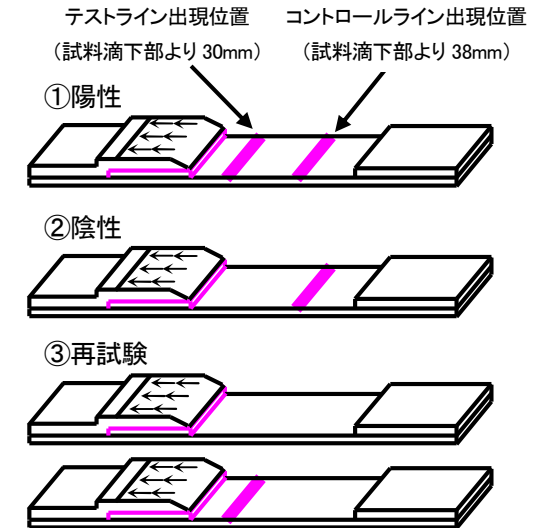
注 3: 試料溶液を滴下もしくは分注するために使用するピペットもしくはチップは必ず滅菌済みのものを使用し、試料溶液ごとに交換してください。

注 4: 試料溶液 100μL を滴下する際には、テストストリップから溢れないよう注意し、必要に応じ、2 回に分けて滴下するなどしてください。

注 5: 作業者の感染防止のため、試料溶液を滴下して試験を行う際には、テストストリップの下にラップなどを敷いて試験を行うことをお勧めします。

3) 結果の判定

- ① 試験開始 15 分後にテストライン出現位置およびコントロールライン出現位置に赤紫色のラインが観察される場合には、陽性と判定してください。
- ② テストライン出現位置に赤紫色のラインが認められず、コントロールライン出現位置にのみ赤紫色のラインが観察される場合には、陰性と判定してください。
- ③ コントロールライン出現位置に赤紫色のラインが認められない場合には、テストライン出現位置における赤紫色のラインの有無に関わらず、再試験としてください。試料溶液の展開に異常があった可能性があります。



注 1: 本キットで陽性と判定された試料については、公定検査法など他の方法にて必ず確認試験を実施してください。なお、本キットの試験に用いた増菌培養済み試料を公定検査法などの確認試験に使用することが可能です。

【性能】

1) 感度試験

本取扱説明書に記載された「試料溶液の調製」および「試験操作」に従い試験を行うとき、大腸菌 O103 の菌濃度が 1×10^5 CFU/mL 以上のとき陽性を示します。

注 1: 本キットの検出感度は、菌株の違いや試料中の成分の影響により、変動する場合があります。

2) 再現性試験

大腸菌 O103 陽性の試料溶液、および陰性の試料溶液を各 3 回同時に試験するとき、陽性の試料溶液はすべて陽性、陰性の試料溶液はすべて陰性を示します。

3) 交差反応性

- ① 以下の菌株との交差反応性は認められませんでした。

菌種	標準株 ID	判定結果
<i>Escherichia coli</i> 0157	ATCC700728	-
<i>Escherichia coli</i> 0145	RIMD05091870	-
<i>Escherichia coli</i> 0121	RIMD05091859	-
<i>Escherichia coli</i> 0111	RIMD0509829	-
<i>Escherichia coli</i> 091	RIMD05091855	-
<i>Escherichia coli</i> 045	RIMD05091858	-
<i>Escherichia coli</i> 026	RIMD05091876	-
<i>Escherichia coli</i> 025	RIMD0509301	-
<i>Escherichia coli</i> 06	ATCC25922	-
<i>Escherichia coli</i> 01	ATCC11775	-
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC8090	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC13048	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC13047	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	ATCC8724	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC9027	-
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC6380	-
<i>Serratia liquefaciens</i>	ATCC27592	-
<i>Serratia marcescens</i>	ATCC8100	-
<i>Serratia odorifera</i>	ATCC33077	-