

NH イムノクロマトⅡ O111 <<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。

[用途]

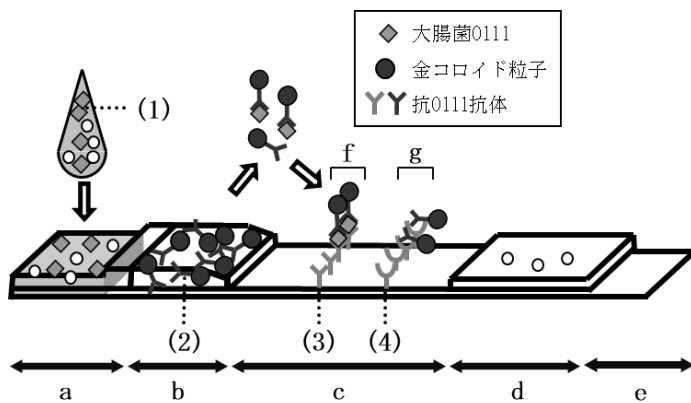
NH イムノクロマトⅡ O111 は、食品検査室において様々な食品検体からの大腸菌 O111 の定性的検出を目的としています。臨床目的での使用はできません。本キットは無菌操作技術に習熟した検査担当者による使用を想定しています。

[はじめに]

腸管出血性大腸菌(EHEC)は出血性下痢や出血性大腸炎の原因となります。出血性大腸炎は溶血性尿毒症症候群に発展する可能性があり、死亡する症例も報告されています。EHEC は汚染した食品や飲料水の摂取により感染します。NH イムノクロマトⅡ O111 は、イムノクロマト法を用いた大腸菌 O111 の検出キットで、簡便な操作で短時間に結果を得ることができます。操作に習熟を必要とせず、特別な検出装置も必要ありません。

[キットの内容]

テストストリップ 1テスト×20袋(20テスト)

[検出原理]**1) テストストリップ各部名称**

- a. 試料滴下部(注1)
b. 試薬含有部
c. 展開部(注1)
d. 吸収パッド
e. 持ち手部
f. テストゾーン
g. コントロールゾーン

注1: 試料滴下部(a)や展開部(c)に手で触れたり傷をつけたりしないようにしてください。

2) 検出原理

テストストリップの試料滴下部に試料が滴下されると、試薬含有部を通過して移動します。大腸菌 O111 (1)が試料中に存在した場合、試薬含有部を移動する際に金コロイド標識抗大腸菌 O111 抗体(2)と複合体を形成します。この複合体は展開部を移動します。テストゾーン(3)には抗大腸菌 O111 抗体が固定されており、大腸菌 O111 と金コロイド標識抗体の複合体がテストゾーンに集積することにより、赤紫色のライン(テストライン)が出現します。コントロールゾーン(4)には金コロイド標識抗大腸菌 O111 抗体が捕捉されるため、試料溶液中の大腸菌 O111 の有無にかかわらず、赤紫色のライン(コントロールライン)が出現します。コントロールラインの出現により、試験が適切に実施されたことが確認できます。

[検出限界]

本キットでは $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ CFU/mL の大腸菌 O111 を含む増菌培養液は陽性と判定されます(注2)。

注2: 本キットの最小検出感度は、大腸菌 O111 の菌株、増菌培地の種類、および試料中の成分の影響により変動する場合があります。

[使用上の注意]**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 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。
- ③ 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包装に記載されています。
- ④ 本キットは食品中もしくは分離されたコロニーからO111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。
- ⑤ 試料中の成分もしくはO111の濃度の影響により、偽陽性・偽陰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、他の方法により、必ず確認を行ってください。
- ⑥ 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。
- 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O111は微量でも非常に強い毒性を示す可能性があります。また、その他の血清型の大腸菌をはじめとする微生物による感染の可能性もあるため、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。

[別途ご準備いただく試薬・器具等]

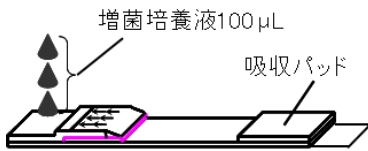
1. 増菌培地(ノボピオン加 mEC、mEC 等)
2. ストマッカー、ストマッカー袋(フィルター付きを推奨)
3. オートクレーブ
4. インキュベーター(42±1°C)
5. はかり(25gの計量が可能なもの)
6. ディスポーザブルホールピペットまたはマイクロピペットとディスポーザブルチップ
7. タイマー
8. 増菌培養液滅菌用ディスポーザブルポリプロピレン製試験管

上記以外に必要なものは別途ご用意ください

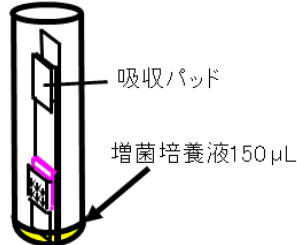
【試験操作】

- (1) 25 g の被検食品をスタマッカー袋に量り取り、増菌培地(ノビオシン加 mEC、mEC 等)225 mL を加えます。
- (2) スタマッカーで 1 分間スタマッキング処理します。
- (3) スタマッキング処理したサンプルを $42 \pm 1^\circ\text{C}$ で 22 ± 2 時間培養します。
- (4) インキュベーターから取り出したスタマッカー袋を左右に揺らし、穏やかに培養液を攪拌してください。
- (5) 滅菌済みピペットを使用し、増菌培養液約 5 mL を適切な試験管に分注してください(注 3)。試験管のフタは、滅菌操作時はゆるく閉めるようにしてください。
- (6) オートクレーブあるいは沸騰湯浴中での加熱により増菌培養液を滅菌してください。滅菌した増菌培養液は室温まで冷却した後、テストストリップに滴下してください(注 4)。
- (7) テストストリップの包装は使用直前に開封してください。テストストリップ包装を冷蔵で保管していた場合には開封する前に室温に戻してから袋を開封してください(注 5、6)。
- (8) 増菌培養液は下記いずれかの方法(8a または 8b)により、テストストリップにて試験してください。

(8a)



(8b)



- (8a) テストストリップを水平な台の上に置き、100 µL の増菌培養液を未使用のピペットチップを用いて試料滴下部に滴下してください。滴下の際はテストストリップから溢れないよう注意し、必要に応じて 2 回に分けて滴下するなどしてください。
- (8b) 増菌培養液 150 µL を未使用のピペットチップを用いて試験管に分注してください。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試験管に挿入してください(注 7)。
- (9) 増菌培養液の滴下から 15 分後に結果を判定してください。

注3: 残った増菌培養液は試験終了時まで滅菌せずに保存してください。本キットによる試験の後、大腸菌 O111 の分離等の確認試験が必要な場合があります。滅菌していない増菌培養液は確認試験に使用できません。

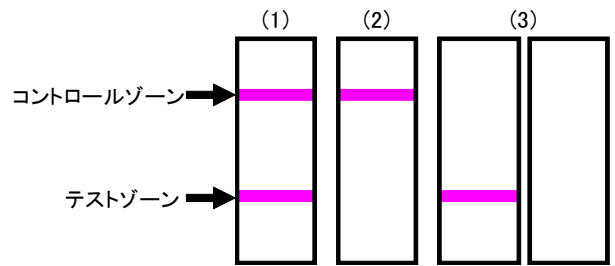
注4: 滅菌操作は本キットを用いた試験の実施に必須ではありませんが、検査担当者への感染や増殖した病原菌による汚染拡散の危険性を低減させるため、実施することを推奨しています。

注5: テストストリップの吸湿を避けるため、テストストリップ包装の開封は室温に戻した後に行ってください。吸湿の影響により正しい試験結果が得られないことがあります。

注6: 試料滴下部や展開部に傷をつけたり手で触れたりしないようにしてください。テストストリップを取り扱う際は吸収パッドあるいは持ち手部を持つようにしてください。

注7: 試料溶液の液面がテストストリップに印刷された矢印を越えないようにしてください。

【試験結果の判定】



- (1) 陽性: 試料溶液の滴下から 15 分後にテストゾーンとコントロールゾーンに赤紫色のラインが観察されます(注 8、注 9)。
- (2) 陰性: コントロールゾーンにのみ、赤紫色のラインが観察されません。
- (3) 再試験: コントロールゾーンに赤紫色のラインが認められない場合、結果は無効として再試験してください。

注8: 本キットで陽性結果が得られた試料については、公定検査法¹⁾などによる確認試験を実施してください。本キットによる試験のために調製した増菌培養液を確認試験で使用できます。

注9: 本キットは[検出限界]に記載した濃度以上の大腸菌 O111 が増菌培養液中に存在する場合に陽性を示します。[試験操作](1)~(3)に示す増菌培養の方法は検出感度以上の増菌を保証するものではありません。公定検査法¹⁾等を参考に増菌培養を最適化してください。

【廃棄】

使用したテストストリップ、試験管、ピペットならびに増菌培養液は、各都道府県の条例に従ってオートクレーブ等により滅菌した後、廃棄してください。

【保存方法ならびに使用期限】

- (1) 保存方法: 直射日光をさけて $2 \sim 30^\circ\text{C}$ で保存してください。テストストリップ包装を外装箱から出して保存する場合には遮光してください。多湿をさけてください。凍結はしないでください。
- (2) 使用期限: 外装箱ラベルおよびテストストリップ包装に記載。

【保証について】

日本ハム株式会社は、明示または黙示を問わず、いかなる保証も致しかねます。製品に瑕疵があった場合には販売元もしくは日本ハム株式会社が代替品を提供致します。製品の廃止、および仕様変更は予告なく行う場合があります。各操作手順や、それぞれの食品検体への適用の妥当性については、お客様ご自身でご検証ください。日本ハム株式会社は、本製品の使用により直接的、あるいは間接的に生じたいかなる損害や費用についても責任を負いません。本製品により得られた結果の判断および利用は、お客様の責任のもと実施してください。

【参考文献】

- (1) 食安監発 1120 第 1 号「腸管出血性大腸菌 O26、O103、O111、O121、O145 及び O157 の検査法について」

【問い合わせ先】

● 製造元

日本ハム株式会社 中央研究所
〒300-2646 茨城県つくば市緑ヶ原 3 丁目 3 番地
電話: 029-847-7825
E-mail: nh.kit@nipponham.co.jp
<https://www.rdc.nipponham.co.jp>