

GLISA

Singlepath[®] E. coli O157シングルパス[®] E. coli O157

GLISA 迅速検査（金標識免疫クロマト法）：
食品中の E. coli O157 の定性試験法



25回分

- ・食品分析用
- ・IVD 目的に使用しない

はじめに

シングルパス[®] E. coli O157 は、さまざまな食品から E. coli O157 (H7 を含む) を定性的に検出するため、食品検査室で使用されることを目的として開発されています。シングルパス[®] E. coli O157 は検証されており、生の牛挽肉および低温殺菌牛乳を用いて試験したとき、18 時間の前増菌培養後に 25 g または 25 mL 中に 1 個の E. coli O157 の低レベルから検出できることが証明され、AOAC の認証を受けています。

近年、ヒトの病原菌である大腸菌のなかで、ベロトキシン（志賀様毒素）形成株 (VTEC) の重要性が増しています。そのなかでも、腸管出血性大腸菌 (EHEC) のグループに属し、非常に病原性の強い血清型である O157:H7 株が特に関心を集めています。

腸管出血性大腸菌は、特に免疫力の低い幼児や高齢者にとって、生命を脅かす疾患の引き金にもなり得ます。主な感染源は、汚染された動物由来の食物の不十分な加熱あるいは生食によるもので、汚染された食肉製品や乳製品などが挙げられます。腸管出血性大腸菌は、ウシやヒツジ、ヤギのふん便中に存在し、不適切な衛生状態での食肉製品や乳製品の製造過程において食物中に混入します。

E. coli O157 による食中毒の急激な増加に伴い、信頼性が高く迅速な検査法が必要とされています。従来の培養法とは異なる免疫法は、その高い特異性と感度のため、急速に需要が高まっています。

シングルパス[®] E. coli O157 は、免疫フロー原理に基づいた免疫スクリーニング検査法で、時間がと労力を必要とする操作を省けるように設計されています。

測定原理

シングルパス[®] E. coli O157 (製品番号 : 104141) は、金標識抗体に基づいた免疫クロマト迅速検査法です。テストデバイスには、円形の検体滴下ゾーン、楕円形の窓枠内にテスト (T) ゾーンとコントロール (C) ゾーンがあります。

- ① 検体を円形の検体滴下ゾーンに滴下
- ② 検体は紙パットを通って、E. coli O157 に特異的な金標識抗体を含んだ反応ゾーンに吸収される
- ③ 存在する E. coli O157 抗原はすべて金標識抗体と複合体を形成し、反応ゾーンにあるテスト (T) ゾーンまで移動
- ④ - テスト (T) ゾーンには、E. coli O157 抗原に特異的な別の抗体が固相化されており、E. coli O157 の抗原・抗体複合体をすべて捕捉
 - 金が標識とされているため、特有な赤線が形成
- ⑤ テスト (T) ゾーンで捕捉されない金標識抗体は、反応ゾーンのコントロール (C) ゾーンまで移動し、特有な赤線を形成。E. coli O157 の存在の有無に関わらず、この特有な赤線がコントロール (C) ゾーンに常に形成されるため、検査が正しく行なわれていることを確認

保管 / 安定性

+2 °C ~ +8 °C で保存する場合、本品は箱に記載されている有効期限まで安定です。

テストに必要な試薬・器具等

包装内容

25 回分（個別アルミ袋包装）

その他必要な試薬・器具等

1. 増菌培地：
 - ノボビオシン加 mEC ブイヨン（製品番号 : 114582）またはノボビオシン加 mTSB ブイヨン（製品番号 : 109205）など
2. ストマッカー / フィルター付きストマッカー袋
3. 培養器 : +35 °C ~ +37 °C
4. 蒸留水 または 脱イオン水
5. オートクレーブ
6. 検体加熱（煮沸）処理用 水浴
7. 検体加熱（煮沸）処理用 耐熱性ディスポーザブルポリプロピレン製試験管
8. ディスポーザブル プラスチックホールピペット または 適当なマイクロピペットと専用ディスポーザブルチップのいずれか : 1~2 mL (検体加熱（煮沸）処理時の分配用) と 150 µL (加熱（煮沸）処理後の検体滴下用)

食品からのスクリーニング法の検査手順

1. 25 g の固形サンプルあるいは 25 mL の液状サンプルを 225 mL の増菌培地と混合し、必要であればストマッカーでホモジナイズを行う
2. +35 °C ~ +37 °C で 18~24 時間培養します
3. 室温まで冷却

※ 乳製品に対しては、ノボビオシン加 mTSB ブイヨン（製品番号 : 109205）の使用をお勧めします。食肉および食肉製品の場合は、ノボビオシン加 mEC ブイヨン（製品番号 : 114582）の使用を推奨

生菌を扱う際の汚染リスクを減らすため、次の加熱（煮沸）処理をお勧めします

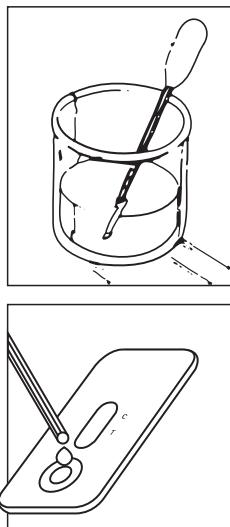
4. 約 1~2 mL の増菌培養液を適切な試験管（ポリプロピレン製）に移し、加熱（煮沸）処理中検体が飛散しないように軽く蓋をする
5. 沸騰湯浴上で 15 分間加熱
6. 湯浴から取り出し、使用する前までに室温（+18 °C ~ +26 °C）になるまで放置



キットの操作方法

使用する前までに、検査に必要な数のシングルパス[®] E. coli O157 のテストデバイスを +2°C ~ +8 °C から室温 (+18°C ~ +26 °C) に戻す

1. 室温に戻したシングルパス[®] E. coli O157 のテストデバイスをアルミ包装から取り出し、平らな面にテストデバイスを置き、適当な識別番号を記載
※アルミ包装から取り出したテストデバイスは、2 時間以内に使用
2. ディスポーザブルプラスチックホールピペット等を用いて一度加熱（煮沸）した後冷却させた検体（増菌液）のサンプリングを行う
3. テストデバイスの円形の検体滴下ゾーンにサンプリングした検体を 5 滴（約 150~160 µL）、または適当なマイクロピペットと専用ディスポーザブルチップを用いて 150 µL 滴下
4. テストデバイスに検体を滴下してから 20 分後に検査結果を判定



結果の判定

- 検体を滴下後 20 分以内に、特有な赤線がコントロール (C) ゾーンに形成されたことにより、検査が正しく行われたと判断
- 検体を滴下後 20 分以内に、特有な赤線がコントロール (C) ゾーンおよびテスト (T) ゾーンに形成された場合、検体は陽性と判定
- 検体を滴下後 20 分以内に、特有な赤線がコントロール (C) ゾーンには形成され、テスト (T) ゾーンには形成されない場合、検体は陰性と判定



メルク株式会社

ライフサイエンス バイオモニタリング事業部

〒153-8927 東京都目黒区下目黒 1-8-1 アルコタワー 5F

製品の最新情報はこちら www.merckmillipore.com/bm

E-mail: jpts@merckgroup.com Tel: 03-4531-1142 Fax: 03-5434-4897

2024年 1月改訂版

製品規格

検出限界

最も低レベルであると考えられる、25 g の食品試料あたり 1 CFU の E. coli O157 (H7 を含む) が検出限界です。この検出レベルは、AOAC が定義した最低検出限界を満たしています。これらのデータはメルクと関係のない独立した検査室で確認されています。

阻害物質

シングルパス[®] E. coli O157 は検証されており生の牛挽肉および低温殺菌牛乳をからの E. coli O157 (H7 を含む) の検出への使用に対して AOAC の認証を受けています。今日まで数多くの食品試料から得られた検査結果からは、食品成分による阻害は見られていません。この検査法は、メルクのノボビオシン加 mEC ブイヨンおよびノボビオシン加 mTSB ブイヨンの使用を基にして開発されています。他の前増菌培地や他社の前増菌培地の使用を基にして開発されません。特に赤褐色のブイヨンを使用すると、バックグラウンドの着色により弱いシグナルを見落としてしまう可能性があります。

| | |
|---------------------|------|
| 感度 (AOAC トライアルによる) | >99% |
| 特異性 (AOAC トライアルによる) | >99% |
| 偽陰性 | <1% |
| 偽陽性 | <1% |
| 検査精度 | >99% |

トラブルシューティング

| 問題 | 対策 |
|--------------------------------------|--|
| 検体滴下後 20 分を過ぎてもコントロール (C) ゾーンに線が現れない | 別の新しいテストデバイスを用いて再検査を行ってください |
| 楕円形の窓枠中の反応ゾーンに検体が到達するのが遅い | ピペットの先端で検体滴下ゾーンのパッドに優しく触れ、検体を染み込みやすくしてください |
| 不完全なフロー（サンプルフロントがコントロールラインに到達していない） | サンプル・ポートにサンプルを 1 滴追加してください。 |

使用上の注意

- シングルパス[®] E. coli O157 の使用者は、E. coli O157 の増菌・分離および鑑別のための適切な無菌操作技術を持っていること。
- 検査材料、増菌培養液および使用した器具の取扱いには十分注意すること。

廃棄

試験に使用したシングルパス[®] E. coli O157 のテストデバイス、試験管、ホールピペットあるいはマイクロピペット用のチップ、増菌後の培地、ストマッカーバッグは、各都道府県の条例に従って高圧蒸気滅菌あるいは殺菌などをした後廃棄してください。

