

GLISA**Singlepath[®] Salmonella**
シングルパス[®] サルモネラ

GLISA 迅速検査（金標識免疫クロマト法）：
食品中のサルモネラの定性試験法

**25回分**

- ・食品分析用
- ・IVD 目的に使用しない

はじめに

サルモネラは世界中で最も一般的な食中毒の原因菌の一つです。サルモネラはほとんどの生の食物（食肉や卵、植物性食品）から分離されており、一度乾燥すると熱に対する非常に高い抵抗力と乾燥に対する高い抵抗力が組み合わさり、ほとんどの食物、特に乾燥食品において重大な問題を引き起こします。

食品中のサルモネラを確認するための従来のスクリーニング法は、3段階の操作を必要とします：非選択的前増菌（18~24時間）、（少なくとも）2種類の異なる選択ブイヨン培地での選択増菌（24~48時間）、その後の（少なくとも）2種類の異なる選択／分離寒天培地での培養（24~48時間）。そのため、製品の出荷の可否を問うだけのスクリーニングの結果を得るために5日もかかります。

シングルパス[®] サルモネラは1種類の選択増菌培養液だけでも検査対象とすることことができ、また可否の結果が20分以内に得られます。そのため、従来の微生物検査法よりも2日も早い出荷が可能となります。

シングルパス[®] サルモネラは、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、時間と労力を必要とする操作を省ける様に設計されています。

測定原理

シングルパス[®] サルモネラは、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、橢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して、サルモネラ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 存在するサルモネラ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、サルモネラ抗原に特異的な別の抗体が固相化されており、サルモネラの抗原・抗体複合体をすべて捕捉
 - 金が標識されているため、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。サルモネラ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~+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：
 - 緩衝ペプトン水（BPW）（製品番号：107228）
 - サルモネラ増菌ブイヨン（RAPPAPORTとVASSILIADISによる）（RVSブイヨン）（製品番号：107700）など
2. ストマッカー／ストマッカーアダプター
3. 培養器：+37°C および +41.5°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 160 μL（加熱（煮沸）処理後の検体滴下用）

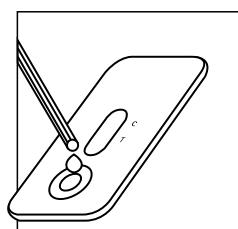
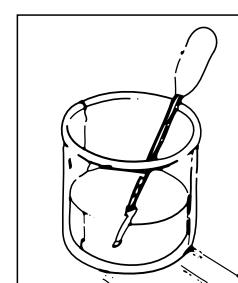
食品からのスクリーニング法の検査手順

1. 25 g の固形検査材料あるいは 25 mL の液状検査材料を 225 mL の前増菌ブイヨン（BPW）と混合し、必要であればストマッカーでホモジナイズを実施
2. +37°C で 18 ± 2 時間培養
3. 前増菌培養液 0.1 mL を RVS ブイヨン（選択増菌ブイヨン）9.9 mL に接種
4. +41.5°C で 24 時間培養（他の選択増菌ブイヨンを使用する場合、培養時間・培養温度は推奨に従うこと）
5. 約 1~2 mL の選択増菌後の培養液を適切な試験管（ポリプロピレン製）に移す（加熱（煮沸）処理中検体が飛散しない様に軽く蓋をする）
6. 沸騰湯浴上で 15 分間加熱
7. 温浴から取り出し、使用する前までに室温になるまで放置

キットの操作方法

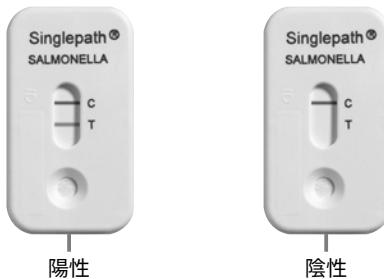
使用する前までに、検査に必要な数のシングルパス[®] サルモネラのテストデバイスを +2~+8°C から室温（+18~+26°C）に戻す

1. 室温に戻したシングルパス[®] サルモネラのテストデバイスをアルミ包装から取り出、平らな面上にテストデバイスを置き、適当な識別番号を記載
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検体滴下ゾーンに、マイクロピペットそして専用のディスポーザブルチップを用いて、検体（増菌液）を 5 滴（約 160 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



製品規格

検出限界

血清型にもより異なりますが、(選択増菌後の菌数 約 10^4 ~ 10^7 / mL) の範囲が検出限界の下限となります。

※ シグナルの強度は、サルモネラの血清型と濃度により異なります。

阻害物質

- 現在までに得られた各種の食品検体の検査結果からは、シングルパス[®] サルモネラに対する食品成分による反応阻害は見られません。

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	ピベ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

使用上の注意

- シングルパス[®] サルモネラの使用者は、サルモネラの分離および同定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[®] 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、増菌後の培地は、各都道府県の条例に従って高压蒸気滅菌あるいは殺菌などをした後廃棄してください。

陽性反応が確認された血清型一覧

下記表中には、食品と関連の深いサルモネラの血清型のみを記載しています。表中に記載のないサルモネラの血清型が、シングルパス[®] サルモネラにより検出できることを意味するものではありません。

<i>Salm. kiel</i>	<i>Salm. tallahassee</i>	<i>Salm. carrau</i>
<i>Salm. typhimurium</i> ATCC 14028	<i>Salm. curacao</i>	<i>Salm. warragul</i>
<i>Salm. abortus-equii</i> ATCC 9842	<i>Salm. kentucky</i> ATCC 9263	<i>Salm. saphra</i> ATCC 35641
<i>Salm. bredeney</i> ATCC 10728	<i>Salm. enteritidis</i> ATCC 13076	<i>Salm. kirkee</i> ATCC 8822
<i>Salm. derby</i> ATCC 6960	<i>Salm. javiana</i> ATCC 10721	<i>Salm. cerro</i>
<i>Salm. essen</i> ATCC 6961	<i>Salm. dublin</i> ATCC 15480	<i>Salm. fluntern</i>
<i>Salm. heidelberg</i> ATCC 8326	<i>Salm. gallinarum</i> ATCC 9184	<i>Salm. assen</i>
<i>Salm. chester</i> ATCC 11997	<i>Salm. enteritidis</i> ATCC 4931	<i>Salm. aderike</i>
<i>Salm. typhimurium</i> ATCC 6994	<i>Salm. pullorum</i> ATCC 19945	<i>Salm. zehlendorf</i>
<i>Salm. sandiego</i> ATCC 23199	<i>Salm. panama</i> ATCC 7378	<i>Salm. morningside</i>
<i>Salm. gloucester</i>	<i>Salm. enteritidis var dansy</i> NCTC 0618	<i>Salm. II unnamed</i>
<i>Salm. schleissheim</i>	<i>Salm. mjimwema</i>	<i>Salm. arizonae III</i> NCTC 7342
<i>Salm. saint-paul</i>	<i>Salm. moscow</i>	<i>Salm. monschau</i> NCTC 7389
<i>Salm. california</i>	<i>Salm. bledgdam</i>	<i>Salm. sheffield</i>
<i>Salm. san-juan</i>	<i>Salm. portland</i>	<i>Salm. wandsworth</i>
<i>Salm. infantis</i> ATCC 51741	<i>Salm. berta</i>	<i>Salm. IV unnamed</i>
<i>Salm. choleraesuis</i> ATCC 13312	<i>Salm. victoria</i>	<i>Salm. waycross</i>
<i>Salm. virchow</i> NCTC 5742	<i>Salm. goettingen</i>	<i>Salm. burundi</i>
<i>Salm. tennessee</i> ATCC 10722	<i>Salm. eastbourne</i>	<i>Salm. III unnamed</i>
<i>Salm. typhisuis</i> ATCC 8321	<i>Salm. rostock</i>	<i>Salm. irigney</i>
<i>Salm. singapore</i>	<i>Salm. maarssen</i> ATCC 15793	<i>Salm. berkeley</i>
<i>Salm. ohio</i>	<i>Salm. anatum</i> ATCC 9270	<i>Salm. lohbruegge</i>
<i>Salm. II calvinia</i>	<i>Salm. oxford</i>	<i>Salm. deversoir</i>
<i>Salm. argentina</i>	<i>Salm. matroosfontein</i>	<i>Salm. kaolack</i>
<i>Salm. lille</i>	<i>Salm. give</i>	<i>Salm. II ngozi</i>
<i>Salm. mbandaka</i>	<i>Salm. vejle</i>	<i>Salm. II greenside</i>
<i>Salm. montevideo</i>	<i>Salm. illinois</i> ATCC 11646	<i>Salm. IV bonaire</i>
<i>Salm. birkenhead</i>	<i>Salm. gwoza</i>	<i>Salm. arizonae</i> NCTC 8297
<i>Salm. mikawasima</i>	<i>Salm. cannstatt</i>	<i>Salm. uccle</i>
<i>Salm. edinburgh</i>	<i>Salm. westerstede</i>	
<i>Salm. braenderup</i>	<i>Salm. llandaff</i>	
<i>Salm. breukelen</i> ATCC 15782	<i>Salm. yehuda</i>	
<i>Salm. munchen</i> ATCC 8388	<i>Salm. VI unnamed</i>	
	<i>Salm. II unnamed</i>	
	<i>Salm. missouri</i>	
	<i>Salm. friedenau</i>	
	<i>Salm. kedougou</i>	
	<i>Salm. II luanshya</i>	

メリク株式会社

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

製品の最新情報はごちら www.merckmillipore.com/bm

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

2023年 10月改訂版

