

バイダス アッセイキット キャンピロバクター

VIDAS Campylobacter (CAM)

30111

本品は、説明書をよく読んでから使用して下さい。

バイダス アッセイキット キャンピロバクターは、反応に必要な各種試薬を封入した試薬ストリップと抗キャンピロバクター抗体を内壁にコーティングしたスパーよりなっており、蛍光基質を用いた酵素免疫測定法により、自動免疫蛍光測定装置バイダス又はミニバイダスで食品、食品成分及び環境中に存在するキャンピロバクター抗原を検出するキットです。

※※■本質（キットの構成）

①CAM試薬ストリップ	30本
②CAMスパー（固相）	30本
③CAM陽性コントロール	6 mL×1本
④CAM陰性コントロール	6 mL×1本
⑤CAMスタンダード	6 mL×1本

各構成試薬の内容

①CAM試薬ストリップは、10個のウェルを有しています。ウェルの内容は下記のとおりです。

ウェル	内 容
1	サンプル用ウェル (500 μ L)
2	予洗液：トリス-Tween緩衝食塩液 (400 μ L)
3・4・5・7・8・9	洗浄液：トリス-Tween緩衝食塩液 (600 μ L)
6	標識抗体：アルカリフォスファターゼ標識IgG抗体 (400 μ L)
10	蛍光基質：4-メチルウンベリフェリルリン酸 (300 μ L)

②CAMスパー（固相）は、その内壁に抗キャンピロバクター抗体がコーティングされています。

③CAM陽性コントロールは、不活化キャンピロバクター含有トリス-Tween緩衝食塩液です。

④CAM陰性コントロールは、トリス-Tween緩衝食塩液です。

⑤CAMスタンダードは、不活化キャンピロバクター含有トリス-Tween緩衝食塩液です。

*本品を使用する際に他に必要な器具は、ストマッカータイプミキサー、500 μ L用のピペット及びウォーターバス（95～100℃）等です。

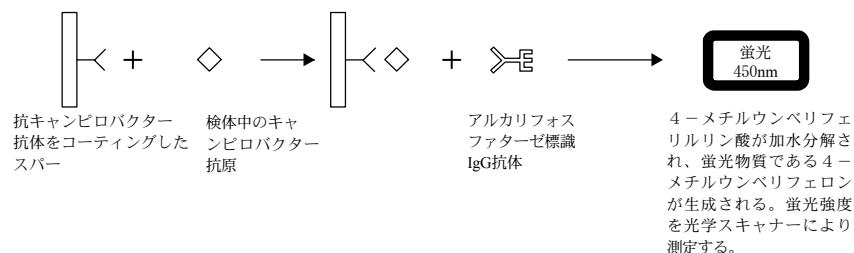
■使用目的

食品、食品成分及び環境中に存在するキャンピロバクター抗原の検出

■測定方法（測定原理）

本品は蛍光基質を用いた酵素免疫測定法であるELFA（Enzyme Linked Fluorescent Assay）法を採用し、サンドイッチ法を測定原理としています。検体がピペットチップ様のスパー内へ吸引されたとき、スパー内に固相化されている抗キャンピロバクター抗体が検体中のキャンピロバクター抗原に結合し、さらにアルカリフォスファターゼ標識IgG抗体が結合します。ついで蛍光基質4-メチルウンベリフェリルリン酸がスパー内に吸引され、アルカリフォスファターゼにより、蛍光物質である4-メチルウンベリフェロンに加水分解されます。

370nmの励起光を照射して得られる450nmの蛍光強度を測定することにより、検体中のキャンピロバクター抗原を検出します。分析から結果のプリントアウトまで自動免疫蛍光測定装置バイダスあるいはミニバイダスにより自動的に行われます。



■特 長

1. 検体を直接1番目のウェルに注入するだけでめんどろなピペット操作を必要としません。
2. ピペットチップ様固相（CAMスパー）及び必要な試薬をあらかじめ封入したCAM試薬ストリップの組合わせで測定しますので、検体及び試薬間の汚染の心配がありません。
3. 自動免疫蛍光測定装置バイダスあるいはミニバイダスにより、自動的に分析から結果のプリントアウトまで行われます。

※※■用法・用量（操作方法）

推奨されている方法に従って操作して下さい。
培養液は、予め室温（18～25℃）にもどします。

1. 検体の前処理

AFNOR承認法（BIO-12/29-05/10）

精肉、食肉加工品、環境検体

キャンピフードブイヨン90mlミニバッグ（品番42642）、225mlミニバッグ（品番42643）とコンビバッグ（品番30551）（微好気培養バッグ）を使用する方法

－検体をXg（又はXml）無菌的にコンビバッグに入れ、キャンピフードブイヨン9Xmlを加えます。

注）AFNOR承認法では、25g以上の検体では評価していません。

注）環境表面のサンプルを採取する場合は、必要であれば適切な中和剤（レシチン、ポリソルベート、L-ヒスチジン、チオ硫酸ナトリウムの混合物等）、滅菌希釈液（ペプトン緩衝溶液等）で表面を湿らせた収集器具を使用して下さい。

採取後は、適切な量の培養液（サンプリングパッドの場合は100ml、綿棒の場合は10ml）に収集器具を入れて下さい。

注）精肉洗浄検体の採取には無菌手袋をご使用下さい。大きめのストマッカー袋を裏返しにして覆いかぶせるようにして精肉をすべてストマッカー袋に入れます。

滅菌ペプトン緩衝溶液400ml加え、ストマッカー袋を閉めた後は、精肉の外側と内側の全表面に行き渡るように円を描くように揺り動かし洗浄します。洗浄溶液をキャンピフードブイヨンで1/10まで希釈します。（例：25mlの溶液に対し、225mlの希釈液）

－ストマッカータイプミキサーでホモナイズします。

内部ポケットの水平な綴じ目をミキサーの開口部と同じ高さになるようにミキサーにストマッカー袋をおきます。

パウチがある上部は乾燥した状態にして下さい。

－手袋を使用し、GENbox microaer（品番96125）をアルミニウムパッケージから取り出し、中央部分をつかんで、コンビバッグ（品番30551）内部のGENbox microaer用ポケットに入れます。

－付属のクリップシールを使用し、コンビバッグを素早く閉めます。バッグが密閉になっていることを確かめ、クリップで端を隙間なく閉めて下さい。

GENbox microaerを開けた時間から、コンビバッグを閉めるまでの時間は30秒以内です。

注）しっかりと閉まらないようであれば、クリップシールのご使用はおやめ下さい。

－培養液でGENbox microaerを濡らさないように、コンビバッグを置き、48±4時間、41.5±1℃で培養して下さい。

－培養後、ホモナイズして下さい。

ストマッカー袋のフィルター部分から取り出した培養液2～3mlを試験管に取り、試験管にふたをします。

95～100℃のウォーターバスで5±1分間加熱します。熱を冷ましてから攪拌し、0.5mlをバイダストリップのサンプルウェルに移します。

－バイダスで測定します。

残った加熱していない培養液は、陽性結果が得られた際の確認試験用に2～8℃で保存して下さい。

AFNOR承認法での陽性結果の確認試験

陽性結果が得られた場合は、確認試験を行います。

確認試験は2～8℃に保管された加熱していない培養液で24時間以内に行ってください。

非加熱の培養液を使用し、カンピ・フードID寒天培地（品番43471）またはmCCD 寒天培地に塗抹して下さい。プレートを41.5℃±1℃で40～48時間、微好気培養します。

2つの承認法のいずれかの方法で行ってください。

① CENやISOに定められた従来の方法に従い、1～5個の特徴的なコロニーを同定します。

② 40～48時間後に特徴的なコロニーがある場合は、1～5個をそれぞれ下記の通りに分離して下さい。

－コロニーの半分をコロンビア血液寒天培地に塗抹して下さい。プレートを41.5℃±1℃で48±4時間、好気培養します。

－残り半分のコロニーをコロンビア血液寒天培地に塗抹し、プレートを41.5℃±1℃で48±4時間、微好気培養します。

注）血液寒天培地の培養は72時間まで延長することができます。

この場合、キャンピロバクターが特徴的な形態ではなくなる場合があります。（球桿菌）

注）微好気条件でのみ発育した場合は、顕微鏡検査やオキシダーゼテストを実施して下さい。

キャンピロバクター属であれば、微好気条件でのみ発育し、特徴的な形態を示し、オキシダーゼが陽性となります。

矛盾した結果が得られた場合（バイダスで陽性が出たが、標準法に記載されている試験で確認できない場合など）得られた結果が正確かどうかご確認ください。

AFNOR承認ではない試験法

(1) 食品一般

① ボルトンブイヨンを使用する場合（微好気培養）

－食品検体Xg（又はXml）を無菌的にコンビバッグ（品番30551）に入れ、抗生物質添加ボルトン血液無添加ブイヨン9 Xmlを加えます。

注）25g以上の検体では評価していません。

－ストマッカータイプミキサーでホモナイズします。水平にした内部の袋がミキサーの開口部と同じ高さになるようにミキサーに袋をおきます。

袋の上部は乾燥した状態にして下さい。

－手袋を使用し、GENbox microaer（品番96125）をアルミニウムパッケージから取り出し、中央部分をつかんで、コンビバッグ内部のGENbox microaer用ポケットに入れます。

－付属のクリップシールを使用し、コンビバッグを素早く閉めます。バッグが密閉になっていることを確かめ、クリップで端を隙間なく閉めて下さい。

GENbox microaerを開けた時間から、コンビバッグを閉めるまでの時間は30秒以内にして下さい。

注）しっかりと閉まらないようであれば、クリップシールのご使用はおやめ下さい。

－培養液でGENbox microaerを濡らさないように、コンビバッグを置き、48±2時間、42±1℃で培養して下さい。

－培養後、ホモナイズして下さい。

袋のフィルター部分から取り出した培養液1～2 mlを試験管に取り、試験管にふたをします。

95～100℃のウォーターバスで15±1分間加熱します。熱を冷ましてから攪拌し、0.5mlをバイダストリップのサンプルウェルに移します。

－バイダスで測定します。

残った加熱していない培養液は、陽性結果が得られた際の確認試験用に2～8℃で保存して下さい。

② プレストンブイヨンを使用する場合（微好気培養）

－プレストンブイヨン又は、抗生物質添加ボルトン血液無添加ブイヨン9 Xmlをフィルター付きストマッカー袋に入れ、無菌的に食品検体Xg（又はXml）を加えます。

注）25g以上の検体では評価していません。

－ストマッカータイプミキサーを使用してホモナイズし、42±1℃で48±2時間、微好気培養します。

－培養後、ホモナイズします。培養液1～2 mlを試験管に取り、試験管にふたをします。95～100℃のウォーターバスで15±1分間、加熱します。熱を冷ましてから攪拌し、0.5mlをバイダストリップのサンプルウェルに移します。

－バイダスで測定します。

残った加熱していない培養液は、陽性結果が得られた際の確認試験用に2～

8℃で保存して下さい。

(2) 家禽肉の洗浄液

－コンビバッグをご使用の際は、家禽肉を1分間、100mlのボルトン血液無添加ブイヨンで洗浄します。

－家禽肉の洗浄液を37℃で4時間、その後更に42℃で20時間培養します。

－培養後、ホモナイズします。培養液1～2 mlを試験管に取り、試験管にふたをします。95～100℃のウォーターバスで15±1分間、加熱します。熱を冷ましてから攪拌し、0.5mlをバイダストリップのサンプルウェルに移します。

－バイダスで測定します。

残った加熱していない培養液は、陽性結果が得られた際の確認試験用に2～8℃で保存して下さい。

(3) その他動物用飼料等（米国）

－ボルトン血液添加ブイヨン又はボルトン血液無添加ブイヨン9 Xmlをフィルター付きストマッカー袋に入れ、無菌的に検体Xg（又はXml）を加えます。

注）25g以上の検体では評価していません。

－37±1℃で6時間、その後更に42±1℃で42時間、微好気培養します。

－培養後、ホモナイズします。培養液1～2 mlを試験管に取り、試験管にふたをします。95～100℃のウォーターバスで15±1分間、加熱します。熱を冷ましてから攪拌し、0.5mlをバイダストリップのサンプルウェルに移します。

－バイダスアッセイを行います。

残った加熱していない培養液は、陽性結果が得られた際の確認試験用に2～8℃で保存して下さい。

AFNOR承認ではない試験法における陽性結果の確認試験

陽性結果が得られた場合は、確認試験を行います。

確認試験は2～8℃に保管された非加熱ボルトンでの培養液または、プレストンブイヨンでの培養液で行って下さい。

選択培地に分離して下さい。この際、カンピ・フードID寒天培地（品番43471）の使用を推奨いたします。プレートを41.5℃±1℃で24～48時間、微好気培養します。特徴的なコロニーがない場合は、再度別のコロニーを分離して下さい（mCCD培地等）。

特徴的なコロニー1～5個を、標準法に従い同定します。

矛盾した結果が得られた場合（バイダスにより陽性が出たが、標準法に記載されている試験で確認できない場合など）得られた結果が正確かどうかご確認下さい。

注）上記以外の方法で検体処理を行う場合は、使用前にその方法が有効であるか必ず確認して下さい。

2. 試薬の調製方法

構成試薬は、すべてそのまま使用して下さい。

3. 操作方法

(1) 本品を冷蔵庫から出して、必要な本数のCAM試薬ストリップ、CAMスパー

及びその他必要な構成試薬のみを取り出し、試験室内に30分間放置して下さい。残りは密閉して冷蔵庫に戻して下さい。

- (2) 新しいロットを使用する際にはバイダス又はミニバイダスユーザーズマニュアルの指示に従って、本品に含まれるMLEデータを自動又は手動で入力して下さい。
- (3) CAM試薬ストリップの所定の位置に、検体番号を記入して下さい。
- (4) バイダス又はミニバイダスユーザーズマニュアルの指示に従って、検体番号及びアッセイコード (CAM) を入力し、ワークリストを作成して下さい。
- (5) CAM陽性コントロール、CAM陰性コントロール及びCAMスタンダードをボルテックスミキサーで十分に攪拌して下さい。
注) コントロールとスタンダードは加熱しないで下さい。
- (6) 各CAM試薬ストリップのサンプル用ウェルに検体、CAM陽性コントロール、CAM陰性コントロール及びCAMスタンダードをそれぞれ500 μ Lずつ入れて下さい。
CAMスタンダードを用いてロットごと及び14日ごとに二重測定により、キャリブレーションを実施して下さい。
- (7) ワークリストで指示された位置にCAM試薬ストリップ及びCAMスパーをセットして下さい。試薬ストリップとスパーの組み合わせを確認して下さい。
- (8) バイダス又はミニバイダスユーザーズマニュアルの指示に従って、測定を開始して下さい。
- (9) 測定は、約70分で終了し、判定結果及び測定値が相対蛍光強度 (RFV) とともにプリントアウトされます。測定値は、CAMスタンダードのRFVに対する検体のRFVの比であらわされます。RFVは、機器によって読み取られた蛍光の強さから計算される値です。機器は、CAM試薬ストリップの光学キューベット部分の蛍光の強さを2回、反応前 (バックグラウンド) と反応後に読み取ります。2回目の値から1回目の値を引いた値をRFVとしています。

■操作上の留意事項

1. 検体は、感染の危険性を考慮して取り扱って下さい。
2. 本品の取り扱い、生物学的安全性の見地から十分に注意して下さい。
3. パウダーが付着した手袋を使用すると、誤った結果の原因になることがあるので、本品の取り扱いには、パウダーフリーの手袋を使用して下さい。
4. 本品に含まれるCAM陽性コントロール及びCAM陰性コントロールを用いて精度管理を行って下さい。
5. 本品による測定は、ヒト検体及び動物検体の体外診断用に用いないで下さい。
6. 本品は、「用法・用量 (操作法)」欄に記載された方法に従って使用して下さい。記載された「用法・用量 (操作法)」及び「使用目的」以外に用いられた場合、誤った結果が得られることがあります。

■測定範囲

本品で *Campylobacter jejuni*、*C.coli* 及び *C.lari* を検出することができます。

■測定結果の判定法

測定値	結果の判定
< 0.1	陰性
\geq 0.1	陽性

1. 結果が判定不能の場合は、同一の検体を用いて測定し直して下さい。
2. 結果が陽性の場合は、4℃で保存しておいた残りの検体を用いて確認試験を実施して下さい。

※※ ■使用上又は取り扱い上の注意

1. 一般的注意
 - (1) 本品は凍結を避け、2～8℃で貯蔵して下さい。
 - (2) 試薬が誤って皮膚に付いたり、目や口に入った場合は、水で十分に洗い流して下さい。必要に応じて医師の手当を受けて下さい。
 - (3) キットを開封したときに、スパーのパッケージが密封されており、破損がないことを確認して下さい。密封されていない場合、破損していた場合は、スパーを使用しないで下さい。使用後はスパーの安定性を保つために、乾燥剤がはいったパッケージをしっかりと密封して下さい。そしてキットを2～8℃に保存して下さい。
 - (4) GLP (ISO7218) に従って下さい。
 - (5) 異なるロットの構成試薬を混合して使用しないで下さい。
 - (6) キット中の容器、付属品等は、他の目的に転用しないで下さい。
 - (7) 使用期限を過ぎた製品は、使用しないで下さい。
 - (8) バイダスは微生物試験を行うことができる試験室に設置して下さい。
 - (9) バイダス又はミニバイダスは定期的に清浄して下さい。
2. 操作上の注意
 - (1) 口でのピペット操作はしないで下さい。
 - (2) 試薬がこぼれたり、もれたりした場合は、0.5%次亜塩素酸ナトリウム溶液等できれいに拭き取って下さい。
3. 廃棄
 - (1) 本品の構成試薬中のCAM試薬ストリップ、CAM陽性コントロール、CAM陰性コントロール及びCAMスタンダードは、0.1%アジ化ナトリウムを含有しており、鉛又は銅と反応して、爆発性の金属アジ化合物を生成する可能性がありますので、下水道に排水する際は、大量の水を流して下さい。
 - (2) 使用済みの検体、試薬、器具等は必ずオートクレーブで滅菌、焼却又は消毒液 (0.5%次亜塩素酸ナトリウム溶液等) に浸してから廃棄して下さい。
注) 0.5%次亜塩素酸ナトリウム溶液で処理したものはオートクレーブで滅菌しないで下さい。

※※■性能試験

1. 50菌種の *Campylobacter* について、本品を用いて試験したところ、すべての菌種が本品で検出されました。
2. 30菌種の非 *Campylobacter* について、本品を用いて試験したところ、交差反応は認められませんでした。
3. 208試料について、本品及びISO10272-1法を用いて試験したところ、検出感度はISO10272-1法で86%、本品試験法で98%でした。
4. 検出限界値：50%の検出限界の結果は下記の通りです。

バイダスアッセイキットキャンピロバクター (細菌数/25g)	ISO10272-1標準法 (細菌数/25g)
0.2 - 1.8	0.2 - 2.4

バイダス アッセイキットキャンピロバクターは、AFNORに、生肉製品、食肉加工品、製造環境由来検体のキャンピロバクターの検査法の1つとして認証されました。この認証は、国際規格ISO 16140¹⁰に従って、ISO 10272-1⁷に収載されている試験法との比較検討の上で得られました。

AFNOR VALIDATION 説明書の有効期限は、証明書内に記載されています。

これらの資料は、ご依頼により提供致します。
(ANFOR : Association Française de Normalisation)



BIO 12/29-05/10
ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS
Certified by AFNOR Certification
www.afnor-validation.org
www.afnor-validation.com

■貯法・使用期限

2～8℃で保存して下さい（禁凍結）。
使用期限は、パッケージに記載してあります。

■包装単位

バイダス アッセイキット キャンピロバクター 30回用

※※■主要文献

1. TAKKINEN J., AMMONN A., ROBSTAD O. et al. – Etude européenne sur la surveillance et le diagnostic de *Campylobacter*, 2001 – Eurosurveillance – Nov. 2003, vol. 11, p. 207 – 226.
2. National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods, *Campylobacter jejuni / coli - Journal of Food Protection* - 1994, vol. 57, p. 1101-1121
3. BLASER M. J., G. P. PEREZ P. F., SMITH C. M. et al - *J. Infect. Dis.*- 1986, vol. 153, p. 552-559.
4. FUKUSHIMA H., NAKAMURA R., LITSUKA S. et al - *Zentralbl. Bakteriologie. Mikrobiol. Hyg. - Abt B* – 1995, vol. 181, p. 430-440.
5. MISHU B., TAUXE R. V., GRIFFIN P. M. et al - *Campylobacter jejuni* infection and the Guillain-Barré Syndrome - *In Gibbs C. J., McKHANN G. M., eds.* – New Issues in Neurosciences : Basic and Clinical Approaches. Bethesda, National Institutes of Health – 1992 / 1993, p. 268-271.
6. WINER J. B. – Guillain Barré syndrome – *J. Clin. Pathol.* – 2001, vol. 54, p. 381 – 385.
7. *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of Campylobacter spp.* - Part 1: Detection method - ISO 10272-1 – 2006
8. *Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations* - ISO 7218 (2007)
9. *Bacteriological Analytical Manual* - Chapter 7 : *Campylobacter* - U.S. Food and Drug Administration - 2001 - <http://www.cfsan.fda.gov/ebam/bam-toc.html>.
10. *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Protocol for the validation of alternative methods* - ISO 16140 - 2003.

■問い合わせ先

※※シスメックス株式会社

〒141-0032 東京都品川区大崎一丁目2番2号 大崎セントラルタワー8階
TEL 0120-022-328

シスメックス・ピオメリュー株式会社

※〒141-0032 東京都品川区大崎一丁目2番2号 大崎セントラルタワー8階
TEL 03-6834-2666 (代表)

■製造販売業者の氏名または名称及び住所

シスメックス・ピオメリュー株式会社

※〒141-0032 東京都品川区大崎一丁目2番2号 大崎セントラルタワー8階

製造販売元 シスメックス・ピオメリュー株式会社

※〒141-0032 東京都品川区大崎一丁目2番2号 大崎セントラルタワー8階

