

# バイダス アッセイキット リステリア エクスプレス

## VIDAS Listeria species Xpress (LSX)

30224

バイダス アッセイキット リステリア エクスプレスは、説明書をよく読んでから使用してください。

本品は、反応に必要な各種試薬を封入した試薬ストリップと抗リステリアマウスモノクローナル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中のリステリア属を検出するキットです。

### ■本質（キットの構成）

- ①LSX試薬ストリップ .....60本
- ②LSXスパー .....60本
- ③LSXスタンダードS1 ..... 6 mL用×1本
- ④LSX陽性コントロールC1 ..... 6 mL用×1本
- ⑤LSX陰性コントロールC2 ..... 6 mL用×1本

### 各構成試薬の内容

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

ウエル	内 容	
1	サンプル用ウエル	(500 $\mu$ L)
2	予洗液：Tween緩衝食塩液	(400 $\mu$ L)
3-4-5-7-8-9	洗浄液：Tween緩衝食塩液	(600 $\mu$ L)
6	標識抗体：アルカリフォスファターゼ標識抗リステリアヒツジポリクローナル抗体	(400 $\mu$ L)
10	蛍光基質：4-メチルウンベリフェリリン酸	(300 $\mu$ L)

②LSXスパーは（固相）は、その内壁に抗リステリアマウスモノクローナル抗体がコーティングされています。

③LSXスタンダードS1は、不活化精製リステリア抗原を含有しています。

④LSX陽性コントロールC1は、不活化精製リステリアを含有しています。

⑤LSX陰性コントロールC2は、トリス-Tween緩衝食塩液です。

\*本品を使用する際に必要な器具及び試薬は、下記の通りです。

－500  $\mu$  L用のディスプレイザブルチップピペット

－ウォーターバス

－フィルター付きストマッカーバッグ

－LXブイヨン 225mL（品番42626）

－LXブイヨン 6mL（品番42117）

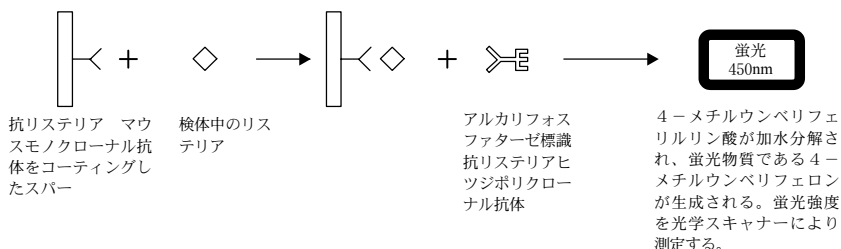
- PALCAM寒天培地（品番43559）
- Oxford寒天培地（品番43560）
- アピ リステリア（品番10307）

## ■使用目的

食品中のリステリア属の検出

## ■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不活化精製抗リステリアマウスモノクローナル抗体が検体中のリステリア抗原に結合します。スパー内に補足されたリステリア抗原にさらにアルカリフォスファターゼ標識抗リステリアヒツジポリクローナル抗体が結合します。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、検体中のリステリアを検出します。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又はミニバイダスにより自動的に行われます。



## ■特 長

1. 前処理済みの検体を直接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（LSXスパー）及び必要な試薬をあらかじめ封入したLSX試薬ストリップの組み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又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。

■MLEカードによるマスターロットデータの入力及びキャリブレーション補正  
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カードのマスターロットデータを入力して下さい。またLSXスタンダードS1を用いて、ロット毎及び14日毎に二重測定によりキャリブレーション補正を実施して下さい。

## ■精度管理

新しいロットを使用する際及びキャリブレーション補正を実施する度に、本品に含まれるLSX陽性コントロールC1及びLSX陰性コントロールC2を用いて精度管理を行って下さい。そして測定値が規格値内であることを確認して下さい。

## ■操作法

### 1. 検体の前処理

前増菌培地を常温（18～25℃）にもどし、増菌培地をいれた試験管を30±1℃で前培養します。

#### 肉及び乳製品

- ①25g（又は25mL）の検体を、無菌的に225mLのLXブイオンに加え、よく混和し、30±1℃で22～24時間培養してください。
- ②培養液をよく振盪した後、3mLをとり、6mLのLXブイオンに加え、これを30±1℃で6～8時間培養してください。
- ③②から1～2mLの培養液をとり、試験管に入れ、95～100℃のウォーターバスで15±1分間加熱します。放置して冷ました後、バイダス又はミニバイダスにて測定してください。増菌した培養液は、必ず95～100℃で15±1分間加熱し、その後試験室内に放置して冷ましてから、LSX試薬ストリップのサンプル用ウエルに分注してください。
- ④加熱しなかった培養液は、2～8℃で24時間まで保存できます。陽性結果の確認のための試験は、30℃での培養終了後48時間以内に実施してください。

#### 陽性結果の確認試験

- ①本品により陽性結果が得られた場合はすべて、確認試験を必要とします。確認試験には、加熱せず2～8℃で保存しておいた培養液を用いてください。リステリア属の全種類の発育が可能なPALCAM寒天培地、Oxford寒天培地又はクロモジェニック培地(酵素基質培地)で分離培養をします。
- ②標準的な方法により、同定をしてください。
- ③同定試験の結果、リステリア属以外となった場合、さらに確認試験を行ってください。

### 2. 操作方法

- ①本品を冷蔵庫から出して、必要な本数のLSX試薬ストリップ、LSXスパー及びその他必要な構成試薬のみを取り出し、試験室内に約30分間放置、のこりは冷蔵庫にもどしてください。
- ②1検体につき、LSX試薬ストリップ及びLSXスパーを1本ずつ用意します。
- ③LSX試薬ストリップの所定の位置に検体番号を記入してください。
- 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（LSX）を入力し、ワークリストを作成してください。
- ⑤加熱検体、LSX陽性コントロールC1、LSX陰性コントロールC2、LSXスタンダードS1をボルテックスミキサーで十分に攪拌してください。

- ⑥加熱検体、LSX陽性コントロールC1、LSX陰性コントロールC2、LSXスタンダードS1を500±50μLとり、各LSX試薬ストリップのサンプル用ウエルの中央に分注してください。LSXスタンダードS1をキャリブレーションのために測定するときは、正確に500μLをとり、測定してください。
- ⑦ワークリストで指定された位置に、LSX試薬ストリップ及びLSXスパーをセットしてください。試薬ストリップとスパーの組合せを確認してください。
- 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、測定を開始してください。
- 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、機器に記憶されているLSXスタンダードS1のRFVに対する検体のRFVの比であらわされます。RFVは、機器が読み取った蛍光の強さから計算される値です。機器は、LSX試薬ストリップの光学キュ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回目の値を引いたものをRFVとしています。

## ■測定結果の判定法

測定値	判定
≥0.1	陽性
<0.1	陰性

陰性と判定された場合は、検体中にリステリア抗原が含まれていないか、検体中のリステリア抗原濃度が、本品の検出限界以下であることを示します。陽性と判定された場合は、「陽性結果の確認試験」の項を参照してください。

バックグラウンドのRFV値がカットオフ値より高値となったとき、光学キュベットの汚染が考えられ、判定不能となります。このような場合は加熱したブイヨンまたは、コントロール、スタンダードを用いて再測定してください。

当該ロットの試薬ストリップでのスタンダードのキャリブレーションを実施していない場合も、判定不能となります。当該ロットの試薬ストリップを用い、スタンダードを二重測定しキャリブレーションを実施してください。これにより、判定不能となった検体の結果が再計算されます。

## ■性能

### 1. 特異性

非リステリア属の28株を本品にて試験したところ、交差反応はまったく見られませんでした。

### 2. 検出限界

$5 \times 10^3 \sim 10^6$  cfu/mL

### 3. 基準的方法との比較

289検体につき、本品とISO11290-1法を用いて同時に試験したところ、下表のような結果(陽性検体数)が得られました。

	ISO 11290-1	本品
肉製品	1 0 3	1 0 2
乳製品	1 0 0	9 9

## ■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ください。
2. 本品の取扱いには生物学的安全性の見地から十分に注意してください。
3. パウダーの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. 本品は、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。
5. 本品の評価は多くの肉製品、乳製品を用いて実施しました。多様な製品とそれぞれの製造方法があるため、検体の組成が本品の性能に影響を及ぼさないことを確認してください。本品での試験に用いる検体の前処理には、必ずLXブイヨン（品番42626又は42117）を使用してください。
6. 本品による陽性検体の確認試験にクロモジェニック培地（酵素基質培地）を使用する場合は、使用培地がすべてのリステリア属を発育させることができるものであることをあらかじめ確認してください。

## ■使用上又は取扱い上の注意

### 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ついたり、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てを受けて下さい。
- 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。密封されていないか、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、乾燥剤が入ったパッケージをしっかり密封して下さい。
- ④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。
- ⑤キット中の容器、付属品等は、ほかの目的に転用しないで下さい。
- ⑥使用期限を過ぎた製品は、使用しないで下さい。
- ⑦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LSX試薬ストリップは0.1%アジ化ナトリウムを含有しており、鉛また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るため、下水道に廃棄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。

## ■貯法・使用期限

2～8℃で保存してください。（禁凍結）

使用期限は、パッケージのマークに記載してあります。

## ■包装単位

バイダス アッセイキット リステリア エクスプレス……………60回用

## ■主要文献

1. SEELIGER H.P.R. and D.JONES. Genus *Listeria*, P.Sneath, N.Mair, M.E.Sharpe, J.Hoft (eds.), Bergey's Manual of systematic Bacteriology, Williams and Wilking, Baltimore, MD., 1986, Vol.2., 1235-1245.
2. ROCOURT J., P.BOERLIN, F.GRIMONT, C.JACQUET and J.C.PIFFARETTI Int. J.Syst. Bacteriol., 1992, 42 : 69-73.
3. BILLE J. and M.DOYLE *Listeria* and *Erysipelothrix*, A.Balows, W.Hausler Jr., K.Herrmann, H.Isenberg, H.J.Shadomy (eds.), Manual of Clinical Microbiology, 5th ED. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1991, 287-292.
4. LOVETT J. *Listeria* Isolation, Supplement to FDA Bacteriological Analytical Manual, 6th Ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA., 1987, revised 1988, 1990, Ch. 29.
5. McCLAIN D. and W.H.LEE. Laboratory Communication, FSIS Method for the Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Processed Meat and Poultry Products. USDA/FSIS Microbiology Division, Beltsville, MD., 1989, No.57.
6. NF EN ISO 11290-1 - Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes*. Méthode de recherche (1997).
7. NF V 08-055 - Microbiologie des aliments - Recherche de *Listeria monocytogenes* (1997).
8. HITCHINS A. - FDA Bacteriological Analytical Manual 8<sup>th</sup> edition 1995, chap. 10 - *Listeria monocytogenes* - Appendix 3.22.

## ※■問い合わせ先

※※シスメックス株式会社 科学計測事業部

〒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・ビ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・ビ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

■シンボルマーク

REF	品 番
	製 造 元
	保管温度条件
	使 用 期 限
LOT	ロット番号
	説 明 書 参 照

※製造販売元 シスメックス・ビ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

