

バイダス アッセイキット リステリア

VIDAS *Listeria* (LIS)

30700

本品は、説明書をよく読んでから使用して下さい。

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またはミニバイダスで食品および環境中に存在するリステリア菌を検出するキットです。

本品の性能試験がFrench NF EN ISO 11290-1 Standard⁶⁾に示されている標準的方法に従って実施され、全食品における迅速検出法としてAFNOR (Association Française de Normalisation - French Association for Standardization) で認められました。

■本質（キットの構成）

- ①LIS試薬ストリップ……………60本
- ②LISスパー……………60本
- ③LISスタンダードS 1……………6 mL×1本
- ④LIS陽性コントロールC 1……………6 mL×1本
- ⑤LIS陰性コントロールC 2……………6 mL×1本

各構成試薬の内容

①LIS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±50 μL) |
| 2 | 予洗液 : トリス-Tween緩衝食塩液 pH 7.6 | (400 μL) |
| 3・4・5・7・8・9 | 洗浄液 : トリス-Tween緩衝食塩液 pH 7.6 | (600 μL) |
| 6 | 標識抗体 : アルカリフォスファターゼ標識抗IgGヒツジ ポリクローナル抗体 | (400 μL) |
| 10 | 蛍光基質 : 4-メチルウンベリフェリルリン酸 | (300 μL) |

②LISスパー（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。

③LISスタンダードS 1は、不活化精製リステリア抗原を含有しています。

④LIS陽性コントロールC 1は、不活化精製リステリア抗原を含有しています。

⑤LIS陰性コントロールC 2は、トリス-Tween緩衝食塩液です。

⑥本品を使用する際に他に必要な器具は、下記のとおりです。

- 500 μL用のピペット

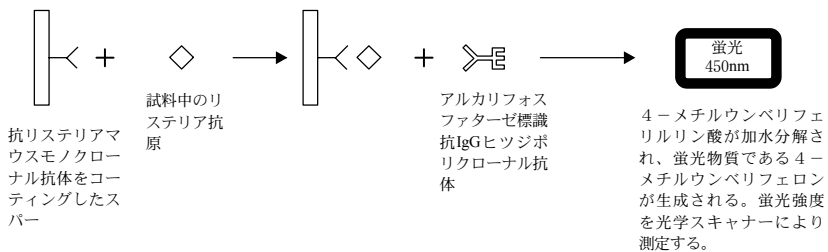
- 100℃用のウォーターバスまたはそれと同等のもの
- フラザブイヨン (225mL×6本、品番42046)
- フラザブイヨン (10mL×20本、品番42072)
- ハーフ フラザ ブイヨン (225mL×6本、品番42048)
- PALCAM寒天培地 (品番43559)
- OXFORD寒天培地 (品番43560)
- UVM1 ブイヨン
- ストマッカーバッグ
- ボルテックスミキサー

■使用目的

食品および環境中に存在するリステリア菌の検出

■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。試料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リステリアマウスモノクローナル抗体に試料中のリステリア抗原が結合し、これにアルカリフォスファターゼ標識抗IgG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、試料中のリステリア菌を検出します。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またはミニバイダスにより自動的に行われます。



■特長

1. 前処理済み試料を直接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のLISスパーおよび必要な試薬をあらかじめ封入したLIS試薬ストリップの組合わせで測定しますので、試料およ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また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カードの入力およびキャリブレーション補正

1. 新しいロットを使用する際には、バイダスまた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カードのマスタロットデータを入力して下さい。

2. LISスタンダードS 1を用いて、ロットごとおよび14日ごとに二重測定により、キャリブレーション補正を実施して下さい。
 - 1) LISスタンダードS 1をボルテックスミキサーで十分に攪拌して下さい。
 - 2) LIS試薬ストリップを2本用意して、各サンプル用ウエルの中央にLISスタンダードS 1を $500 \pm 50 \mu\text{L}$ ずつ入れて下さい。
 - 3) 2)のLIS試薬ストリップとLISスパー2本を機器にセットし、パイダスまたはミニパイダスユーザーズマニュアルの指示に従って測定して下さい。

■精度管理試験

本品に含まれるLIS陽性コントロールC 1及びLIS陰性コントロールC 2を用いて、精度管理を実施して下さい。精度管理は、新しいキットを入手したとき及びキャリブレーション補正を行うときに実施し、測定値が規格値内であることを確認して下さい。

1. LIS陽性コントロールC 1及びLIS陰性コントロールC 2をボルテックスミキサーで十分に攪拌して下さい。
2. LIS試薬ストリップを2本用意して、各サンプル用ウエルの中央にLIS陽性コントロールC 1又はLIS陰性コントロールC 2を $500 \pm 50 \mu\text{L}$ ずつ入れて下さい。
3. 2.のLIS試薬ストリップとLISスパー2本を機器にセットし、パイダスまたはミニパイダスユーザーズマニュアルの指示に従って測定して下さい。

■操作法（用法・用量）

1. 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。

2. 試料の前処理

ヨーロッパまたはアメリカ合衆国で推奨されている下記の方法で試料の前処理を行うことをおすすめします。この2法は、乳製品および加工食品において、2回目の増菌培地に接種するのに必要な1回目の培養菌液の量が違います。

(1) ヨーロッパ推奨法

1) 環境中の試料

環境中の試料をUVM 1 ブイヨン10mLまたはハーフフラザブイヨン10mLに加えます。よく混和して、 $30 \pm 1^\circ\text{C}$ で40～48時間培養します。

2) 全食品

試料25g（または25mL）をフラザブイヨン225mLに無菌的に加えます。よく混和して、 $30 \pm 1^\circ\text{C}$ で 22 ± 2 時間培養します。培養後、フラザブイヨン10mLに培養菌液0.1mLを移し入れます。 $30 \pm 1^\circ\text{C}$ で 22 ± 2 時間培養します。

注) クエン酸鉄アンモニウムを含むフラザブイオンは 100°C 用のウォーターバスで加熱するときに、沈澱を析出することがあります。この沈澱は、本品の測定に影響を及ぼすことがあります。もし2回目の増菌培養に弊社のフラザブイオンを用いないときは、クエン酸鉄アンモニウムを含まないフラザブイオンを用いることをおすすめします。
弊社のフラザブイオンはクエン酸鉄アンモニウムを含んでいますが、沈澱を析出することなく、本品による測定で最適の結果を保証します。

3) 増菌培養後、増菌培養菌液1～2 mLを試験管に移し入れ、95～100℃用のウォーターバスで15±2分間、加熱して下さい。

残りの増菌培養菌液はウォーターバスで加熱する前に、2～8℃で保存し、後で行う確認試験に用います。

注) 本品による試験をすぐに行うことができない場合は、増菌培養した菌液を2～8℃で48時間まで保存できます。それ以降は凍結保存して下さい。

(2) アメリカ推奨法

1) 環境中の試料

環境中の試料をUVM1 プイヨン10mLに無菌的に加えます。よく混和して、30±1℃で40～48時間培養します。

2) 乳製品および加工食品

試料25 g (または25mL)をフラザブイオン225mLに無菌的に加えます。よく混和して、30±1℃で22±2時間培養します。培養後、フラザブイオン10mLに培養菌液1 mLを移し入れます。30±1℃で22±2時間培養します。

3) 海産物、低温殺菌していない乳製品、生肉／鶏肉および加工肉／鶏肉試料25 g (または25mL)をフラザブイオン225mLに無菌的に加えます。よく混和して、30±1℃で22±2時間培養します。培養後、フラザブイオン10mLに培養菌液0.1mLを移し入れます。30±1℃で22±2時間培養します。

注) クエン酸鉄アンモニウムを含むフラザブイオンは100℃用のウォーターバスで加熱するときに、沈澱を析出することがあります。この沈澱は、本品の測定に影響を及ぼすことがあります。もし2回目の増菌培養に弊社のフラザブイオンを用いないときは、クエン酸鉄アンモニウムを含まないフラザブイオンを用いることをおすすめします。

弊社のフラザブイオンはクエン酸鉄アンモニウムを含んでいますが、沈澱を析出することなく、本品による測定で最適な結果を保証します。

4) 増菌培養後、増菌培養菌液1～2 mLを試験管に移し入れ、95～100℃用のウォーターバスで15±2分間、加熱して下さい。

残りの増菌培養菌液はウォーターバスで加熱する前に、2～8℃で保存し、後で行う確認試験に用います。

注) 本品による試験をすぐに行うことができない場合は、増菌培養した菌液を2～8℃で48時間まで保存できます。それ以降は凍結保存して下さい。

(3) 上記(1)または(2)に記載の方法とは別の方法で増菌培養を行う場合は、あらかじめその方法の妥当性を確認して下さい。その場合、最後の培養は必ず30±1℃で行って下さい。

3. 操作方法

(1) 本品を冷蔵庫から出して、必要な本数のLIS試薬ストリップ、LISスパーおよ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分間放置して下さい。残りは、冷蔵庫に戻して下さい。

(2) バイダスまたはミニバイダスユーザーズマニュアルの指示に従って、試料番号およびアッセイコード(LIS)を入力し、ワークリストを作成して下さい。

(3) 前処理済み試料をボルテックスミキサーで十分に攪拌して下さい。

注) 本品の試験に用いる試料は、必ず100℃のウォーターバスで15分間、加熱して下さい。そして試験室内に放置して、冷ましてから測定して下さい。

- (4) LIS試薬ストリップのサンプル用ウェルの中央に前処理済み試料を500±50 μL入れて下さい。
- (5) ワークリストで指示された位置にLIS試薬ストリップおよびLIS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。
- (6) バイダスまた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。
- (7) 測定は約45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LISスタンダード S 1 のRFVに対する試料のRFVの比で表されます。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、LIS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。

■測定範囲

本品はリステリア属の全菌種 (*L.monocytogenes*, *L.innocua*, *L.ivanovii*, *L.seeligeri*, *L.welshimeri*, *L.grayi*) を検出することができます。

■操作上の留意事項

1. 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。
2. LISスタンダード S 1 およびLIS陽性コントロール C 1 は、不活化精製リステリア抗原を含有しています。これらの取扱いは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. 本品は、ヒト検体および動物検体の測定には用いないで下さい。
5. 試料は「操作法」欄に記載された方法に従って適切に処理して下さい
6. 本品は微生物学検査用に設計された検査室で使用して下さい。
7. 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」および「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。

■測定結果の判定法

| 測定値 | 結果の判定 |
|-------|-------|
| <0.10 | 陰 性 |
| ≥0.10 | 陽 性 |

1. 結果が0.10より低い場合は、リステリア特異抗原が試料中に存在しないか、本品の検出限界以下の試料であることを示しています。

2. 結果が0.10以上の場合は、陽性と報告されます。

結果が陽性の場合、確認試験用に保存しておいたウォーターバスで加熱して
いない増菌培養菌液を用いて、下記の標準的な培養法で確認試験を行って下さ
い。

- ・ 2～8℃で保存してある増菌培養菌液を選択培地であるPALCAM寒天培地
またはOXFORD寒天培地で分離培養します。37℃で24～48時間培養して、
特徴的なコロニーを再分離培養します。標準的な生化学的試験により確認し
て下さい（ある種の*L.monocytogenes*の発育は、PALCAM培地上で阻害され
ることがあります）。

■使用上また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。密封されていないなかったり、破損していた場合には、
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と
密閉して下さい。そしてキットを2～8℃に保存して下さい。
- (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、他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) バイダスまた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、洗浄剤または消毒剤（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LIS試薬ストリップ、LISスタンダードS1、LIS陽性コ
ントロールC1およびLIS陰性コントロールC2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) 使用済みの試料、キット、器具等は必ずオートクレーブで滅菌、焼却または
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 リステリア…………… 60回用

■主要文献

1. Bille J. et al.: *Listeria* and *Erysipelothrix*, Balows A. et al. (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, 5th Ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 287-292, 1991
2. 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.
3. McClain D., et al: 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
4. Rocourt J., et al.: *Int. J. Syst. Bacteriol.* 42: 69-73, 1992
5. Seeliger H. P. R. et al: Genus *Listeria*. P.Sneath et al. (eds), *Bergey's Manual of systematic Bacteriology*, Williams and Wilkins, Baltimore, MD., Vol 2: 1235-1245, 1986
6. NF EN ISO 11290-1-Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes*. Méthode de recherche (1997).

※■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

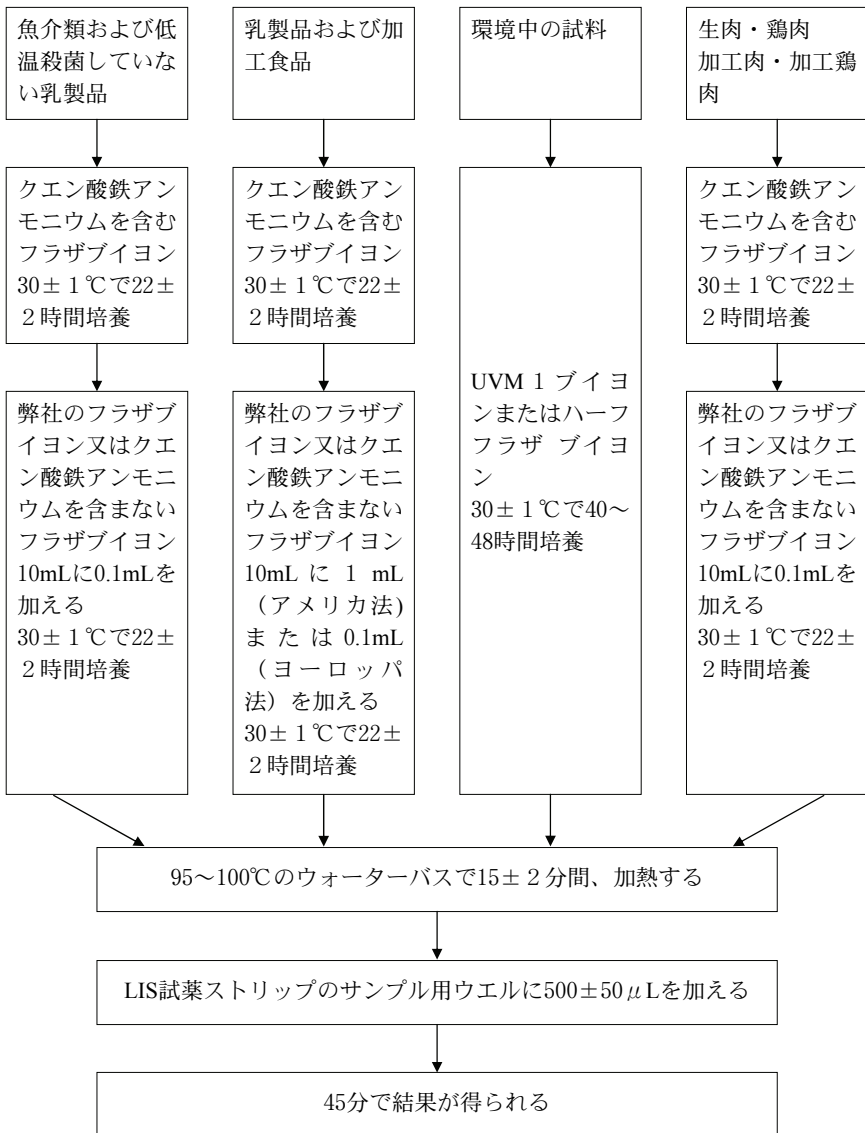
シスメックス・バイオメリュー株式会社

※※〒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・バイ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・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

