

バイダス UP アッセイキット サルモネラ(SPT)

VIDAS UP Salmonella (SPT)

品番 **30707**

※ファージを捕捉する特異的な技術を利用したバイダス UP サルモネラは、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動物用飼料のほか、製造環境サンプルおよび一次生産サンプルに存在するサルモネラを自動で検出するためのキットです。

サルモネラは食中毒の主な原因菌です。サルモネラの検出には時間を要する方法が利用されており、試料が陰性と確認されるまで5日間かかります(1)。酵素免疫測定法(EIA)に基づくスクリーニング技術により、この検出を簡便にかつ迅速に行うことができます。

サルモネラは、細胞壁(O)のりポ多糖抗原および鞭毛(H)タンパク質抗原の組み合わせで2400種以上の血清型に分類される抗原複合体を有しています(2)。本製品は、遺伝子組換え型のファージタンパク質を用いた革新的な技術により、食品や動物用試料のほか、製造環境検体および一次生産サンプル中のサルモネラを特異的に検出することができます。運動性および非運動性の何れのサルモネラ菌も検出することが可能です。

※※ ■原理

バイダス SPT は、酵素免疫蛍光測定法(ELFA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サルモネラ受容体を検出するための酵素免疫測定用のキットです(ユーザーマニュアルを参照)。

固相容器(スパー)は固相のほか、ピペット器具として利用します。スパー内壁は、サルモネラ受容体に特異的なタンパク質でコーティングされています。分析用試薬は調製済みで、試薬ストリップに予め封入されています。

装置によってすべての分析工程が自動的に行われます。反応試薬はスパー内を数回循環します。

増菌培養液の一部を試薬ストリップに分注します。サルモネラ受容体が存在するとスパー内壁に結合し、未結合の成分は洗浄段階で排除されます。アルカリフォスファターゼ標識タンパク質がスパー内を循環し、スパー内壁に結合しているサルモネラ受容体と結合します。

洗浄を更に繰り返すと、未結合の酵素標識タンパク質が除去されます。

最終の洗浄段階で未結合の標識タンパク質が除去され、最終の検出段階では基質(4-

メチル-ウンベリフェリルリン酸) がスパー内を循環します。標識酵素がこの基質の加水分解を触媒して、蛍光産物 (4-メチル-ウンベリフェロン) が生成されます。この蛍光を450nm で測定します。

測定が終了すると、結果はコンピュータで自動的に解析され、各検体の測定値 (TV) が算出されます。この数値を内部標準 (閾値) と比較して、結果を判定します (陽性、陰性)。

※※ ■キット構成 (60テスト)

SPT 試薬ストリップ (60本)	STR	調製済み
SPT スパー (60本)	SPR	調製済み スパー内壁はサルモネラ受容体に特異的なタンパク質でコーティングされています。
SPT スタンダード (6 mL×1本)	S1	調製済み 不活化精製サルモネラ受容体+防腐剤+タンパク質安定剤 MLE データは、相対蛍光値の信頼区間を示しています。 (スタンダード (S1) RFV 範囲)
SPT 陽性コントロール (6 mL×1本)	C1	調製済み 不活化精製サルモネラ受容体+防腐剤+タンパク質安定剤 MLE データは、検査値の信頼区間を示しています。 (コントロール C1 (+) 検査値の範囲)
陰性コントロール (6 mL×1本)	C2	調製済み TRIS 緩衝生理食塩水 (TBS) (15mmol/L) -ポリソルベート20 pH7.6+防腐剤 MLE データは、検査値の最大許容値を示しています。 (コントロール C2 (-) 検査値の範囲)
キャリブレーション用 ・外箱ラベルに印刷されている MLE (工場マスターデータ) バーコード		
添付文書を封入していますが、以下からダウンロード可能です。 http://products.sysmex-biomerieux.net/		

● スパー

製造工程でスパー内壁に、サルモネラ受容体に特異的なタンパク質がコーティングされます。

各スパーは「SPT」コードで識別されます。パウチからスパーを必要数のみ取り出し、開封後はパッケージをしっかりと再密封してください。

● 試薬ストリップ

試薬ストリップには10個のウエルがあり、各ウエルはラベルが貼付されたホイルシールで覆われています。ラベルにはバーコードが印刷されており、主に測定コード、キットのロット番号および使用期限の情報が含まれています。最初のウエル

のホイルには、検体を分注するために穴が開いています。最後のウエルは蛍光強度の読取りが行われるキュベットです。中間のウエルは、測定に必要な各種試薬が注入されています。

● SPT 試薬ストリップの構成内容

ウエル	試薬
1	サンプルウエル：増菌培養液、スタンダードまたはコントロールを500 μ L 分注
2	予洗液 (400 μ L)：緩衝液 pH7.8 + 防腐剤
3-4-5-7-8-9	洗浄液 (600 μ L)：TRIS 緩衝生理食塩水 (150mmol/L) -ポリソルベート20 pH7.6 + 防腐剤
6	標識抗体 (400 μ L)：サルモネラ受容体に特異的なアルカリフォスファターゼ標識タンパク質 + 防腐剤
10	基質用読取りキュベット (300 μ L)：4-メチル-ウンベリフェリルリン酸 (0.6mmol/L) + ジエタノールアミン* (DEA) (0.62mol/L または6.6%、pH9.2) + 防腐剤

*注意喚起語：危険

危険有害性情報

H318：重篤な眼の損傷

注意書き

P280：保護手袋／保護衣／保護眼鏡／保護面を着用すること

P305＋P351＋P338：眼に入った場合：水で数分間注意深く洗うこと。次にコンタクトレンズを着用していて容易に外せる場合は外すこと。その後も洗浄を続けること。

詳細は、SDS を参照してください。

※※■必要な試薬、器具および消耗品

- ・自動免疫蛍光測定装置バイダスまたはミニバイダス
- ・適量を分注するためのディスポーザブルピペットおよび／またはマイクロピペット
- ・環境サンプリング用スワブ／スポンジ
- ・バイダス Heat and Go (品番93554または93555または93556：お問い合わせください) またはウォーターバス (95-100 $^{\circ}$ C) もしくは同等品
- ・パドル式ブレンダー (SMASHERTM 品番 AESAP1064もしくは SMASHERTM XL 品番 AESAP1100)
- ・フィルター付ブレンダーバッグ
- ・SPT サプリメント (SPT SUPP) (品番42650)
- ・SX プイヨン2 (品番42121、20本)
- ・アピ ストリップ
 - アピ20 (品番20100)
 - または ID 32 E アピ (品番32400)

- またはラピッド ID 32 E (品番32700)
- ・ペプトン緩衝溶液
 - 3L 入りバッグ (品番42629)
 - 225mL 入りボトル (品番42043)
 - 225mL 入りミニバッグ (品番42729)
 - 90mL 入りボトル (品番42042)
 - 9mL 入り試験管 (品番42111)
- ・脱脂粉乳または超高温熱処理スキムミルク
- ・中和剤 (例: Dey-Engley)
- ・バンコマイシン
- ・選択分離培地

例

- ヘクトエン寒天培地 (品番43111)
- XLD 寒天培地 (品番43563)
- 亜硫酸ビスマス寒天培地 (Wilson-Blair 寒天培地)
- ・選択分離用発色基質培地

例

- ASAP™寒天培地 (品番 AEB520089/AEB520090)
- chromID™ *Salmonella* (SM2) (品番43621)

その他の器具および消耗品の詳細については、装置のユーザーマニュアルを参照してください。

■使用上の注意

- ・熟練者が使用してください。
- ・装置は微生物分析用の試験室に設置してください。

- ※※・GLP (Good Laboratory Practice: 医薬品安全性試験実施基準) を遵守してください (例: EN ISO7218標準法) (3)。
- ・増菌培養および平板培養の過程で、病原性微生物がヒトに発病させるレベルに達する場合があります。病原性微生物を含む可能性のある検体を扱う際には、安全を確保するために適切な予防措置をとってください。
 - ・本製品は動物由来の原料を含みます。由来に関する知識、由来動物の衛生状態は感染性のある病原性因子が含まれていないことを保証するものではありません。これらは潜在的に感染の可能性があるものとして、十分注意の上お取り扱いください (摂取または吸入しないでください)。
 - ・スパーのパウチに穴が開いていたり、密封されていない場合は使用しないでください。
 - ・ストリップに劣化 (ホイルまたはプラスチックの損傷) が認められる場合は使用しないでください。
 - ・ラベルに記載された使用期限を過ぎている試薬は使用しないでください。
 - ・異なるロットの試薬 (または消耗品) を混合して使用しないでください。

- ・本製品の試薬は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物を生成する可能性があります。下水道に廃液する場合は、金属アジ化物が生成されないように水で洗い流してください。
- ※※・ウエル10の基質は刺激性物質（6.6%ジエタノールアミン）を含有します。上述した「H」で示す危険有害性情報および「P」で示す「注意書き」を参照してください。
- ・試薬がこぼれた場合、液体洗剤または0.5%以上の次亜塩素酸ナトリウムを含む家庭用漂白剤を使用し、完全に拭き取ってください。装置の内外に飛散した試薬を拭き取る場合は、ユーザーマニュアルを参照してください。漂白剤を含む溶液はオートクレーブしないでください。
- ・装置は定期的に清浄し、汚染を除去してください（ユーザーマニュアルを参照）。

※■貯蔵条件

- ・当製品は2－8℃で保管してください。
 - ・**試薬を冷凍しないでください。**
 - ・**未使用の試薬は2－8℃で保管してください。**
 - ・キットを開封した際、スパーのパウチが正しく密封されており、損傷がないことを確認してください。不具合が確認された場合は、使用しないでください。
 - ・**スパーの安定性を保つため、使用後はパウチに乾燥剤を入れ、しっかりと再密封した後、キット全品を2－8℃に戻してください。**
 - ・推奨条件に従って保管すれば、未開封の構成部品はすべてラベルに記載された使用期限まで安定しています。
- 注意：キットは18－25℃で1ヶ月保存可能ですが、その後は必ず廃棄してください。

■検体調製

以下の手順を推奨します。

使用前に増菌培地を室温（18－25℃）に戻します。

凍結検体は、事前に解凍してください。

※NF VALIDATION 承認法（BIO-12/32-10/11）

食品（生乳チーズを除く）、動物用飼料および製造環境検体（畜産農場の環境検体を除く）に対する標準法

- ・フィルター付ブレンダーバッグに以下を無菌的に入れます。
 - 検体 X g (X mL)
 - 検体の9倍量のペプトン緩衝溶液
- 特定のマトリックスには、EN ISO 6887 (1-5) および EN ISO 6579 (4-9) の標準法に記載されている特殊な調製法に従い、増菌培地に SPT サプリメントを添加することを推奨します。
- 注意 1：** ココアおよびココア含有製品には、ブリリアントグリーンを添加しないでください。

注意 2 : 酸性製品には、カラーインジケーターを添加しないことを推奨します。

注意 3 : 環境検体を検査する際は、必要に応じて、適切な中和剤（例；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混合物）を含有する滅菌希釈液（例；ペプトン緩衝溶液）で始めに採取器具を湿らせてください。検体採取後、サプリメントを添加した適量のペプトン緩衝溶液に器具を入れてください（スワブには10mL、サンプリングパッドには90mL）。

注意 4 : 25g を超える量の検体は試験しないでください。

- ・ バドル式ブレンダーで混合します。
- ・ 以下に相当する SPT サプリメント（品番42650） Y mL を添加します。

$$Y \text{ (mL)} = \frac{\text{ペプトン緩衝溶液の量 (mL)}}{225 \text{ (mL)}}$$

例：

- ペプトン緩衝溶液225mL に対し 1 mL
- ペプトン緩衝溶液90mL に対し400 μ L

注意 1 : 測定前にボルテックスでサプリメントを混合してください。

注意 2 : 品質指標菌の計数のために、ペプトン緩衝溶液で10倍希釈をする場合は、ISO 7218の推奨に従ってください(3)。始めに検体を計量する場合は、このサンプリング分も考慮に入れてください。サンプリングは SPT サプリメントを添加する前に行ってください。

注意 3 : 同じ試験検体を用いて品質指標菌の計数を行わない場合は、サプリメントをペプトン緩衝溶液に直接添加することができます。

- ・ ブレンダーバッグの内容物を用手法にて混合します。
- ・ 41.5 \pm 1 $^{\circ}$ C で18–24時間培養します。
- ・ 培養後、ブレンダーバッグの内容物を用手法にて混合します。

バイダス Heat and Go を使用する場合、試薬ストリップのサンプルウエルに増菌培養液を0.5mL 分注し、5 \pm 1 分間加熱します (バイダス Heat and Go のユーザーマニュアルを参照)。ストリップを取り出し、10分間以上放冷します。

注意: 卵製品および家禽検体にはバイダス Heat and Go を使用しないでください。ウォーターバスを使用する場合は、増菌培養液 2 – 3 mL を試験管に移します (加熱後、検体が顕著に凝集している場合は、培養液を増量し加熱してください (例：10mL))。試験管を密封し95–100 $^{\circ}$ C で5 \pm 1 分間加熱した後、放冷します。ボルテックスで混合し、試薬ストリップのサンプルウエルに0.5mL 分注します。

- ・ バイダスで測定します。

注意: 加熱していない増菌培養液は、バイダスで試験を行う前に2 – 8 $^{\circ}$ C で72時間保存可能です。

- ・ 結果が陽性の場合、確認試験を行ってください。

注意: 陽性の結果が確認され、速やかに確認試験を行わない場合は、2 – 8 $^{\circ}$ C で増菌培養液を保存してください。確認試験は、培養後72時間以内に開始してください。

※生乳チーズの試験法（他の乳製品に対しても使用可能）

- ・ブレンダーバッグに以下を無菌的に入れます。

- 検体 X g (X mL)
- 検体の 9 倍量のペプトン緩衝溶液

特定のマトリックスには、EN ISO 6887-5 (8) の標準法に記載されている特殊な調製法に従い、増菌培地に SPT サプリメントを添加することを推奨します。

注意 1：酸性製品には、カラーインジケーターを添加しないことを推奨します。

注意 2：25g を超える量の検体は試験しないでください。

- ・バドル式ブレンダーで混合します。
- ・以下に相当する SPT サプリメント Y mL を添加します。

$$Y \text{ (mL)} = \frac{\text{ペプトン緩衝溶液の量 (mL)}}{225 \text{ (mL)}}$$

例：ペプトン緩衝溶液225mL に対し 1 mL

注意 1：測定前にボルテックスでサプリメントを混合してください。

注意 2：品質指標菌の計数のために、ペプトン緩衝溶液で10倍希釈をする場合は、ISO 7218の推奨に従ってください(3)。始めに検体を計量する場合は、このサンプリング分も考慮に入れてください。サンプリングは SPT サプリメントを添加する前に行ってください。

注意 3：同じ試験検体を用いて品質指標菌の計数を行わない場合は、サプリメントをペプトン緩衝溶液に直接添加することができます。

- ・ブレンダーバッグの内容物を用手法にて混合します。
- ・41.5 ± 1 °C で18–24時間培養します。
- ・培養後、ブレンダーバッグの内容物を用手法にて混合し、予め41.5 ± 1 °C に加熱しておいた10mL の SX ブイヨン2に懸濁液を 1 mL 添加します。

注意：培養後、前増菌培養液は SX ブイヨン2に添加する前に、2 – 8 °C で72時間保存可能です。

- ・41.5 ± 1 °C で6 – 8 時間培養します。
- ・培養後、増菌培養液を混合します。

バイダス Heat and Go を使用する場合、ストリップのサンプルウエルに増菌培養液0.5mL を移し、5 ± 1 分間加熱します (バイダス Heat and Go のユーザーマニュアルを参照)。ストリップを取り出し、10分間以上放冷します。

ウォーターバスを使用する場合、増菌培養液 1 – 2 mL を試験管に移します。試験管を密封し、95–100°C で5 ± 1 分間加熱した後、放冷します。ボルテックスで混合し、ストリップのサンプルウエルに0.5mL 分注します。

- ・バイダスで測定します。

注意：加熱していない増菌培養液は、バイダスで試験を行う前に 2 – 8 °C で72時間保存可能です。

- ・結果が陽性の場合、確認試験を行ってください。

注意：陽性の結果が確認され、速やかに確認試験を行わない場合は、2 – 8 °C で増菌培養液を保存してください。確認試験は、培養後72時間以内に開始してください。

※※生牛肉および子牛肉の試験法（味付けされた肉を含む）（バイダス ECPT との共通プロトコル） <検体量：25g>

- ・フィルター付ブレンダーバッグに以下を無菌的に入れます。
 - 検体 X g
 - 検体の 9 倍量のペプトン緩衝溶液（予め41.5±1℃で加熱したもの）+ 8 mg/L のバンコマイシン

注意 1：品質指標菌の計数のために、ペプトン緩衝溶液で10倍希釈をする場合は、ISO 7218の推奨に従ってください(3)。始めに検体を計量する場合は、このサンプリング分も考慮に入れてください。サンプリングはバンコマイシンを添加する前に行ってください。

注意 2：同じ試験検体を用いて品質指標菌の計数を行わない場合は、バンコマイシンをペプトン緩衝溶液に直接添加することができます。

- ・パドル式ブレンダーにて混合します。
- ・41.5±1℃で16-24時間培養します。
- ・培養後、ブレンダーバッグの内容物を用手法にて混合します。
バイダス Heat and Go を使用する場合、試薬ストリップのサンプルウエルに増菌培養液を0.5mL 分注し、5±1分間加熱します（バイダス Heat and Go のユーザーマニュアルを参照）。ストリップを取り出し、10分間以上放冷します。
ウォーターバスを使用する場合は、増菌培養液 2-3 mL を試験管に移します（加熱後、検体が顕著に凝集している場合は、培養液を増量し加熱してください（例：10mL））。試験管を密封し95-100℃で5±1分間加熱した後、放冷します。ボルテックスで混合し、試薬ストリップのサンプルウエルに0.5mL 分注します。
- ・バイダスで測定します。

注意：加熱していない増菌培養液は、バイダスで試験を行う前に2-8℃で72時間保存可能です。

- ・結果が陽性の場合、確認試験を行ってください。
注意：陽性の結果が確認され、直ぐに確認試験を行わない場合は、2-8℃で増菌培養液を保存してください。確認試験は、培養後72時間以内に開始してください。

※※生牛肉および子牛肉の試験法（味付けされた肉を含む）（バンコマイシン使用 - バイダス ECPT との共通プロトコル） <検体量：50~375g>

- ・フィルター付ブレンダーバッグに以下を無菌的に入れます。
 - 検体 X g
 - 検体の 3 倍量のペプトン緩衝溶液（予め41.5±1℃で加熱したもの）+ 8 mg/L のバンコマイシン
- ・パドル式ブレンダーで混合します。
- ・41.5±1℃で22-26時間培養します。
- ・培養後、ブレンダーバッグの内容物を用手法にて混合します。
増菌培養液 2-3 mL を試験管に移します。試験管を密封し、95-100℃のウォーターバスで5±1分間加熱した後、放冷します。ボルテックスで混合し、ストリッ

プのサンプルウエルに0.5mL 分注します。

注意：パイダス Heat and GO は使用しないでください。

- ・パイダスで測定します。

注意：加熱していない増菌培養液は、パイダスで試験を行う前に2-8℃で72時間保存可能です。

- ・結果が陽性の場合、確認試験を行ってください。

注意：陽性の結果が確認され、速やかに確認試験を行わない場合は、2-8℃で増菌培養液を保存してください。確認試験は、培養後72時間以内に開始してください。

※※生牛肉、子牛肉、粉ミルク、牛乳由来製品、チョコレート、ココアおよびココア含有製品の試験法（SPT サプリメント使用） <検体量：50~375g>

特定のマトリックスには、EN ISO 6887およびEN ISO 6579（4-9）の標準法に記載されている特殊な調製法に従い、増菌培地にSPT サプリメントを添加することを推奨します。

- ・ブレンダーバッグに以下を無菌的に入れます。

- 検体 X g (X mL)

- 検体の3倍量のペプトン緩衝溶液（**予め41.5±1℃で加熱したもの**）

調製後に粘性が見られるようなココアパウダーと牛乳由来製品（例：カゼイン塩）については、検体量の9倍量の予熱した希釈液

注意1：ココアおよびチョコレートには、ペプトン緩衝溶液の代わりに**予め41.5±1℃に温めた UHT ミルク**または調製済スキムミルクを使用してください。

注意2：ココアバターには、ポリソルベート80を10g/Lの割合で混合したペプトン緩衝溶液で増菌培養してください。

- ・バドル式ブレンダーで混合します。

- ・以下に相当するSPT サプリメント（品番42650）Y mL（±5%）を添加します。

$$Y \text{ (mL)} = \frac{\text{希釈液の量 (mL)}}{225 \text{ (mL)}}$$

例：ペプトン緩衝溶液1225mLに対し5mL

注意1：ココアパウダーおよびカゼイン塩には、以下に相当するSPT サプリメント Y mL（±5%）を添加します。

$$Y \text{ (mL)} = \frac{\text{希釈液の量 (mL)}}{675 \text{ (mL)}}$$

注意2：測定前にボルテックスでサプリメントを混合してください。

- ・ブレンダーバッグの内容物を用手法にて混合します。

- ・41.5±1℃で22-26時間培養します。

- ・培養後、ブレンダーバッグの内容物を用手法にて混合します。

増菌培養液2-3mLを試験管に移します。試験管を密封し、95-100℃のウォーターバスで5±1分間加熱した後、放冷します。ボルテックスで混合し、ストリップのサンプルウエルに0.5mL 分注します。

注意 1 : 0.5mL 分注できない場合は、加熱前に増菌培養液を 2 または 3 倍希釈することを推奨します。

注意 2 : パイダス Heat and GO は使用しないでください。

・パイダスで測定します。

注意 : 加熱していない増菌培養液は、パイダスで試験を行う前に 2 - 8℃で72時間保存可能です。

・結果が陽性の場合、確認試験を行ってください。

注意 : 陽性の結果が確認され、速やかに確認試験を行わない場合は、2 - 8℃で増菌培養液を保存してください。確認試験は、培養後72時間以内に開始してください。

※一次生産サンプルの試験法（家畜の糞便および農場の環境検体）

検体の調製法は、ISO 6887-6の標準法を参照してください(10)。

・ブレンダーバッグに以下を無菌的に入れます。

- 検体 X g (X mL)

注意 1 : ブレンダーバッグを貫通する可能性のある検体は、用手法で混合しないでください。

注意 2 : 環境検体を検査する際は、必要に応じて、適切な中和剤を含有する滅菌希釈液（例；ペプトン緩衝溶液）で始めに採取器具を湿らせてください。検体採取後、サプリメントを添加した適量のペプトン緩衝溶液に器具を入れてください（スワブには10mL、サンプリングパッドには90mL）。

- 検体の 9 倍量のペプトン緩衝溶液

・バドル式ブレンダーで混合します。

・以下に相当する SPT サプリメント Y mL (± 5 %) を添加します。

対固形物：

$$Y \text{ (mL)} = \frac{2 \text{ 倍量のペプトン緩衝溶液 (mL)}}{225 \text{ (mL)}}$$

対液状物：

$$Y \text{ (mL)} = \frac{\text{等倍量のペプトン緩衝溶液 (mL)}}{225 \text{ (mL)}}$$

注意 1 : 測定前にボルテックスでサプリメントを混合してください。

注意 2 : サプリメントはペプトン緩衝溶液に直接添加してください。

・ブレンダーバッグの内容物を用手法にて混合します。

・41.5 ± 1℃で18-24時間培養します。

・培養後、ブレンダーバッグの内容物を用手法にて混合し、予め41.5 ± 1℃に加熱しておいた10mL の SX プイヨン2に懸濁液を 1 mL 添加します。

・41.5 ± 1℃で6-24時間培養します。

・培養後、増菌培養液を混合します。

パイダス Heat and Go を使用する場合、ストリップのサンプルウエルに増菌培養液を0.5mL 分注し、5 ± 1 分間加熱します（パイダス Heat and Go のユーザーマニュアルを参照）。ストリップを取り出し、10分間以上放冷します。

ウォーターバスを使用する場合、増菌培養液 2 – 3 mL を試験管に移します。試験管を密封し、95–100℃で5 ± 1 分間加熱した後、放冷します。ポルテックスで混合し、ストリップのサンプルウエルに0.5mL 分注します。

- ・バイダスで測定します。

注意：加熱していない増菌培養液は、バイダスで試験を行う前に 2 – 8℃で72時間保存可能です。

- ・結果が陽性の場合、確認試験を行ってください。

注意：陽性の結果が確認され、速やかに確認試験を行わない場合は、2 – 8℃で増菌培養液を保存してください。確認試験は、培養後72時間以内に開始してください。

※※NF VALIDATION 承認法で陽性判定された検体の確認試験

NF VALIDATION 承認法を用いたバイダス SPT 試験において陽性判定された検体は全て、確認試験を実施してください。

- ・ *Salmonella* 用発色基質選択分離培地で分離します。
- ・ 添付文書の使用法に従って培地を培養します。その後、以下の2つのどちらかの方法を実施します：
 1. CEN または ISO (精製工程を含む) の標準法に記載されている従来の方法を用いて、1 – 5 個の特徴的コロニーを同定します (9)。
 2. ビオメリュー社のアピ ストリップを用いて (精製工程を除く) 単離されたコロニーを同定します。オキシダーゼ試験は実施不要です。

確認試験の結果が矛盾した場合、追加プロトコールとして、下記の方法を実施することを推奨します。

- 選択培地に典型的なコロニーが存在しない場合：
 - ・ 10mL の SX プイヨン2に予熱していない増菌培養液を0.1mL 添加します。
 - ・ 41.5 ± 1℃で16–24時間培養後、*Salmonella* 用発色基質選択分離培地で分離します。
 - ・ 上述の2つの方法のどちらかを用いてコロニーを同定します。

※AOAC RI 承認法 (No. 071101) および AOAC 公定分析法 (No. 2013.01)

食品全般および環境表面に対する標準法 (ペプトン緩衝溶液+SPT サプリメントで増菌) <検体量：25g>

- ・ フィルター付ブレンダーバッグに以下を無菌的に入れます。
 - 検体 25g (25mL)
 - ペプトン緩衝溶液 225mL

注意：環境検体を検査する際は、必要に応じて、適切な中和剤 (例 ; Dey-Engley) を含有する滅菌希釈液 (例 ; ペプトン緩衝溶液) で始めに採取器具を湿らせてください。検体採取後、器具を適量のペプトン緩衝溶液に浸してください (スワブには10mL、サンプリングパッドには90mL)。

- ・ バドル式ブレンダーで2分間混合します。
- ・ 以下の割合で SPT サプリメントを加えます：

- ペプトン緩衝溶液225mL に対し 1 mL
- ペプトン緩衝溶液10mL に対し0.044mL
- ペプトン緩衝溶液90mL に対し0.4mL

注意 1：測定前にボルテックスでサプリメントを混合してください。

注意 2：同じ試験検体を用いて品質指標菌の計数を行わない場合は、サプリメントをペプトン緩衝溶液に直接添加することができます。

- ・ブレンダーバッグの内容物を用手法にて混合します。
- ・ $42 \pm 1^\circ\text{C}$ で18–24時間培養します。
- ・培養後、ブレンダーバッグの内容物を用手法にて混合します。
ウォーターバスを使用する場合、2–3 mL の増菌培養液を試験管に移します。試験管を密封し、 $95-100^\circ\text{C}$ で 5 ± 1 分間加熱した後、放冷します。ボルテックスで混合し、ストリップのサンプルウエルに0.5mL 分注します。
バイダス Heat and Go を使用する場合、ストリップのサンプルウエルに増菌培養液 0.5mL を移し、 5 ± 1 分間加熱します（バイダス Heat and Go のユーザーマニュアルを参照）。ストリップを取り出し、10分以上放冷します。
- 注意**：卵製品および家禽検体には、バイダス Heat and Go を使用しないでください。
- ・バイダスで測定します。
- ・結果が陽性の場合、確認試験を行ってください。

※加熱液状卵および粉末卵の試験法（予め加熱したペプトン緩衝溶液での増菌）

＜検体量：25g＞

- ・フィルター付ブレンダーバッグに以下を無菌的に入れます。
 - 検体 25g (25mL)
 - $42 \pm 1^\circ\text{C}$ で予め加熱したペプトン緩衝溶液 225mL
- ・パドル式ブレンダーで2分間混合します。
- ・ $42 \pm 1^\circ\text{C}$ で16–24時間培養します。
- ・培養後、ブレンダーバッグの内容物を用手法にて混合します。
2–3 mL の増菌培養液（粉末卵に対しては10mL）を試験管に移し、密封します。
 $95-100^\circ\text{C}$ のウォーターバスで 5 ± 1 分間加熱した後、放冷します。ボルテックスで混合し、ストリップのサンプルウエルに0.5mL 分注します。
- ・バイダスで測定します。
- ・結果が陽性の場合、確認試験を行ってください。

※※袋入りレタスの試験法（予め加熱したペプトン緩衝溶液+予め加熱したバンコマイシンでの増菌 バイダス ECPT との共通プロトコール）＜検体量：25g＞

- ・フィルター付ブレンダーバッグに以下を無菌的に入れます。
 - 検体 25g
 - ペプトン緩衝溶液 225mL + $42 \pm 1^\circ\text{C}$ で予め加熱したバンコマイシン 8 mg/L
- ・パドル式ブレンダーで2分間混合します。
- ・ $42 \pm 1^\circ\text{C}$ で18–24時間培養します。

- ・培養後、ブレンダーバッグの内容物を用手法にて混合します。
ウォーターバスを使用する場合、試験管に増菌培養液2－3 mLを移します。試験管を密封し、95－100℃で5 ± 1分間加熱した後、放冷します。ボルテックスで混合し、ストリップのサンプルウエルに0.5 mL分注します。
バイダス Heat and Goを使用する場合、ストリップのサンプルウエルに増菌培養液0.5 mLを分注し、5 ± 1分間加熱します（バイダス Heat and Goのユーザーマニュアルを参照）。ストリップを取り出し、10分以上放冷します。
- ・バイダスで測定します。
- ・結果が陽性の場合は、確認試験を行ってください。

※牛の生ひき肉、七面鳥の生ひき肉、インスタント脱脂粉乳、袋入りレタス、生アーモンド、ダークチョコレートおよび乾燥ドッグフードの試験法（予め加熱した増菌培養液+SPT サプリメントで増菌）〈検体量：375g〉

- ・フィルター付ブレンダーバッグに以下を無菌的に入れます。
 - 検体 375g
 - ペプトン緩衝溶液（42 ± 1℃で予め加熱したもの）1125mL**注意：**ダークチョコレートには、ペプトン緩衝溶液の代わりに、予め42 ± 1℃に加熱した脱脂粉乳の溶液を用います。
- ・パドル式ブレンダーで2分間混合します。
注意：アーモンドは、1分間用手法にて混合します。
- ・SPT サプリメントを5 mL加えます。
注意：測定前にボルテックスでサプリメントを混合してください。
- ・ブレンダーバッグの内容物を用手法にて混合します。
- ・42 ± 1℃で22－26時間培養します。
- ・培養後、ブレンダーバッグの内容物を用手法にて混合します。
増菌培養液2－3 mLを試験管に移し、密封します。95－100℃のウォーターバスで5 ± 1分間加熱後、試験管を放冷します。ボルテックスで混合し、ストリップのサンプルウエルに0.5 mL分注します。
- ・バイダスで測定します。
- ・結果が陽性の場合は、確認試験を行ってください。

※牛の生ひき肉の試験法（加熱済みペプトン緩衝溶液+バンコマイシンによる増菌バイダス ECPT との共通プロトコル）〈検体量：375g〉

- ・フィルター付ブレンダーバッグに以下を無菌的に入れます。
 - 検体 375g**注意：**冷凍検体は、事前に解凍してください。
 - ペプトン緩衝溶液（42 ± 1℃で予め加熱したもの）1125mL
+バンコマイシン 8 mg/L
- ・パドル式ブレンダーで2分間混合します。
- ・42 ± 1℃で22－26時間培養します。
- ・培養後、ブレンダーバッグの内容物を用手法にて混合します。

試験管に増菌培養液を2-3 mL 移し、密封します。95-100°Cのウォーターバスで5 ± 1 分間加熱後、放冷します。ボルテックスで混合し、0.5mL をストリップのサンプルウエルに移します。

- ・バイダスで測定します。
- ・結果が陽性の場合、確認試験を行ってください。

※鶏肉洗浄液の試験法

- ・ブレンダーバッグに以下を無菌的に入れます。
 - 30mL の洗浄液
 - 42 ± 1 °C で予め加熱した30mL のペプトン緩衝溶液
- ・SPT サプリメント0.25mL を加えます。
- ・パドル式ブレンダーで2分間混合します。
- ・42 ± 1 °C で20-24時間培養します。
- ・培養後、ブレンダーバッグの内容物を用手法にて混合します。
ウォーターバスを使用する場合、試験管に増菌培養液を2-3 mL 移します。試験管を密封し、95-100°Cで5 ± 1 分間加熱した後、放冷します。ボルテックスで混合し、0.5mL をストリップのサンプルウエルに移します。
バイダス Heat and Go を使用する場合、ストリップのサンプルウエルに増菌培養液0.5mL を移し、5 ± 1 分間加熱します (バイダス Heat and Go のユーザーマニュアルを参照)。ストリップを取り出し、10分間以上放冷します。
- ・バイダスで測定します。
- ・結果が陽性の場合、確認試験を行ってください。

※AOAC 承認法で陽性判定された検体の確認試験

陽性判定された検体は全て、確認試験を実施してください。

2-8°Cで保存された煮沸していない増菌培養液で培養後72時間以内に確認試験を実施してください。

適切な標準法 (例、USDA-FSIS MLG (11) および FDA BAM (12)) で確認試験を実施してください。

注意：ASAP™ および IBISA® 寒天培地は、確認試験に使用する分離培地の代替品として AOAC PTM で検証済みです。

■使用方法

詳細はユーザーマニュアルを参照してください。

※※バイダス PTC プロトコルデータおよび MLE データの読取り

アッセイキットを初めて使用する際

1. 装置の外付けバーコードリーダーで PTC バーコード (本添付文書の最後に記載) をスキャンしてください。
これによりバイダス PTC プロトコルデータが装置のソフトウェアに転送されて更新されます。

2. 装置の外付けバーコードリーダーで MLE データを読取ってください。
注意：バイダス PTC プロトコールの入力前に MLE データを読み取った場合は、MLE データを再度読み取ってください。

新規のロットを使用する際

MLE データ（工場マスターデータ）を装置に入力してください。**測定開始前**にこの操作を実施しない場合、結果を出力することができません。

MLE データは装置に応じて手動または自動で入力します（ユーザーマニュアルを参照）。

注意：マスターロットデータは、各ロットにつき1回のみ入力する必要があります。

キャリブレーション

新しいロットの試薬を開封する際は、必ずマスターロットデータを入力してからキットのスタンダードを用いてキャリブレーションを実施してください。その後は28日間隔で実施してください。この操作により、装置特有のキャリブレーション情報が得られ、キットの使用期限内の測定シグナルのわずかな変動を補正することができます。

スタンダード S1は**二重測定**してください（ユーザーマニュアルを参照）。スタンダードの値は、規定の RFV「**相対蛍光強度**」の範囲内であることが必要です。範囲外の値を示す場合は、再度キャリブレーションを実施してください。

操作手順

1. 冷蔵庫から必要な試薬のみを取り出してください。
2. 検体、コントロールまたはスタンダードを試験する際は、各々に対し「SPT」ストリップ1本および「SPT」スパー1本を使用します。**必要なスパーを取り出したら、必ず保存用パッケージをしっかりと密封してください。**
3. 試験は装置の「SPT」コードで識別されます。スタンダードは「S1」で識別され、二重測定されます。
陽性コントロールを試験する場合、「C1」で識別します。
陰性コントロールを試験する場合、「C2」で識別します。
4. 必要に応じて、ボルテックスでスタンダードおよびコントロールを混合し、500 μ Lをサンプルウエルに分注してください。
注意：スタンダードおよびコントロールは加熱しないでください。
5. 加熱工程および検体をストリップに移す手順に関しては、使用した方法を参照してください。
6. スパーおよび試薬ストリップを装置にセットしてください。スパーおよび試薬ストリップの測定コード（カラーラベルに記載）が一致することを確認してください。
7. ユーザーマニュアルに従い測定を開始してください。測定は全て装置で自動的に行われます。約48分以内に結果が出力されます。
8. 測定終了後、スパーおよび試薬ストリップを装置から取り外してください。

9. 使用済みスパーおよび試薬ストリップは適切な生体有害物質用容器に入れ、各地域の規制に従い廃棄してください。

■判定

測定が終了すると、結果はコンピュータで自動的に解析されます。

各検体の蛍光強度は、試薬ストリップの読取りキュベットで2回測定されます。

1回目は、基質にスパーが導入される前の基質用キュベットのバックグラウンド値を測定します。2回目は、スパー内壁に残存する酵素と基質を反応させた後に測定します。

RFV（相対蛍光強度）は、最終結果からバックグラウンド値を差し引いてを算出します。この計算値は結果シートに出力されます。

各検体のRFVはバイダス装置により以下のように算出されます。

$$\text{測定値 (TV)} = \frac{\text{検体の RFV}}{\text{スタンダードの RFV}}$$

閾値および判定

測定値の閾値	判定
<0.25	陰性
≥0.25	陽性

出力される結果項目

- ・測定項目
- ・検体名
- ・日時
- ・ロット番号およびキットの使用期限
- ・各検体のRFV、測定値（TV）および判定結果

測定値(TV)が閾値より小さい場合は、その検体にサルモネラ受容体が含まれない、または含まれたとしても検出限界以下の濃度であることを示しています。

測定値(TV)が閾値以上の場合、検体がサルモネラで汚染されていることを示しています。この場合は対応するセクション「陽性結果の確認試験」を参照してください。

無効結果の報告：

- ・バックグラウンド値があらかじめ規定されているカットオフ値を上回る場合（基質の低レベル汚染を示します）
この場合、加熱した培地または使用した試薬（S1、C1またはC2）を用いて再度測定してください。
- ・検体検査用ストリップのロット番号に該当するスタンダードがない場合

この場合、無効となった検体と同一のロット番号のストリップでスタンダードを二重測定します。その後、新たに保管されているスタンダードを用いて試験結果を再計算することができます。詳細はユーザーマニュアルを参照してください。

■品質管理

陽性コントロールおよび陰性コントロールは、本キットに含まれています。新しいロットの試薬を使用する前には必ず、これらのコントロールを用いてキャリブレーションを検証してください（『キャリブレーション』の項目を参照）。また、新しいキットを入手した際にも、コントロールを用いて、試薬の性能に変化がないことを確認することを推奨します。コントロールが C1および C2で識別されると、装置でコントロール値が確認されません。コントロール値が期待値から外れている場合、結果は有効となりません。

■注意

使用者の責任の元、各国の規制に従い品質管理を実施してください。

■留意事項

操作手順を変更したり、改良したりすると結果に影響を及ぼすことがあります。

※※警告

本キットでは、これまでに多くの製品が検査されていますが、様々な食品および製造法があることを考慮し、検査するマトリックスの構成がバイダス SPT 法による結果の信頼性に影響しないことを確認することを推奨します。純粋な菌株を使用した試験または特定の研究所間試験の場合は、マトリックス（例、UHT ミルク）を加えることを推奨します。

バイダス Heat and Go システムを用いて、これまでに多くの食品マトリックスが検査されていますが、様々な食品マトリックスおよび製造法があることを考慮し、加熱工程でストリップのサンプルウエル内の検体に凝固や沈殿が発生しないことを検証することを推奨します。凝固や沈殿により、スパーに取り込まれる検体量が不正確になる恐れがあります。

■性能

下記は、NF VALIDATION の予備試験で得られた結果です。

- ・ 検出率：57株中56株が検出された（*Salmonella* 菌）。
- ・ 相対検出率：50%検出限界
 - バイダス SPT 法； 0.3-1.3 cells/25g
 - EN ISO 6579標準法(9)； 0.3-1.1 cells/25g
- ・ 比較試験：379検体をバイダス SPT 法および EN ISO 6579標準法を用いて平行試験した結果は以下のとおりです。

- バイダス SPT 法の感度：96.8%
- EN ISO 6579標準法の感度：96.3%

性能試験にはピオメリュー社の培地を用いました。

バイダス UP アッセイキット サルモネラ (SPT) 法は、全ての食品や動物用飼料および製造環境や畜産農場環境検体中のサルモネラ検出における代替分析法として、**NF VALIDATION** で承認されています。

このバリデーションは、**EN ISO 16140 (13)**に基づき、国際標準法 **EN ISO 6579 (9)**に記載されている参照法と比較し実施されました。

BIO-12/32-10/11のバリデーション証明書は、**AFNOR Certification** より入手できます。**NF VALIDATION** の有効期限は、証明書に記載されています。



BIO-12/32-10/11

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

Certified by AFNOR Certification

www.afnor-validation.org

www.afnor-validation.com

バイダス UP アッセイキット サルモネラ (SPT) 法は、**Performance Tested Method (PTM)** (証明書番号**071101**)として**AOAC Research Institute**により様々な食品および環境表面における **Salmonella** 菌の検出に関して、妥当性が確認され、承認されています。



PERFORMANCE TESTED METHOD

Certified by AOAC Research Institute

www.aoac.org

AOAC バリデーションには、以下のマトリックスが含まれます：牛の生ひき肉、七面鳥の生ひき肉、ローストビーフ、液状卵、粉末卵、バニラアイスクリーム、インスタント脱脂粉乳、アメリカンプロセスチーズ、袋入りレタス、生アーモンド、ピーナッツバター、ブラックペッパー、加工エビ、生鮮タラ、ダークチョコレート、乾燥ドッグフード、鶏肉の洗浄液、ステンレススチール（スワブで収集されたもの）、プラスチック（スポンジで収集されたもの）およびセラミック（スワブで収集されたもの）

バイダス UP アッセイキット サルモネラ (SPT) は、**Official Method of Analysis** (証明書番号 **2013.01**)として**AOAC INTERNATIONAL**により様々な食品および環境表面における **Salmonella** 菌の検出に関して、妥当性が確認され、承認されています。

AOAC バリデーションには、以下のマトリックスが含まれます：牛の生ひき肉、七面鳥の生ひき肉、ローストビーフ、液状卵、粉末卵、バニラアイスクリーム、インスタント脱脂粉乳、アメリカンプロセスチーズ、袋入りレタス、生アーモンド、ピーナッツバター、プ

ラックペッパー、加工エビ、生鮮タラ、ダークチョコレート、乾燥ドッグフード、鶏肉の洗淨液、ステンレススチール（スワブで収集されたもの）、プラスチック（スポンジで収集されたもの）およびセラミック（スワブで収集されたもの）

■使用／有効明示

ラベル、添付文書またはユーザーマニュアルによるシステムの使用に伴う性能特性は、完全に確立されたものではありません。それ故、使用者は、添付文書またはユーザーマニュアルによって具体的に説明されている方法以外の使用について、ピオメリュー社は、如何なる要求、表現、許可または保証をしないことに同意および承認するものとします。

ピオメリュー社は、商品適格性、特定使用の適合性を含む明示的または暗黙的な全ての保証について特別に責任を負うことはありません。また、添付文書またはユーザーマニュアルで説明されている方法以外の使用について、直接的、間接的または結果生じる如何なる事態に対して責任を負うことはありません。

ピオメリュー社が提供する製品またはサービスを超越する要求による返済について一切責任を負うことはありません。使用者は、システムの如何なる使用方法およびシステムがその使用方法に適しているかどうかについての判断は、使用者の責任の元有効性を確認することに同意および承認するものとします。

使用者によって有効性が確認された性能とそれに基づくシステムの使用に伴うリスクは、使用者が一切の責任を負うものとします。

■廃棄処理

使用済みおよび未使用の試薬の廃棄は、他の汚染した廃棄材料と同様、感染性もしくは感染の危険がある製品の取扱い方法に従って行ってください。

廃棄物や汚染水については、それぞれの性質または有害性の度合いに応じ、各施設の責任の下、適切な規制に従い、取扱いおよび廃棄処理を行ってください。

■参考文献

1. KERR S., BALL H. J., MACKIE D.P., et al. - Diagnostic application of monoclonal antibodies to outer membrane protein for rapid detection of *Salmonella* - *Journal of Applied Bacteriology* - 1992, vol. 72, p. 302-308.
2. LE MINOR, L. - *Salmonella lignieres* - In KRIEG N.R. and HOLT J.G. - *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* -Ed. Williams and Wilkins - Baltimore, MD., 1984 - vol.1, p. 427-458
3. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations* - ISO 7218
4. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.* - EN ISO 6887-1
5. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 2: Specific rules*

- for the preparation of meat and meat products. - EN ISO 6887-2
6. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products.* - EN ISO 6887-3
 7. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 4: Specific rules for the preparation of products other than milk and milk products, meat and meat products, and fish and fishery products* – EN ISO 6887-4
 8. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products* - EN ISO 6887-5
 9. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of Salmonella spp.* - EN ISO 6579
- ※10. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products* - EN ISO 6887-6
11. *Isolation And Identification of Salmonella From Meat, Poultry, Pasteurized Egg And Catfish Products* - Microbiology Laboratory Guidebook, MLG 4.05, Revision 5 – 20 January 2011 - U.S. Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Services, Office of Public Health Science - http://www.fsis.usda.gov/PDF/MLG_4_05.pdf
 12. *Bacteriological Analytical Manual* - Chapter 5 : *Salmonella* - U.S. Food and Drug Administration -2011- <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/UCM070149>
 13. *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Protocol for the validation of alternative methods.* – EN ISO 16140 – 2003.

※※記号

記号	内容
	品番
	製造元
	保管温度
	使用期限
	ロット番号

	添付文書を参照
	<n>回分の試験を含む
	製造日

【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 03-6834-2669 (代表)

【製造販売業者の氏名または名称および住所】

シスメックス・ピオメリュー株式会社

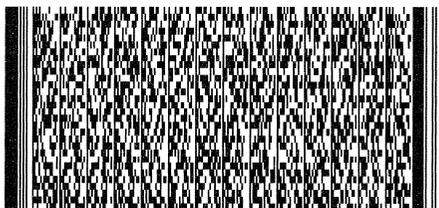
〒141-0032 東京都品川区大崎一丁目2番2号 大崎セントラルタワー8階

※※※ 本添付文書は、下記 Web サイトからダウンロードできます。

<http://products.sysmex-biomerieux.net/>

PTC プロトコールデータ

1



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

