

NHビーズO157 《取扱説明書》

※本試薬をご使用になる前に必ずお読みください。

【開発の経緯】

食品検体からの大腸菌 O157 の分離・検出は、検体中に他の夾雑微生物が多く存在するため、直接法のみによる分離は困難です。

本品は、免疫磁気ビーズ法を用いた大腸菌 O157 濃縮試薬で、食品中の大腸菌 O157 を効率よく分離することができます。

【本品の特徴】

- 1) 増菌培養液から大腸菌 O157 を選択的に濃縮します。
- 2) 大腸菌 O157 を濃縮後、そのまま分離寒天培地に塗抹して培養できます。

【試薬の内容】

NH ビーズ O157 …………… 500 μ L (25 テスト分) 1 本

※本品は、大腸菌 O157 に対するヤギポリクロナール抗体が結合した磁気ビーズの懸濁液です。

【目的】

増菌培養後の培養液中からの大腸菌 O157 の濃縮

【試料溶液の調製】

1) 準備する器具および試薬

ストマッカー袋(フィルター付を推奨), ストマッカー, インキュベーター, 増菌用培地, ほか

2) 試料の調製

1. 被検食品から 200g 以上を採取してください。尚、表面汚染が考えられる場合には、表面部 300~500cm²を厚さ 0.2~0.3mm に薄く削り取ってください。
2. 採取した検体の全体を細切にし、混和した後、その 25g をストマッカー袋に秤量して試料としてください。

3) 増菌培養

1. ストマッカー袋中の試料 25g に対して、ノボビオシン加 mEC 培地 225mL を加え、1 分間ストマッカー処理を行ってください。
2. ストマッカー袋ごと、42℃で 18~24 時間培養してください。
 ※ ノボビオシンを含まない市販の mEC 培地を使用する場合には、mEC 培地をオートクレーブ滅菌した後冷却し、ノボビオシンナトリウム 4mg/mL 水溶液をろ過滅菌して、mEC 培地 1,000mL に対して 5mL (最終濃度 20mg/L) 添加してください。
 ※ 増菌用培地としては、ノボビオシン加 mEC 培地以外に、トリプトソーヤブイオン (TSB) もしくは発育増殖抑制剤添加 TSB (mTSB, TSB-CTV, mTSB-VCC など) も用いることが可能です。

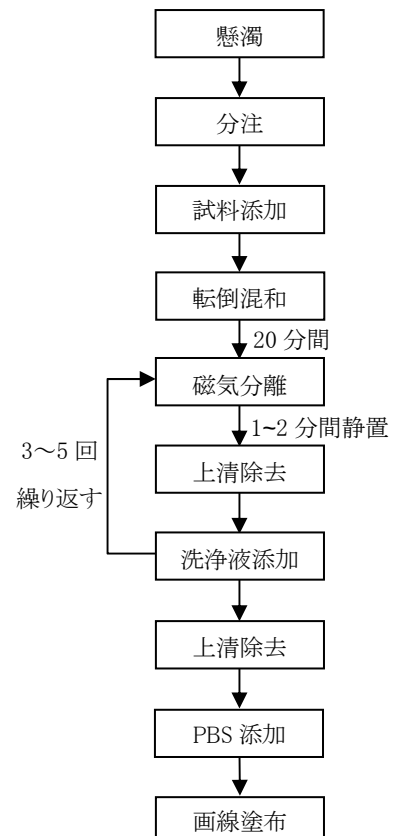
【免疫磁気ビーズ法】

1) 準備する器具および試薬

マイクロピペット, 2.0mL マイクロ遠心チューブ, 磁気スタンド (磁石の磁力 12,200Gauss 以上, 試験時磁力 3,500Gauss 以上の市販のマイクロチューブ用磁気スタンドが使用可), 洗浄液 (PBS + 0.05% Tween20), PBS, ほか

2) NHビーズ O157 による濃縮と分離培養

1. NHビーズ O157 のチューブをボルテックスにかけ、底に沈殿が残らないように完全に懸濁させてください。
2. 懸濁したビーズ 20 μ L をマイクロ遠心チューブに分注してください。
3. 増菌培養後の培養液 1mL を 2.0mL マイクロ遠心チューブに分注してください。
4. 磁気ビーズと試料溶液が全体的に混ざり合うように、ローテーター等でゆっくり回転させながら、室温で 20 分間転倒混和してください。もしくは 5 分間隔の転倒混和を繰り返しながら室温で 20 分間インキュベーションしてください。
5. 磁気スタンドにマイクロ遠心チューブをセットし、1~2 分静置してください。
6. マイクロ遠心チューブを磁気スタンドにセットしたまま、マイクロピペットを用いて上清を取り除いてください。この時、磁気ビーズを吸引しないように注意してください。
7. 洗浄液 1mL をマイクロ遠心チューブに滴下し、磁気スタンドから外して磁気ビーズを懸濁してください。
8. 上記 6~7 の操作を 3~5 回繰り返して磁気ビーズを洗浄してください。
9. 上清を完全に除去したら、磁気スタンドを外し、マイクロ遠心チューブに PBS 100 μ L を滴下し、ボルテックスをかけて磁気ビーズを懸濁してください。
10. 懸濁液を分離寒天培地 2 枚に画線塗抹してください。分離寒天培地は、セフィキシム・亜テルル酸カリウム添加ソルビトールマッコンキー (CT-SMAC) 寒天培地と酵素基質培地を併用することを推奨します。



【性能】

大腸菌 O157 の純培養菌液を本試薬で濃縮し、標準寒天培地に生じたコロニー数(CFU/mL)から求めた回収率は、98%以上であることが確認されています。

また、食品検体増菌培養液 1mL 中、大腸菌 O157 が 100 個以下の低レベルの場合でも、検出が可能です。

【使用上または取り扱い上の注意事項】

1) 使用上の注意事項

1. 本試薬をご使用になる際には、取扱説明書をよく読み、記載された試験方法に従って使用してください。
2. 使用期限の過ぎた試薬は使用しないでください。使用期限は製品ラベルに記載されています。
3. 製造番号の異なる試薬を混ぜて使用しないでください。
4. 試料溶液の調製に使用する器具ならびに試薬類(培地を含む)の使用法等については、それぞれの製造元もしくは販売元にご確認ください。
5. 本取扱説明書は検査担当者のガイドラインとして作成されています。各操作手順や各々の食品におけるアプリケーションの妥当性については自ら検証してください。
6. 商品の仕様については、予告なく変更になる場合があります。

2) 危険防止上の注意事項

1. 本試薬の検出対象である大腸菌 O157 は微量でも感染する可能性があります。また、大腸菌 O157 以外の微生物による感染の可能性もあるため、試験を実施する際には保護手袋、保護メガネ等を着用するなど十分留意してください。
2. 試験を実施する際には、適切な設備・施設で行い、責任ある管理者の指導のもとで標準的な微生物検査手順にて実施してください。
3. 誤って試験溶液等が目や口に入った場合には、直ちに水道水で洗い流す等の応急処置を行い、医師の手当てを受けてください。
4. 本試薬による試験実施後、身体に異常を感じた場合には、直ちに医師の手当てを受けてください。

3) 廃棄場の注意事項

1. 試験に使用した増菌培地、試料および試料溶液の残り等は、感染の可能性があると考え、必ずオートクレーブ処理(121℃, 20 分)、もしくは 0.1%次亜塩素酸ナトリウム溶液に 1 時間以上浸すなどの適切な滅菌処理を施してください。
2. 本試薬ならびに試料および試料溶液の残り等を廃棄する場合には、当該地域の廃棄物に関する規定に従い、衛生面、環境面に十分配慮して廃棄してください。

【貯法・使用期限】

- 1) 貯法 : 冷蔵(2~8℃)で保存してください。また、凍結は避けてください。
- 2) 使用期限 : 製造日より 6 ヶ月間。(ラベル表示の使用期限内にご使用ください。)

【包装単位】

NH ビーズ O157 500 μ L x 1 本

【参考文献】

- 1) 厚生労働省監修:食品衛生検査指針微生物編, (社)日本食品衛生協会, 168-179(2004).
- 2) 甲斐明美ら:臨床と微生物, 23, 827-834(1996).
- 3) 厚生省「腸管出血性大腸菌 O157 および O26 の検査法について」(平成 18 年 11 月 2 日食安監発第 1102004 号).

〔販売元および問い合わせ先〕

外装ラベルに記載

〔製造元〕

〒300-2646 茨城県つくば市緑ヶ原 3-3
日本ハム株式会社 中央研究所
電話:029(847)7825/FAX:029(847)7824
URL:<http://www.rdc.nipponham.co.jp>
