

**NH IMMUNOCHROMATO O111**

* Please read this manual carefully before using the kit.

Instruction Manual**Product number : 999500000****[Introduction]**

Food poisoning by Diarrheagenic *Escherichia coli* is an infectious food poisoning that is caused by the growth of *E.coli* taken into the intestinal tract though the ingestion of food. These Diarrheagenic *E.coli* can be broadly classified into five types.¹⁾ Among these, Enterohemorrhagic *E.coli* (EHEC) causes hemorrhagic colitis through the action of the verotoxin that it produces; it can also cause hemolytic uremic syndrome and encephalopathy, which can be fatal. Many cases of mass food poisoning by EHEC have occurred, so EHEC is viewed as the most dangerous among Diarrheagenic *E.coli* from the standpoint of food hygiene. The diarrheagenic *E. coli*, O111, has been detected as the second commonest serotype after O157 in foreign countries²⁾ and reported to be the third commonest serotype after O157 and O26 in Japan³⁾.

This product is a kit for detecting *E. coli* O111 in foods by immunochromatography. Tests can be conducted rapidly and simply by means of the kit.

[Product Features]

- (1) The simple one-step operation of the kit.
- (2) The test gives rapid results.
- (3) There is no need for special test equipment.

[Kit contents]**1) Components**

- A: Test plate 5-test × 4 packs
B: Instruction manual 1 sheet

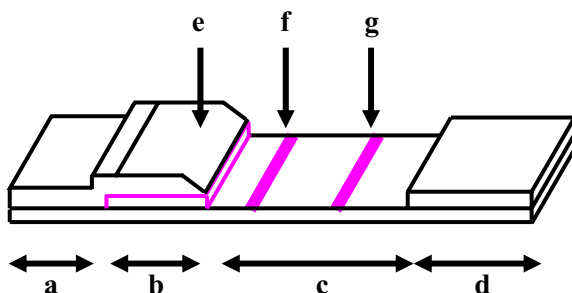
2) Ingredients and Quantity

- A: Anti-*E.coli* O111 polyclonal antibody (rabbit) 0.375 µg
B: Anti-*E.coli* O111 polyclonal antibody labeled with colloidal gold (rabbit) 0.13 µg
C: Anti-rabbit immunoglobulin polyclonal antibody (goat) 0.25 µg

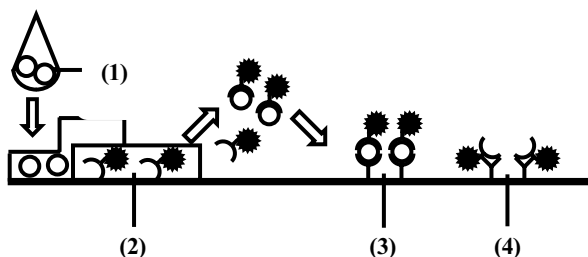
[Application]

- (1) Detection of *E. coli* O111 in Foods

Note 1: This kit is intended to specifically detect *E. coli* O111 and therefore cannot detect the presence or absence of verotoxin production.

[Illustration of Test plate and the Principle of assay]**1) Illustration of Test plate**

- a. Sample solution drop section
(*Be careful not to touch this section with your finger.*)
- b. Reagent-containing section
- c. Detecting section (*Be careful not to scratch this section and touch this section with your finger.*)
- d. Absorbent pad
- e. Measurement items listing position
- f. Test line appearance position
(*Approx.30mm from the sample solution drop section.*)
- g. Control line appearance position
(*Approx.38mm from the sample solution drop section*)

2) Principle of assay

When a sample solution is dropped onto the test sample drop section of the test plate, the gold colloid-labeled anti-*E. coli* O111 polyclonal antibody (2) in the test sample-containing section dissolves and forms complexes with *E. coli* O111 (1). These complexes move to the expanded section by capillary attraction and are trapped by the anti-*E. coli* O111 antibody (3) that is fixed in the test line appearance position. This results in the appearance of a reddish purple line of gold colloid. This reddish purple line can be detected by visual inspection and used to judge the presence or absence of *E. coli* O111 in the test solution. The excess gold-labeled antibodies, regardless of the presence or absence of *E. coli*

O111 in the test solution, travel further through the expanded section and are trapped by the anti-goat immunoglobulin rabbit antibody(4) fixed at the control line appearance position, where they form a second reddish purple line. The presence of this line indicates that the test solution has reached the expanded section.



[Preparation of the sample Solution]

The method for preparing a sample solution is described in accordance with the Japanese official testing method.^{3),4)}

1) Required Equipment and Instruments

Stomacher bag (preferably with a filter), stomacher, incubator, autoclave, culture medium, etc

2) Preparation of Test Samples

- (1) Take a test sample of more than 200g of the food under test. In cases where surface contamination is suspected, the sample is taken by scraping off 300–500cm² of the surface to a thickness of 0.2–0.3mm.
- (2) Chop and mix the whole sample collected. Weigh 25g of the sample into the stomacher bag and use this as the test specimen

3) Sample enrichment

- (1) Add 225 mL of mEC broth with novobiocin to the 25g specimen in tomacher bag and homogenize with a stomacher for 1 minute.
- (2) Incubate the specimen in the stomacher bag at 42°C for 18–24 hours.

Note1: When commercial mEC culture medium that does not contain novobiocin is used, sterilize the medium by autoclaving and cool it. Then, sterilize a 4 mg/mL solution of novobiocin by filtration and add 5 mL of the solution to 1 L of mEC culture medium to give a final concentration of 20 mg/L.

Note2: Instead of the mEC broth with novobiocin, it is possible to use tryptsoya broth (TSB) or growth and proliferation retardant-added TSB (mTSB, TSB-CTV, or mTSB-VCC) selective enrichment broth.

4) Sterilization

- (1) Remove the stomacher bag from the incubator after 18-24 hours. Gently mix the contents of the stomacher bag using a side-to-side motion, taking care not to splash it.
- (2) Transfer about 5 mL of the culture solution into a glass test tube by using a sterilized pipette, and sterilize the solution in an autoclave for 20 minutes at 121°C.
- (3) Remove the tube from autoclave and allow the tube to cool to room temperature to prepare the sample solution.

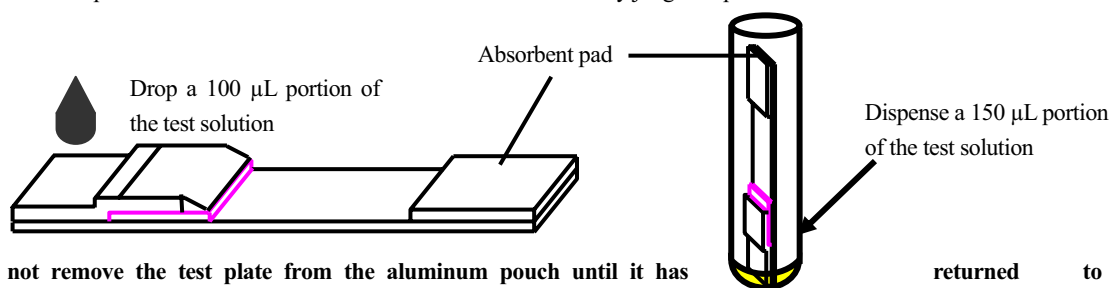
Note1: The kit can also detect viable *E.coli* O111, but tests with a sterilized culture solution are recommended to ensure the safety of the operator.

Note2: Because the remainder of the culture solution might be required for use in confirmatory tests following those conducted with the kit, do not sterilize it and retain it until all the tests have been completed.

[Operating Procedures for Testing]

1) NH Immunochromato O111 Test Procedures

- (1) Bring the test plates contained in the aluminum pouch to room temperature and remove from the pouch as necessary immediately before use.
- (2) With an oil-based marker pen, write the name of the test sample or the number of the subject under test on the absorbent pad of the test plate removed from the bag.
- (3) Place the test plate carefully on the flat stand and drop a 100 μ L-portion of the test solution onto the test sample drop section (see the figure on the left). Otherwise, dispense a 150 μ L portion of the test solution into a test tube and attach the test plate to the test tube so that the test sample drop section of the test plate is immersed in the test solution (see the figure on the right).
- (4) Allow the test plate to stand undisturbed for 15 minutes and then visually judge the presence or absence of *E. coli* O111 in the solution.



Note1: Do not remove the test plate from the aluminum pouch until it has returned to room temperature, otherwise incorrect test results may be obtained as a result of moisture absorption.

Note2: Keep test plates that are not in use in a vinyl pouch containing desiccants and store this in an aluminum pouch in a refrigerator.

Note3: Be careful not to scratch the test sample drop section or expanded section and do not touch them with your hands. When handling the test plate, make sure that you hold the absorbent pad.

Note4: Make sure that you use a sterilized pipette or chip to drop or dispense the sample solution. Change the pipette or chip for every test solution.

Note5: Make sure that the 150- μ L portion of test solution does not overflow the test plate when dropping it. If necessary, drop the solution in two or more portions.

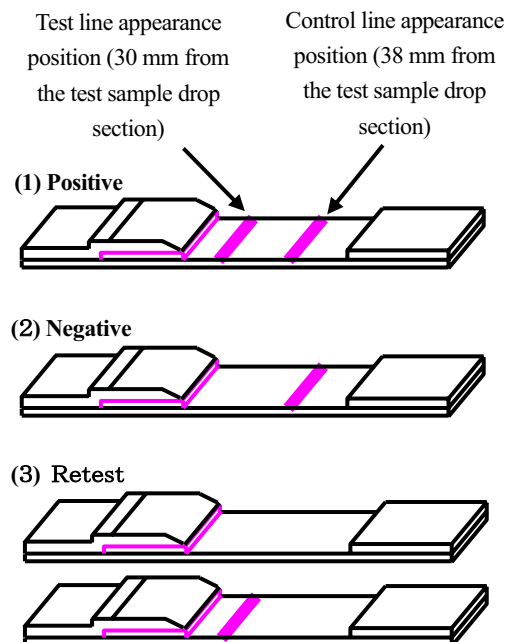
Note6: To prevent infection of the operator, it is recommended that testing be performed with the test plate. A wrap should be placed under the plate, when dropping the test solution.



2) Judgment of the Test Results

- (1) The test results is judged as positive when a reddish purple line is observed at the test line appearance position and at the control line appearance position 15 minutes after the start of the test.*
- (2) Judge the test results as negative when no reddish purple line is observed at the test line appearance position, but a line is observed at the control line appearance position.
- (3) Retest in cases where no reddish purple line is observed at the control line appearance position, regardless of the presence or absence of a line at the test line appearance position. It is likely that there is something abnormal in the development of the sample solution in such cases.

Note1: Ensure that confirmatory tests, in accordance with the official test method or other methods, are performed on specimens that are tested positive by the kit. The proliferated and cultivated samples used for testing with the kit can be used in confirmatory tests by the official or other test method.



[Performance]

1) Sensitivity Test

The results of tests conducted in accordance with instructions for the preparation of the sample solution and the operating procedures for testing described in this manual will be positive when the concentration of *E. coli* O111 organisms is more than 1×10^5 CFU/mL.*

2) Repeatability Tests

When positive and negative test solutions of *E. coli* O111 were simultaneously tested three times each, all positive test solutions exhibited positive results and all negative test solutions showed negative results.

3) Minimum Detection Sensitivity

The results of testing standard three strains of *E. coli* O111 and four strains of isolated bacteria confirmed that the minimum detection sensitivity is between 1×10^4 and 1×10^6 CFU/mL.*

Note1: The minimum detection sensitivity of this kit could vary depending on the effects of the components of the test solution.

4) Cross-reactivity

- (1) Cross-reactivity with the following bacterial strains has not been observed.*

Strains	ID of standard strains	Results
<i>Escherichia coli</i> O157	ATCC25922, ATCC11775, ATCC700728, RIMD05091061	-
<i>Escherichia coli</i> O26	RIMD05091876, IID3005	-
<i>Escherichia coli</i> O1	ATCC11775	-
<i>Escherichia coli</i> O25	RIMD0509301	-
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC8090	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC13048	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC13047, ATCC49141	-
<i>Enterobacter sakazakii</i>	ATCC51329	-
<i>Escherichia hermannii</i>	JCM1473	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC4352	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	ATCC8724	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC9027	-
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC6380	-
<i>Serratia liquefaciens</i>	ATCC27592	-
<i>Serratia marcescens</i>	ATCC8100	-
<i>Serratia ororifera</i>	ATCC33077	-



[Precautions in Using the Kit]

1) Precautions in Handling the Kit

- (1) Read the instruction manual carefully before use. Use the kit in accordance with the test method described in this manual.
- (2) Do not use a kit whose use-by date has passed. The expiry date is indicated on the label on the aluminum pouch.
- (3) The kit is a reagent designed to detect *E. coli* O111 in food. It is not to be used for clinical diagnosis.
- (4) Tests may give false-positive results as a result the effects of the ingredients present in the specimen. Positive test results from the kit should be confirmed by using the official test method or other procedures.
- (5) Confirm with their manufacturers or distributors that any reagents (including culture media) required for preparation of test solutions and any instruments that are used are suitable for the purpose.
- (6) This instruction manual is intended as a guideline for those in charge of testing. Verify your own operating procedures for the kit and the appropriateness of its use for each particular food.
- (7) Product specifications may be changed without notice.

2) Precautions Regarding Risk Prevention

- (1) Even minute amounts of *E. coli* O111, which the kit is designed to detect, could cause infection. For this reason, and because there is a possibility of infection by microorganisms than other than *E. coli* O111, exercise full precautions in conducting tests by wearing protective gloves and safety glasses.
- (2) Tests should be performed only where appropriate equipment and facilities are available. Follow standard microorganism testing procedures under the guidance of responsible supervisors.
- (3) If you accidentally get any sample solution in your eyes or mouth, adopt emergency measures, such as immediately washing away the solution with tap water, and then seek medical attention.
- (4) If you feel unwell after performing a test with the kit, obtain immediate treatment from a physician.

3) Precautions Regarding Disposal of Waste Materials

- (1) Note that surplus test solutions and used test plates, culture media, and test samples could carry contagious microorganisms. Therefore, make sure that waste materials are subject to appropriate sterilization, for example by autoclave treatment for 20 minutes at 121 °C or immersion of the materials in a sodium chlorite solution for more than 1 hour.
- (2) Discard the kits, test samples, and surplus test solutions in strict compliance with your local waste-disposal regulations and with full consideration of environmental sanitation.

[Storage Method and Use-By Date]

- (1) Storage method: Refrigerate at 2–8 °C and shade from the light. Avoid freezing.
- (2) Use-by date: 12 months from the date of manufacture.

[Packaging Unit]

NH Immunochromato O111 20 tests (5-test × 4)

[References]

- (1) Ministry of Health, Labor and Welfare, Microorganism Section of Guide to Food Hygiene, the Japan Food Hygiene Association, pp 168–179, 2004.
- (2) Journal of Clinical Microbiology, Nov. 1998, p. 3182-3187
- (3) Akemi Kai, et al., Clinical Diagnosis and Microorganism, 23, pp 827–834, 1996.

[Manufacturer]

R & D Center, Nippon Meat Packers, Inc.
3-3 Midorigahara, Tsukuba, Ibaraki 300-2646, Japan
Phone: +81-29-847-7825 Fax: +81-29-847-7824
URL: <http://www.rdc.nipponham.co.jp>

Distributor



COSMO BIO CO., LTD.
Inspiration for Life Science

TOYO 2CHOME, KOTO-KU, TOKYO, 135-0016, JAPAN

<http://www.cosmobio.co.jp>

e-mail : export@cosmobio.co.jp

Phone : +81-3-5632-9617

FAX : +81-3-5632-9618

【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 本キット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 使用期限の過ぎたキットは使用しないでください。使用期限はアルミパウチ袋ラベルに記載されています。
- ③ 本キットは食品中から大腸菌 O111 を検出するための試薬であり、臨床的診断を下す目的で使用することはできません。
- ④ 試料中の成分の影響により、偽陽性が示される可能性があります。本キットで陽性を示した試料については、公定検査法等他の方法により、必ず確認を行ってください。
- ⑤ 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）の使用方法等については、それぞれの製造元もしくは販売元にご確認ください。
- ⑥ 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。
- ⑦ 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 本キットの検出対象である大腸菌 O111 は微量でも感染する可能性があります。また、大腸菌 O111 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 誤って試料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 本キットによる試験実施後、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) 廃棄上の注意事項

- ① 試験に使用したテストプレートや増菌培地、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 本キットならびに試料および試料溶液の残りなど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廃棄してください。

【貯法・使用期限】

- 1) 貯法： 冷蔵（2～8℃）、遮光にて保存してください。また、凍結は避けてください。
- 2) 使用期限： 製造日より 12 ヶ月。

【包装単位】

NH イムノクロマト O111 20 テスト入

【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) Journal of Clinical Microbiology, Nov. 1998, p. 3182-3187
- 3) 甲斐明美ら：臨床と微生物, 23, 827-834 (1996)．

【食品検査用試薬】

NH イムノクロマト O111 《取扱説明書》

※本キットをご使用になる前に必ずお読みください。

【開発の経緯】

病原性大腸菌（下痢病原性大腸菌）による食中毒は、食物の摂取により大腸菌が、腸管内に取り込まれ増殖することにより発症する感染型食中毒です。この病原性大腸菌は大きく 5 種類に分類されています¹⁾。これらのうち、腸管出血性大腸菌はそれらが産生するペロ毒素（Vero toxin :VT）により出血性大腸炎を起こし、まれに溶血性尿毒症症候群（Hemolytic Uremic Syndrome :HUS）や脳症などを起こし死亡する症例も報告されていること、また、過去に大規模食中毒事例が認められることなどから、病原性大腸菌の中でも食品衛生上最も重要視されています。腸管出血性大腸菌 O111 は海外において O157 に次いで 2 番目に多く検出されており²⁾、日本国内でも O157、O26 に次いで 3 番目に多いことが報告されています³⁾。

本品は、イムノクロマト法を用いた食品中の大腸菌 O111 検出キットで、簡単な操作で短時間に結果を得ることができます。

【本品の特徴】

- 1) 1 ステップの簡単な操作のため、習熟を必要としません。
- 2) 迅速に結果が得られます。
- 3) 特別な検出装置を必要としません。

【キットの内容】

- | | |
|-------------------------|--|
| 1) 構成品 | 2) 成分・容量（1 テストあたり） |
| A: テストプレート…………… 5 テスト×4 | ① 抗大腸菌 O111 ポリクローナル抗体（ウサギ） …………… 0.375 μg |
| B: 取扱説明書…………… 1 部 | ② 金コロイド標識抗大腸菌 O111 ポリクローナル抗体（ウサギ） …… 0.13 μg |
| | ③ 抗ウサギ免疫グロブリンポリクローナル抗体（ヤギ） …………… 0.25 μg |

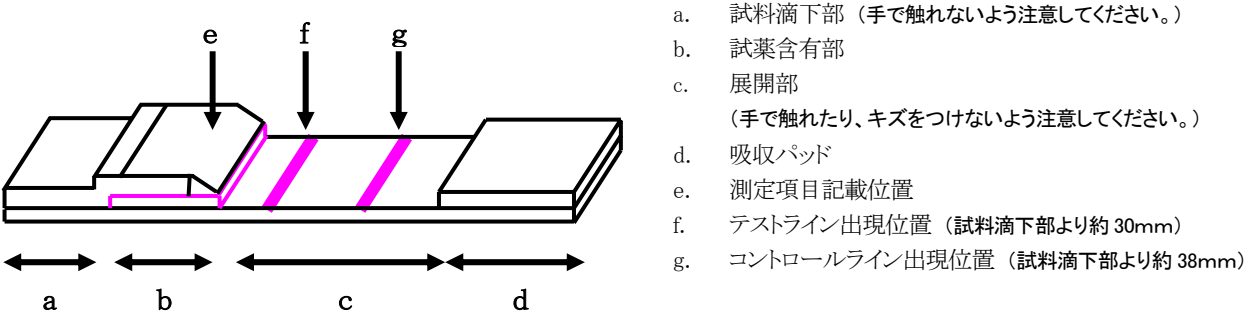
【目的】

- 1) 食品中に含まれる大腸菌 O111 の検出。

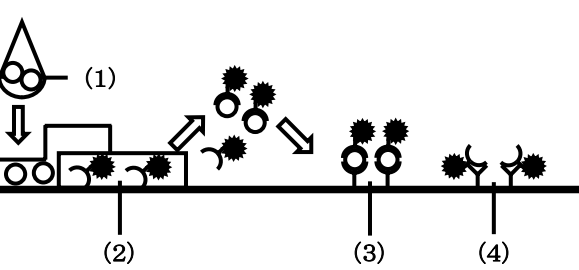
注1：本キットは大腸菌 O111 検出用の試薬のため、ペロ毒素産生の有無は確認できません。

【テストプレート各部名称および検出原理】

1) テストプレート各部名称



2) 検出原理



テストプレートの試料滴下部に試料溶液を滴下すると、試薬含有部に含まれる金コロイド標識抗大腸菌 O111 抗体(2)が溶解し、試料溶液中の大腸菌 O111 (1)と複合体を形成します。これらの複合体は展開部を毛細管現象により移動し、テストライン出現位置に固定化された抗大腸菌 O111 抗体(3)に捕捉され、金コロイドによる赤紫色のラインが出現します。本キットはこの赤紫色のラインを目視により確認し、試料溶液中の大腸菌 O111 の有無を判定します。

一方、試料溶液中の大腸菌 O111 の有無に関わらず、余剰の金コロイド標識抗体が展開部をさらに移動し、コントロールライン出現位置に固定化された抗ヤギ免疫グロブリンウサギ抗体(4)に捕捉され、赤紫色のラインを形成します。このラインの有無により、試料溶液が展開部を正常に移動したことを確認します。

【販売元および問い合わせ先】

アルミパウチ袋に記載

【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

【試料溶液の調製】

※ 試料溶液の調製方法は、公定検査法^{3), 4)}を元に記載しています。

1) 必要な機器・器材

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、オートクレーブ、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。なお、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。

注1 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。

注2 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ヨン (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。

4) 滅菌操作

- ① 培養終了後、ストマッカー袋をインキュベーターより取り出し、培養液の飛散に注意しながら、緩やかに攪拌してください。
- ② 滅菌済みピペットを用いて、培養液 5mL をガラス試験管に分注し、オートクレーブ滅菌 (121℃、20 分) してください。
- ③ オートクレーブ滅菌終了後、室温まで十分冷却し、試料溶液としてください。

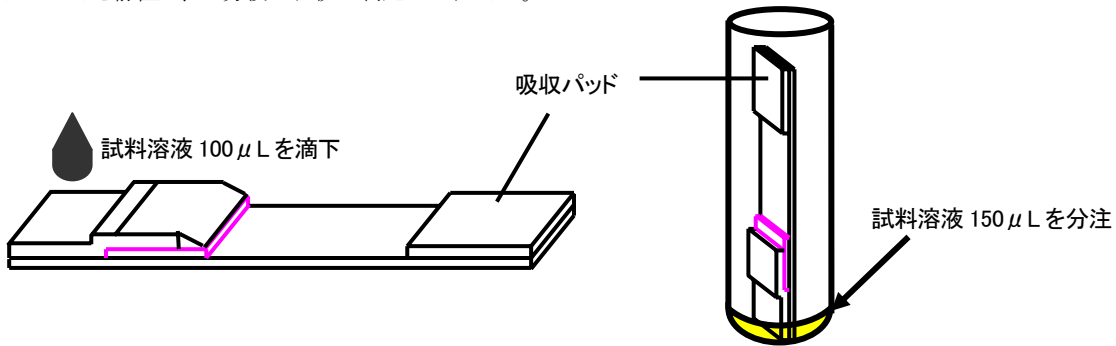
注1: 本キットは生菌でも検出可能ですが、試験者の安全確保のため、滅菌済み培養液にて試験を行うことを推奨します。

注2: 培養液の残りは、本キット試験実施後の確定試験に使用する可能性があるため、試験終了後まで滅菌せず保存してください。

【試験操作】

1) NH イムノクロマト O111 試験操作

- ① テストプレートアルミパウチ袋に入れたまま室温に戻し、使用直前に必要量アルミパウチ袋から取り出してください。
- ② 取り出したテストプレートの吸収パッドに油性ペン等を用いて、試料名もしくは検体番号等を記入してください。
- ③ テストプレートを水平な台の上に静置し、試料滴下部に試料溶液 100 μ L 滴下してください (下記左図)。もしくは、試料溶液 150 μ L を試験管に分注し、テストプレートの試料滴下部が試料溶液に浸かるようにテストプレートを試験管に添加してください (下記右図)。
- ④ テストプレートを静置し、15 分後に目視で判定してください。

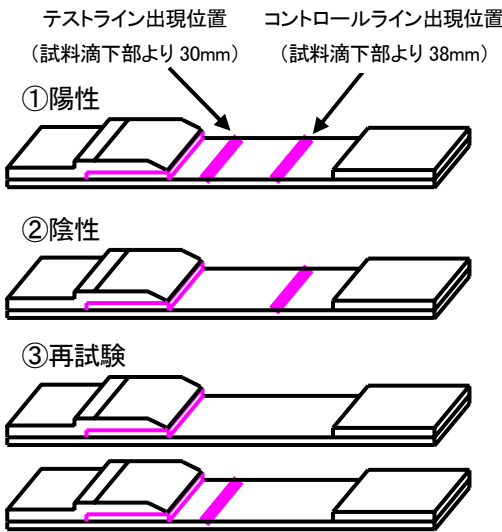


- 注1: テストプレートは吸湿の影響により、正しい結果が得られないことがあるため、室温に戻してからアルミパウチ袋から取り出してください。
- 注2: 使用しないテストプレートは乾燥剤とともにビニールパウチ袋に戻し、さらにアルミパウチ袋に入れて冷蔵保存してください。
- 注3: テストプレートの試料滴下部および展開部には、直接手などで触れたり、キズをつけないよう注意してください。テストプレートを持つ場合には、吸収パッドを持つようにしてください。
- 注4: 試料溶液を滴下もしくは分注するために使用するピペットもしくはチップは必ず滅菌済みのものを使用し、試料溶液ごとに交換してください。
- 注5: 試料溶液 100 μ L を滴下する際には、テストプレートから溢れないよう注意し、必要に応じ、2 回に分けて滴下するなどしてください。
- 注6: 作業者の感染防止のため、試料溶液を滴下して試験を行う際には、テストプレートの下にラップなどを敷いて試験を行うことをお勧めします。

3) 結果の判定

- ① 試験開始 15 分後にテストライン出現位置およびコントロールライン出現位置に赤紫色のラインが観察される場合には、陽性と判定してください。
- ② テストライン出現位置に赤紫色のラインが認められず、コントロールライン出現位置にのみ赤紫色のラインが観察される場合には、陰性と判定してください。
- ③ コントロールライン出現位置に赤紫色のラインが認められない場合には、テストライン出現位置における赤紫色のラインの有無に関わらず、再試験としてください。試料溶液の展開に異常があった可能性があります。

注1: 本キットで陽性と判定された試料については、公定検査法などその他の方法にて必ず確認試験を実施してください。なお、本キットの試験に用いた増菌培養済み試料を公定検査法などの確認試験に使用することが可能です。



【性能】

1) 感度試験

本取扱説明書に記載された「試料溶液の調製」および「試験操作」に従い試験を行うとき、大腸菌 O111 が 1×10^5 CFU/mL 濃度以上のとき陽性を示します。

2) 再現性試験

大腸菌 O111 陽性の試料溶液、および陰性の試料溶液を各 3 回同時に試験するとき、陽性の試料溶液はすべて陽性、陰性の試料溶液はすべて陰性を示します。

3) 最小検出感度

大腸菌 O111 標準菌株 2 株、分離菌株 5 株による試験の結果、 $1 \times 10^4 \sim 10^6$ CFU/mL が最小検出感度であることが確認されています。

注1: 本キットの最小検出感度は、試料中の成分の影響により、変動する場合があります。

4) 交差反応性

- ① 以下の菌株との交差反応性は認められませんでした。

菌種	標準株 ID	判定結果
<i>Escherichia coli</i> 0157	ATCC25922、ATCC11775、ATCC700728、RIMD05091061	—
<i>Escherichia coli</i> 026	RIMD05091876、IID3005	—
<i>Escherichia coli</i> 01	ATCC11775	—
<i>Escherichia coli</i> 025	RIMD0509829	—
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC8090	—
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC13048	—
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC13047、ATCC49141	—
<i>Enterobacter sakazakii</i>	ATCC51329	—
<i>Escherichia hermannii</i>	JCM1473	—
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC4352	—
<i>Klebsiella oxytoca</i>	ATCC8724	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC9027	—
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC6380	—
<i>Serratia liquefaciens</i>	ATCC27592	—
<i>Serratia marcescens</i>	ATCC8100	—
<i>Serratia ororifera</i>	ATCC33077	—