

ブドウ球菌エンテロトキシン検査

欧州におけるエンテロトキシン・スクリーニングの公定法





食中毒の主な原因物質として、サルモネラによるものに次いで、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) が産生するエンテロトキシンが挙げられます。黄色ブドウ球菌以外のブドウ球菌 (*S. hyicus* や *S. intermedius* など) にもエンテロトキシンと同様の作用を持つ耐熱性タンパク質を1種類以上産生できる菌株が存在します。

一般的に、食中毒を引き起こすには、食品 1 グラムあたり 5×10^5 個のエンテロトキシン産生黄色ブドウ球菌が必要であるとされています。しかし、わずか100~200 ng のブドウ球菌エンテロトキシンでも食中毒症状を引き起こし得ることを示す研究結果もあります。

RIDASCREEN® SET Total (製品コード: R4105)

食品や培養液中の黄色ブドウ球菌エンテロトキシン A, B, C, D, E の存在を検査するための ELISA キットです。



キット構成 (96 テスト) 価格: ¥162,000

テストストリップ	8 ウェル (8 テスト/ストリップ)	12 本
陽性コントロール、陰性コントロール、洗浄バッファー (10×)、 コンジュゲート 1、コンジュゲート 2、基質/発色剤、停止液		

検出限界 (簡易法による試料調製の場合)

液体試料	0.25 ng/mL エンテロトキシン
固体試料	0.375 ng/g エンテロトキシン
培養液上清	0.25 ng/mL エンテロトキシン

検出限界 (公定法による試料調製の場合)

液体試料	0.05 ng/mL エンテロトキシン
固体試料	0.05 ng/g エンテロトキシン

RIDASCREEN® SET A, B, C, D, E (製品コード: R4101)

食品や培養液中の黄色ブドウ球菌エンテロトキシン A, B, C, D, E の存在を分別して検査するための ELISA キットです。



キット構成 (12 テスト) 価格: ¥53,000

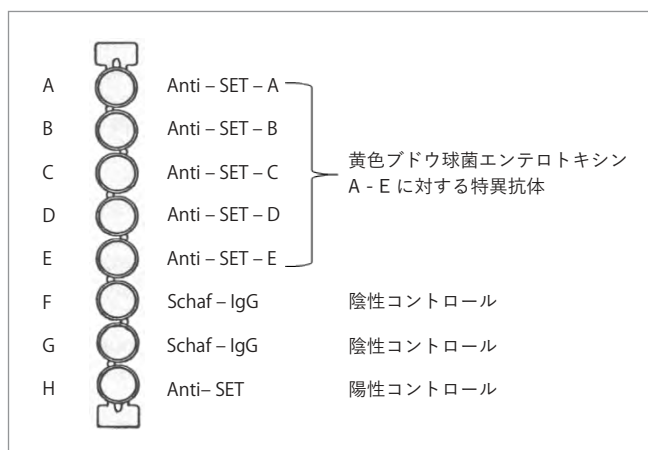
テストストリップ	8 ウェル (1 テスト/ストリップ)	12 本
陽性コントロール、洗浄バッファー (10×)、コンジュゲート 1、 コンジュゲート 2、基質/発色剤、停止液		

検出限界 (簡易法による試料調製の場合)

液体試料	0.25 ng/mL エンテロトキシン
固体試料	0.375 ng/g エンテロトキシン
培養液上清	0.25 ng/mL エンテロトキシン

検出限界 (公定法による試料調製の場合)

液体試料	0.05 ng/mL エンテロトキシン
固体試料	0.05 ng/g エンテロトキシン



ストリップのウェル A ~ E および H には、黄色ブドウ球菌エンテロトキシン A、B、C、D、E に対する特異的抗体がコーティングされています。

ウェル F および G にはコントロールとして、非免疫動物由来の抗体がコーティングされています。

1 試料で 1 ストリップを使い検査します。ウェル A ~ G に試料を分注し、H に陽性コントロールを分注して測定します。



測定試料調製の概要

乳の簡易調製法

- ・ 乳 (10～25 mL) を冷却条件下で遠心分離する：10分間 / 3500 g / 10 °C
- ・ 上層のクリーム層を完全に取り除く
- ・ 測定には 1 ウェルあたり 100 µL を使用する

パスタ、米（調理済み）、食肉、アイスクリーム、加工食品、およびその他脂肪含量が 40% 未満の食品の簡易調製法

- ・ 試料10～25 gを粉砕し、試料1 gあたり1.5 mLのPBS緩衝液 (pH 7.4) を加えて均質化する
(例：試料10 gに対し緩衝液15 mL)
- ・ 15分間振とうする
- ・ 遠心分離：10分間 / 3500 g / 10 °C (必要に応じて、上層の脂肪層を除去する)
- ・ 測定には 1 ウェルあたり 100 µL を使用する

脂肪含量が40%を超える食品の簡易調製法

- ・ 試料10～25 gを粉砕し、試料1 gあたり1.5 mLのPBS緩衝液 (pH 7.4) を加えて均質化する
(例：試料10 gに対し緩衝液15 mL)
- ・ 15分間振とうする
- ・ 遠心分離：10分間 / 3500 g / 10 °C
- ・ 水層を別の遠心チューブに移し、同量のn-ヘプタンを加えて5分間よく混合する
- ・ 遠心分離：5分間 / 3500 g / 10 °C
- ・ 上層のヘプタン層を完全に取り除く (ウェルにヘプタンが混入しないように注意する)
- ・ 測定には得られた水層 (下層) を 1 ウェルあたり 100 µL を使用する

培養液上清の簡易調製法

- ・ 培養液の上清を冷却条件下で遠心分離する：5分間 / 3500 g / 10 °C
- ・ 未沈殿または再懸濁した細胞を除くため、上清をろ過する
- ・ 測定にはろ液を 1 ウェルあたり 100 µL を使用する

公定法 EN ISO 19020 に基づく調製法

- ・ 均質化した試料 25 g を秤量し、ピーカーに移す
- ・ 40 °C に加温した蒸留水を 40 mL 加え、ブレンダーを用いてよく混合する (注：試料が液体の場合は蒸留水を加えない)
- ・ 毒素を均一に分散させるため、室温で少なくとも30分間振とうする
- ・ 塩酸を数滴加えて、pHを 3.5～4.0 の範囲に調整する
- ・ 懸濁液を 4 °C または室温 (20～25 °C) で、3130 x g 以上で15分間遠心分離する
- ・ 上清をピーカーに移し、NaOH 溶液を加えて、pHを 7.4～7.6 の範囲に調整する
- ・ 片端を閉じた 50～60 cm の透析チューブに、ガラスウールを詰めたロート (再懸濁した粒子を除去するため) を用いて中和した試料液を注ぎ、チューブのもう一端を留め具で閉じる
- ・ 試料液を充填した透析チューブを、30% (w/v) PEG溶液に入れ、5±3 °C で一晩放置し、試料液を濃縮する
- ・ PEG溶液から透析チューブを取り出し、外側を蒸留水で洗浄してPEGを完全に除く
- ・ 下記の溶液を用いて、透析チューブの内側を洗いながら濃縮試料液を回収する

試料に乳または乳製品が含まれる場合：PBS溶液

試料に乳または乳製品が含まれない場合：脱イオン水

濃縮試料の量が最終的に 5.0 g ～ 5.5 g (粘性のある場合は最大 5.8 g) になるようにして、透析チューブからガラスバイアルに移す

- ・ 測定には濃縮試料を 1 ウェルあたり 100 µL を使用する



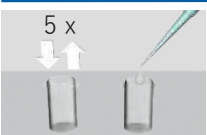
ELISA による測定

- 1



試料中に存在するブドウ球菌エンテロトキシン (SET) のウェルへの結合

 - 各ウェルに、コントロールまたはサンプルを 100 μ L 分注する
 - 35~37 $^{\circ}$ C で 1 時間インキュベートする (プレートにフタをする)
- 2



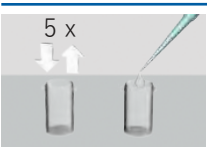
1 回目のウオッシング

 - 各ウェルを 300 μ L の洗浄バッファーで 5 回洗浄する
- 3



コンジュゲート 1 との結合

 - すべてのウェルにコンジュゲート1 を 100 μ L ずつ分注する
 - 35~37 $^{\circ}$ C で 1 時間インキュベートする (プレートにフタをする)
- 4



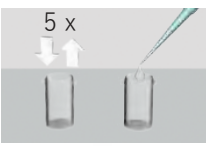
2 回目のウオッシング

 - 各ウェルを 300 μ L の洗浄バッファーで 5 回洗浄する
- 5



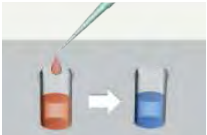
コンジュゲート 2 との結合

 - すべてのウェルにコンジュゲート2 を 100 μ L ずつ分注する
 - 35~37 $^{\circ}$ C で 30 分間インキュベートする (プレートにフタをする)
- 6



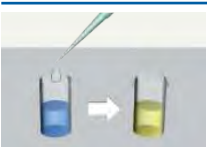
3 回目のウオッシング

 - 各ウェルを 300 μ L の洗浄バッファーで 5 回洗浄する
- 7



基質/発色剤との反応

 - すべてのウェルに基質/発色剤を 100 μ L ずつ分注する
 - 35~37 $^{\circ}$ C、暗所で 15 分間インキュベートする
 - 赤から青への色変化は、陽性サンプルであることを示す
- 8



停止液を加えて吸光度を測定

 - すべてのウェルに停止液を 100 μ L ずつ分注する
 - マイクロプレートリーダーで 450 nm の吸光度を測定する
- 9

結果の判定

 - 陰性コントロールの吸光度 (OD値) に 0.15 を加算してカットオフ値とする
 - ウェルの吸光度がカットオフ値以上の場合、その試料は陽性と判定し、カットオフ値未満の場合、陰性と判定する

本紙に記載されている価格は2026年4月現在の税別価格です

製造元：R-Biopharm AG
<http://www.r-biopharm.de>

輸入販売元：アズマックス株式会社
東京都中央区日本橋茅場町3-2-10 鉄鋼会館5F
Phone:: 03-6661-1090 FAX: 03-6661-1091
<http://www.azmax.co.jp> sales@azmax.co.jp