

# バイダス アッセイキット スタッフ エンテロトキシンII

## VIDAS Staph enterotoxin II (SET2)

30705

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ブドウ球菌エンテロトキシン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中に存在するブドウ球菌エンテロトキシンを検出するキットです。

### ※※■形状・構造等（キットの構成）

- ①SET2試薬ストリップ……………30本
- ②SET2スパー（固相）……………30本
- ③SET2スタンダード(S1)……………6 mL×1本
- ④SET2陽性コントロール(C1)……………6 mL×1本
- ⑤SET2陰性コントロール(C2)……………6 mL×1本
- ⑥SET2濃縮抽出緩衝液(R1)……………55mL×1本

### 各構成試薬の内容

①SET2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 $\mu$ L)
2	予洗液 : トリス-Tween緩衝食塩液 pH 7.6	(400 $\mu$ L)
3・4・5・7・8・9	洗浄液 : トリス-Tween緩衝食塩液 pH 7.6	(600 $\mu$ L)
6	標識抗体 : アルカリフォスファターゼ標識 抗ブドウ球菌エンテロトキシン抗体	(400 $\mu$ L)
10	蛍光基質 : 4-メチルウンベリフェリルリン酸	(300 $\mu$ L)

- ②SET2スパー（固相）は、その内壁に抗ブドウ球菌エンテロトキシン抗体がコーティングされています。
- ③SET2スタンダード(S1)は、精製ブドウ球菌エンテロトキシンAを含有しています。
- ④SET2陽性コントロール(C1)は、精製ブドウ球菌エンテロトキシンAを含有しています。
- ⑤SET2陰性コントロール(C2)は、トリス-Tween緩衝食塩液です。
- ⑥SET2濃縮抽出緩衝液(R1)は、トリス-Tween緩衝食塩液です。

本品を使用する際に他に必要な器具は、以下のとおりです。

- 500  $\mu$ L用ピペット
- 攪拌機又はストマッカータイプミキサー

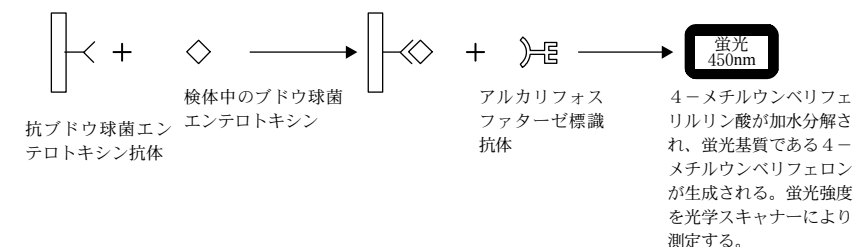
- フィルター付きストマッカー袋
- 50mL用遠心試験管
- 20mL用シリンジ
- pH試験紙
- 90% 5.5N 三塩化酢酸
- 0.3Mトリス緩衝液 (pH8.0)
- 1 N及び4 N水酸化ナトリウム
- 5 N塩酸

### ■使用目的

食品中に存在するブドウ球菌エンテロトキシンの検出

### ※※■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。検体がピペットチップ様のスパー内へ吸引されたとき、検体中のブドウ球菌エンテロトキシンがスパー内に固相化されている抗ブドウ球菌エンテロトキシン抗体に結合します。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 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、検体中のブドウ球菌エンテロトキシンを検出します。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. 検体を直接1番目のウェルに注入するだけで面倒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SET2スパー及び必要な試薬をあらかじめ封入したSET2試薬ストリップの組み合わせで測定しますので、検体及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。

### ※※■マスターロットデータの入力及びキャリブレーション補正

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データを自動又は手動で入力して下さい。またSET2スタンダード(S1)を用いて、ロット毎及び14日毎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。

## ※※■精度管理

本品に含まれているSET2陽性コントロール(C1)及びSET2陰性コントロール(C2)を用いて、精度管理を行って下さい。精度管理は、新しいロットを使用する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。

## ※※■操作上の注意

1. 熟練者が使用して下さい。
2. 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。
3. バイダスアッセイキットスタフエンテロトキシンIIには、動物由来成分が含まれており、感染の危険性があるものとして取り扱って下さい。
4. SET2陽性コントロール(C1)及びSET2スタンダード(S1)は、精製ブドウ球菌エンテロトキシンを含有しています。これらの取り扱いには保護用の上着、手袋、目がねを使用するなど、十分に留意して下さい。万が一誤って触れたり、飲みこんだ場合は、すぐに医師の診察を受けて下さい。
5. 牛乳、チーズ、生肉または調理肉、野菜などの種々の食品を用いて、本品の性能を検討しています。しかし、本品は食品に直接適用されるので、非免疫学的な妨害物質の影響があるかもしれません(例、生製品で高濃度の内因性アルカリリフォスファターゼを含有するものがあります)。膨大な種類の食品、様々な製法の食品などがあり、検査にあたっては、本品による試験が適切な方法であるかを各検査室で確認することをお勧めします。また、従来検査をしたことがない食品でブドウ球菌エンテロトキシンの試験を行おうとする場合は、陰性であることが確認されている同種の食品を試験して、妨害反応が起こらないことを確認して下さい。
6. 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。
7. 本品による測定には、ヒト検体及び動物検体を用いしないで下さい。
8. 検体は「操作方法」欄に記載された方法に従って適切に処理して下さい。
9. 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。
10. 本品は「操作方法」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「操作方法」及び「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。

## ※※■操作方法

AOAC RI Performance Test Method (No.070404), AOAC official Method of Analysis (2007.06)

各種食品(冷凍ラザニア、チョコレートエクレア、缶詰マッシュルーム、粉末卵、ローストビーフ、調理済み鶏肉、ハム、未殺菌乳、CHEDARチーズ、ヨーグルト、イタリアンサラミ、スモークサーモン、ポテトサラダ、アイスクリーム、脱脂粉乳、低温殺菌牛乳)が検討されています。

### 1. 試薬の調製方法

- (1) SET2濃縮抽出緩衝液(R1)は滅菌精製水で溶解し、1リットルに希釈し、均質化させて下さい。2~8℃で3ヶ月保管できます。濃縮緩衝液は、使用量に応じて、分量を変えて調製して下さい。希釈率は1:18とします。

その他の構成試薬は、すべてそのまま使用して下さい。

- (2) 90%トリクロロ酢酸溶液は、90gトリクロロ酢酸塩を40mL滅菌精製水で溶解し、全量を100mLとする。18~25℃で1ヶ月間保存できます。

## 2. 検体の前処理

### 食品抽出物のpH調整

3色のカラーバンドを有し、少なくとも0.5pH精度のpH試験紙の使用をお勧めします。

### 1) 一般的抽出プロトコール

- ストマッカー袋内で食品25gにあらかじめ溶解希釈した抽出緩衝液を25mL加えます
- 均質な懸濁液になるように激しく3分間良く混和します。
- 18~25℃にて15分間放置します。
- 上記の抽出緩衝液を、18~25℃、3000~5000gで15分間遠心分離します。吸収綿充填シリンジで上澄液を吸い上げて下さい。
- ろ過液のpHをチェックし、1Nの水酸化ナトリウムで7.5~8.0に調整して下さい。
- ろ過液500μLをSET2試薬ストリップのサンプル用ウェルに注入します。

### 2) 液体食品

- 濃縮食品などは製造元の指示に従って、希釈を行って下さい。
- ろ過液のpHをチェックし、必要に応じて1Nの水酸化ナトリウムで7.5~8.0に調整して下さい。
- 沈殿の見られた場合は、遠心分離し、一般的抽出法に従って懸濁液をろ過して下さい。
- ろ過液500μLをとり、SET2試薬ストリップのサンプル用ウェルに注入します。

### 3) 乾燥食品

- 同量の精製水を加えるか、もしくは製造元の指示に従って、乾燥食品をもどして下さい。
  - 上記検体を18~25℃にて、1時間放置して下さい。
  - 検体を25gとり、溶解した抽出緩衝液を25mL加えます。
  - 一般的抽出プロトコールに従って処理して下さい。
- 注) 脱脂粉乳は乳製品のプロトコールに従って処理して下さい。

### 4) 缶入り食品

- 缶入り食品全部、または一部を均質な懸濁液になるまで混和して下さい。
- 食品25gに溶解した抽出緩衝液25mLを加えます。
- 一般的抽出プロトコールに従って処理して下さい。

### 5) 生肉、海産食品及び調理肉

- 食品25gに、精製水25mLを加えます。
- 均質な懸濁液になるように激しく3分間良く混和して下さい。懸濁液が濃い場合、さらに25mLの精製水を加え、混和して下さい。
- すべての抽出液を試験管にとります。
- 5N塩酸を用いて、pHを4.0に調整して下さい。
- 18~25℃にて15分~30分放置して下さい。
- 混和した検体を、3000~5000g、18~25℃にて15分間遠心分離にかけて下さい。上澄液を吸収綿充填シリンジでろ過します。ろ過液のpHをチェックし、1N水酸化ナトリウムで7.5から8.0に調整して下さい。

- 一沈殿の見られた場合、その部分をとり、上記のとおり遠心分離して下さい。
- 一ろ過液500 $\mu$ LをSET2試薬ストリップのサンプル用ウェルに注入します。

## 6) 乳製品

### 乳製品全般のプロトコール

- 一食品25gに、あらかじめ38 $\pm$ 2 $^{\circ}$ Cに加熱した精製水40mLを加えます。
- 一均質化された懸濁液になるように激しく3分間良く混和します。
- 一18 $\sim$ 25 $^{\circ}$ Cにて、30分間放置します。
- 一pHをチェックし、5N塩酸を用いて3.5 $\sim$ 4.0に調整します。
- 一この懸濁液を18 $\sim$ 25 $^{\circ}$ C、15分間、3000 $\sim$ 5000gで遠心分離します
- 一上澄液を取り、1N水酸化ナトリウムを用いて、pH7.5 $\sim$ 8.0に調整します。
- 一pH調整した上澄液を18 $\sim$ 25 $^{\circ}$ C、15分間、3000 $\sim$ 5000gで遠心分離し、必要に応じて過します。
- 一ろ過液500 $\mu$ Lをとり、SET2試薬ストリップのサンプル用ウェルに注入します。

### 液体製品プロトコール (例 牛乳)

- 検体25mLを5N塩酸を用いて、pH3.5 $\sim$ 4.0に調整します。
- 上記の説明に従って、処理を続けて下さい。
- ポリエチレングリコールを用いた透析濃縮法 (AOACに準拠しない)
- 本法は、フランスの乳製品における公定法によって推奨されています。詳細方法は、DGAL/SDSSA/SDPPST/N2009-8136に従って下さい。
- 三塩化酢酸濃縮液 (TCA) プロトコール
- 本プロトコールは乳製品全般に存在するエンテロトキシンの濃縮に使用され、また生乳チーズなどに見られる妨害物質を抑制することができるので推奨します。

- 一最初の遠心分離までの手順は乳製品全般のプロトコールに従って、1回目の遠心分離まで、すすめて下さい。
- 一上澄液を取りだし、分量Vを計ります
- 一上澄液分量VにTCA溶液 (90%水溶液) の分量Yを加え、最終濃度5%に調整します:  $Y = V \times 5 / 100$
- 一均質化し、18 $\sim$ 25 $^{\circ}$ Cにて、30分間放置し、プロテインを沈殿させます。
- 一18 $\sim$ 25 $^{\circ}$ C、3000 $\sim$ 5000gで、30分間遠心分離します。
- 一慎重に上澄液を廃棄します。
- 一プロテインペレットを上澄液Vの1/10量のpH8.0、0.3Mトリス緩衝液で溶解します。
- 一4N水酸化ナトリウムを用いて、pH7.5 $\sim$ 8.0に調整します。このpHにおいて乳白色の溶液は透明になります。溶液中に粒子が見られるような場合は、18 $\sim$ 25 $^{\circ}$ C、15分間、3000 $\sim$ 5000gにて再度遠心分離します。
- 一ろ過液500 $\mu$ Lをとり、SET2試薬ストリップのサンプル用ウェルに注入します。

### 抽出物の保管

バイダス アッセイキット スタッフ エンテロトキシンIIによる試験は、抽出後直ちに実施して下さい。乳製品を除く食品の抽出物は-25 $\pm$ 6 $^{\circ}$ Cにて7日間保管できます。しかし、まれにシグナルの減少が見られます。

## 3. 操作方法

- (1) 本品を冷蔵庫から出して、必要な本数のSET2試薬ストリップ、SET2スパー及びその他必要な構成試薬のみを取りだし、試験室内に約30分間放置して下さい。残りは密閉して冷蔵庫に戻して下さい。

- (2) 各検体、コントロール又はスタンダードにつき、SET2試薬ストリップとSET2スパー1本ずつを用意します。スパーを取り出した後のパッケージの封をきちんと閉じて下さい。
- (3) バイダス又はミニバイダスユーザーズマニュアルの指示に従って、検体番号及びアッセイコード (SET2) を入力し、ワークリストを作成して下さい。スタンダードは二重測定して下さい。
- (4) 前処理済みの検体をボルテックスミキサーで十分に攪拌して下さい。スタンダードはピペットで正確に500 $\mu$ L計って下さい。
- (5) SET2試薬ストリップのサンプル用ウェルに前処理済み検体500 $\mu$ Lを入れて下さい。
- (6) ワークリストで指示された位置にSET2試薬ストリップ及びSET2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。
- (7) 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。
- (8) 測定は約80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。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、SET2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。
- (9) 測定終了後、SET2試薬ストリップ、及びSET2スパーを取り外し、地域の適切な規制に従い廃棄して下さい。

## ■測定結果の判定法

$$TV \text{ 値 (Test Value) } = \text{検体 (RFV)} / S1 \text{ (RFV)}$$

測定値 (TV 値)	結果の判定
<0.13	陰性
$\geq$ 0.13	陽性

- 1) 結果が0.13より低い場合は、ブドウ球菌エンテロトキシンが検出限界以下であることを示しています。
- 2) 結果が0.13以上の場合は、陽性と報告されます。

## ※※ ■測定範囲

本品は精製トキシンを用いて、トキシンA、B、C1、C2、C3、D、Eを0.25ng/mLまで検出することができます。

本品の検出限界は、本説明書に記載している各食品のプロトコールに従って検体を処理し、試験した結果によります。乳製品であれば、三塩化酢酸濃縮液プロトコールです。

トキシンを添加した次の44食品について試験しました。

一般的抽出プロトコール食品6種、缶入り食品2種、液体食品3種、乾燥食品4種、乳製品14種、肉類、調理済肉類及び魚介類15種。

添加したトキシン濃度により、得られた感度は下表のとおりでした。

	トキシン濃度 (ng/g)			
	0.1	0.25	0.5	1.0
TOXIN A	75%	93%	100%	—
TOXIN B	80%	98%	100%	—
TOXIN C2	—	84%	95%	100%
TOXIN D	—	48%	82%	95%*
TOXIN E	—	66%	93%	100%

\*仔ウシ挽肉やチーズブレッドにおいては、検出感度が1.0ng/g以上を示す。

## ■特異性

外部機関による試験で143食品マトリックスについて、社内試験で137食品マトリックスについて検討しました。一般的抽出プロトコール43種、缶入り食品19種、液体食品15種、乾燥食品17種、乳製品87種、肉製品、調理済肉及び魚介類99種のうち、偽陽性は1例（腎臓）にみられ、特異性は99.6%でした。

## ※※■AOAC RI(No.070404) プレコラボレイティブスタディー

エンテロトキシンA、B、C、D、Eを添加又は未添加の食品15種についてバイダスSET2法を用いて試験を行い、結果は下記の通りでした。

—特異性：100%

—検出限界0.25ng/gの感受性：100%（TCA濃縮法使用時）、98%（TCA濃縮法未使用時）

バイダス SET2法は、食品中に存在するブドウ球菌エンテロトキシンを検出する公認法として、DGAL/SDSSA/SDPPST/N2009-8136に記載されています。

バイダス SET2法は、AOAC Research Instituteに製品中のブドウ球菌エンテロトキシンの検出の公認法として認可されています。（認定番号 No.070404）



AOACでは冷凍ラザニア、チョコレートエクレー、缶詰マッシュルーム、粉末卵、ローストビーフ、調理済み鶏肉、ハム、未殺菌乳、チェダーチーズ、ヨーグルト、イタリアンサラミ、スモークサーモン、ポテトサラダ、アイスクリーム、脱脂粉乳が検討されています。

バイダス SET2法は、AOAC INTERNATIONALに製品中のブドウ球菌エンテロトキシンの検出の公認法として認可されています。（認定番号 No. 2007.06）

AOACでは冷凍ラザニア、チョコレートエクレー、缶詰マッシュルーム、粉末卵、ローストビーフ、調理済み鶏肉、ハム、未殺菌乳、チェダーチーズ、ヨーグルト、イタリアンサラミ、スモークサーモン、ポテトサラダ、アイスクリーム、脱脂粉乳、低温殺菌牛乳が検討されています。

## ※※■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ついたり、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てを受けて下さい。

- (3) キットを開封した時に、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封して下さい。そしてキットを2～8℃で保存して下さい。
- (4) GLP(ISO7218)に従って下さい。
- (5) 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。
- (6) キット中の容器、付属品などは他の目的に転用しないで下さい。
- (7) 使用期限を過ぎた製品は使用しないで下さい。
- (8) バイダスは微生物試験を行うことができる試験室に設置して下さい。
- (9) バイダスまたはミニバイダスは定期的に洗浄して下さい。

### 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、洗浄剤または少なくとも0.5%次亜塩素酸ナトリウムを含む消毒剤できれいに拭き取って下さい。消毒剤を含んだ状態でオートクレーブにかけないで下さい。

### 3. 廃棄

- (1) 本品の構成試薬中のSET2試薬ストリップ、SET2スタンダード(S1)、SET2陽性コントロール(C1)、SET2陰性コントロール(C2)及び蛍光基質は0.1%の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るため、下水道に廃棄する際は大量の水を流して下さい。
- (2) 使用済みの検体、構成試薬、器具などはバイオハザードの可能性ありますので、適切に処理して下さい。

## ■貯蔵方法・使用期限

2～8℃で保存して下さい（禁凍結）。

使用期限は、パッケージの☒マークのところに記載してあります。

## ■包装単位

バイダス アッセイキット スタッフ エンテロトキシンII ……………30回用

## ※※■主要文献

1. BERGDOLL M. S. - Enterotoxins I - *In Staphylococci and Staphylococcal infections* - Eds EASMON C. and ADLAM C. - Academic Press, New York, N.Y., 1983 - vol.2, p. 559-598.
2. ADESIYUM A. A., TATINI S. R. and HOOVER D. G. - *Vet. Microbiol.* - 1984, vol. 9, p. 487-495.
3. HIROOKA E. Y., MULLER E. E., FREITAS J. C., et al. - *Int. J. Food Microbiol.* - 1988, vol. 7, p. 185-191.
4. BRECKINRIDGE J. C. and BERGDOLL M. S. - *N. Engl. J. Med.* - 1971, vol. 284, p. 541-543.
5. GENIGEORGIS C. - *Int. J. Food Microbiol.* - 1989, vol. 9, p. 327-360.
6. WIENEKE A. A., GILBERT R. J. - *Int. J. Food Microbiol.* - 1987, vol. 4, p. 135-143.
7. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance*

8. Detection of staphylococcal enterotoxins types SEA to SEE in all types of food matrices – European screening method of the EU-RL for "coagulase positive staphylococci, including *Staphylococcus aureus*" Version 5, September 2010.

■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・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



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・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

※※■記号

	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
	バイオハザード

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

