

食品篩檢資訊專區

檢驗試劑套組公開資訊

公開日期： 108年06月24日

產品名稱(中/英文)		申請廠商
R-biopharm 金黃色葡萄球菌腸毒素 RIDASCREEN® SET Total		艾博方有限公司
產品編號	適用基質	檢測項目
R4105	乳製品	金黃色葡萄球菌腸毒素

產品說明/網站

本定性篩檢方法為金黃色葡萄球菌腸毒素項目之檢測，包括 A、B、C、D、E 等共五種血清型腸毒素。適用基質：乳製品。適用對象為畜牧、酪農與相關乳製品加工業者。檢測係應用酵素免疫法作為感測的原理與依據，利用金黃色葡萄球菌腸毒素之特異性抗體作為辨識，並透過親和性結合將所產生的酵素免疫複合物作用於特定的酵素受質，並於微孔盤中進行呈色反應。反應液的顏色即為實驗結果的依據，判斷樣品中是否有金黃色葡萄球菌腸毒素之殘留達到篩檢標準。篩檢方法依階段分為三個部份：樣品前處理（萃取）、檢測執行、數據與結果判讀（肉眼觀察或分光光度計讀值）。

產品內/外包裝照片



試劑內容物：

(R4105)內容物品	溶液蓋顏色	規格	溶液顏色	體積
96微孔盤	-	可直接使用		
陽性標準品	紅色	可直接使用	紅色溶液	2 ml
陰性標準品	白色	可直接使用	無色	2 ml
清洗液	咖啡色	可直接使用	10倍稀釋	100 ml
鍵結酵素液1	紅色	可直接使用	綠色溶液	11 ml
鍵結酵素液2	黑色	可直接使用	藍色溶液	11 ml
呈色劑	咖啡色	可直接使用	紅色溶液	13 ml
終止液	黃色	可直接使用		14 ml

前處理流程：

1. A. 簡易樣品前處理（萃取）方法(此流程視樣品狀態可選擇1.5. B.透析法前處理（萃取）流程)
 - 1.1. 液體乳品、生乳
 - 1.1.1. 取適量乳品約10 - 25 mL，進行冷藏離心；
(於10°C中3500 × g 共10分鐘；若無此設備，可先將樣品冷藏預冷後再進行室溫離心
3,500 × g 共10分鐘)。
 - 1.1.2. 去除上層乳脂層後(或避開乳脂層)，收集中層液作為樣品液。
 - 1.2. 乳脂肪低於40%之樣品：麵食、熟米製品、肉類、冰淇淋和加工食品。



1.2.1. 秤取適量解凍樣品，依比例加入PBS緩衝液(每10 g樣品加入15 mL PBS緩衝液)，進行均質或研磨直至均勻。

PBS緩衝液：0.55 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ + 2.85 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ + 8.7 g NaCl，使用去離子水，調整至pH 7.4 總體積1 L。

1.2.2. 震盪搖勻15分鐘。

1.2.3. 進行冷藏離心(於10°C中3500 × g 共10分鐘；若無此設備，可先將樣品冷藏預冷後再進行室溫離心3500 × g 共10分鐘)。

1.2.4. 去除上層脂肪層後(或避開脂肪層)，收集中層液作為樣品液。

1.3. 乳脂肪高於40%之樣品。

1.3.1. 秤取適量解凍樣品，依比例加入PBS 緩衝液(每10 g 樣品加入15 mL PBS 緩衝液)，進行均質或研磨直至均勻。(PBS緩衝液配方詳見1.2.1)

1.3.2. 震盪搖勻15分鐘。

1.3.3. 進行冷藏離心(於10°C 中3500 × g共10分鐘；若無此設備，可先將樣品冷藏預冷後再進行室溫離心3500 × g共10分鐘)。

1.3.4. 去除上層脂肪層後(或避開脂肪層)，將中層液吸入另一乾淨容器。

1.3.5. 加入同體積之正庚烷，震盪搖勻分鐘。

1.3.6. 進行冷藏離心 (於10°C中3500 × g共5分鐘；若無此設備，可先將樣品冷藏預冷後再進行室溫離心3500 × g共5分鐘)。

1.3.7. 去除上層正庚烷層後或避開正庚烷層，收集中層液作為樣品液。

1.4. 細菌培養液。

1.4.1. 取適量細菌培養液，進行冷藏離心(於10°C中3500 × g共5分鐘；若無此設備，可先將樣品冷藏預冷後再進行室溫離心3500 × g共5分鐘)。

1.4.2. 將上清液取出，進行無菌過濾，去除殘餘菌體，以避免反應受干擾而影響檢測品質。

- 1.4.3. 收集濾液作為樣品液。
- 1.5. B.透析法前處理（萃取）流程(此流程視樣品狀態可選擇1.A簡易樣品前處理（萃取）方法)
 - 1.5.1. 樣品均質：
 - 1.5.1.1. 固體樣品：加入40 mL 溫去離子水($38 \pm 2^\circ\text{C}$)，進行均質。
 - 1.5.1.2. 液體樣品：免加入溫去離子水，進行均質。
 - 1.5.2. 取 25 ± 0.1 g已解凍之樣品至適當容器。
 - 1.5.2.1 室溫 ($20 - 25^\circ\text{C}$) 震盪搖勻至少30分鐘。
 - 1.5.2.2 使用酸鹼儀監測樣品，並使用鹽酸數滴，調整至pH 3.5 - 4.0。若調整過程中pH < 3.5，須棄置樣品，重新執行前處理流程（檢驗流程 1.5.1 - 1.5.2）。
 - 1.5.2.3 進行冷藏 4°C 或 $20 - 25^\circ\text{C}$ 室溫離心 $3130 \times g$ 共15分鐘。
 - 1.5.2.4 將上清液取至適當的乾淨容器。若仍混濁，再次執行離心（檢驗流程 1.5.2.3）。
 - 1.5.2.5 使用酸鹼儀監測上清液，上清液須 pH < 4.5。若不符合，使用鹽酸數滴，調整至 pH 3.5 - 4.0並再次執行離心（檢驗流程 1.5.2.3）。
 - 1.5.2.6 使用酸鹼儀監測樣品，並使用NaOH數滴，調整至pH 7.4 - 7.6。若調整過程中 pH > 9.0，須棄置樣品，重新執行前處理流程（檢驗流程 1.5.2-1.5.2.6）。
 - 1.5.2.7 收集樣品液。
 - 1.5.3. 透析預備：
 - 1.5.3.1. 截切適量透析膜（載留分子量MWCO: 6 - 8 kD、膜寬 23 ± 2 mm），每樣品透析膜長度約需 50 - 60公分。
 - 1.5.3.2. 以去離子水浸潤各透析膜的內層及外層。
 - 1.5.3.3. 以封口夾（夾寬35 mm）夾住各透析膜的一端。
 - 1.5.3.4. 將玻璃棉置入乾淨漏斗中，並透過此漏斗分別注入各樣品液至各透析膜夾層中。

1.5.3.5. 以另一個封口夾夾住透析膜的另一端，使之封裝為透析包。

1.5.4. 前透析：

1.5.4.1.a. 高鹽分、高糖分樣品：

將各透析包浸泡於盛裝2 L去離子水中的容器內，室溫攪動30分鐘。於換水後再次執行本步驟一次以充分去除樣品內的高鹽及高糖成分。完成此程序後，進入1.5.4.2。

1.5.4.1.b. 一般樣品：直接進行流程1.5.4.2。

1.5.4.2. 將各透析包浸泡於盛裝 PEG 溶液(30% w/v PEG 溶於去離子水中)的容器內。

1.5.4.3. 將容器連同透析包置於 $5 \pm 3^\circ\text{C}$ 冷藏中至少8小時，進行樣品濃縮。

1.5.5. 透析後，取出透析包以去離子水沖洗外層，去除透析包外殘留的 PEG 溶液。

1.5.6. 移去透析包端口的封口夾並記錄重量。

1.5.7. 樣品回收：擠出樣品，各樣品回收約5.0 - 5.5 g。可依樣品成分使用下列沖洗液做輔助：

1.5.8.1. 含乳(製)品樣品：使用PBS緩衝液反覆沖洗透析包內層。

1.5.8.2. 非乳(製)品樣品：使用去離子水反覆沖洗透析包內層。

1.5.9. 收集回收液作為樣品液。可保存於 $5 \pm 3^\circ\text{C}$ 冷藏中至多48小時；若超過48小時後才執行後續檢測，則須置於 $\leq -18^\circ\text{C}$ 冷凍中保存。

檢測執行

2. 取出整套試劑組至 $20 - 25^\circ\text{C}$ 室溫中回溫，並穿戴乾淨手套將適量的孔槽依序組裝於微孔盤中。

2.1. 將微孔盤水平靜置於桌面上，孔槽開口朝上。

2.2. 用手搖勻陰、陽性控制組標準品，並使用新的微量吸管尖，依序各別添加 $100 \mu\text{L}$ 至不同的空孔槽中，不同標準品的添加須換用新的微量吸管尖。



(建議至少重複2孔槽，可取平均值做計算，以去除偏差值對篩檢結果的影響)

- 2.3. 使用新的微量吸管吸管尖，依序分別添加樣品液100 μ L至其它的空孔槽中。不同樣品的添加須換用新的微量吸管尖。
- 2.4. 剪取適當面積之封膜（試劑內附）將全部微孔盤完全密封。
- 2.5. 水平靜置於35 - 37°C中，反應1小時。
- 2.6. 反應後撕除並丟棄封膜。
- 2.7. 於水槽反置微孔盤，以傾倒孔槽內的所有試劑。
- 2.8. 倒置微孔盤於乾淨紙巾上輕拍打，以去除孔槽內的所有殘餘試劑。
- 2.9. 使用新的微量吸管吸管尖，依序分別添加300 μ L清洗液(試劑內附濃縮試劑Washing buffer，須以去離子水稀釋10倍)至每個空孔槽中。並以手水平輕搖微孔盤數回，使孔槽內試劑混勻。
- 2.10. 重複進行檢驗流程2.7 - 2.10，使微孔盤總共洗滌四次。
- 2.11. 使用新的微量吸管吸管尖，依序分別添加100 μ L鍵結酵素液1(試劑內附，紅色瓶蓋)至每個空孔槽中。不同樣品的添加須換用新的微量吸管尖。
- 2.12. 重複進行檢驗流程2.4 - 2.5，將微孔盤水平靜置於35 - 37°C中，反應1小時。
- 2.13. 反應後撕除並丟棄封膜。
- 2.14. 重複進行檢驗流程2.7 - 2.10，使微孔盤總共洗滌四次。
- 2.15. 使用新的微量吸管吸管尖，依序分別添加100 μ L鍵結酵素液2(試劑內附，黑色瓶蓋)至每個空孔槽中。不同樣品的添加須換用新的微量吸管尖。
- 2.16. 剪取適當面積之封膜（試劑內附）將全部微孔盤完全密封。
- 2.17. 水平靜置於35 - 37°C中，反應30分鐘。
- 2.18. 反應後撕除並丟棄封膜。

表一		判讀方式		
		目視		分光光度計A 450 nm/ 620 nm (± 10 nm)
終止液添加		-	+	+
結果	陽性	藍色 	黃色 	吸光值高於參考值， 且差值 ≥ 1.0
	陰性	無色 		吸光值低於參考值， 且差值 < 0.1



RIDASCREEN® SET Total

Art. No. R4105

檢測執行流程

1		添加樣品、標準品 <ul style="list-style-type: none"> 2.2 依序各別添加樣品、標準品，分別各為100 μL至空孔槽中。 2.5 水平靜置於35 - 37 °C，密封反應1小時。
2		第一次清洗 <ul style="list-style-type: none"> 2.7 - 2.10 添加300 μL清洗液，共洗滌四次。
3		第一次鍵結液添加(紅色瓶蓋) <ul style="list-style-type: none"> 2.11 添加鍵結液100 μL至各孔槽中。 2.12 水平靜置於35 - 37 °C，密封反應30分鐘。
4		第二次清洗 <ul style="list-style-type: none"> 2.7 - 2.10 重複添加300 μL清洗液，共洗滌四次。
5		第二次鍵結液添加(黑色瓶蓋) <ul style="list-style-type: none"> 2.15 添加鍵結液100 μL至各孔槽中。 2.16 - 2.17 水平靜置於35 - 37 °C，密封反應30分鐘。
6		第三次清洗 <ul style="list-style-type: none"> 2.19 重複添加300 μL清洗液，共洗滌四次。
7		呈色反應 <ul style="list-style-type: none"> 2.20 添加呈色劑100 μL至各孔槽中。 2.21 水平靜置於35 - 37 °C，避光反應15分鐘。 2.22 自添加最初的孔槽開始計時。
8		終止液添加(分光光度計適用) <ul style="list-style-type: none"> 3.2.2 100 μL終止液添加。 3.2.3 - 3.2.4 分光光度計讀取並紀錄結果。

陰性對照組	陽性對照組	
吸光值 < 1.0 OD 值	吸光值 ≥ 1.0 OD 值	
結果閾值	陰性結果判讀	陽性結果判讀
陰性吸光值 + 0.150 OD 值	< 結果閾值	≥ 結果閾值