藥物食品檢驗局調查研究年報. 12：60－67. 1994.
Ann. Rept. NLFD Taiwan R.O.C. 12：60－67. 1994.

利用酵素免疫法檢測金黃色葡萄球菌腸毒素之評估

洪 淑 慎* 張 翠 瑛* 柯 錫 津*

摘 要

本研究主要應用 polystyrene ball、stick、tube 及 microtitre plate 等不同型式之市售酵素免疫套組檢測食品中金黃色葡萄球菌腸毒素 (staphylococcal enterotoxins, SE) 及其型別鑑定之研究。於火腿、米飯及牛奶檢體中各添加 100 ng 之腸毒素 A (SEA)，腸毒素 B (SEB)，腸毒素 C_1 (SEC_1) 及腸毒素 D (SED)，依檢體種類直接測試或經蒸餾水萃取、酸化、離心及中和處理後以 polystyrene ball 套組測試，結果顯示 SEA、SEB、SEC_1 及 SED 之平均回收率依序爲 85.1%、124.5%、106.7%及 98.1%，變異係數介於 4.9～17.7%間。四種酵素免疫套組對於檢體中腸毒素之最低檢出量爲 0.1～1.6 ng/g。而由十件中毒食品中直接檢測金黃色葡萄球菌腸毒素，當菌數達 1.6×10^8 CFU/g 時，可測得 0.33 ng/g SEA。

Detection of Staphylococcal Enterotoxins by Commercial Immunoassay Kits

Shu-Shen Hung*, Tsui-Ying Chang* and Hsi-Chin Ko*

* *National Laboratories of Foods and Drugs, Nankang, Taipei, Taiwan, R. O. C.*

ABSTRACT

Different formats (polystyrene ball, stick, tube and microtitre plate) of commercial immunoassay kits were employed for the detection of staphylococcal enterotoxins (SEA, SEB, SEC_1 and SED) in food. Food sample (ham, cooked rice or dairy products) was mixed with 100 ng of toxin mixture and then extracted with water before subjecting to immunoassay kits. The recoveries for SEA, SEB, SEC_1 and SED were 85.1%, 124.5%, 106.7% and 98.1%, respectively, and the coefficients of variation are between 4.9 and 17.7%. Lowest detection levels of these kits for four types of toxin were 0.1～1.6 ng/g. We found SEA 0.33 ng/g in one of ten samples from outbreaks of food poisoning and *S. aureus* cell count in this sample reached 1.6×10^8 CFU/g.

Key words: Staphylococcal enterotoxins, *Staphylococcus aureus*, Immunoassay.

前 言

金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)腸毒素所引起的食品中毒是相當普遍的，1989 年由中國大陸進口至美國的洋菇罐頭，即造成一百多人腸毒素中毒事件[1]。在臺灣地區，依據行政院衛生署在 1991 年全年食品中毒案件統計病因物質判明案件資料[2]中亦以金黃色葡萄球菌所引起的細菌性中毒件數最高 (佔 48.9%)。

* 行政院衛生署藥物食品檢驗局

原載於食品科學. 1993. 20(4)：394－401.

Bergdoll[3] 曾以葡萄球菌之產物餵食猴子而造成嘔吐現象，被視爲是葡萄球菌腸毒素（staphylococcal enterotoxins, SE）所引起的，一般腸毒素來源以金黃色葡萄球菌爲主，現今已有七種腸毒素被鑑定及純化（SEA、SEB、SEC_1、SEC_2、SEC_3、SED 及 SEE）。食品中含有 100 ng 以上的腸毒素即可能造成食品中毒[4]， Evenson 等人[5]之調查亦顯示一般學校孩童平均食入 144 ng SEA 即可產生症狀。

以往美國 FDA 所使用之凝膠擴散法（gel-diffusion method），爲提高其偵測極限，檢液往往需要經耗時萃取、濃縮步驟，且其抗血清昂貴及取得不易等之缺點，因而限制其使用性[4,6,7]。而放射免疫法（radioimmunoassay, RIA）[8]、酵素免疫法（enzyme immunoassay, EIA）[9~19]及凝集反應法（agglutination）[10,20]目前皆可檢測食品中之腸毒素，這些方法由於抗原通常不需經純化或進一步確認即可檢出腸毒素[10]，因此運用於例行檢測工作是相當具有潛力。其中放射免疫法具有高靈敏度，但因儀器設備較爲昂貴，操作時需備有使用許可證，並受限於放射性物質之半衰期等因素，較不適合做爲中毒案件中腸毒素之測試方法[4,12]，而逆受身紅血球凝集試驗方法（reversed passive hemagglutination, RPHA）[20]及逆被動乳膠凝集反應方法（reverse passive latex agglutination, RPLA）[10]雖可進行腸毒素之檢測，但兩者仍局限於定性偵測，並無法精確定量腸毒素含量。

目前衛生署訂定之食品衛生標準，規定食品中不得檢出金黃色葡萄球菌，對於腸毒素則未訂定任何標準，然而由於腸毒素本身相當耐熱，往往因加工處理後菌體已死亡，但仍存有毒素，若單從疑似中毒食品中檢測金黃色葡萄球菌株之存在與否，並不能眞正完全反應食品中毒之實際狀況，因此直接自食品中檢測腸毒素之含量是較爲適當的檢驗方法[9,18]。由於酵素免疫法具有樣品處理簡單、測試快速及高靈敏度等優點[4,9,12]，故本研究將評估四種市售酵素免疫套組，比較其直接檢測食品中腸毒素含量及毒素型別鑑定之可行性，期能建立快速及高靈敏度之檢測方法，並提供食品中毒事件檢驗之參考。

材料與方法

一、試驗材料

回收試驗中所採用之火腿、米及牛奶購自超級市場。市售調查之食品檢體，自 1992 年5月至6月間，由臺北市之傳統市場、超市及零售商店抽購肉製品 22 件，米飯製品 20 件及乳製品 18 件，共計 60 件。中毒食品 10 件則由北區各縣市衛生局送驗。腸毒素標準品爲純化腸毒素A、B、C_1 及 D購自 Toxin Technology (Wiscosin, USA)。一般試藥分屬 Sigma (Missouri, USA)、Merck (Frankfurter, Germany) 及和光公司（大阪，日本）等產品。

二、酵素免疫套組

採用四種不同型式之酵素免疫套組，分別爲 staphylococcal enterotoxin SET-EIA (Toxin Technology Co., Medison, Wis., USA)、TECRA staphylococcal enterotoxin visual immunoassay kit (Bioenterprises Pty. Ltd., Roseville, Australia)、KT-ST 724 及 KT-ST 725 (Transia Co., Lyon, France)。

三、RPLA 套組檢測金黃色葡萄球菌腸毒素型別之套組

Staphylococcal enterotoxin A、B、C、D detection Kit by Reverse Passive Latex Agglutination (Denka Seiken Co. LTD., Tokyo, Japan)。

四、標準曲線之製定

SEA、SEB、SEC_1 及 SED 標準品各 1 mg 以蒸餾水溶解，並以定量瓶定容至 100 ml，

再以蒸餾水稀釋配製成 0.1～5 ng/ml 濃度之標準溶液。將 0.1、0.25、0.5、2、4 及 5 ng/ml 之四種腸毒素混合標準溶液，以 SET-EIA 套組測試，採標準溶液濃度對相對吸光值繪圖即得標準曲線[7,13]。

五、樣品與檢體前處理

(1)檢體前處理：分別稱取檢體 50 g ，置於 250 ml 離心管中。乳製品不需經前處理，即可以酵素免疫套組測試。米飯製品加入 50 ml 蒸餾水，振搖 10 分鐘後，於 4°C 下採 8,000 rpm 高速離心 15 分鐘，取上層液進行腸毒素分析。肉製品則加入 50 ml 蒸餾水，振搖 10 分鐘後，以 6 N 鹽酸溶液調整 pH 至 4.5 時，於 4°C 8,000 rpm 高速離心 15 分鐘，取上層液再以 5 N 氫氧化鈉溶液調至 pH 7.5，再次離心(條件同前)取上層液進行腸毒素分析。至於中毒檢體之前處理：米飯、草仔粿及饅頭依前述米飯製品處理，煎蛋檢體則參照肉製品方式處理，豆漿則採乳製品方式處理[12,14]。

(2)腸毒素添加回收試驗：分別稱取經確認未污染金黃色葡萄球菌及腸毒素之牛奶、米飯及火腿（以料理機預先攪碎）檢體 50 g，置於 250 ml 離心管內，添加腸毒素 SEA、SEB、SEC_1 及 SED 之混合標準溶液各 100 ng 均勻混合後，置 4°C 冷藏 30 分鐘，檢體前處理依據上述方法(1)進行，並以 SET-EIA 套組測試其回收情形。每一添加量作三重複並做對照組對照[13]。

六、酵素免疫套組之檢測

各套組的使用方法依照原廠說明書進行。

七、逆被動乳膠凝集反應套組（RPLA kit）之操作

RPLA 套組檢測金黃色葡萄球菌腸毒素型別之操作方法：依 RPLA 套組操作手册所述行之，分別取 25 μl 腸毒素標準溶液（陽性對照組）及已經 3,000 rpm 離心 15 分鐘之上層 BHI 培養澄清菌液，置於微量V型孔洞中，再加入 25 μl SET-RPLA（A、B、C、D）之感受性試劑與之作用，並另取套組所附 25 μl 之未感受性試劑（陰性對照組）與 25 μl 腸毒素標準溶液作用，於室溫下靜置 18～20 小時後觀察，當中心部有紅點沉降時爲負反應，反之則爲正反應。

八、金黃色葡萄球菌之鑑定與計數

依照中國國家標準 CNS 12542, N6214 方法進行檢驗，在 35°C 培養 45～48 小時後，挑取可疑菌落進行凝固酶試驗及觸酶試驗，同時以微生物全自動鑑定儀（AMS Vitek Jr., Vitek System Inc., Missouri, USA）鑑定菌株種類，並予以計數。

結 果 與 討 論

一、市售酵素免疫套組之評估

本研究採用四種市售酵素免疫套組，偵測由金黃色葡萄球菌產生之腸毒素，套組間之差異性列於表一。四套 EIA 套組分屬於三種廠牌，其中 TECRA、KT-ST 724 及 KT-ST 725 皆屬於定性測試，所需檢測時間較短，皆少於 5 小時，而 KT-ST 725 尚可將腸毒素之型別加以鑑定。SET-EIA 套組爲半定量（semiquantitative）型式，其靈敏度最高，以腸毒素標準溶液測試可達 0.1 ng/ml ，且可區分腸毒素型別，但所需檢測時間較長，Wieneke 及 Gilbert[11] 亦提及 ball system 雖然靈敏度較 microtitre plate 佳，但有操作不易之缺點。四套 EIA 套組所使用之抗體形式雖有 polyclonal、monoclonal ，或者兩者併用，且分別吸附於 4 種不同型式之 Polystyrene ball、stick、tube 及 microtitre plate ，但其反應機制相同，皆屬於三明治（sandwich）型之酵素免疫套組。

表一　市售檢測葡萄球菌腸毒素酵素免疫套組之比較
Table 1. Commercial immunoassay kits for the detection of staphylococcal enterotoxins evaluated in this study

Kit[a]	required Time	Cost (N. T. $/test)	Minimum detection level (ng/ml)	Format	Enterotoxin identified	Antibody type
SET-EIA	20~22 h	200	0.1	polystyrene ball	A, B, C, D	polyclonal
KT-ST 725	4~5 h	680	1.0	stick	A, B, C, D, E	monoclonal
KT-ST 724	2 h	600	0.2~0.4	tube	none[b]	monoclonal & polyclonal
TECRA	3~4 h	290	1.0	microtitre plate	none[b]	polyclonal

[a] Supplier: SET-EIA, Toxin Technology Co.; KT-ST 725 & KT-ST 724, Transia Co.; Tecra, Bioenterprises Pty. Ltd.
[b] The kit cannot be used for the identification of a specific toxin type.

二、四種套組適用性之比較

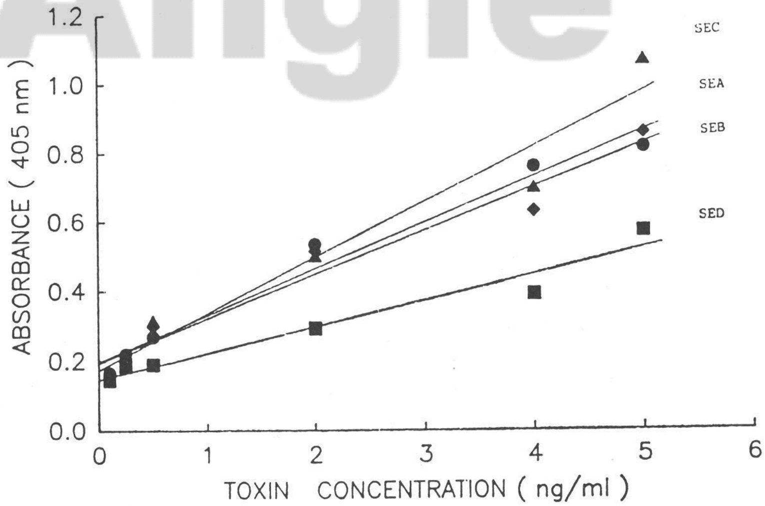
由表一中比較四種套組之適用性，TECRA 與 KT-ST 724 套組皆可偵測 SEA、SEB、SEC_1、SEC_2、SEC_3、SED 及 SEE 等 7 種腸毒素，且操作簡易及套組所需反應時間短，頗適合於快速檢測腸毒素，但若腸毒素以混合型式產生，則無法精確測得腸毒素各別含量及判定毒素型別。 KT-ST 725 套組雖可鑑定腸毒素A、B、C、D及E型別，但測試結果以肉眼觀察，較不易判定且無法定量。因此若欲偵測食品中未知型別之腸毒素含量，在四種選用的 EIA 套組中，唯有採用 SET-EIA 套組較爲合適，但此套組無法偵測 SEE ，故可能造成檢驗上的遺漏。

三、樣品之處理及回收率

酵素免疫法主要是利用抗體與抗原間特有之結合反應，而有極高之專一性，因此有關樣品前處理方面，Smith Bencivengo[9] 及之研究報告顯示使用 ELISA 法檢測食品中之 SEA 含量時，並不需要太繁雜的前處理，液體製品如牛奶直接以套組測試卽可，而 Ewald[13] 及 Notermans 等人[14] 對肉製品之處理方式則採調整 pH 值至 4.5 時，使大部分可溶性蛋白質沉澱後，再以離心、重新調整 pH 值至適合套組測試範圍，至於肉品中之油脂去除方式，Notermans 等人[14] 則以 10%氯仿處理檢液，而本研究在準備試驗中以 10%氯仿、脫脂棉花過濾[13]及低溫高速離心法[9]三種方式處理檢液，結果其回收率以低溫高速離心法較佳。而關於以酵素免疫法檢測米飯製品之文獻相當缺乏，因此仍依照 SET-EIA 套組原廠說明書之米飯檢體方式處理。 在本土各類食品如採用酵素免疫法檢測其金黃色葡萄球菌腸毒素含量時，原則上其樣品前處理方式依照乳製品、米飯製品及肉製品三類加以分類，並以與待測檢體組成相近之食品做爲對照組，以排除檢驗時樣品基質之干擾。

Reiser 等人[6] 强調測定腸毒素之方法應可自 100 g 食品中偵測 125~250 ng 腸毒素含量，才能眞正確保食品品質之安全。圖一以 SET-EIA 套組測試四種腸毒素之標準曲線，當 SEA、SEB、SEC_1 及 SED 濃度爲 0.1~5 ng/ml ，相當於 50 克檢體中含有 5~250 ng 之四種腸毒素，標準曲線之線性迴歸係數分別爲 0.987、0.980、0.977 及 0.977。而外添加 100 ng 之四種混合腸毒素於火腿、米飯及牛奶中（表二），結果顯示 SEA 於三種檢體中之平均回收率爲 85.1%，與 Freed 等人[4] 添加 0.06~0.125 μg SEA 於 100 g 食品所得回收率 50~80%及 Notermans 等人[14] 於絞肉中添加 SEA、SEB、SEC 和 SEE 之回收率 40~80%之結果相近，至於本研究中 SEC_1 與 SED 之添加平均回收率亦皆在 98%以上，而四種腸毒素之變異係數則介於 4.9~17.7%間。

食品中毒案件中， 往往很難找到與待測可疑食品組成相近之食品做爲對照組時， Wieneke 及 Gilbert[11] 建議採用 4 個表面被覆 Normal Rabbit Serum (NRS) 之對照球與檢液同時反應並



圖一 以 SET-EIA 酵素免疫套組檢測金黃色葡萄球菌腸毒素 SEA (●)、SEB (◆)、SEC_1 (▲) 及 SED (■) 之標準曲線

Fig. 1. Standard curves for the determination of staphylococcal enterotoxins by SET-EIA kit. ●, SEA; ◆, SEB; ▲, SEC_1; ■, SED.

表二 不同食品中添加四種金黃色葡萄球菌腸毒素之回收率

Table 2. Recovery of staphylococcal enterotoxins from food

Sample	Percentage of recovery (coefficient of variation)[a]			
	SEA	SEB	SEC_1	SED
Ham	71.8(11.8)	164.1(4.9)	125.6(13.0)	119.6(5.0)
Cooked rice	79.0(6.4)	70.8(7.9)	84.8(7.5)	79.6(7.4)
Milk	104.4(15.1)	138.6(5.4)	109.8(17.7)	95.2(5.7)
Mean	85.1(11.1)	124.5(6.1)	106.7(12.8)	98.1(6.0)
Factor				
Ham	6.2(8.3)	5.8(7.4)	5.4(10.6)	2.9(3.7)
Cooked rice	6.4(4.5)	6.3(2.6)	6.1(9.7)	2.8(4.1)
Milk	7.2(6.4)	7.1(3.6)	6.9(7.8)	4.4(3.8)

[a] Fifty gm of food spiked with 100 ng of SEA, SEB, SEC_1 and SED, and detected by SET-EIA kit, each value was presented as the average of triplicate.

進行腸毒素之分析，並以樣品在 405 nm 下之吸光值除以 $x+3s$（x 為對照球之平均吸光值，s 則為其標準偏差值）可得 F 值，在不需建立標準曲線及尋求與待測檢體組成相似之對照組時，當 $F \geq 1$ 即可判定含有某種型式之腸毒素，而達到快速半定量之功效，不過為避免非特異性物質之干擾，F 值大多介於 5～20 之間[10,13]，才可視為含有腸毒素，由表二中於 50 克檢體添加 100 ng 之 4 種混合腸毒素，以 SET-EIA 套組測試之結果顯示皆呈陽性反應，且其 SEA、SEB 及 SEC_1 之 F 值皆在 5 以上，而 SED 數值則介於 2～4 之間，顯示若以 SET-EIA 套組測試可疑中毒食品，當 F 值大於 5 且偵測出含有上述四種腸毒素時，則可推知含量約達 100 ng 左右。

四、檢體中腸毒素之最低檢出量

於 50 g 檢體中添加 5～90 ng 之 SEA、SEB、SEC_1 及 SED ，以四種 EIA 套組測試（表三），結果顯示檢體中腸毒素之最低檢出量 SET-EIA 爲 0.1～1.0 ng/g ，尤其對 SEA 感度最佳，三種檢體之檢出量皆爲 0.2 ng/g，但對 SED 則較不靈敏爲 0.8～1.0 ng/g 。KT-ST 725 則以 SEB 及 SEC_1 感度較佳，感度在 0.2～0.4 ng/g 之間，而 SEA 及 SED 感度較差，爲 1.2～1.6 ng/g。至於 KT-ST 724 與 TECRA 皆是測偵腸毒素之總量，其感度前者爲 0.2～0.6 ng/g，後者則介於 0.4～0.6 ng/g 間，是故四套市售酵素免疫套組對 50 g 檢體中腸毒素偵測之靈敏度皆可達 80 ng 。 Wieneke 及 Gilbert[10,11] 之研究顯示 gel diffusion 方法靈敏度可檢測 100 g 食品中 0.5 μg 腸毒素，而運用 RPLA 方法於回收試驗時，偵測 100 g 檢體中腸毒素之靈敏度亦只達 0.4～4 μg ，因此目前利用免疫方法檢測食品中之金黃色葡萄球菌腸毒素，在不經濃縮檢液之處理下，仍以酵素免疫法的靈敏度較佳。

表三　以酵素免疫套組偵測不同食品中腸毒素之最低檢出限量

Table 3. Minimum level of staphylococcal enterotoxins in foods detected by commercial immunoassay kits

Sample	Minimum level of detection (ng/g)[a]									
	SET-EIA				KT-ST 725				KT-ST 724[b]	TECRA[b]
	SEA	SEB	SEC_1	SED	SEA	SEB	SEC_1	SED		
Ham	0.2	0.2	0.2	1.0	1.6	0.2	0.2	1.6	0.4	0.4
Cooked rice	0.2	0.8	0.4	1.0	1.2	0.2	0.2	1.2	0.2	0.4
Milk	0.2	0.1	0.2	0.8	1.4	0.4	0.4	1.2	0.6	0.6

[a] Average of duplicate.
[b] Mixture of toxins, SEA:SEB:SEC_1:SED=1:1:1:1 (w/w).

五、市售食品及中毒案件之實例

金黃色葡萄球菌污染食品之情形是相當普遍，本局曾於 1990 年 9 月至 1991 年 6 月間抽購市售 196 件食品，其中肉製品檢出金黃色葡萄球菌之檢出率爲 25%，米飯製品檢出率則爲 16%，此結果與本研究自市面抽購 60 件食品其金黃色葡萄球菌檢出率爲肉製品 27.3% (6/22)，米飯製品 25.0% (5/20) 及乳製品 16.7% (3/18) 之檢驗結果相近。又本文中檢出金黃色葡萄球菌菌數以肉製品最高，可達 3×10^5 CFU/g，米飯製品及乳製品則菌數不高，皆在 10^3 CFU/g 以下。而以 TECRA 套組直接自食品中檢測腸毒素，發現 4 件生香腸檢體有疑似陽性反應，但經 SET-EIA 及 KT-ST 724 套組測試，則均未檢出腸毒素。

表四由疑似中毒食品（經微生物全自動鑑定儀及 RPLA 檢測其可疑菌株，均含金黃色葡萄球菌株且產腸毒素型別爲 SEA）中直接測腸毒素，其中只有 No. 4 檢體之菌數超過 8.20 Log CFU/g（達 1.6×10^8 CFU/g），並以 SET-EIA 套組檢測 50 g 檢體中可測得 16.7 ng 之 SEA，即濃度爲 0.33 ng/g。然而 TECRA 套組未能檢測到檢體中所含 SEA，可能因其靈敏度 (0.4 ng/g) 低於檢體中腸毒素含量所致。Noleto 及 Bergdoll[19]指出當致病性金黃色葡萄球菌菌數達 10^7 CFU/ml 時，才可能可偵測到腸毒素， Wieneke 及 Gilbert[10] 之研究亦顯示金黃色葡萄球菌菌數低於 10^6 CFU/g，無法以ELISA方法檢出食品中腸毒素之含量。因此，自市售食品中未檢測出腸毒素，或在已檢出由金黃色葡萄球菌球所造成之食品中毒事件中，但却無法直接自食品中檢出腸毒素之原因，除了可能因爲菌數數目過低，導致產毒量在酵素免疫檢測套組靈敏度以下外[3,15]，亦可能由於測試食品並非眞正爲原因食品或食餘檢體及腸毒素在食品中分布不均等情形[10]，因此除了選擇適當腸毒素檢

表四　直接自中毒食品中檢測金黃色葡萄球菌及腸毒素

Table 4. Detection of *S. aureus* and enterotoxins in foods involved in outbreaks of food poisoning

No.	Source of isolation	Log CFU/g	SET-EIA (ng/g)	TECRA (ng/g)	RPLA
No. 1	Cooked rice (米飯)	6.45	—	—	SEA
No. 2	Cooked rice (米飯)	6.97	—	—	SEA
No. 3	Cake (草仔粿一紅豆餡)	6.87	—	—	SEA
No. 4	Cake (草仔粿一菜脯米餡)	8.20	0.33	—	SEA
No. 5	Cake (草仔粿一菜脯米餡)	4.68	—	—	SEA
No. 6	Cake (草仔粿一紅豆餡)	5.49	—	—	SEA
No. 7	Fried egg (煎蛋)	4.43	—	—	SEA
No. 8	Steamed bread (饅頭)	—	—	—	—
No. 9	Steamed bread (饅頭)	—	—	—	—
No. 10	Soybean milk (豆奶)	—	—	—	—

—, Not detected.

測方法，亦應考慮樣品取樣之正確性。

雖有文獻指出腸毒素之直接檢測，並不能完全取代金黃色葡萄球菌菌數之檢驗，因為當有大量金黃色葡萄球菌存在時，雖未檢測出腸毒素，但亦表示食品衛生狀況不佳[10]，然而更多學者强調直接自食品中檢測腸毒素，對於保障食品品質之安全應較為合理[16~18]。目前酵素免疫法由於檢體前處理簡易，所需測試時間較傳統之凝膠擴散法短且靈敏較佳，雖然由於所選用之檢測方法的不同，可能遺漏某些已知（如 SEE）或尚未鑑定出之腸毒素，然而運用於偵測緊急之食品中毒事件，仍不失為一種快速便捷的腸毒素鑑定方法之一。

參 考 文 獻

1. Hardt-English, P., York, G., Stier, R. and Cocotas, P. (1990) Staphylococcal food poisoning outbreaks caused by canned mushrooms from China. Food Technol. **44**: 74.
2. 行政院衛生署 (1992) 民國 80 年臺灣地區食品中毒發生狀況。p. 5，行政院衛生署，臺北市。
3. Bergdoll, W. S. (1989) *Staphylococcus aureus*. In "Foodborne Bacterial Pathogens", p. 463. Ed. Michael P. D., Marcel Dekker Inc., N. Y.
4. Freed, R. C., Evenson, M. L., Reiser, R. F. and Bergdoll, M. S. (1982) Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of staphylococcal enterotoxins in food. Appl. Environ. Microbiol. **44**: 1349.
5. Evenson, M. L., Hinds, M. W., Bernstein, R. S. and Bergdoll, M. S. (1988) Estimation of human dose of staphylococcal enterotoxin A from a large outbreak of staphylococcal food poisoning involving chocolate milk. Int. J. Food Microbiol. **7**: 311.
6. Reiser, R., Conaway, D. and Bergdoll, M. S. (1974) Detection of staphylococcal enterotoxin in foods. Appl. Microbiol. **27**: 83.
7. Thompson, N. E., Razdan, M., Kuntsmann, G., Aschenbach, J. M., Evenson, M. L. and Berdgdoll, M. S. (1986) Detection of staphylococcal enterotoxins by enzyme-

linked immunosorbent assay and radioimmunoassays: comparison of monoclonal and polyclonal antibody systems. Appl. Environ. Microbiol. **51**: 885.

8. Bergdoll, M.S. and Reiser, R. (1980) Application of radioimmunoassay for detection of staphylococcal enterotoxins in foods. J. Food Proect. **43**: 68.
9. Smith, J.J. and Bencivengo, M.M. (1985) A review of methods for detection of staphylococcal enterotoxins and evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay applied to foods. J. Food Safaty **7**: 83.
10. Wieneke, A.A. and Gilbert, R.J. (1987) Comparison of four methods for the detection of staphylococcal enterotoxin in foods from outbreaks of food poisoning. Int. J. Food Microbiol. **4**: 135.
11. Wieneke, A.A. and Gilbert, R.J. (1985) The use of a sandwich ELISA for the detection of staphylococcal entertoxin A in foods from outbreaks of food poisoning. J. Hyg. Camb. **95**: 131.
12. Stiffler-Rosenberg, G. and Fey, H. (1987) Simple assay for staphylococcal enterotoxins A, B, and C: Modification of enzyme-linked immunosorbent assay. J. Clin. Microbiol. **8**: 473.
13. Ewald, S. (1988) Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of staphylococcal enterotoxin in food. Int. J. Food Microbiol. **6**: 141.
14. Notermans, S., Boot, R., Tips, P.D. and de Nooij, M.P. (1983) Extraction of staphylcoccal entertoxins (SE) from minced meat and subsequent detection of SE with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). J. Food Prot. **46**: 238.
15. Lopes, H.R., Noleto, A.L.S. and Bergdoll, M.S. (1991) Production of staphylcoccal enterotoxins A, D, and E by sac culture. J. Food Prot. **54**: 650.
16. Neumary, L. and Kramer, J. (1990) Production of enterotoxin A and thermonuclease by *Staphylococcus aureus* in legumes. Int. J. Food Microbiol. **10**: 225.
17. Hirooka, E.Y., de Salzberg, S.P.C. and Bergdoll, M.S. (1987) Production of staphylococcal enterotoxin A and thermonuclease in cream pies. J. Food Prot. **50**: 952.
18. Notermans, S. and van Otterdijk, R.L.M. (1985) Production of enterotoxin A by *Staphylococcus aureus* in food. Int. J. Food Microbiol. **2**: 145.
19. Noleto, A.L. and Bergdoll, M. (1980) Staphylococcal enterotoxin production in the presence of non-enterotoxilgenic staphylococci. Appl. Environ. Microbiol. **39**: 1167.
20. 曾信雄 (1988) 產腸毒素金黃色葡萄球菌之完全檢測與影響其增殖與產毒之因子。藥物食品檢驗局調查研究年報，**6**: 10。

(Accepted July 17, 1993)