

Read kube 沙门氏菌 (SLM)

仅供实验室用

READ KUBE 沙门氏菌 (SLM) 试剂盒是在免疫分析系统 (READ KUBE) 上用自动定性酶联荧光免疫分析 (ELFA) 原理来检测食品及环境样本中的沙门氏菌。

概述

沙门氏菌是引起食物中毒的主要病原菌之一。用于食品中沙门氏菌检测的标准培养方法耗时长，阴性结果的确认需要五天的时间⁽²⁾。酶免疫分析筛选技术可使该实验简化并缩短时间。READ KUBE 沙门氏菌试剂盒 (SLM) 是检测食品和环境样品中沙门氏菌的全自动酶免疫分析技术。沙门氏菌抗原复杂，通过对菌体 (O) 脂多糖和鞭毛 (H) 蛋白抗原的鉴别可区分为 2200 个血清型。⁽³⁾ READ KUBE SLM 技术应用针对 O 和 H 抗原的高特异性单克隆抗体，能够检测有动力或无动力的沙门氏菌。四十五分钟内完成测定。

实验原理

READ KUBE 沙门氏菌试剂盒是用自动化 READ KUBE 设备进行的酶联荧光免疫分析 (ELFA) (参见 READ KUBE 操作手册)。

固相容器 (SPR) 是类似于加样头的一次性装置，用作固相及加样器之用。SPR 用抗沙门氏菌抗体包被。实验所需试剂均封闭在试剂条内。

READ KUBE 系统自动完成全部实验程序。将煮沸过的增菌肉汤加于试剂条上，样品将在 SPR 内定时循环，样品中的沙门氏菌抗原与包被在 SPR 内壁的沙门氏菌单克隆抗体结合，未结合的样本则被洗去。抗体-碱性磷酸酶复合物在 SPR 内外循环并与 SPR 内壁捕获的沙门氏菌抗原结合，最后洗去未结合复合物。

SPR 中加入荧光底物，4-甲基-香豆素-磷酸酯，SPR 壁上存留的酶将催化底物分解为荧光产物 4-甲基-伞形酮。READ KUBE 的光扫描仪在 450nm 处自动测定荧光强度。

实验结束时，计算机自动分析结果，得出检测值，并打印出每份样品的结果报告。检测值与阈值相比较并给出解释 (阳性，阴性)。

READ KUBE 沙门氏菌试剂盒的组成 (60 人份)

60 个 SLM 试剂条	成品试剂，参考下表
60 个 SLM SPR	SLM SPR 的内面制造时已用沙门氏菌单克隆包被。
1 瓶标准液 (6ml) S1	纯化，灭活的沙门氏菌抗原，含防腐剂和蛋白稳定剂。 MLE 卡上“标准 (S1) RFV 值范围”栏下表示可信区间范围。
1 瓶阳性对照 (6ml) C1	纯化，灭活的沙门氏菌抗原，含防腐剂和蛋白稳定剂 MLE 卡上“质控 C1 值范围”栏下表示荧光值的可信区间范围
1 瓶阴性对照 (6ml) C2	150 mmol/l TRIS 缓冲盐 (TBS) - Tween pH 7.6 +防腐剂的。 MLE 卡上“质控 C2 值范围”栏下指出最大可接受值。

说明

SPR

SRP 在生产时以抗沙门氏菌单克隆抗体包被。每一 SPR 上均标有“SLM”。仅从**包装袋中取出所需数量的 SPR 并及时封闭包装袋。**

试剂条

包含 10 个以箔封的孔，并覆以标签，标签上有条形码，显示测试种类，试剂盒批号、有效期等。第一孔加入样本，最后一孔是荧光测定用比色杯。中间各孔含有实验用各种试剂。

沙门氏菌试剂条说明

孔	试剂
1	样本孔：该孔加 500 煮沸过的增菌肉汤、标准或对照。
2	前洗涤液 (400 μ l)：缓冲盐 - Tween pH 7.6 + 防腐剂。
3 - 4 - 5 - 7 - 8 - 9	洗涤液 (600 μ l)：缓冲盐 - Tween pH 7.6 + 防腐剂。
6	酶结合物 (400 μ l)：碱性磷酸酶标记多克隆抗沙门氏菌抗体+防腐剂。
10	含底物的比色杯 (300 μ l)：4-甲基-伞形磷酸盐+ 二乙醇氨 (DEA) (0.62 mol/l 或 6.6%, pH 9.2) + 防腐剂。

实验名称、批号、失效期均标在试剂条的条形码上。

*刺激性试剂

- R36: 对眼睛有刺激
- S26: 一旦入眼，立即以大量清水冲洗并就医。

试剂盒未提供但应具备的设备

- 最小加样量为 0.5ml 的加样器。
- 水浴箱 (95-100 $^{\circ}$ C) 或相当装置。
- 缓冲蛋白胍水
- 缓冲蛋白胍水 225ml
- 缓冲蛋白胍水 3L 装
- 缓冲蛋白胍水 90ml 瓶装
- Rappaport Vassiliadis Soy 肉汤
- Muller-Kauffmann Tetrathionate 肉汤含新生霉素
- Rappaport Vassiliadis Soy 肉汤
- 亚硒酸盐胱氨酸肉汤
- 沙门氏菌属肉汤
- M 肉汤
- 选择性琼脂平板：

如：

- Hekion 琼脂
- SMID2 琼脂
- XLD 琼脂
- 硫酸铋琼脂。
- 带滤膜的消化袋。

注意事项

- 仅作为专业用途
- 请将 READ KUBE 系统放置在微生物检测的专用房间。
- 试剂盒的东西都是来源于动物，未被证明不含致病性传播因素，因此所有的东西都因被看作是具强传染性的而需做好常规的安全预防措施。（禁止吞入或吸入）。
- 不要使用包装袋已破的 SPRs。

- 不要使用明显可见包装破损的 SPRs (铝箔或塑料损坏)。
- 不要使用超出有效期的试剂。
- 不同批号试剂请勿混合使用。
- 试剂中含叠氮钠，该物质可与铅或铜管道反应形成爆炸性金属叠氮物。如果含叠氮钠的液体在这样的管道系统中处理，要用大量的水冲洗以避免形成金属叠氮物。
- 加有底物的比色杯（第 10 孔）含有刺激性试剂（乙醇氨），参照以上的标记“R”和“S”。
- 试剂盒的所有试剂均为潜在生物危险材料。因此，通过可接受的方法来处理所有使用过的试剂和其它污染材料。
- 常规清洁和清洗 READ KUBE 仪器，参阅 READ KUBE 操作手册有关步骤。

保存

- READ KUBE SLM 试剂盒存于 2-8 $^{\circ}$ C。
- 勿冷冻试剂。
- 打开试剂盒后，SPR 包装袋应密封完好，无破损，否则请不要使用 SPR。
- 从密封袋内取出所需 SPR，其余 SPR 应封好包装，并放回 2-8 $^{\circ}$ C，有利于试剂的稳定，
- 如果按照推荐的方法保存，所有试剂在有效期内保持稳定。

样本制备

使用之前将前增菌肉汤和增菌肉汤放置室温(18-25℃)。

沙门氏菌简化方案的阳性结果确认:

1. 所有 READ KUBE SLM 阳性结果都必须确认。确认试验应该依照 CEN, ISO 或 AFNOR⁽⁸⁾ 方法中描述的用 SX 肉汤进行。

如果结果有差异 (READ KUBE 阳性, 而参考方法不能确认), 则实验室必须采取必须的步骤保证实验的正确性。我们推荐以下方法: 从 SX 肉汤中移 0.1ml 至 RVS 肉汤, 41.5±1℃ 孵育 18-24 小时之后接种选择性培养基。