

## Read kube UP E.coli O157: H7(ECPT)

仅供实验室用

Read kube UP大肠杆菌 O157: H7 (ECPT) 分析在免疫分析系统 Read kube上利用特异噬菌体捕获技术，对食品、土壤和环境样本中潜在的肠出血型大肠杆菌 O157进行自动定性检测。

### 概述

大肠杆菌 O157:H7是公认的出血性肠炎的病原菌，在美国、加拿大、英国、日本以及比利时造成数起爆发感染（1, 2）。除牛奶、苹果汁，沙拉及菠菜可引起感染外，最常见的感染源是生牛肉。

肠痉挛和血性腹泻是 O157:H7感染后的典型症状。约10%的病人发展成急性肾衰（溶血性尿毒综合征）。

易感人群多为 5岁以下小孩及老人（3）。Read kube®ECPT试剂基于重组噬菌体尾丝蛋白方法，特异性检测含 H7型在内的大肠杆菌 O157。最新研究表明许多无动力大肠杆菌 O157血清型菌株携带毒力基因具有致病性（4, 5, 6）。

### 原理

Read kube®ECPT测试是在 Read kube®仪器上应用 ELFA技术，自动检测大肠杆菌 O157的酶联免疫分析方法。（参见用户手册）

### SPR®

SPR\* 在生产时以重组噬菌体尾丝蛋白包被。仅从包装袋中取出所需数量的SPR\* 并及时封闭包装袋。

固相容器（SPR®）是类似于加样头的一次性使用装置，在检测中起固相及加样器之用。SPR®内部用重组噬菌体尾丝蛋白包被，可捕获含 H7 型在内的大肠杆菌O157。实验所需试剂均为成品试剂，封闭在试剂条里。

所有检测步骤均自动由Read kube®仪器完成。反应培养基在 SPR®内、外反复循环。

部分增菌肉汤被分配至试剂条，包被在 SPR®内壁的重组噬菌体尾丝蛋白捕获样本中含 H7型在内的大肠杆菌O157，未结合的其他成分通过洗涤步骤清除。标记有碱性磷酸酶的抗体也在 SPR®内、外循环并与 SPR®内壁上噬菌体尾丝蛋白所捕获的含 H7型在内的大肠杆菌 O157结合。

最后洗去未结合的抗体标记物。

SPR®中所用荧光底物为磷酸 4-甲基伞型物。与结合在 SPR®壁上的酶将催化底物转变成具有荧光的产物：4-甲基伞形酮。在 Read kube®中由光扫描器在 450nm处检测该荧光强度。

实验完成时，仪器自动分析结果，得到每份样品的测试值。通过内部标准比对（阈值）生成分析报告（阴性或阳性）。

### 试剂盒组成（30测试/盒）

30个 ECPT试剂条	STR	成品试剂
30个 ECPTSPR®s	SPR	成品试剂 内壁包被重组噬菌体尾丝蛋白的 SPR®管
ECPT标准品 (1x6ml)	S1	成品试剂 纯化并灭活的膜提取物+防腐剂+蛋白稳定剂 MLE卡上：：标准 S1RFV值范围兰栏表示可信区间范围
ECPT 阳性质控 (1x6ml)	C1	成品试剂 纯化并灭活的膜提取物+防腐剂+蛋白稳定剂 MLE卡上：：质控 C1值范围兰栏表示可信区间范围
阴性质控 (1x6ml)	C2	成品试剂 TRIS缓冲盐(TBS) (150mol/l)-TwenpH7. 6+防腐剂 MLE卡上：：质控 C2值范围兰栏表示最大可接受值
1MLE卡		包含校正测试所需的工厂校正数据
1份产品说明书		

## ECPT试剂条说明

孔	试剂
1	样本孔：此孔加入 50 $\mu$ l 增菌肉汤，标准或质控。
2	前洗涤液（40 $\mu$ l）：TRIS-NaCl (150mol/1) (/) TwenpH7.6+防腐剂。
3-4-5-7-8-9	洗涤液（60 $\mu$ l）：TRIS-NaCl (150mol/1) (/) TwenpH7.6+防腐剂。
6	酶标记物（40 $\mu$ l）：碱性磷酸酶+防腐剂。
10	含底物（30 $\mu$ l）的比色杯：磷酸 4-甲基伞形物 (0.6mol/1)+二乙醇胺* (DEA) (0.62mol/1或 6.6%, pH9.2)+防腐剂。

## 未提供但应具备的设备

- 加样量为 50 µl 的加样装置。
- 带滤过装置的 Stomacher®均质袋
- Read kube®ICE 试剂盒。
- chromID-4:0157:H7琼脂。
- 头孢磺啶。
- 头孢克肟。
- 万古霉素。

## 供参考物品

- 缓冲蛋白胨水
  - 3升袋装
  - 25ml 瓶装
  - 25ml 小袋装
  - 90ml 瓶装
- 头孢克肟—亚碲酸钾混合物 (CT)
- SMAC CT 琼脂

## 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。
- 请遵循良好的实验室规范。（如：ISO7218(7)标准）
- 肠出血性大肠杆菌 0157是 3T(\*)细菌的一种。处理标本时需依照规定做好预防措施。
- 试剂盒内物品均来源于动物，未被证明不含致病性传播因素，因此所有物品都应视为具有潜在的传染性，需做好常规的安全预防措施。（禁止吞入或吸入）。
- 不要使用明显可见包装破损的 SPR®s。
- 不要使用明显可见破坏的 STR®s（铝箔或塑料损坏）。
- 不要使用超出有效期的试剂。
- 不同批号（或一次性耗材）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。如果在这样的管道系统中处理含叠氮钠的液体，要用大量的水冲洗以避免形成金属叠氮物。
- 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。溢出物需用液体清洁剂和至少含 0.5%次氯酸钠的溶液彻底清洗。参见仪器的使用手册处理溢出物部分。不要高压含漂白剂成份的溶液。
- 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®ECPT试剂盒存于 2-8°C。
- 勿冷冻试剂。
- 使用后余下的试剂放回 2-8°C。
- 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®s。
- 取出密封袋内所需 SPR®，其余 SPR®应封好带干燥剂的包装，并放回 2-8°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性。

---

## 样本（准备）

推荐以下流程。

使用前，增菌肉汤恢复至室温（18-25℃）。

培养条件对短的检测流程有影响，特别是温度影响。特殊情况下，推荐预热增菌肉汤使之达到指定的温度。样本准备时间不得超过 45分钟（从增菌肉汤预热结束到食品样本孵育开始）。推荐使用通风孵育箱

## 质量控制

每盒 Read kube®ECPT试剂盒中都含有一个阳性质控和一个阴性质控。

质控必须在打开新的试剂盒后立即进行测定，以确保试剂性能未改变。

每次校正都应使用这些质控进行检查。只有当质控被设置为 C1和 C2时，仪器才能检查质控值。

如果质控值偏离预期值，结果将无法通过验证。

---