

# READ KUBE 大肠杆菌 O157 免疫浓缩法 (ICE)

仅供实验室使用

## 应用范围

READ KUBE 大肠杆菌 O157 (ICE)测试,使用 READ KUBE 系统作为大肠杆菌 O157 经选择性增菌后的一种自动化检测。

## 产品说明

READ KUBE ICE 配合 READ KUBE ECO 使用。食品样本使用 READ KUBE ECO 检出大肠杆菌 O157 后,在使用 READ KUBE ICE 进行简便易行的确证试验,由于肠道菌群的竞争作用,将 READ KUBE ECO 筛选阳性的增菌液直接平板分离会导致大肠杆菌 O157 的过度生长。因此,通常需要将最少三个稀释度的增菌液 ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ) 进行平板分离,操作繁琐且灵敏度低。

READ KUBE ICE 对食品增菌肉汤中的大肠杆菌进行全自动的富集。此方法提高了选择性平板的分离效果,避免了多重稀释与平板分离。

富集过程在 40 分钟内完成。

## 检测原理

READ KUBE 大肠杆菌 O157 免疫浓缩试剂盒包括以下两种成分:

➤ 固相容器 (SPR): 一个类似于加样头的一次性使用装置,起固相及加样器的作用。SPR 内表面以抗大肠杆菌 O157 抗体包被。

➤ 试剂条含有实验所需的洗涤与释放液。

将增菌肉汤加入试剂条上,在特定时间内样本在 SPR 内、外反复循环。增菌肉汤本中的 O157 抗原与 SPR 内部的 O157 捕获抗体结合,未结合的成分洗涤清除。最后一步是将捕获的大肠杆菌 O157 释放于特定孔中。释放的细菌接种于选择性平板分离。

所有检测步骤均自动由 READ KUBE 仪器完成。

## READ KUBE 大肠杆菌 O157 免疫浓缩试剂盒成份 (30 人份/每盒)

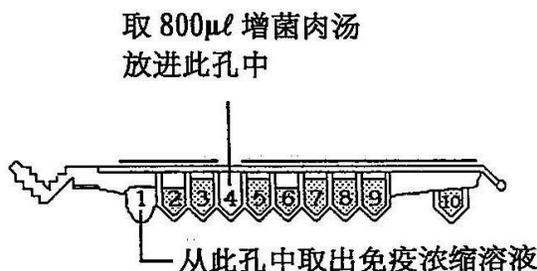
30 个 ICE 试剂条	有十个孔,分别以箔封和纸签覆盖。
30 个 ICE SPR	SPR 的内部以抗大肠杆菌 O157 抗体包被。每一根 SPR 均有标记。从包装袋中取出 SPR 后要将包装袋重新密封。
1 瓶标准液(6ml)	碱性磷酸酶标记的多克隆抗体 (兔) +1g/L 叠氮钠+蛋白稳定剂

## 大肠杆菌 O157 免疫浓缩试剂条说明

孔	试剂
1	释放孔,免疫浓缩液自动释放至本孔。
2	中性缓冲液: TRIS HCl pH7.7 +Tween。
3	释放液: 乙酸钠和酶。
4	样本孔: 此孔加入 500 $\mu$ l 增菌肉汤或标准。
5 - 7 - 8 - 9	洗涤液: TRIS-NaCl 缓冲液(150mmol/l) pH7.6+ Tween +0.5g/l 叠氮钠。
6	前洗涤液: MOPS 缓冲液(480mmol/l) pH7.8+ Tween +0.5g/l 叠氮钠。
10	底物孔: 磷酸 4-甲基伞形物+1g/l 叠氮钠。此孔仅用于标准读取。

每个试剂盒中均有条形码卡,上面清楚的标明实验名称、批号、校正数据和标准值。

图表 1



### 未提供但应具备的设备

加样器：最小加样量为 0.5ml。

### 注意事项

1. 增菌培养以及以后的免疫浓缩操作都可能含有活的致病菌，在操作时要严格遵守微生物规定程序。生物危害性试剂必须丢弃于适当的容器。
2. 应把 READ KUBE 仪器安装在微生物检验专用房间。
3. 常规清洁和清洗 READ KUBE 仪器，参阅 READ KUBE 操作手册有关步骤。
4. 有些试剂中含有叠氮钠，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。

### 保存

1. READ KUBE ICE 保存于 2-8 $^{\circ}$ C。
2. 勿冷冻试剂。
3. 未用的试剂放回 2-8 $^{\circ}$ C。
4. 在密封的 SPR 贮存盒内，干燥剂上的指示剂应是兰色，如变成粉红色，则勿用贮存盒内其余 SPR。从包装袋内取出 SPR 后应再封好包装袋，这可使试剂保持稳定。
5. 如果保存得好，所有试剂在有效期内稳定性不变。勿用超过有效期的试剂。

### 质量控制

每个试剂盒内均有标准，用以检查运输和贮存过程中可能出现的变化。提供的标准可直接使用，但用前需充分混匀再直接加入试剂条的第四孔。

每一批号的标准预期值应在瓶签所示范围之内。

### 免疫浓缩方法

READ KUBE ICE 用于经 READ KUBE ECO 鉴定阳性的 CT-Mac 增菌肉汤。

注意：每批试剂盒都要进行标准的测定。同一批号的试剂每 14 天做一次标准。

1. 从冰箱中取出 READ KUBE ICE 试剂盒，取出所需试剂并放置室温（最少 30 分钟）。未使用的试剂放回 2-8 $^{\circ}$ C。
2. 在 ICE 试剂条的空白处，标上样本号，勿覆盖条形码。
3. 输入所需的信息以便建立 work list. 键入“ICE”至检测编号，再输入将要检测的实验号。注：如果同时测定标准，则键入“S”（对于 mini Read kube, 先输入“S”然后输“1”）。
4. 吸取 500  $\mu$ l 增菌肉汤或旋转混匀的标准至试剂条 4 号孔中央。
5. 依屏幕所示，将 SPR 和试剂条放入 READ KUBE 相应的位置。核对位置以确保 SPR 上 3 个字母编码的颜色标记与试剂条相符。
6. 根据 READ KUBE 操作手册开始检测步骤。所有分析过程均由仪器自动完成。检测约需 40 分钟。  
注：此检测方法与沙门氏菌（ICS）相同，可在同一反应仓同时进行，但与 LIS、SLM、ECO 等不同。不可在同一反应仓同时进行。
7. 打印报告内容包括试验类型、样本号，日期和时间、试剂盒的批号及有效期。标准的 RFV 值构成一个内部控制以检查免疫浓缩过程是否正确。对于其他样品，所报告的 RFV 值无意义。  
注：ICE 操作至此结束。免疫浓缩样品必须在 ICE 操作结束后 30 分钟内使用。

## 大肠杆菌 O157 的检测

从山梨醇麦康凯平板和选择性更强的含头孢克肟和亚碲酸钾的 CT-SMAC 平板上分离获得菌落<sup>(1, 2)</sup>。

- 将灭菌棉签小心的插入 ICE 试条的第一孔，小心的涂布半个平板，然后划线接种另外半个平板。不同的棉签接种不同的平板。

图表 2



- 在 35-39℃ 孵育 24 小时，按照标准操作读取结果。

大肠杆菌 O157 通常为山梨醇发酵阴性的无色菌落，中央呈黑色，其他菌株因发酵山梨醇而呈粉红色。

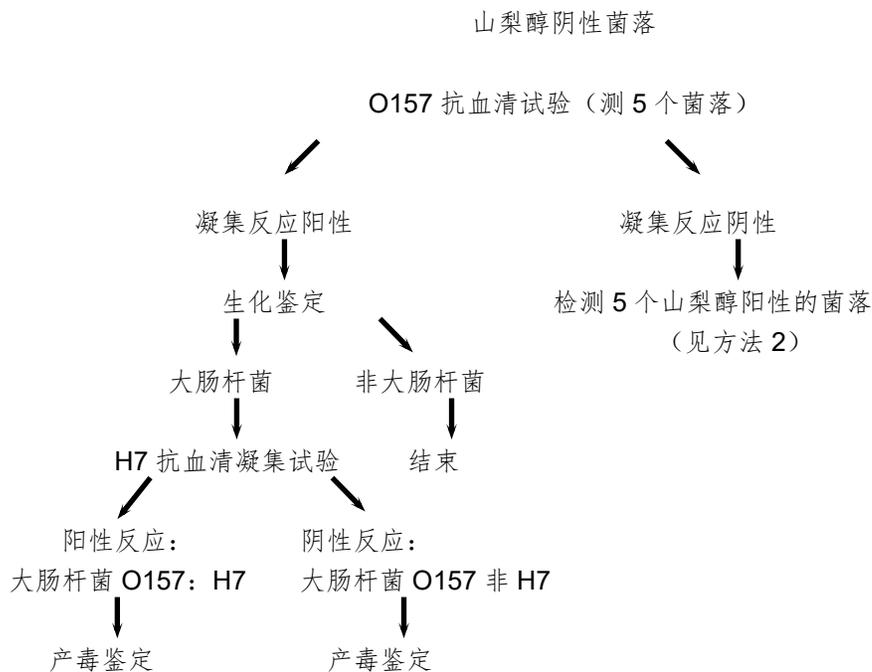
## 大肠杆菌 O157 的确证

可疑菌落的确证应使用标准的血清学和生化方法。

### 适用

READ KUBE ICE 与 READ KUBE ECO 配合使用，用于 READ KUBE ECO 检测阳性的食品样本的确证。

### SMAC 和 CT-SMAC 琼脂平板阳性结果确认 方法 1



### SMAC 和 CT-SMAC 琼脂平板阳性结果确认 方法 2

