

READ KUBE 沙门氏菌免疫浓缩 (ICS)

仅供实验室用

READ KUBE 沙门氏菌免疫浓缩 (ICS)，使用 READ KUBE 系统对食品中沙门氏菌经选择性增菌后进行自动化浓缩。

应用范围

READ KUBE 沙门氏菌免疫浓缩 (ICS)，取代传统的选择性增菌方法，使用 READ KUBE 系统对食品中沙门氏菌经选择性增菌后进行自动化浓缩。

产品概述

READ KUBE 沙门氏菌免疫浓缩 (ICS) 对食品中沙门氏菌进行自动化浓缩富集。它通过自动免疫捕获和特定的释放处理，取代传统的选择性增菌方法。

浓缩过程 40 分钟完成。在免疫测定前将释放的微生物转至非选择性肉汤或专用的沙门氏菌琼脂培养。沙门氏菌抗原复杂，通过对菌体 (O) 和鞭毛 (H) 抗原的鉴别可区分为 2200 个血清型。READ KUBE ICS 技术应用针对 O 和 H 抗原的高特异性抗体，能够检测有动力

或无动力的沙门氏菌。

检测原理

READ KUBE 沙门氏菌免疫浓缩 (ICS) 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 内表面以抗沙门氏菌抗体包被。

- 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。增菌肉汤本中的沙门氏菌抗原与 SPR 内部的沙门氏菌捕获抗体结合，未结合的成分洗涤清除。最后一步是将捕获的沙门氏菌释放于特定孔中。

所有检测步骤均自动由 READ KUBE 仪器完成。

试剂盒成份 (60 人份/每盒)

60 个 ICE 试剂条	即可使用。
60 个 ICE SPR	即可使用。SPR 的内部以抗沙门氏菌抗体 (菌体和鞭毛抗原) 包被。
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
MLE 卡	包含校正测试所需的工厂校正数据。

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“ICS”。从包装袋中取出 SPR 后要及时封闭包装袋。

试剂条

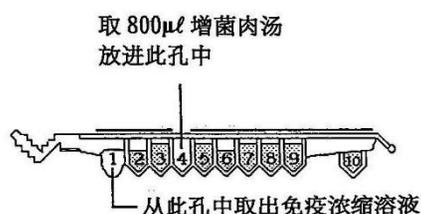
包含 10 个以箔封的孔，并覆以标签，标签上有条形码，显示测试种类，试剂盒批号、有效期等。第四孔加入样本，第一孔是空的，用来收集免疫浓缩液。中间各孔含有实验用各种试剂。

READ KUBE 沙门氏菌免疫浓缩 (ICS) 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: pH7.7 的缓冲液。
3	释放液: 乙酸钠和酶。
4	样本孔: 此孔加入 800 μ l 增菌肉汤。
5 - 7 - 8 - 9	洗涤液: pH7.6 的缓冲液+0.5g/l 叠氮钠。
6	前洗涤液: pH7.8 的缓冲液+0.5g/l 叠氮钠。
10	底物孔: 磷酸 4-甲基伞形物(0.6mmol/l)+ 二乙醇胺(6.6%,pH9.2)+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

- 最小加样量为 0.8ml 的加样器。
- 带滤器的消化袋。
- 带合成头的铝制棉签。
- ICS 肉汤
- 水浴箱 (100 $^{\circ}$ C) 或相当装置。
- 缓冲蛋白胨水
-
- 试剂
 - 亮绿
 - 无水硫酸亚铁
- 灭菌牛奶
- 选择性琼脂平板
 - Hektoen 琼脂
 - SMID 琼脂
 - XLT4 琼脂
 - 亚硫酸铋琼脂
- Rappaport Vassiliadis 肉汤
- READ KUBE SLIM 试剂盒

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. 请勿使用超出有效期的试剂。
4. 不同批号试剂请勿混合。

5. 使用前, 试剂应放至室温 (最少 30 分钟)。
6. 试剂中含 1g/l 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。
7. 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。
8. 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 ICS 试剂盒存于 2-8 $^{\circ}$ C。
- 切勿冷冻试剂。
- 未用的试剂放回 2-8 $^{\circ}$ 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。
- 为保持 SPR 稳定性, 从包装袋取出 SPR 后应小心封好, 放回 2-8 $^{\circ}$ C 贮存。
- 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。

样本制备

推荐使用 AFNOR：确认的增菌方法：

AFNOR 确认的方法（Bio-12/6-03/99 和 Bio-12/7-03/99）：

一般的前增菌方法：向 225ml 缓冲蛋白胨水中，用无菌方法加入 25g(25ml)标本。在带滤器的消化袋中消化并在 $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 孵育 18-24 小时。

建议缓冲蛋白胨水增菌后使用 NF EN 12824 的程序。对于特殊的食品（如酸化的、干的、高脂肪食品等）使用 EN 12824 中专用的程序。对于高脂肪食品，建议在前增菌肉汤中加入 5g/l 的 Tween 80。

注：READ KUBE ICS 测试不适用于鲜奶的测定。此种情况下，建议使用 READ KUBE SLM 试剂盒（见 READ KUBE SLM 操作手册）。

特殊的前增菌方法：建议使用以下改进的前增菌方法：

1. 蛋类：缓冲蛋白胨水中加入 35mg/l 的无水硫酸亚铁（ FeSO_4 ）（如 64mg/l 的 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ）。在带滤器的消化袋中消化并在 $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 孵育 18-24 小时。
2. 生禽类：**加样前将缓冲蛋白胨水在 $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 预温。**在带滤器的消化袋中消化并在 $41\pm 1^{\circ}\text{C}$ 孵育 18-24 小时。
孵育温度非常重要，不应超过 42°C 。通过样品稀释测定 1g 样品（如加 10g 样品于 90ml 缓冲蛋白胨水消化，再取 10ml 消化液加入 90ml 缓冲蛋白胨水中），在 $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 孵育 18-24 小时。
3. 除可可之外的巧克力食品：向 225ml 灭菌脱脂牛奶中，用无菌方法加入 25g(25ml)标本，再加入 0.45ml 1% 的亮绿水溶液。在带滤器的消化袋中消化并在 $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 孵育 18-24 小时。
4. 可可：向 450ml 灭菌脱脂牛奶中，用无菌方法加入 25g(25ml)标本，再加入 0.9ml 1% 的亮绿水溶液。在带滤器的消化袋中消化并在 $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 孵育 18-24 小时。

输入 MLE 卡信息

每一个新试剂盒在使用之前，首先要使用试剂盒中的 MLE 卡向仪器（READ KUBE 或 mini-READ KUBE）输入试剂规格（或出厂的校正曲线数据），否则方法将无法运行。每一盒试剂只需输入一次。可以使用 MLE 卡自动输入或手动输入。

自动输入 MLE 卡信息时，卡正面向上放入塑料托盘，再将托盘箭头朝上放入仪器色测试仓，选“Calibration”菜单→“Read master lot”→选定放卡的测试仓。几分钟后仪器完成 MLE 卡的信息读入。

人工输入 MLE 看信息时，选“Manual Entry”菜单，再键入卡下方的字母和数字。输入后按<ENTER>确认。仪器会打印出输入的数据，请将其与 MLE 卡的数据对比。若不一致，再重新输入。输入失败时，屏幕会提示出错信息。详细的使用方法见 READ KUBE 或 mini-READ KUBE 操作手册。

校正

每一个新试剂盒在输入 MLE 卡信息之后，需使用试剂盒内的校正液进行校正，以后每 14 天进行一次校正。此项操作可以提供仪器特定的校正曲线，对于在保存期限内可能出现的小的分析信号偏移可以进行补偿。校正液 S1 必须单独测定（详见 READ KUBE 操作手册）。校正值必须在设定的 RFV（相对荧光值）值之内，否则，需重新校正。

质量控制

每批新的试剂盒均应用阴性和阳性对照进行检测，以证明运输和贮存过程未影响其性能。提供的对照品可直接使用，但用前需充分混合再加入试剂条的第四孔。阳性对照数值应在瓶签所示范围之内。

免疫浓缩方法

注意：每一个新试剂盒必须进行标准测定。以后每 14 天进行一次校正。

1. 冰箱中取出 READ KUBE ICS 试剂盒，取出所需的试剂并使其恢复到室温（约 30 分钟）。其余试剂仍在 $2-8^{\circ}\text{C}$ 贮存。
2. 在试剂条的空白处，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“ICS”至检测编号，再输入将要检测的实验号。如测定标准品则键入“S”。（对于 mini Read kube, 先输入“S”然后输“1”）。
4. 吸取 0.8 毫升前增菌肉汤或旋转混匀标准液，加入 ICS 试剂条第四孔中央。增菌肉汤必须取自消化袋中经过滤的部分。
5. 根据 work list 的指示，将 ICS 试剂条和 SPR 装在 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 操作手册开始分析步骤。所有分析过程均由仪器自动完成。40 分钟内可完成实验。
注：此检测方法与其它检测方法（LIS、SLM、ECO、SET、LMO、CAM）不同，必须在单独的测试仓内进行。READ KUBE ICE 测试与此方法相同，可在同一测试仓内进行。

7. 打印报告内容包括试验类型、样本号、日期和时间、试剂盒批号及有效期。标准的 RFV 值作为内部控制以确保免疫浓缩操作的正确。对于其它样本，RFV 值无意义。

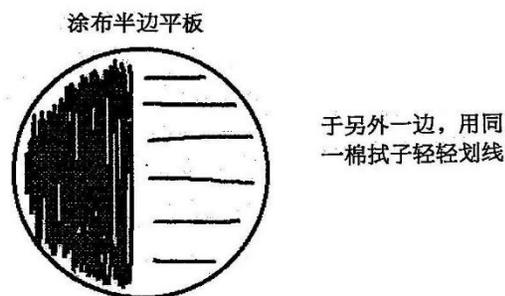
注：ICS 操作至此结束。免疫浓缩样品可在 M 肉汤中后增菌或在 READ KUBE 仪器上进行 SLM 测试。免疫浓缩样品必须在 ICS 操作结束后 30 分钟内使用。

平板上的鉴定

对于生禽类，为获得最佳结果，建议使用选择性显色分离平板，最好是 SMID 琼脂、HEKTOEN 琼脂和 XLT4 琼脂。

1. 将灭菌棉签小心的插入 ICS 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。
2. $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 孵育 24 小时，挑取至少两个可疑菌落进行生化鉴定和血清学鉴定。

图表 2



沙门氏菌 READ KUBE SLM 测试

沙门氏菌 READ KUBE ICS 和 READ KUBE 沙门氏菌自动测试可在 6 小时内完成。

1. 将 ICS 肉汤管在 $41\pm 1^{\circ}\text{C}$ 至少预温 30 分钟。将 READ KUBE ICS 试剂条留在仪器内，转移全部免疫浓缩液（约 0.4ml）至 ICS 肉汤管，在 $41\pm 1^{\circ}\text{C}$ 孵育 5-6 小时。

注意：孵育温度勿超过 42°C 。

2. 孵育后，转移 1ml 培养物至另一试管，封口后在 100°C 水浴中加热 15 分钟。取 0.5ml 煮沸的 ICS 肉汤按说明进行 READ KUBE SLM 测试。

将未煮沸的 ICS 肉汤储存在 $2-8^{\circ}\text{C}$ 以备阳性样本确证用（READ KUBE 测试阳性的 ICS 肉汤管应在 $2-8^{\circ}\text{C}$ 保存 24 小时）。