

Read kube 快速沙门氏菌检测试剂盒 (SLMX)

仅供实验室用

READ KUBE 快速沙门氏菌检测试剂盒 (SLMX) 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品中的沙门氏菌。

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⁽¹⁾。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⁽²⁾。酶免疫分析筛选技术可简单化检测流程，缩短检测时间。READ KUBE 快速沙门氏菌检测试剂盒 (SLMX) 是检测食品 (生牛肉、小牛肉和巴氏消毒的蛋) 样品中沙门氏菌的全自动酶免疫分析技术。READ KUBE SLMX 技术应用针对 O 和 H 抗原的高特异性抗体混合物，能够检测有动力或无动力的沙门氏菌。

实验原理

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

固相吸头 (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 内壁经抗沙门氏菌抗体包被。实验所需的成品试剂均封闭在试剂条内。

READ KUBE 系统自动完成全部试验步骤。将少量的的增菌肉汤加于试剂条上，样品将在 SPR 内循环进出数次，样品中的沙门氏菌抗原与包被在 SPR 内壁的抗沙门氏菌抗体结合，未结合的样品则被洗去。抗体-碱性磷酸酶复合物在 SPR 循环进出，并与 SPR 内壁捕获的沙门氏菌抗原结合。最后洗去未结合的复合物。

在检测步骤中，SPR 中加入荧光底物 (4-甲基-香豆素-磷酸酯) SPR 壁上结合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 快速沙门氏菌检测试剂盒的组成 (60 人份)

60 个 SLMX 试剂条	STR	成品试剂。
60 个 SLMX 固相吸头	SPR	成品试剂。 SLMX 固相吸头的内面已用抗沙门氏菌抗体包被。
1 瓶标准液 (6ml)	S1	成品试剂。 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	成品试剂。 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	成品试剂。 150 mmol/l TRIS 缓冲盐 (TBS) - Tween pH 7.6 +防腐剂。 MLE 卡上“质控 C2 值范围 (-)”栏下指出最大可接受值。
1 本说明书		

说明

SPR

SRP 在生产时以抗沙门氏菌抗体包被。每一 SPR 上均标有“SLMX”。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 个以箔密封的孔，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。为了方便加样，第一孔是穿孔的。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	样品孔：该孔加 500µl 的增菌肉汤、标准或对照。
2	前洗涤液（400 µl）：TRIS 缓冲盐（TBS）（150mmol/l） - Tween pH 7.6 + 防腐剂。
3 - 4 - 5 - 7 - 8 - 9	洗涤液（600 µl）：TRIS 缓冲盐（TBS）（150mmol/l） - Tween pH 7.6 + 防腐剂。
6	酶结合物（400 µl）：碱性磷酸酶标记抗沙门氏菌抗体 + 防腐剂。
10	含底物的比色杯（300 µl）：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。

*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。
- 如需更多信息，请查阅材料安全表。

试剂盒未提供但应具备的设备

- 加样量为 0.5ml 的一次性加样器。
- 水浴箱（95-100℃）。
- 拍打式匀浆器
- 带滤膜的均质袋
- SX2 肉汤

以下的产品列表仅供参考

- 缓冲蛋白胍水
 - 缓冲蛋白胍水 225ml
 - 缓冲蛋白胍水 225ml 小袋装
 - 缓冲蛋白胍水 3L 装
 - 缓冲蛋白胍水 90ml 瓶装

选择性培养基

例如：

- XLD 平板
- XLT4 Agar
- Hektoen Agar

注意事项

- 仅为专业用途使用
- 请将 READ KUBE®系统放置在微生物检测的专用房间。
- 与良好实验室操作规程（例如 ISO 7218 标准）（3）相符。
- 试剂盒包含了来源于动物的材料。这些材料未被证明不含致病性传播因素，因此这些产品都被视为是具潜在传染性的，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 SPR。
- 不要使用包装明显破损的 SPR（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，该物质可与铅或铜材质管道反应，形成易爆性金属叠氮化物。如果含叠氮钠的液体接触该种管道系统，需要用大量的水冲洗以避免金属叠氮物积累。
- 加有底物的比色杯（第 10 孔）含有刺激性试剂（6.6% 二乙醇氨），请参照上文刺激性试剂“R”和“S”的相关事项。
- 如果试剂泄漏，请用液态洗涤剂和包含 ≥0.5% 的次氯酸钠漂白剂处理，并彻底擦净。请参阅操作手册中清理在仪器表面或内部试剂泄漏的相关事项。请勿高温消毒含漂白剂的试剂
- READ KUBE 仪器需要定时清洁（请参阅 READ KUBE 操作手册）

保存

- 将 READ KUBE SLMX 试剂盒于 2-8°C 贮存。
- **勿冷冻试剂。**
- 将所有未使用的试剂于 2-8°C 贮存。
- 打开试剂盒后，检查 SPR 包装袋应密封完好，无破损。否则请不要使用 SPR。
- 仔细密封带干燥剂的密封袋，放回试剂盒内，于 2-8°C 贮存，以保持 SPR 的稳定性。
- 如果按照推荐的方法贮存，所有试剂在标签指示的失效期前都能保持稳定性。

样品准备步骤

建议按照以下的步骤进行试验。

使用之前将增菌肉汤放置于 $41.5 \pm 1^\circ\text{C}$ 。

AFNOR 确认的方法 (BIO-12/26-07/09)

适用于生牛肉、小牛肉和巴氏消毒的蛋（例如液态或煎的全蛋、蛋清或蛋黄等）

- 无菌条件下将 Xg（或 X ml）样品置于带滤膜的均质袋中。

注：在 AFNOR 认证中，没有测试 $\geq 25\text{g}$ 的样品。

- 在 $41.5 \pm 1^\circ\text{C}$ 预热 9X ml 缓冲蛋白胨水 (BPW)。
- 在均质袋中混匀。
- 在 $41.5 \pm 1^\circ\text{C}$ 中培养 16-24 小时。
- 培养结束后，对均质袋的样品进行匀浆处理。

如果已配备 READ KUBE® Heat and Go，吸取 0.5ml BPW 肉汤至 SLMX 的样品孔，加热 5 ± 1 分钟（请参阅 READ KUBE® Heat and Go 用户手册）。取下试剂条并让其冷却 10 分钟。

注：请勿将 READ KUBE® Heat and Go 用于巴氏灭菌的蛋样品。

如果没配备 Heat and Go，也可培养后，取 2ml BPW 加入一个试管，盖好盖并在 $95-100^\circ\text{C}$ 水浴中加热 5 ± 1 分钟。冷却试管，混匀煮沸的 BPW，吸取 0.5ml 至 SLMX 的样品孔。

- 进行 READ KUBE® 检测。

将剩余 BPW 保存于 $2-8^\circ\text{C}$ 以备用于阳性结果确证。

注：未加热的 BPW 可在上 READ KUBE® 检测之前 $2-8^\circ\text{C}$ 保存 72 小时。确证试验必须在培养结束时起的 72 小时之内进行。

依照 AFNOR 认证的方法确证

所有得到的 READ KUBE® SLMX 阳性结果必须进行确证。可使用未加热的，在 $2-8^\circ\text{C}$ 保存的 BPW 进行确证试验。必须在培养结束时起的 72 小时之内进行。

以下的确证步骤可任选其一进行：

- 在 2 个选择性琼脂平板上筛选。

依照说明书上的建议方法培养。使用 CEN 或 ISO 描述的传统的方法鉴定 1-5 个典型菌落（包括纯化步骤）（4）。

- 依照 AFNOR 认证基于另一原理的方法进行确证。必须完全依照试验指引进行（例如：增菌时间）。

如果出现矛盾的结果（READ KUBE 方法出现阳性，但未得到以上之一的方法确证），请依照必要的步骤进行，确保所得结果的有效性。

建议依照以下步骤之一：

- 使用增菌肉汤，琼脂平板分离后，利用 READ KUBE® ICS2 试剂条进行免疫浓缩。请参阅 READ KUBE® ICS2 说明书中关于以下步骤的内容：免疫浓缩，选择性培养基上分离和典型菌落的鉴定。

- 转移 0.1ml 增菌肉汤至 10ml SX2 肉汤。 $41.5 \pm 1^\circ\text{C}$ 培养 16-24 小时后，转至选择性平板进行分离。

使用 CEN 或 ISO 描述的传统的方法鉴定 1-5 个典型菌落（4）。

注：隔了一段时间后，直接分离 READ KUBE® 阳性结果有可能比较困难。在这种情况下，建议依据前文所述的两种方法之一（转到 SX2 肉汤或 READ KUBE® ICS2）进行分离。

使用说明

详细的说明参阅 READ KUBE 操作手册

输入 READ KUBE® PTC 信息

当第一次使用该分析方法，在输入 MLE 卡信息之前，需要先使用条码扫描器，扫描说明书背面的条码，通过输入 PTC 信息至仪器，更新仪器的软件资料。这些信息只需要在首次使用该种分析方法之前输入。

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）输入试剂规格（或出厂的校准曲线数据）。如果在读入 READ KUBE® PTC 之前就读入了 MLE 卡，必须在其之后重新读入 MLE 卡。

每一批的试剂规格（或出厂的校准曲线数据）必须在该批次的试剂首次运行前输入仪器。否则仪器无法打印结果。每一盒试剂只需输入一次 MLE 卡。

可使用 MLE 卡自动输入或手动输入信息。

校准

每一个新试剂盒在输入 MLE 卡信息之后，需使用试剂盒内的标准液进行校准，以后每 14 天进行一次校准。此

项操作可以提供仪器特定的校准曲线，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。

标准 S1 在同一次测试中必须做**双份**（参阅 READ KUBE 操作手册）。标准读数必须在设定的 RFV（相对荧光值）范围之内，否则，需重新校准。

检测步骤

1. 仅将所需试剂从冰箱取出。使其恢复至室温（至少 30 分钟）。
 2. 每个样品使用一条“SLMX”试剂条及一个“SLMX”SPR 管，先必须做好质控和标准。**确保取出试剂后，将剩余的 SPR 的保存袋重新密封好。**
 3. 输入所需的信息以便建立工作表，选择“SLMX”至检测编号，再输入将要检测的实验号。标准 S1 必须在工作表的首位并做**双份**，随后是阳性质控 C1 和阴性质控 C2。
 4. 对增菌液进行均质处理。
如果已配备 READ KUBE® Heat and Go，吸取 0.5ml BPW 肉汤至 SLMX 的样品孔，加热 5±1 分钟（参见 READ KUBE® Heat and Go 用户手册）。取下试剂条并让其冷却 10 分钟。
如果没配备 Heat and Go，也可培养后，BPW 肉汤取 2ml 加入一个试管，盖好盖并在 95-100℃ 水浴中加热 15±1 分钟。冷却试管。混匀煮沸的肉汤，吸取 0.5ml 至 SLMX 的样品孔。
 5. 如果需要，使用涡旋式混合器混合标准和质控，吸取 500 µl 至 SLMX 的样品孔。
- 注：样品和质控必须单独测定
6. 将 SPR 和试剂条放入仪器的相应位置。核对以确保 SPR 上字母编码的颜色标记与试剂条分析类别相符。
 7. 根据操作手册开始检测步骤。所有分析过程都由仪器自动完成。整个过程约需 50 分钟。
 8. 检测完成之后，清理仪器上的 SPR 及试剂条。
 9. 所有用过的 SPR 和试剂条应依据当地法规，丢弃至适合的生化危害处理容器中。

结果及解释

检测完成后，结果由计算机自动分析。每份样品有两个荧光读数，第一个数值表示 SPR 未吸取底物时的本底。第二个读数表示 SPR 内面的酶复合物与底物反应后的结果。第二个读数减去本底后则为相对荧光值（Relative Fluorescence Value, RFV）。计算过程列于结果报告中。每一样品的 RFV 值由 READ KUBE 按以下公式计算：

$$\text{检测值} = \text{样品 RFV} / \text{标准 RFV}$$

下表为阈值及结果解释。

阈值和结果解释

检测阈值	解释
< 0.23	阴性
≥ 0.23	阳性

打印报告内容包括试验类型、样品号、日期和时间、试剂盒批号及有效期、每个样品的 RFV、检测值和相应结果。

检测值低于下限说明样品不能检出含有沙门氏菌抗原或含低于检测极限的沙门氏菌抗原。若大于或等于上限则为阳性结果，说明样品被沙门氏菌污染。阳性结果必须通过依照“阳性结果的确证”章节进行。

本底数值超过预期的分界值（提示有少量底物污染）时，结果不能采用，可用原样品重复试验。

无效的报告结果

- 当本底读数高于预设下限时（说明存在低水平的底物污染），使用加热的肉汤或相关试剂（S1, C1 或 C2）重复试验。
- 如果某批药盒的试剂条没有相应的标准对照，可用相同批号的试剂条做双份标准，结果可根据新存储的标准重新计算。具体步骤请参阅 READ KUBE® 操作手册。

质量控制

每盒 SLMX 试剂盒中都有阳性和阴性质控。每批新的试剂盒均必须使用阳性和阴性质控进行检测，以证明运输和储存过程未影响其性能。每次校准时必须使用质控进行检测。仪器会自动识别标以 C1 和 C2 的阳性和阴性质控。

当质控读数超过预定值时，不能保证测试结果的有效性。

注：用户有责任根据当地的法规执行质控检验。