

Read kube 单核细胞增多李斯特菌 II (LMO2)

仅适用于实验室

Read kube 单核细胞增多李斯特菌 II (LMO2) 分析,采用 Vitek 免疫诊断分析系统 (Read kube) 做为自动定性酶联荧光免疫分析(ELFA)方法,对食品中的单核细胞增多李斯特菌进行特异性检测。

前言

李斯特氏菌属现分为 6 个种,包括单核细胞增多李斯特菌、英诺克里斯特菌、绵羊李斯特、西尔李斯特、威尔斯李斯特菌及格氏李斯特 (5)。

这种菌种的致病性各不相同。单核细胞增多李斯特菌是唯一对人致病的菌种;绵羊李斯特菌对动物治病,其它菌种没有致病性。人类李斯特氏菌病包括流产、脑膜炎、败血症和脑炎。高危人群包括孕妇、新生儿、免疫损伤患者及老年人 (2, 4)。单核细胞增多李斯特菌在环境中分布广泛,对未加工原料、部分加工食品及发酵食品具有潜在危害。

Read kube 单核细胞增多李斯特菌 II (LMO2) 试验是一种快速过筛试验,将取代费时的传统方法,可直接筛选食品或环境样本中的单核细胞增多李斯特菌。

检测原理

Read kube 单核细胞增多李斯特菌 II 分析是一种用自动化 Read kube 仪器进行的酶联荧光免疫分析 (ELFA)。固相容器 (SPR) 是一个类似于加样头的一次性装置,起固相及加样器的作用。SPR 用单核细胞增多李斯特菌单克隆抗体包被。各种试剂均密封在试剂条内。

Read kube 系统自动完成全部实验程序。

将增菌肉汤加于试剂条上,在特定时间内样本在 SPR 内、外反复循环。样本中的单核细胞增多李斯特菌抗原与 SPR 内面的单核细胞增多李斯特菌抗体结合,未结合的样本则被洗去。标记有碱性磷酸酶的抗体也在 SPR 内外循环,并与 SPR 内面捕获的单核细胞增多李斯特菌抗原结合,最后洗去未结合抗体标记物。

在 SPR 中加入荧光底物,磷酸 4-甲基伞型物。在 SPR 内面上酶催化下底物分解为具有荧光的产物 4-甲基伞形酮。通过 Read kube 的光扫描仪在 450nm 测定荧光强度。

实验完成时,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 单核细胞增多李斯特菌 II 试剂盒组成 (60 个人份/每盒):

60 个 LMO2 试剂条	参见下表
60 个 LMO2 SPR	LMO2 SPR 的内面制造时已用抗单核细胞增多李斯特菌单克隆抗体包被。
1 瓶标准液 (6ml) S1	纯化的单核细胞增多李斯特菌抗原,含 1g/1 叠氮钠和蛋白稳定剂。
一瓶阳性对照 (6ml) C1	纯化的单核细胞增多李斯特菌抗原,含 1g/1 叠氮钠和蛋白稳定剂,瓶签上有对照范围。
一瓶阴性对照 (6ml)C2	TRIS 缓冲液 (TBS) (150mmol/l)- Tween pH7.6,含 1g/1 叠氮钠。
MLE 卡	包含校正测试所需的工厂校正数据。
封口条	
操作说明书	

说明

SPR

SRP 在生产时以抗单核细胞增多李斯特菌单克隆抗体包被。每一 SPR 上均标有“LMO2”。从包装袋中取出 SPR 后要及时封闭包装袋。请使用试剂盒中提供的密封条。

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。

单核细胞增多李斯特菌 II 试剂条说明

孔	试剂
1	样本孔：此孔加 0.5ml 增菌肉汤。
2	洗涤液 (0.4ml) : TRIS-NaCl(150mmol/l)-Tween pH7.6+1g/l 叠氮钠
3 - 4 - 5 - 7 - 8 - 9	洗涤液 (0.6ml) : TRIS-NaCl(150mmol/l)Tween pH7.6+1g/l 叠氮钠
6	酶标记物 (0.4ml) :用碱性磷酸酶标记 IgG,含 1g/l 叠氮钠
10	含底物 (0.3ml) 的比色杯: 磷酸 4-甲基伞形物(0.6mmol/l)+二乙醇胺 (DEA) (0.62mol/l 或 6.6%,pH9.2)+1g/l 叠氮钠。

实验名称、批号、失效期均在 LMO2 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。

未提供但应具备的设备

- 最小加样量为 0.5ml 的加样器。
- 带滤器的消化袋。
- Half-Fraser 225ml
- Half-Fraser 225ml, 300ml 瓶装
- Fraser 肉汤 10ml
- Palcam 琼脂
- Oxford 琼脂
-

注意事项

仅限于专业使用

1. 请将 **Read kube** 系统放置在微生物检测专用房间。
2. 请勿使用超出有效期的试剂。
3. 不同批号试剂请勿混合使用。
4. 使用前，试剂应放置在室温下最少 30 分钟。

5. 如果包装袋破损，请不要使用 SPR。
6. 请勿使用破损的 SPR(箔或塑料破损)。
7. 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。
8. 加有底物的比色杯含有刺激性试剂（二乙醇胺），参照以上的标记“R”和“S”。
9. 试剂盒的所有试剂均为潜在生物危害材料。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。
10. 常规清洁和消毒 Read kube 仪器，参见 Read kube 操作手册有关步骤。

保存

- Read kube LMO2 试剂盒存于 2-8°C。
- 切勿冷冻试剂。
- 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。
- 为保持 SPR 稳定性，从包装袋取出 SPR 后应小心封好，并放入干燥剂，放回 2-8°C 贮存。
- 如果保存得好，余下的所有试剂在有效期内稳定性不变。

使用方法

详细的使用方法见 Read kube 操作手册。

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 MLE 卡向仪器输入试剂规格（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。

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 在同一次测试中必须做双份（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。

操作步骤

1. 冰箱中取出 Read kube LMO2 试剂盒并使其恢复到室温（最少 30 分钟）。从试剂盒中取出所需试剂，并将未用的试剂放回 2-8°C 贮存。用封口条将 SPR 包装袋重新封好。

打印的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、每个样品的 RFV、检测值和相应结果。检测值低于阈值下限表明不能检出样本中含有单核细胞增多李斯特菌抗原。若大于（或等于）阈值上限则为阳性结果。阳性结果必须用标准培养方法对保存于 2-8°C 的增菌肉汤分离鉴定确认。

本底数值超过预定的分界值（提示有少量底物污染）时，结果无效。对此可用原始样本重新检测。

如果检测样本的试剂条没有标准，结果亦为无效。对此，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。详见 Read kube 操作手册。

阳性结果的确认

将储存于 2-8°C 的 LMO2 测试结果阳性的肉汤转种于选择性的培养基或李斯特显色琼脂。培养 24 或 48 小时后，挑选 5 个特征性的菌落按照标准的细菌学方法进行鉴定。

质量控制

试剂盒附有阳性和阴性对照。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。根据自己实验室的常规程序检测对照品。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样品孔。阳性对照数值应在瓶签所示范围之内。如所测数值超过此范围，样本结果不能报告。

注：如果标准超过范围，检测值可根据另一个标准重新计算。详见 Read kube 操作手册

2. 在 LMO2 试剂条的空白处，标上样本号。
3. 输入所需的信息以便建立 work list。键入“LMO2”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”

4. 为提高结果的可重复性，使用前将标准、对照和样本充分混匀。为保证测试的正确性，请精确的吸取 500 μ l 的标准。
5. 分别吸取 500 μ l 样本、标准和对照加入样本孔中央。
6. 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。
7. 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 70 分钟。
注：此检测方法与 CAM 相同，但与其它检测方法不同（LIS、SLM、ECO、SET、ICS 和 ICE）。因此 LMO2 与这些检测不能在同一区域进行。
8. 所有用过的 SPRs 和试条丢弃于适当的容器。

结果

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 未加入底物时，容器和底物的本底。第二个读数表示 SPR 内面的酶复合物与底物反应后的结果，该数值减去本底后则为相对荧光值（RFV）。

检测值则是由每份样本的 RFV 与标准对照值相比得出的。

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

阈值和结果解释

实验结果阈值	解释
< 0.05	阴性
≥ 0.05	阳性

注：如果标准超过范围，检测值可根据另一个标准重新计算。详见 Read kube 操作手册