

食品篩檢資訊專區
檢驗試劑套組公開資訊

公開日期：109年 1月 20日

產品名稱(中/英文)		申請廠商
Thermo Scientific™ SureTect™ Escherichia coli O157:H7 PCR Assay SureTect大腸桿菌O157:H7分子檢測套組		啟新生物科技有限公司
產品編號	適用基質	檢測項目
PT0400A	生牛肉(含新鮮牛絞肉、 冷凍牛絞肉、新鮮牛邊角 肉、冷凍牛邊角肉)	大腸桿菌O157:H7
產品說明		
<p>SureTect大腸桿菌O157:H7分子檢測套組包含大腸桿菌O157:H7 DNA萃取試劑及real-time PCR所需要的各項試劑。檢體經由增菌後，加入含有蛋白酶K(Proteinase K)及萃取試劑管中，萃取核酸；將萃取好的核酸放入含有real-time PCR試劑的管子中，此試劑含有冷凍乾燥的專一性探針，探針能辨別特定的大腸桿菌O157:H7序列，並且專一性的結合，釋放螢光物質。檢測時間僅需24小時，手動執行時間低於20分鐘，沒有繁雜的試劑，避免多次移液步驟，減少人為操作疏失。最後使用SureTect軟體，由軟體直接判讀陽性或陰性，免去人為判讀所需要的時間及人為因素的錯誤。</p>		

試劑：大腸桿菌O157:H7檢測試劑組(96 Tests/Kit)

選擇彈性：可裁切 8 連排管/蓋。

操作簡易：凍乾 ready-to-use PCR 試劑。

保存簡便：96 rxn / kit；保存於 4°C 效期一年。

儀器及軟體：

擴充性佳：每台電腦主機最多可連結 5 台 Real-time PCR 儀器。

可同時偵測多種目標：可分析四色螢光 (475 – 640 nm)。

應用廣泛：

溫控範圍：+4~99.9°C

Open System 可執行各種 Real-time PCR method

• 儀器配件與性能

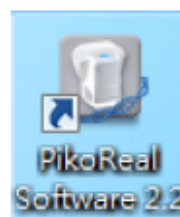
– SureTect 軟體 (AOAC 確效軟體)

- 可執行 Thermo SureTect 病原菌檢測套組分析
- 一鍵自動化執行預設程式
- 自動判讀並產生報告



– PikoReal 軟體

- 可執行其他方法或市售套組分析
- 客需式設定與操作介面
- 定量分析、相對定量



產品內/外包裝照片

試劑：大腸桿菌O157:H7檢測試劑組(96 Tests/Kit)



儀器(擇一使用)：

1. Thermo Scientific™ PikoReal Real-Time PCR Instrument



2. Applied Biosystems 7500 Fast PCR instrument



SureTect™ 全自動病原菌檢測系統

廠牌 美國Thermo Scientific

原理 即時核酸定量分析系統，可進行食品成分或病原菌檢驗。

原廠儀器

訂貨號	品名	內容
PT0500C	SureTect™ 全自動病原菌檢測系統 (全套設備)	即時螢光定量PCR儀 · 1台數位乾浴器 · 2塊用於乾浴器的模塊 · CapEase™工具 · 筆記型電腦 · 操作軟體
PT0500	SureTect™ 全自動病原菌檢測系統	即時螢光定量PCR儀(24 well) · SureTect軟體 
4365463	Applied Biosystems 7500 Fast instrument全自動病原菌檢測系統	即時螢光定量PCR儀(96 well) · RapidFinder 軟體 

試劑套組

貨號	品名	包裝
PT0400A	致病性大腸桿菌 O157:H7 檢測試劑組 E. coli O157:H7	96 Tests/Kit

另行準備

1. 微量吸管 Pipetman，可吸取 10 µL；及對應吸管尖 Tips。
2. 八連排微量吸管 8 channel Pipetman，可吸取 20 µL；及對應吸管尖 Tips。
3. 微量試管架，可擺放 0.2 mL 八連排。

試劑保存

請將試劑盒冷藏於2-8°C，於有效期限內使用完畢。

實驗步驟

• 大腸桿菌 O157:H7

1. 樣品準備 (增菌肉湯)：生牛肉(含新鮮牛絞肉、冷凍牛絞肉、新鮮牛邊角肉、冷凍牛邊角肉)

1.1 樣品加入 mTSB (含 20 mg/L novobiocin) 或緩衝蛋白胨水 (BPW) 按 1:9 配製，徹底混合樣品 30-60 秒。

1.2 於 41.5±1°C 培養 8-24 小時。備用。

1.3 經 8-24 小時培養增殖後，若無法馬上進行後續步驟，可將增殖液保存於 4°C，建議於三天內進行核酸萃取步驟。

2. 核酸萃取

2.1 加入 10 MI 蛋白酶 K 到每個 SureTect™ 萃取試劑管 (已含藍色萃取液) 中，並加入 10 μL 溶菌試劑 1。

2.2 加入 10 μL 增菌肉湯 (步驟 1.2)。

2.3 以 CapEase 工具密封試管蓋 (凸蓋)，在 37°C 乾浴器內反應 10 分鐘。

2.4 結束後，立即轉移到 95°C 乾浴器內反應 5 分鐘。備用。

2.5 可於加熱後，將 8 連排管於微量離心機短暫離心 3-5 秒，以確保上蓋蒸氣完全集中於管底，避免汙染。(此為可自行選擇之步驟)

2.6. 經核酸萃取後之萃取產物，若無法馬上進行後續步驟，可將萃取液保存於 4°C 或 -20°C，若保存於 4°C，建議於 24 小時內進行 PCR 反應；若保存於 -20°C，建議於一個月內進行 PCR 反應步驟。

3. PCR 設置


3.1 執行 SureTect™ 軟體，於左上角按『New』建立一個新的實驗檔，同時等待萃取產物 (步驟 2.4) 冷卻到室溫。


3.2. 達到室溫後，以 CapEase 工具開啟管蓋，並吸取 20 μL 萃取液至含試劑的 PCR 反應管 (白管) 中復溶 SureTect PCR 小球，密封試管 (平蓋)。

3.3. 可將 8 連排管於微量離心機短暫離心 3-5 秒，以確保萃取液完全集中於管底，以利凍乾之反應試劑完全回溶。(建議執行之步驟)

3.4. 打開 SureTect™ 儀器艙門，將 PCR 反應管按照建立的工作檔放置，關上艙門，按『Start』存檔並將自動執行 Real-time PCR 反應，反應時間僅需 75 分鐘。

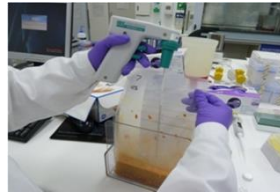
4. 結果判讀 - 判讀 SureTect™ 軟體分析的結果。

陽性反應：檢體檢測結果為正訊號，且內部對照組呈現正訊號 。

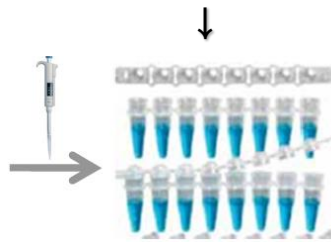
陰性反應：檢體檢測結果為負訊號，且內部對照組呈現正訊號 。

失敗：檢體檢測結果為正或負訊號，但內部對照組為呈現負訊號。軟體呈現圖案為 。

簡易流程圖：



1. 一次增殖 8-24小時



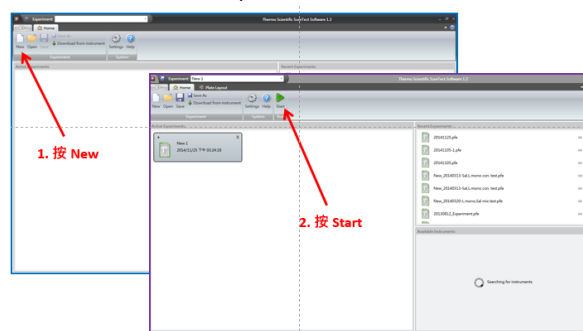
2. 添加 10 μ L 蛋白質水解酶 (與 Lysis Reagent) 與 10 μ L 增殖液至藍色核酸萃取管



3. 於 37°C 加熱10分鐘後，移至 95°C 加熱 5 分鐘



4. 吸取 20 μ L 至白色反應管





設定簡便，可事後分析

5. 軟體操作及設定



6. 上機反應 75 分鐘後，自動判讀結果

