

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200480008625.7

[51] Int. Cl.

C12Q 1/04 (2006.01)

C12M 1/28 (2006.01)

C12M 1/34 (2006.01)

B01L 3/00 (2006.01)

[45] 授权公告日 2008年4月9日

[11] 授权公告号 CN 100379878C

[22] 申请日 2004.4.2

[21] 申请号 200480008625.7

[30] 优先权

[32] 2003.4.7 [33] FR [31] 0304262

[86] 国际申请 PCT/FR2004/050140 2004.4.2

[87] 国际公布 WO2004/092401 法 2004.10.28

[85] 进入国家阶段日期 2005.9.28

[73] 专利权人 拜奥默里克斯公司

地址 法国玛西-勒托勒

[72] 发明人 J·V·梅卡德尔巴迪亚 B·科兰

V·阿特拉舍

[56] 参考文献

WO0063668A 2000.10.26

EP0259116A 1988.3.9

审查员 吴文英

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 李华英

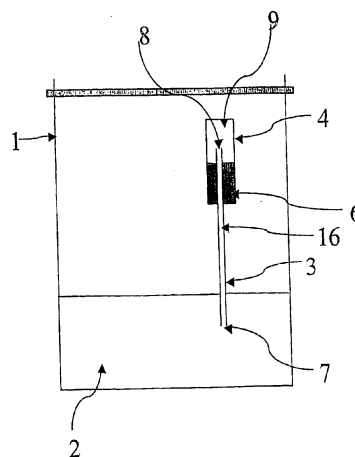
权利要求书 2 页 说明书 12 页 附图 5 页

[54] 发明名称

用于检测和/或鉴定样品中存在的细菌的方法

[57] 摘要

本发明涉及检测和/或鉴定存在于液体或固体样品中的细菌的方法，其特征在于：将含有所述细菌的样品置于第一个容器内的液体培养基中；提供包括至少一种检测系统的第二个容器；在第一个与第二个容器之间安装传送部件；给第二个容器内部施加温度 T1，然后给第二个容器内部施加温度 T2；温度 T1 大于温度 T2，使得确定体积的培养基从第一个容器转移至第二个容器；在检测系统中测定存在或不存在细菌和/或鉴定所述细菌。



1. 用于检测和/或鉴定存在于液体或固体样品中的细菌的方法，其特征在于：

- a. 将可能含有所述细菌的样品置于第一个容器(1)中的液体培养基(2)中；
- b. 提供包括用于检测所述细菌的至少一种系统(6)的第二个容器(4)；
- c. 在第一个容器(1)与第二个容器(4)之间安装传送部件(3)；
- d. 给第二个容器(4)内部施加温度 T1，然后
- e. 给第二个容器(4)内部施加温度 T2；
- f. 温度 T1 高于温度 T2，使得将确定体积的培养基(2)从第一个容器(1)转移至第二个容器(4)；
- g. 在检测系统(6)内测定存在或不存在细菌和/或鉴定所述细菌。

2. 权利要求 1 的方法，其特征在于传送部件(3)包括在第一个容器(1)中的至少第一个开口(7)和在第二个容器(4)中的至少第二个开口(8)。

3. 权利要求 2 的方法，其特征在于第二个容器(4)界定第二个开口(8)与检测系统(6)之间的第一个空气体积(9)和/或传送部件(3)界定第一个开口(7)与第二个开口(8)之间的第二个空气体积(16)。

4. 权利要求 1 - 3 中任意一项的方法，其特征在于 T1 为 25 - 45℃。

5. 权利要求 4 的方法，其特征在于 T1 为 30 - 42℃。

6. 权利要求 1 - 3 中任意一项的方法，其特征在于 T2 为 4 - 24℃。

7. 权利要求 6 的方法，其特征在于 T2 为 13-18℃。

8. 用于检测和/或鉴定存在于液体或固体样品中的细菌的方法，其特征在于：

a. 将可能含有所述细菌的样品置于第一个容器(1)中的液体培养基(2)中；

b. 提供包括用于检测所述细菌的至少一种系统(6)的第二个容器(4)；

c. 在第一个容器(1)与第二个容器(4)之间安装传送部件(3)；

d. 给第一个容器(1)内部施加温度 T1，然后

e. 给第一个容器(1)内部施加温度 T2；

f. 温度 T1 低于温度 T2，使得将确定体积的培养基(2)从第一个容器(1)转移至第二个容器(4)；

g. 在检测系统(6)内测定存在或不存在细菌和/或鉴定所述细菌。

9. 用于检测和/或鉴定样品中的细菌的装置，包括：

•包括至少一种检测系统(6)的第二个容器(4)；和

•第一个容器(1)与第二个容器(4)之间的至少一种传送部件(3)，所述的传送部件包括在第一个容器(1)中的至少第一个开口(7)和在第二个容器(4)中的至少第二个开口(8)。

10. 权利要求 9 的装置，其特征在于第二个容器(4)界定第二个开口(8)与检测系统(6)之间的第一个空气体积(9)和/或传送部件(3)界定第一个开口(7)与第二个开口(8)之间的第二个空气体积(16)。

11. 权利要求 9 或 10 的装置，其特征在于传送部件(3)为非毛细管导管。

12. 权利要求 9 或 10 的装置，其特征在于第二个容器(4)包括在第一个容器(1)中。

用于检测和/或鉴定样品中存在的细菌的方法

发明领域

本发明涉及用于检测和/或鉴定液体或固体样品中存在的细菌的方法。本发明还涉及用于检测和/或鉴定这类样品中存在的细菌的装置。

发明背景

鉴定食品中的细菌对公众健康而言必不可少。例如，可以在许多食品中发现的沙门氏菌属的细菌是人体中许多疾病的致病原因(伤寒症、食物中毒)。类似地，分离和鉴定利斯特氏菌属细菌是监测农产品卫生和医学细菌学的主要责任。因此，在利斯特氏菌属的细菌中，已知对人体致病的单核细胞增生性利斯特氏菌可以导致利斯特菌病，这种疾病在免疫抑制个体和幼儿中有时是致命的(25 - 30%的病例)。因此，非常重要的一项是提供用于检测污染了这些细菌的可靠而快速的检测方法，这种检测方法必须既灵敏又具有特异性。最后，鉴定葡萄球菌属的细菌也是必不可少的。这些种类中的大部分因创伤或因直接植入医疗产品而在皮肤损伤情况下成为人体中高危的机会致病菌。此外，金黄色葡萄球菌种类是通常在接受住院护理的患者中发现的细菌，所述住院护理涉及装置，诸如注射器或导管。因此，检测涉及日益增加的医院疾病的这种致病菌的存在是非常有利的。

目前存在许多用于检测细菌的试验。一般来说，这些检测试验需要预富集，包括：

- 恢复步骤，使细菌从因培养诱导的应激状态恢复；和
- 细菌指数生长步骤，它在最初样品中存在少量细菌的情况下是必不可少的；和
- 检测细菌的步骤，该步骤应优选在任意细菌培养物中观察到的细

菌生长峰值时和细菌死亡期出现前进行。

作为用于检测细菌的方法的标志，可以提及的方法由专利US-A-4,563,418中所述的检测沙门氏菌属的方法构成，该方法基于免疫沉淀。在预富集和细菌生长步骤后，即在用沙门氏菌属预富集的培养基中迁移和与针对沙门氏菌属的抗体反应后对这些细菌进行检测。可以提及的方法还可以由也基于免疫沉淀的类似的方法构成，在专利US-A-5,132,229给出了该方法。然而，在这些方法中，使用者必须通过手工操作来实施步骤，即手工将预富集细菌的培养基转移至迁移凝胶，这可能诱发问题，特别是污染，而且对操作者的健康也有危害。

还可以提及的一些近期的方法，它们主要基于细菌通过对特别需要检测的细菌种类具有选择性的培养基迁移。因此，专利申请EP-A-0.259.116中提供了用于检测样品中存在的沙门氏菌属的方法，该方法包括使存在于预富集的培养基中的沙门氏菌属迁移至对沙门氏菌属具有特异性的选择培养基中。然后沙门氏菌属迁移至检测系统，使它们得到检测，而同样存在于样品中的其它细菌被所述的选择培养基阻止。然而，在该方法中，培养基保持与选择培养基和检测系统接触，构成了这类方法的主题问题。因此，如果样品被高度污染，那么存在于培养基中的非沙门氏菌属的细菌可以饱和该选择培养基，使得该培养基不再起选择性屏障的作用。在检测系统中存在的非沙门氏菌属的细菌可以构成假阳性：检测到检测系统阳性，而样品并未污染沙门氏菌属。此外，如该专利申请中所述的方法可能仅用于能运动的细菌。

发明内容

本发明提出了通过特别提供用于检测和/或鉴定细菌的方法解决现有技术的所有缺陷，该方法对操作者方面、对包括细菌的培养基方面要求最低程度的操作，而同时直接根据易于在细菌指数生长期过程中建立的培养基进行快速诊断。

在开始实施步骤前，下列定义能够更清楚地理解如下本发明的公

开内容。

“样品”是来源于任意类型食品的膳食样品，还包括来源于生物液体的临床样品。这种样品由此可以为液体或固体，且可以提及的由下列样品组成，但不限于它们：膳食样品：水；饮料，诸如牛奶；果汁；临床样品：如全血、血浆、尿或粪便；膳食样品：酸牛奶、肉、蛋、蔬菜、蛋黄酱或干酪；鱼等；来源于用于动物的食物的膳食样品，诸如特别是来源于动物肉的样品。

术语“第一个容器”用以指能够容纳培养基的任意类型的容器，诸如特别是烧瓶、瓶、Stomacher[®]袋等。有利的是这第一个容器可以耐受压力的变化，特别是在温度变化过程中的压力变化。因此，如果第一个容器由固体材料制成（诸如玻璃瓶），那么对这种第一个容器而言有利的是开口的或安装了允许压力变化的阀门。当第一个容器由柔韧材料制成，诸如特别是Stomacher[®]袋，那么它可以是开口的，也可以是封闭的，因为材料的柔韧性允许压力变化。

术语“培养基”用以指包括细胞存活和生长所需所有成分的培养基。这类培养基是本领域技术人员众所周知的，本领域技术人员易于选择最适合于他们需要检测的细菌所用的培养基。

术语“选择培养基”用以指能够选择应与检测细菌所用系统反应的细菌的培养基。例如，当需要选择指定细菌时，选择培养基包括直接针对可能存在于样品中的不需要检测的其它细菌种类的抗生素。选择培养基的另一个实例在于包括对某些特定细菌具有毒性的化合物。还可以使用对某些细菌具有营养限制的培养基。这类选择培养基是本领域技术人员众所周知的，本领域技术人员可以根据他们所希望分析的样品和细菌选择合适的选择培养基。可以将这种选择培养基与培养基混合或在包括检测系统的第二个容器中分离。

术语“第二个容器”用以指能够容纳至少一种如下所定义的检测系统的任意类型的容器。这第二个容器优选由足够硬度的材料制成，这种硬度能够使在这第二个容器内部温度下降时保持其体积恒定。这第二个容器可以包括在第一个容器内，使得使用者仅需要一个包括检

测和/或鉴定细菌所需的所有部件的装置。

术语“检测系统”用以指能够显示出存在指定细菌的系统。这类系统是本领域技术人员众所周知的且作为举例可以提及的系统由如下检测系统构成，它包括基于免疫沉淀检测的发色或荧光底物、免疫色谱、pH指示剂、沉淀产物等。这种检测可以直接、即通过检测细菌或特别通过检测由所述细菌释放的代谢物间接进行。

术语“传送部件”用以指将第一个容器内包括的液体转移至第二个容器的任意部件。这种传送部件与第二个容器之间可以彼此独立或可以构成单一部件。

因此，本发明提供了用于检测和/或鉴定存在于液体或固体样品中的细菌的方法，其特征在于：

- a. 将可能含有所述细菌的样品置于第一个容器内的液体培养基中；
- b. 提供包括用于检测所述细菌的至少一种系统的第二个容器；
- c. 在第一个容器与第二个容器之间安装传送部件；
- d. 给第二个容器内部施加温度 T1，然后
- e. 给第二个容器内部施加温度 T2；
- f. 温度 T1 高于温度 T2，使得将确定体积的培养基从第一个容器转移至第二个容器；
- g. 在检测系统内测定存在或不存在细菌和/或鉴定所述细菌。

所述的细菌特别可以为，但不限于：葡萄球菌属、沙门氏菌属、奈瑟氏球菌属(niesseria)、军团杆菌属、分枝杆菌属、弯曲杆菌属、利斯特氏菌属等。

本发明优选实施方案的传送部件包括在第一个容器内的至少第一个开口和在第二个容器内的至少第二个开口。

显然可以理解，第一个容器与第二个容器之间的转移不会自发地发生。例如，第一个容器中的第一个开口应位于第二个容器中的第二个开口下，以便防止重力导致的任何自发转移。当传送部件为防止第一个容器与第二个容器之间因简单毛细管作用而发生任何自发转移的

非毛细管时,也可以防止自发转移。这种导管的内径特别可以为在 0.1 - 5mm, 优选 0.5 - 2mm。

优选第二个容器界定第二个开口与检测系统之间的第一个空气体积和/或传送部件界定第一个开口与第二个开口之间的第二个空气体积。如果第二个容器在传送部件的第二个开口与检测系统之间包括选择培养基,那么优选将空气体积界定在传送部件的第二个开口与选择培养基之间。

按照本发明的优选实施方案,第二个容器和传送部件由在温度变化时保持体积恒定的足够硬度的材料制成。因此,当温度从 T1 改变至 T2 时,第一个空气体积和/或第二个空气体积如通过经历压力下降而抽吸肺样起作用。

按照本发明的优选实施方案, T1 为 20 - 45°C, 且更优选 30 - 42°C; T2 为 4 - 30°C, 优选 13 - 18°C。

在步骤 f) 中,转移的确定体积特别取决于施加的温差且还取决于第二个空气体积。转移的确定体积特别可以在 100 - 1000 μ l 且优选 400 - 600 μ l。因此,作为举例,当温差 (T2-T1) 为 22°C 且 T1=15°C 和 T2=37°C 时, 350 μ l 的体积从第一个容器中被转移至第二个容器。也能够进行几次步骤 d) - f), 以便在几个阶段转移确定的体积用于检测细菌。

在步骤 g) 中,对细菌存在或不存在进行测定和/或鉴定取决于所用的检测系统。

按照本发明实施方案的变化形式,在步骤 a) - 步骤 b) 之间进行预富集步骤,即增加需要检测的细菌数量。这类预富集步骤是本领域技术人员众所周知的,本领域技术人员易于根据他们希望检测的细菌采用该步骤。

按照本发明的特定实施方案,第二个容器包括在第一个容器中。

本发明还涉及检测和/或鉴定存在于液体或固体样品中的细菌的方法,其特征在于:

a. 如上所述将可能含有所述细菌的样品置于第一个容器内的液体培养基中;

- b. 如上所述提供包括用于检测所述细菌的至少一种系统的第二个容器；
- c. 如上所述在第一个容器与第二个容器之间安装传送部件；
- d. 给第一个容器内部施加温度 T1，然后
- e. 给第一个容器内部施加温度 T2；
- f. 温度 T1 低于温度 T2，使得将确定体积的培养基从第一个容器转移至第二个容器；
- g. 在检测系统内测定存在或不存在细菌和/或鉴定所述细菌。

按照本发明的优选实施方案，第二个容器与传送部件由在温度变化时足以保持恒定体积的硬度的材料制成。

本发明还涉及检测和/或鉴定样品中的细菌的装置，包括

- 包括至少一种检测系统的第二个容器；和
- 第一个容器与第二个容器之间的至少一种传送部件，所述的传送部件包括在第一个容器中的至少第一个开口和在第二个容器中的至少第二个开口。

按照本发明的优选实施方案，第二个容器界定第二个开口与检测系统之间的第一个空气体积和/或传送部件界定第一个开口与第二个开口之间的第二个空气体积。特别将所述的在压力下降时如抽吸肺起作用的第一个和第二个空气体积空气体积施加给第二个容器。按照本发明的优选实施方案，第一个容器与传送部件由在温度变化时足以保持恒定体积的硬度的材料制成。

按照本发明的优选实施方案，第一个容器中的第一个开口的位置低于第二个容器中的第二个开口，以特别防止因重力而在第一个容器与第二个容器之间发生任何的转移。

按照本发明的另一个实施方案，第一个容器中的第一个开口与第二个容器中的第二个开口构成相同的开口。在该实施方案中，传送部件限于这一相同开口。

按照本发明的特定实施方案，传送部件为非毛细管，以特别防止因简单毛细管作用而在第一个容器与第二个容器之间发生任何转移。

按照本发明的特定实施方案，如上所述的装置还包括含有培养基的第一个容器。按照本发明的特定实施方案，第二个容器包括在第一个容器中。优选第一个容器为 Stomacher[®]袋。这种 Stomacher[®]袋可以在放置膳食样品的培养基与传送部件之间包括过滤器，以防止膳食样品的任何部分阻塞第一个开口并防止培养基从第一个容器转移至第二个容器。

最后，为了实施如上所述的方法，本发明涉及用于检测和/或鉴定细菌的试剂盒。

将附图作为解释性实施例给出且实际上绝不起限定作用。它们能够更清楚地理解本发明。

附图说明

附图 1 表示如实施例 1 中提供的本发明的第一个实施方案。第一个容器 (1) 为包括培养基 (2) 的 Stomacher[®]袋，其中放置了可能含有需要检测和/或鉴定的细菌的样品。第二个容器 (4) 包括检测系统 (6)，它是包括指示剂的选择性液体培养基，所述的指示剂在存在欲检测的细菌和/或鉴定的细菌时形成沉淀。这第二个容器与浸入包括样品的培养基 (2) 的传送部件 (3) 连接。该传送部件包括在第一个容器 (1) 中的第一个开口 (7) 和在第二个容器 (4) 中的第二个开口 (8)。在第二个开口 (8) 与检测系统 (6) 之间界定了第一个空气体积 (9)。在第二个开口 (8) 与第一个开口 (7) 之间的传送部件 (3) 内界定了第二个空气体积 (16)。

附图 2 表示如实施例 2 中提供的本发明的另一个实施方案。第一个容器 (1) 为包括培养基 (2) 的开口容器，其中放置了需要分析的样品。传送部件 (3) 与附图 1 的传送部件 (3) 类似。第二个容器 (4) 包括如附图 1 中所述的第一个空气体积 (9) 和浸入了选择培养基 (5) 的纤维素柱 (10)。将为被动固定在无菌纸片上的显色底物的检测系统 (6) 置于纤维素柱 (10) 顶部。

附图 3 表示如实施例 3 中提供的发现检测能运动的细菌中的优选应用的本发明的另一个实施方案。第一个容器 (1) 为包括培养基 (2) 的

开口容器，其中放置了需要分析的样品。传送部件(3)与附图1的传送部件(3)类似。第二个容器(4)包括如附图1中所述的第一个空气体积(9)、半固体培养基(5)和为被动固定在无菌纸片上的显色底物的检测系统(6)。在转移步骤后，圆柱体(11)促使能运动的细菌通过选择培养基迁移，此后达到检测系统。

附图4表示如实施例4中提供的本发明的另一个实施方案。第一个容器(1)为包括培养基(2)的开口容器，其中放置了需要分析的样品。传送部件(3)与附图1的传送部件(3)类似。第二个容器(4)包括如附图1中所述的第一个空气体积(9)和检测系统(6)，其中检测系统(6)为本领域技术人员众所周知的免疫色谱条，它包括含有标记的抗细菌抗体缀合物的第一部分(12)和为色谱膜的第二部分(13)，在色谱膜(13)上能够检测到第一种信号(14)和第二种信号(15)，第一种信号的特征在于存在需要检测细菌的抗细菌抗体，第二种信号的特征在于存在阳性对照。尽管细菌是不能运动的，但是吸收纸(17)能够使它们迁移。

附图5表示本发明的另一个实施方案。第一个容器(1)为包括培养基(2)的生物分析管，其中放置了需要分析的样品。第二个容器(4)包括如附图1中所述的第一个空气体积(9)和检测系统(6)以及选择培养基(5)。在该实施方案中，第一个容器(1)中的第一个开口与第二个容器(4)中的第二个开口构成相同的开口：传送部件(3)限于这一相同开口。该开口必须不能使第一个容器与第二个容器之间发生自发性的培养基的转移。

提供下列实施例仅作为解释目的，且实际上绝不起限定作用。它们有助于更清楚地理解本发明。

实施例1 - 包括指示剂的液体选择培养基上金黄色葡萄球菌的检测

在本实施例中使用如附图1中所示用于检测和/或鉴定存在于样品中的细菌的装置检测金黄色葡萄球菌。为了这一目的，将225ml培养基(2) (蛋白胨水, bioMérieux, ref42043)与25ml牛奶一起导入为

Stomacher[®]袋的第一个容器(1),并按照本领域技术人员所公知的常规方案给该混合物接种 3×10^4 个金黄色葡萄球菌细胞。如上所述使用培养基和牛奶,但不接种金黄色葡萄球菌获得对照组试验结果。将 25ml 注射器的上部用作包括 13ml 第一个空气体积(9)的第二个容器(4)。使用选择培养基(5)(Qi-Staph[®], bioMérieux)并将 3ml 这种选择培养基引入第二个容器(4)。在本实施例中,检测系统(6)为使存在的金黄色葡萄球菌出现黑色沉淀的指示剂化合物(亚碲酸钾)。在本实施例中所用的传送部件(3)为导管,它具有 1mm 内径和 12mm 长度,其中 4cm 透入第二个容器(4),如附图 1 中所示。该传送部件(3)包括浸入培养基(2)的第一个开口(7)和进入第二个容器(4)的第二个开口(8)。在本实施例中,第二个容器恰好包括一个开口,它相当于所述传送部件(3)的第二个开口(8)且结果是构成了除开口(8)外的封闭室。如附图 1 中所示,在 Stomacher[®]袋中放置有第二个容器(4)和传送部件(3)。这使得能够分离污染的培养基。

通过将完整的装置置于 37℃ 下的保温箱内 1 小时使包括细菌的培养基(2)在第一个容器(1)与第二个容器(4)之间获得转移。这种温育使培养基得到预富集。可以根据样品的污染情况进行或长或短的温育。然后第二个容器(4)内部处于温度 $T_1=37^\circ\text{C}$ 。然后将完整装置放置在温度 15℃ 下 1 小时,使得第二个容器(4)内部处于温度 $T_2=15^\circ\text{C}$ 。装置温度的降低诱导第二个容器(4)中的压力下降,使得确定体积的培养基(600 μl)从第一个容器(1)中转移至第二个容器(4)。然后使完整的装置保持在 37℃ 下 18 小时,以便使细菌代谢底物,从而在检测系统(6)内诱导出现沉淀。应注意在第二个容器中(4)中,选择培养基(5)的水平不会达到传送部件(3)与第二个容器(5)之间的第二个开口(8):在抽吸过程中,包括抽吸的金黄色葡萄球菌的培养基(2)被截留在第二个容器(4)内部且不能反向流入第一个容器(1),此时第二个容器(4)内部温度再次增加。在该温育结束时,在检测系统内出现沉淀,证实当给培养基和牛奶接种这些细菌时存在金黄色葡萄球菌。在对照试验中未观察到沉淀。

实施例 2 - 纤维素柱上鼠伤寒沙门氏菌的检测

第一个容器(1)与实施例 1 中所述相同,但可以为任意类型的第一个容器。在本实施例中,给溶解了 25g 奶粉(商购)的 225ml BPW(蛋白胨水)中接种 3×10^2 个鼠伤寒沙门氏菌细胞。在本实施例中所用的第二个容器(4)和传送部件(3)如附图 2 中所示。如实施例 1 中所述进行对照试验。

就选择培养基(5)而言,将 0.5 毫升含有 20 μ g 新生霉素的 BPW 培养基浸入 2cm 长和 0.7cm 直径的纤维素柱(10)。将该纤维素柱(10)放置在第二个容器(4)内部,但不与传送部件(3)的第二个开口(8)接触。在本实施例中,第二个容器(4)恰好包括一个开口,它相当于所述传送部件(3)的第二个开口(8),结果是构成了除开口(8)外的封闭室。在这一纤维素柱(10)顶部沉积的是检测系统(6),它是被动固定在 5mm 直径无菌纸片(Whatman 2 Chr, ref3030917)上的显色底物,即合并了氮蓝四唑(Sigma, N6639)的 5-溴-6-氯-3-吡啶氧基辛酸酯(magenta C8)。如实施例 1 中所述,通过将完整装置置于 37 $^{\circ}$ C 下 1 小时且然后在 15 $^{\circ}$ C 下 1 小时使包括细菌的培养基(2)在第一个容器(1)与第二个容器(4)之间进行转移。在转移结束时,与纤维素柱接触的细菌扩散至柱顶,到达检测系统,在这里它们代谢底物,从而形成黑色沉淀。15 小时后观察到了阳性结果。在对照试验中结果为阴性。

实施例 3 - 半固体选择培养基上能运动的鼠伤寒沙门氏菌的检测

第一个容器(1)与实施例 1 中所述相同,但可以为任意类型的第一个容器。在本实施例中,给溶解了 25g 奶粉(商购)的 225ml BPW(蛋白胨水)中接种 3×10^2 个鼠伤寒沙门氏菌细胞。在本实施例中所用的第二个容器(4)和传送部件(3)如附图 3 中所示。如实施例 1 中所述进行对照试验。

将 3ml 半固体培养基(API M-培养基[®], bioMérieux, ref50120)放置在第二个容器(4)内部并作为包括 40 μ g/ml 新生霉素的选择培养

基(5)使用,选择培养基(5)水平不会达到传送部件(3)与第二个容器(5)之间的第二个开口(8)。如附图3中所示,第二个开口(8)与检测系统(6)被圆柱体(11)隔开,促使细菌通过选择培养基(5)迁移,这意味着仅抗性和能运动的细菌到达检测系统(6)。该检测系统(6)为如实施例2中所述的显色底物。通过将完整装置置于37℃下1小时然后在15℃下1小时,使沙门氏菌属按照与实施例1类似的方式从第一个容器转移至第二个容器。

在转移结束时,通过将完整装置维持在37℃下16小时,包括能运动的细菌的确定体积的培养基(150 μ l)与选择培养基(5)接触且细菌通过它迁移至检测系统(6)。在该温育结束时,纸片显黑色证实存在沙门氏菌属,它最初存在于培养基中。在对照试验中没有观察到显色。

实施例4 - 通过免疫色谱法检测单核细胞增生性利斯特氏菌

第一个容器(1)与实施例1中所述相同,但可以为任意类型的第一个容器。在本实施例中,给250ml培养基(2)(tryptic大豆肉汤, bioMérieux, ref44011; 6%酵母)接种 3×10^7 cfu/ml的单核细胞增生性利斯特氏菌4b。在本实施例中所用的第二个容器(4)和传送部件(3)如附图4中所示。按照类似的方式进行对照试验,但不接种细菌。

将为本领域技术人员众所周知的免疫色谱法条的检测系统(6)放置在第二个容器(4)内部。如实施例1中所述进行对照试验。

通过在温度T1=30℃下将完整装置温育1小时然后在温度T2=15℃下温育45分钟,使单核细胞增生性利斯特氏菌从第一个容器(1)转移至第二个容器(4)。在转移结束时,能够检测到第一种信号(14)和第二种信号(15),第一种信号(14)的特征在于通过与特异性抗体反应证实有存在于单核细胞增生性利斯特氏菌鞭毛中的蛋白质存在,第二种信号(15)的特征在于存在阳性对照且使用抗来自小鼠的IgG的抗体获得。在对照试验中,仅能够观察到第二种信号。

参照

1. 第一个容器
2. 包括样品的培养基
3. 传送部件
4. 第二个容器
5. 选择培养基
6. 检测系统
7. 第一个开口
8. 第二个开口
9. 第一个空气体积
10. 纤维素柱
11. 圆柱体
12. 第一部分
13. 第二部分
14. 第一种信号
15. 第二种信号
16. 第二个空气体积
17. 吸收纸

图1

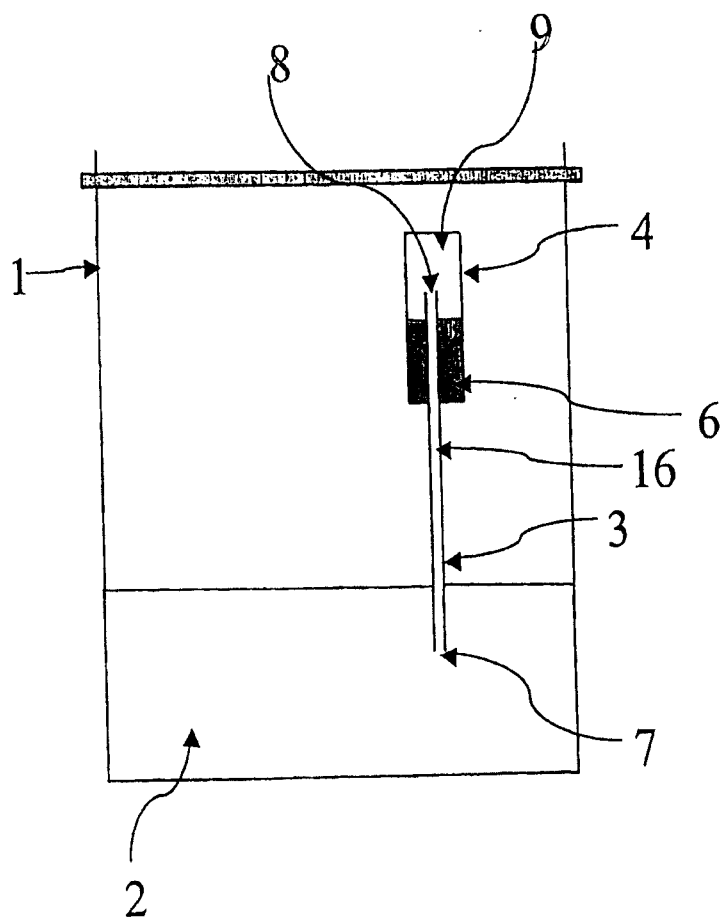


图2

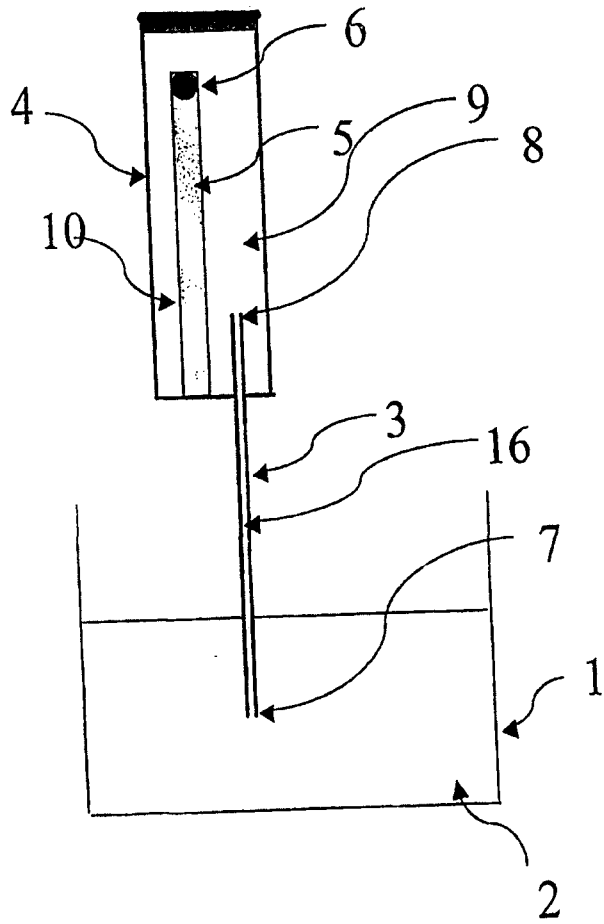


图3

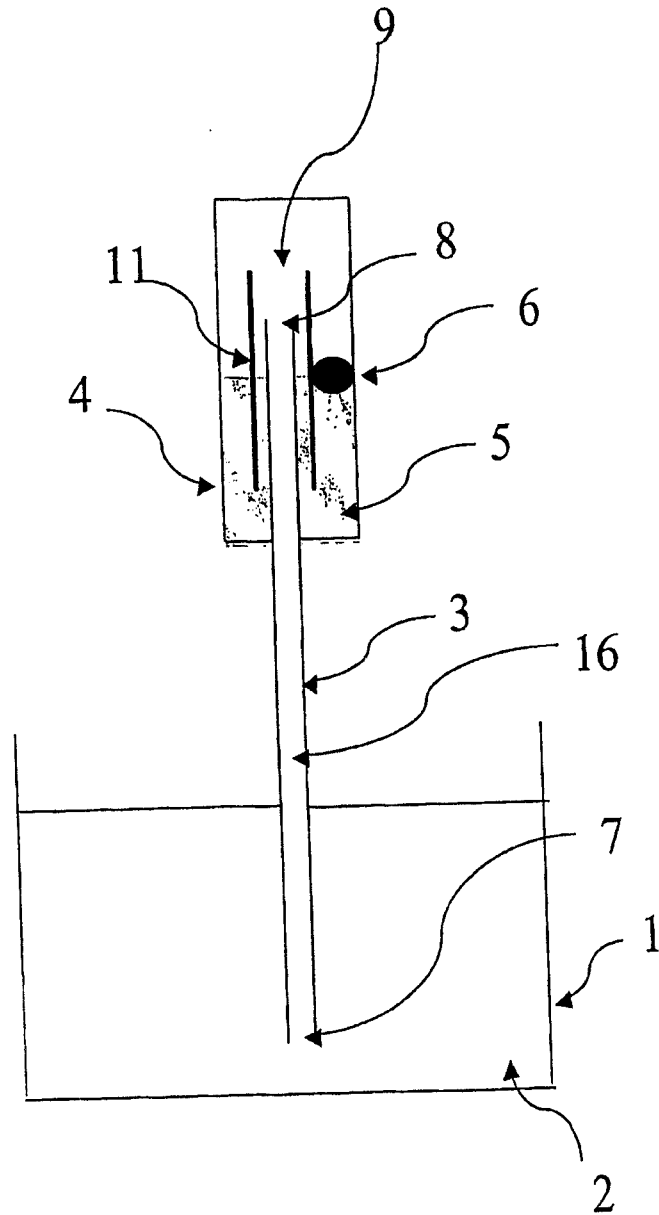


图5

