

## 旋达®R1 致病微生物检测系列

创伤弧菌核酸检测试剂盒（一管式 PCR-荧光探针法）

请于-20℃条件下保存，有效期 12 个月

### ◆ 产品说明

旋达®R1 致病微生物检测系列可针对食品、饲料等样品中的致病微生物的特异核酸片段进行扩增，仪器实时监测扩增过程中的荧光信号变化，自动判读结果。本产品用于创伤弧菌的检测。**检出限为 10<sup>3</sup> CFU/ml。**

### ◆ 产品组成（96 测试）

| 011022LII |                   |
|-----------|-------------------|
| 试剂        | 含量                |
| A-VV-P    | 20μL × 8 管 × 12 排 |
| NG-P      | 100μl × 3 支       |
| PG-VV-P   | 100μl × 2 支       |

### ◆ 适用仪器

ABI 7500、CFX 96、Mx 3005P、LineGene9600 等实时荧光 PCR 仪。

### ◆ 自备耗材和仪器

①冰盒；②移液器（0.5-10μL，10-100μL，100-1000μL）及配套灭菌吸头；③离心机；④涡旋混匀器；⑤金属浴；⑥均质机、搅拌机或研钵等研磨器具；⑦电子天平。

### ◆ 注意事项

- 本试剂检测灵敏度高。为了防止污染，实验要分区操作。
  - 第一区：样本制备区。
  - 第二区：模板添加区。
  - 第三区：扩增及产物分析区。

★ 分区之间最好进行物理性隔离，避免人为因素造成的污染。
- 实验过程中穿戴工作服和乳胶手套，不同区域独立使用工具，需更换手套和实验服。
- 严格按照操作步骤操作，试剂配制和加样等步骤请严格按照说明书要求在冰盒上操作。
- 反应液中的成分对光敏感，应**避光保存**。试剂使用前要完全解冻，但应避免反复冻融，推荐使用前离心 30 秒，并按检测频次将反应液以适当体积分管保存。
- 反应结束后，扩增管请置于密封袋内丢弃，当日清理，开盖易造成气溶胶污染，禁止开盖。
- 不同批号试剂请勿混合使用，在有效期内使用。

### ◆ 样品处理

参照《NMKLN0.156》处理样品，对样品进行前增菌，制备的菌液保存待用。

以无菌操作取检样 20 g(ml)，加入 2%氯化钠碱性蛋白胨水 200 ml，用旋转刀片式均质器以 8000 rpm 均质 1 min，或者拍击式均质器拍击 2 min，充分振荡后于 42℃ ± 1℃培养 18 h ± 2 h。

详细步骤请按照标准操作或查阅食安通软件。

### ◆ 实验操作

- 模板制备（样本制备区）  
建议使用试剂配套细菌组 DNA 提取系列产品，具体过程详见产品说明书。
- 添加模板（样本制备区，放置于冰盒中进行）

剪下所需测试数的已含有反应液的 PCR 管，放置在室温待解冻后，离心 30 秒后揭开封口膜，向每管反应液中分别加入 5 $\mu$ L 模板，顺序为 NG、待测样品模板、PG-VV-P。盖好配套的 PCR 管盖后，涡旋混匀 30s，离心 1min，立即进行 PCR 扩增反应。

3. 扩增反应（扩增及产物分析区）

使用荧光定量 PCR 仪，荧光基团选择 FAM，淬灭基团选择 TAMRA。

按下列条件设置扩增反应：

| PCR 循环 |      |        | 荧光收集位点 |
|--------|------|--------|--------|
| 95°C   | 3 分钟 | 1 个循环  | —      |
| 94°C   | 5 秒  | 40 个循环 | —      |
| 60°C   | 40 秒 |        | ※      |

4. 基线和阈值设定

基线调整取 3-15 个循环的荧光信号，阈值线应超过阴性对照扩增曲线的最高点。

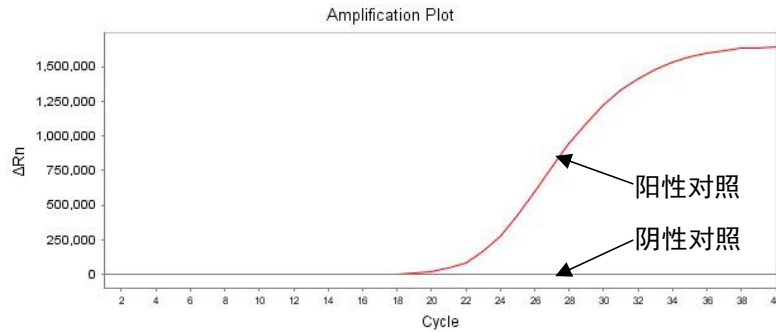
◆ 结果判定

检测样品  $Ct \geq 40.0$ ，曲线为直线或轻微斜线，无“S”型扩增曲线，可报告样品阴性，不含有沙门氏菌或含量低于检测限；

检测样品  $Ct \leq 35.0$ ，曲线呈“S”型扩增曲线，可判定样品为阳性，含有创伤弧菌；

检测样品  $35.0 < Ct < 40.0$ ，需进行一次重复实验，若  $Ct$  值  $\geq 40.0$  则为阴性，否则为阳性。

★ NG 反应为平滑直线，PG 反应为“S”型扩增曲线且  $Ct$  值  $< 30$ ，此次检测结果有效，否则无效。如重复检测结果仍为无效，请与技术支持人员联系。



◆ 企业信息

广州双螺旋基因技术有限公司

网址：www.dhelix.cn

电话：020-85671013

传真：020-34037175

地址：广州国际生物岛螺旋四路 7 号标准产业单元二期第三栋第三层 302 单元