

旋达®R1 致病微生物检测系列

诺如病毒 GI 型、GII 型 RNA 核酸检测试剂盒（一管式 IAC，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 诺如病毒 GI 型、GII 型 RNA 核酸检测试剂盒（PCR-双色荧光法）参照 GB 4789.42-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 诺如病毒检验》进行设计，可于一个反应中同时检测 GI 型、GII 型诺如病毒；适用于贝类，生食蔬菜，胡萝卜、瓜、坚果等硬质表面食品，草莓、西红柿、葡萄等软质水果等食品中 GI 型、GII 型诺如病毒核酸的检测。

◆ 产品组成（48 测试）

012172M II	
试剂	含量
A-GIGII	20μL×7 管×4 排
IAC-Nor	20μL×5 管×4 排
B-Nor	500μL×1 支
NG-P	100μL×2 支
PG-Nor	100μL×1 支

◆ 适用仪器

ABI 系列、MJ 系列、Roche 系列、博日系列以及其它荧光定量 PCR 检测仪（可同时检测 FAM 通道（494 nm）、VIC 通道（538nm）两种通道的荧光定量 PCR 仪）。

◆ 自备耗材和仪器

①冰盒；②移液器（1-10μL，10-100μL，100-1000μL）及配套灭菌吸头（RNase free）；③离心机；④涡旋混匀器。

◆ 注意事项

1. 本试剂检测灵敏度高。为了防止污染，实验要分区操作。
 - 1) 第一区：样本制备区。
 - 2) 第二区：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。
2. 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。
3. 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。
4. 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。
5. 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。
6. 不同批号试剂请勿混合使用，在有效期内使用。

◆ 试剂盒组分及样品处理说明

- (1) 样品前处理请参照 GB 4789.42-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 诺如病毒检验》进行样品前处理。
- (2) A-GIGII 为 GI、GII 反应液，含有诺如病毒 GI 型、GII 型引物探针。
- (3) IAC-Nor 为过程控制反应液，含有过程控制病毒引物探针。
- (4) B-Nor 为提取过程控制液，进行样品 RNA 提取时请参照国标法加入 10 μL B-Nor 作为提取过程控制；亦可参照国标法另取 50-100 μL B-Nor，用 PBS 缓冲液补足至 200 μL，进行核酸提取、标准曲线制作及计算提取效率。
- (5) NG-P 为阴性对照，也可参照国标法提取阴性样品核酸作为阴性对照进行实验。
- (6) PG-Nor 含 GI 型、GII 型诺如病毒核酸，可作为阳性对照，亦可参照国标法作为扩增控制计算抑制指数。

*推荐使用双螺旋生物公司的病毒基因组 DNA/RNA 提取试剂盒中的方案进行病毒 RNA 的提取，或者采用其他等效产品进行 RNA 提取。

◆ 实验操作（推荐）

1. 反应体系配制（样本制备区）

剪下所需测试数的已含有反应液的 PCR 管，并参照下表进行编号，放置在室温待解冻后，离心 30 秒后揭开封口膜，使用穿刺加样法穿过固封层向每管反应液中分别加入模板。

孔编号	实验意义	反应液	加入模板
A	空白对照	A-GIGII	5 μ L RNase free water
B	阴性对照	A-GIGII	5 μ L 阴性对照
C	病毒提取过程控制 1	IAC-Nor	5 μ L 样品 RNA
D	病毒提取过程控制 2	IAC-Nor	5 μ L 过程控制病毒 RNA
E	病毒提取过程控制 3	IAC-Nor	5 μ L 10 ⁻¹ 倍稀释过程控制病毒 RNA
F	病毒提取过程控制 4	IAC-Nor	5 μ L 10 ⁻² 倍稀释过程控制病毒 RNA
G	病毒提取过程控制 5	IAC-Nor	5 μ L 10 ⁻³ 倍稀释过程控制病毒 RNA
H	扩增控制 1	A-GIGII	5 μ L 样品 RNA+1 μ L 扩增控制 RNA
I	扩增控制 2	A-GIGII	5 μ L 10 ⁻¹ 倍稀释样品 RNA+1 μ L 扩增控制 RNA
J	扩增控制 3	A-GIGII	5 μ L RNase free water+1 μ L 扩增控制 RNA
K	样品 1	A-GIGII	5 μ L 样品 RNA
L	样品 2	A-GIGII	5 μ L 10 ⁻¹ 倍稀释样品 RNA

配制完成后请盖上 PCR 管盖，涡旋混匀并离心后上机反应。

*请参照上表对管进行编号，以免混淆。

2. 扩增反应（扩增及产物分析区）

使用荧光定量 PCR 仪进行检测，编号 A~B, H~L 使用 FAM 和 VIC 通道，编号 C~G 使用 FAM 通道。

按下列条件设置扩增反应：

PCR 循环			荧光收集位点
50 $^{\circ}$ C	10 分钟	1 个循环	—
95 $^{\circ}$ C	5 分钟	1 个循环	—
95 $^{\circ}$ C	10 秒	45 个循环	—
60 $^{\circ}$ C	30 秒		※

◆ 结果判定

1. 实验有效性判定

(1) 实验满足：空白对照阴性（A 反应孔）；阴性对照阴性（B 反应孔）；阳性对照阳性（J 反应孔）；否则本次实验无效，请与本公司技术支持联系。

(2) 过程控制（C~G 反应孔）需满足：提取效率 \geq 1%；如提取效率 $<$ 1%，需重新检测；但如提取效率 $<$ 1%，检测结果为阳性，也可酌情判定为阳性。

(3) 扩增控制（H~J 反应孔）需满足：抑制指数 $<$ 2.00；如抑制指数 \geq 2.00，需比较 10 倍稀释样品的抑制指数；如 10 倍稀释样品扩增的抑制指数 $<$ 2.00，则扩增有效，且需采用 10 倍稀释样品 RNA 的 Ct 值作为结果；10 倍稀释样品扩增的抑制指数也 \geq 2.00 时，扩增可能无效，需要重新检测；但如抑制指数 \geq 2.00，检测结果为阳性，也可酌情判定为阳性。

2. 结果判定

待测样品的 Ct 值大于等于 45 时，判定为诺如病毒阴性；待测样品的 Ct 值小于等于 38 时，判定为诺如病毒阳性；待测样品的 Ct 值大于 38，小于 45 时，应重新检测；重新检测结果大于等于 45 时，判定为诺如病毒阴性；小于等于 38 时，判定为诺如病毒阳性。

◆ 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