旋达®R1动物疫病检测系列

海豚链球菌核酸检测试剂盒（一管式恒温荧光法）

请于-20℃条件下保存，有效期 12 个月

◆ 产品说明

旋达®R1动物疫病检测系列基于独特的恒温荧光检测技术，可针对食品、动物组织等样品中病原的特异核酸片段进行扩增，通过实时扩增曲线判定结果。本产品用于海豚链球菌的检测，**检出限为 10^3copies/μl 基因组 DNA**。

◆ 产品组成（48 测试）

012081MⅢ	
试剂	含量
A-SI-I	22μL× 48 管
B-I	90μL × 1 支
PG-SI-I	50μL × 1 支

◆ 适用仪器

Dhelix-C、ESE Tube Scanner、Genie II、Deaou-308C 等恒温荧光检测仪，ABI 7500，LightCycler480，CFX 96 等荧光 PCR 仪。

◆ 自备耗材和仪器

①灭菌 1.5mL 或 2.0mL 离心管；②冰盒；③移液器（0.1-2.5μL，0.5-10μL，10-100μL，100-1000μL）及配套灭菌吸头；④离心机；⑤涡旋混匀器；⑥金属浴

◆ 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：模板添加区。
   3）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。

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。

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。

◆ 样品处理

参照下述方法处理样品。

(1)若对样本不增菌直接进行检测，则取患病动物的病灶组织做匀浆备用。

(2)若对样本中细菌进行增菌检测，则无菌称取 25g 病灶组织样品，加入 225mL BHI 培养基，用旋转刀片式均质器以 8000rpm/min 均质 1 min，或者拍击式均质器拍击 2 min，制备成 1:10 的均匀稀释液。如无均质器，则将样品放入无菌乳钵或均质袋中磨碎，再加入 225mLBHI 培养基，于 37℃进行培养 24h 以上。

详细步骤请按照标准操作或查阅食安通软件。

◆ 实验操作

1. 模板制备（样本制备区）

请参照水生动物病害基因组 DNA 快速提取试剂盒说明书的提取步骤。

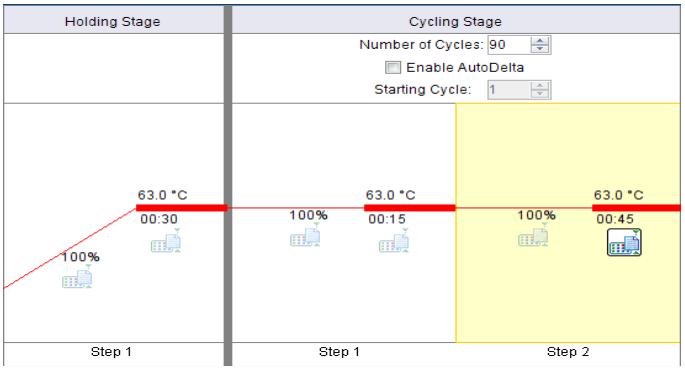
2．添加模板（模板添加区，放置于冰盒中进行）

取出所需测试数的已含有反应液 A-SI-I 的 PCR 管，将试剂完全解冻，离心 30 秒，在管盖上标记管名（阴性对照管 NG、样品 XX、阳性对照管 PG）。打开管盖向各管管底分别加入 1μL B-I，盖上阴性对照管管盖，其他各管分别沿管壁加入 2μL 模板，顺序为待测样品模板、PG-SI-I，依次盖好各管管盖，离心 30 秒，立即进行扩增反应。

3. 扩增反应（扩增及产物分析区）

①恒温仪器 63˚C条件下反应 90 min。待仪器升温至 63˚C后，新建程序，设置实验名称及反应时间，将步骤 2 中离心后的 PCR 反应管放入恒温荧光分子检测仪，点击开始检测。

②若使用荧光定量 PCR 仪，则荧光基团选择 FAM，淬灭基团选择 None，将 63˚C 15 s，63˚C 45 s 作为一个循环，于 63˚C 45 s 处收集荧光信号，90 个循环。

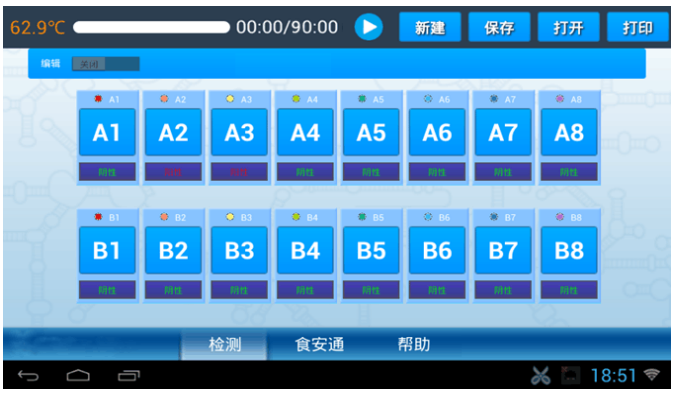


若使用其他仪器请参照仪器说明书进行设置。

◆ 结果判定

①恒温仪器自动判定结果，若显示“阳性”，则样品中含有海豚链球菌；若显示“阴性”，且没有出现 S 型扩增曲线，则样品中不含有海豚链球菌或含量低于检测限。

②在荧光定量 PCR 仪上，根据有无“S”型扩增曲线判定结果。若有“S”型扩增曲线，则样品中含有海豚链球菌；若无“S”型扩增曲线，则样品中不含有海豚链球菌或含量低于检测限。



★ NG 反应管结果显示“阴性”，PG 反应管结果显示“阳性”，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