

旋达[®]R1 致病微生物检测系列

蜡样芽孢杆菌核酸检测试剂盒（PCR-荧光探针法）

请于-20℃条件下保存，有效期 15 个月

◆ 产品说明

旋达[®]R1 致病菌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。本产品用于蜡样芽孢杆菌的检测。**检出限为 10³ CFU/mL。**

◆ 产品组成（48 测试）

011222M	
试剂	含量
A-Bac-P	20 μL × 8 管 × 6 排
NG-P	100μL × 2 支
PG-Bac-P	100μL × 1 支

◆ 适用仪器

ABI 7500、CFX 96、Mx 3005P、LineGene 9600 等实时荧光 PCR 仪。

◆ 自备耗材和仪器

①灭菌 1.5mL 或 2.0mL 离心管；②灭菌 0.2mL PCR 管或八联管；③冰盒；④移液器（0.5-10μL，10-100μL，100-1000μL）及配套灭菌吸头；⑤离心机；⑥涡旋混匀器；⑦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。
7. 检出限为 10³ CFU/ml 是以 1 ml 10³ CFU/ml 增菌液离心后收集菌体再提取的细菌基因组 DNA 作为模板。

◆ 样品处理

参照《SN/T 3932-2014 出口食品中蜡样芽孢杆菌快速检测方法 实时荧光定量 PCR 法》中的 3.4.1 处理样品，对样品进行前增菌，制备的菌液保存待用。

冷冻样品应在 45℃以下不超过 15 min 或在 2℃~5℃不超过 18 h 解冻，若不能及时检验，应放于-18℃左右保存；非冷冻而易腐的样品应尽可能及时检验，若不能及时检验，应置于 2℃~5℃冰箱保存，24 h 内检验。

称取样品 25 g，放入盛有 225 mL LB 培养基中进行均质，均质取 2~3 个适宜稀释度的样品匀液 30℃±1℃培养 9 h~18 h。

详细步骤请按照标准操作。

◆ 实验操作

1. 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。

2. 添加模板（模板添加区，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 μ L 模板，顺序为 NG、待测样品模板、PG-Bac-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 NONE。

按下列条件设置扩增反应：

	PCR 循环			荧光收集位点
去污染	37 $^{\circ}$ C	10 分钟	1 个循环	—
预变性	95 $^{\circ}$ C	1 分钟	1 个循环	—
扩增	95 $^{\circ}$ C	15 秒	40 个循环	—
	60 $^{\circ}$ C	30 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。

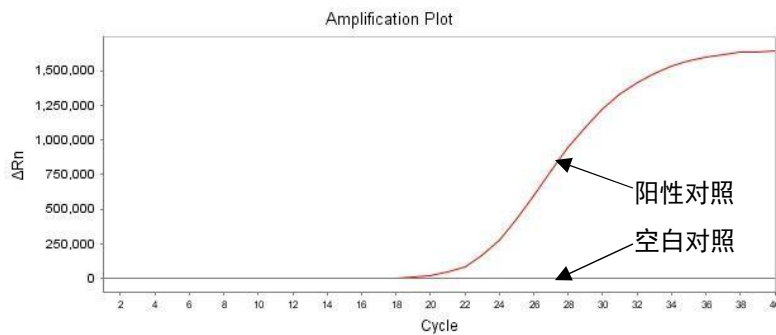
◆ 结果判定

检测样品 $Ct \geq 40$ ，曲线为直线或轻微斜线，无“S”型扩增曲线，可报告样品阴性，不含有蜡样芽孢杆菌或含量低于检测限；

检测样品 $Ct \leq 36$ ，曲线呈“S”型扩增曲线，可直接报告样品阳性，含有蜡样芽孢杆菌；

检测样品 $36 < Ct < 40$ ，需进行一次重复实验，若 Ct 值 ≥ 40 则为阴性，不含有蜡样芽孢杆菌或含量低于检测限；否则为阳性，含有蜡样芽孢杆菌。

★ 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