

旋达[®]R1动物病害检测系列

无乳链球菌/海豚链球菌双重核酸检测试剂盒（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 动物病害检测系列可针对动物组织、饲料、粪便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。本产品用于无乳链球菌和海豚链球菌的检测，**检出限为 10¹copies/μL 基因组 DNA。**

◆ 产品组成（48 测试）

033222M	
试剂	含量
A-GBS/SI-P	20μL × 8 管 × 6 排
NG-P	100μL × 2 支
PG-GBS/SI-P	100μL × 1 支

◆ 适用仪器

Gentier 32R、Gentier 48E/48R、Gentier mini、CFX 96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

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，应避免保存。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

参照相关标准处理样品，制备的样本保存待用。
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）
建议使用水生动物病原体基因组DNA/RNA提取试剂盒（FAST）等商品化试剂盒，具体过程详见产品说明书。
2. 添加模板（模板添加区，放置于冰盒上进行）
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 秒后打开管盖，向每管反应液中分别加入 5μL 模板，顺序为 NG、待测样品模板、PG-GBS/SI-P。盖好管盖后，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，无乳链球菌（GBS）荧光基团选择 FAM，淬灭基团选择 MGB；海豚链球菌（SI）荧光基团选择 VIC，淬灭基团选择 MGB，按下列条件设置扩增反应：

	PCR 循环			荧光收集位点
去污染	50℃	5分钟	1个循环	—
预变性	95℃	5分钟	1个循环	—
扩增	95℃	15秒	45个循环	—
	60℃	30秒		※

其他仪器请参照仪器说明书进行设置。

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

1、质量结果判定

- 1) 阴性对照：FAM 荧光通道 $Ct > 45$ ，VIC 荧光通道 $Ct > 45$ ，无“S”型扩增曲线
 - 2) 阳性对照：FAM 荧光通道 $Ct \leq 30$ ，VIC 荧光通道 $Ct \leq 30$ ，曲线呈“S”型扩增曲线
- 上述两项若有一项不符合，应重新进行扩增；如重复检测结果仍为无效，请与技术支持人员联系。

2、检测结果判定

检测样品 Ct 值 ≥ 45 或无 Ct 值，曲线为直线或轻微斜线，无“S”型扩增曲线，可报告样品阴性，不含有无乳链球菌和海豚链球菌或含量低于检出限；

检测样品 FAM 通道 Ct 值 ≤ 40 ，曲线呈“S”型扩增曲线，可直接报告样品阳性，含有无乳链球菌；

检测样品 VIC 通道 Ct 值 ≤ 40 ，曲线呈“S”型扩增曲线，可直接报告样品阳性，含有海豚链球菌；

检测样品 Ct 值 $40 < Ct < 45$ ，曲线呈“S”型扩增曲线，判断样品可疑，建议复检；复检后，在阴阳性对照都正常的前提下，样品检测 Ct 值 < 45 ，则可判定样品含有无乳链球菌或者海豚链球菌；样品检测 Ct 值 ≥ 45 ，则可判定该样品不含有无乳链球菌或者海豚链球菌，或者样品病毒核酸含量低于检出限。

★ NG 反应为平滑直线，PG 反应为“S”型扩增曲线，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。



参考结果图

◆ 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