



版本号: 240322

## 沙门氏菌核酸检测试剂盒

### (实时荧光PCR法) 说明书

#### 【产品名称】

通用名称: 沙门氏菌核酸检测试剂盒(实时荧光PCR法)

英文名称: Real-time PCR Diagnostic Kit for Rapid Identification of *Salmonella*

#### 【产品货号】MX-1201

#### 【包装规格】24次反应/盒

#### 【运输及保存】

1. 运输: 常温或冷藏运输
2. 保存: 2°C-8°C冷藏保存(长期不用时建议-20°C保存)
3. 有效期: 24个月

#### 【用途】

沙门氏菌是革兰氏阴性肠杆菌, 可导致沙门氏菌病, 蛋、家禽和肉类是沙门氏菌病的主要传播媒介。本产品为沙门氏菌核酸检测试剂盒(实时荧光PCR法), 可对样品中沙门氏菌的特异DNA核酸片段进行特异性扩增, 通过Ct值判断样品中是否含沙门氏菌或通过标准曲线确定样品中沙门氏菌的污染量。

#### 【检验原理】

本试剂盒采用实时荧光PCR技术, 通过沙门氏菌特异性引物对沙门氏菌进行特异性扩增, 荧光标记的特异性的探针对扩增产物进行标记跟踪, 实时在线监控反应过程, 结合相应的软件可以对产物扩增与否进行分析。

#### 【试剂盒内容】

序号	产品组成	规格
1	PCR 冻干粉	24 次反应/管
2	RNase-Free ddH <sub>2</sub> O	1mL/管
3	裂解液	5mL/瓶
4	空白PCR管	8 管/排×3

#### 【自备材料】

无菌1.5mL 离心管; 微量移液器及无菌枪头; 碎冰或者冰盒; 离心机; 涡旋振荡器; 金属浴。

#### 【操作步骤】

##### 1. 样本制备

a) 增菌液检测: 取增菌液1mL于1.5mL 离心管中, 3000×g离心10min 或10000×g 离心2min, 弃去上清, 加入200μL裂解液, 涡旋混匀, 金属浴99°C或沸水浴裂解10min, 冰浴冷却后12000×g 离心2min, 取上清即为模板。

b) 菌落检测: 用接种环取一环菌落, 溶于200μL裂解液中, 涡旋混匀, 金属浴99°C或沸水浴裂解10min, 冰浴冷却后12000×g 离心2min, 取上清即为模板。建议稀释至约100ng/μL。

##### 2. 反应体系配制

地址: 北京市朝阳区高碑店北路甲3号(100123) 电话: +86-10-51203999 传真: +86-10-51349510 技术支持电话: +86-10-85786931

E-mail: info@beijinglandbridge.com luqiaotech@hotmail.com 免费服务热线: 800-810-1304 400-810-1304

山东分公司: 电话: +86-532-82689263 传真: +86-532-82689273 广东分公司: 电话+86-20-38011430 传真: +86-20-38011431

东北办事处: 电话: +86-451-87821139 传真: +86-451-87821139



①从试剂盒中取出PCR冻干粉，每管加入RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 575μL，震荡混匀。（如一次用量较少，可分装到离心管中-20℃保存）

②取步骤2①中的23μL反应体系加入到空白PCR管中。

③取步骤【样本制备】中提取的2μL DNA样品加入到PCR管中，总反应体积为25μL。

④阳性对照、阴性对照和空白对照体系分别加入相应的阳性对照、阴性对照和RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 2μL。全部试剂及模板加样完成后快速离心，使整个体系均在PCR管底部。

### 3.反应条件

阶段	循环数	温度	时间	步骤	荧光信号 <sup>#</sup> 采集
预变性	1	95℃	5 min	预变性	否
Real-time PCR	40	95℃	5 sec	变性	否
		60℃	30-60 sec*	退火	是

\*：使用不同型号仪器进行时间设定时，请按照仪器使用说明书要求进行实验操作，一般设定在30 sec。

<sup>#</sup>：沙门氏菌特异性基因荧光基团为FAM、淬灭基团为TAMRA。

### 【结果分析与判定】

空白对照：无FAM荧光信号检出，未出现典型的扩增曲线。

阴性对照：无FAM荧光信号检出，未出现典型的扩增曲线。

阳性对照（含致病基因）：有FAM荧光信号检出，出现典型的扩增曲线，Ct值<30.0。

以上需同时满足，否则本次实验无效。

### 样品检测结果：

Ct值≥35，判定结果为阴性；

Ct值<30，并出现典型的扩增曲线，判断样品为阳性；

30≤Ct值<35，并且出现典型的扩增曲线，则重新提取DNA检测。再次检测结果仍为30≤Ct值<35，则判定样品为阳性；Ct值≥35，判定结果为阴性。

### 【注意事项】

1.实验前请仔细阅读本试剂盒说明书，严格按操作步骤执行。

2.试剂盒内各组分在使用前应充分融化混匀并经高速短暂离心后使用。

3.试剂盒必须避光保存，所使用的离心管、Tip头应高压灭菌，且不含DNase和RNase。整个操作过程和PCR实验室的软硬件设施应符合卫计委颁发《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》、《医疗机构临床基因扩增检验实验室工作导则》等法规的要求。并恰当处理试验过程中产生的废物和扩增产物，防止交叉污染。

4.本产品仅适用于实验室的工业、科研目的，不用于临床诊断或治疗。