



金黄色葡萄球菌核酸检测试剂盒 (实时荧光PCR法) 说明书

【产品名称】

通用名称: 金黄色葡萄球菌核酸检测试剂盒(实时荧光PCR法)

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

【产品货号】MX-1601-96

【包装规格】96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

【检验原理】

本试剂盒采用实时荧光PCR技术,适用于金黄色葡萄球菌核酸的体外检测。每个反应体系均含有金黄色葡萄球菌特异性引物探针,根据荧光定量PCR扩增产物的CT值来判定菌株是否为金黄色葡萄球菌。

【试剂盒内容】

序号	产品组成	规格
1	PCR冻干粉	24次反应/管×4
2	RNase-Free ddH ₂ O	1mL/管×4
3	裂解液	5mL/瓶×4
4	空白PCR管	8管/排×12

【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

①从试剂盒中取出PCR冻干粉, 每管加入RNase-Free ddH₂O 575μL, 震荡混匀。(如一次用量较少, 可分装到离心管中-20°C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 ddH₂O 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 [#] 采集
预变性	1	95°C	5 min	预变性	否
Real-time PCR	40	95°C	5 sec	变性	否
		60°C	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。

[#]: 金黄色葡萄球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。