

## 旋达®R1 致病微生物检测系列

志贺氏菌核酸检测试剂盒（一管式 PCR-荧光探针法）

请于-20℃条件下保存，有效期 12 个月

### ◆ 产品说明

旋达®R1 致病微生物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。本产品用于志贺氏菌的检测。检出限为 10<sup>3</sup> CFU/ml。

### ◆ 产品组成（96 测试）

011042LII	
试剂	含量
A-Shi-P	20μL × 8 管 × 12 排
NG-P	100μl × 3 支
PG-Shi-P	100μl × 2 支

### ◆ 适用仪器

ABI 7500、CFX 96、Mx 3005P、LineGene9600 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，并按检测频次将反应液以适当体积分管保存。
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《GB 4789.5-2012 食品安全国家标准 食品微生物学检验 志贺氏菌检验》中的 5.1 处理样品，对样品进行前增菌，制备的菌液保存待用。

以无菌操作取检样 25 g (ml)，加入装有灭菌 225 ml 志贺氏菌增菌肉汤的均质杯，用旋转刀片式均质器以 8000 rpm/min~10000 rpm/min 均质；或加入装有 225 ml 志贺氏菌增菌肉汤的均质袋中，用拍击式均质器连续均质 1 min~2 min，液体样品振荡混匀即可。于 41.5 °C±1°C，厌氧培养 16 h~20 h。

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）

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（样本制备区，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 $\mu$ L 模板，顺序为 NG、待测样品模板、PG-Shi-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 TAMRA。

按下列条件设置扩增反应：

PCR 循环			荧光收集位点
95 $^{\circ}$ C	3 分钟	1 个循环	—
94 $^{\circ}$ C	5 秒	40 个循环	—
60 $^{\circ}$ C	40 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。

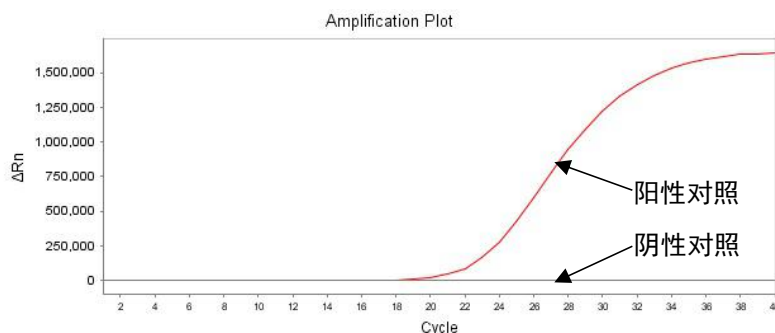
◆ 结果判定

检测样品无 Ct 值或  $\geq 40.0$ ，曲线为直线或轻微斜线，无“S”型扩增曲线，可报告样品阴性，不含有志贺氏菌或含量低于检测限；

检测样品  $Ct \leq 35.0$ ，曲线呈“S”型扩增曲线，可直接报告样品阳性，含有志贺氏菌；

检测样品  $35.0 < Ct < 40.0$ ，需进行一次重复实验，若  $Ct$  值  $\geq 40.0$  则为阴性，否则为阳性。

★ 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