

旋达®R1 动物病害生物检测系列

镰刀菌核酸检测试剂盒（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 动物病害检测系列可针对动物组织、饲料、粪便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。本产品用于镰刀菌的检测。**检出限为 10³ CFU/ml。**

◆ 产品组成（48 测试）

033142M	
试剂	含量
A-F US-P	20μL × 8 管 × 6 排
NG-P	100μL × 2 支
PG-FUS-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**避光保存**。试剂使用前要完全解冻，但避免反复冻融，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《GB 4789.15 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数》处理样品，对样品进行前增菌，制备的菌液保存待用。称取 25 g (ml) 样品放入盛有 225 ml 的无菌稀释液袋中，充分振摇或用拍击式均质器拍打 1 min~2 min。若样品为液态，不需要均质，振荡混匀。吸取 1ml 样品匀液于无菌平皿内，及时将 20ml~25ml 冷却至 46℃的马铃薯葡萄糖琼脂或孟加拉红琼脂倾注平皿，并转动平皿使其混合均匀。置水平台面待培养基完全凝固。琼脂凝固后，正置平板，于 28℃±1℃培养 8 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（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 秒后掀开盖子，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-FUS-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	50℃	5分钟	1个循环	—
预变性	95℃	5分钟	1个循环	—
扩增	95℃	15秒	40个循环	—
	60℃	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。

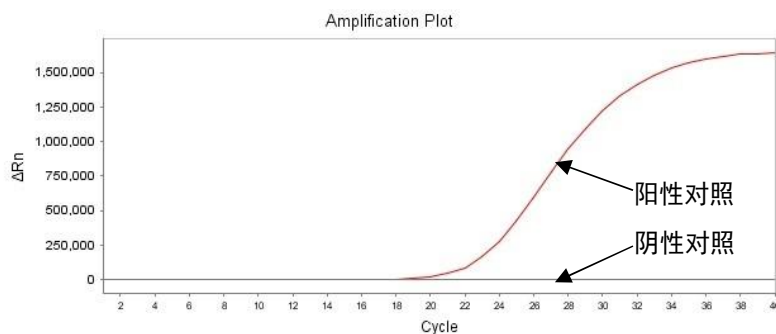
◆ 结果判定

检测样品无 Ct 值或 ≥ 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，不含有镰刀菌或含量低于检测限；

检测样品 $Ct \leq 35$ ，曲线呈“S”型扩增曲线，可直接报告样品阳性，含有镰刀菌；

检测样品 $35 < Ct < 40$ ，需进行一次重复实验，若 Ct 值 ≥ 40 则为阴性，不含有镰刀菌或含量低于检测限；否则为阳性，含有镰刀菌。

★ 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