



## 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C<sub>q</sub>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	PCR buffer	1mL/管×1
3	裂解液	5mL/瓶×1
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; 无菌超纯水。

#### 【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。

##### 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 PCR buffer 575 $\mu$ L，震荡混匀。（如一次用量较少，可分装到离心管中-20 $^{\circ}$ C保存）

②取步骤2①中的 23 $\mu$ L 反应体系加入到空白 PCR 管中。

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

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、阴性对照和无菌超纯水 2 $\mu$ L。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.上机检测

扩增反应为：95 $^{\circ}$ C，3min 预变性，以 95 $^{\circ}$ C，30s，60 $^{\circ}$ C，30s 作为一个循环，并收集荧光信号，35 个循环。荧光通道选择 FAM 和 VIC。

#### 【结果分析与判定】

沙门氏菌待检样品管		阴性对照管		结果判读
FAM(518nm)	VIC(553nm)	FAM(518nm)	VIC(553nm)	
有扩增	有无扩增均可	无扩增	有扩增	阳性（图1、2）
无扩增	有扩增	无扩增	有扩增	阴性（图 3）
有无扩增均可	有无扩增均可	有扩增	有扩增	污染
无扩增	无扩增	无扩增	无扩增	PCR 抑制

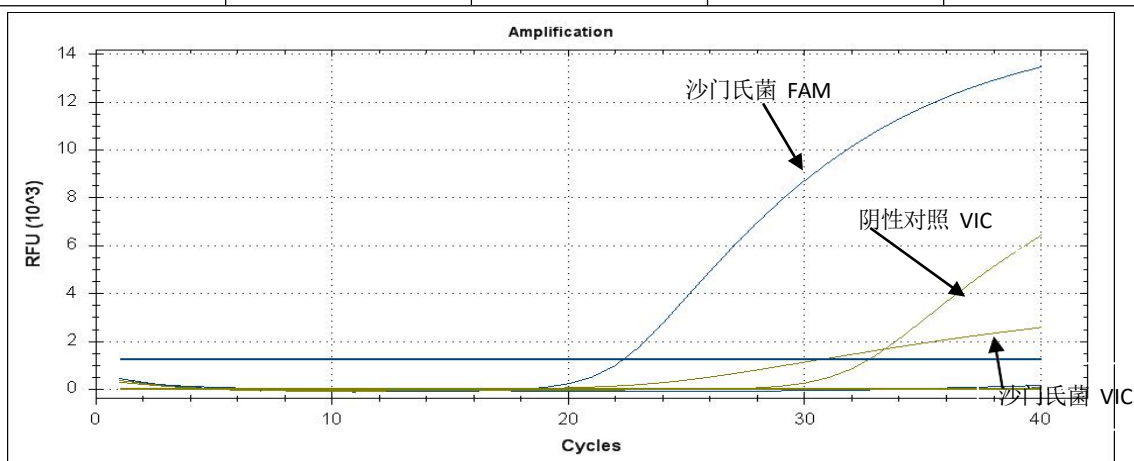


图1

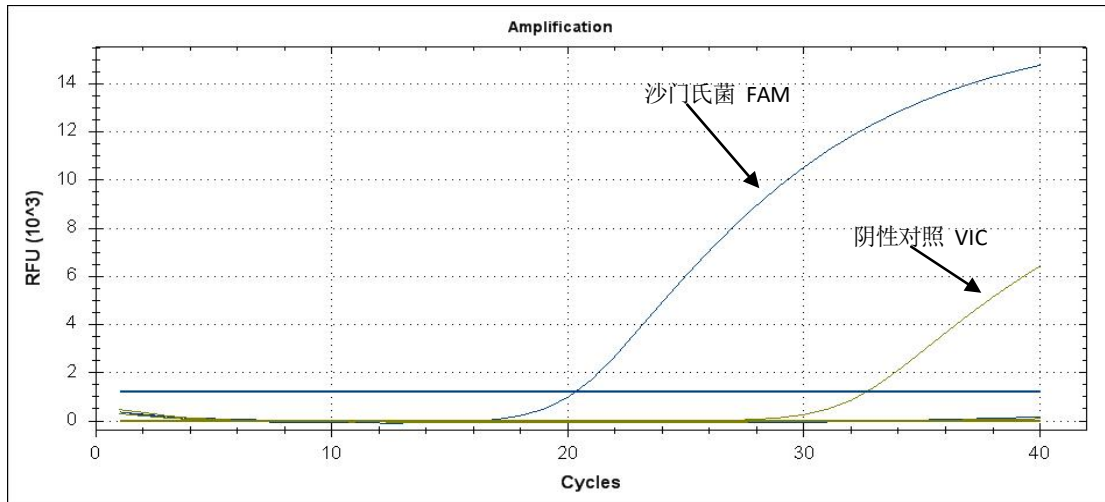


图2

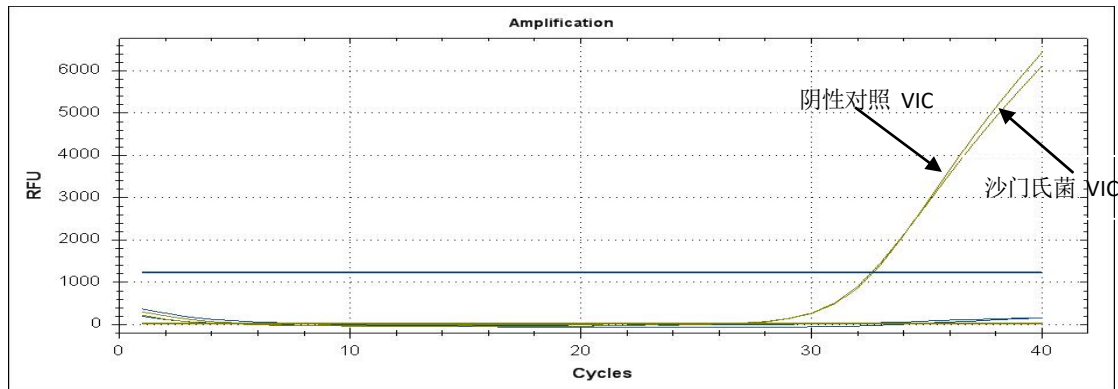


图3

### 【注意事项】

1. PCR 检测试剂对光敏感，应在 2°C-8°C 冷藏避光保存；
2. 试剂配制及加样应在特定区域进行，该区域应与 PCR 扩增和电泳区域严格分离；
3. 试剂配制及加样应在冰上操作；
4. 反应结束后，扩增管请置于密封袋中并丢弃，切勿带到加样区域；
5. 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。