

## 旋达®R1 致病微生物检测系列

空肠弯曲菌核酸检测试剂盒（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 致病菌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。本产品用于空肠弯曲菌的检测。**检出限为  $10^3$  CFU/ml。**

### ◆ 产品组成（96 测试）

012162LII	
试剂	含量
A-CJ-P	20μL × 8 管 × 12 排
NG-P	100μL × 3 支
PG-CJ-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 4789.9-2014 食品安全国家标准 食品微生物学检验 空肠弯曲菌检验》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。

待测样品在 100mL Bolton 肉汤中进行培养，在微需氧条件下，36℃±1℃培养 4 h，如条件允许配以 100 r/min 的速度进行振荡。必要时测定增菌液的 pH 值并调整至 7.4±0.2，42℃±1℃继续培养 24 h~48 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-CJ-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°C	3 分钟	1 个循环	—
94°C	5 秒	40 个循环	—
60°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。

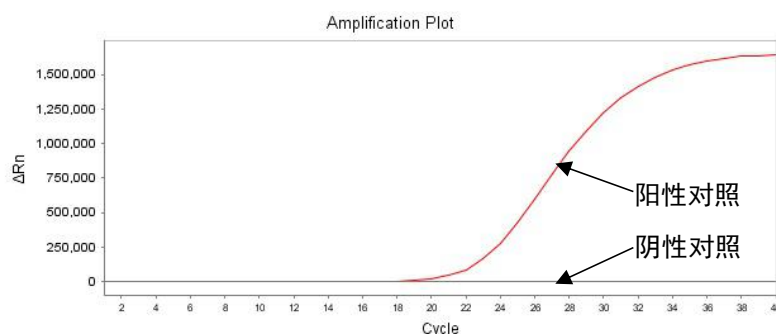
## ◆ 结果判定

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，不含有空肠弯曲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，含有空肠弯曲菌；

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](http://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