



## 克罗诺杆菌属核酸检测试剂盒（实时荧光定量 PCR 法）说明书

### 【产品名称】

通用名称：克罗诺杆菌属核酸检测试剂盒（实时荧光定量 PCR 法）

英文名称：RQ-PCR Diagnostic Kit for Rapid Identification of *Cronobacter* spp.

【产品货号】MX-1301

【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℃-8℃冷藏保存（长期不用时建议-20℃保存）

3. 有效期：12 个月

### 【用途】

本产品为克罗诺杆菌属核酸检测试剂盒（实时荧光定量 PCR 法），可对样品中克罗诺杆菌属的特异 DNA 核酸片段进行特异性扩增，通过 Cq 值判断样品中是否含克罗诺杆菌属。

### 【检验原理】

本试剂盒采用实时荧光定量 PCR 技术，通过克罗诺杆菌属特异性引物对克罗诺杆菌属进行特异性扩增，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	克罗诺杆菌属冻干检测体系	8 管/排×3
2	PCR buffer	1mL/管
3	裂解液	5mL/瓶

### 【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℃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 200uL 裂解液中，涡旋混匀，金属浴 99℃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

每管冻干检测体系中加入 23μL PCR buffer 和 2μL 模板（空白对照为 2μL 无菌超纯水，阴性对照为 2μL 相应阴性菌的 DNA），全部试剂及模板加样完成后快速离心，使整个体系均匀于 PCR 管底部。

#### 3. 上机检测

扩增反应为：95℃，3min 预变性，以 95℃，30s，52℃，30s 作为一个循环，并收集荧光信号，35 个循环。荧光通道选择 ROX 和 VIC。



【结果分析与判定】

克罗诺杆菌属待检样品管		阴性对照管		结果判读
ROX(585nm)	VIC(553nm)	ROX(585nm)	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

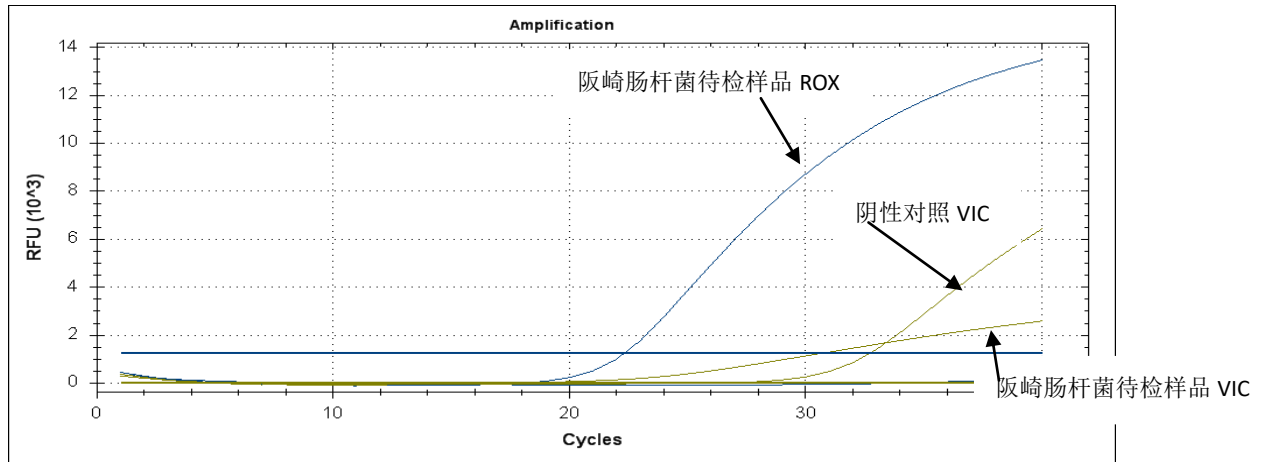


图 1

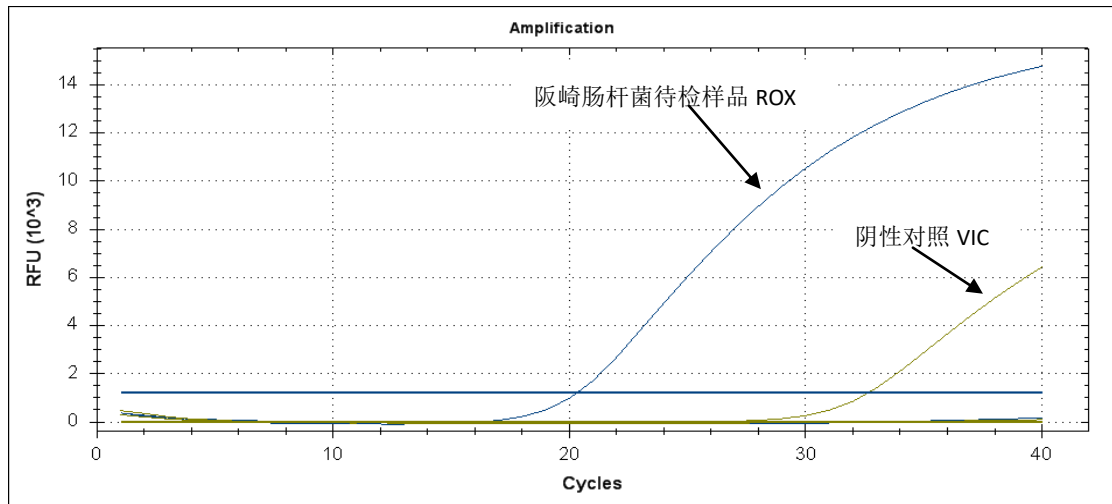


图 2

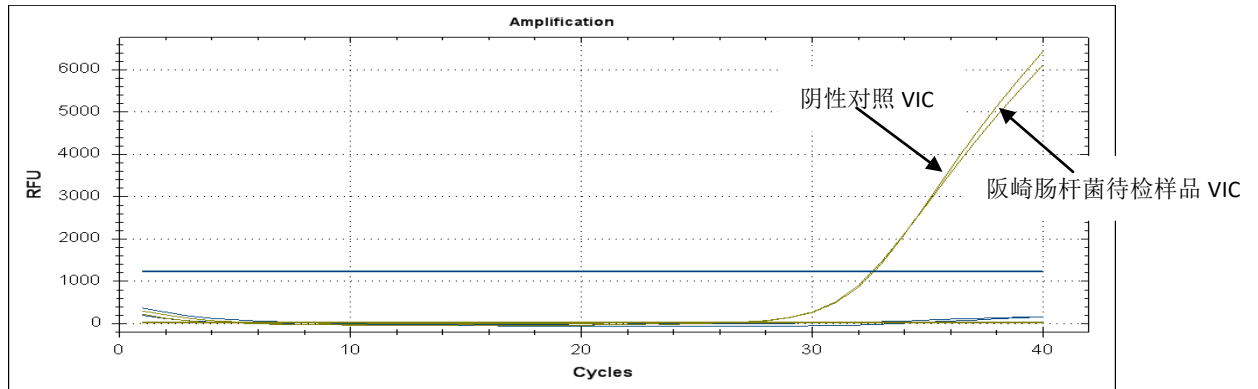


图 3

**【注意事项】**

1. PCR 检测试剂对光敏感，应在 2℃-8℃ 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。