



单核细胞增生李斯特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：单核细胞增生李斯特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 *Listeria monocytogenes*

【产品货号】MX-1501

【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】

单核细胞增生李斯特氏菌是革兰氏阳性无芽孢杆菌，对人有致病性。单增李斯特氏菌广泛存在于土壤、水、植物、人和动物粪便中，中毒症状严重，对机体伤害极大。畜禽产品、蛋、乳制品、蔬菜及各种肉类食品是单增李斯特氏菌的主要污染源。本产品为单增李斯特氏菌核酸检测试剂盒（实时荧光 PCR 法），可对样品中单增李斯特氏菌的特异 DNA 核酸片段进行特异性扩增，通过 Cq 值判断样品中是否含单增李斯特氏菌或通过标准曲线确定样品中单增李斯特氏菌的污染量。

【检验原理】

本试剂盒采用实时荧光 PCR 技术，通过单增李斯特氏菌特异性引物对单增李斯特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】

灭菌 1.5mL 离心管；灭菌 0.2mL PCR 管及枪头；碎冰或者冰盒；微量移液器；离心机；涡旋振荡器；金属浴；灭菌超纯水。

【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 10 分钟或 10000×g 离心 2 分钟，弃去上清，取沉淀加入 1 管（200μL）裂解液，涡旋混匀，金属浴 99°C裂解 10min，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裂



解 10min, 12000×g 离心 2min, 取上清即为模板。

2.反应体系配制

①从试剂盒中取出 PCR 冻干粉每管加入 PCR buffer 575μL, 震荡混匀。(如一次用量较少, 可分装到离心管中-20°C保存)

②取步骤 2 ①中的 23μL 反应体系加入到空白 PCR 管中。

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

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、阴性对照和灭菌超纯水 2μL。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°C, 3min 预变性, 以 95°C, 30s, 60°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】

单增李斯特氏菌待检样品管		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

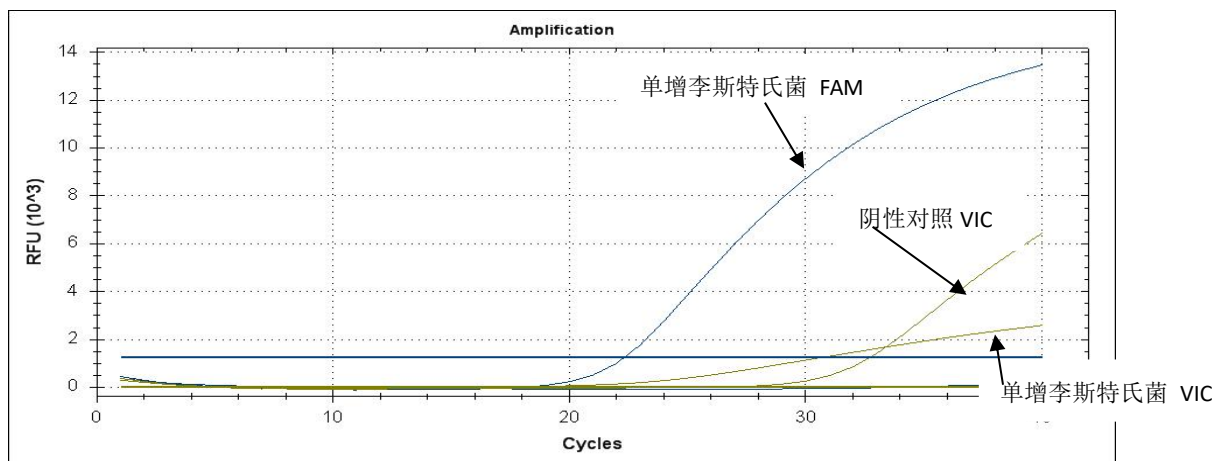


图 1

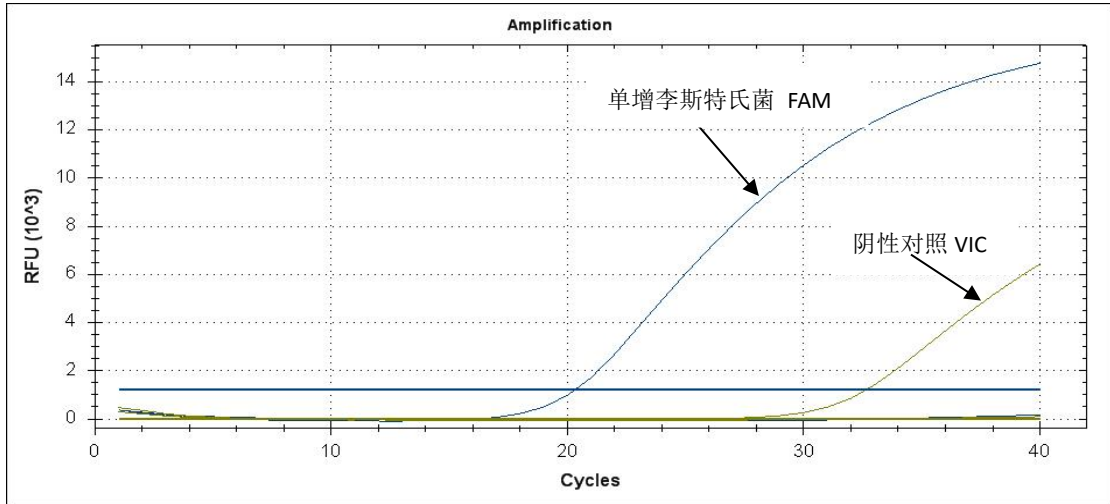


图 2

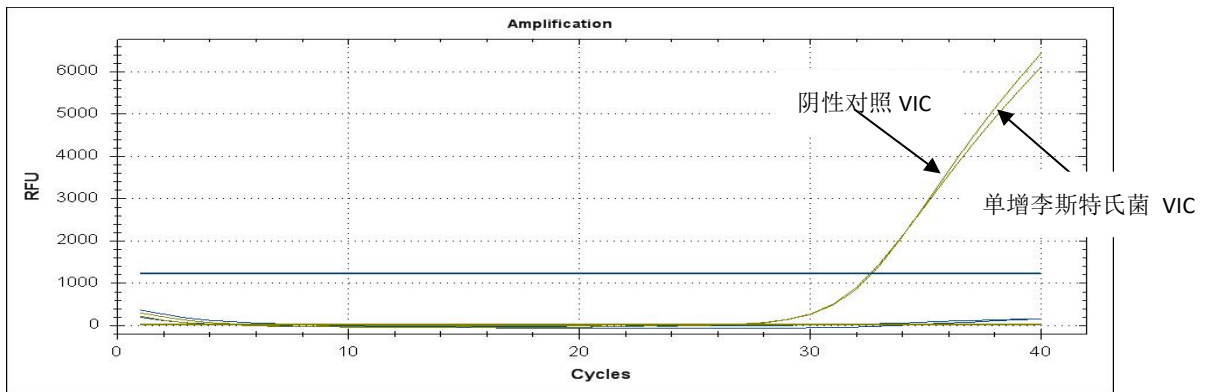


图 3

【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。