



克罗诺杆菌属核酸检测试剂盒

（实时荧光 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 PCR 法）

英文名称：Real-time 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：24 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 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 Ct 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 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	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℃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℃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℃保存）



- ②取步骤 2 ①中的 23 μ 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 μ L DNA 样品加入到 PCR 管中，总反应体积为 25 μ 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 μ 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】

克罗诺杆菌属待检样品管		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

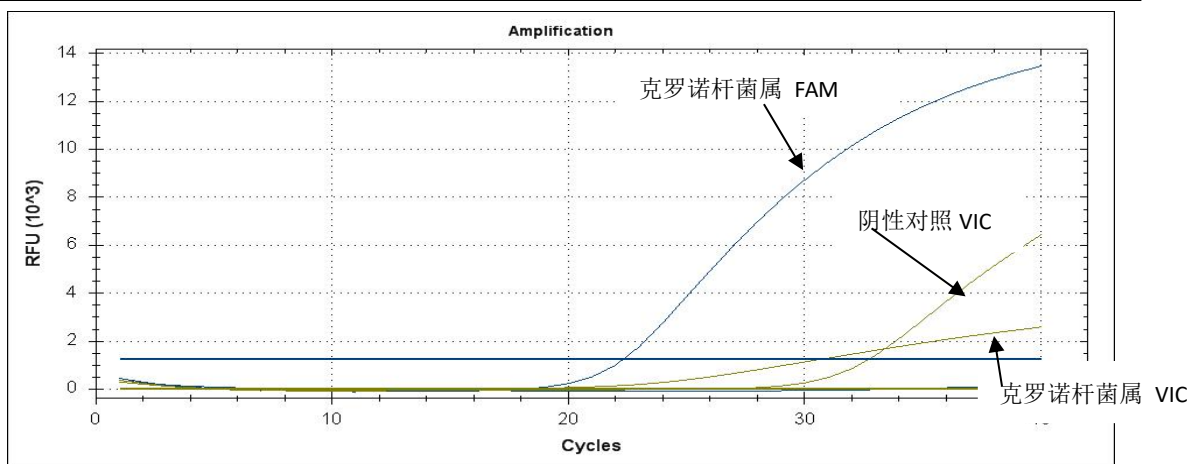


图 1

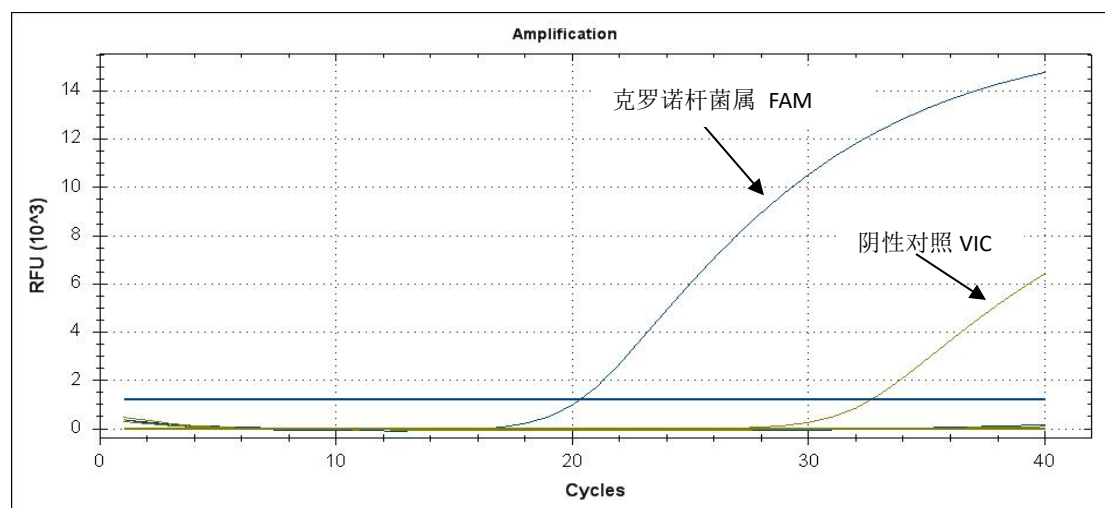


图 2

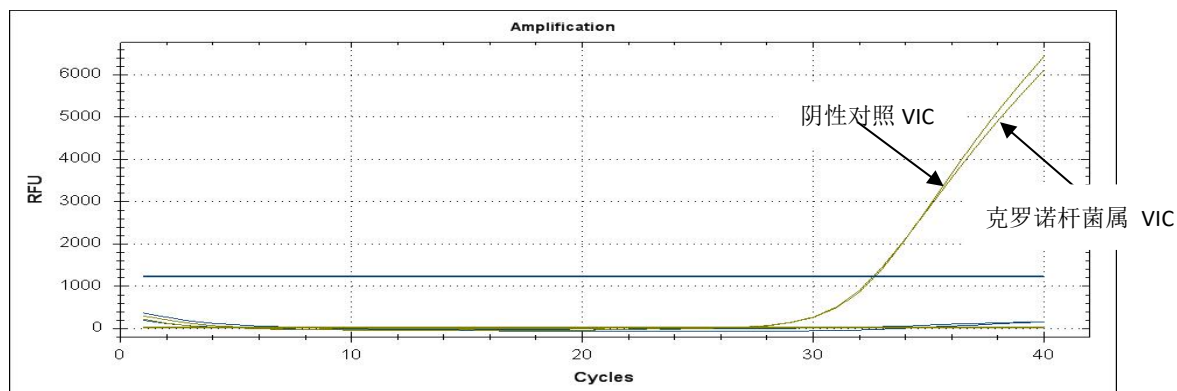


图 3

【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。