



版本号：240322

金黄色葡萄球菌核酸检测试剂盒

（实时荧光PCR法）说明书

【产品名称】

通用名称：金黄色葡萄球菌核酸检测试剂盒（实时荧光PCR法）

英文名称：Real-time PCR Diagnostic Kit for Rapid Identification of *Staphylococcus aureus*

【产品货号】MX-1601

【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

【检验原理】

本试剂盒采用实时荧光PCR技术，适用于金黄色葡萄球菌核酸的体外检测。每个反应体系均含有金黄色葡萄球菌特异性引物探针，根据荧光定量PCR扩增产物的CT值来判定菌株是否为金黄色葡萄球菌。

【试剂盒内容】

序号	产品组成	规格
1	PCR 冻干粉	24 次反应/管
2	RNase-Free ddH ₂ O	1mL/管
3	裂解液	5mL/瓶
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。

【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200μL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。建议稀释至约100ng/μL。

2. 反应体系配制

①从试剂盒中取出PCR冻干粉，每管加入RNase-Free ddH₂O 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。

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



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RNase-Free ddH₂O 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.反应条件

阶段	循环数	温度	时间	步骤	荧光信号 [#] 采集
预变性	1	95°C	5 min	预变性	否
Real-time PCR	40	95°C	5 sec	变性	否
		60°C	30-60 sec*	退火	是

*：使用不同型号仪器进行时间设定时，请按照仪器使用说明书要求进行实验操作，一般设定在30 sec。

[#]：金黄色葡萄球菌特异性基因荧光基团为FAM、淬灭基团为TAMRA。

【结果分析与判定】

空白对照：无FAM荧光信号检出，未出现典型的扩增曲线。

阴性对照：无FAM荧光信号检出，未出现典型的扩增曲线。

阳性对照（含致病基因）：有FAM荧光信号检出，出现典型的扩增曲线，Ct值<30.0。

以上需同时满足，否则本次实验无效。

样品检测结果：

Ct值≥35，判定结果为阴性；

Ct值<30，并出现典型的扩增曲线，判断样品为阳性；

30≤Ct值<35，并且出现典型的扩增曲线，则重新提取DNA检测。再次检测结果仍为30≤Ct值<35，则判定样品为阳性；Ct值≥35，判定结果为阴性。

【注意事项】

1.实验前请仔细阅读本试剂盒说明书，严格按操作步骤执行。

2.试剂盒内各组分在使用前应充分融化混匀并经高速短暂离心后使用。

3.试剂盒必须避光保存，所使用的离心管、Tip 头应高压灭菌，且不含 DNase 和 RNase。整个操作过程和 PCR 实验室的软硬件设施应符合卫计委颁发《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》、《医疗机构临床基因扩增检验实验室工作导则》等法规的要求。并恰当处理试验过程中产生的废物和扩增产物，防止交叉污染。

4.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。