



大肠埃希氏菌 O157:H7/NM 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：大肠埃希氏菌 O157:H7/NM 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 *E. coli* O157:H7/NM

【产品货号】MX-1701

【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：12 个月

【用途】

肠出血性大肠杆菌（EHEC）是能引起人的出血性腹泻和肠炎的一群大肠埃希氏菌。以 O157:H7 血清型为代表菌株。本产品为大肠埃希氏菌 O157:H7/NM 核酸检测试剂盒（实时荧光定量 PCR 法），可对样品中 O157:H7/NM 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 O157:H7/NM 或通过标准曲线确定样品中 O157:H7/NM 的污染量。

【检验原理】

本试剂盒采用实时荧光定量 PCR 技术，通过大肠埃希氏菌 O157:H7/NM 特异性引物对 O157:H7/NM 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	大肠 O157 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】

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（200 微升）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 200uL 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

每 PCR 检测试剂中加入 23μl 反应液和 2μl 模板（阴性对照的模板为 2μl 超纯水），混匀。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】

大肠 O157 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

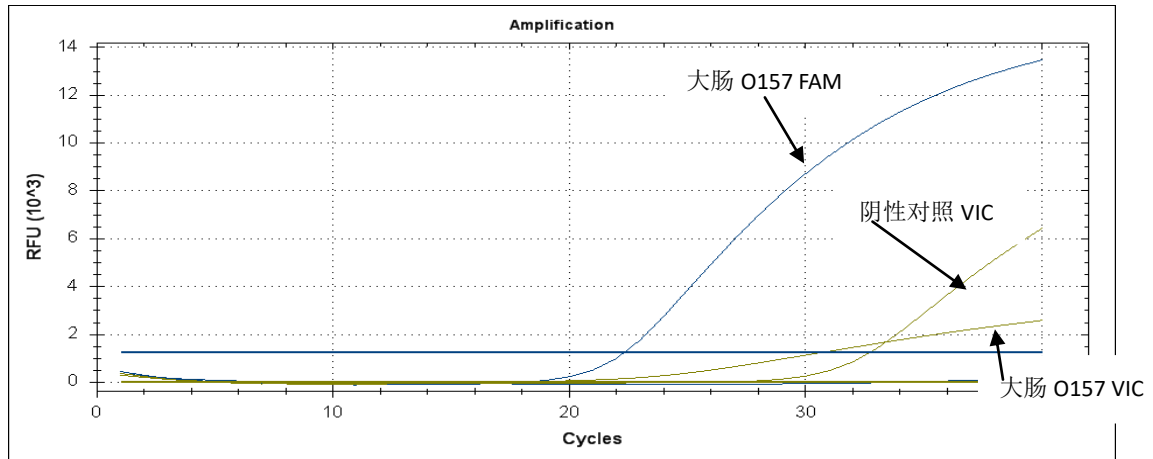


图 1

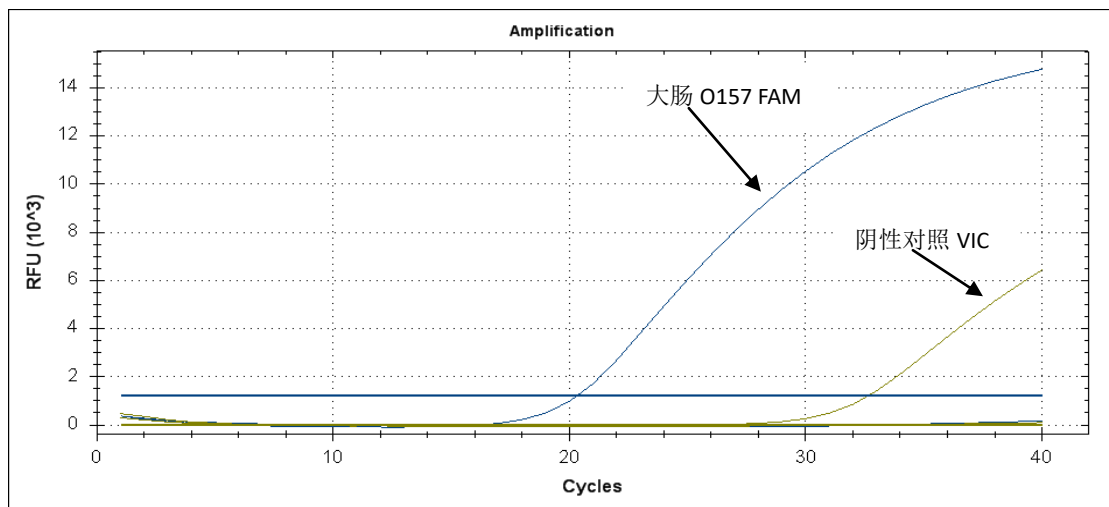


图 2

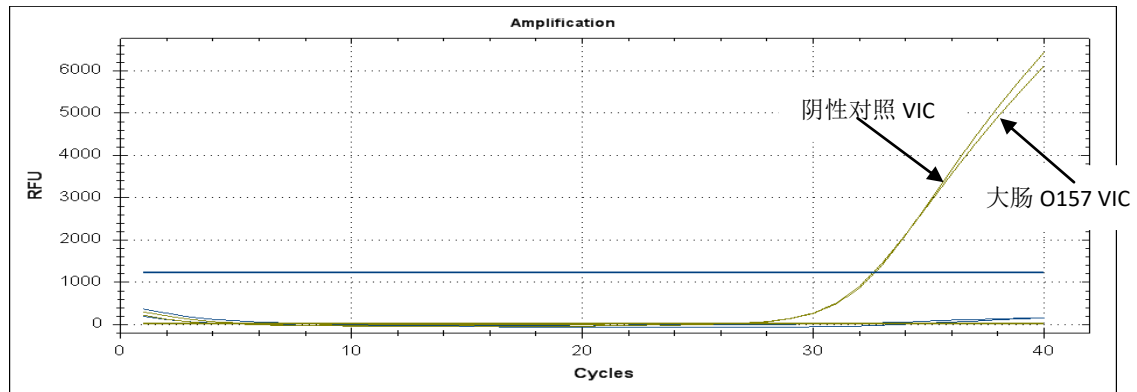


图 3

【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。