

## 旋达<sup>®</sup>R1 致病微生物检测系列

诺如病毒 GI 型、GII 型 RNA 核酸检测试剂盒 (IAC, PCR-荧光探针法)

请于-20℃条件下保存, 有效期 15 个月

### ◆ 产品说明

**旋达<sup>®</sup>R1** 致病微生物检测系列可针对食品、饲料等样品中的致病微生物的特异核酸片段进行扩增, 仪器实时监测扩增过程中的荧光信号变化, 自动判读结果。本产品参照 GB 4789.42-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 诺如病毒检验》进行设计, 可于一个反应中同时检测 GI 型、GII 型诺如病毒; 适用于贝类, 生食蔬菜, 胡萝卜、瓜、坚果等硬质表面食品, 草莓、西红柿、葡萄等软质水果等食品中 GI 型、GII 型诺如病毒核酸的检测。

### ◆ 产品组成 (48 测试)

012172M	
试剂	含量
A-GIGII	600μL × 1 支
IAC-Nor	430μL × 1 支
B-Nor	500μL × 1 支
NG-P	100μL × 2 支
PG-Nor	100μL × 1 支

### ◆ 适用仪器

ABI 系列、MJ 系列、Roche 系列、博日系列以及其它荧光定量 PCR 检测仪 (可同时检测 FAM 通道 (494 nm)、VIC 通道 (538nm) 两种通道的荧光定量 PCR 仪)。

### ◆ 自备耗材和仪器

①冰盒; ②移液器 (1-10μL, 10-100μL, 100-1000μL) 及配套灭菌吸头 (RNase free); ③离心机; ④涡旋混匀器。

### ◆ 注意事项

1. 本试剂检测灵敏度高。为了防止污染, 实验要分区操作。
  - 1) 第一区: 试剂准备区。
  - 2) 第二区: 样本制备区。
  - 3) 第三区: 扩增及产物分析区。

★ 分区之间最好进行物理性隔离, 避免人为因素造成的污染。
2. 实验过程中穿戴工作服和乳胶手套, 不同区域独立使用工具, 需更换手套和实验服。
3. 严格按照操作步骤操作, 试剂配制和加样等步骤请严格按照说明书要求在冰盒上操作。
4. 反应液中的成分对光敏感, 应**避光保存**。试剂使用前要完全解冻, 但应避免反复冻融, 推荐使用前离心 30 秒, 并按检测频次将反应液以适当体积分管保存。
5. 反应结束后, 扩增管请置于密封袋内丢弃, 当日清理, 开盖易造成气溶胶污染, 禁止开盖。
6. 不同批号试剂请勿混合使用, 在有效期内使用。

### ◆ 试剂盒组分及样品处理说明

- (1) 样品前处理请参照 GB 4789.42-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 诺如病毒检验》进行样品前处理。
- (2) A-GIGII 为 GI、GII 反应液, 含有诺如病毒 GI 型、GII 型引物探针。
- (3) IAC-Nor 为过程控制反应液, 含有过程控制病毒引物探针。
- (4) B-Nor 为提取过程控制液, 进行样品 RNA 提取时请参照国标法加入 10 μL B-Nor 作为提取过程控制; 亦可参照国标法另取 50-100 μL B-Nor, 用 PBS 缓冲液补足至 200 μL, 进行核酸提取、标准曲线制作及计算提取效率。
- (5) NG-P 为阴性对照, 也可参照国标法提取阴性样品核酸作为阴性对照进行实验。
- (6) PG-Nor 含 GI 型、GII 型诺如病毒核酸, 可作为阳性对照, 亦可参照国标法作为扩增控制计算抑制指数。

\*推荐使用双螺旋生物公司的病毒基因组 DNA/RNA 提取试剂盒中的方案进行病毒 RNA 的提取, 或者采用其他等效产品进行 RNA 提取。

◆ **实验操作（推荐）**

1. 反应体系配制（试剂准备区，放置于冰盒中进行）

建议参照 GB 4789.42-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 诺如病毒检验》（或下表）计算所需测试总数，按每个测试 20 μL 量计算各反应液（A-GIGII、IAC-Nor）所需量，涡旋混匀，离心 30 秒，分装到 PCR 管中，并参考下表编号标记，以免混淆。

2. 添加模板（样本制备区，放置于冰盒中进行）

参照下表向每管反应液中分别加入模板。

孔编号	实验意义	反应液	加入模板
A	空白对照	A-GIGII	5μL RNase free water
B	阴性对照	A-GIGII	5μL 阴性对照
C	病毒提取过程控制 1	IAC-Nor	5μL 样品RNA
D	病毒提取过程控制 2	IAC-Nor	5μL 过程控制病毒RNA
E	病毒提取过程控制 3	IAC-Nor	5μL 10 <sup>-1</sup> 倍稀释过程控制病毒 RNA
F	病毒提取过程控制 4	IAC-Nor	5μL 10 <sup>-2</sup> 倍稀释过程控制病毒 RNA
G	病毒提取过程控制 5	IAC-Nor	5μL 10 <sup>-3</sup> 倍稀释过程控制病毒 RNA
H	扩增控制 1	A-GIGII	5μL 样品RNA+1μL 扩增控制 RNA
I	扩增控制 2	A-GIGII	5μL 10 <sup>-1</sup> 倍稀释样品 RNA+1μL 扩增控制 RNA
J	扩增控制 3	A-GIGII	5μL RNase free water+1μL 扩增控制 RNA
K	样品 1	A-GIGII	5μL 样品RNA
L	样品 2	A-GIGII	5μL 10 <sup>-1</sup> 倍稀释样品 RNA

配制完成后请盖上 PCR 管盖，涡旋混匀并离心后上机反应。

\*请参照上表对管进行编号，以免混淆。

2. 扩增反应（扩增及产物分析区）

使用荧光定量 PCR 仪进行检测，编号 A~B, H~L 使用 FAM 和 VIC 通道，编号 C~G 使用 FAM 通道。

按下列条件设置扩增反应：

PCR 循环			荧光收集位点
50°C	10 分钟	1 个循环	—
95°C	5 分钟	1 个循环	—
95°C	10 秒	45 个循环	—
60°C	30 秒		※

◆ **结果判定**

1. 实验有效性判定

(1) 实验满足：空白对照阴性（A 反应孔）；阴性对照阴性（B 反应孔）；阳性对照阳性（J 反应孔）；否则本次实验无效，请与本公司技术支持联系。

(2) 过程控制（C~G 反应孔）需满足：提取效率≥1%；如提取效率<1%，需重新检测；但如提取效率<1%，检测结果为阳性，也可酌情判定为阳性。

(3) 扩增控制（H~J 反应孔）需满足：抑制指数<2.00；如抑制指数≥2.00，需比较 10 倍稀释样品的抑制指数；如 10 倍稀释样品扩增的抑制指数<2.00，则扩增有效，且需采用 10 倍稀释样品 RNA 的 Ct 值作为结果；10 倍稀释样品扩增的抑制指数也≥2.00 时，扩增可能无效，需要重新检测；但如抑制指数≥2.00，检测结果为阳性，也可酌情判定为阳性。

2. 结果判定

待测样品的 Ct 值大于等于 45 时，判定为诺如病毒阴性；待测样品的 Ct 值小于等于 38 时，判定为诺如病毒阳性；待测样品的 Ct 值大于 38，小于 45 时，应重新检测；重新检测结果大于等于 45 时，判定为诺如病毒阴性；小于等于 38 时，判定为诺如病毒阳性。

◆ **企业信息**

广州双螺旋基因技术有限公司

网址：www.dhelix.cn

电话：020-85671013

传真：020-34037175

地址：广州国际生物岛螺旋四路 7 号标准产业单元二期第三栋第三层 302 单元