

克罗诺杆菌 PCR 检测试剂盒使用说明书

(使用前请详细阅读本说明书)

【产品名称】

通用名称：克罗诺杆菌 PCR 检测试剂盒

英文名称：PCR Detection Kit for

Cronobacter spp.

【包装规格】24 测试/盒

【产品编号】KJD08P

【产品简介】

本试剂盒基于 PCR 技术，依据国家标准《GB 4789.40-2024 食品安全国家标准 食品微生物学检验 克罗诺杆菌检验》检验要求设计，适用于食品样本中克罗诺杆菌的检测。

【检测原理】

利用克罗诺杆菌属 ITS 基因的特异性引物和 PCR 反应所需试剂，如反应缓冲液、*Taq* DNA 聚合酶和 dNTPs 等，加入待检核酸样品，即可进行 PCR 扩增反应。扩增产物电泳后在目标位置处检测到特异性条带时，即为阳性结果。

【产品特点】

- 快速简便：将酶、引物等反应组分混匀后进行干粉化处理，增加试剂稳定性，使用时减少溶液配制步骤，更为便捷，整个检测反应可在 2 h 内完成；
- 特异性高：根据《GB 4789.40-2024 食品微生物学检验 克罗诺杆菌检验》提供的目标基因引物，经过大量的标准菌株的反复验证，保证扩增反应的高度特异性；
- 判读简单：扩增产物经琼脂糖凝胶电泳和成像仪观察目标条带即可判别，直观方便。

【产品组分】

组分名称	规格×数量
干粉试剂	8 管×3 排
复溶液	1 mL×1 管
阳性对照	1 管(冻干型)
阴性对照	1 管(冻干型)
裂解液	1 mL×1 管
超纯水	1 mL×1 管
6×Loading buffer	240 μL×1 管
说明书	1 份

【储存条件与保质期】

2~8℃条件下储存，有效期 12 个月。

【所需其他材料和适用仪器】

- PCR 仪器、高速离心机、电泳仪、水平电泳槽、紫外仪、移液器、移液枪头及离心管等；
- 琼脂糖、溴化乙锭(EB)或其他核酸染料。

【使用指南】

1. 样品前处理

- 参照《GB 4789.40-2024》，从克罗诺杆菌定性检测步骤 5.3 开始，使用 1 μL 接种环刮取 TSA 琼脂平板上可疑菌落，悬浮到含 30 μL 裂解液的无菌离心管中，充分悬浮菌体，轻弹管壁消除气泡，99℃加热 10 min；
- 12000 r/min 离心 15 min，上清即为粗提的 DNA，可转移至 0.2 mL 无菌离心管中，在 -20℃下可长期保存。也可用等效商品化的细菌基因组 DNA 提取试剂盒或全自动核酸提取仪按操作要求提取 DNA 模板。

2. 加样、反应

- 首次使用时，分别加入 80 μL 超纯水至阳性对照和阴性对照管中，充分溶解，4℃保藏时间不超过 48 h，-20℃存储待用；
- 取出冻干粉试剂，按照需求剪取 n 个检测试剂管(n=待检测样品数+1 管阳性对照+1 管阴性对照)，每管加入 18 μL 复溶液，充分溶解后待用；
- 向上述已加入复溶液的 n 个反应管中分别加入待测样品核酸、阴性对照、阳性对照各 2 μL，紧盖后置入 PCR 仪中按设定的反应程序进行扩增反应；

4) PCR 反应程序如下：

温度	时间	循环数
94℃	5 min	1
94℃	30 sec	35
61℃	30 sec	
72℃	30 sec	
72℃	5 min	1

3. 结果判读

反应后每管中加入4 μL的 6×Loading buffer，混匀，并取 8 μL 样品经1.5%琼脂糖凝胶电泳，在凝胶成像仪下观察，阴性对照无目的条带扩增，阳性对照中出现一条目标条带，大小为282 bp (参照图 1)，PCR 试验结果成立。若阴阳性对照管反应结果不符，则本次检测结果无效，应重新检测或与产品技术支持联系。

【注意事项】

1. PCR 实验室区域设计、工作基本原则及注意事项应参照《疾病预防控制中心建设标准》(建标 127-2009) 和国家卫生和计划生育委员会(原卫生部)(2010)《医疗机构临床基因扩增管理办法》附录(医疗机构临床基因扩增检验实验室工作导则)。
2. 使用本试剂盒前请仔细阅读本说明书全文，检测过程中建议穿洁净工作服，戴一次性手套，使用的移液枪头需提前灭菌；
3. 干粉检测试剂在使用前低速离心，确保所有的干粉沉在管底，加入复溶液如产生气

泡用手指轻弹管壁清除，反应前检查反应管是否盖紧，避免泄露造成污染；

4. 试剂盒中反应管材质为聚丙烯，包装盒材质是纸，使用完毕废弃时按照医疗废弃物相关规定处理，由使用者自行负责处理；
5. 不同批号的产品请勿混合使用，请在有效期内使用试剂盒，由于操作不当引起的误判，以及由此误判引发的其他事项，本公司概不负责。

【生产企业】

企业名称：广东环凯生物科技有限公司
生产地址：广东省肇庆市高新区科技大街中 13 号
邮政编码：526238
技术热线：020-32078333-8877
企业网址：<http://www.bhkbio.com>
E-mail：Webmaster@huankai.com

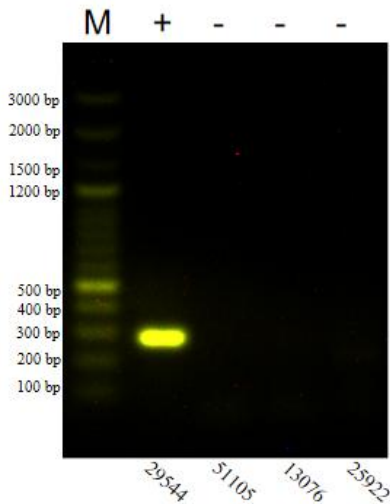


图 1 阳性对照反应产物

注：“M”表示 DNA marker；“+”表示结果为克罗诺杆菌；“-”表示结果为非克罗诺杆菌。

