

# 创伤弧菌 PCR 检测试剂盒使用说明书

(使用前请仔细阅读本说明书)

## 【产品名称】

通用名称：创伤弧菌 PCR 检测试剂盒

英文名称：PCR Detection Kit for *Vibrio vulnificus*

【包装规格】24 测试/盒

【产品编号】KJD14P

## 【产品简介】

本试剂盒基于 PCR 技术，并适用于鱼、虾、蟹、贝类等水产品中创伤弧菌的检测。

## 【检测原理】

利用特异性引物和 PCR 反应所需其他试剂，如反应缓冲液、dNTPs 以及 *Taq* DNA 聚合酶等，加入待检 DNA 模板样品，即可进行 PCR 扩增反应。经比对扩增产物目标条带即可判定创伤弧菌 *vvhA* 基因。

## 【产品特点】

1. 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 3 h 内完成；
2. 特异性高：按照 GB 4789.44-2020《食品微生物学检验创伤弧菌检验》提供的目标基因引物，保证扩增反应的高度特异性；
3. 判读简单：扩增产物经琼脂糖凝胶电泳和紫外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，有效期为 12 个月。

## 【所需其他材料和适用仪器】

1. 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；

2. 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

- 1) 参照 GB 4789.44-2020，取经 36℃±1℃培养 18 h±1 h 样品 PNCC 增菌液 1 mL 至无 4 菌离心管中，12000 r/min 离心 2 min，弃上清，加入 30 μL 裂解液，充分悬浮，转移至 0.2 mL 无菌离心管中，轻弹管壁消除气泡，99℃加热 10 min；
- 2) 参照 GB 4789.44-2020，挑取可疑菌落半环到含 30 μL 裂解液的无菌离心管中，充分悬浮，轻弹管壁消除气泡，99℃加热 10 min；
- 3) 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。

### 2. 加样、反应

- 1) 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，-20℃存储待用；
- 2) 取出干粉试剂，按照需求分别剪取 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；
- 3) 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，紧盖后置于 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℃	15 sec	} 35
65℃	15 sec	
72℃	35 sec	
72℃	5 min	1

### 3. 结果判读

反应后每管中加入 4 μL 6×Loading

buffer, 混匀, 并取 8 μL 经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 在紫外仪下观察, 阴性对照无条带扩增, 阳性对照中出现目标条带 (参照图 1), PCR 试验结果成立。根据每个样品对应的反应产生的目标条带, 即可判断创伤弧菌 *vvhA* 基因是否检出。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. 实验环境条件和过程控制应参照 GB/T 27403 《实验室质量控制规范食品分子生物学检测》规定执行;
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](mailto:Webmaster@huankai.com)

**图 1 阳性对照反应产物**

注 : “M” 表示 DNA marker;  
 “*vvhA*” 表示创伤弧菌 *vvhA* 基因阳性对照结果;  
 扩增产物长度为: 519 bp

