

布鲁氏菌核酸快速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：布鲁氏菌（牛、猪、羊）核酸快速检测试剂盒

英文名称：Rapid Detection kit for *Brucella* spp

【包装规格】24 测试/盒

【产品编号】KDJ12L

【产品简介】

本试剂盒基于环介导的恒温扩增技术（Loop-mediated isothermal amplification, LAMP），用于主要感染牛、猪、羊种布鲁氏菌的快速检测，可通过肉眼观察反应管中试剂颜色变化判读结果。

【检测原理】

利用两对特殊引物和具有链置换活性的 *Bst* DNA 聚合酶，使模板两端引物结合处循环出现环状单链结构，引物顺利与模板结合并进行链置换扩增反应，实现在恒温条件下（60-65℃）进行连续快速扩增。反应加入显色指示剂，阴阳性结果显色差异显著，可直接通过颜色变化判读结果。

【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 1 h 内完成；
2. 特异性高：利用靶基因序列上的多个独立区域设计多条引物，保证扩增反应的高度特异性；
3. 灵敏度高：最低检验限达到 10 CFU/Test；
4. 判读简单：反应前加入显色指示剂，反应后通过肉眼观察反应液颜色变化或者经荧光监测仪器跟踪荧光图谱的变化判读结果，直观方便，且可有效避免反应后开盖造成的气溶胶污染。

【产品组分】

组分编号	组分名称	规格×数量
DRL12	检测试剂（冻干）	3 排×8 管
FRL04	复溶液	650 μL×1 管
PRL12	阳性对照（冻干）	1 管
SHR01	阴性对照（冻干）	1 管
SHR02	裂解液	1 mL×1 管
SHR03	显色指示剂	80 μL×1 管
SHR04	超纯水	1 mL×1 管
	说明书	1 份

注：显色指示剂使用前请低速离心

【储存条件与保质期】

2~8℃条件下储存，有效期为 12 个月

【适用仪器】

1. PCR 仪器或金属浴恒温器，如果检测样品为 DNA 样品，水浴锅即可。
2. 高速离心机，样品的前处理需要用高速离心机做分离。

【样品处理】

1. 微生物样品前处理：实验室中的布鲁氏菌在合适的固体培养基中划线培养，往 200 μL PCR 管中加入 30 μL 裂解液，挑取布鲁氏菌菌至裂解液中充分悬浮，轻弹管壁消除气泡，99℃加热 10 min 进行灭活和热裂解处理。12000 r/min 离心 15 min，上清即为粗提的 DNA，可转移至 200 μL PCR 管中，在-20℃保存备用。
2. 在步骤 1 中培养的布鲁氏菌可用细菌 DNA 提取试剂盒按照说明书指导提取布鲁氏菌 DNA，-20℃保存备用。
注：活性布鲁氏菌，可感染人畜，具有高度传染性，操作时需按照相应生物安全等级操作规范进行。
3. 临床样本处理：用商品化试剂盒按照操作说明书中从血清样本中提取 DNA，-20℃保存备用。

【使用指南】

1. 阴、阳性对照和干粉试剂复溶

- 1) 阴、阳性对照复溶
首次使用时，加入 80 μL 超纯水至阳性对照和阴性对照冻干粉中，待溶解后混匀，-20℃存储待用。
- 2) 干粉试剂复溶
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 20 μL 复溶液，完全溶解后待用。

2. 扩增反应

- 1) 打开能够提供恒温条件的仪器，设置到 64℃待用；
- 2) 向上述已加入复溶液的 n 个反应管中各加入显色指示剂 2.5 μL；
- 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 DNA、阴性对照、阳性对照各 2.5 μL，盖紧盖子；
- 4) 将所有的反应管置于恒温仪器中，反应 55 min。

3. 结果判读

反应结束后，建议在自然光线充足的环境条件下，将样品置于白色背景下观察结果，阴性对照检测试剂管呈淡橙色，阳性对照检测试剂管呈荧光绿，待测样品反应管以此作为对照进行判读，若阴阳对照反应管任一结果与上述情况不符，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. 检测空间应严格分区操作，在空间条件允许情况下，试剂配置区用于配置反应所需要的所有试剂；样品前处理区用于待测样品的核酸提取和模板的加入；扩增观察区用于反应进行和结果判读。各区内空间独立，试验用品专用，避免交叉污染。另外，样品处理区建议配备超净工作台，并且所有步骤严格按照说明书的要求进行。
2. 检测过程中建议穿洁净工作服，带一次性手套，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，加入复溶液后尽量避免产生气泡，反应前检查反应管是否盖紧，避免泄露造成污染。
4. 阳性对照可能会作为污染源，污染其他试剂和待检样品，导致出现假阳性结果，在加样过程中建议最后加入阳性对照反应管。
5. 使用显色指示剂时，在反应结束后切忌开盖，以防气溶胶污染。

【生产企业】

企业名称：广东环凯微生物科技有限公司
生产地址：广州市科学城神舟路 788 号
销售热线：020-32078333-8602
技术热线：020-32078333-8877
传真号码：020-32078333-8619
邮政编码：510663
企业网址：<http://www.huankai.com>
E-mail：Webmaster@huankai.com

6. 本试剂盒是基于核酸的分子检测，因此并非只能检出布鲁氏菌的活菌，判定结果有时会与传统培养法不同，如需辨明活菌样品存在，请用传统微生物检验方法进行确证。
7. 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。
8. 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，以及有此误判引发的其他事项，本公司概不负责。