

嗜肺军团菌核酸检测试剂盒（PCR-荧光探针法）

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：嗜肺军团菌核酸检测试剂盒（PCR-荧光探针法）

英文名称：PCR Detection Kit for *Legionella pneumophila* (Fluorescent Probe Assay)

【包装规格】48 测试/盒

【产品编号】FZ015BF2

【产品简介】

本试剂盒适用于饮用水、非饮用水、公共场所环境样本中嗜肺军团菌的检测。

【检测原理】

基于 Real Time PCR 技术，针对嗜肺军团菌特异性基因 mip 设计引物和荧光探针并优化反应所需试剂组分，加入待检样品核酸即可进行扩增反应。在扩增过程中，荧光探针与目的基因片段结合，可被 Taq 酶分解并产生荧光信号，此时荧光定量 PCR 仪可识别该荧光信号，同时根据其强弱变化绘制出相应的实时扩增曲线，进而判定嗜肺军团菌是否检出。

【产品组分】

| 组分名称 | 规格×数量      |
|------|------------|
| 裂解液  | 1 mL×2 管   |
| 阳性对照 | 200 μL×1 管 |
| 阴性对照 | 200 μL×1 管 |
| 预混液  | 1 mL×1 管   |
| 说明书  | 1 份        |

【储存条件与保质期】

-20℃储存，有效期为 12 个月，避免反复冻融。

【灵敏度】

最低检验限达到 100 CFU/Test

【所需其他材料和适用仪器】

荧光定量 PCR 仪（具有能够检测 FAM 标记的荧光通道）、高速离心机、移液器、移液枪头及离心管等。

【使用指南】

1. 样品前处理

1) 样品液模板 DNA 的制备：

- a) 取样过程参考国标《GB/T 18204.3-2025 公共场所卫生检验方法 第 3 部分：空气微生物》，或各实验室自行建立的方法。
- b) 吸取采样后的吸收液 1 mL 到 1.5 mL 规格的无菌离心管中，12000r/min 离心 5 min，完全去除上清；
- c) 加入 30 μL 裂解液，充分悬浮菌体，轻弹管壁消除气泡，100℃加热 5-10 min。
- d) 12000 r/min 离心 2 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) 可疑菌落模板 DNA 的制备：

挑取可疑菌落，充分悬浮于预先加有 30 μL 裂解液的无菌离心管中，后按照上述步骤 c)、d)操作。

2. 加样、反应

- 1) 按照需求取 n 个 PCR 反应管（n=待检测样品数+1 管阴性对照+1 管阳性对照），从试剂盒中取出预混液，充分融化，涡旋振荡后短暂离心，向以上每个 PCR 管中加入 20 μL 预混液。
- 2) 向上述 n 个反应管中分别按顺序加入阴性对照、待测样品 DNA、阳性对照各 5 μL，加样后立刻盖紧管盖，短暂离心，立即进行 PCR 扩增反应。
- 3) PCR 反应体系为 25 μL，设置 FAM 检测通道读取，在反应阶段 2 中 60℃时收集荧光信号，具体程序如下：

| 反应阶段 | 温度  | 时间     | 信号收集 | 循环数 |
|------|-----|--------|------|-----|
| 1    | 95℃ | 30 sec |      | 1   |
| 2    | 95℃ | 5 sec  | √    | 40  |
|      | 60℃ | 30 sec |      |     |

注：对于 ABI 系列荧光定量 PCR 仪器，其反应体系中无需添加 ROX，且在软件设置时，在“Passive Reference”和“Quencher”处均选择“None”。

### 3. 结果

一般情况下，可通过软件自动设定的基线、阈值等直接读取检测结果。如需调整，可根据所使用仪器的自身情况（如噪声等）以及选取的不同荧光通道进行调整。

#### 1) 质量控制：

阴性对照未出现明显的 S 型扩增曲线或 Ct 值  $> 39$ ，阳性对照出现 S 型扩增曲线且其 Ct 值  $< 30$ 。若阴阳性对照不同时满足上述条件，则本次检测结果无效，应重新检测或与产品技术支持联系。

#### 2) 结果判读：

样品根据反应所得 Ct 值判读，具体见下表：

| Ct 值         | 判读结果                                          |
|--------------|-----------------------------------------------|
| $\leq 36$    | 嗜肺军团菌阳性                                       |
| $36 \sim 39$ | 建议重新检测，若结果 Ct $\geq 39$ ，则嗜肺军团菌阴性，反之则为嗜肺军团菌阳性 |
| $\geq 39$    | 嗜肺军团菌阴性                                       |

#### 【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，使用的移液枪头需提前灭菌。

3. 试剂盒中试剂使用前需充分融化、混匀，短暂离心后使用，期间需尽量避免产生气泡，加样完毕后检查反应管是否盖紧，避免泄露造成污染。
4. 待检测样品基因变异可能会造成假阴性结果；待检测样品交叉污染、实验室环境污染以及试剂污染均会造成假阳性结果。
5. 不同批号的产品请勿混合使用，请在产品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。
6. 检测完毕后，根据相关规定正确处理废弃耗材以及扩增产物。

#### 【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：0758 3680999 转 8001  
 企业网址：www.bhkbio.com  
 E-mail: [Webmaster@huankai.com](mailto:Webmaster@huankai.com)

#### 【说明书修改时间】

2025 年 7 月 29 日