



产品使用说明书

# Rhinogen<sup>®</sup> 细菌 DNA 检测试剂盒

货号：RA-MT09



## 目 录

目 录 .....	1
产品信息 .....	2
试剂包装 .....	2
保藏条件 .....	2
产品综述 .....	3
背景 .....	3
概述 .....	3
操作方法 .....	4
适用机型 .....	4
所需设备 .....	4
qPCR 反应体系的准备 .....	4
qPCR 反应的加样 .....	4
qPCR 仪运行程序设置 .....	4
qPCR 结果分析 .....	5
相关产品 .....	6
联系我们 .....	7

## 产品信息

**试剂包装** Rhinogen® 细菌DNA检测试剂盒（PCR-荧光探针法）包装规格如下：

试剂组分	RA-MT09-50T	
	货号	规格
细菌 qPCR Master Mix	RA-MT09A	750 $\mu$ l*1vial
细菌引物探针混合液	RA-MT09B	250 $\mu$ l*1vial
内部质控（IC）	RA-MT09C	300 $\mu$ l*1vial
阳性质控（PC）	RA-MT09D	1.2ml*1vial
阴性质控	RA-MT09E	1.2ml*1vial

**保藏条件** 采用干冰运输，收到产品后请立即置于-18°C及以下条件下储存，有效期为12个月。  
注：细菌引物探针混合液（货号：RA-MT09B）请于-18°C及以下避光存储。

## 产品综述

---

### 背景

无菌检测是确保医疗器械、药品及其他相关产品在生产过程中未被微生物污染的重要环节。其主要目的是通过科学的检测方法，验证产品的无菌状态，从而保障最终产品的安全性和有效性。

---

### 概述

Rhinogen® 细菌DNA 检测试剂盒（PCR-荧光探针法）与真菌&细菌DNA 提取纯化试剂盒（磁珠法-手工/自动）配套使用，利用荧光探针法qPCR 技术定性检测细胞、细胞制品、疫苗等产品中是否有细菌污染。本试剂盒覆盖多种细菌DNA 序列，检测快速，专一性强，灵敏度高，性能可靠。参照中国药典qPCR 方法检测相关要求验证，本试剂盒检测限低至5-100 CFU/mL。

---

## 操作方法

- 适用机型**
- ✓ ABI 7500 Real-Time PCR System
  - ✓ ABI 7300 Plus
- 注：其他机型可以按照本说明书试用。如有问题，请咨询本公司。

- 所需设备**
- ✓ 荧光定量PCR仪
  - ✓ 掌上离心机
  - ✓ 涡旋混合仪

- qPCR 反应体系的准备**
- 1、根据所要检测样品的数量，计算所需反应孔数，建议每个样品做2个重复测试：  
反应孔数=（1个阳性质控PC+1个无模板对照BLK+1个阴性质控NCS+N个待测样品）×2
  - 2、根据反应孔数计算本次所需的细菌qPCR Master Mix 和细菌引物探针混合液的总量：  
细菌qPCR Master Mix 用量=（反应孔数+1）×15μl  
细菌引物探针混合液用量=（反应孔数+1）×5μl
  - 3、各试剂置于室温融化后，将所需用量的细菌引物探针混合液与细菌qPCR Master Mix 混合，配制所需要的反应混合液，轻微振荡混匀，快速离心5秒，然后按照下表所示加样：

反应孔	加样
阳性质控（PC）	20μl反应混合液+10μl 阳性质控（PC）
无模板对照（BLK）	20μl 反应混合液+10μl 阴性质控
阴性对照（NCS）	20μl反应混合液+10μl NCS 纯化液
待测样品	20μl 反应混合液+10μl 待测样本纯化液

- qPCR 反应的加样**
- 1、取96孔PCR板，在所需各孔内先加入20μl 反应混合液；
  - 2、然后向孔内分别加入10μl BLK、NCS、PC和样品；
  - 3、粘性膜封板，离心，确保试管中无气泡，待测。

- qPCR 仪运行程序设置**
- 以AB公司7500 qPCR 仪、软件版本2.0 为例：
- 1、创建新运行程序，实验类型选择Quantitation—Standard Curve，试剂类型选择TaqMan；
  - 2、选择检测探针，通道1（细菌）：荧光报告基因为FAM，荧光淬灭基因为none；通道2（IC）：荧光报告基因为VIC，荧光淬灭基因为none；
  - 3、检测参比荧光为ROX；
  - 4、按照下表完成扩增程序设置：

步骤	循环数	温度	时间	荧光采集
1	1	37°C	2min	
2	1	95°C	5min	
3	40	95°C	15s	
		52°C	35s	荧光采集
		72°C	30s	

## qPCR 结果分析

- 1、在Results 的Amplification Plot 面板中，将FAM/VIC通道Threshold 均设置为0.1，Baseline 设置为Auto， 点击Analyze， 此时可初步查看扩增曲线的形态是否正常；
- 2、PC、NTC、NCS 检测结果判定：

质控品	FAM通道（细菌）	VIC通道（IC）
阳性质控（PC）	扩增曲线呈“S”型且Ct 值<35	扩增曲线呈“S”型且Ct 值<35
阴性对照（NCS）	扩增曲线无明显起峰或Ct 值≥35	扩增曲线呈“S”型且 Ct 值<35
无模板对照（BLK）	扩增曲线无明显起峰或Ct 值≥35	扩增曲线无明显起峰或Ct 值≥35

- 3、待测样品检测结果判定：

FAM通道（细菌）	VIC通道（IC）	结果判定
扩增曲线呈“S”型且Ct 值<35	无要求	阳性
扩增曲线无明显起峰或Ct 值≥35	扩增曲线呈“S”型且Ct 值<35	阴性
	扩增曲线无明显起峰或Ct 值≥35	结果不可靠，需复测

- 注：1）如遇特殊结果难以判断，请联系RhinoBio技术支持邮箱或电话，协助完整结果分析；
- 2）其他机型或其它软件版本可按照本说明书进行程序设置及数据分析；
- 3）不同批次试剂切勿混合使用。

## 相关产品

产品名称	货号
MycoAlarm™ 支原体检测试剂盒	RA-MT01
Myco-Visal™ 一步法快速支原体检测试剂盒	RA-MT03
Myco-EXT™ 支原体DNA提取纯化试剂盒（磁珠法）	RA-MT04
Myco-Acid™ qPCR支原体检测试剂盒	RA-MT05
Myco-Acid™ PCR支原体检测试剂盒	RA-MT06
Myco-EXT™ 支原体DNA自动化提取试剂盒（非预装）	RA-MT07
Myco-EXT™ 支原体DNA自动化提取试剂盒（预装）	RA-MT08
真菌DNA检测试剂盒	RA-MT10
真菌&细菌DNA提取纯化试剂盒	RA-MT11
全自动核酸提取仪	RA-IP27

## 联系我们

---

如果您需要帮助，我们的客户支持专家可以通过电话和 email 为您提供帮助：

- 电 话：[0512-87663137](tel:0512-87663137)
  - 技术支持：[techserv@rhinobio.com](mailto:techserv@rhinobio.com)
-



# RHINO BIO



上海瑞诺生物科技有限公司  
苏州瑞特佰生物科技有限公司  
网 址: [www.rhinobio.com](http://www.rhinobio.com)  
电 话: 0512-87663137  
邮 箱: [techserv@rhinobio.com](mailto:techserv@rhinobio.com)



公众号



联系客服

