

## 诺如病毒 GI/GII 核酸检测试剂盒（RT-PCR 探针法，含 MS2）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：诺如病毒 GI/GII 核酸检测试剂盒（RT-PCR 探针法，含 MS2）

英文名称：Norovirus (GI/GII) Real Time RT-PCR Kit (with MS2)

【包装规格】48 测试/盒

【产品编号】FZ028BF2

### 【产品简介】

本试剂盒适用于贝类，硬质食品表面，软质水果以及水中诺如病毒的定性检测，不可用于临床诊断。

### 【检测原理】

本试剂盒采用一步法实时荧光 RT-PCR 技术，针对诺如病毒 GI/GII 型特异性基因序列设计高灵敏度引物及探针。在 PCR 扩增过程中，探针与靶基因结合后被 Taq 酶水解，释放荧光信号。荧光定量 PCR 仪实时监测 FAM（GI 型）、VIC（GII 型）及 ROX（MS2 噬菌体内标）三个荧光通道的扩增曲线，通过对数期荧光信号的动态变化实现诺如病毒核酸的定性检测，并同步监控实验有效性。

### 【产品组分】

组分名称	规格×数量
预混液	1 mL×1 管
阳性对照	200 μL×1 管
空白对照	200 μL×1 管
说明书	1 份

注<sup>1</sup>：预混合液含有引物和探针等反应成分，不含 ROX；本试剂盒不含病毒富集试剂及 RNA 提取试剂。注<sup>2</sup>：空白对照为 RNase-free ddH<sub>2</sub>O；阳性对照为含有检测基因的 DNA 片段；阴性对照为阴性样本提取的 RNA，不提供。

### 【储存条件与保质期】

-20℃避光储存，避免反复冻融。有效期为 12 个月，生产日期见外包装。

### 【灵敏度】

最低检验限达到 10-100 copies/Test

### 【所需其他材料和适用仪器】

本试剂盒适用于 ABI 系列、Bio-Rad 系列等实时荧光定量 PCR 仪（具有能够检测 FAM、VIC 和 ROX 标记的荧光通道）。

### 【检测方法】

#### 1、病毒富集

贝类，硬质表面食品，软质水果等样品可参照《GB4789.42-2025 食品安全国家标准 食品微生物学检验 诺如病毒检验》，水样品可参照《ISO 15216-2 2019 Microbiology of the food chain Horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus using real-time RT-PCR》。

#### 2、样本制备及 RNA 提取

样品按照病毒 RNA 提取试剂盒相应要求和步骤提取，也可手工提取和纯化或使用自动化的提取仪器。

#### 3、反应体系配置

从试剂盒中取出预混合液和酶混合液，充分融化，轻微振荡混匀，瞬时离心。

按照下表等比例配置反应体系，预混液 20 μL 置于 PCR 管或 PCR 板中，然后将空白对照、样品 RNA 提取液、阳性对照各取 5 μL 分别加入 PCR 管或 PCR 板中，盖好管盖或板膜，短暂离心后立即进行 PCR 扩增反应。

#### 4、PCR 扩增

PCR 管或 PCR 板置于 PCR 仪器上，推荐反应程序设定如下：反应体系 25 μL，在第三步每个循环 60℃时检测荧光信号，检测通道选择 FAM、VIC 和 ROX。

第一步	第二步	第三步	
1 个循环	1 个循环	40 个循环	
50℃	95℃	95℃	60℃ ✓
10 min	1 min	10 s	20 s ✓

注：使用 ABI 系列 PCR 仪器，如果不添加 ROX，“passive reference”和“quencher”均选择“none”。

#### 5、标准曲线绘制

绝大多数 PCR 仪都能够自动生成标准曲线，如未生成，可以未稀释和梯度稀释的 MS2 过程控制的浓度 lg 值为 X 轴（设过程控制病毒原液浓度为 1），以其 Ct 值（部分 PCR 仪显示为 Cq）为 Y 轴，绘制过程控制标准曲线。

#### 6、质量控制

满足以下条件本次检测有效：

1) 空白对照和阴性对照无扩增曲线；

- 2) MS2 过程控制在相应的检测通道有 S 型扩增曲线且标准曲线  $R^2 \geq 0.98$ ;
- 3) 阳性对照 (GI 过程控制和 GII 过程控制) 在相应的检测通道有 S 型扩增曲线;
- 4) 提取效率  $\geq 1\%$ ;
- 5) 抑制指数  $< 2.0$ 。

注<sup>1</sup>: 如果对照满足质量控制要求, 提取效率与抑制指数不满足质量控制要求, 检测结果为阳性时也可酌情判定为阳性。

注<sup>2</sup>: 如果除空白和阴性对照外, 其他对照满足质量控制要求, 提取效率与抑制指数也满足质量控制要求, 检测结果为阴性时也可酌情判定为阴性。

注<sup>3</sup>: 设样本经过前处理后获得的病毒富集液总体积为 V1, 从 V1 中取出进行 RNA 提取的体积为 V2, 最终溶解或洗脱 RNA 时使用的液体体积为 V3。将 MS2 初始浓度设为 1, 假设样本原液外加扩增控制的抑制指数小于 2, 实际样本检测时 MS2 的 Ct 值在标准曲线上对应的浓度为 C (如果仪器未生成标准曲线, 需将 Ct 值带入绘制的标准曲线计算对应浓度的 lg 值), 则提取效率 =  $(C \times V1 \times V3) / (10 \times V2 \times 1) \times 100\%$ 。

## 7、结果分析及判定

在检测有效的情况下, 如下表进行判定, 其中 FAM 通道为诺如病毒 GI 检测结果, VIC 通道为诺如病毒 GII 检测结果, ROX 通道为 MS2 过程控制检测结果。

通道	Ct 值	结果判断
FAM/VIC	$Ct \geq 40$	诺如病毒核酸阴性
FAM/VIC	$Ct \leq 35$	诺如病毒核酸阳性
FAM/VIC	$35 < Ct < 40$	建议重新检测, 结果阴性, 否则为诺如病毒核酸阳性

### 【注意事项】

1. 使用本试剂盒前请仔细阅读本说明书全文, 规范操作, 实验室严格遵守国家分子生物学实验室的要求
2. 本品各组成成分均不得与其他产品或不同批号产品中的相应组成成分进行混用, 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。
3. 产品的设计基于已知认识, 未知原因或者基因变异可能会导致假阴性结果。

4. 被检样品在采集、运输、储存以及核酸提取过程中操作方式不当, 容易造成 RNA 降解而产生假阴性结果。
5. 当样品中被检核酸浓度小于最低检测限可能发生假阴性的结果。
6. 实验室环境污染、试剂污染、样品交叉污染都可能会造成假阳性结果。
7. 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。
8. 检测过程中建议穿洁净工作服, 戴一次性手套, 使用灭菌带滤芯且无 RNA 酶枪头。
9. 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。
10. 检测完毕后, 实验过程中的废弃物和扩增产物等处理可参考《GB/T 27403-2008 实验室质量控制规范食品分子生物学检测》。

### 【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: 0758-3680999-8018  
 企业网址: <http://www.bhkbio.com>  
 E-mail: [Webmaster@huankai.com](mailto:Webmaster@huankai.com)

### 【说明书修改时间】

2025 年 11 月 21 日

