

蛇巢病毒荧光PCR检测试剂盒说明书



产品名称 通用名称：蛇巢病毒荧光PCR检测试剂盒
英文名：Nidovirus Fluorescent PCR Detection Kit
汉语拼音：Shechaobingdu Yingguang PCR Jiance Shijihe

主要成分与含量

1. PCR反应套装

产品名称	内容物	规格
蛇巢病毒荧光PCR检测试剂盒检测试剂	PCR反应体系(冻干粉末)	20份/盒

2. 采样装置

产品名称	内容物	规格
蛇巢病毒荧光PCR检测试剂盒 采样装置	样本处理液E1	20个/包
	一次性采样拭子	

3. 配套耗材

产品名称	内容物	规格
蛇巢病毒荧光PCR检测试剂盒 配套检测耗材	样本处理液B1	10份/盒
	PCR反应管	

适用设备 南京英诺唯真生物科技有限公司 实时荧光PCR分析仪(A-IQ-2M4C)

用法与判定

1. 用法

1.1 样品处理

- 咽拭子样本采集：将拭子伸入蛇或蜥蜴上颚型鼻器粘膜部位旋转5-10次取出(注意：若动物口腔粘液较多，先使用干净棉签或采样拭子刮去多余粘液后再采样。)，放入样本处理液E1中，弃去尾部，盖上管盖。
- 样本处理：将含有采样拭子的样本处理液E1充分振荡30秒，瞬时离心5秒，取20 μ L加入到样本处理液B1中充分混匀10秒，瞬时离心5秒备用。(注意：若没有振荡混匀仪和掌上离心机，用手指轻弹管壁，使样本充分释放到样本处理液E1中，然后轻轻甩动，收集液体至管底，取20 μ L加入到样本处理液B1中，盖紧管盖后用手指轻弹管壁，使样本充分混匀，然后轻轻甩动，收集液体至管底。)

1.2 反应体系制备

- 从样本处理液B1中取25 μ L液体加入冻干粉末中溶解冻干粉，吹吸混匀10次，然后转移全部液体至PCR反应管中，盖上管盖，将PCR反应管置于离心机中瞬时离心，消除气泡(注意：若没有掌上离心机，则用手捏住PCR反应管口位置，轻轻甩动，收集液体至管底，若气泡较多，则用手指轻弹PCR反应管，消除气泡。)，再将PCR反应管置于实时荧光PCR分析仪的反应舱中。

1.3 样本检测

- 根据需要检测报告的语言，选择对应检测程序，“NDV-简体中文”反应程序检测结果出具简体中文报告，“NDV-Test”反应程序检测结果出具英文报告；录入样本的信息，即可开始反应。

2. 结果判定

通过参考值的研究确定本试剂盒检测蛇巢病毒(Nidovirus)目标基因(FAM)的Ct阳性判断值为36，检测内标(ROX)的Ct阳性判断值为36。具体判断标准详见下表：

产品名称	规格
FAM通道,有典型的S型扩增曲线,且Ct值 \leq 36	蛇巢病毒核酸检测阳性
FAM通道,Ct值=0	蛇巢病毒核酸检测阴性

结果异常处理

- 如出现 $0 < Ct \leq 10$ ，应当对样本进行100倍稀释，盖上管盖充分混匀30秒，瞬时离心5秒后吸取25 μ L重复检测，选择“NDV-简体中文”反应程序，检测结果出具简体中文报告，选择“NDV-Test”反应程序，检测结果出具英文报告。
- 如出现 $36 < Ct \leq 45$ ，应当复检，检测操作如下：同时做一个样本和一个阴性对照(从未开封的样本处理液B1中取25 μ L液体加入冻干粉末中，溶解冻干粉后，吹吸混匀10次，转移全部液体至PCR反应管，盖紧管盖，瞬时离心，即可配置好阴性对照。)，进行PCR反应时，样本必须放入反应舱1，阴性对照必须放入反应舱2，选择“NDV-FC-简体中文”反应程序，检测结果出具简体中文报告，选择“NDV-FC-Test”反应程序，检测结果出具英文报告。**结果判读**：如果复检结果Ct值 \leq 36且阴性对照Ct值为0，结果判读为阳性；如果复检结果 $36 < Ct \leq 45$ 且阴性对照Ct值为0，结果判读为阴性(灰区)，提示病原载量过低，超出本试剂盒检出下限；如果阴性对照检出Ct值提示存在污染，应当清洁实验环境、实验设备后再次进行复检；检测结果显示“无效”，应当排查再次后进行复检。
- 如出现样本检测数据，内标和目的基因的Ct值都为0的情况，可能样本采集或者反应体系出现问题，需要排查后重复检测，程序选择“NDV-简体中文”或“NDV-Test”。

注意事项

- 试剂盒可以在室温(2~25 $^{\circ}$ C)保存和运输。
- 本试剂盒仅用于体外检测使用，操作人员必须经过培训，试剂盒使用前请仔细阅读说明书全文。
- 样品采集和处理过程应戴一次性手套，并及时更换，样品间严禁交叉污染。
- 反应液加入反应管时尽量避免产生气泡，放入实时荧光PCR分析仪前应检查各PCR反应管是否盖紧，避免对仪器及环境的污染。
- 扩增完毕后取出PCR反应管，放置于指定的袋子中丢弃，不可以打开反应管盖。
- 测试样品时，应做好生物安全防护。
- 试验完毕后，使用过的试剂盒、样品和试剂均应进行无害化处理。

贮藏与有效期

室温(2~25 $^{\circ}$ C)保存，有效期为6个月。

生产企业

南京英诺唯真生物科技有限公司