

蛇巢病毒荧光 PCR 检测常见问题及解答

试剂、耗材保存环节

Q: 试剂盒的储存要求?

A: 蛇巢病毒荧光 PCR 检测试剂盒采用原位冻干工艺, 试剂盒的运输和储存在常温下进行; 蛇巢病毒荧光 PCR 检测试剂盒采样装置运输和储存在常温下进行; 蛇巢病毒荧光 PCR 检测试剂盒检测耗材运输和储存在常温下进行, 充分降低了运储成本和空间。

Q: 蛇巢病毒荧光 PCR 检测试剂盒铝箔袋漏气是否可以使用?

A: 不可以, 铝箔袋漏气会导致冻干粉受潮萎缩, 影响试剂性能。

采样环节

Q: 采样过程是否可以沿用其他试剂盒配套的采样套装?

A: 本产品采用免提取直接扩增荧光定量 PCR 技术, 有专用的样本处理液和适配的采样拭子, 在未经测试的情况下请勿使用其他试剂盒配套的采样套装。

Q: 适用于哪些类型的样本? 如何采集样本?

A: 适用于咽拭子样本, 采集部位上颌犁鼻器部位; 使用适配拭子旋转 5-10 次取出, 采样时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, 因为采集到的样本中粘液太多影响后续的 PCR 反应。

Q: 样本该如何保存和运输?

A: 建议采集后立即检测。若需保存, 在 2-8℃可保存 72 小时, -70℃以下可长期保存, 运输温度 2-8℃, 运输时间不超过 72 小时, 不可常温运输。

样本处理

Q: 样本核酸如何提取?

A: 本产品所用样本裂解液具有高效的样本处理能力, 可以将样本核酸充分释放, 达到免提取直接扩增的检测要求。

Q: 样本处理液 E1 和样本处理液 B1 是否可以颠倒顺序使用?

A: 不可以颠倒顺序使用, 样本处理液 E1 和样本处理液 B1 作用各不相同, 必须将拭子先放入样本处理液 E1, 混匀后取 20 μ l 至样本处理液 B1, 样本处理液 E1 样本不可以直接加入到冻干粉中, 溶解冻干粉进行后续实验。

Q: 无混匀仪及离心机时, 样本如何混匀? 如何将样本收集至管底?

A: 若无混匀仪, 用手指轻弹管壁, 使样本充分释放到样本处理液中, 然后轻轻甩动, 收集液体至管底。

Q: 样本处理液 B1 中的样本加入冻干粉中, 溶解冻干粉后是否可以直接加入 PCR 反应管?

A: 不可以, 样本处理液 B1 中的样本加入冻干粉中, 溶解后需吹吸混匀 10 次再转移至 PCR 反应管中, 然后按紧管盖, 瞬时离心将液体收集至菱形部位, 观察无明显气泡, 才可

上机，气泡较多时，轻弹菱形部位进行消泡，然后瞬时离心后，进行上机。

Q: PCR 反应管如何判断是否扣紧?

A: 盖好管盖之后，观察管盖顶端与管口是否紧密结合，除管顶面积大于管口的部分，其余部分应全部塞入管口内部为管盖扣紧状态，否则管盖未扣紧。

上机环节

Q: 上机时 PCR 反应管放入反应舱的位置与操作界面显示的开始反应的反应舱位置是否需要一致?

A: 必须一致，PCR 反应管放入反应舱 I，操作界面必须点击反应舱 I 的开始按钮，因为两个反应舱为独立模块，反应舱与操作界面反应舱位置一一对应。

Q: 反应程序如何选择?

A: 程序选择“NDV-简体中文”出具简体中文报告，选择“NDV-Test”出具英文报告；复检程序选择：结果为“阴性（灰区）”的复检程序选择“NDV-FC-简体中文”出具简体中文报告，选择“NDV-FC-Test”出具英文报告；结果为“无效”的复检程序选择“NDV-简体中文”或者“NDV-Test”。

结果查询

Q: 后台系统如何登录? 报告如何查询?

A: 在电脑浏览器输入网址“https://cloud.inno-quick.com”，使用仪器注册的手机号进行登录（注意在仪器端注册的手机号登录后台管理系统时，需等待跑完一个样本之后才能使用该手机号登录，否则无法登录。），选择“样本查询”-“动物传染性疾病预防”找到对应样本，点击下载按钮进行报告查看。

Q: 仪器端是否可以查看报告?

A: 不可以，仪器端可以查看扩增的原始曲线，但是无法查看最终的报告。

Q: 检测结果是否会被人为修改?

A: 本检测为仪器端反应结束后自动上传和出具报告，无法进行人为修改和删除，该措施最大程度地保证了检测的真实性和可靠性。

Q: 如果检测结果为“无效”是否会出具报告?

A: 会正常生成检测报告，检测报告中结果一栏显示为“无效”，并在后台管理系统“检测结果”一栏中显示“无效”，提醒检测人员注意查看。

Q: 检测结果显示“无效”，该如何操作?

A: 这时需要查看原始数据，若出现 $0 < Ct \leq 10$ ，应当对样本进行 100 倍稀释，盖上管盖充分振荡 30 秒，瞬时离心 5 秒后吸取 25 μL 重复检测，选择“NDV-简体中文”程序，出具简体中文报告，选择“NDV-Test”程序，出具英文报告；若样本检测数据出现目的基因和内标 Ct 值均为 0 时，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，选择“NDV-简体中文”或“NDV-Test”程序。

Q: 检测结果显示“阴性（灰区）”，该如何操作？

A: 如出现 $36 < Ct \text{ 值} \leq 45$ ，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 $25 \mu\text{l}$ 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 $Ct \text{ 值} \leq 36$ 且阴性对照 $Ct \text{ 值}$ 为 0，结果判读为阳性；如果复检结果 $36 < Ct \text{ 值} \leq 45$ 且阴性对照 $Ct \text{ 值}$ 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 $Ct \text{ 值}$ 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”，应当排查后再次进行复检。