

## 旋达<sup>®</sup>R1动物疫病检测系列

猪繁殖与呼吸综合征病毒高致病型 (HP-PRRSV) <sup>RNA</sup> 核酸检测试剂盒 (一管式恒温荧光法)

请于-20°C条件下保存, 有效期 12 个月

### ◆ 产品说明

本试剂盒针对猪血液、精液和病变组织样品中猪繁殖与呼吸综合征病毒高致病型 (HP-PRRSV) 的特异性检测, 适用猪繁殖与呼吸综合征病毒高致病型 (HP-PRRSV) 的辅助诊断、监测及流行病学调查, 检测结果仅供临床参考, 检出限为 10<sup>3</sup>copies/μL 基因组 RNA。

### ◆ 产品组成 ( 48 测试)

036121MIII	
试剂	含量
A-HP-I	22μL × 48 管
B-I	90 μL × 1 支
R-I	20 μL × 1 支
PG-HP-I	50 μL × 1 支

### ◆ 适用仪器

Dhelix-Q5、ESE Tube Scanner、Genie II、Deaou-308C 等恒温荧光检测仪, ABI 7500, LightCycler480, CFX 96 等荧光 PCR 仪。

### ◆ 自备耗材和仪器

①灭菌 1.5mL 或 2.0mL 离心管; ②冰盒; ③移液器 (0.1-2.5μL, 0.5-10μL, 10-100μL, 100-1000μL) 及配套灭菌吸头; ④离心机; ⑤涡旋混匀器; ⑥金属浴

### ◆ 注意事项

1. 本试剂检测灵敏度高。为了防止污染, 实验要分区操作。
  - 1) 第一区: 样本制备区。
  - 2) 第二区: 模板添加区。
  - 3) 第三区: 扩增及产物分析区。

★分区之间最好进行物理性隔离, 避免人为因素造成的污染。
2. 实验过程中穿戴工作服和乳胶手套, 不同区域独立使用工具, 需更换手套和实验服。
3. 严格按照操作步骤操作, 试剂配制和加样等步骤请严格按照说明书要求在冰盒上操作。
4. 反应液中的成分对光敏感, 应**避光保存**。试剂使用前要完全解冻, 但应避免反复冻融, 推荐使用前离心 30 秒。
5. 反应结束后, 扩增管请置于密封袋内丢弃, 当日清理, 开盖易造成气溶胶污染, 禁止开盖。
6. 不同批号试剂请勿混合使用, 在有效期内使用。
7. 鉴于 PRRSV 为一类检疫性疫病, 上述操作应在相关生物安全设施内进行。对样品及其废弃物的操作应严格遵守生物安全规定。
8. 本试剂盒仅供研究使用, 不用于临床诊断。

### ◆ 样品处理

参照《GB/T 35912-2018 猪繁殖与呼吸综合征病毒荧光 RT-PCR 检测方法》或其他相关标准采集样品, 以下步骤可供参考。

1. 样品采集

①血清样品：用无菌注射器抽取受检猪静脉血不少于 5 mL，置于无菌离心管内，室温或者 37 °C 倾斜放置自然凝集 20 ~ 30 min, 2 000~3 000 r/min 离心 10 min, 吸取上清液到新的离心管内备用。②公猪精液：按照 GB/T 25172 的方法采集和保存精液。③口腔拭子：大猪使用保定器保定，小猪可以双手保定，用采样拭子蘸取口腔分泌物，放入无菌采样管中。④肺灌洗液：完整摘取肺脏/肺叶，送实验室进行灌洗。⑤组织样品：取肺脏、淋巴结、扁桃体、脾脏等组织，置于无菌离心管内备用。⑥细胞培养物：细胞培养物反复冻融 3 次后，将细胞培养物置于 1.5 mL 无 RNA 酶的灭菌离心管内，编号备用。

## 2. 样品处理

①血清和精液样品无需进行前处理，直接用于核酸提取。②口腔拭子样品：加入 500 μL 无菌 PBS，充分涡旋震荡 1 min，反复挤压拭子，弃去拭子后 3000 r/min 离心 5 min 取上清用于后续的核酸提取。③肺灌洗液：根据肺脏/肺叶的大小，通过肺管加入 5~10 mL 无菌 PBS，反复揉捏，吸取灌洗液，3000 r/min 离心 5min，取上清用于核酸提取。④组织样品：取 1g 组织，剪碎，加入 2 mL 生理盐水进行研磨，制备组织匀浆，8000 r/min 离心 5 min，取上清用于后续的核酸提取。⑤细胞培养物 4000 r/min, 4 °C 离心 10min, 取上清用于后续的核酸提取。

## 3. 样品存放与运送

采集或处理的样品在 2~8 °C 条件下保存应不超过 24 h；若需长期保存，应放置 -70 °C 冰箱，但应避免反复冻融（冻融不超过 3 次）。采集的样品密封后，采用保温壶或保温桶加冰密封，在 6~8 h 之内运送到实验室。按照《兽医实验室生物安全技术管理规范》进行样品的生物安全标识。

## ◆ 实验操作

### 1. 模板制备（样本制备区）

建议使用病毒基因组 DNA/RNA 提取试剂盒系列产品，具体过程详见产品说明书。

### 2. 添加模板（模板添加区，放置于冰盒中进行）

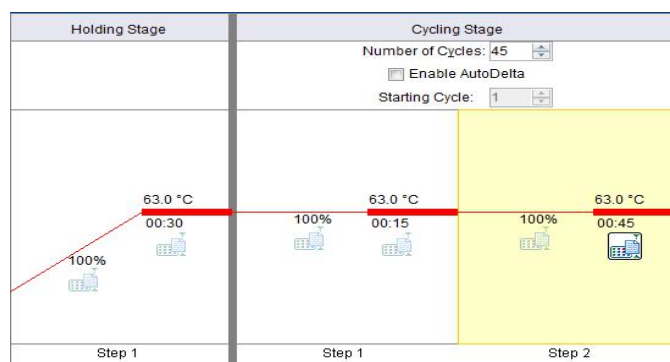
### 2. 添加模板（模板添加区，放置于冰盒中进行）

取出所需测试数的已含有反应液 A-HP-I 的 PCR 管，将试剂完全解冻，离心 30 秒，在管盖上标记管名（阴性对照管 NG、样品 XX、阳性对照管 PG）。打开管盖向各管管底分别加入 0.8 μL B-I 及 0.2 μL R-I，盖上阴性对照管管盖，其他各管分别沿管壁加入 2 μL 模板，顺序为待测样品模板、PG-HP-I，依次盖好各管管盖，离心 30 秒，立即进行扩增反应。

### 3. 扩增反应（扩增及产物分析区）

#### ①恒温仪器 63 °C 条件下反应 45 min。

②若使用荧光定量 PCR 仪，则荧光基团选择 FAM，淬灭基团选择 None，将 63 °C 15 s, 63 °C 45 s 作为一个循环，于 63 °C 45 s 处收集荧光信号，45 个循环。



其他仪器请参照仪器说明书进行设置。

## ◆ 结果判定

①仪器自动判定结果，若显示“阳性”，则样品中含有猪繁殖与呼吸综合征病毒高致病型（HP-PRRSV）；若显示“阴性”，则样品中不含有对猪繁殖与呼吸综合征病毒高致病型（HP-PRRSV）或含量低于检出限。

②在荧光定量 PCR 仪上，根据有无“S”型扩增曲线判定结果。若有“S”型扩增曲线，则样品中含有猪繁殖与呼吸综合征病毒高致病型（HP-PRRSV）；若无“S”型扩增曲线，则样品中不含有猪繁殖与呼吸综合征病毒高致病型（HP-PRRSV）或含量低于检测限。



★ NG 反应管结果显示“阴性”，PG 反应管结果显示“阳性”，此次检测结果有效，否则无效。如重复检测结果仍为无效，请与技术支持人员联系。

◆ 企业信息

广州双螺旋基因技术有限公司      网址：www.dhelix.cn  
电话：020-85671013                      传真：020-34037175  
地址：广州国际生物岛螺旋四路 7 号标准产业单元二期第三栋第三层 302 单元