

旋达[®]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^{RNA}）核酸检测试剂盒（恒温荧光法）

请于-20℃条件下保存，有效期 12 个月

◆ 产品说明

旋达[®]R1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 10³copies/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，Gentier 32R、Gentier 48E/48R、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：样品制备区。
- 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℃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 μ L 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 5 min，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 $^{\circ}$ C 离心 10 min，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 $^{\circ}$ C 条件下保存应不超过 24 h；若需长期保存，应放置 -70 $^{\circ}$ 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（样品制备区）

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。

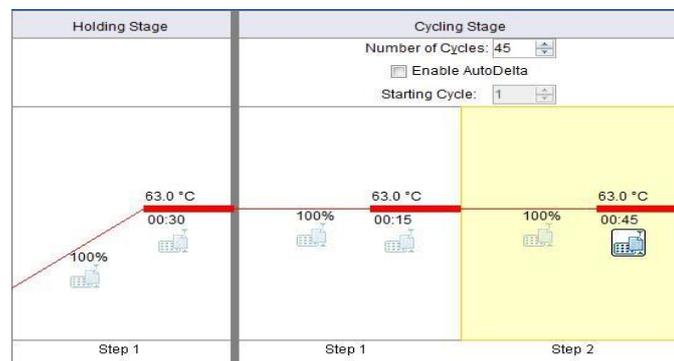
2. 添加模板（模板添加区，放置于冰盒中进行）

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 μ L B-I 及 0.2 μ L R-I，盖上阴性对照管管盖，其他各管分别沿管壁加入 2 μ L 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C 15 s，63 $^{\circ}$ C 45 s 作为一个循环，于 63 $^{\circ}$ 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