

旋达®R1 动物疫病检测系列

猪伪狂犬病毒（PRV）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

本试剂盒适用于猪血液、组织和细胞培养物等样品中猪伪狂犬病毒的特异检测，适用于猪伪狂犬病毒（PRV）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 DNA。**

◆ 产品组成（48 测试）

036041MIII	
试剂	含量
A-PRV-I	22μL× 48 管
B-I	90μL× 1 支
PG-PRV-I	50μL× 1 支

◆ 适用仪器

Dhelix 1610、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，并按检测频次将反应液以适当体积分管保存。
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 PRV 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《DB21/T 2326-2014 猪伪狂犬病毒实时荧光 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. 样品的采集、处理和保存
采样过程中样本不得交叉污染，采样及样品前处理过程中须戴一次性手套。
2. 采样工具
剪刀、镊子、研钵、采样管（1.5 mL 离心管或其他规格）。上述取样工具必须经 121±2℃，15 min 高压灭菌并烘干或经 160℃干烤 2 h。
无菌采样袋。

3. 内脏样品的采集与前处理

采取病死或剖杀猪主要脏器（脑、淋巴结、脾脏、肺脏、肾脏）装入灭菌 15 mL 离心管中，编号，送实验室。取 100 mg 左右待检样品，按 1:5 倍体积加入 PBS，于研钵或组织匀浆器中充分研磨，1 000g 离心 15 min，取上清液，转入 1.5 mL 离心管中编号备用。

4. 血液样品的采集与处理

用无菌注射器采集血液，注入含 1/10 4% EDTA 溶液的无菌容器中，充分混匀，编号备用。

5. 细胞培养物

细胞培养物冻融 3 次，转入 1.5 mL 离心管中编号备用。

6. 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）

取出所需测试数的已含有反应液 A-PRV-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 1 μ L B-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-PRV-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”，则样品中含有猪伪狂犬病毒（PRV）；若显示“阴性”，则样品中不含有猪伪狂犬病毒（PRV）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，则样品中含有猪伪狂犬病毒（PRV）；若无“S”型扩增曲线，则样品中不含有猪伪狂犬病毒（PRV）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