

## 旋达<sup>®</sup>R1动物病害检测系列

罗湖病毒 (TiLV)<sup>RNA</sup> 核酸检测试剂盒 (PCR-荧光探针法)

请于-20℃条件下保存，有效期15个月

### ◆ 产品说明

**旋达<sup>®</sup>R1** 动物病害检测系列可针对动物组织、饲料、粪便等样品中病原的特异核酸片段进行扩增，通过实时扩增曲线判定结果。本产品用于罗湖病毒 (TiLV) 的检测，**检出限为 10<sup>1</sup> copies/μL 基因组 RNA。**

### ◆ 产品组成 (48 测试)

032192M	
试剂	含量
A-TiLV-P	20μL × 8 管 × 6 排
NG-P	100μL × 2 支
PG-TiLV-P	100μL × 1 支

### ◆ 适用仪器

Gentier 32R、Gentier 48E/48R、Gentier mini、CFX 96等实时荧光 PCR 仪。

### ◆ 自备耗材和仪器

①冰盒；②移液器 (0.5-10μL, 10-100μL, 100-1000μL) 及配套灭菌吸头；③离心机；④涡旋混匀器；⑤金属浴；⑥均质机、搅拌机或研钵等研磨器具；⑦电子天平。

### ◆ 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。

### ◆ 样品处理

①样品的采集和制备是罗湖病毒检测的重要步骤，为防止交叉污染，应使用一次性消耗品，研钵应经 160℃干烤 2 h，其他不宜干烤或高压处理的器皿应使用 1%次氯酸钠溶液浸泡。②取样应尽量采取罗非鱼鳃、脾脏、肾脏、肝脏及脑组织等部位，对于同一批样品，应多点采集合并后，作为一份样品进行均质，提取 RNA。③采样过程应快速完成，将采取样品放入无菌均质袋中均质成糜状，充分混匀。

请参照相关标准进行样品前处理。

### ◆ 实验操作

#### 1. 模板制备 (样本制备区)

建议使用水生动物病原体基因组DNA/RNA提取试剂盒 (FAST) 等商品化试剂盒，具体过程详见产品说明书。

#### 2. 添加模板 (模板添加区，放置于冰盒上进行)

剪下所需测试数的已含有反应液的 PCR 管，放置在室温待解冻后，离心 30 秒后打开管盖，向每管反应液中分别加入 5μL 模板，顺序为 NG、待测样品模板、PG-TiLV-P。盖好管盖后，涡旋混匀 30s，离心 1min，立即进行 PCR

扩增反应。

3. 扩增反应（扩增及产物分析区）

使用荧光定量 PCR 仪，荧光基团选择 FAM，淬灭基团选择 NONE。

按下列条件设置扩增反应：

	PCR 循环			荧光收集位点
去污染	50℃	5 分钟	1 个循环	—
预变性	95℃	5 分钟	1 个循环	—
扩增	95℃	15 秒	45 个循环	—
	60℃	30 秒		※

其他仪器请参照仪器说明书进行设置。

4. 基线和阈值设定

基线调整取 3-15 个循环的荧光信号，阈值线应超过阴性对照扩增曲线的最高点。

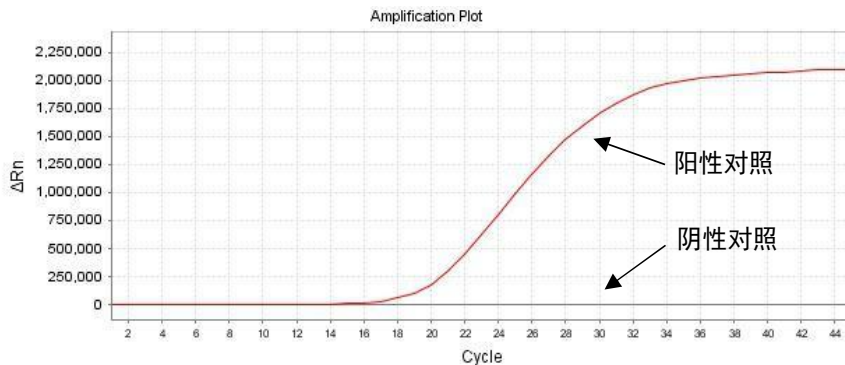
◆ 结果判定

测试样品检测 Ct 值  $\geq 45$  或无 Ct 值，曲线为直线或轻微斜线，无“S”型扩增曲线，可判定样品不含有罗湖病毒（TiLV）或含量低于检出限；

测试样品检测 Ct 值  $\leq 40$ ，曲线呈“S”型扩增曲线，可判定样品含有罗湖病毒（TiLV）；

测试样品检测 Ct 值在 40~45 之间，应调整模板浓度，重做实时荧光 PCR。再次扩增后的样品检测 Ct 值  $< 45$ ，则可判定样品含有罗湖病毒（TiLV）；再次扩增后的样品检测 Ct 值  $\geq 45$ ，则可判定该样品不含有罗湖病毒（TiLV）或含量低于检出限。

★ NG 反应为平滑直线，PG 反应为“S”型扩增曲线，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。



参考结果图

◆ 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