

## 旋达<sup>®</sup>R1动物病害检测系列

对虾白斑综合症病毒（WSSV）/对虾传染性皮下及造血组织坏死症病毒（IHHNV）  
双重核酸检测试剂盒（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。本产品用于对虾白斑综合症病毒（WSSV）/对虾传染性皮下及造血组织坏死症病毒（IHHNV）的检测，检出限为 10<sup>1</sup>copies/μL 基因组 DNA。

### ◆ 产品组成（48 测试）

031192M	
试剂	含量
A-WSSV/IHHNV-P	20μL × 8 管 × 6 排
NG-P	100μL × 2 支
PG-WSSV/IHHNV-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

- 本试剂检测灵敏度高。为了防止污染，实验要分区操作。
  - 第一区：样本制备区。
  - 第二区：模板添加区。
  - 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- 不同批号试剂请勿混合使用，在有效期内使用。

### ◆ 样品处理

参照相关标准处理样品，制备的样本保存待用。  
详细步骤请按照标准操作。

### ◆ 实验操作

- 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。
- 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-WSSV/IHHNV-P。盖好管盖后，涡旋混匀 30s，离心 1min，立即进行 PCR 扩增反应。
- 扩增反应（扩增及产物分析区）

使用荧光定量 PCR 仪, IHHNV 荧光基团选择 FAM, 淬灭基团选择 NONE; WSSV 荧光基团选择 VIC, 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

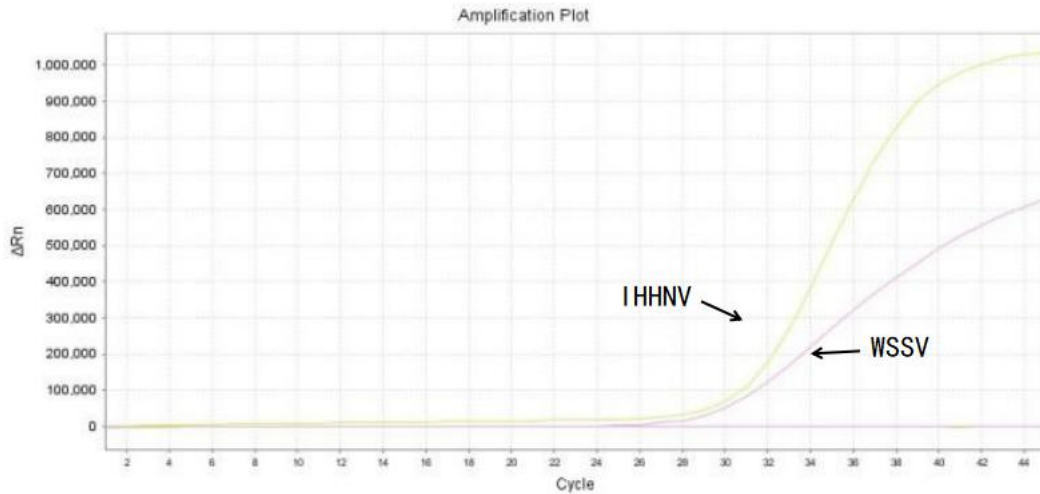
检测样品 Ct 值  $\geq 45$  或无 Ct 值, 曲线为直线或轻微斜线, 无 “S” 型扩增曲线, 可报告样品阴性, 不含有对虾白斑综合症病毒 (WSSV) 和对虾传染性皮下及造血组织坏死症病毒 (IHHNV) 或含量低于检出限;

FAM 通道样品  $Ct \leq 40$ , 曲线呈 “S” 型扩增曲线, 可直接报告样品阳性, 含有对虾传染性皮下及造血组织坏死症病毒 (IHHNV);

VIC 通道样品  $Ct \leq 40$ , 曲线呈 “S” 型扩增曲线, 可直接报告样品阳性, 含有对虾白斑综合症病毒 (WSSV);

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 WSSV/IHHNV; 再次扩增后的样品检测 Ct 值  $\geq 45$ , 则可判定该样品不含有 WSSV/IHHNV 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