

## 虾急性肝胰腺坏死病毒核酸检测试剂盒（PCR-荧光法）

## 操作说明书

## 【产品名称】

通用名称：虾急性肝胰腺坏死病毒核酸检测试剂盒（PCR-荧光法）

英文名称：EMS Real-time PCR Kit

## 【包装规格】

48 头份/盒

## 【预期用途】

本品适用于对虾以及养殖水体中、养殖土壤中、饲料等中虾急性肝胰腺坏死病毒病原体的快速检测。

## 【检验原理】

本试剂盒利用实时荧光 PCR 检测技术，采用虾急性肝胰腺坏死病毒的一对特异性引物和一条特异性荧光探针，实现对虾、养殖水体中、养殖土壤中、饲料等中虾急性肝胰腺坏死病毒病原体的快速检测。

## 【主要组成成分】

| 组分                    | 48 头份/盒    |
|-----------------------|------------|
| 1、虾急性肝胰腺坏死病毒_ PCR 反应液 | 1.0ml×1 支  |
| 2、虾急性肝胰腺坏死病毒_ 阳性对照    | 50μl×1 支   |
| 3、虾急性肝胰腺坏死病毒_ 阴性对照    | 0.12ml×1 支 |

## 【储存条件及有效期】

-20℃保存；避免反复冻融；有效期 12 个月。

## 【适用仪器】

全自动荧光定量 PCR 仪。

## 【样本要求】

待检样本在-20℃保存不超过 24 小时；-80℃保存不超过三个月。样本运送采用冰壶或加冰泡沫箱。

## 【检验方法】

## 1. 核酸提取：

可使用商业化试剂盒提取DNA，提取的DNA于-20℃下保存，长期保存最好于-80℃条件下保存。

注：阳性对照不需要进行核酸提取，阴性对照需要进行核酸提取。

## 2. 反应液的配置：

取出 PCR 反应液，室温融化后混匀，取相应份数（反应液 20μl/T），然后向各 PCR 反应管按 20μl 分装；再分别加入 5μl 抽提好的 DNA 模板或阴/阳性对照，盖好管盖；将反应管置于全自动荧光 PCR 检测仪中，参照仪器操作说明设定阴/阳性对照、待检样本参数进行 PCR 反应，记录好样本摆放顺序。

## 3. PCR 扩增：

反应程序设定：

| 步骤 | 温度  | 时间    | 采集荧光信号  | 循环数    |
|----|-----|-------|---------|--------|
| 1  | 50℃ | 5min  |         | 1      |
| 2  | 95℃ | 3min  |         | 1      |
| 3  | 95℃ | 10sec |         | 40 个循环 |
| 4  | 60℃ | 30sec | Fam（勾选） |        |

荧光素设定为 FAM(该通道指示虾急性肝胰腺坏死病毒检测情况)，在反应程序的第二步未读取荧光值。

**【检验结果的解释】**

综合分析仪器给出的各项数据，设定合理的阈值（Threshold）和基线（Baseline），使仪器给出正确的结果。阴性对照为阴性，阳性对照的 Ct 值应 $\leq 40.0$ 。否则，重做此次实验。荧光增幅明显，有典型 S 型曲线，且 Ct 值符合下表条件，判定为阳性样本，结果判定如下表：

| 虾急性肝胰腺坏死病毒<br>(FAM)   | 结果判定                          |
|-----------------------|-------------------------------|
| $\leq 35.0$           | 虾急性肝胰腺坏死病毒阳性                  |
| $>35.0$ 或 $\leq 40.0$ | 重复检测，仍能检出，且曲线为典型“S”型，判阳否则判阴性。 |
| $>40.0$               | 虾急性肝胰腺坏死病毒阴性                  |

**【注意事项】**

1. 本试剂盒仅用于辅助诊断；对虾的诊治应结合其症状/体征、病史、其他实验室检查及治疗反应等情况综合考虑；
2. 实验前请仔细阅读本试剂盒说明书，严格按操作步骤执行；
3. 整个实验操作过程以及 PCR 实验室的软硬件设施应符合卫生部颁布《临床基因扩增检验实验室管理办法》、《临床基因扩增检验实验室工作规范》等法规的要求；
4. Taq 酶使用前请稍离心至管底部，使用时于冰盒中放置；
5. 不合理的样本采集、转运、储存及处理过程均有可能导致错误的检测结果；如果样本处理过程没有控制可能产生交叉污染，可能出现假阳性结果；
6. 阴性检测结果仅说明样本中病原体低于本试剂盒的最低检测限；
7. 不同批次的试剂不可混合使用。

**【生产企业】**

企业名称：广州赛百纯生物科技有限公司  
生产地址：广州市黄埔区联浦街 16 号 402 房.  
注册地址：广州市黄埔区联浦街 16 号 402 房.

**【产品说明书修改日期及批准日期】** 2024 年 8 月