

旋达[®]R1 动物病害检测系列

溶藻弧菌(VA)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[®]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。本产品用于溶藻弧菌(VA)的检测, **检出限为 10¹copies/μL 基因组 DNA**。

◆ 产品组成 (48 测试)

012022M	
试剂	含量
A-VA-P	20μL × 8 管 × 6 排
NG-P	100μL × 2 支
PG-VA-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

参照下述方法处理样品。

- (1) 若对样本不增菌直接进行检测, 则取患病动物的病灶组织做匀浆备用。
- (2) 若对样本中细菌进行增菌检测, 则取待检测样品, 以无菌操作取检样 25 g (mL), 2%氯化钠胰蛋白胨大豆肉汤培养基 (TSB) 225mL, 用旋转刀片式均质器以 8000rpm/min 均质 1 min, 或者拍击式均质器拍击 2 min, 制备成 1:10 的均匀稀释液。如无均质器, 则将 25g 样品放入无菌乳钵中磨碎, 然后放在 500 mL 的灭菌容器内, 加 225 mL 2%氯化钠胰蛋白胨大豆肉汤培养基 (TSB), 并充分振荡后于 30℃培养 6h~16h。

详细步骤请按照标准操作。

◆ 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-VA-P。盖好管盖后，涡旋混匀 30 秒，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：

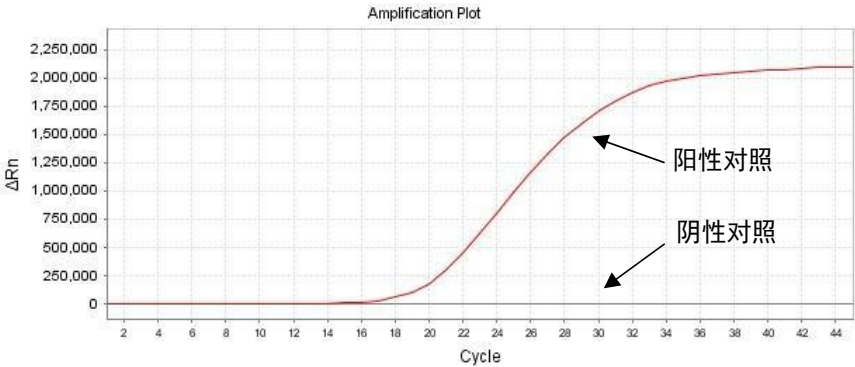
	PCR 循环			荧光收集位点
去污染	50℃	5 分钟	1 个循环	—
预变性	95℃	5 分钟	1 个循环	—
扩增	95℃	15 秒	45 个循环	—
	60℃	30 秒		※

- 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≥45 或无 Ct 值，曲线为直线或轻微斜线，无“S”型扩增曲线，可判定样品不含有溶藻弧菌(VA)或含量低于检出限；
测试样品检测 Ct 值≤40，曲线呈“S”型扩增曲线，可判定样品含有溶藻弧菌(VA)；
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，则可判定样品含有溶藻弧菌(VA)；再次扩增后的样品检测 Ct 值≥45，则可判定该样品不含有溶藻弧菌(VA)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