

鱼病毒性神经坏死病毒（VNNV）核酸检测试剂盒（PCR-荧光法）

操作说明书

【产品名称】

通用名称：鱼病毒性神经坏死病毒（VNNV）核酸检测试剂盒（PCR-荧光法）

英文名称：VNNV Real-time PCR Kit

【包装规格】

48 头份/盒

【预期用途】

本品适用于对鱼、养殖水体中、养殖土壤中、饲料等中病毒性神经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，采用病毒性神经坏死病毒（VNNV）的一对特异性引物和一条特异性荧光探针，实现对鱼、养殖水体中、养殖土壤中、饲料等中病毒性神经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、VNNV_PCR 反应液	1.0ml×1 支
2、VNNV_ 阳性对照	50μl×1 支
3、VNNV_ 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		45 个循环
4	60℃	30sec	Fam（勾选）	

荧光素设定为 FAM(该通道指示病毒性神经坏死病毒检测情况)，在反应程序的第二步末读取荧光值。

【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 ≤ 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：

病毒性神经坏死病毒 (FAM)	结果判定
≤ 35.0	病毒性神经坏死病毒 阳性
>35.0 或 ≤ 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	病毒性神经坏死病毒 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