

# 猪圆环病毒 II 型 (PCV2) 核酸检测试剂盒 (荧光定量 PCR 法)

## YA-PCR-001

### 【名称】

猪圆环病毒 II 型 (PCV2) 核酸检测试剂盒 (荧光定量 PCR 法)

### 【适用范围】

本产品用于猪血清、组织样 (脾、肺、淋巴结等) 等样本中检测猪圆环病毒 II 型 (PCV2) 核酸。

### 【检测原理】

本试剂盒基于荧光定量 PCR 方法, 设计特异性引物和 Taqman 探针, 通过检测样本中的 PCV2 核酸, 用于 PCV2 的鉴别、诊断及流行病学调查。

### 【产品组成】

组分	规格	数量
酶反应液	625 $\mu$ L	1
引物探针混合液	375 $\mu$ L	1
阳性对照	100 $\mu$ L	1
阴性对照	100 $\mu$ L	1

【规格】 50 检份/盒

### 【适用仪器】

西安天隆 Gentier 系列、杭州博日 FQD 系列、上海宏石 SLAN 系列、ABI 系列荧光定量 PCR 仪。

### 【样本处理】

参照病毒核酸提取试剂盒说明书进行。

### 【操作步骤】

**注：阳性对照和阴性对照不需要进行核酸提取！**

#### 1、试剂准备 (试剂准备区)

取出试剂盒中的各组分, 室温放置, 待其温度平衡至室温后, 充分融化混匀, 并瞬时离心以去除管壁附着液体, 取 N 个 (N=待测样本数量+阴性对照+阳性对照+误差预留量) PCR 反应管, 根据下表配制扩增体系:

组分	酶反应液	引物探针混合液
----	------	---------

用量	12.5 μL/份×N	7.5 μL/份×N
----	-------------	------------

在无茵离心管中加入上述试剂，充分混匀后瞬时离心，按照 20 μL/管分装量将试剂分装至 PCR 反应管中，盖上盖子瞬时离心并转移至样本处理区备用。

2、样本提取（样本处理区）

将待测样本进行核酸提取，具体操作步骤按照核酸提取试剂盒说明书进行。

3、加样（样本处理区）

向含有 PCR 预混液的反应管中，分别加入提取的待测核酸、阴性对照、阳性对照各 5μL，盖紧管盖轻轻混合，瞬时离心后将 PCR 反应管转移至检测区。

4、PCR 扩增（检测区）

(1) 取样本处理区准备好的 PCR 反应管，放置在实时荧光定量 PCR 仪样品槽相应位置，并记录放置顺序。

(2) 按下表设置仪器核酸扩增相关参数进行 PCR 扩增，FAM 通道采集荧光信号，设置循环条件如下：

步骤	温度	时间	循环数
1 UNG 酶反应	37°C	2min	1
2 预变性	95°C	30s	1
3 变性	95°C	10s	45
退火，延伸，荧光采集	60°C	30s	
4 仪器冷却	25°C	10s	1

设置完成后，保存文件，运行程序。

注：荧光信号采集设定第二阶段退火时：对于 ABI 荧光 PCR 仪，选择 FAM 通道读取检测结果，淬灭基团选择“None”；对于其它品牌的荧光 PCR 仪，不需要去设置。

**【质量控制】**

试剂盒提供阳性对照和阴性对照，同一次实验必须同时满足下表要求，否则，实验无效，需重新进行。

对照	检测通道	正常结果（Ct 值）
阴性对照	FAM	无典型 S 型曲线，无 Ct 值
阳性对照	FAM	具有典型 S 型曲线，Ct 值<40

**【检测结果说明】**

(1) 阴性：检测结果无 Ct 值；且无典型 S 型扩增曲线；

(2) 阳性：扩增曲线呈典型 S 型且  $Ct \leq 42$ ；

(3) 可疑：扩增曲线呈典型 S 型且  $42 < Ct < 45$ ，判定为可疑样本，需重新提取核酸后进行检测，若复检样本扩增曲线呈典型 S 型且  $42 < Ct < 45$ ，判定为核酸阳性，否则判定为阴性。

### 【检测方法的局限性】

(1) 本试剂盒仅用于辅助诊断，不作为诊断检测的唯一依据，应结合病猪的发病症状/体征、病史、其他实验室检查及治疗反应等情况综合考虑；

(2) 有关假阳/阴性结果的可能性分析

样本检测结果与样本收集、处理、运送及保存质量有关，其中任何失误都将会导致结果不准确，可能出现假阴性结果；如果样本处理时有交叉污染，可能出现假阳性结果。

### 【注意事项】

(1) 本试剂盒仅用于科研使用，使用前请仔细阅读本说明书。

(2) 试验前请熟悉和掌握需使用仪器的操作方法和注意事项，对每次试验进行质量控制。

(3) 实验室管理应严格按照 PCR 基因扩增实验室的管理规范，实验人员必须进行专业培训；实验过程严格分区进行，所用消耗品应灭菌后一次性使用，实验操作的每个阶段使用专用的仪器和设备，各区各阶段用品不能交叉使用。

(4) 所有检测样品应视为具有传染性物质，实验过程中穿工作服，戴一次性手套并经常替换手套以及避免样品间的交叉污染；样本操作、废弃物处理均需符合相关法规要求。

(5) 所有的试剂在使用前，均需在室温下充分融化、混匀后使用。

(6) 实验中用过的吸头请直接打入盛有 10%次氯酸钠的废物缸内，并与其他废弃物品一同丢弃。工作台及各种实验用物品经常用 10%次氯酸钠、75%酒精和紫外灯进行消毒。

### 【贮藏与有效期】

-20℃避光保存，有效期 12 个月