

# 虾黄头病毒 (YHV) 核酸检测试剂盒 (RT-PCR-荧光法)

## 操作说明书

### 【产品名称】

通用名称: 虾黄头病毒 (YHV) 核酸检测试剂盒 (RT-PCR-荧光法)

英文名称: Yellow Head Virus RT- Real-time PCR Kit

### 【包装规格】

48 头份/盒

### 【预期用途】

本品适用于对虾、养殖水体中、养殖土壤中、饲料等中虾黄头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, 采用虾黄头病病毒 (YHV) 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、饲料等中虾黄头病病毒病原体的快速检测。

### 【主要组成成分】

组分	48 头份/盒
1、YHV_RT-PCR 反应液	1.0ml×1 支
2、YHV_ 阳性对照	50μl×1 支
3、YHV_ 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(该通道指示虾黄头病病毒检测情况), 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 $\leq 40.0$ 。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：

虾黄头病病毒( FAM)	结果判定
$\leq 35.0$	虾黄头病病毒 <b>阳性</b>
$>35.0$ 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。
$>40.0$	虾黄头病病毒 <b>阴性</b>

**【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