

猫疱疹病毒 1 型和猫杯状病毒联合快速实时荧光 PCR 检测试剂盒 使用说明书

【用途】

用于猫结膜拭子、鼻拭子、口腔拭子等样品中猫疱疹病毒 1 型 (*Feline herpesvirus type 1*, FHV-1) 和猫杯状病毒 (*Feline calicivirus*, FCV) 的核酸检测。

【试剂盒组成】

名称	成分	数量	贮藏条件
单份核酸提取试剂耗材 (10 套)	一次性无菌棉拭子	1 支	室温
	无菌生理盐水	1 支	
	RD 吸附柱和收集管	1 套	
	RD 消化液	1 支	
	1.5 mL 离心管	1 支	
核酸提取液	RD 结合液	3.6mL	室温
	RD 洗涤液	12 mL	
	RD 洗脱液	1mL	
-20℃ 试剂	FHV-1 反应管	10 支	-20℃
	FCV 反应管	10 支	
	RD 蛋白酶 K	1 支	

【需要自备的物品】

1. 仪器：水浴锅、涡旋震荡器、离心机、V8 实时荧光定量 PCR 仪、-20℃ 冰箱、可调移液器。
2. 耗材：板架、吸头。

【操作步骤】

1. 样品采集与制备

将无菌棉拭子用无菌生理盐水沾湿，在口腔黏膜、结膜囊内、或鼻黏膜处翻转涂擦，采集样本。再将拭子插入无菌生理盐水（将多余的掰断，盖好盖子），涡旋震荡混匀，取上清液 200 μ L 于 RD 消化液管中，再加入 20 μ L RD 蛋白酶 K(-20℃)，混匀，56℃ 水浴 9min，每 3min 涡旋震荡一次。

2. 病毒核酸 (RNA 和 DNA) 的提取

2.1 向消化过的液体中加入 300 μ L RD 结合液，颠倒混匀，将管中液体用移液器吸入吸附柱中（吸附柱要套上收集管，吸液时尽量不要吸入悬浮杂质，以免离心时堵塞吸附柱），10000 rpm 离心 30 s。

2.2 弃去收集管中液体，吸取 RD 洗涤液 500 μ L 加入吸附柱，10000 rpm 离心 30 s。

2.3 弃去收集管中液体，吸取 RD 洗涤液 500 μ L 加入吸附柱，10000 rpm 离心 2min（拿出时请注意避免吸附柱碰到下面的液体）。

2.4 将吸附柱移入 1.5 mL 离心管中，向吸附柱中央加入 50 μ L RD 洗脱液，10000 rpm 离心 30 s，离心管中液体即为模板核酸 (RNA 和 DNA)。

3. 操作方法

取反应管置于室温融化。

用移液器吸取模板 2 μ L 加入 FHV-1 反应管中，用离心机离心 30s，放入机器中，使用程序 FHV-1 进行扩

增检测。

用移液器吸取模板 5 μ L 加入 FCV 反应管中，用离心机离心 30s，放入机器中，使用程序 FCV 进行扩增检测。

【结果判定】

根据分析，Ct 值 \leq 36 并出现特定的扩增曲线为阳性；Ct 值 $>$ 36 时，并出现特定的扩增曲线，需重新取样提取核酸，扩增后进行结果判定，如仍出现特定的扩增曲线，可判定为阳性；某些未呈现特定扩增曲线，但本底较高的样品，应为阴性。

【注意事项】

1. 本品仅供体外诊断用。
2. 为确保检测结果准确，请严格按照说明书操作。
3. 试剂盒内物品均只能使用一次，请勿重复使用。
4. 若无涡旋震荡器，可用手弹底部或来回颠倒，使液体充分混匀。
5. 抗凝血及粪便样品，加入吸附柱前，10000 rpm 离心 30 s。
6. 所有用于检测的废弃物品均应放入含消毒液的废物缸内，浸泡消毒；实验结束后立即用 1% 次氯酸钠或 75% 酒精消毒工作台。
7. 蛋白酶 K 用之前，10000 rpm 离心 30 s，使液体全部沉于管底，放于冰盒中，吸取液体时移液器吸头尽量在液体表面层吸取，使用后立即放回 -20℃。
8. 实验过程中，尽量避免手和手套接触吸附柱管口和离心管口，进行步骤 2.1 时，若离心管开盖时粘在手上或溅出，应立即更换手套；所有接触病料的物品均应合理处理。
9. 反应管用前，于室温融化，打开时请左右摇动掰至 45°，再用劲打开，避免用力过大将其掰断。
10. 反应管加入模板后，一定要离心，使液体全部置于管底。
11. 反应管使用完后，用起杯器从机器内取出时，插入最后一道棱，不要将反应管打开，避免污染。

【规格】10 头份/盒

【保存及有效期】本品反应管于 -20℃ 避光保存，有效期为 12 个月。其它物品于室温保存。

【生产企业】哈尔滨元亨生物药业有限公司

【地址】黑龙江省哈尔滨市利民开发区珠海路 1 号