

鸡毒支原体/鸡传染性支气管炎/鸡传染性喉气管炎/新城疫病毒 核酸检测试剂盒（荧光定量PCR法）

- 【产品名称】鸡毒支原体/鸡传染性支气管炎/鸡传染性喉气管炎/新城疫病毒核酸检测试剂盒（荧光定量PCR法）
- 【适用范围】本产品用于血清样品、咽喉拭子、泄殖腔拭子样、组织样品（气管、肺、脑、肠及包括内容物、肝、脾、肾、心等组织）以及环境样品中鸡毒支原体/鸡传染性支气管炎/鸡传染性喉气管炎/新城疫病毒的检测。
- 【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，通过检测样本中的鸡毒支原体/鸡传染性支气管炎/鸡传染性喉气管炎/新城疫病毒核酸，用于鸡毒支原体/鸡传染性支气管炎/鸡传染性喉气管炎/新城疫病毒的诊断及流行病学调查等。

【产品组成】	组 分	规 格	数 量
	冻干反应体系	8管/条	1
	复溶剂	800μL	1
	阳性对照	500μL	1
	阴性对照	500μL	1

- 【规格】32检份/袋
- 【样本处理】参照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N个（N=待测样本数量+阴性对照+阳性对照）含有冻干反应体系的PCR反应管。

2、样本提取（样本处理区）：将待测样品进行核酸提取，具体操作按照核酸提取试剂盒说明书操作。

3、加样（样本处理区）

可以按照以下两种方法进行加样：

方法一：向含有冻干反应体系的PCR反应管中，分别加入提取的待测核酸、阴性对照、阳性对照各25μL，盖紧管盖轻轻混合，将冻干粉全部溶解后，瞬时离心后将PCR反应管转移至检测区。

方法二：向含有冻干反应体系的PCR反应管（除了要加阴、阳性对照的反应管外）中，先加入20μl的复溶剂复溶，然后加入5μl待测核酸。要加阴性对照、阳性对照的反应管不需要加复溶剂，直接加入25μl配套的阴性对照、阳性对照。盖紧管盖轻轻混合，将冻干粉全部溶解后，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、VIC、ROX和Cy5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	逆转录	50℃	10min	1
2	预变性	95℃	5min	1
3	变性	95℃	10s	40
	退火，延伸，荧光采集	60℃	30s	

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。

【通道与检测指标】	检测通道	检测指标	英文简写
	FAM	鸡毒支原体	MG
	VIC	鸡传染性支气管炎	IBD
	ROX	鸡传染性喉气管炎	ILT
	Cy5	新城疫病毒	NDV

【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)	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<35
	VIC	无典型S型曲线,无Ct值		VIC	具有典型S型曲线, Ct值<35
	ROX	无典型S型曲线,无Ct值		ROX	具有典型S型曲线, Ct值<35
	Cy5	无典型S型曲线,无Ct值		Cy5	具有典型S型曲线, Ct值<35

【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;或Ct值>38

(2) 阳性:扩增曲线呈典型S型且Ct≤38;

通道	检测结果	判定结果	检测结果	判定结果
FAM通道	-	MG 阴性	+	MG阳性
VIC通道	-	IBV阴性	+	IBV阳性
ROX通道	-	ILT 阴性	+	ILT阳性
CY5通道	-	NDV阴性	+	NDV阳性

【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,应结合发病动物的发病症状/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) 本试剂盒仅用于兽医诊断使用,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,并与其他废弃物一同丢弃。

(7) 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】4℃保存,有效期12个月。