

宠物病原体荧光 PCR 检测试剂盒

【产品名称】

通用名称：宠物病原体荧光 PCR 检测试剂盒

英文名称：Pet Pathogens Fluorescent PCR Detection Kit.

【包装规格】

4T/盒；8T/盒

【预期用途】

本试剂盒可针对犬、猫、鸟类、兔类、爬行类等动物样本中的特定病原进行核酸检测，通过荧光 PCR 仪读取的荧光曲线进行定性的结果判定，适用于辅助诊断和流行病学调查。

【检验原理】

本试剂盒基于实时荧光定量 PCR 技术，通过特异性寡核苷酸靶向目标病原的高度保守基因。在对提取的样本核酸进行扩增的过程中，携带荧光报告基团和荧光淬灭基团标记的特异性 TaqMan 探针与目标序列互补配对，高保真 Taq DNA 聚合酶通过 5'→3'核酸外切酶活性降解探针并释放荧光信号，荧光定量 PCR 仪实时采集荧光信号并生成荧光曲线，扩增结束后通过设定阈值来读取 Ct 值，以判断病原体是否存在及其浓度情况。本产品预混了 UNG 酶（尿嘧啶-DNA 糖基化酶），可降解既往扩增产物，消除或降低假阳性风险，同时也内置了内标（IC）基因的检测，可以有效监控样本采样、运输、核酸提取和扩增过程，避免假阴性结果。

【试剂盒组成】

组分名称	规格（4T/盒）	规格（8T/盒）
一次性使用采样器	8 支	16 支
一次性使用病毒采样管	4 管	8 管
自封袋	4 个	8 个
核酸提取或纯化试剂	4 套	8 套
荧光 PCR 检测试剂	4 份	8 份
说明书	1 份	1 份

【储存和有效期】

荧光 PCR 检测试剂应避光保存于-20±5℃；其他组分保存于 2-30℃，有效期为 24 个月，请于有效期内使用。

【样本类型】

唾液、呕吐物、粪便、眼鼻咽拭子、肛拭子、泌尿生殖道拭子、皮肤黏膜病灶拭子、泄殖腔拭子、羽毛、EDTA 抗凝血、胸腹水、脑脊液等。

【样本采集和保存】

拭子样本：使用一次性使用采集器擦拭需要采集的部位或需要蘸取的唾液、呕吐物或粪便，旋转 2-5 周后将拭子头浸入一次性使用病毒采样管中，密封保存，标记样本信息和采集日期。

羽毛样本：选择羽根完整（略带少许组织）的新生羽毛（胸腹部或背部），连根拔取至少 3 根，采集后立即将羽毛置于一次性使用病毒采样管中，密封保存，标记样本信息和采集日期。

EDTA 抗凝血样本：使用合适的采血管采集约 500 μL 的静脉血置于 EDTA

抗凝管中，轻柔混匀 8-10 次，密封保存，标记样本信息和采集日期。

胸腹水或脑脊液样本：取胸腹水或脑脊液不少于 400 μL 置于空白离心管或一次性使用病毒采样管中，密封保存，标记样本信息和采集日期。

样本采集后建议应立即进行核酸提取检测，如需存放，可置于 2~8℃低温保存≤72 小时；-20℃保存期 1 年，-70℃以下长期保存。样品需冷藏运输。

【操作步骤】

1. 核酸提取

1.1 根据需提取的样本数量，取出对应数量的核酸提取或纯化试剂卡盒，按照左棱右弧形的方向置于卡盒固定架上，撕开顶部密封膜；

1.2 将含有采集样本的采样管混匀后，取 200 μL 样本加入到卡盒最左侧的加样孔中；取 200 μL 样本加入到卡盒最左侧的加样孔中；

1.3 取出磁棒套，在仪器的提取界面上按“↓装磁套”键，将磁棒套嵌入磁套位，再按一次“↑装磁套”键，等待磁套位上升；

1.4 将加好样本的卡盒放入卡盒座上，压实后，关闭仓门，按“开始”键和弹出提示的“确认”键，开始自动提取核酸；

1.5 提取结束后，将磁棒套丢弃至自封袋内，并取出卡盒。

2. 核酸扩增

2.1 取出荧光 PCR 检测试剂（液体甩至管底），从卡盒最右侧的核酸孔中吸取 10 μL 核酸溶液至检测试剂中，加样完成后立即盖紧试剂管盖，微离心或轻甩去除气泡后，将试剂管置于扩增仪中。将卡盒使用密封贴条封闭，室温存放，待检测结束后置于自封袋内，丢弃于医疗垃圾桶内处理；

2.2 在扩增界面选择对应的扩增模块（单模块扩增仪无需此步骤）；

2.3 点击“开始实验”，选择检测项目 and 对应孔位，并输入孔位信息，确定后点击“确认并开始”，开始扩增；

2.4 扩增结束后，输入相关信息，生成报告并上传系统。

【结果说明】

Ct 值<16：病原含量极高（+++）；16≤Ct 值<26：病原含量较高（++）；26≤Ct 值<36：病原含量较低（+）；Ct 值≥36：无此病原或病原含量低于检测限（-），需结合临床症状或其他检测指标综合判读；NoCt：无此病原体（-）。

【判读标准】

1. 样本内标有典型 S 型扩增曲线，且 Ct 值<36，判定为内标阳性，可继续按以下标准判读：

a) 样本内标阳性，样本检测病原体为典型 S 型扩增曲线，且 Ct 值<36，判定为阳性；

b) 样本内标阳性，样本检测病原体为典型 S 型扩增曲线，且 36≤Ct 值<40，建议复检确认。若复检结果为典型 S 型扩增曲线，且 CT 值<40，则判定为阳性，否则判定为阴性；

c) 样本内标阳性，样本检测病原体无 Ct 值（NoCt），判定为阴性。

2. 若内标无 Ct 值（NoCt），样本检测病原体为典型 S 型扩增曲线，且 Ct 值<36，则结果判定为检测病原体阳性。由于内标 IC 和其他扩增靶点在同一

PCR 反应体系中进行扩增，二者存在竞争性扩增，高浓度样本的扩增可能会对内标 IC 扩增产生竞争性抑制。

3. 若内标无 Ct 值（NoCt），样本检测病原体无 Ct 值（NoCt），表明本次实验不成功。可能取样或样本提取失败，或存在 PCR 抑制剂，或实验操作失败等，建议用原样本重复实验或重新取样进行检测。

4. 阴性结果解释：本次检测的样本中无相关病原体或其含量低于检测下限。

#### 【注意事项】

1. 本试剂盒的操作人员须经过培训，试剂盒使用前请仔细阅读说明书，在有效期内使用试剂盒；

2. 检测操作所需的移液吸头应一次性使用；

3. 试剂盒中各试剂使用前应将检测试剂完全融化，上机前应注意检查检测试剂管盖是否盖紧，避免扩增异常和污染仪器；

4. 进行检测操作的工作桌面及相关物品应定期用 1%次氯酸钠、75%酒精或紫外灯进行灭菌和消毒；

5. 检测结束后，禁止打开扩增管盖，建议放置于自封袋内，丢弃于医疗垃圾桶内处理；

6. 检测结果仅用于临床医师的辅助诊断。

#### 【企业信息】

深圳市奥斯卡动物医学科技有限公司

企业地址：深圳市南山区南山街道荔湾社区月亮湾大道 2282 号高科集团大楼 616

电话：0755-21600830