

## 水产养殖病害检测系列试剂盒 Q&A:

### 1. 取样随机误差性问题

- (1) 病毒感染量低情况下，可能部分虾体带病毒，部分虾体不带病毒，用取样袋大量取样后，研磨混匀，可以提高带病毒虾体被采集的概率；
- (2) 大量取样碾磨后，病毒被有稀释的可能，需要根据实际情况酌情增加取样量。可以考虑一份样本，分多个取样袋取样，进行多份 PCR 检测。

### 2. 样本的运输及保存

鲜活虾苗即可进行核酸提取效果最好，若无法即刻使用，建议-20℃冷冻保存（*可选*：可同时加入酒精延长保存时间，加入酒精的样本，使用前应离心后吸弃酒精），一周内进行核酸提取。

### 3. 取样量问题

- (1) 少量样本（30-50mg）直接放入离心管，碾磨，加入裂解液裂解，涡旋震荡混匀或上下摇匀，使样品完全分散至裂解液中；
- (2) 样本量较大情况下，放入取样袋充分碾磨，使样本混合均匀，取 30-50mg 柱离心管，加入裂解液，涡旋震荡混匀或上下摇匀，使样品完全分散至裂解液中；

### 4. 离心柱使用问题

- (1) 裂解液中加入样本后，有可能会出液体过于粘稠的状况，若用这种粘稠液体进行离心会堵塞离心柱，这种情况下建议：继续加入适量裂解液，边加边摇匀，直至粘稠度适当，不影响离心柱的使用。
- (2) 离心柱的最大装液量为 750ul，若裂解完成的样本离心后体积超过 750ul，建议分多次，用同一离心柱进行离心，每次离心弃收集管液体。

### 5. 提取到的核酸模板如何储存

提取到的核酸模板应立即用于 PCR 扩增检测，建议剩余核酸模板 -20 °C 储存用于复检，RNA 病毒核酸模板储存不得超过 3 天 (TSV/YHV/IMNV/CMNV)，DNA 病毒、细菌、肝肠胞虫核酸模板储存不得超过 1 月，长时间储存核酸浓度降低严重。

## 6. PCR 加样要求

控制加样时间，提前设置反应程序，准备好所有试剂、耗材（包括需要的各种冻干 PCR 试剂、复溶液、核酸模板、阴阳性对照模板、枪头等），并用标签笔对 PCR 管做好标记，所有准备工作做好之后，按说明书要求加入复溶液和核酸模板，立即上机检测，保证加入复溶液、加入核酸模板、上机三个操作步骤之间没有其它时间间隙。

注：1、加样完成后不可用手接触 PCR 管底；

2、冻干试剂本身疏松多孔结构，在复溶过程中产生的微气泡容易粘在管壁，上机前，振荡器涡旋震荡或手指轻弹 PCR 管，然后 1,0,000rpm 以上高速离心 30s-1min，然后上机检测。

## 7. PCR 扩增仪使用

- (1) 使用前检查网络连接是否正常，确保数据能够正常传输。
- (2) 固定与 PCR 扩增仪进行数据传输的电脑，取消电脑自动休眠模式，防止数据丢失。