



猪细小病毒荧光 PCR 检测试剂盒

使用说明书 VER 1.1

用途

本试剂盒采用实时荧光 PCR 方法检测猪等畜禽的扁桃体、淋巴结和脾脏等组织病料和疫苗、血液等液体病料中的猪细小病毒 (PPV) 的 DNA。适用于猪细小病毒的诊断、检测和流行病学调查。试剂盒为 ALL-READY PCR BEADS 全预混冻干体系，此体系包含荧光 PCR 检测所需的核酸扩增酶、反应 buffer 及特异性引物和探针，加入提取的样品 DNA 并补足 20 μ L 体积的水后即可直接进行荧光 PCR 检测。

原理

在 Taq 酶的作用下，经高温变性、中温退火及延伸的循环，使特异 DNA 片段的拷贝数放大，经荧光素标记的探针与扩增的 DNA 杂交，利用 Taq 聚合酶的 5' \rightarrow 3' 外切活性，使荧光探针的报告基团与淬灭基团分离，发出特异性荧光信号，利用荧光 PCR 仪检测特异性荧光信号，根据样品 Ct 值的大小及扩增曲线的形成情况判定结果。

运输、保存

室温运输。-20 $^{\circ}$ C 保存期 18 个月。

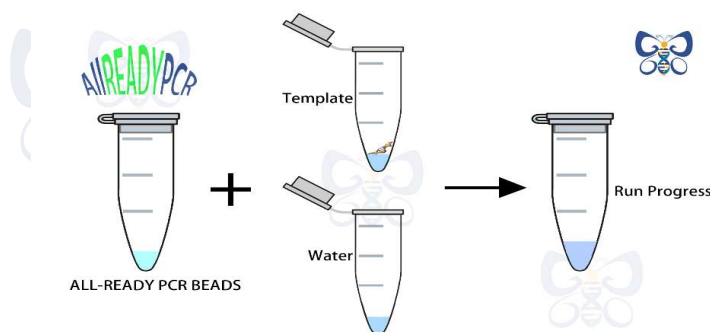
温馨提示：试剂为真空包装，内含干燥剂，请务必保持内容物干燥，开封后请立即使用或于-20 $^{\circ}$ C 保存。

试剂盒组成

PCR 检测试剂盒	包装	规格
猪细小病毒荧光 PCR 检测试剂	冻干颗粒(6X8 联管)	48 反应
阳性对照	冻干颗粒(1X8 联管)	20 μ L X 8 管(仅含对照 DNA)
阴性对照/ RNase free H ₂ O	1.5mL 离心管(2 管)	1mL X 2 管

操作步骤

1. 操作示意图





2. 扩增体系配制

试剂	用量
猪细小病毒荧光 PCR 检测试剂	1 管
提取样品 DNA	2 μ L
RNase free H ₂ O	18 μ L
反应总体积	20 μ L

阳性对照使用方法： 阳性对照为冻干 DNA, 每管加 20 μ L RNase free H₂O 稀释后, 直接取 2 μ L 做对照样品 DNA 用。也可每管作为一个样品进行核酸提取后再取 2 μ L 加样。

3. PCR 反应循环条件设置

步骤	循环数	温度	时间	荧光通道
Program	cycles	Temperature	Incubation	Acquisition Target
1	1	94	2:00	
2	5	96	0:30	
		62	0:45	
		72	0:30	
		94	0:10	
3	40	60	0:35	收集 FAM 荧光

结果说明

1 结果分析条件设定

读取检测结果。阈值设定原则以阈值线刚好超过正常阴性对照品扩增曲线的最高点, 不同仪器可根据仪器噪音情况进行调整。

2 试验有效判定

- 2.1 阴性对照无 Ct 值并且无扩增曲线。
- 2.2 阳性对照的 Ct 值应小于 28, 并出现特定的对数扩增曲线。
- 2.3 如阴性对照和阳性对照不同时满足以上条件, 此次实验视为无效。

3 结果描述及判定

3.1 阴性判定

无 Ct 值并且无扩增曲线, 表明猪细小病毒核酸阴性。

3.2 阳性判定

Ct 值 \leq 30, 且出现特定的扩增曲线, 表明猪细小病毒核酸阳性。

3.3 可疑判定

Ct 值大于 30.0 小于 40.0 的样本判为可疑, 建议重做。重做结果有对数扩增曲线并且 Ct 值小于 40, 判为样本阳性, 表明猪细小病毒核酸阳性; 否则判为阴性。