

# 猪流行性腹泻病毒（PEDV）RT-qPCR 检测试剂盒（UDG plus）

## 产品简介

猪流行性腹泻病毒（PEDV）RT-qPCR 检测试剂盒包含了猪流行性腹泻病毒（PEDV）反应液（含引物探针），酶 Mix，阴性对照（RNase-free H<sub>2</sub>O），阳性对照和内标。本产品含有 UDG 酶，可有效防止气溶胶污染风险，适用于猪流行性腹泻病毒（PEDV）感染的辅助诊断。

## 产品信息

货号	11896ES50 / 11896ES60 / 11896ES80 / 11896ES92
规格	50 T / 100 T / 1000 T / 10000 T

## 组分信息

组分编号	组分名称	11896ES50 (50 T)	11896ES60 (100 T)	11896ES80 (1000 T)	11896ES92 (10000 T)
11896-A	PEDV RT-qPCR mix (Primer&Probe)	850 μL	1.7 mL	17 mL	170 mL
11896-B	PEDV Enzyme Mix	100 μL	200 μL	2 mL	20 mL
11896-C	Negative Control	250 μL	500 μL	5 mL	50 mL
11896-D	Positive Control	250 μL	500 μL	5 mL	10 mL
11896-E	IC	50 μL	100 μL	1 mL	10 mL

**【注】** 利用荧光定量 PCR 的检测方法，检测和区分环境样本中的猪流行性腹泻病毒（PEDV）。

## 储存条件

- 1、-25~-15℃保存，有效期 2 年。
- 2、11896-A 避光保存。

## 使用说明

### 1. 反应体系

组分	体积（μL）
11896-A	17
11896-B	2
11896-E	1
模板	1-10
RNase Free H <sub>2</sub> O	to 30

**【注】** 1、在监控提取过程时，推荐在样本中加入内标模板进行提取验证，通常是 100 μL 样本加入 1 μL 内标进行提取，同时在反应体系中将内标组分的 1 μL 更换为 DEPC 水。

2、采用核酸提取试剂盒提取的各类样本中的病毒核酸，或自动化提取仪提取的各类样本中的病毒核酸，提取后的核酸于-20℃保存。

按上述体系配置反应液，建议最后加入模板，防止交叉污染。加入模板后，密封反应管，瞬时离心。每次实验均应设置阳性对照、阴性对照。将所有 PCR 扩增管放在荧光 PCR 仪上进行检测，FAM 通道采集目标荧光信号，Cy5 通道采集内标荧光信号。

## 2. 参考扩增程序

### (1) 常规参考扩增程序

循环步骤	温度	时间	循环数
反转录	50°C	10 min	1
预变性	95°C	5 min	1
变性	95°C	15 sec	45
退火/延伸	60°C	30 sec	

### (2) 快速参考扩增程序（以 ABI Quant Studio 5 为例）

循环步骤	温度	时间	循环数
反转录	50°C	3 min	1
预变性	95°C	1 min	1
变性	95°C	3 sec	45
退火/延伸	60°C	10 sec	

## 3. 适用机型

包含但不限于以下仪器：

**Thermo Scientific:** ABI 7500, ABI Quant Studio 5;

**上海宏石医疗科技:** SLAN-96S。

## 4. 结果分析

### 1. 试剂盒有效性判定

11896-D 阳性对照, Cy5 通道内标稳定起峰, FAM 通道 Ct 值应  $Ct \leq 38$  且出现特异性扩增曲线;

11896-C 阴性对照, Cy5 通道内标稳定起峰, FAM 通道应无 Ct 值或  $Ct \geq 38$  且无特异性扩增曲线。

### 2. 检测结果的判定

根据下表对检测结果进行判定

序号	FAM	Cy5	结果判定
1	$Ct \geq 40$ 或 UNDET	稳定起峰	阴性
2	$Ct \leq 38$	稳定起峰	阳性
3	$38 < Ct \leq 40$	稳定起峰	需重新测试, Ct 值仍在此区间且有正常的扩增曲线, 则判断为阳性, 否则判断为阴性
4	$Ct \leq 38$ 、 $38 < Ct \leq 40$ 或 $Ct > 40$	不起峰	测试无效

## 注意事项

1. 本产品仅作科研用途。
2. 试剂盒不同组分间不得交叉, 防止污染。
3. PCR 产物均应合理处理, 以免造成污染。
4. 严格按照使用说明书进行操作。
5. 按要求贮藏, 冷链运输; 并在有效期内使用。