

非洲猪瘟病毒双重（p72/MGF 基因）荧光定量 PCR 检测试剂盒说明书

兽用

【兽药名称】

通用名称 非洲猪瘟病毒双重（p72/MGF 基因）荧光定量 PCR 检测试剂盒
商品名称 无
英文名称 African swine fever virus（p72/MGF gene）Dual Real-Time PCR Test Kit
汉语拼音 Feizhouzhuwenbingdu Shuangchong（p72/MGF Jiyin）Yingguangdingliang
PCR Jianceshijihe

【主要成分与含量】

编号	试剂盒组分	装量
ASFV 01-qw/m50	荧光 PCR 反应液	625 μ l/管
ASFV 02-qw/m50	引物混合液	375 μ l/管
ASFV 03-qw/m50	阳性对照	500 μ l/管
NC	阴性对照	500 μ l/管

【作用与用途】 用于猪血液、脾脏、淋巴结、肾脏组织样品中的非洲猪瘟病毒 p72 基因和 MGF 基因的检测。

【用法与判定】

1 用法

1.1 样品处理

采用 DNA 提取试剂盒或自动核酸提取仪提取各类样品中的待检 DNA，低温保存。

1.2 扩增试剂准备 根据检测样品数量计算配液量，每个 PCR 反应含有 12.5 μ l 荧光 PCR 反应液和 7.5 μ l 引物混合液，吹打混匀后分装到 PCR 反应管中，每管 20 μ l。依次取 5 μ l 阴性对照、5 μ l 待检 DNA 和 5 μ l 阳性对照（充分混匀）分别加到不同的 PCR 反应管中，加样结束后应盖紧 PCR 反应管，每个 PCR 反应管内液体的体积为 25 μ l。

1.3 PCR 反应 加样后将 PCR 反应管瞬时离心，然后置于荧光 PCR 仪内，进行如下反应：

1) 95 $^{\circ}$ C 预变性 20 秒；2) 95 $^{\circ}$ C 变性 10 秒，58 $^{\circ}$ C 延伸 20 秒，共 40 个循环；设置 58 $^{\circ}$ C 收集 FAM 与 VIC 荧光信号。

2 判定

2.1 结果的有效性

2.1.1 FAM 信号和 VIC 信号通道下，阳性对照同时应出现特异性扩增曲线且 Ct 值 < 35，

且阴性对照无特异性扩增曲线或无 Ct 值，则试验成立；否则试验不成立。

2.2 结果判定

2.2.1 非洲猪瘟病毒 p72 基因 FAM 信号通道下样品的扩增结果有典型的扩增曲线且 Ct 值 < 40 时可判定为非洲猪瘟病毒 p72 基因阳性；当样品的扩增结果无 Ct 值或背景信号之下时，判定为非洲猪瘟病毒 p72 基因阴性；样品的扩增结果有典型的扩增曲线且 Ct 值 ≥ 40 时可判定为非洲猪瘟病毒 p72 基因可疑，需重新采样检测，如仍是可疑，可判定为非洲猪瘟病毒 p72 基因阳性。

2.2.2 非洲猪瘟病毒 MGF 基因 VIC 信号通道下样品的扩增结果有典型的扩增曲线且 Ct 值 < 40 时可判定为非洲猪瘟病毒 MGF 基因阳性；当样品的扩增结果无 Ct 值或背景信号之下时，判定为非洲猪瘟病毒 MGF 基因阴性；样品的扩增结果有典型的扩增曲线且 Ct 值 ≥ 40 时可判定为非洲猪瘟病毒 MGF 基因可疑，需重新采样检测，如仍是可疑，可判定为非洲猪瘟病毒 MGF 基因阳性。

【注意事项】

- (1) 使用本试剂盒的实验室应严格按照国家有关规定进行管理。
- (2) 荧光 PCR 反应液对温度敏感容易失活，使用时应置于冰上，使用后应立即冻存，冻融次数不宜超过 3 次。
- (3) 扩增试剂准备时应按阴性对照、待检核酸、阳性对照的顺序加入 PCR 反应管中。
- (4) 吸取反应液时，应尽量避免产生气泡；加样结束后应盖紧反应管，以免液体蒸发造成结果不准确。
- (5) 处理样品用器械及废弃物物品应高压灭菌。检测过程中使用过的吸头，应直接打到盛有 10% 84 消毒液的带盖废物缸内。检测结束的 PCR 反应管，严禁开盖不得高压处理。
- (6) 工作台及各种实验用品应定期清洁并用 10% 84 消毒液或紫外灯进行防污染处理。
- (7) 各区域物品均为专用，不得交叉使用，以免污染。检测结束后，应立即对工作台进行清洁。
- (8) 严禁使用超过有效期限的试剂；不同批号的试剂请勿混用。

【规格】 50 检份/盒

【贮藏与有效期】 -20℃以下冷冻保存，有效期 15 个月。

仅供兽医诊断使用