

## 非洲猪瘟病毒荧光 PCR 检测试剂盒（一步法）说明书

批准文号：兽药生字 154028911

兽用

### 【兽药名称】

通用名 非洲猪瘟病毒荧光 PCR 检测试剂盒（一步法）  
商品名 无  
英文名 African Swine Fever Virus Real-time PCR Test Kit（One-step）  
汉语拼音 Feizhouzhuwenbingdu Yingguang PCR Jiance Shijihe（Yibufa）

### 【主要成分与含量】

编号	试剂盒组分	装量	用法
ASFV 01-qf50	缓冲液 B1	5ml/瓶	直接使用
ASFV 02-qf50	缓冲液 B2	5ml/瓶	直接使用
ASFV 03-qf50	PCR 反应液	900 $\mu$ l/管	直接使用
ASFV 04-qf50	阳性对照	1ml/管	直接使用
ASFV 05-qf50	阴性对照	1ml/管	直接使用

**【作用与用途】** 用于全血、血清、血浆、淋巴结、脾脏、肾脏、扁桃体和肌肉等样品中的非洲猪瘟病毒核酸的检测。

### 【用法与判定】

#### 1 用法

##### 1.1 样品处理

1.1.1 全血、血清、血浆直接进行下一步试验。淋巴结、脾脏、肾脏、扁桃体和肌肉等组织样品取 0.1~0.2g，置研钵充分研磨，加入 10 倍体积约 1~2ml 生理盐水，混匀；或置研磨管中，加入 10 倍体积约 1~2ml 生理盐水及研磨珠，用组织研磨仪匀浆。以 5000 转/分钟离心 5 分钟，留上清，即为组织匀浆液。

1.1.2 取 1.5ml 离心管加入 100 $\mu$ l 缓冲液 B1，每管分别加入 10 $\mu$ l 全血（EDTA 抗凝剂）或 20 $\mu$ l 组织匀浆液、血清、血浆样品、阳性对照和阴性对照混匀。室温 3 分钟内涡旋混匀 3~5 次。

1.1.3 每管加入 100 $\mu$ l 缓冲液 B2，涡旋混匀，12000 转/分钟离心 1 分钟，上清为待检核酸。

1.2 扩增试剂准备 取 18 $\mu$ l PCR 反应液至 PCR 反应管；依次分别加入 2 $\mu$ l 阴性对照、样品和阳性对照待检核酸，盖紧管盖，每个反应管内反应体积为 20 $\mu$ l。

1.3 将 PCR 反应管瞬时离心，置荧光 PCR 仪内，进行如下反应：

1) 95℃ 预变性 20 秒；2) 95℃ 变性 10 秒，58℃ 延伸 20 秒，共 40 个循环；设置 58℃ 收集 FAM 荧光信号。

## 2 判定

### 2.1 试验成立条件

阳性对照 Ct 值应 $<35$  且出现特异性扩增曲线，阴性对照应无 Ct 值或 Ct 值 $\geq 40$  且无特异性扩增曲线，试验结果有效；否则应重新进行试验。

### 2.2 结果判定

样品 Ct 值 $\leq 37$  且出现特异性扩增曲线，判为阳性；无 Ct 值且无特异性扩增曲线，判为阴性；当  $37 < \text{Ct 值} < 40$  时判为可疑，应重新提取样品核酸进行检测，若 Ct 值仍 $< 40$ ，则判为阳性，若无 Ct 值且无特异性扩增曲线，判为阴性。

**【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）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，每盒反应液冻融次数不宜超过 3 次。

（3）缓冲液 B1、B2 使用前融化恢复至室温并充分摇匀，融化恢复至室温的缓冲液 B1、B2 可室温保存。

（4）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。

（5）吸取反应液时，应避免产生气泡；加样结束后应盖紧管盖，以免液体蒸发。

（6）处理样品用器械及废弃物品应高压灭菌。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。

（7）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。

（8）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。

（9）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】** （1）10 检份/盒 （2）25 检份/盒 （3）50 检份/盒 （4）100 检份/盒

**【贮藏与有效期】** -20℃ 以下冷冻保存，有效期 12 个月。

**仅供兽医诊断使用**