

非洲猪瘟病毒荧光 PCR 检测试剂盒说明书

批准文号：兽药生字 154028912

兽用

【兽药名称】

通用名 非洲猪瘟病毒荧光 PCR 检测试剂盒

商品名 无

英文名 African Swine Fever Virus Real-time PCR Detection Kit

汉语拼音 Feizhouzhuwenbingdu Yingguang PCR Jiance Shijihe

【主要成分与含量】

组份	规格
荧光 PCR 预混液	900 μ l/管 \times 1 管
阳性对照	100 μ l/管 \times 1 管
阴性对照	100 μ l/管 \times 1管
说明书	1份

【作用与用途】 用于全血、血清、淋巴结、脾脏、肾脏、扁桃体、肺脏、肌肉、血粉、环境样品等样品中非洲猪瘟病毒核酸的检测。

【用法与判定】

1 用法

1.1 样品采集及处理

1.1.1 活猪样品 无菌采集抗凝血或血清 5ml。2~8 $^{\circ}$ C低温运至实验室用于检测。

1.1.2 病死猪剖检样品或屠宰场剖检样品 无菌采集死猪的脾脏、肺脏、肾脏、扁桃体、淋巴结、肌肉等组织样品。2~8 $^{\circ}$ C低温运至实验室用于检测。

1.1.3 病猪污染的周边环境 采集与病猪相关场所的粪便、污水样品。2~8 $^{\circ}$ C低温运至实验室用于检测。

1.2 样品处理方法

1.2.1 全血、血清样品处理方法 直接取 200 μ l 全血、血清进行核酸提取。

1.2.2 淋巴结、脾脏、肾脏、扁桃体、肺脏、肌肉等组织样品处理方法 取适当大小的组织块放入盛有 PBS 缓冲液的研磨管中，震荡研磨，制成约 10%的组织匀浆液，5000 转/分钟离心 5 分钟，取 200 μ l 上清液进行核酸提取。

1.2.3 粪便、血粉样品处理方法 取适量的粪便、血粉放入盛有 PBS 缓冲液的研磨管中，震荡研磨，制成约 10%的匀浆液，5000 转/分钟离心 5 分钟，取 200 μ l 上清液进行核酸提取。

1.2.4 污水样品处理方法 摇匀后，取 200 μ l 污水进行核酸提取。

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

1.4 PCR 扩增 将试剂盒置室温使荧光 PCR 预混液、阴性对照和阳性对照完全融解，并混匀。取 18 μ l 荧光 PCR 预混液至每个反应管内，然后加 2 μ l 所提取的样品核酸，每个反应总体积为 20 μ l。每次检测应设立阳性对照和阴性对照。在荧光 PCR 仪上进行扩增检测。

1.5 反应程序 50 $^{\circ}$ C 孵育 2 分钟，95 $^{\circ}$ C 预变性 5 分钟；95 $^{\circ}$ C 变性 15 秒，60 $^{\circ}$ C 退火延伸 1 分钟，45 个循环，在每一循环的 60 $^{\circ}$ C 时收集 FAM 荧光信号。

2 判定

2.1 阳性对照 Ct 值应 <30 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 被检样品 Ct 值 \leq 38 且出现特异性扩增曲线，判为阳性；当无 Ct 值或 Ct 值 \geq 40，判为阴性；当 38 < Ct 值 < 40 且出现特异性扩增曲线，判为疑似。对疑似样品，模板量加倍（4 μ l）进行复检 2 次，有 1 次出现 Ct 值 < 40 且出现特异性扩增曲线即判为阳性，否则判为阴性。

【注意事项】 （1）PCR 检测的每一步都应在专门区域或地点进行。

（2）使用前应将荧光 PCR 预混液、阴性对照和阳性对照完全融化，充分振荡混匀，瞬时离心，尽量吸取液体上层。

（3）试剂盒不同组间不得交叉，防止污染。

（4）避免反复冻融。

（5）PCR 产物均应合理处理，以免造成污染。

（6）严格按照使用说明书进行操作。

（7）按要求贮藏，冷链运输；并在有效期内使用。

【规格】 50 次/盒

【贮藏与有效期】 -20 $^{\circ}$ C 以下保存，有效期为 12 个月。

仅供兽医诊断使用