

旋达®R1 动物病害检测系列

非洲猪瘟病毒 (ASFV) 核酸检测试剂盒 (PCR-荧光探针法)

请于-20°C条件下保存, 有效期15个月

◆ 产品说明

旋达®R1 本试剂盒适用于动物病料、鼻咽拭子、血液等样品中非洲猪瘟病毒的特异检测, 适用于非洲猪瘟病毒 (ASFV) 的辅助诊断、监测及流行病学调查, 检测结果仅供临床参考, 检出限为 10^2 copies/ μ L。

◆ 产品组成 (48 测试)

036012M	
试剂	含量
A-ASFV-P	1000 μ L × 1支
NG-P	100 μ L × 2支
PG-ASFV-P	100 μ L × 1支

◆ 适用仪器

ABI 7500、CFX 96、Mx 3005P、LineGene9600 等实时荧光 PCR 仪。

◆ 自备耗材和仪器

①冰盒; ②移液器 (0.5-10 μ L, 10-100 μ L, 100-1000 μ L) 及配套灭菌吸头; ③离心机; ④涡旋混匀器; ⑤金属浴; ⑥均质机、搅拌机或研钵等研磨器具; ⑦电子天平。

◆ 注意事项

1. 本试剂检测灵敏度高。为了防止污染, 实验要分区操作。
 - 1) 第一区: 样本制备区。
 - 2) 第二区: 模板添加区。
 - 3) 第三区: 扩增及产物分析区。

★ 分区之间最好进行物理性隔离, 避免人为因素造成的污染。
2. 实验过程中穿戴工作服和乳胶手套, 不同区域独立使用工具, 需更换手套和实验服。
3. 严格按照操作步骤操作, 试剂配制和加样等步骤请严格按照说明书要求在冰盒上操作。
4. 反应液中的成分对光敏感, 应避光保存。试剂使用前要完全解冻, 但应避免反复冻融, 推荐使用前离心30秒, 并按检测频次将反应液以适当体积分管保存。
5. 反应结束后, 扩增管请置于密封袋内丢弃, 当日清理, 开盖易造成气溶胶污染, 禁止开盖。
6. 不同批号试剂请勿混合使用, 在有效期内使用。
7. 鉴于 ASFV 为一类检疫性疫病, 上述操作应在相关生物安全设施内进行。对样品及其废弃物的操作应严格遵守生物安全规定。
8. 本试剂盒仅供研究使用, 不用于临床诊断。

◆ 样品处理

参照相关标准采集样品, 短期保存于-20°C, 长期保存请放置于-80°C。

1. 样品的采集、处理和保存

采样过程中样本不得交叉污染, 采样及样品前处理过程中须戴一次性手套。

2. 采样工具

剪刀、镊子、研钵、采样管 (1.5mL 离心管或其他规格)。上述取样工具必须经121±2°C, 15min高压灭菌并烘干或经160摄氏度干烤 2h。

无菌采样袋。

3. 样品采集

- (1) 血液样品: 用无菌抗凝血真空管采集猪血液, 编号。
- (2) 淋巴结、脾脏、肌肉等样品: 用无菌剪、镊采集待检脏器, 装入无菌采样袋或其它灭菌容器, 编号。
- (3) 扁桃体: 利用扁桃体采样器 (鼻捻子、开口器和采样枪)。采样器使用前均须用 3% 氢氧化钠溶液消毒后经清水冲洗。首先固定活猪的上唇, 用开口器打开口腔, 用采样枪采取扁桃体样品, 用灭菌牙签挑至灭菌离心管, 编号。

4. 样品贮运

样品采集后，放入密闭的塑料袋内（一个采样点的样品放一个塑料袋），置保温箱中加冰、密封，24 h 内送实验室。

5. 样品处理

血液样品直接用；淋巴结、脾脏、扁桃体、肌肉等样品，用无菌的剪刀和镊子剪取待检样品 2 g 于研钵中充分研磨，再加 10 mL PBS (pH 7.2, 含 1 万单位青霉素和 1 万单位链霉素) 混匀（样品不足 2 g 按 1:5 比例加 PBS），对处理的待检样品置 70°C, 30 min 灭活后，3000r/min, 4 °C 离心 5 min, 取上清液，编号备用；血球粉处理方法同上，省掉研磨步骤。

6. 样品存放

采集或处理好的样品在 2°C~8°C 条件下保存应不超过 24 h；若需长期保存，须放置-80 °C 冰箱，但应避免反复冻融（冻融不超过 3 次）。

◆ 实验操作

1. 试剂配制（试剂准备区，放置于冰盒中进行）：

若有N个待检样品，则参照下表，按照N+2个数量计算反应液用量（N个待检样品+1个阴性对照+1个阳性对照），涡旋混匀，离心30s，分装于0.2mL PCR管中。

试剂	使用量
A-ASFV-P	20×(N+2)μL
反应液总体积	20×(N+2)μL

2. 模板制备（样本制备区）

建议使用配套动物总 DNA/RNA 提取试剂盒系列产品，具体过程详见产品说明书。

3. 添加模板（模板添加区，放置于冰盒上进行）

4. 扩增反应（扩增及产物分析区）

使用荧光定量 PCR 仪，荧光基团选择 FAM，淬灭基团选择 TAMRA。按下列条件设置扩增反应：

PCR循环			荧光收集位点
95°C	10分钟	1个循环	—
95°C	15秒	40个循环	—
60°C	1分钟		※

其他仪器请参照仪器说明书进行设置。

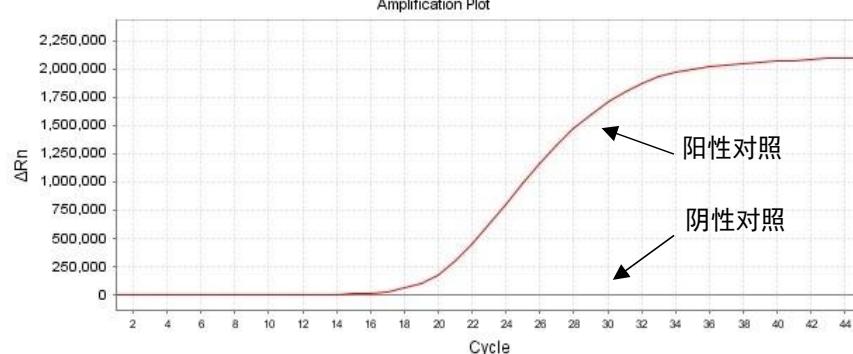
◆ 结果判定

测试样品检测Ct值≥40或无Ct值，曲线为直线或轻微斜线，无“S”型扩增曲线，可判定样品不含有非洲猪瘟病毒（ASFV）或含量低于检出限；

测试样品检测Ct值≤36，曲线呈“S”型扩增曲线，可判定样品含有非洲猪瘟病毒（ASFV）；

测试样品检测Ct值在36~40之间，应调整模板浓度，重做实时荧光PCR。再次扩增后的样品检测Ct值<40，则可判定样品含有非洲猪瘟病毒（ASFV）；再次扩增后的样品检测Ct值≥40，则可判定该样品不含有非洲猪瘟病毒（ASFV）或含量低于检出限。

★ NG反应为平滑直线，PG反应为“S”型扩增曲线，此次检测结果有效，否则无效。如重复检测结果仍为无效，请与技术支持人员联系。



◆ 企业信息

广州双螺旋基因技术有限公司 网址: www.dhelix.cn

电话: 020-85671013 传真: 020-34037175

地址: 广州国际生物岛螺旋四路7号标准产业单元二期第三栋第三层302单元