

## 旋达<sup>®</sup>R1 动物疫病检测系列

非洲猪瘟病毒（ASFV）核酸检测试剂盒（恒温荧光法）

请于-20℃条件下保存，有效期12个月

### ◆ 产品说明

**旋达<sup>®</sup>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<sup>2</sup>copies/μl**。

### ◆ 产品组成（48 测试）

036011MIII	
试剂	含量
A-ASFV-I	22μL× 48 管
B-I	90μL × 1 支
PG-ASFV-I	50μL × 1 支

### ◆ 适用仪器

Dhelix-Q5、ESE Tube Scanner、Genie II、Deaou-308C 等恒温荧光检测仪，Gentier 32R、Gentier 48E/48R、CFX 96等荧光 PCR 仪。

### ◆ 自备耗材和仪器

①灭菌 1.5mL 或 2.0mL 离心管；②冰盒；③移液器（0.1-2.5μL，0.5-10μL，10-100μL，100-1000μL）及配套灭菌吸头；④离心机；⑤涡旋混匀器；⑥金属浴

### ◆ 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：样品制备区。
  - 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。
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. 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℃，长期保存请放置于-80℃。

#### 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（1.5 mL 离心管或其他规格）。上述取样工具必须经 121±2℃，15 min 高压灭菌并烘干或经 160℃干烤 2 h。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，3 000 r/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. 模板制备（样本制备区）

建议使用病毒基因组 DNA/RNA 提取试剂盒系列产品，具体过程详见产品说明书。

#### 2. 添加模板（模板添加区，放置于冰盒中进行）

取出所需测试数的已含有反应液 A-ASFV-I 的 PCR 管，将试剂完全解冻，离心 30 秒，在管盖上标记管名（阴性对照管 NG、样品 XX、阳性对照管 PG）。打开管盖向各管管底分别加入 1 μL B-I，盖上阴性对照管管盖，其他各管分别沿管壁加入 2 μL 模板，顺序为待测样品模板、PG-ASFV-I，依次盖好各管管盖，离心 30 秒，立即进行扩增反应。

#### 3. 扩增反应（扩增及产物分析区）

① 恒温仪器 63°C 条件下反应 45 min。

② 若使用荧光定量 PCR 仪，则荧光基团选择 FAM，淬灭基团选择 None，将 63°C 15 s，63°C 45 s 作为一个循环，于 63°C 45 s 处收集荧光信号，45 个循环。



其他仪器请参照仪器说明书进行设置。

### ◆ 结果判定

① 仪器自动判定结果，若显示“阳性”，则样品中含有非洲猪瘟病毒（ASFV）；若显示“阴性”，则样品中不含有非洲猪瘟病毒（ASFV）或含量低于检出限。

② 在荧光定量 PCR 仪上，根据有无“S”型扩增曲线判定结果。若有“S”型扩增曲线，则样品中含有非洲猪瘟病毒（ASFV）；若无“S”型扩增曲线，则样品中不含有非洲猪瘟病毒（ASFV）或含量低于检测限。

★ NG 反应管结果显示“阴性”，PG 反应管结果显示“阳性”，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