

【产品信息】

产品货号: TS-ASFV-04-25

产品规格: 500 头份 (25 μ L 反应)

使用范围: 仅限于科学研究及实验室自检, 不可直接用于兽医诊断。

【试剂组成】

组分名称	包装规格	数量	保存温度
天筛® 非瘟 VP72 荧光 PCR 反应液	1.5mL/管	5 管	-20℃ 避光

【试剂准备】

1. 准备工作: 根据检测用量, 从-20℃保存取出相应数量的试剂。在室温条件下平衡 30min 使试剂完全恢复到室温。待试剂完全融化后涡旋混匀 10 秒, 6000 转离心 10 秒。

备注: - 请注意在室温平衡试剂至其完全融化, 建议室温平衡 30min, 若未完全融化, 将导致检测性能下降。

- 请注意将已拆封使用的剩余试剂保存在 2 - 8℃, 避光, 避免反复冻融, 一周内使用完毕;

2. 反应液分管: 将反应液按 15 μ L /管分装至对应的定量 PCR 八连管中。

备注: - 请注意反应液分装过程要快, 避免长时间见光, 以免探针失效。

【模板加样】

1. 核酸提取: 按核酸提取试剂操作说明进行提取纯化样品中的非洲猪瘟 DNA 模板。

2. 模板加样: 取 10 μ L 阴性对照、核酸提取模板及阳性对照分别加入对应的 PCR 扩增管中, 将枪头插入液面以下缓缓注入模板, 盖上八连管盖, 离心 6000 rpm 10 秒后上机检测。

备注: - 请在室温条件加样, 请勿在冰上配置反应体系;

- 在反应液液面下添加模板, 可以减少模板损失, 有助于提高对低拷贝模板的检测灵敏度;

- 先加阴性对照, 后加待测模板, 最后加阳性对照, 按顺序逐管添加模板可以降低模板污染风险;

- 建议使用 ct 值为 30-33 左右的阳性质控品;

【仪器设置】

1. 通道设置: 荧光通道选择 FAM 通道, 淬灭基团不选, 反应体积设置为 25 μ L。

2. 反应程序设置:

针对 ABI 7500 实时荧光定量 PCR 检测系统按如下条件设置:

步骤	反应温度	时间	是否采集荧光	循环数
预变性	95℃	5min	否	1
PCR 扩增	95℃	10 sec	否	45
	60℃	30 sec	是	

备注: 该循环条件为最保守循环条件, 也可适用于所有其它型号定量 PCR 仪。

针对 Roche LightCycler 96、ABI StepOne Plus、西安天隆 Gentier 96R 和 Gentier 48E, 杭州博日 LineGene 9600 Plus, Biorad CFX 96, ABI QuantStudio 1 等实时荧光定量 PCR 检测系统可采用如下程序设置:

步骤	反应温度	时间	是否采集荧光	循环数
预变性	95℃	5min	否	1
PCR 扩增	95℃	10 秒	否	45
	60℃	20 秒	是	

备注：Roche LightCycler 96、ABI StepOne Plus、Biorad CFX 96 建议使用 100μL 乳白色定量 PCR 八连管，其它仪器均使用 200μL 透明定量 PCR 八连管。

【数据分析】

1. 当使用 QuantStudio 1/3/5 实时定量 PCR 系统；ABI 7500/7300，StepOne Plus 定量 PCR 系统等含“ROX 分析”系统时，需要选无 ROX 校正分析。
2. 当使用西安天隆 Gentier 96E/96R，Gentier 48E，Gentier 32R，Gentier mini 荧光定量 PCR 仪，含“基线增益校正”分析系统，需设置含“基线增益校正”分析。

【结果判定】

请参考如下表进行判定结果，仅限科研及实验室自检，不做兽医临床诊断依据。

结果	阳性对照孔	阴性对照孔	样品孔	结果判定
1	Ct 值符合阳性品要求	No Ct	Ct≤45	非洲猪瘟阳性
2		No Ct	No Ct	非洲猪瘟阴性
3		Ct≤45	Ct≤45	实验室污染,请排除污染后复检
4	No Ct	No Ct	Ct≤45 或 No Ct	阳性模板失效或试剂系统失效

备注：本试剂组不提供阳性对照，实验室按照自行准备的阳性对照 Ct 值判定。

【注意事项】

1. -20℃ 保存：请将未拆封使用的试剂保存在-20℃，反应液可以在-20℃保存一年；
2. 室温平衡：使用前，请将试剂于室温平衡 30min，充分融化后混匀使用；
3. 2 - 8℃ 备用：已拆封使用的剩余试剂保存在 2 - 8℃，避光，避免反复冻融；
4. 室温操作：请在室温条件加样，请勿在冰上配置反应体系；
5. 液面下加样：移液加样时请务必将样本加在液面以下，避免于液面之上贴壁加样；

有其它疑问请联系天罗诊断科技江苏有限公司。

【联系信息】



天罗诊断科技江苏有限公司

TOROIVD TECHNOLOGY COMPANY LIMITED.

总部地址：上海市浦东新区天雄路 588 弄 10 号楼/3 号楼

生产地址：江苏如东生命健康产业园珠江路 888 号 20 号楼

邮箱: market@toroivd.com

网址: www.toroivd.cn