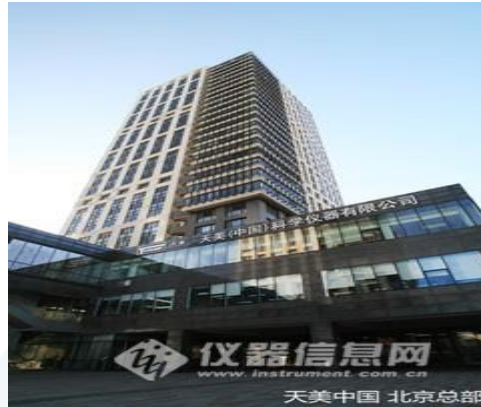


天美非洲猪瘟病毒 (ASFV) 检测项目推荐



一、非洲猪瘟简介

非洲猪瘟 (African Swine fever , ASF) 是由非洲猪瘟病毒 (African Swine fever virus , ASFV) 感染家猪和各种野猪 (非洲野猪、欧洲野猪等) 引起一种急性、出血性、烈性传染病。其特征是发病过程短，最急性和急性感染死亡率高达 100% ，临床表现为发热 (达 40~42℃) ，心跳加快，呼吸困难，部分咳嗽，眼、鼻有浆液性或粘液性脓性分泌物，皮肤发绀，淋巴结、肾、胃肠粘膜明显出血，非洲猪瘟临床症状与猪瘟症状相似，只能依靠实验室监测确诊。

自 2018 年 8 月 3 日我国确诊首例非洲猪瘟疫情起，截止 2019 年 1 月 2 日，我国共发生非洲猪瘟疫情 100 起，分布 23 个省 (市、区) 的 77 个地市 (盟) 。随着非洲猪瘟疫情的波及面越来越广，农业农村部也非常重视，早在 2019 年 1 月 2 号就发文《中华人民共和国农业农村部公告 第 119 号》要求在非洲猪瘟防控期间，全面开展生猪屠宰及生猪产品流通等环节非洲猪瘟检测，这项公告将于 2019 年 2 月 1 日起正式执行。对非洲猪瘟病毒检测结果为阴性且按照检疫规程检疫合格的生猪产品出具动物检疫证明，并注明检测方法、检测日期和检测结果等信息，其中，出具跨省调运动物检疫证明 (产品 A) 的，要求 PCR 检测结果为阴性。对未经非洲猪瘟病毒检测或检测结果为阳性的，不得出具动物检疫证明。生猪屠宰厂 (场) 应当主动配合驻场官方兽医工作，不得拒绝、阻碍或干扰官方兽医监督检查。目前，针对非洲猪瘟防控，尚无有效疫苗，防控重点是做好生物安全管理和早期诊断。

天美创科仪器(北京)有限公司
北京市朝阳区天畅园7号楼(100107)

t 010-64010651
f 010-64060202
e TIL_LS@techcomp.cn
w www.techcomp.cn

二、 荧光定量 PCR 方法检测非洲猪瘟病毒的优势

1. 技术优势

从非洲猪瘟感染动物后病毒和抗体变化规律可以看出，在感染 2 天后即可在猪体内检测到非洲猪瘟病毒，并持续超过 1 月，而抗体产生的时间较晚，在感染后 12 天后才在血清中可以检测到抗体。因此，相比基于免疫学反应的抗体检测方法（如 ELISA 方法、胶体金试纸条），荧光定量 PCR 方法具有**早期诊断**的明显优势。

2. 政策优势

根据农业农村部公告第 119 号（2019 年 1 月 2 日发布），在非洲猪瘟防控期间，全面开展生猪屠宰及生猪产品流通等环节非洲猪瘟检测。生猪屠宰厂（场）经 PCR 检测试剂盒或免疫学检测试纸条检测为阴性的，同批生猪产品方可上市销售。其中，经 PCR 检测为阴性的，有关生猪产品可按照规定在本省或跨省销售；经免疫学检测试纸条检测为阴性的，有关生猪产品仅可在本省范围内销售。另外，出具跨省调运动物检疫证明（产品 A）的，要求 PCR 检测结果为阴性。

3. 权威指导手册

2018 年，联合国粮农组织（FAO）发布《非洲猪瘟：发现与诊断（2018 版）》兽医指导手册，指出：相比于传统的免疫学方法，核酸检测具有更高的灵敏度和特异性，并推荐 PCR 方法用于核酸检测。

因此，可以看出相比免疫学检测方法，PCR 检测的应用范围更广，检测报告更具认可度。

三、 实验室必要设备要求

用于非洲猪瘟病毒的实验室，推荐配置以下设备：II 级生物安全柜、高速离心机、组织破碎仪（均质器/匀浆仪）、冷藏冷冻冰箱、高压灭菌器、荧光定量 PCR 仪、核酸提取仪。同时，建议实验室配备合适的个人防护用品，如防护服、手套、口罩等。

1. II 级生物安全柜：提供无菌环境用于处理组织样品等（避免外部环境污染样品），同时保证病毒不向实验室环境扩散（保证人员和环境安全）。

2. 高速离心机：用于血清分离，或者采用多孔膜方法手动提取核酸过程中的离心

过程。建议选择可更换不同型号转子的设备，以便可以对不同规格的 1.5 ml 离心管、5 ml 采血管等不同容器离心。

3. 组织破碎仪（均质器/匀浆仪）：根据样品类型选择便携式组织破碎仪或者高通量组织破碎仪等。

4. 冷藏冷冻冰箱：用于样品、试剂及核酸等暂存，建议定期监测冰箱温度。

5. 高压灭菌器：用于实验结束后样品及用具的灭菌处理，避免样品带有病毒时泄露导致疫情扩散。根据情况，定期确定灭菌效果是否满足要求。

6. 荧光定量 PCR 仪：用于 PCR 反应及结果判读，是 PCR 实验的核心。

7. 核酸提取仪：用于样本的核酸提取，能极大的节省人工操作，提高实验准确率。

四、荧光定量 PCR 方法检测非洲猪瘟病毒操作流程

1. 样品采集及前处理

1.1 屠宰场采样要求主要有：（1）在屠宰线发现疑似非洲猪瘟时，采集相应病（死）猪的血液样品或脾脏、淋巴结、肾脏等组织样品等进行非洲猪瘟病毒检测。（2）按照生猪不同来源实施分批屠宰，每批生猪屠宰后，对暂储血液进行抽样并检测非洲猪瘟病毒。

1.2 样品前处理：组织样品在提取核酸前需要进行研磨，需使用组织破碎仪（均质器/匀浆仪）等设备对疑似病变组织进行破碎，取上清液进行下游核酸提取。血液样品不需处理，可以直接用于下游核酸自动化提取。

2. 核酸自动化提取

2.1 核酸提取试剂盒

使用全血基因组核酸提取试剂盒用于全血样品核酸提取，使用病毒 DNA/RNA 核酸共提取试剂盒用于组织样品的核酸提取。

2.2 核酸自动化提取设备

使用 MINI480 和 MINI8L 仪器配合手动提取试剂盒，进行核酸提取，不需离心，实现 48 通量样品的快速提取。

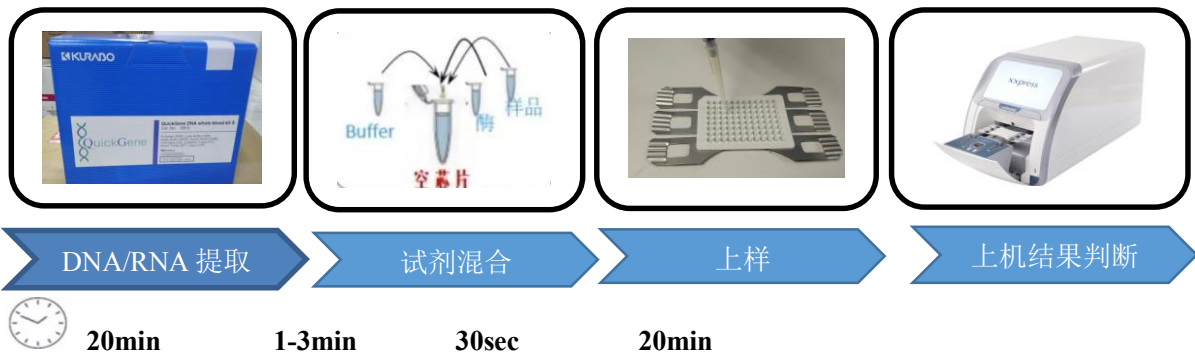
使用 AUTO12S/24S 设备进行核酸自动化提取，可以实现 12 个样品或者 24 个样品的 30 分钟内的快速提取。

3. 荧光定量 PCR 检测

荧光定量 PCR 检测推荐使用 BJS XXPRESS 快速定量 PCR 仪或者手提便携式快速

定量 PCR 仪系统 Model GF-Q150 设备。

BJS XXPRESS 快速定量 PCR 仪设备具有五重荧光通道，96 通量；最快 10 分钟内完成 40 个循环；高亮 LED 光源免维护；最大升温速率 10°C/s，最大降温速率 8°C/s；搬动后荧光无需校准；全彩触摸屏，可脱离电脑操作运行。适用于屠宰场、养殖场、移动实验室等中小实验室使用。新一代快速 PCR 分析仪的分析时间比一般商品化 PCR 分析仪要缩短 3 倍以上。可提供专用耗材和通用开放式试剂体系，配合 Xpress 荧光定量 PCR 实现快速分析测定。开放性的试剂平台，根据检测需求通用客户已有的酶、引物、探针等试剂。试剂节省，检测速度快。能够匹配多数的市面上试剂盒产品，形成从提取到分析的通用型的分析平台。从核酸样品提取到结果判定只需 45 分钟



快速定量 PCR 仪系统 Model GF-Q150 设备，手提式野外现场监测，单通道一次可做 10 个样品，变温速率 8°C/s，30 个循环 12 分钟。



五、方案订购信息

产品名称	规格型号	目录价 (元)	备注
5.1 核酸提取试剂盒			
全血基因组核酸提取试剂盒	DB-S (96 次)		
病毒 DNA/RNA 核酸共提取试剂盒	DT-S (96 次)		
5.2 主要设备			
核酸半自动提取仪	MINI480/MIN		

	I8L		
核酸自动提取仪	AUTO12S/24S		
五通道快速荧光定量 PCR 仪器	BJ5 XXPRESS		
手提便携式单通道荧光定量 PCR 仪器	Model GF-Q150		
5.3 其他必要设备			
II 级生物安全柜	主流型号		
高速离心机	主流型号		
组织破碎仪 (均质器/匀浆仪)、	主流型号	TOMY SH-100	
冷藏冷冻冰箱	主流型号		
高压灭菌锅	主流型号	SX- 300/500/ 700	

如有任何其它相关问题，请随时联系天美（中国）科学仪器有限公司。