柯萨奇病毒 A6 型（CAV-6）核酸检测试剂盒(RT-PCR 荧光探针法)

【产品名称】

商品名称：柯萨奇病毒 A6 型（CAV-6）核酸检测试剂盒
(RT-PCR 荧光探针法)

Name ：Diagnostic Kit for Coxsackievirus type A6 RNA
(RT-PCR Fluorescence Probing)

【包装规格】48 份/盒

【预期用途】

本试剂盒适用于检测的粪便或腹泻物等标本中柯萨奇病毒 A6 型 RNA，适用于柯萨奇病毒 A6 型感染的辅助诊断。其检测结果仅供参考。

【检验原理】

本试剂盒用一对柯萨奇病毒 A6 型特异性引物，结合一条特异性荧光探针，用一步法荧光 RT-PCR 技术对柯萨奇病毒 A6 型 RNA 进行体外扩增检测，用于临床上对可疑感染者的病原学诊断。

【试剂组成】

名　　称	规　　格
酶液	50μl×1 管
CAV-6 反应液	1.0ml×1 管
CAV-6 阳性质控品	50μl ×1 管
阴性质控品	250μl ×1 管

说明：不同批号的试剂盒组分不可交互使用。

【储存条件及有效期】

-20℃±5℃，避光保存、运输、反复冻融少于 5 次，
有效期 12 个月。

【适用仪器】

ABI 7300、7500、ABI stepone / stepone plus 、安捷伦 MX3000P/3005P、MJ Opticon2 等其他荧光定量 PCR 检测仪。

【标本采集】

取粪便或腹泻物置入无菌玻璃管中，用无菌棉球将试管塞紧后，密闭送检。

【保存和运输】

上述标本短期内可保存于-20℃，长期保存可置-70℃，但不能超过 6 个月，标本运送应采用 2~8℃冰袋运输，严禁反复冻融。

【使用方法】

1. 样品处理（样本处理区）

1.1样本前处理

取黄豆颗粒大小粪便或 100uL 水样腹物置于 1.5mL 离心管中 ,按 RNA 提取试剂盒说明书进行提取。

1.2RNA 提取

推荐采用广州维伯鑫生物科技有限公司生产的 RNA 提取试剂盒（离心柱提取法），请按照试剂盒说明书进行操作。

2. 试剂配制（试剂准备区）

根据待检测样本总数，设所需要的 PCR 反应管管数为 N(N=样本数+1 管阴性对照+1 管阳性对照；样品每满 7 份，多配制 1 份)，每测试反应体系配制如下表：

试剂	CAV-6 反应液	酶液
用量	20μl	1μl

3. 加样（样本处理区）

将步骤 1 提取的 RNA、阳性质控品、阴性质控品各取 4μl，分别加入相应的反应管中，盖好管盖，混匀，短暂离心。

4. PCR 扩增（核酸扩增区）

4.1将待检测反应管置于荧光定量 PCR 仪反应槽内；

4.2设置好通道、样品信息，反应体系设置为 25ul；荧光通道选择：
检测通道（Reporter Dye）FAM， 淬灭通道（Quencher Dye）NONE，请勿选择 ROX 参比荧光。

4.3推荐循环参数设置：

步骤	循环数	温度	时间	收集荧光信号
1	1cycle	42℃	20min	否
2	1 cycle	95℃	10min	否
3	40 cycle	94℃	15sec	否
		55℃	30sec	是

5. 结果分析判定

5.1结果分析条件设定

设置 Baseline 和 Threshold：一般直接按机器自动分析的结果分析，当曲线出现整体倾斜时，根据分析后图像调节 Baseline 的 start 值(一般可在 3~15 范围内调节)、stop 值(一般可在 5~20 范围内调节)，以及 Threshold 的 Value 值(上下拖动阈值线至高于阴性对照)，重新分析结果。

5.2结果判断

阳性：检测通道 Ct 值≤35.0，且曲线有明显的指数增长曲线；
可疑：检测通道 35.0<Ct 值≤37，建议重复检测，如果检测通道仍为 35.0<Ct 值≤37，且曲线有明显的增长曲线，判定为阳性，否则为阴性；
阴性：样本检测结果 Ct 值>37 或无 Ct 值。

6. 检测方法的局限性

- 样本检测结果与样本收集、处理、运送以及保存质量有关；
- 样本提取过程中没有控制好交叉污染，会出现假阳性结果；
- 阳性对照、扩增产物泄漏，会导致假阳性结果；
- 病原体在流行过程中基因突变、重组，会导致假阴性结果；
- 不同的提取方法存在提取效率差异，会导致假阴性结果；
- 试剂运输，保存不当或试剂配制不准确引起的试剂检测效能下降，出现假阴性或定量检测不准确的结果；
- 本检测结果仅供参考，如须确诊请结合临床症状以及其他检测手段。

7. 质控标准

阴性质控品：无明显扩增曲线或无 Ct 值显示；
阳性质控品：扩增曲线有明显指数生长期，且 Ct 值≤32；
以上条件应同时满足，否则实验视为无效。

8. 产品性能指标

阴阳性参考品符合率：5 份阳性参考品符合率为 100%；10 份阴性参考品符合率为 100%。
最低检测限：5.0×10^2copies/ml。
精密度：批内、批间精密度检测 Ct 值的变异系数（CV）均小于等于 3%。

【注意事项】

- 所有操作严格按照说明书进行；
- 试剂盒内各种组分使用前应自然融化，**完全混匀**并短暂离心；
- 反应液应避光保存；
- 反应中尽量**避免气泡存在**，管盖需盖紧；
- 使用一次性吸头、一次性手套和各区专用工作服；
- **样本处理、试剂配制、加样需在不同区进行**，以免交叉污染；
- 实验完毕后用 10%次氯酸或 75%酒精或紫外灯处理工作台和移液器；
- 试剂盒里所有物品应视为污染物对待，并按照《微生物生物医学实验室生物安全通则》进行处理。.

【生产企业】 .

企业名称：广州维伯鑫生物科技有限公司　　邮　编：510663
生产地址：广州黄浦区科丰路 31 号华南新材料创新园 G11 栋 2 层
电子邮箱：info@vipotion.com　　电　话：020-66377266
公司网址：http://www.vipotion.com　　传　真：020-66377267