

新疆出血热病毒 (XHFV) 核酸检测试剂盒(RT-PCR 荧光探针法)

【产品名称】

商品名称：新疆出血热病毒 (XHFV) 核酸检测试剂盒
(RT-PCR 荧光探针法)

Name : Diagnostic Kit for Xinjiang Hemorrhagic Fever Virus 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疑似感染病人的静脉血等标本中新疆出血热病毒 RNA，适用于新疆出血热病毒感染的辅助诊断。其检测结果仅供参考。

【检验原理】

本试剂盒用一对新疆出血热病毒特异性引物，结合一条特异性荧光探针，用一步法荧光 RT-PCR 技术对新疆出血热病毒 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	50 μ l \times 1 管
XHFV 反应液	1.0ml \times 1 管
XHFV 阳性质控品	50 μ l \times 1 管
阴性质控品	250 μ l \times 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 $^{\circ}$ C \pm 5 $^{\circ}$ C，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】

疑似感染病人的静脉血 2mL 至 EDTA-2Na 抗凝管。

【保存和运输】

上述标本短期内可保存于-20 $^{\circ}$ C，长期保存可置-70 $^{\circ}$ C，但不能超过 6 个月，标本运送应采用 2~8 $^{\circ}$ C 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

按 RNA 提取试剂盒说明书进行提取。

1.2 RNA 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	XHFV 反应液	酶液
用量	20 μ l	1 μ l

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 4 μ l，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 25 μ l；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 $^{\circ}$ C	20min	否
2	1 cycle	95 $^{\circ}$ C	10min	否
3	40 cycle	94 $^{\circ}$ C	15sec	否
		55 $^{\circ}$ C	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 \leq 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 \leq 37，建议重复检测，如果检测通道仍为 35.0<Ct 值 \leq 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 \leq 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 \times 10²copies/ml。

精密性：批内、批间精密性检测 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、一次性手套和各区分区专用工作服；
- > **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：广州黄埔区科丰路 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