



基孔肯雅热病毒核酸检测试剂盒（荧光PCR法）说明书

货号：RN505FP

【产品名称】

通用名称：基孔肯雅热病毒核酸检测试剂盒（荧光PCR法）

【包装规格】

48人份/盒

【预期用途】

对基孔肯雅热病毒（Chikungunya virus, CHIKV）RNA进行检测，可用于临床对基孔肯雅热病毒的辅助诊断。

【检验原理】

本试剂盒采用聚合酶链式反应（PCR）结合Taqman 技术，对基孔肯雅热病毒（Chikungunya virus）的特异性核酸片段进行荧光PCR检测。

【主要成分】

组分成分	48人份/盒		主要成分
	规格	数量	
PCR扩增试剂	1000μL /管	1管	引物、探针、脱氧核糖核苷三磷酸（dNTP）、缓冲体系、Taq酶、MMLV酶
阳性对照	200μL /管	1管	含目的片段的质粒
阴性对照	500μL /管	1管	生理盐水
组分成分	48人份/盒		主要成分

【储存条件及有效期】

试剂置于-30~-15℃避光保存，有效期为12个月。本产品反复冻融应不超过5次。

【适用仪器】

荧光定量PCR仪：ABI 7500荧光PCR仪；ABI Quantstudio5；Gentier 96R；SLAN-96P全自动医用PCR分析系统等。

【样本要求】

1. 适用样本

病毒培养物、全血、血清、脑脊液、蚊虫匀浆液、组织培养物等。

2. 样本运输和保存

严格按照临床标本“标本保存”和“标本送检”中的相关规定执行。

样本保存：待测样本，可立即进行核酸提取处理；如果样本需要在24小时内检测，可先置于2~8℃保存；如果样本在24小时内无法检测，则可置于-20℃~-80℃保存，尽量避免反复冻融，导致假阴性。

样本运输：采用低温运输，样本运输应遵守国家关于第二类病原微生物的相关生物安全规定。

【检验方法】

1. 样本处理

取待测样本200μL，按照核酸提取试剂盒说明书进行核酸提取。

2. 试剂配置（在准备区进行，与扩增区分开，冰上操作）

将PCR扩增试剂按20μL/管分装至PCR反应管中，将装有PCR扩增试剂的反应管移至样本处理区。



注：试剂使用前要完全解冻，使用前涡旋混匀，10000 rpm离心5 s，确保试剂完全离心至管底，否则会出现装量差异的现象。

3. 加样（在样品处理区进行，冰上操作）

按阴性质控品、待测样品、阳性质控品的加样顺序，分别取5μL，加入至已分装扩增反应液的八联管中，反应总体积为25μL。盖紧管盖，短暂离心后置于荧光定量PCR仪中，并记录样本摆放顺序。

4. 扩增反应（在扩增区进行）

选择ROX通道检测基孔肯雅热病毒核酸，选择CY5通道检测内标。按以下扩增程序表设置PCR扩增参数。

步骤		温度	时间	循环数
1	逆转录	50℃	10min	1
2	预变性	95℃	3min	1
3	变性	95℃	10sec	45cycle
4	退火延伸及荧光检测	60℃	20sec	
报告荧光：ROX、CY5；淬灭荧光：NONE。				

5. 质量控制

	ROX通道Ct值	CY5通道Ct值 (内部质控品)
阴性对照	UNDET	—
阳性对照	≤35	≤35

以上要求需在同一次实验中同时满足，否则，本次实验无效，需重新进行。

6. 结果判读

反应结束自动保存结果，根据分析后图像调节Baseline 的Start 值、End 值以及Threshold 值（可以根据实际情况自行调整，Start 值可以在3~15、End 值可设在5~20，调整阴性对照的扩增曲线平直或低于阈值线），点击Analysis 自动获得分析结果，在Report 界面观看结果。

试验结果判断

	ROX通道	CY5通道	结果判定
1	Ct值>40	Ct值<35	阴性
2	Ct值≤40	有或无扩增曲线	阳性
3	Ct值>40	Ct值>35	复检：重新取样检测

【检验结果的解释】

1. 实验室环境污染，试剂污染，样品交叉污染会出现假阳性结果，如阴性对照检测为阳性，则需做进一步实验来确认是哪类污染。如为试剂污染，需开封新的试剂盒再次进行实验；如为样品交叉污染，应重复实验；如为实验室环境污染，需对实验室进行彻底清洁或更换实验室再进行实验。

2. 试剂运输、保存或配制不当会引起试剂检测性能下降，出现假阴性结果。如阳性对照检测为阴性，应开封新的试剂盒再进行实验。

【检测方法的局限性】



1. 该试剂盒仅为定性产品，不做定量测定。
2. 该试剂盒的检测结果仅供临床参考，对患者的临床诊治应结合其症状或体征、病史、其它实验室检查及治疗反应等情况综合考虑。
3. 当样本的病毒含量低于最低检出限时，可能会出现假阴性。阴性结果仅说明提取的核酸浓度低于该试剂盒的检测极限，但不能完全排除病毒感染的可能。

【产品性能指标】

1. 准确性：企业阳性参考品检测结果全部为阳性，阳性率为15/15。
2. 精密度：批内检测CT值的变异系数（CV%） $\leq 2\%$ ，批间检测CT值的变异系数（CV%） $\leq 3\%$ 。
3. 最低检测限：该试剂盒最低检测限为500copies/mL。
4. 交叉反应：本试剂盒对感染症状相似的病原体，如登革病毒、寨卡病毒、麻疹病毒、风疹病毒、肠道病毒、乙脑病毒以及人体总核酸，无交叉反应。

【注意事项】

1. 请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上操作。
2. 试剂配制建议在试剂配制区进行，样品处理要求在生物安全柜内操作。临床实验室应严格按照《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》等有关分子生物学实验室、临床基因扩增实验室的管理规范执行。
3. 反应液中的成分对光敏感，应避光保存。反复冻融可能降低试剂盒灵敏度，请按检测频次将反应液以适当体积分管保存。
4. 反应结束后，扩增管请置于密封袋内丢弃，当日清理，切忌开盖。
5. 不同批号试剂请勿混合使用，请在有效期内使用试剂盒。
6. 本品仅用于体外诊断。