

35.9, 沙眼衣原体临界Ct值为35.9, 解脲脲原体临界Ct值为35.9。

【检验结果的解释】

质量控制

对照	通道	Ct值			
		FAM通道	VIC通道	CYS通道	ROX通道
空白对照		Undet.	Undet.	Undet.	Ct>37.0或Undet
阳性对照		CT≤30	CT≤30	CT≤30	CT≤30

以上要求需在同一实验中同时满足, 否则本次实验无效。

结果判读

在仪器正常、阳性对照和阴性对照均正常的情况下, 按照下表进行结果分析。

通道	病原体	阳性	阴性	可疑
FAM	淋球菌	Ct≤35.9, 曲线呈S型且有明显指数增长期	Ct>37.7或未检出	35.9<Ct≤37.7
VIC	沙眼衣原体	Ct≤35.9, 曲线呈S型且有明显指数增长期	Ct>37.8或未检出	35.9<Ct≤37.8
CYS	解脲脲原体	Ct≤35.9, 曲线呈S型且有明显指数增长期	Ct>37.2或未检出	35.9<Ct≤37.2
ROX	内标β-globin	Ct≤35.0, 曲线呈S型且有明显指数增长期	Ct>35.0	

1. 结果可疑的样本要进行重复检测, 如重复检测实验结果淋球菌Ct值仍然在35.9-37.7范围或沙眼衣原体Ct值仍然在35.9-37.8范围或解脲脲原体Ct值仍然在35.9-37.2范围, 曲线呈标准S型且有明显指数增长期, 则判断为相应阳性, 否则判断为阴性。

2. 内标β-globin为阴性说明样本中含有PCR反应抑制物、提取失败或实验过程中漏加样本, 建议进行重新采样、重新提取或重新检测。当样本检测结果为阳性时, 若内标无扩增信号或者Ct值>35, 其阳性结果仍然可信。

3. 内标β-globin为人内源性基因, 当样本为分泌物培养液、纯菌液时, 内标(ROX通道)不做要求。

本检测结果仅供临床参考, 不作为细菌感染诊治的唯一依据, 阴性结果仅说明低于本试剂盒的检测阈值, 但不能排除细菌感染的可能, 阳性结果建议结合临床结果进一步确诊。

【检验方法的局限性】

1. 检测结果和样本采样、运输及保存条件有关, 其中任何失误都将会导致假阴性结果。如果样本在处理过程中发生交叉污染, 则可能出现假阳性结果。

2. 本试剂盒检测结果阳性, 表明样本中存在淋球菌、沙眼衣原体及解脲脲原体核酸DNA, 而非细菌本身, 建议使用培养法进一步确诊。

3. 检测结果仅供临床参考, 不能单独作为确诊或排除病例的依据。

【产品性能指标】

1. 国家参考品的符合率: 24份阳性参考品符合率100%(24/24), 18份阴性参考品的符合率100%(18/18);

企业参考品的符合率: 6份阳性参考品符合率100%(6/6), 4份阴性参考品的符合率100%(4/4)。

2. 最低检测限: 检测国家参考品淋球菌不高于 1×10^4 个/ml、解脲脲原体检测国家参考品不高于 1×10^4 CCU/ml; 检测沙眼衣原体企业参考品不高于 5×10^2 IFU/ml。

3. 特异性: 淋球菌、沙眼衣原体及解脲脲原体三者之间无交叉感染, 且与其感染部位相同、感染症状相似或种属近似且常见的其他病原体(浓度为 1×10^6 copies/ml的人乳头瘤病毒, 1×10^5 TCID₅₀/ml的单纯疱疹病毒, 以及浓度为 1×10^6 CFU/ml的沙门氏菌、志贺氏菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、肺炎支原体、肺炎衣原体、A族链球菌、B族链球菌、流感嗜血杆菌、嗜水气单胞菌、肺炎链球菌)无交叉反应。

4. 精密度: 具有良好的重复性, 批内精密度的CV值小于5%。

5. 干扰物质: 血液、脓液、诺氟沙星、左氧氟沙星、青霉素、大观霉素、四环素、红霉素、阿奇霉素、头孢曲松、硼酸水、雷夫

诺尔、洁尔阴洗液、妇炎洁洗液、洗必泰在检验样本中的浓度分别为25%、25%、400 mg/ml、200 mg/ml、500 mg/ml、400 mg/ml、300 mg/ml、300 mg/ml、400 mg/ml、500 mg/ml、3%、0.1%、10%、5%、0.05%时, 对试剂盒的检测没有干扰影响。

6. 临床试验结果: 共检测1040例样本, 包括520例男性尿道拭子和520例女性宫颈拭子, 与对照方法相比: 淋球菌的阳性符合率100%, 阴性符合率99.88%, 总符合率99.90%, Kappa值为0.9971; 沙眼衣原体的阳性符合率100%, 阴性符合率99.73%, 总符合率99.81%, Kappa值为0.9952; 解脲脲原体的阳性符合率100%, 阴性符合率99.47%, 总符合率99.62%, Kappa值为0.9905。说明两种方法检测性能具有很好一致性。

【注意事项】

1. 本试剂盒为体外检测试剂。操作人员应经过专业培训并具有一定经验。

2. 实验严格分区操作, 各区物品、工作服均为专用, 不得交叉使用, 避免污染, 实验后请立即清洁工作台。

3. 本产品使用前应在室温充分融化, 混匀并瞬时离心。

4. 每次实验应设置空白对照和阳性对照。不同批号的试剂请勿混用, 于有效期内使用试剂盒。

5. 冻存的DNA样本, 加样前应在室温充分融化、混匀并瞬时离心后使用。

6. 本试剂盒涉及的待测样本应视为具有传染性物质, 操作和处理均需符合卫生部《微生物生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》相关要求。

【参考文献】

[1] Beillard E, Pallisgaard N, van der Velden VH, et al. Evaluation of candidate control genes for diagnosis and residual disease detection in leukemic patients using 'real-time' quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR)-a Europe against cancer program. *Leukemia*. 2003;17(12):2474-86.

[2] Claas HC, Wagenvoort JH, Niesters HG, et al. Diagnostic value of the polymerase chain reaction for Chlamydia detection as determined in a follow-up study. *J Clin Microbiol.*, 1991, 29(1): 42-45.

[3] Povlsen K, Jensen JS, and Lind I. Detection of *Ureaplasma urealyticum* by PCR and biovar determination by liquid hybridization. *J. Clin. Microbiol.*, 1998, 36:3211-3216.

[4] Whitley DM, Anderson TP, Barratt K, et al. Evidence that the gonococcal porA pseudogene is present in a broad range of *Neisseria gonorrhoeae* strains; suitability as a diagnostic target. *Pathology*, 2006, 38(5):445-448.

【基本信息】

注册人: 江苏硕世生物科技股份有限公司

住所: 江苏省泰州市药城大道837号

联系方式: 电话 0523-86201616 传真 0523-86201617 网址 www.s-sbio.com

售后服务单位名称: 江苏硕世生物科技股份有限公司

联系方式: 电话 0523-86201616 传真 0523-86201617 网址 www.s-sbio.com

生产地址: 泰州市开发区寺巷富野村、帅于村A幢(G19)第三层厂房与第三、第四层办研区, 泰州市开发区寺巷富野村、帅于村F幢(G14四楼办研区), 泰州市医药高新区药城大道837号

【医疗器械生产许可证编号】苏食药监械生产许20100121号

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

国械注准20183400061

【说明书批准日及修改日期】2022.05.28

淋球菌、沙眼衣原体/解脲脲原体核酸检测试剂盒（荧光 PCR 法）说明书

【产品名称】

通用名称：淋球菌/沙眼衣原体/解脲脲原体核酸检测试剂盒（荧光 PCR 法）

【货号】JB60301N

【包装规格】50 人份/盒

【预期用途】

本试剂盒用于男性尿道拭子、女性宫颈拭子样本中淋球菌、沙眼衣原体和解脲脲原体核酸的定性检测。

淋球菌(*Neisseria Gonorrhoeae*, NG)是严格的人体寄生菌,常存在于急性尿道炎与阴道炎的脓性分泌物的白细胞中。淋球菌引起泌尿生殖系统化脓性感染,俗称淋病,是常见的性传播疾病之一。临床表现以尿道炎、宫颈炎多见,典型症状是排尿困难、尿频、尿急、尿痛、排出黏液或脓性分泌物等。亦可经产道感染胎儿造成新生儿淋病性急性结膜炎。

沙眼衣原体(*Chlamydia Trachomatis*, CT)和解脲脲原体(*Ureaplasma Urealyticum*, UU)是引起非淋菌性尿道炎的主要病原体,典型症状为尿痛及尿道少许粘液性或粘液脓性分泌物。沙眼衣原体是一类在细胞内寄生的微生物,目前发现它分为 3 个生物型,有 15 个血清型,不同的血清型能引起不同的疾病。其中 A、B、Ba 及 C 型的衣原体株能引起沙眼, L1、L2、L3 型能引起性病性淋巴肉芽肿, D-K 型则引起非淋菌性尿道炎。另外,还可以引起化脓性宫颈炎、包涵体包膜炎、子宫内膜炎等。

解脲脲原体是脲原体属中的一种,分为两个生物群,共有 14 个血清型,是常见的性病病原体,也是常见的泌尿生殖寄生物,可引起非淋菌性尿道炎及男女不孕不育。在性成熟女性、孕妇、新生儿下生殖道中的分离率非常高,部分病人无任何症状,而性行为紊乱人群中解脲脲原体寄居率比正常人高 2 倍多。

目前,淋球菌、沙眼衣原体及解脲脲原体的实验室诊断方法主要有细菌培养、免疫学检测、核酸检测等。

实验操作人员应接受过基因扩增或分子生物学方法检测的专业培训,具备相关的实验操作资格,实验室应具备合理的生物安全防护设施及防护程序。

【检测原理】

本试剂盒采用实时荧光 PCR 技术,选择淋球菌、沙眼衣原体、解脲脲原体的保守基因、以及人 β -globin 基因(内标)分别设计特异性引物和探针,探针为包括 5' 端报告基团和 3' 端淬灭基团的寡核苷酸,分别以 FAM、VIC、CY5、ROX 标记淋球菌、沙眼衣原体、解脲脲原体和 β -globin 的探针,在 PCR 扩增过程中,当探针完整时,由于淬灭基团靠近报告基团,报告基团发出的荧光被淬灭基团吸收,不发出荧光信号。引物延伸时,与模板结合的探针被 Taq 酶(5' $\rightarrow$ 3' 外切核酸酶活性)切断,报告基团与淬灭基团分离,产生荧光信号,荧光定量 PCR 仪根据检测到的荧光信号自动绘制出实时扩增曲线,从而实现对淋球菌、沙眼衣原体、以及解脲脲原体在核酸水平上的定性检测。

【主要组成成分】

组份名称	规格及数量	主要成分
淋球菌/沙眼衣原体/解脲脲原体反应液	900 μ l $\times$ 1 管	氯化钾、氯化镁、核苷酸混合液、引物、探针等
酶混合液	100 μ l $\times$ 1 管	UDG 酶、Taq 酶
阳性对照	50 μ l $\times$ 1 管	含淋球菌、沙眼衣原体、解脲脲原体、内标 β -globin 扩增片段的质粒
空白对照	250 μ l $\times$ 1 管	经焦碳酸二乙酯处理的水

备注:不同批号间试剂盒组份不能互换;本试剂盒不包含但检测必需的配套提取试剂:硕世生物的核酸提取或纯化试剂(货号:SDK60103)或 QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, NO. 51304)。

【储存条件及有效期】

避光-20℃贮存,有效期 10 个月。开封后避光-20℃贮存,对

有效期没有影响;反复冻融次数不能超过 5 次。

生产日期、有效期至:见试剂盒外包装。

【适用仪器】

ABI7500 荧光定量 PCR 仪。

【样本要求】

适用样本类型为男性尿道拭子、女性宫颈拭子。样本采集按照《临床标本采集指南》进行。

男性:采集样本前 2 小时禁止小便,用细小棉拭子伸入尿道约 2~4 厘米,捻动拭子采集分泌物(应略带黏膜)。将棉拭子置入无菌玻璃管,用无菌棉球将试管塞紧后,密闭送检。

女性:用无菌生理盐水棉球洗去宫颈外分泌物,再用无菌棉拭子插入宫颈内,停 5 秒钟后旋动棉拭子采取宫颈分泌物,将棉拭子置入无菌玻璃管中,用无菌棉球将试管塞紧,密闭送检。

样本采集后可立即用于检测,也可以 2℃-8℃保存 3 天,-20℃保存 6 个月,-70℃保存 12 个月。样本避免反复冻融,冻融次数不能超过 5 次,采用冰袋低温运输不能超过 3 天。裂解样本在-20℃可保存 1 个月。

【检验方法】

1. 试剂准备(试剂准备区)

取出试剂盒,在室温下融化并振荡混匀后,低速离心 10 秒,计算需准备反应试剂人份数(n =样本数+2 管对照)。每人份反应体系配制如下:

反应液配制表(每人份)

反应液组份	加量(μ l)/每人份
淋球菌/沙眼衣原体/解脲脲原体反应液	18
酶混合液	2
总体积	20

计算上述各试剂的使用量,加入一适当体积的离心管中,充分混匀后,按 20 μ l 的量分装到 n 个 PCR 反应管中。

2. 样本处理(样本处理区)

2.1 核酸提取:

取 200 μ l 待测样本用硕世生物的核酸提取或纯化试剂(货号:SDK60103)或 QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, NO. 51304),按试剂盒说明书操作。注:内标 β -globin 为人内源性基因,非外源加入提取。

2.2 加样:

在上述准备好的 PCR 反应管中分别加入处理好的待测样本核酸、空白对照、阳性对照各 5 μ l,终体积为 25 μ l/管,盖紧管盖,瞬时低速离心。

3. PCR 扩增检测(核酸扩增区)

3.1 将反应管放入荧光 PCR 扩增仪进行扩增检测。

3.2 循环参数设定(请参照各类仪器的操作说明进行设置)

步骤		温度	时间	循环数
1	UDG 酶处理	37℃	5 分钟	1 cycle
2	预变性	95℃	5 分钟	1 cycle
3	变性	95℃	10 秒	40 cycles
	退火、延伸及检测荧光	55℃	40 秒	
步骤 3 中 55℃时荧光检测，检测通道: FAM、VIC、ROX、CY5				

*注:ABI 系列荧光 PCR 仪校正选 None,淬灭基团选 None。

3.3 结果分析

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,调整空白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 界面察看结果。

【阳性判断值】

利用受试者工作曲线(ROC)确定本试剂盒的淋球菌临界 Ct 值为