

TORCH核酸检测试剂盒（基因芯片法）说明书

【产品名称】

通用名称：TORCH核酸检测试剂盒（基因芯片法）

【包装规格】21人份/盒

【预期用途】

本试剂盒用于定性检测全血样本中的弓形虫(TOX)、风疹病毒(RV)、巨细胞(CMV)、单纯疱疹 I / II (HSV I / II)型5种病原体核酸。

TORCH是T (Toxoplasma)是弓形虫, R(Rubella.Virus)是风疹病毒, C(Cytomegalo.Virus)是巨细胞, H(Herpes.Virus)即是单纯疱疹 I / II型的五种病原体的总称。孕妇感染弓形虫之后, 受到感染后的胎儿会出现明显的智力损伤和精神障碍等后遗症。孕妇感染巨细胞病毒(CMV)后, 严重的宫内感染可导致宫内死胎和新生儿死亡。孕妇感染风疹病毒是一种可经呼吸道传播, 可经胎盘, 也可经密切接触传播的急性病毒感染。感染风疹病毒感染主要会导致患儿早期出现: 先天性耳聋、智力障碍、心脏发育畸形和眼睛异常等先天性畸形类疾病。单纯疱疹病毒感染经产道感染最常见, 经产道感染的新生儿, 病死率高达70%以上。幸存者多数遗留中枢神经系统后遗症。该产品的检测只代表对患者体内病原体检测的分析指标之一, 不能作为患者诊断或者排除的指标, 对患者的治疗临床医生应根据多方检查结果综合考虑。

【检验原理】

本品系采用PCR技术扩增的特定基因片段, 再与芯片上特异性核酸探针杂交以检测特定的基因位点的序列, 使基因芯片杂交信号放大到肉眼判读的水平, 只需要本试剂盒就可准确检测出5种病原体的存在及类型。

【主要组成成分】

组成	规格	数量	成份
试剂 I			
检测芯片	3人份/片	7	氨基化芯片基片、寡核苷酸
直用型显色液	2mL	1	显色底物
100×洗涤液A	10mL	1	十二烷基硫酸钠、柠檬酸钠、氯化钠
200×洗涤液B	10mL	1	柠檬酸钠、氯化钠
试剂 II			
直用型PCR反应液1	20μL/管	21	dNTPs、引物、DNA聚合酶、UNG酶
直用型PCR反应液2	20μL/管	21	dNTPs、引物、DNA聚合酶、UNG酶
直用型PCR反应液3	20μL/管	21	dNTPs、引物、DNA聚合酶、UNG酶、MMLV酶
直用型杂交液	2mL	1	柠檬酸钠、氯化钠、十二烷基硫酸钠、曲拉通X-100
直用型BW反应液	2mL	1	柠檬酸钠、氯化钠、辣根过氧化物酶配体
阳性对照品	100μL	1	TORCH基因CMV阳性DNA
阴性对照品	100μL	1	0.9%氯化钠

不同批号的试剂不能混用。

【储存条件及有效期】

试剂I组成成份在2℃~8℃下可保存12个月; 试剂II组成成份在-15℃以下可保存12个月。

试剂开封后要在一个月之内使用完毕; 试剂II组份反复冻融不能超过3次;

当未采用冷链运输时, 试剂I和试剂II可以采用干冰加上冰袋运输, 包装时泡沫盒中放入实时温度记录仪, 对运输过程温度进行实时监测, 运输温度不高于0℃, 运输时间不超过7天。若接收时温度高于0℃, 或者运输超过7天, 可拒收本产品。

生产日期及失效日期见标签。

【适用仪器】PCR扩增仪(Hema 9600、ABI2720、Bio-Rad CFX96); 基因芯片扫描仪(Sinochips-PGA)

【样本要求】

1、样本类型: 全血标本。

2、样本采集、保存:

样本采集: 使用乙二胺四乙酸钠、乙二胺四乙酸钾或枸橼酸钠抗凝管采集至少400μL全血后, 将样本静止放置。

标本保存: 样本一经采集, 则应尽快送至检测实验室; 如若不能马上送检样本, 请于4℃保存, 请在2个星期之内进行检测。过程中避免反复冻融。

3、注意事项: 样本收集后, 标本标示的名称须与患者一一对应。取样后, 切记拧紧取样管盖。

【检验方法】

1. 样品处理

TORCH病原体核酸(DNA/RNA)的提取采用商业化的提取试剂盒, 建议使用本公司生产的《核酸提取或纯化试剂》(备案号为: 粤珠械备20160040号), 或广州美基生物科技有限公司生产的《核酸提取或纯化试剂》(货号: IVD3303-21, 规格: 21人份/盒)。

提取总核酸的浓度和质量应通过微量紫外分光光度计测定OD₂₆₀和OD₂₈₀吸光值, 并计算浓度OD₂₆₀/OD₂₈₀所提取的总核酸质量在1μg以上; DNA的OD₂₆₀/OD₂₈₀值必须在1.7~2.0之间; 未能及时检测的核酸样本低于-70℃保存, 保存时间不能超过6个月。

2. 目的片段的PCR扩增

2.1 取出直用型PCR反应液1、直用型PCR反应液2、直用型PCR反应液3, 在室温(15~35℃)下融化并2000rpm离心10s备用;

2.2 按顺序放置, 取上述制备的模板5μL, 按顺序加入上述直用型PCR反应液1~3中;

2.3 将上述PCR扩增管2000rpm离心10s, 避免管壁挂珠;

2.4 按照以下条件进行扩增: 37℃ 2min; 50℃ 15min; 95℃ 15min; 94℃, 30s→56℃, 30s→72℃, 30s 进行50个循环; 72℃延伸5min后4℃密封保存备用。

3. 基因芯片检测

3.1 分别将100×洗涤液A、200×洗涤液B用双蒸水稀释得到1×洗涤液A、B(均可以在室温下存放);

3.2 将PCR扩增产物99℃加热5min, 迅速置于冰浴中5min;

3.3 取10μL上述冰浴中PCR扩增产物至90μL直用型杂交液中, 混匀; 揭开芯片保护膜, 将上液加入基因芯片孔中, 覆盖芯片表面(必要时适当增加杂交液使其完全覆盖芯片表面);

3.4 加样后的芯片45±1.5℃水浴60min, 然后在室温下放置5min, 使其冷却至室温;

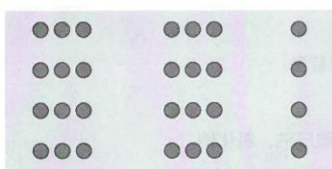
- 3.5 用预热至 $40\pm 1.5^{\circ}\text{C}$ 的1×洗涤液A浸泡芯片1min;最后,用空气将芯片表面液滴吹净(注意:一定要迅速将表面液滴吹净);
- 3.6 取直用型BW反应液适量(90 μL ~120 μL)覆盖于芯片表面,并在30~37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下反应15min;
- 3.7 用预稀释的1×洗涤液B(15~35 $^{\circ}\text{C}$)冲洗芯片3次;用洁净空气吹干芯片表面;
- 3.8 将直用型显色液1~2滴(120~130 μL)滴加在干燥的芯片表面,并使其覆盖全片,避光常温下反应10min;
- 3.9 用预稀释的1×洗涤液B(15~35 $^{\circ}\text{C}$)冲洗芯片3次,用洁净空气吹干芯片表面,应用芯片自动分析报告系统进行判读或数码照相后自行判读。

【阳性判断值】

1. 本产品为定性产品,需使用基因芯片摄像仪对结果进行判读。
2. 阴阳性结果的确定:使用基因芯片摄像仪检测,相应位点的信号灰度值与背景灰度值差大于等于4,判定结果为阳性,反之,小于4判定结果为阴性。
3. 信号斑点颜色有深浅,均代表阳性,不能根据颜色深浅进行定量。本芯片探针为3复点点样,每个探针只需2个点出信号即判为阳性。
4. 阳性对照探针:芯片上用来监控杂交过程是否正常的探针,若杂交反应正常,阳性对照探针点出现。
阴性对照探针:芯片上用来监控探针杂交特异性的对照探针,在检测中应为阴性。
质控探针:芯片上用来监控芯片表面化学修饰、PCR扩增反应、芯片杂交环节的质量的探针,在检测中应为阳性。
空白对照:芯片上用来监控探针点样过程中是否存在污染的探针,在检测中应为阴性。

【检验结果的解释】实验有效性:TORCH检测芯片阴性对照检测为阴性、阳性对照检测为CMV阳性、阳性对照探针至少3个显示为阳性则分型检测结果有效。

TORCH检测芯片探针矩阵示意图如下:



阴性对照探针	RV	阳性对照探针
TOX	CMV	阳性对照探针
HSV I	HSV II	阳性对照探针
空白对照	质控探针	阳性对照探针

【检验方法的局限性】

1. 检测结果仅供临床医生参考,不作为临床诊治的唯一依据。
2. 对结合其他诊断依据,进行综合判断后存有疑问的结果,建议复查和其他核酸检测方法重新进行复核。
3. 未经验证的其它干扰或PCR抑制因子等可能会导致假阴性结果
4. 本产品只针对弓形虫、风疹病毒、巨细胞病毒、单纯疱疹 I / II 型病毒进行检测,其他类型的病原体不在检测范围内。

【产品性能指标】

1. 最低检测限:最低检测限度为 $5\times 10^3\text{copies/mL}$ 。
2. 阴阳性参考品符合率:本试剂盒检测阴性参考品的符合率100%;检测阳性参考品的符合率100%;与人乳头瘤病毒(HPV)、乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、衣原体感染(CT)、解脲支原体(UU)、梅毒螺旋体、淋球菌(NG)、EB病毒,甲型肝炎病毒,水痘-带状疱疹病毒,肺炎支原体,甲型流感病毒,乙型流感病毒无交叉。
3. 重复性:参考品10次重复,阴阳性结果无差异。
4. 干扰情况:使用肝素抗凝管采血可能导致结果为假阴性结果;不合理的样本采集、转运及处理均有可能导致假阴性结果。
5. 本产品通过对1492例临床试验分别对TORCH样本阴阳性统计和弓形虫、风疹病毒、巨细胞病毒、单纯疱疹 I,单纯疱疹 II 型病毒五种病原体分型统计,检测结果已批准上市试剂对比,阳性样本符合率为100%,与已批准上市试剂的阴性符合率为100%,与金标准(克隆测序法)对比,阴性符合率在99.7%,与(克隆测序法)对比阳性符合率为100%,总符合率为99.8%。

【注意事项】

1. 有关实验室管理,请严格按照行业行政主管部门颁布的有关基因扩增检验实验室的管理规范执行。
2. 芯片杂交区应与模板处理及PCR扩增区严格分开。
3. 各区物品均为专用,不得交换使用,避免污染,每次实验完后立即清洁工作台。
4. 加样时应使样品完全放入反应液中,不应有样品粘附于管壁上,加样后应尽快盖紧管盖。
5. 扩增完毕请立即取出反应管,密闭在专用塑料袋中,放于指定地点,等待统一处理。
6. 使用后的扩增产物应在取样后置于密封袋中。
7. 实验中用过的吸头请直接打入盛有1%的次氯酸钠的废物缸内,并与其他废弃物一同灭菌后丢弃。
8. 工作台及各种实验用品应定期用1%的次氯酸钠、75%酒精或紫外灯进行消毒。
9. 不同批号的试剂请勿混用,并请在有效期限内使用。

【参考文献】

《体外诊断试剂说明书编写指导原则》、《体外诊断试剂注册管理办法》《体外诊断用DNA微阵列芯片》

【基本信息】

注册人/生产企业名称:珠海赛乐奇生物技术股份有限公司

住所:珠海市唐家湾镇金峰西路24号2栋4层

联系方式:电话:0756-3627708 传真:0756-3318499 网址: <http://www.sinochips.cn> 邮政编码:519085

售后服务单位名称:珠海赛乐奇生物技术股份有限公司

联系方式:电话:0756-3627708 传真:0756-3318499 网址: <http://www.sinochips.cn> 邮政编码:519085

生产地址:珠海市唐家湾镇金峰西路24号2栋4层、3号楼3104、6号楼6501

生产许可证编号:粤食药监械生产许20081575号

【医疗器械注册证书编号/产品技术要求编号】国械注准20173403252

【说明书核准及修改日期】2020年6月30日

