

肺炎衣原体核酸检测试剂盒（荧光 PCR 法）使用说明书

【产品名称】

通用名称：肺炎衣原体核酸检测试剂盒（荧光 PCR 法）

【包装规格】

24 人份/盒

【预期用途】

本产品用于体外定性检测人鼻咽拭子样本中的肺炎衣原体DNA。

本试剂盒用于体外定性检测肺炎衣原体 DNA，检测灵敏度为 5.0×10<sup>2</sup>copies/mL，用于肺炎衣原体感染的辅助诊断，并应用于临床治疗中辅助治疗的观察。适用样本类型为鼻咽拭子。

【检验原理】

本试剂盒根据体外基因扩增原理，利用荧光共振能量转移实时跟踪荧光 PCR 检测方法，对肺炎衣原体进行 DNA 特异性分析，为临床检验提供实验室辅助诊断的依据。

【主要组成成分】

| 组成成分       | 规格       | 数量 | 生化组成                                           |
|------------|----------|----|------------------------------------------------|
| 肺炎衣原体酶混合液  | 15μL/支   | 1  | 水生栖热菌 DNA 聚合酶、尿嘧啶糖基化酶                          |
| 肺炎衣原体反应缓冲液 | 1.35mL/支 | 1  | 肺炎衣原体引物、肺炎衣原体探针、三羟甲基氨基甲烷盐酸盐、三羟甲基氨基甲烷、脱氧核糖核苷三磷酸 |

| 组成成分        | 生化组成    | 规格      | 数量 |
|-------------|---------|---------|----|
| 肺炎衣原体阴性对照   | 生理盐水    | 200μL/支 | 1  |
| 肺炎衣原体临界阳性对照 | 生理盐水、质粒 | 200μL/支 | 1  |
| 肺炎衣原体强阳性对照  | 生理盐水、质粒 | 200μL/支 | 1  |

【储存条件及有效期】

-20℃下避光保存，有效期 12 个月。开瓶后 4℃避光保存，不得超过 3 天。反复冻融次数不得超过 3 次。运输使用保温包装物，加放-20℃预冷低温冰袋，冰袋量不少于总体积的 20%，密封装箱运输，时间不超过 72 小时。

【适用仪器】

全自动医用 PCR 分析系统（GeneLight 9800）

【样本要求】

- 适用标本类型：鼻咽拭子。
- 采集：从鼻腔取样时，棉拭子应插入鼻孔内至鼻腭处，稍加压力旋转采集，用相同方法擦拭另一侧鼻孔；将采集标本后的棉拭子浸入预加 0.5mL 无菌生理盐水的离心管中；将分泌物洗涤到生理盐水中，将棉拭子充分挤干后丢弃，检测前应振摇标本管，使之充分混匀备用。
- 标本一经采集，应尽可能快的送至检测实验室。待测分泌物标本在 4℃保存，保存期不应超过 72 小时；在-20℃保存期一年，-70℃以下长期保存。

【检验方法】

1. 试剂准备（试剂准备区）

（1）取出肺炎衣原体混合液和肺炎衣原体反应缓冲液室温放置，使其充分溶解。

（2）如果一支肺炎衣原体反应缓冲液一次性用完，直接取 13.5μL 酶混合液加至肺炎衣原体反应缓冲液中，充分混合均匀，3000~5000g 离心 5 秒，移至标本处理区。

（3）不满 24 人份，则取干净离心管，配制反应体系（每人份配置体系：49.5μL 肺炎衣原体反应缓冲液+0.5μL 酶混合液）；按照需要计算好试剂用量，充分混合均匀后，3000~5000g 离心 5 秒，移至标本处理区。

2. 标本处理（标本处理区）

采用厦门安普利生物工程有限公司的核酸提取试剂（闽厦械备 20150083 号）。按待测标本数和对照品数，取样本管做好标记，分别加入裂解液 150 μ L，裂解液使用前应振摇混悬，然后分别加入待测标本或对照品 50 μ L，混悬，60 度加热 10 分钟；加入 25 μ L 裂解液 A0，混悬，室温静置 10 分钟；磁吸附 90 秒，去上清；加入 150 μ L 洗涤液，混悬，磁吸附 90 秒，去上清；加入 150 μ L 重复洗涤液，混悬，磁吸附 60 秒，去上清备用。

3. 加样（标本处理区）

步骤 2 制备的磁性颗粒分别用反应缓冲液 50μL 混悬，然后分别加入石蜡油 30μL 混匀，取 80μL 依次加入八联管中，混匀，稍微离心，置入荧光 PCR 扩增仪内。

4. 上机检测（扩增检测区）

1) 循环条件设置

38℃ 5 分钟，95℃ 2 分钟；进入以下循环：95℃ 15 秒，58℃ 50 秒（30 秒后读荧光），40 循环。

2) 仪器检测通道选择

荧光素设定为 FAM，荧光信号采集设在 58℃ 30 秒；具体设置方法请参考仪器使用说明书。

5. 结果分析条件设定

使用全自动医用 PCR 分析系统进行分析时，基线一般取 2~12 个循环的荧光信号作为基线。阈值可以根据仪器噪音

情况调整，设定原则以阈值线刚好超过正常阴性对照扩增曲线（无规则的噪音线）的最高点，且阴性对照 Ct 值=0 为准。

### 【检验结果的解释】

1. 阴性对照 Ct 值=0，强阳性对照 Ct 值≤20，临界阳性对照 Ct 值应大于强阳性对照且 Ct 值≤34，否则该次实验视为无效。
2. 如果检测样本 Ct 值≤38，判断为阳性，直接报告阳性。
3. 如果检测样本 Ct 值=0，判断为阴性，报告阴性。
4. 如果检测样本 Ct 值范围在 38<Ct≤40，样本重检。如果重检结果样本 Ct≤38，判断为阳性，报告阳性；如果重检检测样本 Ct 值=0 或>38，判断为阴性，报告阴性。

### 【检测方法的局限性】

样本检测结果和样本收集、处理、运送及保存质量有关，其中任何失误都将会导致假阴性结果。若果样本处理时没控制好交叉污染，可能出现假阳性结果。

### 【产品性能指标】

本试剂盒检测灵敏度为  $5.0 \times 10^2$  copies/mL。

根据临床考核，本试剂盒检出结果不受鼻咽部常见药物（咽喉宁喷雾剂、开喉剑喷雾剂、沙丁胺醇气雾剂）的干扰；本试剂盒与呼吸道常见病原体（甲型流感病毒、乙型流感病毒、人副流感病毒、呼吸道合胞病毒、呼吸道腺病毒、嗜肺军团菌）无交叉反应；本试剂盒与临床症状相似的病原体（肺炎支原体、溶血链球菌、肺炎链球菌、巨细胞病毒、金黄色葡萄球菌）不存在交叉反应；本试剂盒与核酸序列相近或有一定同源性的其他病原体（肺炎支原体、沙眼衣原体、鹦鹉热衣原体、生殖支原体）无交叉反应；本试剂盒与其他常见病原体或微生物（柯萨奇病毒 A 型、乳酸杆菌、埃可病毒、大肠杆菌）无交叉反应；白细胞对本试剂盒检测结果没有影响；样本脓液浓度达到 40%及以上时对检测结果会产生影响，样本黏液浓度达到 40%及以上时对检测结果会产生影响，采样时应避免采集到脓液、黏液；本试剂盒能够覆盖肺炎衣原体 A、B、C、D 四个基因型；本试剂盒精密度 CV 值不高于 5%（n=10）。

### 【注意事项】

1. 在实验前，应详细阅读试剂盒使用说明书。
2. 实验室应严格按照 PCR 基因扩增实验室的管理规范进行管理，实验操作人员必须经过卫生部临检中心组织的临床基因扩增实验室技术人员上岗培训并取得临床基因扩增实验室技术人员上岗证。
3. 实验过程严格分区进行：  
第一区：试剂准备区——准备扩增所需试剂；  
第二区：标本处理区——待测样本和对照品处理；  
第三区：扩增检测区——PCR 扩增检测。
4. 实验操作的各个阶段应使用专用的仪器设备，扩增检测区的物品及 PCR 产物严禁进入试剂准备区和标本处理区，以免造成污染。
5. 试剂准备及样本处理应在生物安全柜中进行。
6. 稍微离心是指利用离心机闪动离心，如离心机无闪动离心功能，可采用 3000g 离心 5 秒。
7. 在标本处理过程中，所涉及到的去上清步骤，请尽量吸去上清液，同时避免将沉淀吸掉，以免影响检测准确性。
8. 采集用品、实验操作所需消耗品应一次性使用。
9. 应将样本视为潜在的传染源，操作和处理均需符合相关法规要求：卫生部《微生物和生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》。
10. 工作台及各物品定期使用 10%次氯酸、70%酒精或紫外灯交替处理。
11. 本品仅用于外诊断。

### 【参考文献】

- [1]《体外诊断试剂说明书编写指导原则》
- [2]《临床基因扩增检验实验室管理暂行办法》
- [3]社区获得性肺炎诊断和治疗指南
- [4] Detection of Chlamydia pneumoniae and Chlamydia psittaci in sputum samples by PCR. Journal of clinical pathology.
- [5] Persistent infection with Chlamydia pneumoniae following acute respiratory illness. Clinical infectious diseases.

### 【基本信息】

注册人/生产企业名称：厦门安普利生物工程有限公司

住所：厦门市海沧区阳光路 10 号

联系方式：电话 0592-5656000 传真 0592-5656011 邮政编码：361022 网址：<http://www.amplly.com>

售后服务单位名称：厦门安普利生物工程有限公司

联系方式：电话 0592-5656000 传真 0592-5656011 邮政编码：361022 网址：<http://www.amplly.com>

生产地址：厦门市海沧区阳光路 10 号

生产许可证编号：闽食药管械生产许第 20100057 号

【医疗器械注册证编号】国械注准 201634000700

【说明书核准及修改日期】