

甲型流感病毒核酸检测试剂盒（荧光 PCR 法）

【产品名称】

甲型流感病毒核酸检测试剂盒（荧光 PCR 法）

【包装规格】

货号: AJ101-50; AJ101-25 规格: 50 T; 25 T 有效期: 1 年

【预期用途】

本试剂盒用于甲型流感病毒（FluA）的核酸定性检测、辅助诊断及流行病学监控。

【检测原理】

本试剂盒基于一步法 RT-qPCR 技术，选取甲型流感病毒特异性区域，设计特异性引物及荧光探针用于样本中病毒 RNA 的检测。PCR 检测体系包含内源性的内标引物和探针（RNase P 基因），通过检测内标是否正常来监测样本采集、提取过程，避免假阴性结果。

【产品组分】

组分货号	组分名称	AJ101-50	AJ101-25
ZAJ101-101	酶混合液	200 μL	100 μL
ZAJ101-102	扩增反应液	800 μL	400 μL
ZAJ101-104	阳性对照	100 μL	100 μL
ZA9000	阴性对照	500 μL	500 μL

【保存条件】

-20°C 避光保存，反复冻融 5 次以内不影响检测结果。

【适用仪器】

适用于 Bio-Rad CFX96、ABI 7500、ABIQ3/Q5/Q7、Roche 480II 等全自动荧光 PCR 检测仪。

其他未列出机型，为试剂盒尚未针对进行或未完成相关实验。如用户需要利用这类仪器开展本试剂盒检测工作，请联系我司技术部门。

【样本要求】

1. 样本种类：鼻/咽拭子、痰液、支气管肺泡灌洗液、水体、环境及纯培养物等标本。
2. 保存条件：采集的标本应及时送检，24 h 内检测可 4°C 保存，超过 24 h 应 -70°C 保存，尽量避免反复冻融。

【检测方法】

1. **样本处理-病毒样本 RNA 提取**
推荐使用商品化病毒核酸提取试剂。提取的 RNA 可短暂储存于 4°C，-20°C 以下长期保存，避免反复冻融。

2. qPCR 实验：

1) 试剂准备（在试剂准备区操作）

取所需试剂于 4°C 避光融化，混匀后瞬时离心。按所需反应次数（检测样品数+阳性对照+阴性对照）配制反应体系 Mix，加入 EP 管中混匀后瞬时离心，按 20 μL 分装至 PCR 反应管/板后转移至样本处理区。

组分	加入体积（μL）
扩增反应液	16
酶混合液	4
总体积	20

2) 加模板（在样本处理区进行）

在已加入反应体系 Mix 的 PCR 反应管/板上分别加入处理好的待测样本核酸、阳性对照、阴性对照各 5 μL，终体积为 25 μL。盖紧管盖或封板膜，混匀瞬时离心后置于荧光 PCR 检测仪扩增。

3) PCR 扩增（在扩增分析区进行）

步骤	温度	时间	循环数
逆转录	50°C	10 min	1
预变性	95°C	5 min	1
变性	95°C	10s	40
退火/延伸/收集荧光	60°C	40s	

a. 收集荧光检测通道选择 FAM、Cy5。

b. ABI 系列仪器中“Passive Reference”均设置为 None，所有仪器的“Quencher Dye”均设置为 None。

3. 结果分析

根据分析后图像调节基线 Start 值、End 值以及阈值线的 Value 值使曲线达到最佳，点击 Analysis 获得分析结果。

【质量控制】

本产品中 FAM 通道检测甲型流感病毒，Cy5 通道检测内标。

1. 每种检测靶标都需设阴阳对照，不同的靶标根据对应阴性调整基线阈值。
2. 阳性对照：所有对应通道有典型的 S 型扩增曲线，且 Ct 值 ≤ 30。
3. 阴性对照：所有对应通道无典型的 S 型扩增曲线。
4. 以上要求需在同一实验同时满足，否则本次实验无效，需重新进行。

【结果判读】

结合标本类型进行综合判断，多数情况按照以下方法判读：

1. FAM 检测通道检测 Ct 值 ≤ 36，检测结果为甲型流感病毒阳性；36 < Ct 值 ≤ 38，且有明显 S 型扩增曲线，需复检，若检测结果一致，则为阳性；否则为阴性。
2. Cy5 检测通道为内标对照。若 FAM 检测通道 Ct 值 ≤ 36 时，Cy5 通道无要求；若 FAM 检测通道无信号，且 Cy5 通道 Ct 值 > 36，请重新采集样本进行检测。

【检验方法的局限性】

1. 样品采集、运输、保存不当，试剂运输、保存、配制不当都可能影响实验结果或导致假阴性结果。
2. 实验室、试剂、样品污染，可能出现假阳性结果。
3. 病原体靶序列的变异或其他原因导致序列改变可能会导致假阴性结果。

【试剂盒性能指标】

1. 最低检测限：500 copies/mL。
2. 线性检测范围： $2 \times 10^3 - 1 \times 10^8$ copies/mL。
3. 特异性：对甲型流感病毒感染的各标本均能检出，且与其他常见病原无交叉。
4. 精密度：检测精密度参考品的变异系数 < 5%。

【注意事项】

1. PCR 操作各阶段应严格分区操作，避免交叉污染。
2. 各组分不得与其他产品或不同批号的相应成分进行互换。样本的处理应该严格按照生物安全规范操作。
3. 试剂盒阳性对照为含目的基因片段的质粒，均无潜在传染性，但操作时以上组分仍应视为传染性物质处理。
4. 本试剂盒仅用于科研使用，不作为临床诊断使用。

【说明书版本信息】AJ101-V251201