



荧光 PCR 沙眼衣原体（CT）检测试剂盒

PCR-Fluorescence Diagnostic Kit for *Chlamydia Trachomatis*
使用说明书

【前言】

本试剂盒采用聚合酶链式反应（PCR）结合 Taqman 荧光探针技术对分泌物拭子中的沙眼衣原体 (*Chlamydia Trachomatis*) 的特异性 DNA 核酸片段进行检测，本品对 CT 的检测灵敏度为 10 病原体/ml。（供研究使用）。

【规格】 20 人份，-20℃ 保存，有效期 6 个月

【试剂盒组成】

1	核酸提取液	600ul	5	阴性对照 (HBV)	10ul
			6	CT 定量阳性对照 1 号 1.0×10^6 copy/ml	10ul
3	CTPCR 反应液	480 μ l	7	CT 定量阳性对照 2 号 1.0×10^5 copy/ml	10ul
4	混合酶	40 μ l	8	CT 定量阳性对照 3 号 1.0×10^4 copy/ml	10ul

【适用仪器】

本试剂盒适用于 PE5700、7700、LightCycler、FTC-2000 等荧光 PCR 仪。

【样本采集和处理】

生殖泌尿道拭子的采集方法为：高压灭菌的特制棉拭子，伸入男性尿道口或女性宫颈口上 1-2 厘米，旋转一周，停留约 10 秒钟后取出，将棉拭子头放入盛有 1 毫升无菌生理盐水的样本冷冻保存管中，从颈部剪断拭子，使拭子头浸入盐水中，反复漂洗。（漂洗液在 -20℃ 保存，长期在 -70℃ 保存）

标本漂洗液（试剂盒中的阳性对照、阴性对照可以不要处理，直接使用）的处理方法为：各取 200 μ l（冻存标本使用前在室温溶解，旋涡振荡 10 秒），15,000rpm 离心 10 分钟，用移液器吸弃上清，保留沉淀。在上述离心沉淀中加入 30 μ l 核酸提取液，振荡器上振荡 10 秒后 100℃ 沸水浴 10 分钟后，15,000rpm 离心 10 分钟，取上清液 4ul 做 PCR 扩增。

【试剂准备】

按样品数（样品数 = 血清标本数 + 对照品数 + 定量阳性对照 3 个）n 取 CT PCR 反应液 n × 24ul、混合酶 n × 2ul 混于一离心管中，旋涡振荡器上振荡混匀 10 秒，按每管 26ul 分装于反应管中。将上述处理好的标本上清液和定量阳性对照 1 至 3 号（务必振荡混匀数秒）各取 4ul 分别加入反应管中，混匀，低速离心数秒，立即进行 PCR 扩增反应。



【PCR 扩增】

● FTC2000、PE5700、7700、icycler 荧光仪的程序设置

37℃反应 2 分钟，然后 93℃保温 5 分钟，再按 93℃30 秒→55℃30 秒→72℃40 秒循环 40 次。

● lightcycler 荧光仪的程序设置

反应管置于 LightCycler 自动荧光 PCR 仪上，37℃反应 2 分钟，93℃2 分钟，再按 93℃5 秒→55℃10 秒→72℃20 秒循环 40 次，每个循环的升降温速率为 20℃/S，每个循环在 60℃30 秒处进行荧光检测设置。

【结果分析与判断】

1、基线设定

1.1 PE5700、7700、FTC2000:

分析前把参比荧光定为 TAMRA，如果没有 Ct<16 的强阳性标本，就选 3-15 个循环的平均荧光信号为基线分析；如果有 Ct<16 的强阳性标本，就将此标本定为 HBV DNA>10¹⁰ copy/ml，并将此样品从数据库中剔除，再以 3-15 个循环的平均荧光信号为基线再分析 Ct。

1.2 iCycler

基线一般按照自设值（2-10）即可，在实验结束后，选择 PCR baseline subtract 选项扣除基线值。若某些曲线出现了规则的剧烈的跳动，应视为非正常情况，将其从结果中剔除（击活 select wells，将此孔彩色点去，然后选择 display wells）并注意调整坐标，使所有曲线都在坐标以内。

1.3 lightcycler

用荧光记数值 F1/F2 读取结果。基线设定原则以超过正常阴性对照扩增曲线的最高点，且 Ct 值不出现任何数值为准（一般在 0.001-0.05 范围内）。

2、阈值设定

以刚好高于阴性对照品的扩增曲线最高点，且阴性对照品 Ct=40 或 0 为原则，调整起始阈值。



上海闪晶分子生物科技有限公司

地址：上海市闵行区北桥镇吴河路328号A栋2楼

邮编：201109

联系：市场部

电话：5446 0832 800-988-1995

E-mail:master@shinegene.org.cn

网址：www.shinegene.org.cn

