

PN.0000063

基孔肯雅病毒核酸检测试剂盒(荧光PCR法)（RUO）使用说明书
(本试剂仅用于科研，不用于临床诊断)

1 产品名称

基孔肯雅病毒核酸检测试剂盒(荧光PCR法)（RUO）

2 包装规格

100人份/盒

3 预期用途

本产品用于体外定性检测病毒培养物、全血、血清、血浆、脑脊液、蚊虫匀浆液、组织培养物样本中的基孔肯雅病毒的核酸。
基孔肯雅病毒（Chikungunya virus, CHIKV）是一种由蚊子（主要是埃及伊蚊和白纹伊蚊）传播的病毒，引起以突发高烧和剧烈关节疼痛为特征的急性传染病。
本试剂仅用于科研，不用于临床诊断。

4 检测原理

本试剂盒利用一步法实时荧光RT-PCR技术，以基孔肯雅病毒核酸中的保守序列为靶区域，在双基因区段（覆盖3种基因型：西非型、中-东-南非型和亚洲型）设计特异性引物及探针，通过检测荧光信号的变化，对样本中的基孔肯雅病毒核酸进行定性检测。试剂盒同时包含内源性内标引物及探针（B2M基因），对提取和检测过程进行监控。

5 主要组成成分

试剂名称/管盖颜色	主要成分	规格
CHIKV反应液（棕色）	DNA聚合酶、逆转录酶、UNG酶、引物、探针、dNTP、缓冲成分等	1000 μL/管
CHIKV阳性对照（黄色）	含基孔肯雅病毒和内标的靶基因	1000 μL/管
CHIKV阴性对照（白色）	含内标	1000 μL/管

注：
1)使用前请先充分融化并摇匀，不同批号试剂盒内的试剂不可互换使用。
2)试剂盒以外的设备和材料：PCR管（0.1 mL/0.2 mL）、离心机、涡旋混匀仪、移液器等。

6 储存条件及有效期

储存条件：-25℃~-15℃保存；
有效期：12个月。

7 适用仪器

适配SLAN-96P全自动医用PCR分析系统、Gentier 96R全自动分析系统等市面上主流的荧光定量PCR仪。

8 样本要求

1. 样本类型：病毒培养物、全血、血清、血浆、脑脊液、蚊虫匀浆液、组织培养物样本。
2. 样本的保存：样本采集后应立即送检。如需要长期保存，样品应保存在-70℃及以下，避免反复冻融。

9 检验方法

1. 样本核酸提取
根据核酸提取或纯化试剂说明书要求提取核酸，CHIKV阳性对照和CHIKV阴性对照作为样本各取100μL进行提取。
2.RT-PCR扩增
1)按以下比例在96孔样品板//八联管/PCR管加入试剂和样品

RT-PCR反应试剂	量/反应
CHIKV反应液	10 μL
核酸模板	15 μL
总体积	25 μL

2)混匀后根据选用的不同仪器按以下温度进行热循环反应：

步骤	温度(℃)	时间(分钟:秒)	循环数	收集荧光信号
1	95	03:00	1	否
2	95	00:20	1	否
3	95	00:03	45	否
	58	00:10		是

3)荧光定量PCR仪检测通道选择

通道	检测靶标
FAM	基孔肯雅病毒
VIC	内标

反应体积（Sample Volume）选择25μL；

3. 结果分析

反应结束后自动保存结果，根据分析后图像调节各检测通道的基线（Baseline）和阈值（Threshold），点击分析自动获得分析结果，读取检测结果。

4. 质量控制

1. 阴性对照：VIC通道的Ct值≤35，其他通道无扩增曲线或Ct值>40。
2. 阳性对照：所有通道的Ct值均≤35。
3. 以上两项需在一次实验中同时满足；否则，本次实验无效，实验应重新进行。

10 阳性判断值

本试剂盒检测基孔肯雅病毒靶标Ct值的阳性判断值为40，内标Ct值的阳性判断值为40。

11 检验结果的解释

1. 当检测结果中VIC通道的Ct值≤40，其他通道无扩增曲线或Ct值>40，则样本判断为阴性；
2. 当检测结果中FAM通道有明显的扩增曲线且Ct值≤40，则样本判断为基孔肯雅病毒阳性；
阳性样本对VIC通道的Ct值不作要求。
3. 当检测结果中所有通道均无扩增曲线或Ct值>40，则需重新取样检测。

12 检验方法的局限性

1. 本试剂盒的检测结果仅供参考。
2. 不合理的样本采集、转运及处理、样本中病毒滴度过低均有可能导致假阴性结果。
3. 待测靶序列的变异或其他原因导致的序列改变可能会导致假阴性结果。
4. 未经验证的其他干扰或PCR抑制因子，可能会导致假阴性结果。
5. 样本处理时没有控制好导致的交叉污染，可能出现假阳性结果。

13 产品性能指标

1. 阳性/阴性符合率
使用企业阳性/阴性参考品进行检测，结果符合企业阳性/阴性参考品的规定。
2. 检出限
基孔肯雅病毒的检出限为150 copies/mL。
3. 重复性
使用企业重复性参考品进行检测，结果符合企业重复性参考品检测结果：产品的批内Ct值的变异系数(CV，%)不高于2.0%，批间不高于3.0%。
4. 交叉反应
试剂盒与人基因组、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌、登革病毒、麻疹病毒、风疹病毒、肠道病毒、寨卡病毒、乙脑病毒、单纯疱疹病毒、肺炎支原体无交叉反应。

14 注意事项

1)本试剂盒仅用于科研，不能用于体外诊断。
2)实验前请仔细阅读本试剂盒说明书，严格按操作步骤执行，不可变更。
3)使用本试剂盒时，应遵循临床基因扩增实验室的技术规范进行操作。实验室应进行严格的分区，各区的仪器、耗材、试剂等不能交叉使用。检测过程中用到的所有耗材如离心管、吸头等均为无菌且无核酸酶，推荐使用带滤芯的吸头。
4)实验人员应接受过专业培训并具备相关的实验操作资质；实验室应具备合理的生物安全防护设施及防护程序；操作人员需穿实验服、佩戴口罩与一次性无粉乳胶手套操作；操作过程中要仔细、干净，防止交叉污染。
5)为了避免样本中任何潜在的生物危险，检测样品应视为具有传染性物质，避免接触到皮肤和粘膜；样本的处理建议在可防止气溶胶外流的生物安全柜中操作，样本操作和处理均需符合相关法律法规要求。
6)生物安全实验室经消毒处理后的废弃物的处置须符合国家、地区和地方有关规定，在设计生物危害废物处理、运输和废弃的规程时，必须参考最新版的相关文件。

15 标识的解释

标识	解释
	查阅使用说明
	温度极限
	避光
	批号
	生产日期
	有效期

16 基本信息

注册人/生产企业名称：宁波海尔施基因科技股份有限公司
住所：浙江省宁波市科技园区明珠路396号
联系方式：0574-27978799

售后服务单位：宁波海尔施基因科技股份有限公司
住所：浙江省宁波市科技园区明珠路396号
联系方式：0574-27978799

生产地址：浙江省宁波市科技园区明珠路396号1号楼，5号楼1层；
浙江省宁波高新区清逸路216弄6幢6号一层、M层、二层、三层、四层

17 说明书核准日期及修改日期

核准日期：2025-07-29