

碳青霉烯类耐药菌核酸多重检测试剂盒(PCR-荧光探针法)

使用说明书

(使用前请详细阅读本说明书)

**【产品名称】**  
通用名称: 碳青霉烯类耐药菌核酸多重检测试剂盒(PCR-荧光探针法)  
英文名称: Multiplex PCR Detection Kit for Carbapenem-Resistant Pathogenic Organisms (Fluorescent Probe Assays)  
**【包装规格】** 48 测试/盒  
**【产品编号】** FZ027BF2  
**【产品简介】**

本试剂盒仅适用于环境等样本中的碳青霉烯类耐药菌株的定性检测。实验结果仅供基础研究参考, 不作为临床诊断依据。

**【检测原理】**  
本试剂盒基于 Real Time PCR 技术, 可同时检测三种碳青霉烯类耐药机制相关的β内酰胺酶 (A 类: 肺炎克雷伯碳青霉烯酶; B 类: 新德里β内酰胺酶金属酶; D 类: 苯唑西林酶-48) 基因。针对 *KPC*、*NDM-1* 以及 *OXA-48* 等三种耐药基因, 只需往检测体系中加入待检样品核酸, 即可进行扩增反应。在发生扩增过程中, 荧光探针与目的基因片段结合, 可被 *Taq* 酶分解并产生荧光信号, 此时荧光定量 PCR 仪可识别该荧光信号, 同时根据其强弱变化绘制出相应的实时扩增曲线, 进而判定β内酰胺酶类型。

| 组分名称 | 规格×数量           |
|------|-----------------|
| 裂解液  | 1 mL×2 管        |
| 阳性对照 | 200 μL×1 管 (暂无) |
| 阴性对照 | 200 μL×1 管      |
| 预混液  | 1 mL×1 管        |
| 说明书  | 1 份             |

**【储存条件与保质期】**  
-20℃及以下避光储存, 有效期为 12 个月,

避免反复冻融。冷冻条件下运输。  
**【灵敏度】**  
单通道最低检验限达到 10~500 cfu/Test。  
**【所需其他材料和适用仪器】**  
荧光定量 PCR 仪 (具有能够检测 FAM、VIC、Cy5 标记的荧光通道)、高速离心机、移液器、移液枪头及离心管等。  
**【使用指南】**

- 样品前处理:** 使用 1 μL 接种环刮取分离新鲜培养 18 h~24 h 的待鉴定的可疑菌落, 悬浮到含 30 μL 裂解液或者无菌水的 0.2 mL 无菌离心管中, 充分悬浮菌体, 轻弹管壁消除气泡, 99℃加热 10 min; 12000 r/min 离心 15 min, 上清即为粗提的 DNA, 可转移至 0.2 mL 无菌离心管中, 在-20℃下可长期保存。也可以选择商业化的细菌基因组提取试剂盒进行提取。
- 加样、反应**
  - 按照需求取 n 个 PCR 反应管 (n=1 管阴性对照+待检测样品数+1 管阳性对照), 从试剂盒中取出预混液, 充分融化, 涡旋后短暂离心, 以上每管加入 20 μL 预混液, 待用。
  - 向上述 n 个反应管中分别加入阴性对照、待测样品 DNA、阳性对照各 5 μL, 总反应体积为 25 μL。盖紧管盖, 短暂离心, 立即进行 PCR 扩增反应。
  - PCR 反应体系为 25 μL, 取 FAM、VIC、Cy5 检测通道, 在反应阶段 2 中 60℃时收集荧光信号, 具体程序如下:

| 反应阶段 | 温度  | 时间     | 信号收集 | 循环数 |
|------|-----|--------|------|-----|
| 1    | 95℃ | 1min   |      | 1   |
| 2    | 95℃ | 10 sec | }    | 40  |
|      |     |        |      |     |

|     |        |   |
|-----|--------|---|
| 60℃ | 40 sec | √ |
|-----|--------|---|

注：在反应阶段 2 中 60℃时收集荧光信号，对于多通道荧光 PCR 仪，取荧光素“FAM”、“VIC”、“Cy5”为信号采集通道，淬灭基团选择“None”，染料校正选择“None”。

### 3. 结果

一般情况下，可通过软件自动设定的基线、阈值等直接读取检测结果。如需调整，可根据所使用仪器的自身情况（如噪声等）以及选取的不同荧光通道进行调整。

#### 1) 质量控制：

阴性对照未出现明显的 S 型扩增曲线或 Ct 值 > 37，阳性对照（试用装暂未提供）出现 S 型扩增曲线且其 Ct 值 < 25。若阴阳性对照不同时满足上述条件，则本次检测结果无效，应重新检测或与产品技术支持联系。

#### 2) 结果判读：

根据反应所得 Ct 值判读，具体见下表：

| Ct 值  | 每个基因判读结果                             |
|-------|--------------------------------------|
| ≤30   | 对应的基因阳性。                             |
| 30~37 | 建议重新检测，若复测结果 Ct ≥ 37，则对应的基因阴性，反之为阳性。 |
| ≥37   | 对应的基因阴性。                             |

各致病型阳性判别标准：

| 通道  | 基因     | 结果判读                  |
|-----|--------|-----------------------|
| FAM | NDM-1  | NDM-1(+): 新德里β内酰胺金属酶； |
| VIC | KPC    | KPC(+): 肺炎克雷伯碳青霉烯酶；   |
| CY5 | OXA-48 | OXA-48(+): 苯唑西林 48 酶  |

❖ 多重 qPCR 检测可能出现不同荧光通道之间竞争抑制的问题，单基因分析时适当调整阈值线。

#### 【注意事项】

1. 实验环境条件和过程控制应参照 GB/T 27403《实验室质量控制规范食品分子生物学检测》规定执行。
2. 使用本试剂盒前请仔细阅读本说明书全文，检测过程中建议穿洁净工作服，戴一次性手套，使用的移液枪头需提前灭菌。
3. 试剂盒中试剂使用前需充分融化、混匀，短暂离心后使用，期间需尽量避免产生气泡，加样完毕后检查反应管是否盖紧，避免泄露造成污染。
4. 待检测样品基因变异可能会造成假阴性结果；待检测样品交叉污染、实验室环境污染以及试剂污染均会造成假阳性结果。
5. 不同批号的产品请勿混合使用，请在产品有效期内使用试剂盒，由于操作不当引起的误判，以及由此误判引发的其他事项，本公司概不负责。
6. 检测完毕后，根据相关规定正确处理废弃耗材以及扩增产物。

#### 【生产企业】

企业名称：广东环凯生物科技有限公司  
生产地址：广东省肇庆市高新区科技大街中 13 号  
邮政编码：526238  
技术热线：020-32078333-8877  
企业网址：<http://www.bhkbio.com>  
E-mail：[Webmaster@huankai.com](mailto:Webmaster@huankai.com)

#### 【说明书修改时间】

2025 年 05 月 19 日

## 碳青霉烯耐药菌核酸多重检测试剂盒(PCR-荧光探针法)标签

**试用装** 碳青霉烯类耐药菌核酸多重检测试剂盒(PCR-荧光探针法)  
**Multiplex PCR Detection Kit for Carbapenem-Resistant Pathogenic  
Organisms (Fluorescent Probe Assays)**

产品名称：碳青霉烯类耐药菌核酸多重检测试剂盒(PCR-荧光探针法)

规格：48 测试/盒

贮存：-20℃ 及以下避光储存

有效期：12 个月

编写：黄嘉慧

日期：2025.05.19