

沙眼衣原体 PCR 检测试剂盒

PCR Detection Kit for *Chlamydia trachomatis*

沙眼衣原体 (*Chlamydia trachomatis*) 属于衣原体科 (*Chlamydiaceae*)，是一种专性细胞内寄生的原核生物，革兰氏阴性，于 1955 年首次分离，1973 年正式命名。沙眼衣原体在全球范围内广泛分布，宿主限于人类，多数情况下感染后没有症状，不经治疗可引起沙眼、泌尿生殖道感染和性病淋巴肉芽肿，目前已知有 20 种血清型，不同血清型引起不同的疾病。血清型 A、B、Ba 和 C 只感染眼粘膜，引起结膜炎（沙眼），这些血清型很少能从泌尿生殖道分离得到；血清型 D、Da、E、F、G、H、I、Ia、J、Ja 和 K 可感染泌尿生殖道和眼部的粘膜组织，引起尿道炎、附睾炎、盆腔炎症、子宫内膜炎、阴道炎、异位妊娠、输卵管性不孕、直肠炎、结膜炎，以及新生儿肺炎等；血清型 L1、L2、L2a、L2b 和 L3 则具有侵入性，可穿过粘膜组织感染淋巴结，引起性病淋巴肉芽肿。沙眼衣原体是最主要的致盲性因素，也是最常见的性传播细菌，全球每年估计感染人数约为 5 亿人。沙眼衣原体可通过性传播，也可通过日常用品、器械等传播，游泳也可传播，母婴可以通过产道接触感染、宫内感染及产褥期感染进行传播。

沙眼衣原体可通过体外培养进行检测，特异性好，但敏感性低，试验较复杂。血清学方法可以采用直接荧光抗体检测、酶标免疫反应、补体结合试验、ELISA、凝集试验等。PCR 是一种体外酶促合成特异性 DNA 片段的方法，灵敏度和特异性均好于其他方法，检测速度快，只需两三个小时即可完成。定量 PCR 法与普通 PCR 法相比，不仅可以精确定量，而且操作更为方便，更少受环境污染的影响。

本试剂盒针对一个特异性的核酸内切酶基因序列设计引物，可以特异性识别沙眼衣原体所有血清型，经 BLAST 验证，与其他生物基因组没有交叉反应。本试剂盒检测了 11 种分布范围类似的细菌或病毒，未发现非特异性信号；对 274 个样本进行检测，获得 70 个阳性，灵敏度高于免疫荧光法（61 个阳性）。本试剂盒适用于沙眼衣原体的检测和鉴定。

货号：C-trac-20	规格：20 个反应
货号：C-trac-50	规格：50 个反应
货号：C-trac-100	规格：100 个反应

试剂盒成分：

组份	成份	体积（微升）		
		C-trac-20	C-trac-50	C-trac-100
组份 A（蓝色管）	Taq 酶，dNTPs，染料	200	500	1000
组份 B（绿色管）	上下游引物	40	100	200
组份 C（黄色管）	阳性对照样品	40	100	200
水（白色管）	无核酸酶超纯水	160	400	800

储存：-20℃ 保存，有效期一年。避免反复冻融。

操作步骤:

- 1, 用 DNA 提取试剂盒抽提拭子或组织等样本的 DNA, 检测浓度和纯度, 用于 PCR 实验。
- 2, 将本试剂盒各组份置于室温溶解, 注意避光; 手指轻弹管底以混匀, 然后瞬时离心使液体沉降至管底; 不可涡旋振荡。
- 3, 反应体积 20 微升, 参考下表配制反应体系, 每次实验需加一个阴性和一个阳性对照, 测试反应管可以有多个。将组份 A 和 B 混合好之后, 分装到 PCR 管中, 然后加入水, 最后加入 DNA 样本或组份 C。注意避免剧烈操作, 防止气溶胶造成样品之间的污染。配制完毕后瞬时离心以使液体沉至管底。

体积 (微升)	阴性对照管	阳性对照管	测试反应管*
组份 A	12.5	12.5	12.5
组份 B	2.5	2.5	2.5
组份 C	-	2.5	2.5 / - *
水	10	7.5	5.5 / 8 *
测试样品	-	-	2
总体积	25	25	25

*测试反应管中加入组份 C 可以判别测试样品中是否含 PCR 抑制物。把组分 C 加入测试反应管与样品共同反应, 有条带 (约 360 bp 和/或 574 bp) 出现则说明没有 PCR 抑制物, 无条带出现则说明有 PCR 抑制物, 此时应注意假阴性的可能性。

- 4, 反应条件: 95℃4 分钟, 然后以 95℃15 秒、65℃30 秒、72℃60 秒循环 35 次。
- 5, 琼脂糖凝胶电泳: 按常规方法准备好 2%琼脂糖凝胶, 加入 EB 或 Gold-View 等用于显色。每份反应液取 8 微升, 无须加入上样缓冲液, 直接加入凝胶加样孔中, 另留一孔加入 DNA marker (最好在 350-550 bp 区间有显示条带), 120 伏电泳约 20 分钟, 在紫外线下观察电泳结果, 阳性对照应在 574 bp 处有一条带, 阴性对照无条带, 衣原体条带在 351-368 bp 处。

注意事项:

- 1, 组份 A 中含有染料, 染料的加入不影响 PCR 反应, 反应产物可直接电泳, 节省时间。
- 2, 配制反应体系时, 尽量使用大体积移液。体积越大, 移液误差越小。
- 3, PCR 非常灵敏, 操作时产生的微量气溶胶即可造成样品间的相互污染, 因此须小心谨慎, 避免剧烈操作。加液时枪头最好贴着管壁, 所有管子用完即盖, 对照和待测样品留在最后一步加入, 取过样品的枪头用完即弃。使用无污染的一次性枪头, 最好是用带滤芯的枪头, 在通风洁净区域操作。如长期使用本产品, 请使用带滤芯的枪头, 并注意避免环境 DNA 污染枪头。操作时须佩戴无粉尘手套。
- 4, 最好对工作区域进行划分, 将不同步骤, 如 DNA 提取和 PCR 反应液的配制, 分开在不同阶段不同区域进行。
- 5, 本产品仅限于科研使用, 不作诊断用途。