8 芯片结果判定

8.1 实验结果成立条件

阳性对照品的检测结果为阳性结果。

阴性对照品的检测结果为阴性结果。

如果其中任何一个对照品结果错误，则同一次实验全部样品结果定为无效。

8.2 结果判定

8.2.1 阴性

检测结果为“未检测到分枝杆菌”。表示被检测样品中分枝杆菌检测阴性。

8.2.2 阳性

检测结果为检出某种分枝杆菌。表示样品中含该种的分枝杆菌。

8.2.3 异常结果处理

如果检测结果异常，建议对样品进行复检。如复检结果仍异常，则可推测该样品不在被检测的菌种范围内。

GB/T 29888-2013

版权专有　侵权必究

*

书号：155066·1-47904

定价：　14.00 元

ICS 11.040.55
C 30

中华人民共和国国家标准

GB/T 29888—2013

分枝杆菌菌种鉴定基因芯片检测基本要求

General requirements of DNA array-based mycobacteria identification

2013-11-12 发布　　2014-04-11 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会　发布

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
分枝杆菌菌种鉴定基因芯片检测基本要求
GB/T 29888—2013
*
中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100013)
北京市西城区三里河北街16号(100045)
网址 www.spc.net.cn
总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235
读者服务部:(010)68523946
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销
*
开本 880×1230 1/16 印张 0.5 字数 10 千字
2013年12月第一版 2013年12月第一次印刷
*
书号:155066·1-47904 定价 14.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107

增试剂混匀后,用微量离心机离心至管底。

根据样品数目,用微量加样器及加样器吸头将PCR扩增试剂分装于PCR离心管中,盖好管盖,然后将其转移至扩增反应混合物配制和扩增区。

在扩增反应混合物配制和扩增区内加入模板核酸。模板核酸包括已提取的待测样品核酸、阳性对照品或者阴性对照品。每次扩增时均使用阳性对照品和阴性对照品。

7.3.2 PCR扩增

在扩增反应混合物配制和扩增区进行,将PCR离心管置于核酸扩增仪中,设定热循环程序,进行PCR扩增。

7.3.3 芯片杂交

7.3.3.1 芯片的准备

芯片杂交过程在扩增产物分析区进行。在微阵列芯片杂交盒的底部加入水以保持杂交湿度,将芯片放入盒内,芯片正面向上,放上盖片。放置顺序如图1所示。

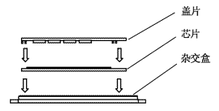

图1 放置芯片及盖片

7.3.3.2 杂交反应混合物的配制、变性及冰浴

根据被测样品数目准备离心管并编号。将杂交缓冲液充分混匀后,用微量离心机瞬时离心,取适量与PCR产物混合。

将杂交反应混合物加热变性。

杂交反应混合物变性完毕取出后,立即浸入冰水混合物中冰浴。

7.3.3.3 杂交反应

将杂交反应混合物从冰浴中取出,用微量加样器吹吸混匀,在准备好的芯片的盖片加样孔加入杂交反应混合物,迅速盖上杂交盒并密封。每个微阵列限加一份相应的杂交反应混合物。记录芯片编号、微阵列位置及对应的样品编号。

立即将密封好的杂交盒水平放入预热至杂交温度的恒温水浴锅或芯片杂交仪中杂交。

7.3.3.4 芯片洗涤液的准备

根据芯片数量配制芯片洗涤液,混合均匀并平衡至洗涤温度。

7.3.3.5 芯片的洗涤与干燥

杂交反应结束后,将杂交盒水平取出拆开,将芯片取出,进行芯片洗涤。芯片可使用芯片洗干仪根据操作说明进行洗涤;或手工洗涤,方法如下:将取出的芯片立即放在盛有平衡至洗涤温度的芯片洗涤液的芯片洗涤容器内的玻片架上,洗涤液应浸没芯片,在恒温摇床上洗涤。洗涤后干燥芯片并扫描。

7.3.3.6 芯片扫描和结果判读

使用微阵列芯片扫描仪和相应软件进行信号的读取及结果判读。

5.1.9　离心管(要求洁净无菌,PCR 适用)。
5.1.10　恒温摇床。
5.1.11　洗涤的芯片容器及玻片架。

5.2　试剂

5.2.1　分枝杆菌菌种鉴定试剂:一般包含芯片、盖片、PCR 扩增试剂、阳性对照品、阴性对照品、杂交缓冲液等组成部分,其中芯片应符合 YY/T 1153 的要求。
5.2.2　冰水混合物。
5.2.3　水。
5.2.4　临床样品液化试剂。
5.2.5　缓冲液。

6　样本采集与处理

6.1　培养物样本

6.1.1　固体培养基上的培养物样本

从合适的固体培养基上用环内径大于等于 1.5 mm 的接种环刮取一环培养物,即可进行后续的核酸提取。尽量避免挑取固体培养基。

6.1.2　液体培养基上的培养物样本

对于含有指示剂的液体培养基,取报告阳性结果的液体培养物即可进行后续的核酸提取;对于不含指示剂的液体培养基,取肉眼可识别混浊的液体培养物即可进行后续的核酸提取。

6.2　痰样本

取涂片结果阳性(结果大于等于一个加号)的痰样本加入临床样品液化试剂液化,然后离心弃上清,沉淀用缓冲液洗涤,即可进行后续的核酸提取。

6.3　其他类型样本

应根据样本类型,采用适宜的处理方式。

7　操作方法

7.1　实验室标准化设置与管理

实验室标准化设置与管理遵照执行国家有关规定。

7.2　核酸提取

在标本制备区进行。可使用各种经过验证不影响后续检测步骤的提取方法。提取后,将所得核酸转移至扩增反应混合物配制和扩增区。

7.3　检测

7.3.1　配制 PCR 反应体系

在试剂储存和准备区进行,根据被测样品数目准备 PCR 离心管,并预先标记样品编号。将 PCR 扩

前　言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。
本标准由博奥生物有限公司和中国疾病预防控制中心提出。
本标准由全国生物芯片标准化技术委员会(SAC/TC 421)归口。
本标准起草单位:博奥生物有限公司、中国疾病预防控制中心。
本标准主要起草人:郭永、祝令香、赵雁林、刘莹莹、王璨。