

基于 TaqMan Array Card 微流体芯片检测呼吸道病原微生物的全流程解决方案

在本应用文档中，我们将介绍以下内容：

- Applied Biosystems™ TaqMan™ Assay用于呼吸道病原微生物检测时，符合严格的性能标准要求
- Applied Biosystems™ TaqMan™ Array Card微流体技术可同时检测42种呼吸道微生物，包含用于检测细菌、病毒和真菌的44种Assay和4种对照
- 简化的集成式微生物检测工作流程，最大限度地缩短了手动操作时间。其中包括Thermo Scientific™ KingFisher™ 纯化系统、TaqMan Array Card微流体芯片以及Applied Biosystems™ QuantStudio™ 7或12K Flex实时荧光定量PCR系统

前言

上呼吸道感染和下呼吸道感染是由多种微生物引起的，包括RNA和DNA病毒、细菌甚至真菌，但通常这些病原体引起的临床症状相似。这些病原体的检测通常具有挑战性：免疫法仅检测少数呼吸道病原体且灵敏度低；基于培养的方法耗时耗力，并且常常因培养过程中微生物生长条件挑剔而导致假阴性结果。尽管分子检测的灵敏度较高，但大多数商业化分子检测产品的价格高昂，并且主要集中在进行病毒或细菌检测，缺乏根据实验室需求自定靶标的灵活性。此外，病毒和细菌病原体同时流行正日益受到人们关注；因此，更为有效的检测方法成为使用者的迫切需求。

为了满足全面覆盖呼吸道病原体检测的需求，我们推出了一种基于Panel形式的分子检测解决方案，可用于同时检测多种呼吸道病毒、细菌和真菌。Applied Biosystems™ TaqMan™ Array Respiratory Tract Microbiota Comprehensive Card (Applied Biosystems™ TaqMan呼吸道病原微流体芯片) 基于qPCR技术，操作简便并可检测较低浓度的病原微生物。检测内容灵活并可定制，满足任意实验室的检测需求。结合KingFisher纯化系统和QuantStudio 7或12K Flex实时荧光定量PCR系统使用时，为呼吸道病原体检测提供了一个完整的端到端解决方案(图1)。

为了满足全面覆盖呼吸道病原体检测的需求，我们推出了一种基于Panel形式的分子检测解决方案，可用于同时检测多种呼吸道病毒、细菌和真菌。Applied Biosystems™ TaqMan™ Array Respiratory Tract Microbiota Comprehensive Card (Applied Biosystems™ TaqMan呼吸道病原微流体芯片) 基于qPCR技术，操作简便并可检测较低浓度的病原微生物。检测内容灵活并可定制，满足任意实验室的检测需求。结合KingFisher纯化系统和QuantStudio 7或12K Flex实时荧光定量PCR系统使用时，为呼吸道病原体检测提供了一个完整的端到端解决方案(图1)。



呼吸道样品
(例如鼻咽抽吸物和拭子)

使用KingFisher纯化系统
自动进行核酸分离

预扩增后使用TaqMan Array Card
微流体芯片和QuantStudio 7或
12K Flex系统进行实时荧光定量
PCR分析

检测结果(是否存在病原)

图1. 呼吸道病原检测工作流程。使用KingFisher纯化系统和MagMAX病毒/病原体超核酸分离试剂盒(MagMAX Viral/Pathogen Ultra Nucleic Acid Isolation Kit)提取呼吸道样品中的总核酸并进行预扩增，然后使用QuantStudio 7或12K Flex系统和TaqMan™呼吸道病原微流体芯片进行实时荧光定量PCR分析。检测结果以42个靶标存在或不存在的形式提供，包括细菌、RNA和DNA病毒以及真菌，同时也包括*B. atrophaeus*和Xeno RNA等质控结果(如果使用)。

材料与amp;方法

分离呼吸道样品中的总核酸

MagMAX病毒/病原体超核酸分离试剂盒(Applied Biosystems™ MagMAX™ Viral/Pathogen Ultra Nucleic Acid Isolation Kit)用于分离呼吸道样品中的总核酸(TNA)。该试剂盒已经过优化，可用于提取呼吸道样品中不同微生物(RNA病毒、DNA病毒、细菌和真菌)的TNA。结果表明，该试剂盒非常适用于这些呼吸道样品类型，包括鼻咽拭子、鼻咽抽吸物和支气管肺泡灌洗液。使用Thermo Scientific™ KingFisher™ Flex纯化系统分离96个样品中的TNA大约需要1.5小时，包括30分钟的手动操作时间。

基于TaqMan Array Card微流体芯片检测呼吸道微生物

TaqMan Assay的设计经过了全面的呼吸道病原微生物靶序列生物信息学选择和分析，确保提供广泛的覆盖范围和高特异性。此外，使用合成模板和多种核酸提取样品(从整个微生物标准品中提取的核酸以及从临床研究样品中提取的核酸)对这些Assay进行了广泛的性能测试，确保获得高准确度、重现性、灵敏度和特异性结果。

TaqMan Array Card (Taqman微流体芯片)是一种包含8个上样口的384孔微流体芯片，设计用于同时执行384个实时荧光定量PCR反应，无需昂贵的自动移液系统。1μL孔中预包埋经干燥处理的靶标TaqMan Assay，允许同时运行多达8个样品，同时检测12-384个TaqMan Assay靶标。

本研究所使用的TaqMan呼吸道病原微流体芯片(TaqMan Array Respiratory Tract Microbiota Comprehensive Card)是一种高效、易用的TaqMan Array Card微流体芯片(采用48-assay格式)，可利用实时荧光定量PCR技术检测关键呼吸道病原微生物。该芯片包含已优化的42种呼吸道病(原毒、细菌和真菌类微生物)的TaqMan Assay。还包含通用提取对照*B. atropheus* (Applied Biosystems™ TaqMan™ Universal Extraction Control Organism)、通用RNA逆转录对照Xeno (TaqMan™ Universal RNA Spike In / Reverse Transcription (Xeno) Control)、人RNase P基因(*RPPH1*)对照以及人18S核糖体RNA基因对照(生产对照)。TaqMan呼吸道病原微流体芯片中包含靶标的完整列表见表1。

表1. 呼吸道微生物的分类。

微生物类型	核酸类型	Assay ID	Assay名称	微生物名称		
病毒	DNA	Vi99990001_po	AdV_1of2	腺病毒1/2*		
		Vi99990002_po	AdV_2of2	腺病毒2/2*		
		Vi99990003_po	HBoV	人博卡病毒		
		Vi06439647_s1	HHV3	人疱疹病毒3型(HHV3 — 水痘带状疱疹病毒)		
		Vi06439675_s1	HHV4	人疱疹病毒4型(HHV4 — 爱泼斯坦巴氏病毒)		
		Vi06439643_s1	HHV5	人疱疹病毒5型(HHV5 — 巨细胞病毒)		
		Vi06439627_s1	HHV6	人疱疹病毒6型(HHV6)		
	RNA	Vi06439671_s1	CoV_229E	人冠状病毒229E		
		Vi06439674_s1	CoV_HKU1	人冠状病毒HKU1		
		Vi06439673_s1	CoV_NL63	人冠状病毒NL63		
		Vi06439646_s1	CoV_OC43	人冠状病毒OC43		
		Vi06439631_s1	EV_pan	人肠道病毒		
		Vi06439669_s1	EV_D68	人肠道病毒D68		
		Vi99990004_po	hMPV	人类偏肺病毒(hMPV)		
		Vi06439642_s1	hPIV1	人副流感病毒1型(hPIV1)		
		Vi06439672_s1	hPIV2	人副流感病毒2型(hPIV2)		
		Vi06439670_s1	hPIV3	人副流感病毒3型(hPIV3)		
		Vi99990005_po	hPIV4	人副流感病毒4型(hPIV4)		
		Vi99990006_po	HPeV	人副肠孤病毒		
		Vi99990014_po	RSVA	人呼吸道合胞病毒A型(RSVA)		
		Vi99990015_po	RSVB	人呼吸道合胞病毒B型(RSVB)		
		Vi99990007_po	RV_1of2	人鼻病毒1/2*		
		Vi99990008_po	RV_2of2	人鼻病毒2/2*		
		Vi99990011_po	Flu_A_pan	甲型流感		
		Vi99990009_po	Flu_A_H1	甲型流感/H1-2009		
		Vi99990010_po	Flu_A_H3	甲型流感/H3		
		Vi99990012_po	Flu_B_pan	乙型流感		
		Vi99990013_po	Measles	麻疹病毒		
		Vi06439644_s1	MERS_CoV	中东呼吸综合征冠状病毒(MERS)		
		Vi06439657_s1	Mumps	腮腺炎病毒		
		Vi06439634_s1	SARS_CoV	严重急性呼吸系统综合征冠状病毒(SARS)		
		细菌	DNA	Ba06439624_s1	<i>Bordetella</i>	支气管炎博德特氏菌、副百日咳或百日咳
				Ba06439621_s1	<i>B. holmesii</i>	霍氏鲍特菌
Ba06439623_s1	<i>B. pertussis</i>			百日咳博德特氏菌		
Ba06439616_s1	<i>C. pneumoniae</i>			肺炎衣原体		
Ba06439618_s1	<i>C. burnetii</i>			贝氏柯克斯体		
Ba06439625_s1	<i>H. influenzae</i>			流感嗜血杆菌		
Ba04932083_s1	<i>K. pneumoniae</i>			肺炎克雷伯氏菌		
Ba06439617_s1	<i>L. pneumophila</i>			嗜肺性军团菌		
Ba06439622_s1	<i>M. catarrhalis</i>			卡他莫拉菌		
Ba06439620_s1	<i>M. pneumoniae</i>			肺炎支原体		
Ba04646259_s1	<i>S. aureus</i>			金黄色葡萄球菌		
Ba06439619_s1	<i>S. pneumoniae</i>			肺炎链球菌		
真菌	DNA			Fn06439626_s1	<i>P. jirovecii</i>	卡氏肺孢子虫
对照	RNA	Ac00010014_a1	Xeno	Xeno RNA对照		
	DNA	Hs04930436_g1	<i>RPPH1</i>	核糖核酸酶P H1RNA		
Ba06596576_s1		<i>B. atrophaeus</i>	萎缩芽孢杆菌或枯草芽孢杆菌, <i>globigii</i> 亚种			

* 对于腺病毒和鼻病毒, 需要两种Assay才能完全覆盖所有毒株。有关各Assay的更多信息, 请访问 thermofisher.com/taqman。

本次临床研究中使用经优化的呼吸道微生物检测方案对所有样品进行检测。预扩增步骤的加入最大程度地提高了检测灵敏度，同时节省了样品。在靶标预扩增过程中，将5 μ L合成模板或纯化的基因组核酸与2.5 μ L Applied Biosystems™ TaqPath™ 一步法RT-qPCR预混液，CG (Applied Biosystems™ TaqPath™ 1-Step RT-qPCR Master Mix, CG)和2.5 μ L Applied Biosystems™ TaqMan™ 呼吸道微生物预扩增引物池(Applied Biosystems™ TaqMan™ PreAmp Pool, Respiratory Tract Microbiota)混合，然后进行逆转录并扩增14个循环。使用无核酸酶水将预扩增样品稀释20倍，再将20 μ L稀释样品与50 μ L Applied Biosystems™ TaqMan™ Fast Advanced预混液(无UNG)(Applied Biosystems TaqMan Fast Advanced Master Mix, No UNG)及30 μ L无核酸酶水混合。然后，将反应混合物转移至TaqMan 呼吸道病原微流体芯片(TaqMan Array Respiratory Tract Microbiota Comprehensive Card)上样口，并在QuantStudio 12K Flex实时荧光定量PCR系统上运行检测。最后，通过仪器软件分析数据。

有关样品提取和实验操作的详细信息，请参阅应用操作指南《呼吸道微生物群检测：基于TaqMan Assay微流体芯片的呼吸道微生物检测实验方案》(Respiratory Tract Microbiota Profiling Experiments: TaqMan Assays for respiratory tract microbiota profiling experiments in TaqMan Array Card format, 文献编号: MAN0017951)。

结果

TaqMan Assay的灵敏度和线性动态范围

对Applied Biosystems™ TaqMan™ 呼吸道病原微生物扩增对照品(Applied Biosystems™ TaqMan™ Respiratory Tract Microbiota Amplification Control)进行连续稀释，评估TaqMan Assay用于检测呼吸道病原微生物的灵敏度、效率和线性动态范围(LDR)。上述对照品为线性质粒DNA对照品，包含所有靶标和对照序列。使用与呼吸道样品和微生物对照样品相同的优化方案，对扩增对照品进行预扩增和实时荧光定量PCR分析，无需样品制备步骤。使用TaqMan呼吸道病原微流体芯片(TaqMan Array Respiratory Tract Microbiota Comprehensive Card)对扩增对照品的连续稀释液(10^5 -0.1拷贝/ μ L)进行检测，该芯片涵盖所有44种呼吸道微生物群靶标及对照(图 2)。

在本次实验中，呼吸道微生物靶标的检测限(LOD)低至1-10拷贝/ μ L，灵敏度高，低浓度下的偏差极小。所有靶标的LDR均为5个数量级(10^5 -1拷贝/ μ L)，其中 R^2 大于0.99，PCR效率极其接近100%。图3显示了四种病毒靶标和两种细菌靶标的代表性LDR数据图。标准误差线表明，重复样品之间的偏差很小。与未使用预扩增步骤的一步法RT-qPCR方案相比，加入预扩增步骤可以使每个靶标的检测灵敏度提高100-1000倍，观察表明该灵敏度的提高不影响特异性(数据未显示)。

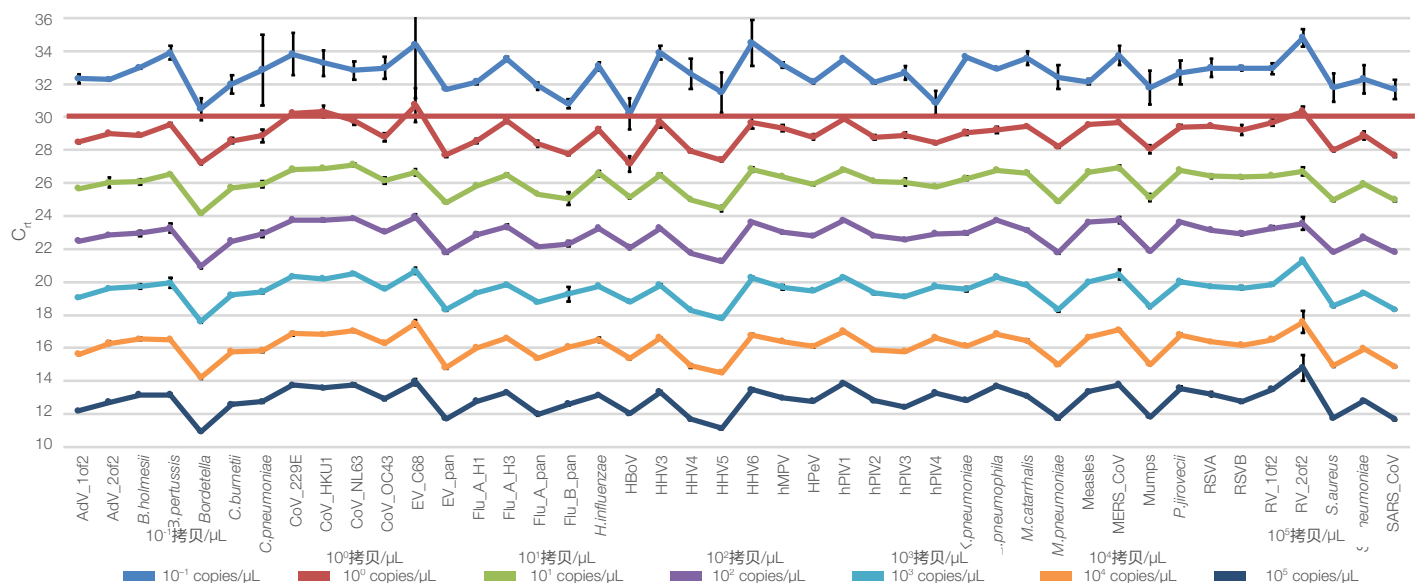


图2. Taqman呼吸道病原微生物扩增对照品检测限测试。使用经优化的预扩增步骤、实时荧光定量PCR方案以及TaqMan呼吸道病原微流体芯片对扩增对照品的连续稀释液(10^5 -0.1拷贝/ μ L)进行检测。该芯片包含所有44种呼吸道微生物群靶标。每个浓度进行两次技术重复。所有靶标的检测下限低至1-10拷贝/ μ L, C_t 阈值为30。注意: RV_2of2靶标的 C_t 值和标准偏差比Rv_1of2的高, 因为它与扩增对照品鼻病毒的序列相比, 有1个核苷酸序列不匹配。

TaqMan Assay提供高特异性的呼吸道病原微生物检测

用于呼吸道病原微生物群检测的TaqMan Assay经由严格的生物信息学分析筛选，确保最大程度覆盖所有菌/毒株，同时尽可能减少脱靶交叉反应。此外，还使用从靶标微生物(从ATCC获得的核酸)上分离的在靶和非在靶基因组RNA或DNA组成的综合性样品panel对每个Assay进行了测试(表2)。该综合样品panel涵盖42个呼吸道微生物群靶标中的29个(占69%)；没有测试的几个微生物为无法培养、生物安全等级为3和4的微生物。

当使用TaqMan呼吸道病原微流体芯片(TaqMan Array

Respiratory Tract Microbiota Comprehensive Card)同时

对这些呼吸道微生物基因组进行检测时，可获得高特异性结果(表3)。此外，通过排他性样本组合对非靶标微生物进行检测获得的结果也表明，这些呼吸道微生物靶标与相近的物种和其他呼吸道微生物没有交叉反应(见表4，数据未显示)。

准确识别呼吸道样品中的微生物以进行临床研究

使用TaqMan呼吸道病原微流体芯片(TaqMan Array Respiratory Tract Microbiota Comprehensive Card)对180个购买所得的临床研究样品进行检测，进一步验证了这些靶标的检测灵敏度、特异性和准确度。这些临床研究样品先前已采用其他分子方法对呼吸道微生物进行了表征。此外，本项研究还对包含16种关键呼吸道病毒样品进行了检测。

表2. 呼吸道微生物群包容性对照

微生物类型	核酸类型	微生物	ATCC ID*
病毒	DNA	腺病毒C	VR-846D
		腺病毒E	VR-1572D
		HHV3	VR-1367DQ
		HHV5	VR-538DQ
		人冠状病毒229E	VR-740D
		人冠状病毒OC43	VR-1558D
	RNA	肠道病毒D68	VR-1823D
		肠道病毒71	VR-1432DQ
		鼻病毒B	VR-1663DQ
		甲型流感病毒(H1N1)	VR-1736D
		乙型流感病毒(BY)	VR-1813D
		麻疹病毒	VR-24D
		腮腺炎病毒	VR-106D
		hPIV1	VR-94D
		hPIV2	VR-92D
		hPIV3	VR-93D
hPIV4b	VR-1377D		
RSVA	VR-1540D		
RSVB	VR-1803D		
细菌	DNA	支气管炎博德特氏菌	BAA-588D-5
		霍氏鲍特菌	51541_D2
		副百日咳杆菌	BAA-587D-5
		百日咳博德特氏菌	9797D-5
		肺炎衣原体	VR-1360D
		流感嗜血杆菌	51907DQ
		肺炎克雷伯氏菌	700721DQ
		嗜肺性军团菌	33152DQ
		卡他莫拉菌	25240D-5
		肺炎支原体	15531D
		金黄色葡萄球菌	BAA-1718DQ
		肺炎链球菌	700669DQ

* 基因组核酸对照品来源于ATCC。

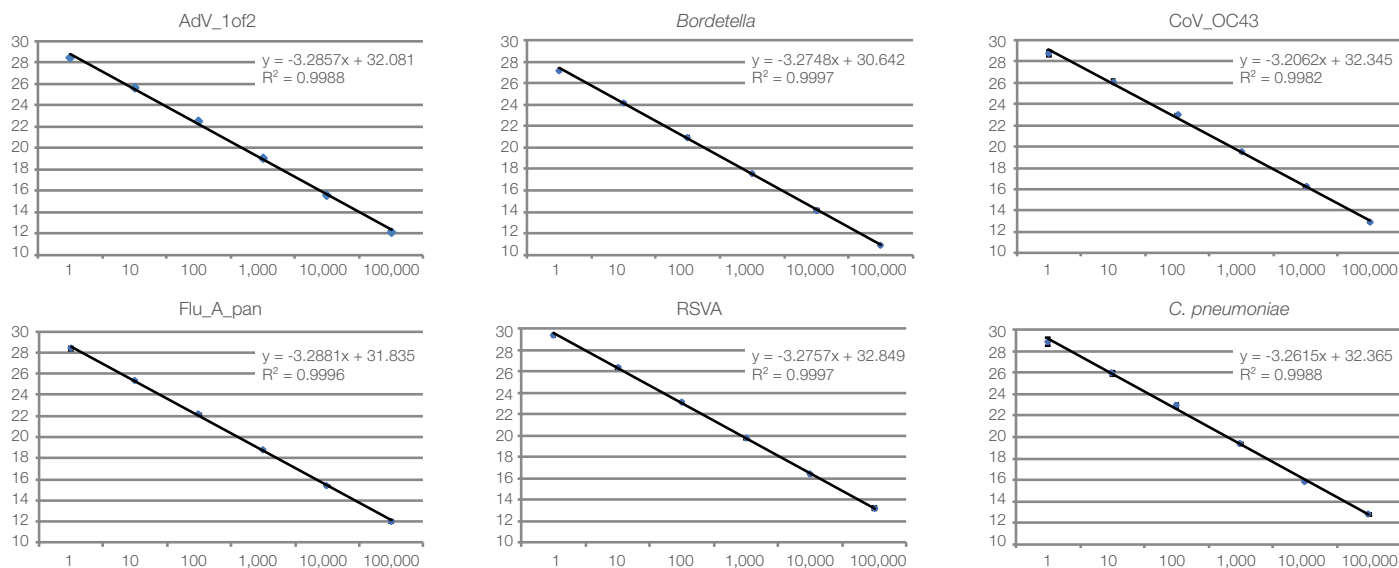


图3. 代表性呼吸道微生物群TaqMan Assay的LDR结果。使用图2中Taqman呼吸道病原微生物扩增对照品的连续稀释液数据，计算呼吸道微生物群靶标的LDR值。稀释液浓度为10⁵-1拷贝/μL。显示了6种代表性检测靶标的数据图。所有靶标的LDR均为5个数量级，R²大于0.99，PCR效率接近100%。

表3. 使用ATCC包容性样品Panel对呼吸道病原微生物特异性进行检测。*

	腺病毒C	腺病毒E	霍乱弧菌	百日咳博德特氏菌	副百日咳杆菌	支气管博德特氏菌	肺炎衣原体	冠状病毒229E	冠状病毒OC43	肠道病毒D68	肠道病毒71	甲型流感(H1N1)	乙型流感	流感嗜血杆菌	HHV3	HHV5	PIV1	PIV2	PIV3	PIV4b	肺炎克雷伯氏菌	嗜肺军团菌	卡他莫拉菌	肺炎支原体	Measles	Mumps	RSVA	RSVB	鼻病毒B	金黄色葡萄球菌	肺炎链球菌	
AdV_1of2	21.13																															
AdV_2of2		21.82																														
<i>B.holmesii</i>			20.19																													
<i>B.pertussis</i>				21.99																												
<i>Bordetella</i>				20.17	20.46	20.53																										
<i>C.pneumoniae</i>							18.39																									
CoV_229E								25.25																								
CoV_OC43									18.90																							
EV_D68										18.75																						
EV_pan										26.22	24.43																					
Flu_A_H1												19.41																				
Flu_A_pan												17.25																				
Flu_B_pan													18.45																			
<i>H.influenzae</i>													21.17																			
HHV3														17.91																		
HHV5															16.81																	
hPIV1																19.68																
hPIV2																	18.92															
hPIV3																		18.75														
hPIV4																			18.97													
<i>K.pneumoniae</i>																				18.92												
<i>L.pneumophila</i>																					19.16											
<i>M.catarrhalis</i>																						18.46										
<i>M.pneumoniae</i>																							17.43									
Measles																								19.66								
Mumps																									19.37							
RSVA																										17.73						
RSVB																											19.93					
RV_1of2										21.53	21.82																		19.44			
RV_2of2																												21.50				
<i>S.aureus</i>																														16.30		
<i>S.pneumoniae</i>																															17.09	

* 使用TaqMan呼吸道病原微流体芯片，针对所有44个靶标，同时对31种ATCC可培养呼吸道微生物的基因组RNA或DNA (10³个拷贝/μL)进行了筛查。列中显示了微生物基因组RNA或DNA样品，行中显示了靶标Assay。这些Assay特异性地对其目的靶标进行了扩增，未检测到明显脱靶扩增现象。阴影框中显示了每种靶标与样品的组合的C_t值(采用相对阈值方法计算C_t)；当使用预扩增步骤的qPCR方案时，其符合呼吸道微生物群Assay的推荐筛选标准(C_t≤30, AmpScore≥1.2, C_t置信度≥0.7)。注意，百日咳博德特氏菌样品使用*B.pertussis* Assay和*Bordetella* Assay进行检测；甲型流感(H1N1)样品使用Flu_A_H1 Assay和Flu_A_pan Assay进行检测。肠道病毒D68样品使用EV_D68 Assay和EV_pan Assay进行检测，即便EV_pan Assay的检测效率很低(相差几个C_t值)，无法用于检测所有肠道病毒D68样品。RV_1of2 Assay用于检测鼻病毒B样品以及肠道病毒D68和肠道病毒71样品。以上是预期中的结果，因为RV_1of2 Assay可以同时检测鼻病毒和肠道病毒的毒株，而EV_D68 Assay和EV_pan Assay专门用于检测肠道病毒毒株。

一致性分析结果表明，TaqMan Assay与其他分子平台检测呼吸道病原微生物的阳性结果一致性高于97% (表5)。

使用呼吸道病原微生物Assay在TaqMan Array Card微流体芯片平台和高通量Applied Biosystems™ OpenArray™ 平台上对同一组临床研究样品进行了检测。不同平台获得

的检测结果极为一致，这表明呼吸道病原微生物Assay在不同平台上的性能等效。该一致性分析采用经其他商品化的核酸检测产品检测过的400个样品进行。TaqMan Array Card平台与其他检测平台的阳性结果一致性高达97%以上(有关更多信息，请参阅应用文档《基于OpenArray 技术检测呼吸道病原微生物的全流程解决方案》)。

表4. 呼吸道微生物群排他性对照品

微生物类型	核酸类型	微生物	ATCC ID*	临近病原或环境
病毒	DNA	牛痘病毒	VR-1508D	人呼吸道病原体
	RNA	风疹病毒	VR-315D	人呼吸道病原体
		轮状病毒	VR-2018DQ	人胃肠道病原体
细菌	DNA	盐晶嗜冷杆菌	BAA-1226D-5	卡他莫拉菌
		多杀巴斯德菌	700806	流感嗜血杆菌
		植生拉乌尔菌	33531	肺炎克雷伯氏菌
		氧化木糖无色杆菌	27061	支气管炎博德特氏菌, 百日咳杆菌, 副百日咳杆菌或霍氏鲍特菌
		皮炎芽生菌	26199D-2	人呼吸道病原体
		白喉棒状杆菌	700971D-5	人呼吸道病原体
		伯克氏菌	25416D-5	人呼吸道病原体
		脑膜炎球菌	700532D-5	人呼吸道病原体
		新型隐球菌	MYA-565D-5	人呼吸道病原体
		腐生性葡萄球菌	15305D-5	人呼吸道病原体
		轻型链球菌	49456D-5	人呼吸道病原体
真菌		烟曲霉	1022D	人呼吸道病原体

* 基因组核酸对照来源于ATCC。

表5. 临床研究样品检测: 与其他核酸检测方法的结果一致。

病原体	阳性*	假阴性**	阳性结果一致性%
腺病毒	20	1	95.24%
冠状病毒229E	2	0	100.00%
冠状病毒HKU1	1	0	100.00%
冠状病毒OC43	1	0	100.00%
甲型流感	4	0	100.00%
甲型流感/H1	6	0	100.00%
甲型流感/H3	16	0	100.00%
乙型流感	16	0	100.00%
hMPV	16	1	94.12%
hPIV1	10	1	90.91%
hPIV2	10	0	100.00%
hPIV3	12	0	100.00%
RSV	6	0	100.00%
RSVA	17	1	94.44%
RSVB	16	1	100.00%
鼻病毒、肠道病毒	27	0	100.00%
总数	180	5	97.30%

* 源于供应商。

** TaqMan Array Card未检出。

用于呼吸道病原微生物检测的TaqMan Assay panel可同时筛查42种呼吸道微生物，这包含了一致性研究参考检测项中未涉及的其他病毒、细菌和真菌。对于这个临床研究的多个样品来说，这些呼吸道微生物Assay都可以检测出更多的其他靶标，这些靶标有些是在参考检测项中的，有些在参考范围之外。为了确定检测结果的准确性，对200多个其他靶标以及一致性研究的靶标对照品进行了Sanger测序。但是，由于一些靶标含量低(例如， C_n 值高)或测序引物未检测到这些靶标，在尝试进行了50次测序以后，均未获得测序结果。而所有获得测序结果的172个靶标对呼吸道微生物群Assay检测到的靶标进行了识别确认(数据未显示)。

除使用临床研究样品外，还使用来源于QCMD机构(Quality Control for Molecular Diagnostics)的全生物检测能力对照品(whole-organism proficiency test controls)对TaqMan™呼吸道病原微流体芯片进行了测试。使用三个QCMD的样品panel(涵盖17种常见呼吸道病原体的阴性和阳性对照)对TaqMan Assay的准确性进行了评价(表6)。所有对照微生物的检测一致性为100%。

结论

- Applied Biosystems™实时荧光定量PCR呼吸道病原微生物解决方案提供了准确、可靠的工作流程，可识别各种常见和机会致病性呼吸道病原体
- 用于呼吸道病原微生物检测的TaqMan Assay在各种样品类型的灵敏度和特异性试验中均呈现出较高的准确度
- 针对微生物样品制备进行优化的MagMAX病毒/病原体超核酸分离试剂盒(MagMAX Viral/Pathogen Nucleic Acid Isolation Ultra Kit)提供了一种自动提取总核酸的解决方案，可用于TaqMan Assay panel对呼吸道病原微生物的检测
- 精选的呼吸道病原微生物TaqMan Assay与易于使用的TaqMan Array Card微流体芯片相结合，提供了一种低成本检测解决方案，可同时检测呼吸道感染中的病毒、细菌和真菌病原体

表6. 使用Taqman呼吸道病原微流体芯片对QCMD能力测试对照样品(Proficiency test control)进行检测。

QCMD对照品名称	样品数	TaqMan Array Card结果
腺病毒型	1	检出
冠状病毒NL63	2	两者均检出
冠状病毒OC43	1	检出
肠道病毒68	1	检出
hMPV	3	全部检出
甲型流感(H1N1)	1	检出*
甲型流感	3	全部检出
乙型流感	2	两者均检出
副流感病毒1型	1	检出
呼吸道合胞病毒A型	2	两者均检出
呼吸道合胞病毒B型	2	两者均检出
鼻病毒	2	两者均检出
百日咳博德特氏菌	1	检出
流感嗜血杆菌	2	两者均检出
嗜肺性军团菌	2	两者均检出
肺炎支原体	1	检出
肺炎链球菌	2	两者均检出
阴性	3	已确认
全部	32	全部检出

* 甲型流感(H1N1)样品仅使用Flu_A_pan Assay进行检测，而不使用Flu_A_H1 Assay。从2013年开始，针对正在传播的毒株开发了不同的流感病毒Assay。Flu_A_H1 Assay用于检测2009年大流行的H1N1毒株，但可能无法检测其他早期毒株。QCMD甲型流感(H1N1)样品的Sanger测序结果显示，其与Flu_A_H1 Assay探针结合位点的序列不匹配，从而解释了检测缺失的原因。其序列与2008年流行的甲型流感H1毒株的序列相匹配，而在进行该Assay设计时未予以考虑。

订购信息

产品	规格	货号
TaqMan Array Card产品		
TaqMan Array Respiratory Tract Microbiota Comprehensive Card	10 cards	A41238
Custom TaqMan Gene Expression Array Cards, format 24	10 cards	4342249
Custom TaqMan Gene Expression Array Cards, format 48	10 cards	4342253
对照品和预混液		
TaqPath 1-Step RT-qPCR Master Mix, CG	5 x 1 mL	A15299
TaqMan PreAmp Pool, Respiratory Tract Microbiota, 4X	1 x 1 mL	A41374
TaqMan Fast Advanced Master Mix, No UNG	1 x 5 mL	A44360
TaqMan Universal RNA Spike In/Reverse Transcription (Xeno) Control	5 x 200 µL	A39179
TaqMan Universal Extraction Control Organism (<i>B. atrophaeus</i>)	3 vials/kit	A39180
TaqMan Respiratory Tract Microbiota Amplification Control	5 x 50 µL	A39178
仪器和样品制备		
KingFisher Flex Purification System with 96 Deep-Well Head	1 system	5400630
MagMAX Viral/Pathogen Ultra Nucleic Acid Isolation Kit	100 preps	A42356
QuantStudio 7 Flex Real-Time PCR System, TaqMan Array Card block	1 system	4485696
QuantStudio 12K Flex Real-Time PCR System, TaqMan Array Card block	1 system	4471089
Veriti 96-Well Thermal Cycler (or equivalent thermal cycler)	1 system	4375786

赛默飞世尔科技

上海

上海市浦东新区新金桥路27号3,6,7号楼
邮编 201206
电话 021-68654588

成都

成都市临江西路1号川投大厦1406室
邮编 610041
电话 028-65545388*5300

南京

南京市中央路201号金茂广场南楼1103室
邮编 210000
电话 021-68654588*2901

北京

北京市东城区北三环东路36号环球贸易
中心C座7层/8层
邮编 100013
电话 010-87946888

沈阳

沈阳市沈河区惠工街10号卓越大厦3109室
邮编 110013
电话 024-31096388*3901

西安

西安市高新区科技路38号林凯国际大厦
1006-08单元
邮编 710075
电话 029-84500588*3801

广州

广州国际生物岛寰宇三路36、38号合景
星辉广场北塔204-206单元
邮编 510000
电话 020-82401600

武汉

武汉市高新四路22号58众创光谷产业园A座1楼2-5楼
邮编 430075
电话 027-59744988*5401

欲了解更多信息, 请扫描二维码关注我们的微信公众账号与官方网站。

赛默飞世尔科技在全国有共14个商业办公室。本资料中的信息, 说明和技术指标如有变更, 恕不另行通知。

有关更多详情, 请访问 thermofisher.com/rtm



赛默飞
官方微信



赛默飞
官方微信

Applied Biosystems

免费 800 820 8982

服务电话 400 820 8982

ThermoFisher
SCIENTIFIC