



【产品名称】

通用名称：人类白细胞抗原 B27 核酸检测试剂盒（荧光 PCR 染料法）

【包装规格】

48测试/盒

【预期用途】

本试剂盒用于体外定性检测人全血样本中的人类白细胞抗原 B27 核酸。强直性脊柱炎（Ankylosing spondylitis, AS）是一种慢性全身性炎性疾病，主要侵犯脊柱，尤以骶髂关节病变最为常见。它最为显著的变化为关节的纤维化和骨性强直。人类白细胞抗原（Human leucocyte antigen, HLA）是一组位于人体细胞膜表面能够识别“自己”或“非己”的抗原分子，由位于人类 6 号染色体短臂上的一组基因 Major Histocompatibility Complex（MHC）编码。这些基因包括很多基因座位，例如：HLA-A, HLA-B, HLA-DR 等，每个基因座位包括很多等位基因。其中 HLA-B27 是 HLA-B 基因座位上的一个重要的等位基因。近 20 年的基础医学和临床医学研究表明，HLA-B27 与强直性脊柱炎（AS）具有高度的相关性，HLA-B27 检测已经成为临床上支持 AS 诊断的重要依据。目前临床实验室检测 HLA-B27 的方法有：经典的微量淋巴细胞毒（Microlymphocytotoxicity Test，又称补体依赖细胞毒试验 Complement Dependent Cytotoxicity, CDC）方法、ELISA 方法、等位基因序列特异性 PCR 方法（Allele Specific Primer）方法、流式细胞仪（Flow Cytometry, FCM）检测法等。其中，多数方法操作繁琐，尚难适应临床检验标准化、自动化、信息化的要求。

【检验原理】

本产品采用实时荧光定量 PCR 原理，在 PCR 反应液中加入荧光物质（能与双链 DNA 结合而发光的荧光染料），通过实时监测反应体系中荧光信号的强度，即可达到检测 PCR 产物扩增量的目的。本试剂盒中含有精心设计的 HLA-B27 扩增体系，仪器通过检测染料荧光强度及熔解曲线，对 HLA-B27 扩增产物进行分析。本试剂盒通过计算质控对照与 HLA-B27 熔解曲线荧光信号峰值的比值对样品进行阴阳性判断。

【主要组成成分】

表 1 试剂盒组成

名称	主要成分	数量
PCR 反应液	引物、染料、Taq 酶	1 mL
阳性对照品	B27 型质粒 DNA	24μL
阴性对照品	非 B27 型质粒 DNA	24μL
0.2 mL PCR 薄壁管	/	48 个
0.2 mL 八连排管	/	6 排

注：不同批号试剂盒中各组分不可以互换。

【储存条件及有效期】

试剂盒置于-20℃避光保存，有效期 10 个月。

避免反复冻融。

生产日期和失效日期见产品标签。

【适用仪器】

表 2 本试剂盒适用的仪器

仪器及型号	生产商
晶芯 RT-Cycler 136 实时荧光定量 PCR 仪	本公司
7500 Real-Time PCR System	Applied Biosystems
7700 Real-Time PCR System	Applied Biosystems
LineGene FQD-96A 荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测系统	杭州博日科技有限公司

【样本要求】

1. 样本采集

当上游样本为人全血时，其适用抗凝剂为 EDTA，不得以肝素抗凝。被检者服药情况、饮食及健康状况不影响标本采集和结果检测。

2. 基因组 DNA 提取（标本制备区）

建议使用人新鲜血液进行 DNA 提取。

建议使用天根生化科技（北京）有限公司生产的血液基因组 DNA 提取试剂盒（DP318）进行基因组 DNA 的提取。

3. 基因组 DNA 要求

本试剂盒适用的模板为人基因组 DNA，建议使用浓度 10~100ng/μL，纯度 OD_{260/280}=1.7~2.0。

4. 储存

血液的保存：采集的血液在 2~8℃ 保存不应超过一周，-20℃ 保存不应超过 1 个月。

基因组 DNA 的保存：待测样本在 2~8℃ 保存不超过 72 小时，-20℃ 保存不超过 3 个月，-80℃ 可长期保存。

所有样本尽量避免反复冻融。

5. 运输

血液可采用冰壶加冰或泡沫箱加冰密封进行运输。基因组 DNA 可置于冰盒中进行运输。

【检验方法】

1. 扩增试剂准备（试剂储存和准备区）

将 PCR 反应液从试剂盒取出，置于室温下融化，旋涡混匀并瞬时离心。将 PCR 反应液分装于荧光定量 PCR 专用的反应管中，每管分装量为 19 μL。每次检测时必须同时设置 1 个阴性对照，1 个阳性对照，因此实际分装数量应为检测样本数+2。分装完毕后，分装剩余试剂应尽快放回冰箱。

2. 加样（标本制备区）

样本 DNA、阳性对照品（试剂盒组分）及阴性对照品（试剂盒组分）使用前应室温下融化，旋涡混匀并瞬时离心。分别向装有 PCR 反应液的反应管中加入 1 μL 模板并压紧管盖。

3. PCR 扩增（扩增区）

3.1 检测通道设定及样本设置

荧光定量 PCR 仪选择 FAM/SYBR Green I 通道进行检测。

3.2 热循环程序设置

PCR 扩增程序、熔解曲线分析程序设置分别见表 3、表 4，在 PCR 扩增程序后运行熔解曲线分析程序。

表 3 PCR 扩增程序

温度（℃）	37	96	96	62	72
时间（s）	600	900	25	30	30（检测）
循环数	1	1	40		

表 4 熔解曲线分析程序

温度（℃）	95	72	95	50
时间（s）	10	10	10	10
备注	从 72℃ 到 95℃ 升温速率不高于 0.2℃/s			

3.3 结果判读

检测结果由 PCR 应用分析软件进行判读。

【阳性判断值】

当质控峰与 B27 峰在目标温度区间的荧光信号最大值的比值小于等于 2.925，此样本为阳性样本。

当质控峰与 B27 峰在目标温度区间的荧光信号最大值的比值大于 2.925，此样本为阴性样本。

备注：此温度区间在配套的 PCR 应用分析软件中已设定。

【检验结果的解释】

本试剂盒通过熔解曲线对扩增产物进行分析，判断方式见图 1 和图 2。图中横坐标为温度，纵坐标为-d(F)/d(T)。

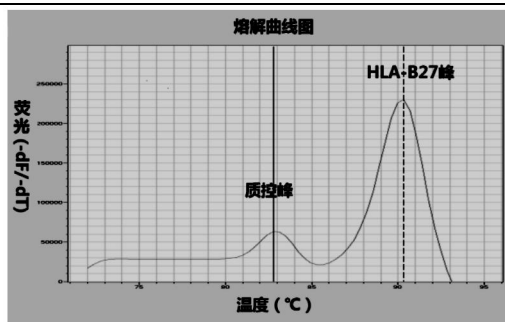


图 1 阳性样本检测图

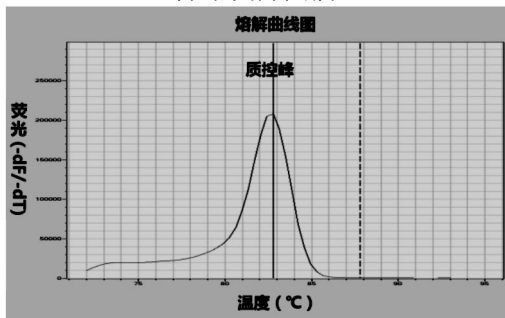


图 2 阴性样本检测图

1. 阳性判断标准

当质控峰与 B27 峰在目标温度区间的荧光信号最大值的比值小于等于 2.925，此样本判为阳性样本（PCR 应用分析软件辅助判读）。

2. 阴性判断标准

当质控峰与 B27 峰在目标温度区间的荧光信号最大值的比值大于 2.925，此样本判为阴性样本（PCR 应用分析软件辅助判读）。

3. 阴阳性判断注意事项

阳性对照品熔解曲线在目标温度区域质控峰有明显扩增且质控峰与 B27 峰的比值符合阳性判断标准。

阴性对照品熔解曲线在目标温度区域质控峰有明显扩增且质控峰与 B27 峰的比值符合阴性判断标准。

4. 结果异常时可能的原因

当模板使用量过大时，阴性样本可能出现非特异扩增（B27 峰温度区域内出现小峰），影响结果的判读；

当模板使用量过大时，阳性样本质控峰信号值可能很低而 B27 峰值很高，此结果不影响结果的判读。

【检验方法的局限性】

由于 HLA 基因家族包括的等位基因众多，而且不断有新的基因亚型被发现，因此不排除本试剂盒对于极罕见的 HLA 基因亚型可能产生非特异性扩增，以及对新发现的 HLA-B27 基因亚型的漏检。

【产品性能指标】

1. 准确度：对 5 份准确性参考品进行检测，检测结果均为 HLA-B27 阳性；
2. 特异性：对 10 份特异性参考品进行检测，检测结果均为 HLA-B27 阴性；
3. 灵敏度：本试剂盒分析灵敏度为 10ng/反应，可对 10-100ng/μL 浓度范围内的人基因组 DNA 样品正确检测；
4. 重复性：对 1 份重复性参考品进行 10 次检测，检测结果均为 HLA-B27 阳性；
5. 试剂盒针对 1049 份临床样品的盲测实验结果与测序法所得结果一致率为 100%。

【注意事项】

1. 本试剂一次性使用，用于临床诊断。
2. 操作人员必须经过培训，合格后方可上岗。
3. 不可使用肝素抗凝血，血液不可反复冻融，抗凝血需低温储存运输。血液出现溶血或多次冻融会直接影响基因组 DNA 的质量，并影响检测结果。
4. 操作注意安全防护。操作血液应在规定的实验场所进行，穿戴防护衣物、

一次性手套、口罩；所有直接接触过待检样品的物品应进行消毒后丢弃或再次使用。

5. 使用前，液体试剂应混合均匀，尽量避免反复冻融。
6. 所使用的接触试剂的材料均要求干燥、洁净，以防止污染。
7. PCR 操作应严格按照国家有关规定进行分区，以防止交叉污染。分装 PCR 反应液应在干净环境下的试剂储存和准备区内进行；模板加样应在标本制备区内进行，PCR 检测应在扩增区进行。不同工作区域内的设备、物品不得混用。
8. 扩增完毕立即取出反应管，密封在专用塑料袋内，并存放于指定地点，统一处理。
9. 反应管中尽量避免产生气泡，上机前注意检查各反应管是否盖紧，以免荧光物质或 PCR 产物泄漏污染仪器
10. 工作台及各物品定期用 75%酒精、核酸清洁剂（Termi-DNA-Tor 核酸清除剂）或紫外灯进行消毒。
11. 建议使用带滤芯的吸头。
12. 操作过程中，尽量减少试剂的曝光时间。

【标识的解释】

标签上“**IVD**”标识代表“体外诊断医疗器械”。

【参考文献】

1. Brewerton D A, Hart F D, Nicholls A, et al. Ankylosing spondylitis and HL-A 27[J]. The Lancet, 1973, 301(7809): 904-907.
2. Schreuder G M, Hurley C K, Marsh S G E, et al. The HLA Dictionary 2004: a summary of HLA - A, - B, - C, - DRB1/3/4/5 and - DQB1 alleles and their association with serologically defined HLA - A, - B, - C, - DR and - DQ antigens[J]. International journal of immunogenetics, 2005, 32(1): 19-69.
3. Inman R D. Mechanisms of disease: infection and spondyloarthritis[J]. Nature Clinical Practice Rheumatology, 2006, 2(3): 163-169.

【基本信息】

注册人/生产企业名称：成都博奥晶芯生物科技有限公司

住所：成都市温江区永宁镇八一路北段 88 号

联系方式：028-67278289

传真：028-67278189

邮编：611135

网址：<http://www.capitalbiotech.com>

售后服务单位名称：北京博奥晶典生物技术有限公司

联系方式：400-9968-999

邮箱：service@capitalbiotech.com

网址：<http://www.capitalbiotech.com>

生产地址：成都市温江区永宁镇八一路北段 88 号 3 栋-2 三楼、3 栋-3、3 栋

-4（一楼 E-109、二楼、顶楼 3-3 至 3-5）、4 栋（101、103）、5 栋

生产许可证编号：川食药监械生产许 20150041 号

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

国械注准 20173401345

【说明书核准及修改日期】

核准日期：2017 年 7 月 28 日

修改日期：2021 年 1 月 18 日

说明书编号：UML—030

版次：1.2