



乙型肝炎病毒核酸检测试剂盒 (荧光定量PCR法) 说明书

【产品名称】

通用名称：乙型肝炎病毒核酸检测试剂盒（荧光定量PCR法）

【包装规格】

24人份/盒

【预期用途】

本产品用于体外定量检测已确诊乙肝患者血清中乙型肝炎病毒核酸（HBV DNA）。

乙型肝炎病毒（hepatitis B virus, HBV）属于嗜肝DNA病毒科，是一种DNA病毒，其基因组由长3.2kb的部分双链DNA组成，是严重危害人类健康的肝炎病毒之一，是重要的肝脏疾病致病因子。HBV感染后临床表现呈多样性，有的表现为重症肝炎、急性肝炎、慢性肝炎或无症状携带者，其中慢性肝炎可以转化为肝硬化或肝癌。研究证实，乙型肝炎病毒核酸含量与乙型肝炎发病机制、转归、抗病毒疗效均有密切关系。乙型肝炎病毒（HBV）DNA前S/S区，在HBV进入人体引起抗原性的过程中，前S区编码的前S抗原起了非常重要的作用，本试剂盒根据HBV前S/S区设计引物、探针，特异的检测HBV病毒的存在。

【检验原理】

本试剂盒采用聚合酶链式反应（PCR）及荧光标记探针技术，即在PCR反应体系中加入荧光基团，利用荧光信号累积实时监测整个PCR进程，快速检测临床样品中乙型肝炎病毒（HBV）DNA前S/S区，从而定量检测人血清中HBV DNA。

【主要组成成分】

编号	组分名称	规格	数量	组成成分
1	乙型肝炎病毒-PCR反应液	696μL/管	1	引物、探针、脱氧核糖核苷三磷酸、缓冲体系等
2	脱氧核糖核酸聚合酶系	24μL/管	1	脱氧核糖核酸聚合酶、尿嘧啶-N-糖基化酶
3	乙型肝炎病毒内标	120μL/管	1	阳性内对照（假病毒）
4	乙型肝炎病毒阳性质控品	400μL/管	1	经过灭活的乙型肝炎病毒阳性血清
5	乙型肝炎病毒弱阳性质控品	400μL/管	1	经过灭活的乙型肝炎病毒阳性血清
6	乙型肝炎病毒阴性质控品	400μL/管	1	经过灭活的乙型肝炎病毒阴性血清
7	乙型肝炎病毒定量参比品（ 1.0×10^3 IU/mL）	400μL/管	1	经过灭活的乙型肝炎病毒阳性血清
8	乙型肝炎病毒定量参比品（ 1.0×10^4 IU/mL）	400μL/管	1	经过灭活的乙型肝炎病毒阳性血清
9	乙型肝炎病毒定量参比品（ 1.0×10^5 IU/mL）	400μL/管	1	经过灭活的乙型肝炎病毒阳性血清
10	乙型肝炎病毒定量参比品（ 1.0×10^6 IU/mL）	400μL/管	1	经过灭活的乙型肝炎病毒阳性血清
11	乙型肝炎病毒定量参比品（ 1.0×10^7 IU/mL）	400μL/管	1	经过灭活的乙型肝炎病毒阳性血清

不同批号试剂盒中各组分不可以互换。

【储存条件及有效期】

-20℃保存，有效期6个月，开封后于-1℃保存，请于一周内使用，应避免反复冻融（冻融次数少于5次）。低温运输，长途运送采用泡沫箱加冰袋密封进行运输。生产日期及使用期限见标签。

【适用仪器】

ABI 7500、STRATAGENE Mx3000P。

【样本要求】

- 适用标本类型：血清
- 标本采集：
 - 血清：用一次性无菌注射器抽取受检者静脉血2mL，注入无菌的干燥玻璃管，室温（22~25℃）放置30~60分钟，血标本可自发完全凝析析出血清，或直接使用水平离心机，1,500rpm离心5分钟；吸取上层血清，转移至1.5mL灭菌离心管。
 - 标本保存和运送：标本可立即用于测试，血清也可保存于-20℃待测，保存期为6个月，应避免反复冻融。样本运送采用泡沫箱加冰袋密封进行运输。

【检验方法】（使用前请仔细阅读本操作流程）

- 试剂准备（试剂准备区）
 - 取出乙型肝炎病毒-PCR反应液，备用。
 - 确定需要进行的反应管数（标本数+阴性质控品+阳性质控品+弱阳性质控品+5个定量参比品）后，取出乙型肝炎病毒-PCR反应液，将n x 29μL乙型肝炎病毒-PCR反应液，n x 1μL脱氧核糖核酸聚合酶系加入一个离心管中并震荡混匀，瞬时离心后，向每一个PCR反应管中分装30μL，盖上管盖后转移到加样区，避光放4℃冰箱备用。将质控品和定量参比品转移到样品处理区，放于-1℃冰箱中备用。
- 核酸提取（标本处理区）
 - 取1.5mL离心管中加入200μL待测样本及5μL乙型肝炎病毒内标，盖上古盖，振荡混匀10秒钟，瞬时离心。
 - 混合好的待测样本进行核酸提取。指定泰普生物公司的提取试剂方法。
 - 阴性质控品、阳性质控品、弱阳性质控品及5个定量参比品同步处理。
- PCR扩增
 - 加样（样品处理区或者加样区）

向准备好的PCR反应液管中分别加入20μL提取后的样品（包括标本、阴性质控品、弱阳性质控品、阳性质控品及定量参比品），瞬时离心备用。
 - PCR扩增（检测区）

将准备好的PCR反应管放入仪器样品槽，编辑样本信息并按下列循环参数进行扩增反应：

循环参数：

Stage 1 37℃ ---2min;
Stage 2 94℃ ---2min;
Stage 3 94℃ ---15sec
55℃ ---45sec

45循环

HBV检测荧光素：FAM
内标检测荧光素：HEX（如所用仪器无HEX通道，请改用JOE通道）
反应体积：50μL
荧光信号收集：Stage 3：55℃ ---45sec
（荧光信号末端收集）

4. 结果分析条件设定

4.1 ABI 7500 基线 (baseline) 设定: 取2个到样品阈值 (threshold) 前3个循环值作为基线。阈值 (threshold) 设定原则以阈值线刚好超过正常阴性质控品扩增曲线 (无规则的噪音线) 的最高点, 即 $C_{th} = 45$ 或者 “Undet.” 为准。

4.2 STRATAGENE Mx3000P 基线设定: 选择“适合基线 (Adaptive baseline)”设定时的荧光信号。阈值 (threshold) 设定原则以阈值线刚好超过正常阴性对照品扩增曲线 (无规则的噪音线) 的最高点, 即 $C_{th} = 45$ 或者 “No Ct” 为准。

5. 质控品标准

本试剂盒阴、阳性质控品应同时满足以下条件, 否则视为本次实验无效。

5.1 阴性质控: HBV-FAM Ct 值=45 或 “No Ct” (Mx3000P) 或者 “Undet.” (ABI 7500), 内标 (HEX) Ct 值 < 45, 且有较好的对数增长曲线。

5.2 阳性质控: HBV-FAM Ct 值 < 45, 有较好的对数增长曲线, 且阳性质控品定量参考值在 $1.00E+006 \sim 1.00E+007$ (IU/mL) 之间; 弱阳性质控品定量参考值在 $1.00E+002 \sim 1.00E+005$ (IU/mL) 之间, 内标 (HEX) Ct 值 < 45。

5.3 定量参比品: 全部阳性, 且线性相关系数 $0.98 \leq r \leq 1$ 。

以上要求需在同一次实验中同时满足, 否则, 本次实验无效, 需重新进行。

【阳性判断值】

通过参考值的研究试验确定本试剂盒的检测下限为15 IU/mL。

【检验结果的解释】

1. 检测样本的测定值在 $2.0E+001$ IU/mL $\sim$ $2.0E+009$ IU/mL 之间的样本, 可直接报告相应的检测值;
2. 检测样本的测定值在 $> 2.0E+009$ IU/mL 的样本, 如果要精确定量结果, 可将提取后的样品稀释至线性范围内再检测;
3. 检测样本的测定值在 ≥ 15 IU/mL, 而 < 20 IU/mL 的样本, 同时内标检测为阳性且 Ct < 45, 表明病毒载量低, 检测值仅供参考;
4. 检测样本的测定值 < 15 IU/mL 的样本, 同时, 内标检测为阳性且 Ct 值 < 45, 则报告 HBV DNA 含量低于试剂盒检测下限: 若检测样本 No Ct, 内参也无扩增曲线, 扩增失败, 请重新测定。

【检验方法的局限性】

本试剂盒适用于检验临床标本, 其检测结果也受检测仪器及仪器正确使用的影响。本试剂盒检测结果可供临床参考, 不建议作为 HBV 感染诊治的唯一依据, 不得用于血源筛查, 阴性结果仅说明低于本试剂盒的检测限值但不能完全排除 HBV 感染的可能。

【产品性能指标】

1. 本试剂盒检测下限为15 IU/mL, 线性范围: $2.0E+001$ IU/mL $\sim$ $2.0E+009$ IU/mL;
2. 分析特异性验证结果表明, 本试剂盒检测中国药品生物检定所的乙型肝炎病毒核酸定量标准品, 其中阴阳性参考品符合率为100%; 定量线性灵敏度参考品 L0-L6 全部检测为阳性, 定量范围符合质量标准。
3. 干扰试验结果表明, 不同内源性干扰物质 (总胆红素 $515 \mu\text{mol/L}$, 甘油三酯 41 mmol/L , 血红蛋白 2 g/L , 总IgG型免疫球蛋白 IgG 40 g/L) 在不同浓度时对本试剂盒无干扰, 与临床上血清中常见的其他病原体 (如 HAV、HCV、HEV、HIV、CMV、EB、梅毒等) 没有交叉反应。

【注意事项】

1. 本品仅用于体外诊断。
2. 请在实验前详细阅读说明书, 实验需由有经验或经过培训的实验人员进行操作。
3. 取用PCR反应管需戴无粉乳胶手套或薄膜手套。
4. PCR反应液内有荧光探针, 应避免反复冻融且需避光保存。
5. 试剂盒内各试剂使用前, 需充分融化后进行瞬时离心, 以使管壁上液体离心到底。
6. 实验过程中使用的离心管和移液器吸头需进行高温高压灭菌。
7. 临床样本的处理需要在生物安全柜中进行。
8. PCR反应管经瞬时离心后, 上机前避免振摇。
9. 扩增完毕后, 待PCR扩增仪中温度降至室温后再将PCR反应管取出, 并装入密封的塑料袋中, 按医疗废弃物处理。
10. 实验中所使用的吸头请直接打入盛有10%次氯酸钠的废液缸内, 并与其他废弃物一同灭菌消毒。
11. 每次实验前, 生物安全柜需进行紫外灯消毒。实验完成后, 生物安全柜和移液器均需用10%的84消毒液擦拭, 10min后再用70%的乙醇擦拭。
12. 不同批号的试剂请勿混用, 请在有效期内使用试剂盒。
13. 本试剂盒所有成分可能存在毒性, 切勿入口。

【基本信息】

注册人/生产企业名称: 泰普生物科学 (中国) 有限公司

住所: 厦门市同安区西洲路2043号11层

联系方式: 0592-3737666 咨询热线: 400-7032032 网址: www.tibchina.com

售后服务单位: 泰普生物科学 (中国) 有限公司

联系方式: 0592-3737666 咨询热线: 400-7032032 网址: www.tibchina.com

生产地址: 厦门市同安区西洲路2041号101、201、301单元; 2045号101、201、501单元

生产许可证编号: 闽药监械生产许20110184号

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】 国械注准20163401556

【说明书批准及修改日期】 2016年09月22日批准; 2017年10月27日修改; 2018年03月19日修改;

2020年03月18日修改; 2021年09月09日修改; 2022年06月08日修改。