

戊型肝炎病毒 (HEV) 核酸检测试剂盒(RT-PCR 荧光探针法)

【产品名称】

商品名称：戊型肝炎病毒 (HEV) 核酸检测试剂盒
(RT-PCR 荧光探针法)

Name : Diagnostic Kit for Human Hepatitis Virus type E RNA
(RT-PCR Fluorescence Probing)

【包装规格】

【预期用途】

本试剂盒适用于检测的疑似感染病人的血液等标本中戊型肝炎病毒 RNA, 适用于戊型肝炎病毒感染的辅助诊断。其检测结果仅供参考。

【检验原理】

本试剂盒用一对戊型肝炎病毒特异性引物, 结合一条特异性荧光探针, 用一步法荧光 RT-PCR 技术对戊型肝炎病毒 RNA 进行体外扩增检测, 用于临床上对可疑感染者的病原学诊断。

【试剂组成】

名称	规格
酶液	50 μ l \times 1 管
HEV 反应液	1.0ml \times 1 管
HEV 阳性质控品	50 μ l \times 1 管
阴性质控品	250 μ l \times 1 管

说明：不同批号的试剂盒组分不可交互使用。

【储存条件及有效期】

-20 $^{\circ}$ C \pm 5 $^{\circ}$ C, 避光保存、运输、反复冻融少于 5 次,
有效期 12 个月。

【适用仪器】

ABI 7300、7500、ABI stepone / stepone plus、安捷伦 MX3000P/3005P、MJ Opticon2 等其他荧光定量 PCR 检测仪。

【标本采集】

疑似感染病人的静脉血 2mL 至 EDTA-2Na 抗凝管。

【保存和运输】

上述标本短期内可保存于-20 $^{\circ}$ C, 长期保存可置-70 $^{\circ}$ C, 但不能超过 6 个月, 标本运送应采用 2~8 $^{\circ}$ C 冰袋运输, 严禁反复冻融。

【使用方法】

1. 样品处理 (样本处理区)

1.1 样本前处理

按 RNA 提取试剂盒说明书进行提取。

1.2 RNA 提取

推荐采用广州维伯鑫生物科技有限公司生产的 RNA 提取试剂盒 (离心柱提取法), 请按照试剂盒说明书进行操作。

2. 试剂配制 (试剂准备区)

根据待检测样本总数, 设所需要的 PCR 反应管数为 N(N=样本数+1 管阴性对照+1 管阳性对照; 样品每满 7 份, 多配制 1 份), 每测试反应体系配制如下表:

试剂	HEV 反应液	酶液
用量	20 μ l	1 μ l

3. 加样 (样本处理区)

将步骤 1 提取的 RNA、阳性质控品、阴性质控品各取 4 μ l, 分别加入相应的反应管中, 盖好管盖, 混匀, 短暂离心。

4. PCR 扩增 (核酸扩增区)

4.1 将待检测反应管置于荧光定量 PCR 仪反应槽内;

4.2 设置好通道、样品信息, 反应体系设置为 25 μ l; 荧光通道选择:

检测通道 (Reporter Dye) FAM, 淬灭通道 (Quencher Dye) NONE, 请勿选择 ROX 参比荧光。

4.3 推荐循环参数设置:

步骤	循环数	温度	时间	收集荧光信号
1	1cycle	42 $^{\circ}$ C	20min	否
2	1 cycle	95 $^{\circ}$ C	10min	否
3	40 cycle	94 $^{\circ}$ C	15sec	否
		55 $^{\circ}$ C	30sec	是

5. 结果分析判定

5.1 结果分析条件设定

设置 Baseline 和 Threshold: 一般直接按机器自动分析的结果分析, 当曲线出现整体倾斜时, 根据分析后图像调节 Baseline 的 start 值(一般可在 3~15 范围内调节)、stop 值(一般可在 5~20 范围内调节), 以及 Threshold 的 Value 值(上下拖动阈值线至高于阴性对照), 重新分析结果。

5.2 结果判断

阳性: 检测通道 Ct 值 \leq 35.0, 且曲线有明显的指数增长曲线;

可疑: 检测通道 35.0<Ct 值 \leq 37, 建议重复检测, 如果检测通道仍为 35.0<Ct 值 \leq 37, 且曲线有明显的增长曲线, 判定为阳性, 否则为阴性;

阴性: 样本检测结果 Ct 值>37 或无 Ct 值。

6. 检测方法的局限性

- > 样本检测结果与样本收集、处理、运送以及保存质量有关;
- > 样本提取过程中没有控制好交叉污染, 会出现假阳性结果;
- > 阳性对照、扩增产物泄漏, 会导致假阳性结果;
- > 病原体在流行过程中基因突变、重组, 会导致假阴性结果;
- > 不同的提取方法存在提取效率差异, 会导致假阴性结果;
- > 试剂运输, 保存不当或试剂配制不准确引起的试剂检测效能下降, 出现假阴性或定量检测不准确的结果;
- > 本检测结果仅供参考, 如须确诊请结合临床症状以及其他检测手段。

7. 质控标准

阴性质控品: 无明显扩增曲线或无 Ct 值显示;

阳性质控品: 扩增曲线有明显指数生长期, 且 Ct 值 \leq 32;

以上条件应同时满足, 否则实验视为无效。

8. 产品性能指标

阴阳性参考品符合率: 5 份阳性参考品符合率为 100%; 10 份阴性参考品符合率为 100%。

最低检测限: 5.0 \times 10²copies/ml。

精密度: 批内、批间精密度检测 Ct 值的变异系数 (CV) 均小于等于 3%。

【注意事项】

- > 所有操作严格按照说明书进行;
- > 试剂盒内各种组分使用前应自然融化, **完全混匀**并短暂离心;
- > 反应液应避光保存;
- > 反应中尽量**避免气泡存在**, 管盖需盖紧;
- > 使用一次性吸头、一次性手套和各区域专用工作服;
- > **样本处理、试剂配制、加样需在不同区进行**, 以免交叉污染;
- > 实验完毕后用 10%次氯酸或 75%酒精或紫外灯处理工作台和移液器;
- > 试剂盒里所有物品应视为污染物对待, 并按照《微生物医学实验室生物安全通则》进行处理。

【生产企业】

企业名称: 广州维伯鑫生物科技有限公司

邮编: 510663

生产地址: 广州黄埔区科丰路 31 号华南新材料创新园 G11 栋 2 层

电子邮箱: info@vipotion.com

电话: 020-66377266

公司网址: http://www.vipotion.com

传真: 020-66377267