

Xpert[®] HBV VL

REF GXHBV-VL-CN-10

乙型肝炎病毒（HBV）核酸检测试剂盒

（实时荧光 PCR 法）说明书

【产品名称】

通用名称：乙型肝炎病毒（HBV）核酸检测试剂盒（实时荧光 PCR 法）

英文名称：Xpert® HBV Viral Load

【包装规格】

10 人份/盒

【预期用途】

该产品用于体外定量检测人血清或血浆中的乙型肝炎病毒（HBV）DNA。

乙型肝炎病毒（HBV）核酸检测试剂盒（实时荧光 PCR 法）（简称 HBV VL）是一种体外核酸扩增检测试剂盒，适用于 GeneXpert®全自动医用 PCR 分析系统，定量检测慢性乙肝感染者血清或血浆（EDTA）中的乙型肝炎病毒（HBV）DNA。

该试剂盒预期用于结合临床表现和其它实验室标志物进行疾病预后诊断，并根据血浆或血清中 HBV DNA 水平的变化辅助评估病毒对抗病毒治疗的响应。

该试剂盒不用于 HBV 的供体筛查，亦不用作确认是否存在 HBV 感染的诊断测试。

概要和说明

乙型肝炎病毒（HBV）是肝脱氧核糖核酸病毒家族中的一种小型包膜型 DNA 病毒，可引起急性和慢性 HBV 感染。该病毒有一个直径 42 nm 的小型环状 DNA 基因组，部分为双链，部分为单链。HBV 含有多种抗原成分，包括乙型肝炎表面抗原（HBsAg）、乙型肝炎核心抗原（HBcAg）和乙型肝炎 e 抗原（HBeAg）。HBV 传播途径为经皮或粘膜接触感染者的血液或体液、感染的母亲传播给新生儿、家庭成员密切接触、医疗保健机构中未经筛查的输血或不安全的注射、注射药物的使用以及与感染者的性接触。

慢性乙型肝炎（CHB）可表现为乙型肝炎 e 抗原（HBeAg）阳性或 HBeAg 阴性 CHB。不同地域的年龄特异性 HBsAg 血清阳性率显著不同，撒哈拉以南非洲、东亚、巴尔干某些地区、太平洋岛屿和南美洲的亚马逊河流域患病率最高（>5%）。在拉丁美洲、北美和西欧等地区，患病率低于 2%。总体而言，全球人口近半数居住在具有高患病率的地区¹。CHB 的发病率和死亡率与病毒复制的长期性以及肝硬化和 / 或肝细胞癌（HCC）的进展有关²。病毒性肝炎的死亡率随着时间推移而提高，除非患者得到及时诊断和治疗，否则死亡率将持续上升³。

HBV 疫苗可用于婴儿，并显著减少了新增慢性感染的数量，但疫苗覆盖率仅为 39%。³2015 年，世界人口的 3.5% 存在慢性 HBV 感染，西太平洋和非洲地区是受影响最严重的地区³。只有 9% 的 HBV 患者获知其感染诊断结果，其中只有 8% 的人接受了治疗。³推荐将核苷和核苷类似物（如替诺福韦和恩替卡韦）用于符合治疗条件的患者，因为这些抗病毒药物能有效抑制 HBV 复制，防止感染进展至肝硬化，并减少与肝病相关的死亡¹。HBV 的治疗持续终生¹。

【检验原理】

GeneXpert 全自动医用 PCR 分析系统是整合了样本纯化、核酸扩增以及使用实时 PCR 技术以检出简单或复杂样本中的靶序列等功能于一体的全自动分析系统。该系统由仪器、计算机以及用于检测和查看结果的预装软件组成。该系统要求使用装有 PCR 试剂并且可执行纯化和 PCR 检测的一次性 GeneXpert 检测盒。由于检测盒独立包装，因此可将样本间的交叉污染风险降至最低。关于系统的完整描述，请参阅 *GeneXpert Dx 全自动医用 PCR 分析系统操作手册* 或 *GeneXpert Infinity 全自动医用 PCR 分析系统操作手册*。

HBV VL 试剂盒包括用于检测样本中 HBV DNA 的试剂和用于 HBV DNA 定量的两种内部质控。内部质控还用于确保靶标的充分处理及监测 PCR 反应中是否存在抑制剂。探针检查质控 (PCC) 用于验证试剂再水化、检测盒中 PCR 管的灌装、探针完整性和染料稳定性。

该试剂盒根据世界卫生组织 (WHO) 第四代 HBV DNA 国际标准品 (NIBSC 代码: 10/266) 进行核酸扩增技术标准化。⁴

【主要组成成分】

 HBV VL 试剂盒含有足够检测 10 份样本的试剂。试剂盒包含以下组分：

HBV VL 检测盒 (带集成反应管)	10 人份/盒
● 1 号珠、2 号珠和 3 号珠 (冻干)	各 1 个 / 检测盒
● 裂解试剂 (硫氰酸胍)	1.7 mL / 检测盒
● 冲洗试剂	0.5 mL / 检测盒
● 洗脱试剂	1.5 mL / 检测盒
● 结合试剂	1.5 mL / 检测盒
● 蛋白酶 K 试剂	0.48 mL / 检测盒

注释 可在 www.cepheidinternational.com“支持 (SUPPORT)”选项下获取安全数据表 (SDS)。

注释 本产品内冻干珠中的牛血清白蛋白 (BSA) 仅采用美国来源的牛血浆生产。这些动物没有被饲喂反刍动物蛋白或其它动物性蛋白；这些动物在宰前及宰后均通过了检测。处理过程中，材料未掺入其它动物材料。

需要但未提供的材料

- GeneXpert Dx 全自动医用 PCR 分析系统或 GeneXpert Infinity 全自动医用 PCR 分析系统 (不同配置的目录号不同)：
GeneXpert 仪器、安装有专用 GeneXpert 软件版本 4.7b 及以上版本 (GeneXpert Dx System) 或软件版本 Xpertise 6.4b 及以上版本 (Infinity-80/Infinity-48s) 的计算机、条形码扫描器和操作手册。
- 打印机：如需打印机，请联系 Cepheid 技术支持部为您推荐所需的打印机。
- 漂白剂或次氯酸钠。
- 乙醇或变性乙醇。

【储存条件及有效期】

在 2~35 °C 条件下保存，有效期 18 个月。



- 将 HBV VL 检测盒于 2~35°C 储存，请在标签标识的失效日期前使用。
- 如果检测盒低温储存，则应在使用前平衡至室温。
- 请勿使用超出失效日期的试剂或检测盒。



- 当准备好进行试验时，才可打开检测盒盖。
- 请勿使用发生泄露的检测盒。
- 生产日期及失效日期：见包装标签。

【适用仪器】

全自动医用 PCR 分析系统：

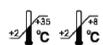
规格型号：GX-I R2、GX-II R2、GX-IV R2、GX-XVI R2、Infinity-48s、Infinity-80

【样本要求】

标本采集、运输和储存

应将全血收集在 K2-EDTA、PPT-EDTA 或血清收集管中，然后根据制造商的说明离心分离血浆 / 血清和红细胞。

- HBV VL 检测最少需要 0.6 mL 血浆或血清。如果使用试剂盒中自带的移液管，则必须将血浆或血清装填至移液管第 4 个刻度（1.0 mL）。或者，如果使用精密移液管，则需要 0.6 mL 血浆或血清。请分别参见【**检验方法**】**准备检测盒**，选项 1 和选项 2 的说明。



- 在制备血清 / 血浆前，可将全血在 2~35°C 下储存最长 24 小时，或在 2~8°C 下储存最长 3 天。应按照制造商的说明进行离心。



- 离心与分离后，进行检测前可将血浆和血清在 2~35°C 下储存最长 24 小时或在 2~8°C 下储存最长 7 天。



- 血浆和血清样本在冷冻（-80°C 和 -20°C）条件下可保持稳定 6 个星期。
- 血浆和血清样本可在 3 个冻/融循环内保持稳定。
- 装载到检测盒之前，务必将血浆和血清样本解冻且平衡至室温。
- 全血、血浆或血清样本的运输必须符合国家、联邦、州和当地的病原体运输法规。

制备样本

1. 离心全血标本，然后将血浆直接转移至检测盒中。充足的样本量对获取有效的检测结果至关重要（参见【**检验方法**】**准备检测盒** 的说明）。



2. 如果使用冷冻血浆标本，使用前应将标本置于室温（20~35°C），直到完全解冻并平衡至室温。



3. 使用前，应当将 2~8 °C 下存储的血浆和血清样本从冰箱取出，并平衡至室温。



4. 使用前，应将 2~8°C 下存储或冷冻存储且经过解冻的血浆样本涡旋 10 秒。如果样本出现混浊，应快速离心澄清样本。

【检验方法】

准备检测盒

重要 样本加入检测盒后 4 小时内开始检测。

1. 戴上一次性防护手套。
2. 如果检测盒低温储存，则应在使用前平衡至室温。
3. 检查检测盒是否损坏。如有损坏，请勿使用。
4. 给检测盒贴上含有样本标识号的标签。
5. 打开检测盒盖。
6. 将样本添加至检测盒中。
 - **选项 1:** 如果使用试剂盒自带的移液管（图 1），则从采血管中移取血浆或血清至移液管第 4 个刻度（1.0 mL）或略高的位置。将移液管的吸取物全部加入检测盒的样本室内（图 2）。
 - **选项 2:** 如果使用精密移液器，则从采血管中移取 0.6 mL 血浆或血清至检测盒的样本室（图 2）。

注 不要取下覆盖在检测盒的内圈（13 个孔）上的塑料薄膜。

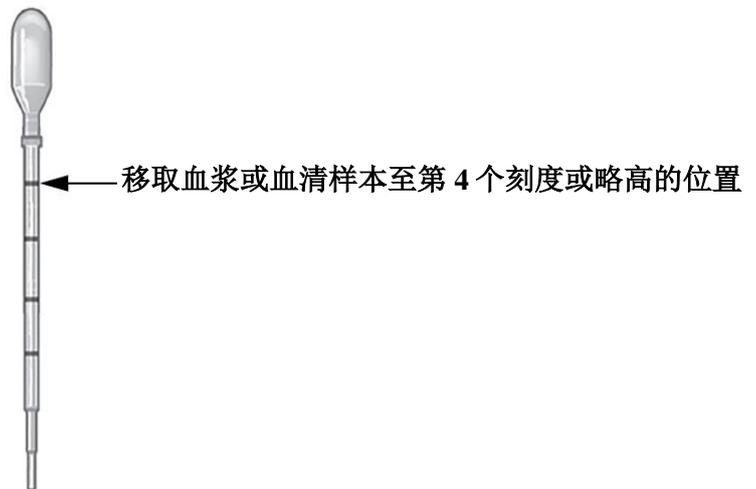


图 1. HBV VL 移液管

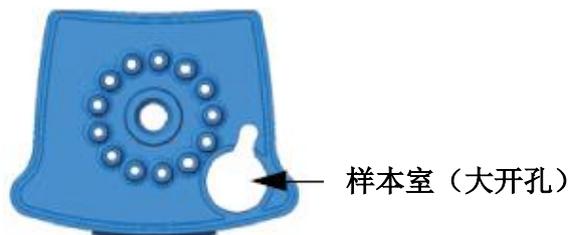


图 2. HBV VL 检测盒（俯视图）

7. 合上检测盒盖。确保盖子牢固卡入到位。

开始检测

重要 测试开始前，确保将 **HBV VL 检测** 定义文件导入到软件中。

本节列出了运行测试的基本步骤。所用不同仪器型号的说明详情，请相应参见 GeneXpert Dx 系统操作手册或 GeneXpert Infinity 系统操作手册。

注 如果系统管理员变更了系统的默认工作流程，则操作步骤可能不同。

1. 打开 GeneXpert 仪器：

- 如果使用 GeneXpert Dx System 仪器，首先将该仪器打开，然后打开计算机。GeneXpert Dx System 软件将自动运行或通过双击 Windows® 桌面上 GeneXpert Dx 软件的快捷方式图标运行软件。

或者

- 如果使用 GeneXpert Infinity System 仪器，开启电源。GeneXpert 软件将自动运行或通过双击 Windows® 桌面上 Xpertise 软件的快捷方式图标运行软件。

2. 输入您的用户名和密码登录 GeneXpert 仪器系统软件。

3. 在 GeneXpert 系统窗口点击“创建检测(Create Test)”(GeneXpert Dx)或点击“预定(Orders)”和“预定检测(Order Test)”(Infinity)。“创建检测(Create Test)”窗口打开。

4. 扫描患者 ID (可选)。如手动输入患者 ID，需确保输入无误。患者 ID 将显示在查看结果 (View Results) 窗口左侧，同时展示相应检测结果。

5. 扫描样本 ID 或手动输入样本 ID。如果手动输入样本 ID，需确保输入无误。样本 ID 显示在查看结果 (View Results) 窗口左侧，同时展示相应检测结果。

6. 扫描 HBV VL 检测盒上的条形码。软件将读取条形码信息自动填写复选框中的以下字段：试剂批次 ID、检测盒 SN、失效日期。

注 如果 HBV VL 检测盒上的条形码不能扫描，则使用一个新的检测盒重复检测。

7. 点击“开始测试 (Start Test)” (GeneXpert DX) 或“提交 (Submit)” (Infinity)。在出现的对话框中输入密码。

8. 对于 GeneXpert Infinity System 仪器，将检测盒放置于传送带上。检测盒将自动加载并运行检测，使用过的检测盒将被自动放置于废物箱中。

或者

对于 GeneXpert Dx System 仪器：

- A. 绿灯闪烁时，打开仪器模块门，装载检测盒。
- B. 关闭模块门。检测开始，同时绿灯停止闪烁。检测结束时，灯熄灭。
- C. 打开模块门取出检测盒之前，需等待仪器打开门锁。

D. 根据贵机构的标准操作规程，将用过的检测盒丢弃在适当的样本废物箱中。

查看和打印结果

本节列出了查看和打印结果的基本步骤。关于在所用不同仪器上如何查看和打印结果的更多详细说明，根据所用仪器，请参见 GeneXpert Dx System 操作手册或 GeneXpert Infinity System 操作手册。

1. 点击“**查看结果 (View Results)**”图标查看结果。
2. 测试完成时，点击“**查看结果 (View Results)**”窗口上的“**报告 (Report)**”按钮查看和 / 或生成 PDF 报告文件。

【检验结果的解释】

质量控制

CONTROL

每个试剂盒均包含样本量充足性 (SVA) 质控、高值和低值内部定量标准品 (IQS-H 和 IQS-L)、批次特定参数 (LSP) 以及探针检查质控 (PCC)。

- **样本量充足性质控 (SVA)** —— 确保已将样本正确添加到检测匣中。SVA 可用于验证是否已将正确体积的样本加入到样本室中。如果符合经确认的验收标准，则 SVA 合格。如果 SVA 不合格，当没有样本时，将提示“**错误 2096**”；当样本体积不足时，将提示“**错误 2097**”。系统将阻止用户继续检测。
- **高值和低值内部定量标准品 (IQS-H 和 IQS-L)** —— IQS-H 和 IQS-L 是每个检测盒中包含的序列与 HBV 不相关的两种线性化质粒，并且参与整个检测过程。这两种标准品用于计算样本中 HBV DNA 的浓度。此外，IQS-H 和 IQS-L 可检出实时 PCR 反应中与样本相关的抑制作用，从而起到样本处理质控的作用。如果符合经确认的验收标准，则 IQS-H 和 IQS-L 合格。
- **用于定量的批次特定参数 (LSP)** —— 每个批次试剂盒都含有由 HBV 校准样本组以及内部定量标准品 (IQS-H 和 IQS-L) 生成的内置批次特定参数 (LSP)，HBV 校准品可溯源至 WHO 第四代 HBV 国际标准品 (NIBSC 代码: 10/266)⁴。LSP 对于试剂批次是唯一的，用于确保定量正确。
- **探针检查质控 (PCC)** —— 在 PCR 反应开始之前，GeneXpert 仪器系统将测量来自探针的荧光信号，以监测冻干珠的再水化、反应管的灌装、探针完整性和染料稳定性。如果荧光信号符合指定的验收标准，则 PCC 合格。

结果判读

GeneXpert 仪器系统可自动判读测量到的荧光信号和内置计算算法的结果，同时清楚地将判读结果显示在“查看结果 (View Results)”窗口 (图 3 和图 8) 中。可能的结果如表 1 所示。

表 1. Xpert HBV VL 试剂盒结果和判读

结果	判读
检出HBV IU/mL (log X.XX) 见图3.	检出HBV DNA，浓度为XX IU/mL (log X.XX)。 <ul style="list-style-type: none"> ● HBV DNA 的滴度在检测试剂盒定量范围内 (10~1.00E09 IU/mL)。 ● IQS-H 和 IQS-L: 合格。 ● 探针检查-合格; 所有探针检查结果均合格。
检出HBV (> 1.00E09 IU/mL) 见图4.	检出HBV DNA，浓度超出定量范围上限。 <ul style="list-style-type: none"> ● IQS-H 和 IQS-L: 合格。 ● 探针检查-合格; 所有探针检查结果均合格。
检出HBV (< 10 IU/mL) 见图5.	检出HBV DNA，浓度低于定量范围下限。 <ul style="list-style-type: none"> ● IQS-H 和 IQS-L: 合格。 ● 探针检查-合格; 所有探针检查结果均合格。
未检出HBV 见图6.	未检出HBV DNA。 <ul style="list-style-type: none"> ● IQS-H 和 IQS-L: 合格。 ● 探针检查-合格; 所有探针检查结果均合格。
无效 见图7.	无法确定是否存在HBV DNA。根据章节“复检程序”的说明进行重复检测。 <ul style="list-style-type: none"> ● IQS-H 和 / 或 IQS-L: 不合格; 循环阈值 (Ct) 不在有效范围内。 ● 探针检查-合格; 所有探针检查结果均合格。
错误 见图8.	无法确定是否存在HBV DNA。根据章节“复检程序”的说明进行重复检测。 <ul style="list-style-type: none"> ● 探针检查-不合格*; 所有或任一探针检查结果不合格。 * 如果探针检查合格，则该错误由最大压力限超过有效范围或系统元件故障所致。
无结果	无法确定是否存在HBV DNA。根据第章节“复检程序”的说明进行重复检测。“无结果”表明采集的数据不充分。例如，操作员停止了正在进行的检测。

注 检测的屏幕截图仅用于举例。版本编号可能与包装说明书所示的屏幕截图不同。

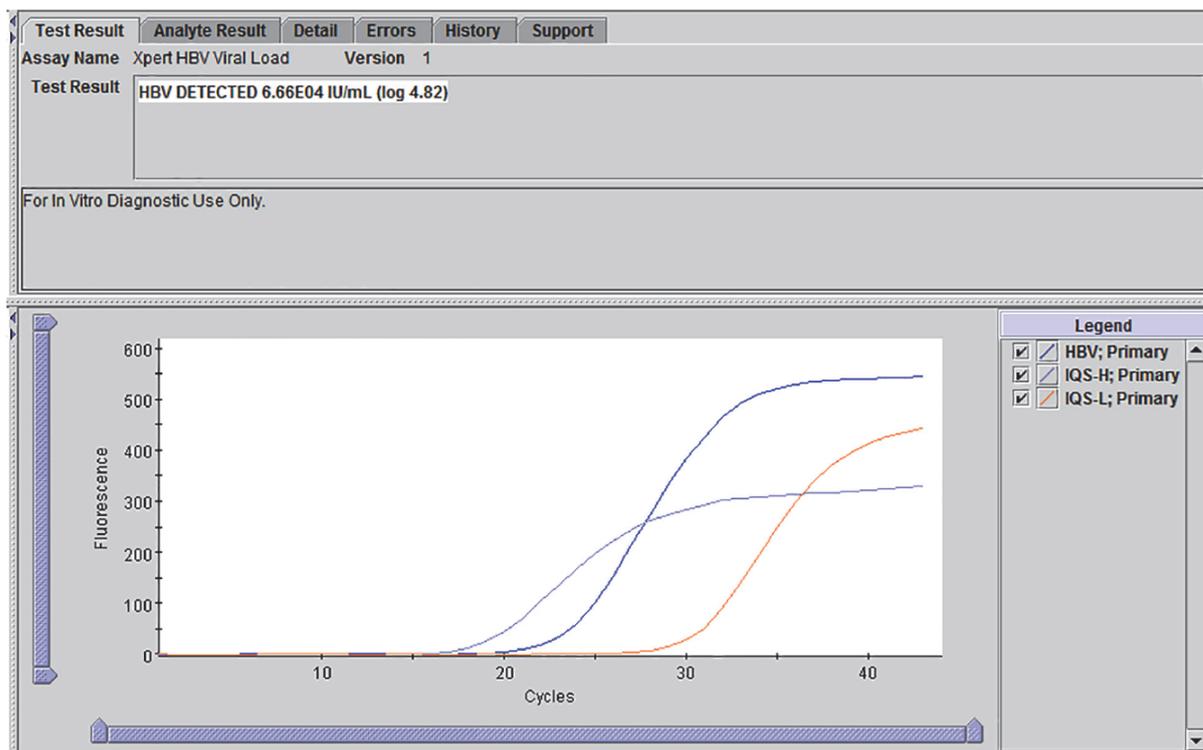


图3.检出HBV并定量

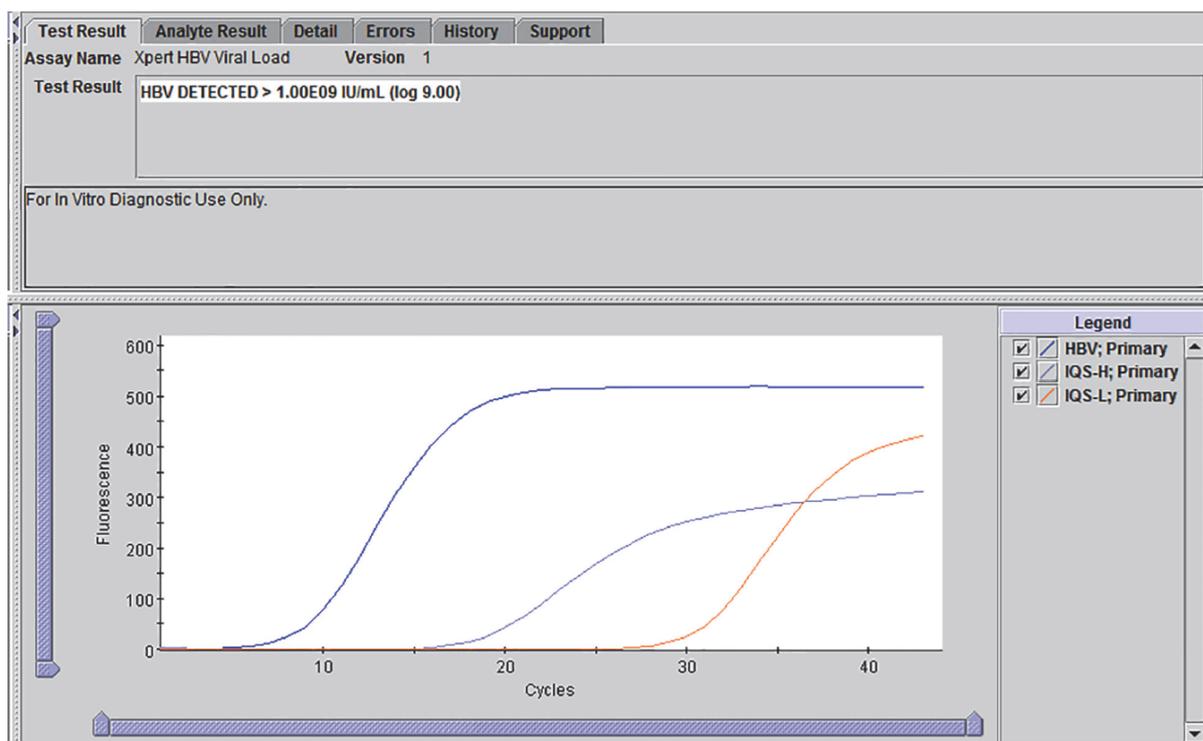


图4.检出HBV但滴度高于试剂盒定量范围

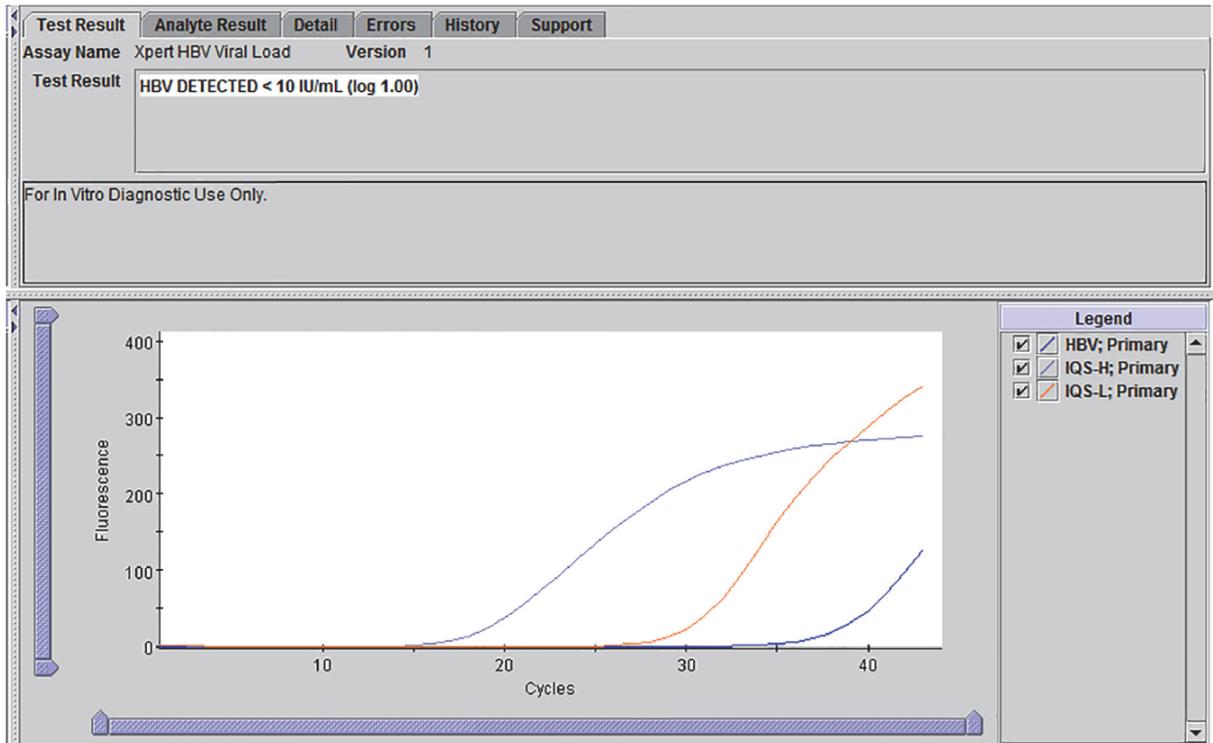


图5.检出HBV但滴度低于试剂盒定量范围

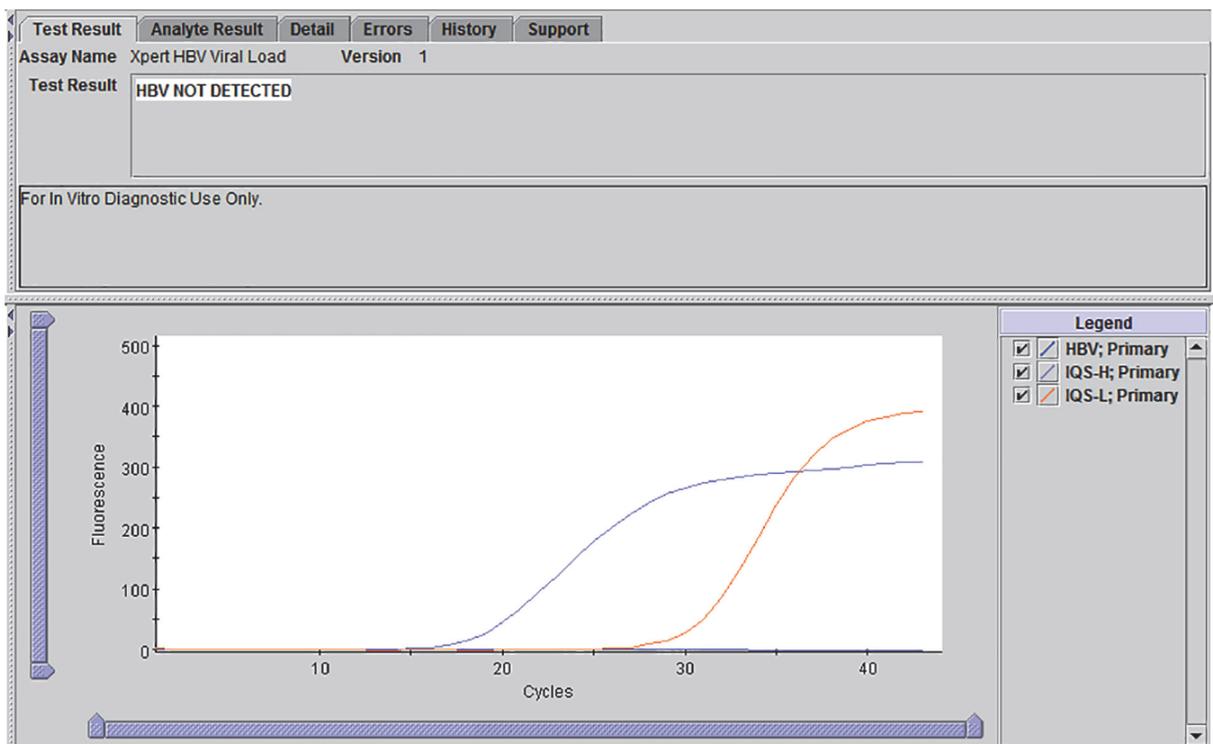


图6.未检出HBV

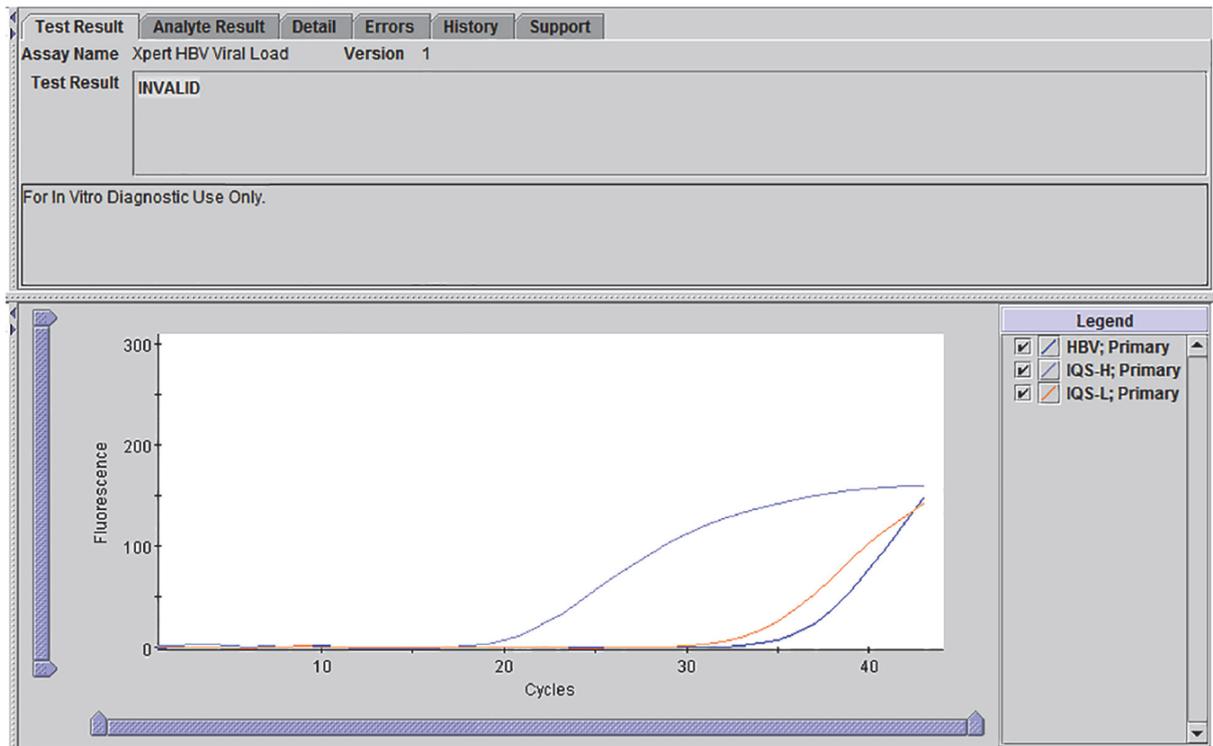


图7.无效结果

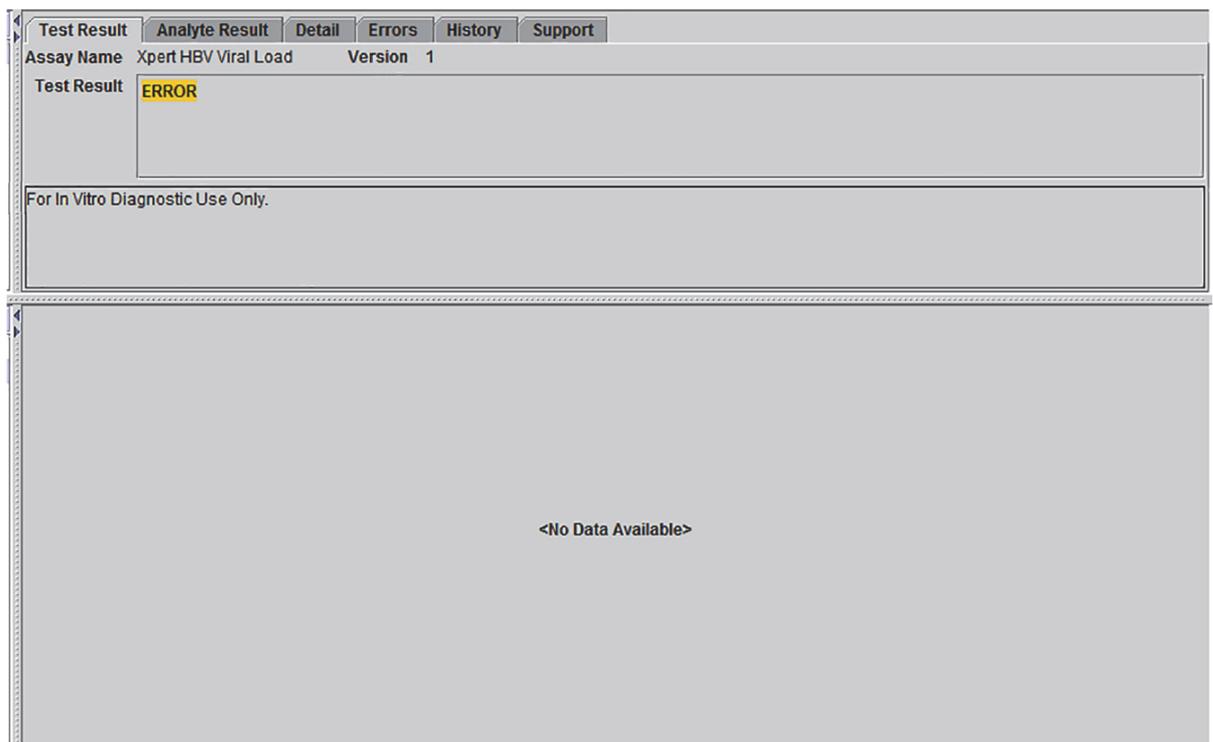


图8.错误

复检

复检原因

如果出现了下文所述的任何检测结果，根据“复检程序”中的说明进行重复检测。

- “无效”结果表明发生了以下一种或多种情况：
 - IQS-H 和 / 或 IQS-L 的 Ct 值不在有效范围内。
 - 样本处理不当或 PCR 受到抑制。
- “错误”结果表明检测中止。可能的原因包括：添加的样本量不足；反应管灌装不当；检测到试剂探针完整性问题；或超出最大压力限。
- “无结果”表明采集的数据不充分。例如，操作者停止了正在进行的检测，或发生了断电。

复检程序

如果检测结果为“无效”、“错误”或“无结果”，则使用新的检测匣对受影响的样本进行重复测试（请勿重复使用检测匣）。

1. 从试剂盒中取出新的检测匣。
2. 请参阅【检验方法】，包括第“准备检测盒”和第“开始检测”。

【检验方法的局限性】

- 建议遵照实验室管理规范并在处理不同样本时更换手套，以避免患者样本或试剂污染。
- HBV VL 试剂盒目标区域内的罕见突变可能影响引物或探针结合，导致定量不足或未检出病毒。
- 该试剂盒仅适用于血清和 EDTA 血浆。其他样本类型的检测可能导致结果不准确。
- 阴性检测结果不排除 HBV 感染。因此，HBV VL 试剂盒不用作确认是否存在 HBV 感染的诊断测试。

【产品性能指标】

检出限

通过检测使用 HBV 阴性 EDTA 血浆和血清稀释的 WHO 第四代 HBV DNA 国际标准品（NIBSC 代码：10/266）⁴ 得到的梯度稀释液，来确定 HBV VL 试剂盒对于 HBV 基因型 A 的检出限（LOD）。分别使用 4 批或 3 批试剂检测了 EDTA 血浆样本组和血清样本组的 6 个浓度水平（包含一个阴性对照）。在 3 天内，每批试剂重复检测样本组内的每份样本各 24 次。血浆组每份样本共重复检测 96 次，血清组每份样本共重复检测 72 次。

EDTA 血浆和血清样本组的结果列于表 2。本研究表明，通过检测 WHO 国际标准品，HBV VL 试剂盒可以检出 EDTA 血浆中浓度为 3.20 IU/mL 和血清中浓度为 5.99 IU/mL 的 HBV DNA，通过 PROBIT 回归分析确定其阳性率为 95%。

表 2. 使用 WHO 第四代 HBV 国际标准品确定 Xpert HBV VL 试剂盒的检出限

基因型	基质	标称 HBV 浓度 (IU/ml)	有效重复检测的次数	阳性数量	阳性率 (%)	通过 PROBIT 确定的 95% LOD (95% 置信区间)
A	血浆	10	95	95	100	3.20 IU/mL (2.79 – 3.60 IU/mL)
		5	96	94	98	
		2.5	96	82	85	

		1.25	96	62	65	
		0.625	96	41	43	
		0	96	0	0	
A	血清	10	72	71	99	5.99 IU/mL (5.13 – 6.86 IU/mL)
		5	72	67	93	
		2.5	72	58	81	
		1.25	72	33	46	
		0.625	72	21	29	
		0	72	0	0	

向 HBV 阴性 EDTA 血浆中加入代表各基因型的 HBV 阳性样本（基因型 B 至基因型 G 均来自 WHO 国际标准品组，PEI 代码：5086/08，基因型 H 为临床样本）来制备样本组，含 6 或 7 份样本，通过检测该样本组确定 HBV 基因型 B 至基因型 H 的检出限。在 3 天内，使用 3 个试剂批次对样本组内每份样本进行共 24 次重复检测。结果见表 3。

表3.EDTA血浆中HBV基因型B至基因型H的检出限

基因型	通过PROBIT确定的95% LOD (IU/mL)	95%置信区间 (IU/mL)
B	1.34	0.98 – 1.69
C	1.63	1.23 – 2.03
D	3.96	3.01 – 4.92
E	3.77	2.76 – 4.78
F	2.39	1.82 – 2.96
G	1.21	0.95 – 1.47
H	3.84	2.91 – 4.77

根据 CLSI EP17-A2¹⁰，通过进行 24 次重复检测验证血清中 HBV 基因型 B 至基因型 H 的检出限。如果阳性率未达到>85%，则检测更高的浓度。结果见表 4。

表4.血清中基因型B至基因型H的LOD验证

基因型	标称HBV浓度 (IU/ml)	阳性率 (%)
B	1.34	88
C	3.25	96
D	3.96	96
E	3.77	96
F	2.39	92
G	1.21	88
H	3.84	100

还通过使用同一批试剂检测经测序的 HBV 临床样本来评价 HBV VL 试剂盒对前核心突变的检测性能，包含使用 EDTA 血浆和血清稀释至 10 IU/mL 浓度的两个前核心突变（C1858T 和 G1896A）和两个基本核心启动子突变（A1762T 和 G1764A）样本。在各基质中检测的 24 份重复样本均获得 100% 阳性率。

定量下限

定量下限（LLOQ）是指在可接受的精密度和正确度下可定量的HBV DNA的最低浓度，采用总分析误差（TAE）和一种基于测量值之间差异的方法进行测定。使用代表HBV基因型A至D的4份独立EDTA血浆样本评价LLOQ，样本浓度接近检出限。使用4批试剂对每份样本进行检测，每批重复检测8至24次。根据CLSI指导原则EP17-A2¹⁰，采用Westgard模型估算TAE，标准为

$[(\text{绝对偏倚}) + 2 \text{SD} \leq 1 \log_{10} \text{IU/mL}]$ 。评价测量值之间的差异，标准为 $[(2 \times \sqrt{2} \times \text{SD}) \leq$

$1 \log_{10} \text{IU/mL}]$ 。

每份样本的LLOQ分析见表5。结果表明，HBV VL试剂盒能够定量10 IU/mL HBV DNA并具有可接受的正确度和精密度。

表5.Xpert HBV VL试剂盒的LLOQ确定

HBV 基因型	批次	数量	HBV浓度 (log ₁₀ IU/mL)		偏倚	总SD	总分析误差 a	测量间差异 b
			预期值	观察值				
A	1	24	1.00	1.02	0.02	0.20	0.42	0.57
	2	24	1.00	1.05	0.05	0.16	0.37	0.45
	3	24	1.00	0.94	-0.06	0.20	0.46	0.57
	4	23	1.00	1.02	0.02	0.14	0.30	0.40
B	1	16	1.00	1.18	0.18	0.11	0.39	0.30
	2	24	1.00	1.18	0.18	0.17	0.53	0.49
	3	8	1.00	1.17	0.17	0.19	0.54	0.53
	4	8	1.00	1.25	0.25	0.19	0.64	0.55
C	1	16	1.00	1.10	0.10	0.17	0.44	0.47
	2	24	1.00	1.11	0.11	0.22	0.55	0.61
	3	8	1.00	0.83	-0.17	0.24	0.65	0.68
	4	8	1.00	1.01	0.01	0.18	0.36	0.50
D	1	16	1.00	0.81	-0.19	0.28	0.74	0.78
	2	24	1.00	0.79	-0.21	0.27	0.75	0.76
	3	8	1.00	0.83	-0.14	0.14	0.42	0.39
	4	8	1.00	0.91	-0.09	0.11	0.31	0.32

a 根据 Westgard 模型计算 TAE，其中 $[\text{TAE} = |\text{偏倚}| + (2 \times \text{SD}) \leq 1 \log_{10} \text{IU/mL}]$ ，确保有 95% 的概率使测量值与真值的差异小于 $1 \log_{10} \text{IU/mL}$ 。

b 测量间差异 $[2 \times \sqrt{2} \times \text{SD}] \leq 1 \log_{10} \text{IU/mL}$ 表明小于 $1 \log_{10} \text{IU/mL}$ 的差异可以通过随机误差来解释。

精密度 / 重复性

使用方差分析（ANOVA）估计总方差，评价HBV VL试剂盒检测K₂EDTA血浆的精密度 / 重复性。

本研究为多中心（3个研究中心：2个外部中心和1个内部中心）设盲研究，使用由8份HBV阳性样本组成的样本组对HBV VL试剂盒的主要方差组分进行评价。使用人EDTA血浆稀释充分表征的HBV质粒或HBV阳性临床样本，制备HBV阳性样本。在6天试验期内，3个研究中心的2名操作人员（1名有PCR经验，1名没有PCR经验）对样本组进行2次重复检测，每天运行2轮（相当于每天重复检测8次），样本组的每份样本共重复检测144次。共使用3批HBV VL试剂盒，每批为2天检测用量。根据CLSI EP05-A3¹¹和CLSI EP15-A3¹²评价精密度和重复性。

从研究中心 / 仪器、批次、检测日、操作者 / 批间和批内等方面，用嵌套方差分析评价了HBV VL试剂盒的精密度和重复性。计算log₁₀ HBV的各分量转换浓度所得出的标准差和变异性百分比，见表6。

表6.Xpert HBV VL试剂盒的精密度 / 重复性

HBV DNA浓度 (log ₁₀ IU/mL)			总方差SD (CV%) 组成										总精密度	
			研究中心 / 仪器		批次		检测日		操作者 / 批间		批内			
预期值	观察值	数量	SD	(%) ^a	SD	(%) ^a	SD	(%) ^a	SD	(%) ^a	SD	(%) ^a	SD	CV (%) ^b
9.00	9.13 ^c	144	<0.01	<0.01	0.04	23.4	<0.01	<0.01	0.02	4.9	0.07	71.7	0.08	19.7
8.00	8.17	144	<0.01	<0.01	0.04	26.7	<0.01	<0.01	0.02	5.4	0.06	67.9	0.07	16.9
7.00	7.15	144	0.01	2.2	0.03	12.2	0.01	3.9	<0.01	<0.01	0.07	81.8	0.07	16.8
6.00	6.18	144	<0.01	<0.01	0.04	32.1	0.01	4.3	<0.01	<0.01	0.05	63.6	0.06	14.7
4.70	4.87	144	0.02	4.5	0.03	15.3	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.07	80.2	0.07	17.1
3.00	3.19	144	<0.01	<0.01	0.03	28.8	<0.01	<0.01	0.02	11.5	0.04	59.7	0.06	13.2
2.00	2.17	144	<0.01	<0.01	0.02	8.6	<0.01	<0.01	0.01	1.0	0.08	90.5	0.08	19.0
1.00	1.13	144	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.05	11.0	0.01	0.3	0.15	88.8	0.16	37.7

a (%) 是方差分量相对总方差的分布。

b “CV”是对数正态分布的 CV，其计算公式为：

$$\text{对数正态CV (\%)} = 100 * \sqrt{10^{(\ln(10) * \sigma^2_{\log_{10}\text{浓度}})} - 1}$$

c 观察值高于 HBV VL 试剂盒的定量范围。

线性范围

通过分析覆盖了HBV（1.00 – 9.00）log₁₀ IU/mL浓度范围的8份样本，确定HBV VL试剂盒的线性范围。通过在HBV阴性EDTA血浆和血清中加入HBV基因型A临床样本或高滴度HBV质粒DNA原液来制备样本组。采用每批试剂（共2批试剂）对每份样本进行8次重复检测，但对于最低稀释浓度的样本，采用每批试剂对其进行16次重复检测。结果见图9和图10所示。

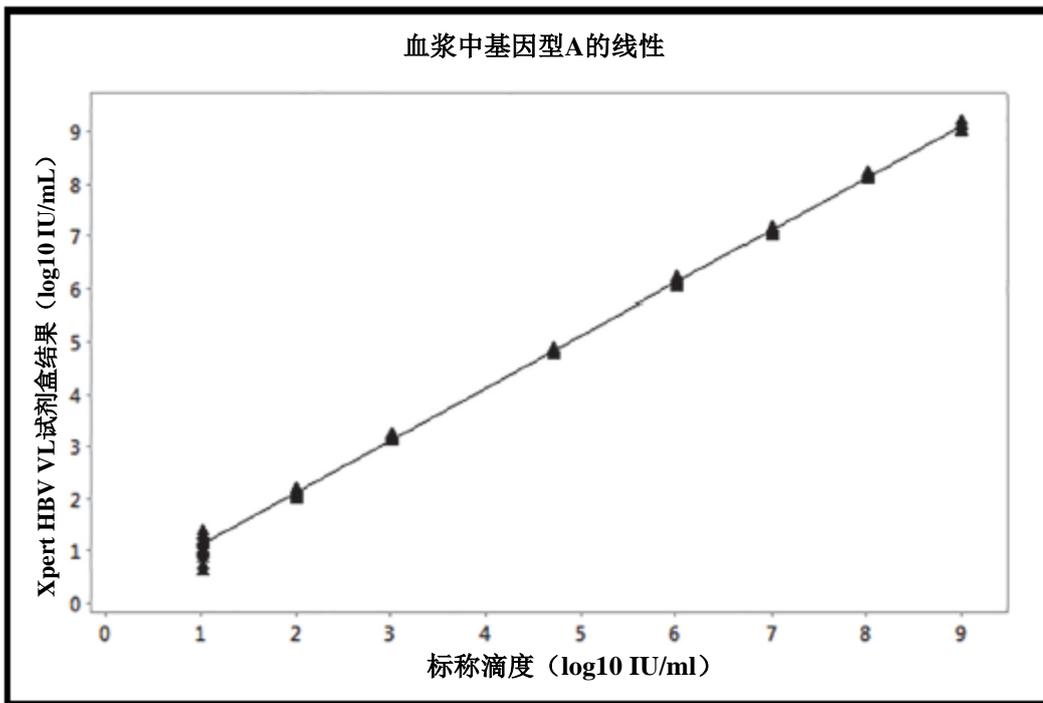


图9.Xpert HBV VL试剂盒在EDTA血浆样本中的线性

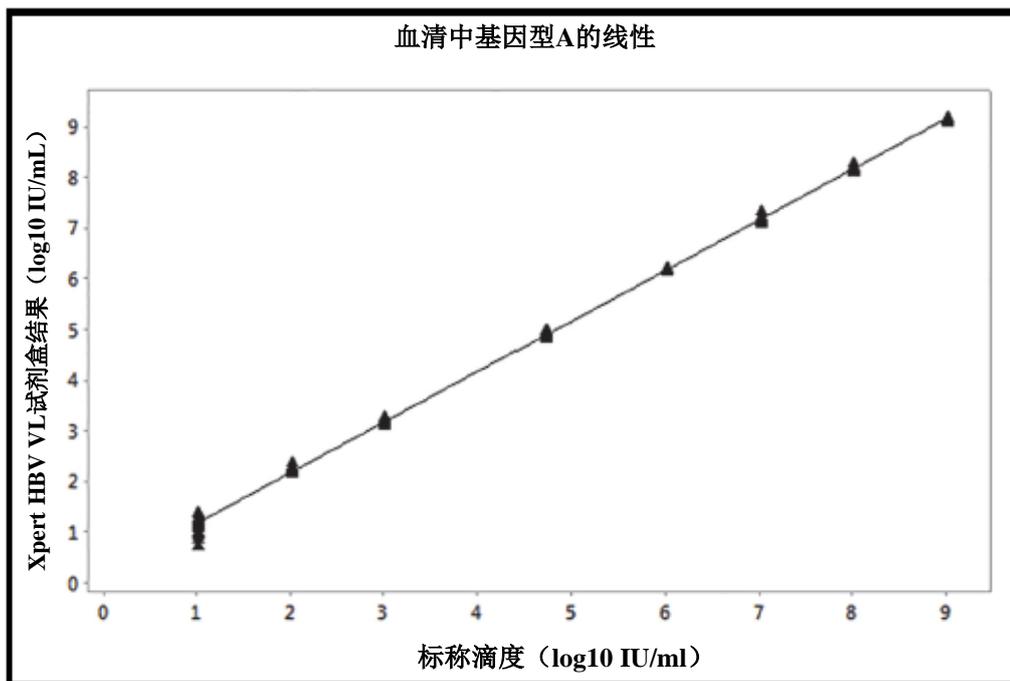


图10.Xpert HBV VL试剂盒在EDTA血清样本中的线性

为了确认线性，用HBV阴性EDTA血浆稀释代表各基因型的临床样本，制备代表了HBV基因型B至H的样本组，尽可能覆盖测量范围。使用同一批试剂检测样本组样本，重复检测次数与HBV基因型A相同。

根据CLSI指导原则EP06-A¹³，当满足 $R^2 > 0.99$ 可证明基因型A至基因型H的线性。对于基因型A，HBV VL试剂盒在（1.00–9.00）log₁₀ IU/mL范围内呈线性，对于基因型B至基因型H，试剂盒在其检测范围内呈线性（见表7）。

表7.对于不同基因型，Xpert HBV VL试剂盒的线性

基因型	线性回归方程	R ²	检测的滴度范围 (log ₁₀ IU/mL)
A (血浆)	y = 1.005x + 0.093	0.999	1.00 – 9.00
A (血清)	y = 1.000x + 0.167	0.999	1.00 – 9.00
B	y = 0.998x – 0.027	0.995	1.00 – 6.83
C	y = 0.998x – 0.119	0.998	1.00 – 7.69
D	y = 0.993x + 0.101	0.998	1.00 – 7.41
E	y = 1.010x – 0.149	0.999	1.00 – 8.14
F	y = 0.994x – 0.068	0.999	1.00 – 7.96
G	y = 0.990x + 0.538	0.999	1.00 – 8.61
H	y = 0.991x + 0.122	0.999	1.00 – 6.35

分析特异性 (排他性)

向HBV阴性EDTA血浆和含有约30 IU/mL 的HBV标准物质 (WHO第四代HBV国际标准品, NIBSC代码: 10/266) ⁴的EDTA血浆中添加潜在的交叉反应微生物 (微生物浓度为1 × 10⁶ CFU/mL, 病毒浓度为1 × 10⁵拷贝 / mL或TCID₅₀/mL), 评价HBV VL试剂盒的分析特异性。供试微生物见表8。所有供试微生物均未显示交叉反应性, 也未干扰HBV VL试剂盒的定量检测。

表8.分析特异性微生物

病毒		细菌	酵母菌
BK人多瘤病毒	人类免疫缺陷病毒1型	表皮葡萄球菌	白色念珠菌
巨细胞病毒	人类免疫缺陷病毒2型	金黄色葡萄球菌	
EB病毒	人乳头状瘤病毒16型		
甲型肝炎病毒	人乳头状瘤病毒18型		
丙型肝炎病毒	人类嗜T细胞病毒1型		
单纯疱疹病毒1型	人类嗜T细胞病毒2型		
单纯疱疹病毒2型	水痘带状疱疹病毒		
人类疱疹病毒6型	痘苗病毒		
人类疱疹病毒8型			

潜在干扰物质

通过提高内源性物质浓度水平、使用自身免疫疾病标志物和HBV感染患者处方药评价了HBV VL试剂盒对干扰的敏感性。在存在和不存在约30 IU/mL HBV DNA标准物质 (WHO第四代HBV国际标准品, NIBSC代码: 10/266) ⁴的情况下评价抑制作用。

已经证明表9中列出的内源性物质浓度水平的升高不会干扰HBV VL试剂盒的定量检测, 其中含有潜在干扰物质的各个阳性HBV样本的log₁₀滴度平均值在阳性质控品的± 0.10 log₁₀ IU/mL范围内。不含HBV靶标的所有样本均得到阴性结果, 表明对试剂盒的特异性无影响。

表9.内源性物质和测试浓度

物质	测试浓度
白蛋白	9 g/dL
胆红素	20 mg/dL
血红蛋白	500 mg/dL
人DNA	0.4 mg/dL
甘油三酯	3000 mg/dL

在HBV DNA存在和不存在的情况下以3倍峰值血浆浓度（C_{max}）检测表10中的药物组分时，所列组分不会干扰HBV VL试剂盒的定量检测，也不会影响其特异性。

表10.供试药物组

组	药物
1	齐多夫定、沙奎那韦、克拉霉素、干扰素- α -2b、利托那韦、奥比帕韦、帕立瑞韦、达塞布韦、地达诺新
2	硫酸阿巴卡韦、膦沙那韦、聚乙二醇干扰素- α -2a、利巴韦林、恩替卡韦、阿德福韦酯
3	富马酸替诺福韦二吡呋酯、拉米夫定、硫酸茚地那韦、更昔洛韦、盐酸缬更昔洛韦、阿昔洛韦、帕罗西汀、替比夫定
4	司他夫定、依法韦仑、洛匹那韦、恩夫韦肽、环丙沙星、氟西汀
5	奈韦拉平、奈非那韦、阿奇霉素、伐昔洛韦、舍曲林、替诺福韦、艾拉酚胺

对自身免疫疾病标志物系统性红斑狼疮（SLE）、抗核抗体（ANA）或类风湿因子（RF）呈阳性的5名个体的K₂EDTA血浆样本的检测结果显示对HBV VL试剂盒性能无干扰。加标HBV DNA的样本的log₁₀平均浓度在阳性对照品的 $\pm 0.10 \log_{10}$ IU/mL范围内。不含HBV靶标的所有样本均获得阴性结果，表明对试剂盒的特异性无影响。

基质等效性（K₂EDTA 血浆、PPT-EDTA 和血清）

使用K₂EDTA血浆、PPT-EDTA血浆和血清采集管中收集的32份匹配的HBV阳性临床样本和23份匹配的HBV阴性临床样本来评价HBV VL试剂盒的基质等效性。在23份匹配的HBV阴性临床样本中加入HBV阳性材料，HBV阳性材料来自代表HBV基因型B至基因型G的临床样本和表达HBV基因型A靶序列的DNA质粒，滴度覆盖整个线性范围。

如图11和图12所示，证明了在供试样本中的基质等效性。

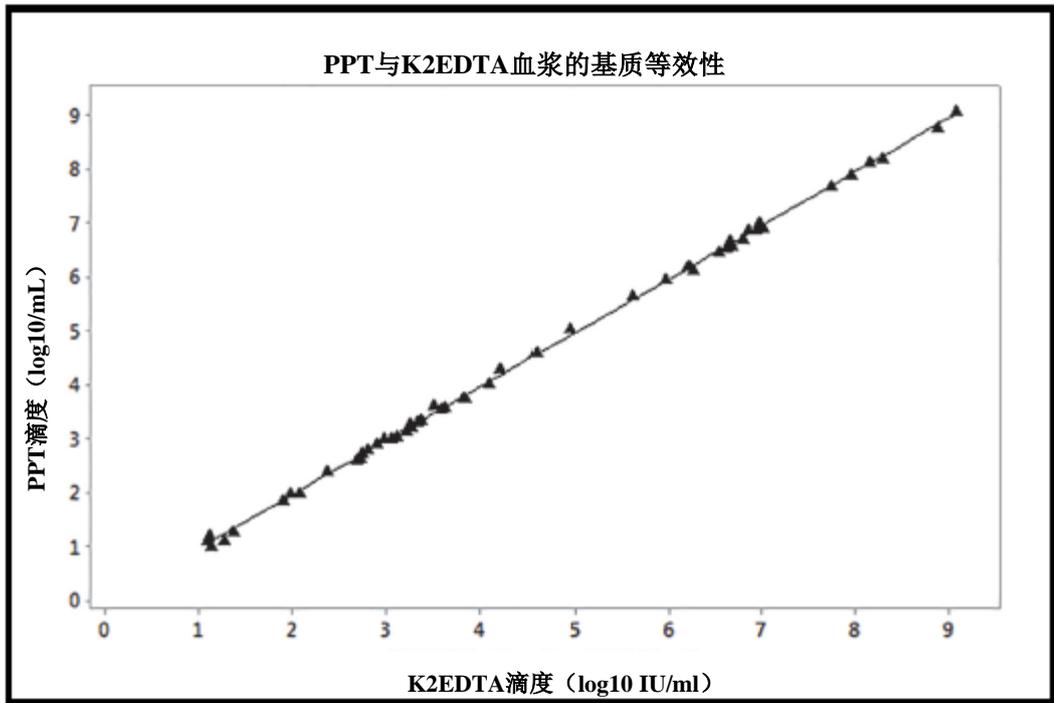


图11.PPT-EDTA血浆与K₂EDTA血浆样本的线性回归图

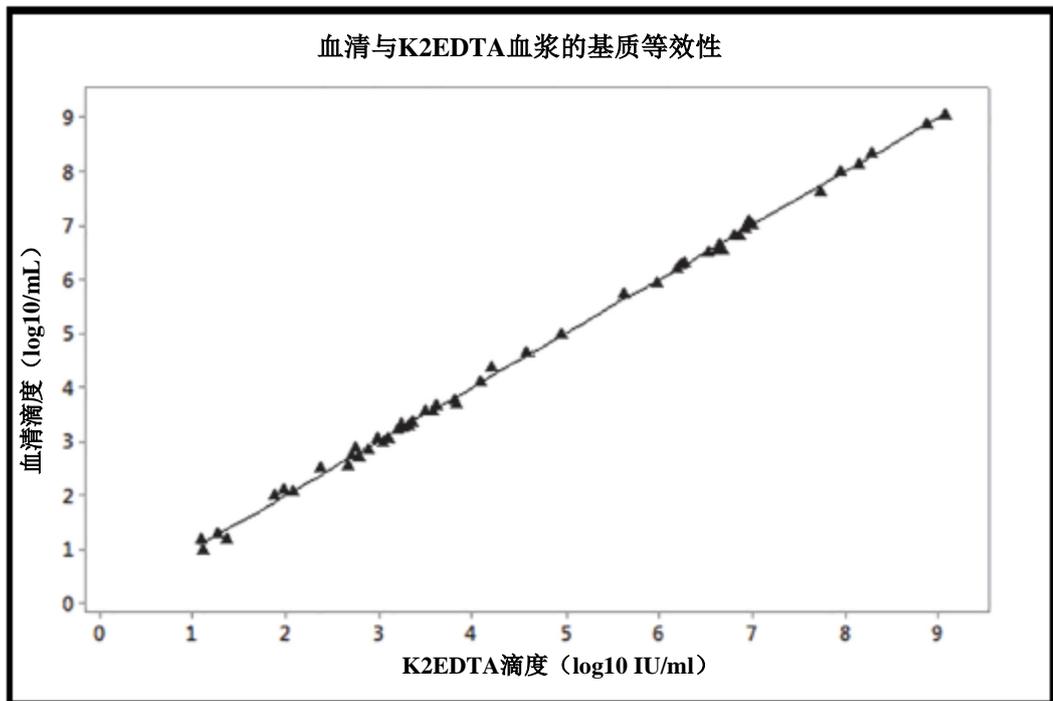


图12.血清与K₂EDTA血浆样本的线性回归图

整体系统故障

通过重复检测100份加入WHO第四代HBV DNA国际标准品（NIBSC代码10/266）⁴的基因型A EDTA血浆样本，确定HBV VL试剂盒的整体系统故障率。检测加标样本，目标浓度约为3 x LLOQ（30 IU/mL）。

本研究的结果证实所有重复检测均有效且呈HBV靶标阳性，整体系统故障率为0.0%

携带污染

使用相同的GeneXpert仪器模块，在检测高滴度HBV阳性样本（ $>1 \times 10^7$ IU/mL）之后立即检测HBV阴性样本。在两个模块中重复该过程20次。HBV VL试剂盒的携带率为0%。

性能特征—临床性能

正常健康血液供体的特异性

使用HBV阴性血液供体提供的99份血清和100份EDTA血浆样本评价了HBV VL试剂盒的特异性。HBV VL试剂盒的特异性为100.0% [95% CI: 98.1-100.0（199/199）]。

方法相关性

实施多中心研究，使用已知HBV感染者剩余的标准血清和EDTA血浆样本，评价Xpert HBV VL试剂盒与HBV DNA定量比较方法的性能。

在876例合格的受试者中，有351例（40.1%）为女性，489例（55.8%）为男性。平均年龄为 47.2 ± 15.9 岁，年龄范围为18至89岁。在这876份样本中，560份在HBV VL试剂盒和比较方法的定量范围内。Deming回归和简单线性回归分析的结果见图13。

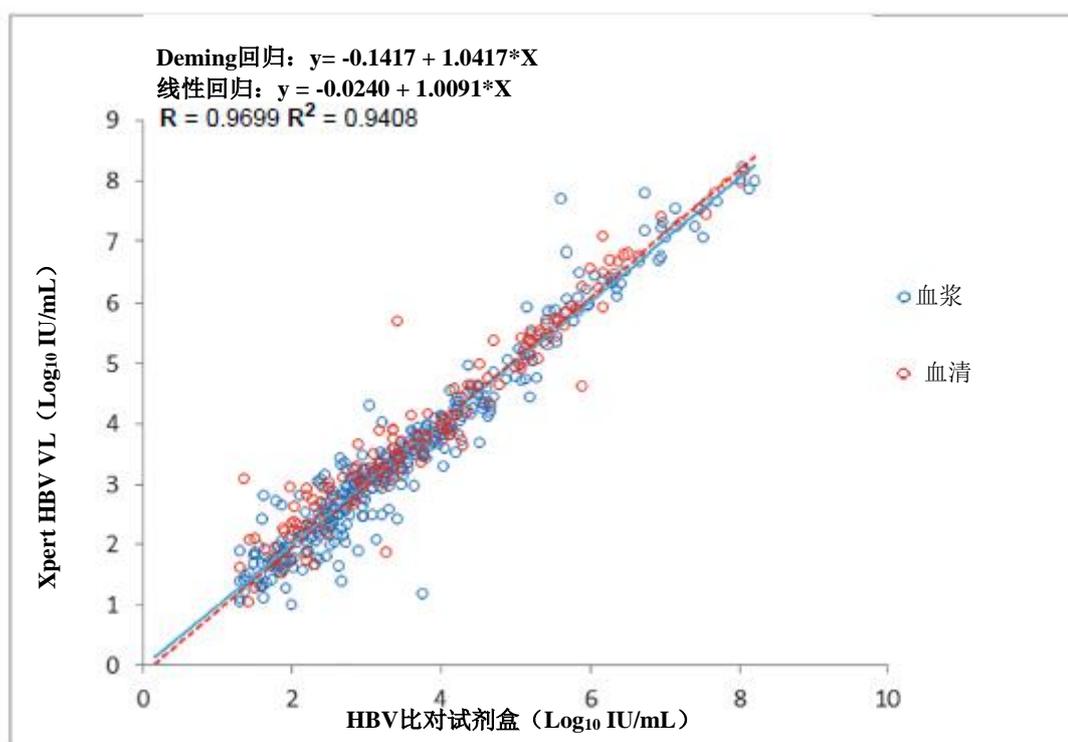


图13.使用血清和EDTA血浆样本评价Xpert HBV VL试剂盒与对比试剂盒的相关性

【注意事项】

警告和注意事项

- 仅限体外诊断使用
-  ● 所有生物样本（包括使用过的检测盒）均应该视为具有传播性的传染源处理。由于通常无法确定哪些样本具有传染性，因此应采用标准预防措施处理所有生物样本。可从美国疾病控制和预防中心⁵以及临床和实验室标准协会⁶获取样本处理指南。
- 建议遵照实验室管理规范，并在处理不同样本时更换新的手套，以避免样本或试剂污染。
- 遵照所在机构的化学品和生物样本安全处理规程。
- 请勿使用其它试剂盒替代 HBV VL 试剂盒。
- 在加入样本前，请勿打开 HBV VL 检测盒。
- 请勿使用拆除包装后跌落的检测盒。
- 请勿摇晃检测盒。检测盒开盖后发生摇晃或跌落均可能得到无效结果。
- 请勿使用反应管损坏的检测盒。
- 请勿覆盖检测盒上的条形码标签。
- 使用移液管或精密移液器，将样本添加到检测盒中。请勿直接将样本从采集装置倒入检测盒中。
-  ● 每个一次性使用的 HBV VL 检测盒仅能处理一次检测。请勿重复使用检测盒。
-  ● 每个一次性移液管只能转移一份样本。请勿重复使用一次性移液管。
- 请穿上干净的实验工作服并戴上手套。处理每份样本前应更换手套。
- 如果工作区或加载样本或质控品的设备出现污染，采用新鲜制备的 0.5% 次氯酸钠溶液（或经 1:10 稀释的家用含氯漂白剂溶液）清洁污染区域。然后用 70% 乙醇擦拭表面。待工作台面完全干燥后再继续检测。
-  ● 生物样本、转移装置和使用过的检测盒均应被视为具有传播性的传染源，需要采用标准预防措施进行处理。遵照所在机构环境废弃物处理规程，对使用过的检测盒和未使用的试剂进行适当处置。这些材料可能具有化学危险废弃物的特征，需要按照国家或地区具体程序予以处置。如果国家或地区法规中未明确提供有关废弃物适当处理的相关指示，应根据 WHO[世界卫生组织]医疗废物处理处置指南，对生物样本和使用过的检测盒进行处理⁷。

化学危害^{8,9}

- 信号词：警告
- UN GHS 危害说明：
 - 吞食有害
 - 引起轻度皮肤刺激
 - 引起眼部刺激
- UN GHS 防范说明：
 - 预防
 - 处理后彻底清洗双手。
 - 应对措施
 - 如果发生皮肤刺激：请遵医嘱 / 就医。
 - 如不慎入眼：用清水小心冲洗几分钟。如有佩戴隐形眼镜且方便取下，则取下后继续冲洗。
 - 如果眼睛刺激持续存在：请就医。
 - 如果感到不适，请寻求毒物中心或医生 / 医师帮助。

【标识的解释】

符号	意义
	目录号
	体外诊断医疗器械
	请勿重复使用
	批号
	参见使用说明
	生产商
	生产国
	足够进行<n>次检测
	质控品
	失效日期
	温度限值
	生物危害
	注意
	警告
	生产日期



Cepheid AB
 Röntgenvägen 5
 SE-171 54 Solna
 Sweden

【参考文献】

1. World Health Organization (WHO). Guidelines for the Prevention, Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis B Infection. March 2015. Accessed March 14, 2018 at: <http://www.who.int/hiv/pub/hepatitis/hepatitis-b-guidelines/en/>.
2. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *J. Hepat.* 2012; 57:167-185. Available at: <http://dxdoi.org/10.1016/j.jhep.2012.02.010>.
3. World Health Organisation. Global hepatitis report, 2017. WHO. April 2017.
4. The 4th WHO International Standard for Hepatitis B Virus DNA for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC code: 10/266). National Institute for Biological Standards and Control; 2016.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (5th edition), accessed March 5, 2018 at <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
7. World Health Organization. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd Edition. WHO, 2014. Accessed April 20, 2018 at http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/.
8. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006.
9. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012)) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2012.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. User Verification of Precision and Estimation of Bias; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP15-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach. Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2003.

【基本信息】

注册人/生产企业名称：瑞典赛沛公司

Cepheid AB

注册人/生产企业住所：Röntgenvägen 5, SE-171 54 Solna, Sweden

生产地址：Röntgenvägen 5, SE-171 54 Solna, Sweden

联系方式：

电话：+46 8 6843 7000 传真：+46 8 6843 7010

网址：www.cepheid.com

售后服务单位名称：赛沛（上海）商贸有限公司

售后服务单位地址：上海市长宁区福泉北路518号1座201室

联系方式：

电话：4008210728

邮箱：techsupportchina@cepheid.com/tscn@cepheid.com

代理人名称：赛沛（上海）商贸有限公司

住所：上海市长宁区福泉北路518号1座201室

联系方式：

电话：4008210728

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

国械注进20223400295

【说明书批准日期及修改日期】

批准日期：2022年6月14日

修改日期：2024年3月

【商标、专利和版权声明】

Cepheid®、Cepheid 徽标、GeneXpert® 和 Xpert® 是 Cepheid 在美国和其他国家/地区的商标。所有其他商标均为其各自相应所有者的财产。

购买本产品即向购买者授予按照该使用说明使用该产品的不可转让权利。未通过明示、暗示或禁止反悔的方式授予任何其他权利。此外，购买本产品并不会被授予转售的权利。

版权© 2023-2024 Cepheid。保留所有权利。



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden