

人类SDC2基因甲基化检测试剂盒(荧光PCR法) 说明书

【产品名称】

通用名称：人类SDC2基因甲基化检测试剂盒(荧光PCR法)

【包装规格】

10人份/盒，90人份/盒。

【预期用途】

本试剂盒用于体外定性检测人粪便样本中SDC2基因的甲基化情况。

本试剂盒适用于临床医生建议做肠镜检查的患者的辅助诊断，不能作为肿瘤早期诊断或确诊的依据，仅作为辅助诊断供临床医生参考，提供给患者更多一种大肠癌辅助诊断方法的选择。临床医生应结合患者病情及其他实验室检测指标等因素对检测结果进行综合判断。

DNA异常的高度甲基化与癌症的发生发展相关，有研究分析了大肠癌患者的癌组织以及癌旁组织的甲基化情况，筛选出具有显著差异的甲基化SDC2基因^[1]。在粪便样本的SDC2基因甲基化的研究中发现在特异性为90.9%时，大肠癌的检测敏感性为90.0%^[2]。相对于正常组织，SDC2基因在大肠癌和腺瘤组织中呈现高水平的甲基化现象，并且SDC2基因在大肠癌和腺瘤组织中的表达也显著高于正常组织^[3]。SDC2基因在大肠癌不同分期中呈现高度的甲基化，这一现象预示着其作为大肠癌诊断标志物具有较高的价值^[1-3]。

【检验原理】

本试剂盒主要包含提取转化和荧光PCR两个步骤：提取转化步骤是用磁珠捕获的方法提取人粪便样本中的SDC2基因和ACTB(β -actin)基因；然后用亚硫酸盐进行转化未发生甲基化的DNA，发生甲基化的SDC2基因则不会被亚硫酸盐转化。

荧光PCR步骤是通过使用双重荧光PCR的方法在同一个反应孔中检测甲基化的SDC2基因及ACTB基因保守序列。通过特异性的引物来扩增甲基化的SDC2基因，由FAM标记的荧光探针报告扩增信号，甲基化的SDC2基因作为大肠癌诊断的标志物；通过设计保守区域的引物来扩增ACTB基因，由Texas Red标记的荧光探针报告扩增信号。ACTB基因作为内控基因用来评估样品DNA是否足量以及样品DNA质量是否合格。试剂盒中提供阳性质控品、阴性质控品，在每次检测反应中都需要同时检测。

【主要组成部分】

1. 试剂盒中包含的试剂组份

本试剂盒根据试剂不同的保存条件要求，分成如下三个试剂盒：

表1：试剂盒组成、规格及主要成分

组分	包装规格		主要成分
	10人份/盒	90人份/盒	
试剂盒I	1. SPE柱	10支	90支
	2. 裂解液	31ml × 1瓶	207ml × 1瓶
	3. 洗液W1	13ml × 1瓶	85ml × 1瓶
	4. 洗液W2	4ml × 1瓶	25ml × 1瓶
	5. 溶液A	0.8ml × 1管	5.3ml × 1瓶
	6. 结合液	7ml × 1瓶	48ml × 1瓶
	7. 磁珠M2	770 μ l × 1管	5.3ml × 1瓶
	8. 溶液C	700 μ l × 1瓶	4.3ml × 1瓶
试剂盒II	1. 磁珠M1	770 μ l × 1管	5.3ml × 1瓶

	2. 溶液B	1.8ml × 1管	1.8ml × 6管	亚硫酸盐
试剂盒III	1. 洗脱液	1ml × 1管	6.4ml × 1瓶	tRNA 溶液
	2. PCR 反应液1	180 μl × 1管	1080 μl × 1管	DNA 聚合酶、 dNTPs、 5×PCR Buffer
	3. PCR 反应液2	180 μl × 1管	1080 μl × 1管	MgCl ₂ 、 SDC2 基因和 ACTB 基因上下游引物 4 条、 SDC2 基因和 ACTB 基因探针 2 条
	4. 阴性质控品	3.1ml × 2瓶	3.1ml × 2瓶	Caco2 细胞DNA
	5. 阳性质控品	3.1ml × 2瓶	3.1ml × 2瓶	Hct116 细胞DNA

注：不同批号试剂盒中的各组分不可以互换。

2. 产品不包含，需自备的试剂和仪器

仪器类：台式离心机、水浴锅、磁力架、移液器（规格：10μl、100μl、1000μl、5ml）

试剂耗材类：实验需要但试剂盒中不包含的有无水乙醇、10ml 离心管、带滤芯枪头（规格：10μl、100μl、1000μl、5ml）、2ml 离心管、8 联管或者96 孔板、96 孔板封口膜及压膜器。

【储存条件及有效期】

试剂盒 I 常温储存；试剂盒 II 需2°C~8°C密封储存；试剂盒III 需-20°C±5°C密封储存。试剂盒有效期为12 个月。试剂盒III反复冻融不超过4 次，打开包装后1 周内可在2°C~8°C储存，长期储存请放置于-20°C±5°C（建议开封后即分装）。试剂盒 II、试剂盒III运输过程中需要保持合适温度，运输时间不超过6 天。

【适用仪器】

Roche LightCycler 480 II、ABI 7500。

注意：

- 使用ABI 7500 仪器检测时探针模式的设置，报告基因：FAM、Texas Red；猝灭基团：NONE；参比荧光：NONE。反应体积为30μl。
- 使用Roche LightCycler 480 II 仪器检测时需要选择荧光通道：FAM（465-510nm）、Texas Red（533-610nm）。反应体积30μl。

【样本要求】

- 检测样本类型：粪便样本，取样量在1.5g~10g 之间。
- 患者提供的粪便样本必须使用广州市康立明生物科技有限责任公司生产的粪便采集装置收集，3 天内寄送至检测机构。
- 检测机构在收到样本后建议立刻进行 DNA 的提取及亚硫酸盐的处理、荧光 PCR 的检测，否则建议将含有样本保存液的粪便样本振荡混匀，冻于-80°C±5°C冰箱，保存期不超过6 个月。
- 本试剂盒提取和亚硫酸盐处理的DNA 不适于测定OD₂₆₀来定量；不适于通过OD₂₆₀/OD₂₈₀来判定样本质量。
- 提取和亚硫酸盐处理完的DNA 建议立即检测，否则请于-20°C以下保存，保存时间不要超过1 个月。

【检测方法】

1. 核酸提取及转化工作液的准备

1.1 90 人份工作液的准备

1.1.1 洗液W2 的准备

* 将 100ml 无水乙醇加入洗液W2 中，盖好盖后上下颠倒6 次混匀。在标签的侧面“已加入无水乙醇”的方框“□”内标记“√”号。

1.1.2 溶液C的准备

* 将 17ml 无水乙醇加入溶液C 中，盖好盖后上下颠倒6 次混匀。在标签的侧面“已加入无水乙醇”的方框“□”内标记“√”号。（注意：该试剂要现配现用，溶液 C 与无水乙醇的体积比例是 1：4）

1.2 10 人份工作液的准备

1.2.1 洗液W2 的准备

- * 将 16ml 无水乙醇加入洗液W2 中，盖好盖后上下颠倒6 次混匀。在标签的侧面“已加入无水乙醇”的方框“□”内标记“√”号。

1.1.2 溶液C的准备

- * 将 2.8ml 无水乙醇加入溶液C 中，盖好盖后上下颠倒6 次混匀。在标签的侧面“已加入无水乙醇”的方框“□”内标记“√”号。（注意：该试剂要现配现用，溶液 C 与无水乙醇的体积比例是 1: 4）

2. 粪便核酸提取及转化

2.1 粪便样本、阴性质控品以及阳性质控品的融化

- * 分别将1 份阴性质控品、1 份阳性质控品和待检测的粪便样本置于 2~8℃过夜解冻，取出样本管，擦去管外壁水珠将粪便样本混合均匀。（注意：样品解冻后，应立即进行下一步操作）

2.2 离心

- * 将粪便样本 5000 rpm 离心 10 分钟。

- * 取 9ml 上清转移至新的 10 ml 离心管中，5000 rpm 离心 10 分钟。

2.3 过柱

- * 取 3.2 ml 离心后的悬浮液加入到 SPE 柱中，5000 rpm 离心 5 分钟。（剩余的上清可置于-80±5℃保存）

2.4 弃柱

- * 弃 SPE 柱内柱。

- * 将解冻的阴性质控品、阳性质控品各 3 ml 分别加到新的 10 ml 离心管中。

2.5 裂解

- * 在样本、阴性质控品、阳性质控品中分别加入裂解液 2 ml，同时加入磁珠 M1 50 μ l，盖好盖后振荡混匀。（注意：磁珠 M1 加入前请振荡混匀，观察管底无明显的沉淀物后再加入；磁珠 M1 与磁珠 M2 不能混用。）

2.6 孵育

- * 将离心管放置在干浴器上，95℃孵育 15 分钟后取出离心管快速摇匀，室温（20℃~30℃）条件下静置 1 小时。（注意：离心管静置时应自然降温，避免快速降温的因素。）

2.7 转移

- * 1500 rpm 离心 10sec 后将离心管置于磁力架 5 分钟，吸弃 4.2 ml 液体，将剩余液体以及磁珠转移至新的 2 ml 离心管中。

- * 将离心管涡旋振荡至肉眼无可见的磁珠团块，简短离心后将离心管置于磁力架 1-3 分钟，吸弃液体。

（注意：涡旋振荡效果影响实验的结果，应使磁珠充分分散。）

2.8 第一次洗涤

- * 加入 800 μ l 洗液 W1，涡旋振荡至肉眼无可见的磁珠团块后简短离心，将离心管置于干浴器中室温 1300 rpm 振荡孵育 1 分钟，简短离心后将离心管置于磁力架 1-3 分钟，吸弃液体。（注意：涡旋振荡效果影响实验的结果，应使磁珠充分分散；洗液 W1 与洗液 W2 不能混用）

2.9 转化

- * 加入 50 μ l 溶液 A 涡旋振荡将管壁磁珠洗下来，简短离心室温 1300 rpm 振荡 20 分钟，简短离心；将离心管置于磁力架 1-3 分钟，使用移液器转移溶液至新的离心管。

- * 加入 100 μ l 溶液 B，混匀后简短离心，干浴器 65℃孵育 70 分钟后简短离心。

2.10 纯化

- * 加入 450 μ l 结合液以及 50 μ l 磁珠 M2，室温 1300 rpm 振荡孵育 15 分钟，简短离心置于磁力架 1 分钟，吸弃液体；再次简短离心置于磁力架 1 分钟，吸弃液体。

（注意：磁珠 M2 加入前请振荡混匀，观察管底无明显的沉淀物后再加入；磁珠 M2 与磁珠 M1 不能混用。）

2.11 第二次洗涤

* 加入 800 μ l 洗液 W2，使用移液器轻轻吹散磁珠，将磁珠转移至一个新的 2ml 离心管中。室温干浴器 1300 rpm 振荡混匀 1 分钟后简短离心，置于磁力架 1 分钟，吸弃液体。

2.12 脱磷酸基团

* 加入 200 μ l 已经加入无水乙醇的溶液 C 室温 1300 rpm 振荡孵育 15 分钟，简短离心置于磁力架 1 分钟，吸弃液体。

2.13 第三次洗涤

* 加入 200 μ l 洗液 W2，室温干浴器 1300 rpm 振荡混匀 1 分钟后置于磁力架 1 分钟，简短离心，吸弃液体。

2.14 第四次洗涤

* 加入 200 μ l 洗液 W2，室温干浴器 1300 rpm 振荡混匀 1 分钟后简短离心，置于磁力架 1 分钟，吸弃液体。

2.15 干燥

* 打开离心管室温干燥 10 分钟。（注意：不要增加干燥温度和干燥时间，不需要振荡）

2.16 洗脱

* 将洗脱液放置在冰盒上自然融化，加入 60 μ l 洗脱液，干浴器 65°C，1300 rpm 孵育 10 分钟，简短离心置于磁力架上 1 分钟，将洗脱下来的溶液转移至新的离心管中，盖好管盖并且标记。

3. 扩增试剂准备（PCR 反应液配置区）

3.1 将 PCR 反应液1 以及PCR 反应液2 插入冰盒中，自然融化。

3.2 按照以下反应体系加入各种成分。

表2: PCR 反应加样方式

PCR 反应液1	PCR 反应液2	模板
10 μ l	10 μ l	10 μ l
总体积 : 30 μ l		

3.3 加样完成后，充分混匀后离心，将PCR 管放入PCR 仪中。

3.4 按照下面步骤设置PCR 的反应条件（下表）：

表3: PCR 反应程序

变性	48次循环	冷却
95 °C 5 min	(1) 95°C/15sec (2) 58°C/30sec (3) 72°C/30 sec (末端检测FAM, TexasRed)	40°C/30sec

3.5 分析条件设置：Roche LightCycler 480 II 仪器结果分析时使用Abs Quant/2nd Derivative Max 分析方法分析扩增的循环数；ABI 7500 仪器结果分析时使用仪器默认基线，SDS V2.3.1 软件分析时，FAM 通道（检测SDC2 基因）值设置为 65000，Texas Red 通道（检测ACTB 基因）阈值设置为95000。FAM 通道和Texas Red 通道扩增曲线呈现“S”型扩增才可计算Ct 值。

【阳性判断值】

本试剂盒检测临床样本，得到465 例有效数据中结直肠癌患者120 例、腺瘤 ($\geq 10\text{mm}$) 76 例、肠息肉样本 (< 10mm) 31 例、肠炎样本24 例、胃炎样本6 例、胃癌样本18 例、胃息肉样本1 例，神经内分泌瘤样本3 例、肝癌和肠道脂肪瘤样本各1 例、正常人184 例。样本的ACTB 基因的Ct 值在22 至 40 之间，取95%分位值，Ct 值 ≤ 36 时判定为样本质量合格。在阳性判断值的选择时根据到临床的需要，在样本质量合格的条件下选择SDC2 基因Ct 值 ≤ 38 为阳性结果；SDC2 基因Ct 值 > 38 时为阴性结果。

检测结果显示在检测特异性为92.2%时 (248/269) 结直肠癌患者的检测灵敏度为82.25% (99/120)，腺瘤患者的检测灵敏度为47.4% (36/76)。31 例息肉样本检测结果为4 例阳性27 例阴性。肠炎患者样本24 例检测结果为1 例阳性23 例阴性；胃炎疾病患者样本6 例检测结果为阴性；胃癌患者样本18 例检测结果为1 例阳性17 例阴性；胃息

肉1 例检测结果为阴性；肝癌患者样本1 例检测结果为阴性；肠道脂肪瘤患者样本1 例检测结果为阴性。神经内分泌瘤样本3 例检测结果为阴性。

因此，本试剂盒的阳性判断值为：ACTB 基因的Ct 值≤36，甲基化SDC2 基因Ct 值≤38 时判断样本为阳性；ACTB 基因的Ct 值≤36，甲基化SDC2 基因Ct 值>38 时判定为阴性样本；ACTB 基因Ct 值>36 或者无Ct 值时，判定为样本不合格。

【检验结果的解释】

1. 试验结束以后运行Ct 值的计算，运行无模板对照（NTC）的Ct 值≥40 或者没有出现扩增曲线时，说明试验无污染存在，可以继续分析试验情况。
2. 运行阳性质控品、阴性质控品FAM 通道，阳性质控Ct 值≤35 时，阴性质控Ct 值≥40 或者无Ct 值；Texas Red 通道阴性质控品、阳性质控品Ct 值均≤35 时，说明实验体系正常，可以继续分析实验。
3. 在检测样本反应孔中Texas Red 通道，一般Ct 值≤36，可以继续分析，如果Ct 值>36 则说明样本DNA 量不足或者降解严重，不适合实验分析。
4. 在检测样本反应孔FAM 通道中，在没有出现扩增曲线或者Ct 值>38 的样本为阴性。出现S 型扩增曲线且Ct 值≤38 的样本为阳性。
5. 判定为阳性的样本的患者，建议进行肠镜检查以确诊；判定为阴性的患者不排除患病的可能；判定为样本不合格的，建议患者重新取样检测。
6. 干扰实验结果显示：粪便样品中分别含有以下物质：动物DNA（500ng/ml）、植物组织（500ng/ml）、植物油（10 μl/ml）、通便类药物甘露醇（75mg/ml）、通便灵胶囊（7.25mg/ml）、痔疮膏（24.75mg/ml）、吗丁啉（0.14mg/ml）、四环素（10.65mg/ml）、青霉素（2.56mg/ml）、布洛芬胶囊75μg/ml、胃药斯达舒（6.84mg/ml）、奥美拉唑（2.82mg/ml）、头孢克肟（20.5mg/ml）、盐酸左氧氟沙星（0.15mg/ml）、西咪替丁（2mg/ml）、感冒灵胶囊（0.27mg/ml）对检测结果无影响。

【检测方法的局限性】

1. 本检测试剂盒仅能检测使用本公司生产的粪便样本收集装置收集的粪便样本。其他途径收集的粪便样本不适用于本试剂盒的检测。
2. 样本的收集、存储以及DNA 的提取和亚硫酸盐的处理需要按照要求进行，否则可能影响检测结果导致假阴性和假阳性的发生。
3. 本检测试剂盒检测结果仅供临床参考不得作为临床确诊的依据，应结合其他临床诊断结果进行判定。判定为阳性的患者，建议接受结肠镜检查以便确诊；判定为阴性的患者不排除患病的可能；判定为无效结果的样本，建议患者重新取样检测。

【产品的性能指标】

1. 外观： 试剂盒组份齐全；包装外观清洁、无泄露、无破损；标志、标签字迹清楚。
2. 阴/阳性符合率
 - 2.1 阴性符合率：检测8 份 SDC2 阴性参考品(N1~N8)，甲基化SDC2 基因扩增结果应均为阴性。
 - 2.2 阳性符合率：检测7 份 SDC2 阳性参考品(P1~P7)，甲基化SDC2 基因扩增结果应均为阳性。
3. 特异性：检测1 份 SDC2 特异性参考品T，甲基化SDC2 基因扩增结果呈阴性。
4. 灵敏度：检测SDC2 灵敏度参考品L20 次，至少17 次甲基化SDC2 基因扩增呈阳性。
5. 精密度：分别检测SDC2 精密度参考品J1、SDC2 精密度参考品J2 各10 次，结果满足甲基化SDC2 基因扩增呈阳性，同时内参基因ACTB 扩增曲线正常。计算甲基化SDC2 基因以及内参基因ACTB 的Ct 值的变异系数(CV) 均不高于5%。
6. 在多中心临床试验中，对1213 例有效病例进行统计分析，结果表明本试剂盒对结直肠癌样本的检测敏感性为84.22%（315/374），特异性为97.85%（821/839），总符合率为93.65%（1136/1213），Kappa 值为0.85。其中有10 例肠癌样本其SDC2 基因38< Ct 值≤39，也应引起临床的重视。

【注意事项】

1. 本试剂盒仅用于体外诊断，使用前请详细阅读说明书并必须严格按照说明书进行操作。
2. 应由具备专业经验或经培训合格的人员进行操作。

3. 有关实验室管理规范请严格按照行业行政主管部门颁布的有关基因扩增检验实验室的管理规范执行。
4. 实验室应按试剂准备区、样本处理区、反应液配置区、扩增检测分析区分隔使用。工作流程：操作过程应工作服、帽、鞋、手套等穿戴齐全，各区物品均为专用，不得交叉使用，避免污染。
5. 反应液分装时应尽量避免产生气泡，并注意防止泄漏，以免荧光物质污染仪器。
6. 实验过程中若出现标本及试剂污染工作台及移液器，应及时用 10%次氯酸钠或 75%酒精处理。实验结束后应立即清洁工作台，并定期对工作台及各种实验用品进行消毒。
7. 不要使用超过有效期的试剂，不同批次的产品不能混用。
8. 加样所用的加样器需要定期检测，保证加样的准确性
9. 溶液 B 为亚硫酸盐溶液，操作时勿接触皮肤和眼睛；如果接触到应迅速擦干净用大量的水冲洗。
10. 黄连素（9.23mg/ml）对检测结果有影响，因此患者取样前 1 天应注意勿服用药物黄连素。
11. 为了避免样本中任何潜在的生物危险，检测样本应视为具有传染性物质，避免接触到皮肤和粘膜；样本的处理建议在可防止气雾外流的生物安全柜中操作，样本制备区所用过的试管、吸头需打入盛有消毒剂的容器，并与废弃物一起灭菌后方可丢弃；样本操作和处理均需符合相关法规要求：卫生部《微生物生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》。

【标识的解释】

试剂盒标签所用图形符号	说明
	体外诊断试剂
	使用前阅读说明书
	温度极限

【参考文献】

1. Tae Jeong oh, Sungwhan An, Genome-wide identification and validation of a novel methylation biomarker、SDC2、for blood-based detection of colorectal cancer, *The journal of Molecular Diagnostics*, July 2013 vol,15,No.4.
2. Tae Jeong Oh, et al, Feasibility of quantifying SDC2 methylation in stool DNA for early detection of colorectal cancer: *The Journal of Clinical Epigenetics*: 2017.
3. Niu F, Wen J, Fu X, et al. Stool DNA Test of Methylated Syndecan-2 for the Early Detection of Colorectal Neoplasia[J]. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*,2017,26(9):1411-1419.

【基本信息】

注册人/生产企业名称：广州市康立明生物科技有限责任公司

注册人/生产企业住所：广州高新技术产业开发区科学城开源大道 11 号 A2 栋第六层

售后服务单位名称：广州市康立明生物科技有限责任公司

联系方式： 020-82510982 邮 编： 510535

网 址：www.creativebio.cn Email：Service@creativebio.cn

生产地址：广州高新技术产业开发区科学城开源大道 11 号 A2 栋第六层、A4 栋第五层（505 单位）。

生产许可证编号：

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

【说明书核准及修改日期】

大便隐血(FOB)检测试剂盒(胶体金法)说明书

【产品名称】

通用名称：大便隐血(FOB)检测试剂盒(胶体金法)

英文名称：Fecal Occult Blood (FOB) Diagnostic Kit
(Colloidal Gold)

【包装规格】

卡型，1人份/袋、20人份/袋、25人份/袋、40人份/袋、20人份/盒、25人份/盒、40人份/盒、50人份/盒、100人份/盒。

【预期用途】

用于体外定性检测人粪便中的血红蛋白，作辅助诊断用。

隐血是指消化道出血量很少，肉眼不见血色，而且少量红细胞又被消化分解，以致显微镜下也无从发现的出血状况。检测人粪便中的血红蛋白对诊断消化道出血有重要的参考价值。

【检验原理】

本检测试剂盒利用免疫胶体金技术，用双抗体夹心法来检测人粪便中的血红蛋白(Hb)。检测时，当样本中含有人血红蛋白，将与标记的Hb2单克隆抗体反应形成复合物，在层析作用下反应复合物沿着硝酸纤维膜向前移动至检测区，被硝酸纤维膜上的Hb1单克隆抗体捕获，检测区出现红色反应线，此时结果为阳性。当样本中没有人血红蛋白出现，在检测区便没有红色反应线出现，结果为阴性。无论样本中是否含有血红蛋白，质控线都会显色。

【主要组成部分】

试剂盒由试剂卡、干燥剂、说明书、合格证组成。试剂卡的主要成分有：

- a) Hb1单克隆抗体
- b) 抗鼠IgG多克隆抗体
- c) 胶体金标记的Hb2单克隆抗体
- d) 硝酸纤维膜、玻璃纤维膜等试纸条支持物

【储存条件及有效期】

4℃~30℃，密封干燥保存，有效期24个月。铝箔开封后，试剂卡应在1小时内尽快使用。

生产日期见外盒或瓶标签。

【样本要求】

用采便棒多点采集的新鲜粪便样本。

样本提供人处于月经期或有尿血、口鼻腔大量出血等情况可能检出阳性结果；样本提供人处于消化道出血间歇期或者消化道出血量极少等情况可能导致阴性结果；样本提供人检测前请勿服用刺激胃肠道的药物或食物。刺激胃肠道的药物或食物可能造成粪便隐血。

【检验方法】

1. 检测试剂盒及病人样品应提前平衡至室温。
2. 将收集在专用粪便取样器里的样品尽量振荡均匀，让样品完全与蒸馏水混合。
3. 沿铝箔袋切口部位撕开，取出试剂卡平放于台面上，并做好标记。
4. 将样本收集管的尖端拧断，然后垂直加入3滴(约120μl)样本稀释液于试卡加样孔中。
5. 观察结果：在3~5分钟判读结果，强阳性结果很快会出现。为保证结果的准确性，请勿在5分钟后判读结果。

【阳性判断值或者参考区间】

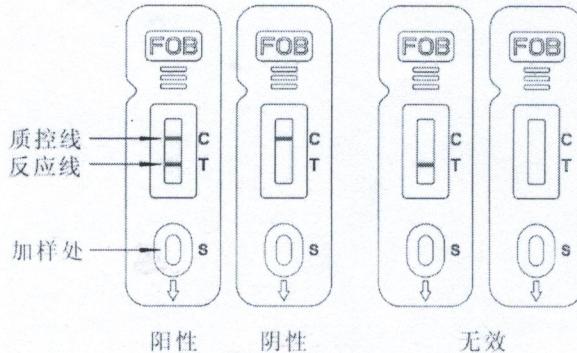
公司对本产品选取120例健康人群粪便标本进行验证得出健康人群大便血红蛋白浓度低于100ng/ml。由于地理、人种、性别和年龄等差异，建议各实验室建立自己的参考范围。

【检验结果解释】

阳性：在检测试剂卡的检测线和质控线位置各出现一条红色线条，表示样品中有隐血出现。(如下图)

阴性：只在质控线位置出现一条红色线条，表示样品中无隐血出现。(如下图)

无效：质控线位置无红线出现，表示结果无效，应重测。(如下图)





大便隐血(FOB)检测试剂盒(胶体金法)说明书

【检验方法局限性】

1. 本检测试剂用于定性检测人粪便样品中出现的人血红蛋白(Hb)，但不能定量，定量需用其他分析方法。
2. 阳性结果仅表明粪便中有人血红蛋白的出现，但并不能区分出血原因。大便隐血可能由结肠出血以外多种原因造成，如痔疮出血，胃溃疡出血及月经期或血尿污染。
3. 结肠出血并不都由癌或癌前病变引起，因此本检测试剂条的结果应由医生结合临床其它检查及临床症状来综合判断。
4. 阴性结果并不能排除出血，因为在经过消化道过程中，血液可能已被消化；息肉或局部病变的出血多是间歇性的，或早期并无出血；此外，因为消化道出血分布不均匀，因此检测结果与粪便的取样部位相关。此时应重复收集样品进行检测。
5. 当标本浓度高于2mg/ml，可能会出现钩状效应。

【产品性能指标】

1. 阴性参考品符合率：测定浓度为500μg/ml的羊、鸡、兔、牛、狗、猪Hb样品；2000μg/ml的辣根过氧化酶；水及正常大便稀释液均为阴性。
2. 阳性参考品符合率：测定Hb阳性参考品5份，结果应为阳性，阳性符合率100%。
3. 最低检出量：用人血红蛋白(Hb)质控参考品检测，最低检出量应不高于100ng/ml。
4. 批内精密度：用某一浓度的人血红蛋白(Hb)质控参考品检测，平行测定10次，结果一致，显色均一。
5. 批间精密度：取三个批号的FOB试剂卡，对重复性进行检测，三个批号试剂的结果都符合要求。

【注意事项】

1. 本试剂仅供定性筛查使用，并不能确定粪便中人血红蛋白的含量。
2. 应指导病人按照样品收集方法收集样品。病人处于月经期，痔疮出血及血尿期间不可收集样品，以免污染样品。
3. 试剂条如保存在冰箱(2~8°C)应提前恢复至室温，

待检测准备工作做好后，方可撕开铝箔袋，以避免试剂条吸潮，影响检测结果。

4. 试验操作时应遵守安全操作规定，操作时正确穿戴工作服、手套等。
5. 粪便标本和所有用过的物品应按传染性物品妥善处理。
6. 过期产品请勿使用。

【参考文献】

- GB/T 191-2008 包装储运图示标志
GB/T 9969-2008 工业产品使用说明书 总则
WS/T 124-1999 临床化学体外诊断试剂盒质量检验总则
YY 0466 医疗器械 用于医疗器械标签、标记和提供信息的符号
大便隐血检测诊断试剂(胶体金法)制造及检定规程
(《中国生物制品规程》2002年增补版)
《医疗器械说明书和标签管理规定》(国家食品药品监督管理总局令第6号 2014.7.30)
体外诊断试剂注册管理办法(国家食品药品监督管理总局令 第5号 2014.7.30)
体外诊断试剂说明书编写指导原则(国家食品药品监督管理局 2014.9.11)

【基本信息】

注册人名称：珠海科域生物工程股份有限公司
住所：珠海市金湾区三灶镇渔歌路605号2栋1楼、2楼
联系方式：0756-6821170
售后服务单位名称：珠海科域生物工程股份有限公司
联系方式：4006228819
生产地址：珠海市金湾区三灶镇渔歌路605号4栋1楼、2楼、5楼、6楼
生产许可证编号：粤食药监械生产许20101918号

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

粤械注准 20162400258

【说明书的核准日期及修改日期】

核准日期：2016年03月16日

核准日期：2020年02月18日

修改日期：2021年03月25日

修改日期：2021年05月10日

转铁蛋白检测试剂盒（胶体金法）说明书

版本: A0

【产品名称】

通用名称: 转铁蛋白检测试剂盒(胶体金法)

英文名称: Transferrin (Tf) Test Kit (Colloid gold)

【包装规格】

型号: TF-I; 规格: 20 人份/袋。

【预期用途】

转铁蛋白检测试剂盒(胶体金法)可以定性检测人粪便中微量的人转铁蛋白, 用于消化道出血的早期辅助诊断。

【检验原理】

转铁蛋白检测试剂盒(胶体金法)采用双抗体夹心法, 试剂含有被事先固定于膜上检测区(T)的抗人转铁蛋白抗体和质控区(C)的相应抗体。

测试时, 将稀释后的样本加入测试卡, 随之在毛细效应下向上层析。如是阳性, 样本中含有人转铁蛋白, 在检测区(T)内出现一条紫红色条带。如是阴性, 样本中不含有人转铁蛋白, 则检测区(T)内将没有紫红色条带。无论人转铁蛋白是否存在于样本中, 一条紫红色条带都会出现在质控区(C)内。质控区内(C)所显现的紫红色条带是判定是否有足够样本, 层析过程是否正常的标准, 同时也作为试剂的内控标准。

【主要组成部分】

主要由检测卡、干燥剂、说明书组成。其中检测卡由包被了人转铁蛋白单克隆抗体的结合垫、标记了人转铁蛋白单克隆抗体和羊抗鼠多克隆抗体的硝酸纤维素膜、吸水纸、底板和塑料卡组成。

产品使用时需要, 但未提供的器材为: 采样棒, 样本采集杯, 稀释液, 计时器。其中稀释液的主要成分为: 主要由氯化钠、三羟甲基氨基甲烷缓冲液、乙二胺四乙酸二钾组成。

【储存条件及有效期】

原包装应储存于4~30°C, 相对湿度不大于80%的条件下, 阴凉避光干燥处, 有效期24个月, 忌冷冻;

本试剂卡开封后(直接与空气接触)需要在温度4~30°C, 相对湿度40%~90%的条件下1小时内使用, 失效日期见包装, 已失效产品不可使用;

本试剂卡在上机操作时会置其于试剂卡盒中, 在温度4~30°C相对湿度40%~90%的条件下, 6小时内使用完毕。

【适用机型】

适用于珠海科域生物工程股份有限公司的粪便仪分析仪, 型号KU-F10、KU-F20。

【样本要求】

- 新鲜样本在6小时内检测, 样本在2~8°C保存不超过48小时, 在冷冻条件下保存不超过12个月。冷藏(2~8°C)和冷冻(-20°C)样本检测前应先恢复至室温(15~30°C);
- 长菌的样本不能使用, 以免由于长菌造成非特异性反应;

3. 收集样本的容器要干净。应多点取粪便, 稀释后的样本应在1小时内进行检测。

【检验方法】

手工操作方法:

- 用采便棒挑取粪便20~50mg, 将其插入加了样本稀释液(1~1.5mL)器皿或样本收集管中, 充分混匀。
- 在检测卡S孔中加入2~3滴混匀样本液。
- 在5分钟判读结果。

仪器法操作:

用专用标本收集杯取一勺样本(约0.2~0.3g), 将其置于仪器样品架上, 按照粪便分析仪的操作说明书进行操作; 经自动加入稀释液(约8ml~12ml), 自动加样, 自动拍照后辅助判读结果。

【阳性判断值】

阳性判断值: 公司对本产品选取120例健康人群粪便样本进行验证得出健康人群粪便转铁蛋白浓度低于40ng/ml。由于地理、人种、性别和年龄等差异, 建议各实验室建立自己的参考范围。

【检验结果的解释】

阳性(+): 测试区和质控区有紫红色条带出现, 测试区内(T)出现, 质控区(C)出现。

阴性(-): 仅质控区(C)出现一条紫红色条, 在测试区(T)内无紫红色条带出现。

无效: 质控区(C)未出现紫红色条带, 表明不正确的操作过程或试剂已变质损坏。

在此情况下, 应再次仔细阅读说明书, 并用新的试剂重新检测。如果问题仍然存在, 应立即停止使用该批号产品, 并与厂家或当地供应商联系。

注意: 在规定观察时间内, 不论该色带颜色深浅, 即使非常弱的色带也应判定为阳性结果。

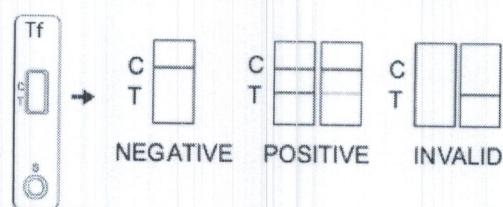


图 1

【检验方法的局限性】

- 本试剂仅用于体外诊断, 适用于检测粪便中的人转铁蛋白。
- 本试剂为定性的检测, 不能确定样本中人转铁蛋白的含量。
- 本试剂适用于初筛检测, 在需要确认时, 建议采用追溯病史, 做内窥镜、X光和其它一些检查方法以进一步确诊。

转铁蛋白检测试剂盒（胶体金法）说明书

版本：A0

4.本试剂的检测不与 500ug/ml 猪转铁蛋白、500ug/ml 羊转铁蛋白、500ug/ml 鸡转铁蛋白、500ug/ml 牛转铁蛋白、500ug/ml 兔转铁蛋白、500ng/ml 人血红蛋白、500ng/ml 肌红蛋白和 1mg/ml 硫酸亚铁发生交叉干扰。

5.出现柏油样粪便时，由于转铁蛋白浓度超过 400ug/mL 的检测范围可能导致抗原过剩而出现钩状效应，会出现假阴性结果，此时需要对粪便进行（50-100 倍）稀释，然后进行测试，并结合临床进行诊断。

【产品性能指标】

1.最低检出量：检测人转铁蛋白阳性参考品，最低检出量为 40ng/mL。

2.阴性参考品符合率：检测企业阴性参考品，阴性参考品符合率应为 100%。

3.重复性：检测某一浓度的人转铁蛋白阳性参考品，反应结果应均为阳性，显色应均一。

4.批间差：取三个批号的转铁蛋白检测卡，对重复性进行检测，三个批号检测卡反应结果应均为阳性，显色应均一。

【标识的解释】

	不得二次使用		体外诊断试剂
	4°C~30°C 储存		避光保存
	检测的样本可能存在生物风险		

【注意事项】

1. 检测结果为阳性时，应谨慎诊断是否有消化道出血，因为样本提供人处于月经期或有尿血、口鼻腔大量出血等情况可能检出阳性结果。
2. 样本提供人处于消化道出血间歇期或者消化道出血量极少等情况可能导致阴性结果，应追溯病史或结合其他方法确诊。
3. 操作失误、样本量过多或过少都有可能导致检测结果出现偏差。
4. 本试剂为目视判读结果，为保证结果的准确，请勿在光线昏暗处判读。
5. 本试剂为一次性用品，使用后的试剂和样本等废弃物应按国家相关规定妥善处理。
6. 由于转铁蛋白在粪便中分布不均匀，建议在取样时进行多点取样（至少为 5 点取样），这样可以保证测试结果更接近真实值。

7. 由于在技术上和操作上可能出现的失误，同时也由于样本中存在干扰物质，试验结果有可能错误。对于可疑的结果应做进一步检查，并再进行连续检测。

【参考文献】

[1]尚红, 王毓三, 申子俞.全国临床检验操作规程（第 4 版）.北京：人民卫生出版社，2015:175-177

[2] Simon J.B. Occult Blood Screening for Colorectal Carcinoma: A Critical Review, Gastroenterology, Vol. 1985; 88: 820.

[3] Blebea J. and Nepherson RA. False-Positive Guaiac Testing With Iodine, Arch Pathol Lab Med, 1985;109:437-40

[4] 俞海燕、陶义训《免疫层析试验的临床应用进展》，临床检验信息，1985，5：118-120

【基本信息】

注册人/生产企业：珠海科域生物工程股份有限公司

住所：珠海市金湾区三灶镇渔歌路 605 号 2 栋 1 楼、2

楼

邮政编码：519040 电话号码：0756-6821170 传真号码：0756-6821169

售后服务电话：4006228819 E-mail：

keyu@keyubio.com

生产地址：珠海市金湾区三灶镇渔歌路 605 号 4 栋 1 楼、2 楼、5 楼、6 楼

生产许可证编号：粤食药监械生产许 20101918 号

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

粤械注准 20202400469

【说明书核准及修改日期】

核准日期：2020 年 04 月 26 日

修改日期：2021 年 03 月 24 日