

受理号：CSZ1900102

体外诊断试剂产品注册技术审评报告

产品中文名称：乙型肝炎病毒核酸检测试剂盒
(RNA 捕获探针法)

产品管理类别：第三类 6840

申请人名称：上海仁度生物科技有限公司

国家药品监督管理局
医疗器械技术审评中心

目 录

基本信息.....	3
一、申请人名称	3
二、申请人住所	3
三、生产地址.....	3
技术审评概述.....	4
一、产品概述.....	4
二、临床前研究概述	6
三、临床评价概述	11
四、产品受益风险判定	15
综合评价意见.....	18

基本信息

一、申请人名称

上海仁度生物科技有限公司

二、申请人住所

上海市张江高科技园区东区瑞庆路 528 号 10 幢乙号 3 层 A 室

三、生产地址

上海市张江高科技园区东区瑞庆路 528 号 10 幢乙号 3 层；上海市张江高科技园区东区瑞庆路 528 号 8 幢甲 6 层；上海市张江高科技园区东区瑞庆路 590 号 7 幢 301 室（PCR 检定）

技术审评概述

一、产品概述

(一) 产品主要组成成分

本试剂盒由试剂 A 和试剂 B 组成,含有病毒核酸提取液、洗涤液、矿物油、扩增检测液 1、扩增检测液 2、酶液、阳性校准物、阴性质控品、低阳性质控品、高阳性质控品、批次信息码,主要组成成分见表 1。

表 1 试剂盒主要组成成分

试剂 A:

组成成分	100 人份/套
病毒核酸提取液	1 × 25mL
洗涤液	1 × 150mL
矿物油	1 × 18mL

试剂 B:

组成成分	100 人份/套
扩增检测液 1	1 × 5.0 mL
扩增检测液 2	1 × 4.5 mL
酶液	1 × 4.0mL
阳性校准物	1 × 3.0 mL
阴性质控品	1 × 1.5 mL
低阳性质控品	1 × 1.5 mL
高阳性质控品	1 × 1.5 mL
批次信息码	1

（二）产品预期用途

本产品用于定量检测人血清样本中的乙型肝炎病毒（HBV）RNA。

已有研究数据显示，外周血血清中 HBV RNA 可反应肝内 HBV 病毒的转录活性，在部分血清 HBV DNA 低于检测下限的样本中，HBV RNA 仍可以被检测到。同时，在 Peg-IFN- α 治疗中，血清 HBV RNA 可辅助作为 HBeAg 的血清转换预测的指标之一，血清 HBV RNA 结果为阴性，需要结合其他指标共同用于指导 Peg-IFN- α 的治疗。该检测结果不得作为患者病情评价的唯一指标，必须结合患者临床表现和其他实验室检测对病情进行综合分析。本试剂盒不得用于 HBV 的血液筛查。

（三）产品包装规格

100 人份/套。

（四）产品检验原理

本试剂盒的乙型肝炎病毒核酸定量检测分为核酸捕获和实时荧光核酸恒温扩增检测。

核酸捕获是通过病毒核酸提取液中的磁性颗粒特异捕获靶标 RNA，形成磁性颗粒和靶标 RNA 的复合物，通过磁场将该复合物从样本中分离出来，再使用洗涤液对磁性颗粒清洗，获得纯净的磁性颗粒和靶标 RNA 的复合物。该磁性颗粒和靶标 RNA 的复合物进入扩增检测体系。

实时荧光核酸恒温扩增检测（Simultaneous

Amplification and Testing, SAT) 是一种 RNA 转录扩增同时使用探针实时检测的方法。带有 T7 序列的引物与靶标 RNA 结合, 在反转录酶 M-MLV 作用下产生靶标核酸 (RNA) 的 DNA 拷贝; T7 RNA 聚合酶以 DNA 拷贝为模板产生多个 RNA 产物。产物 RNA 拷贝可以继续作为模板逆转录出新的 DNA 拷贝, 继续转录出更多的 RNA 产物。在循环扩增的同时, 反应体系内的特异性探针可以与 RNA 产物结合。探针上标记有荧光基团和淬灭基团, 探针未与 RNA 产物结合时淬灭基团与荧光基团非常接近, 抑制荧光产生; 当探针与 RNA 产物结合时, 淬灭基团与荧光基团分离, 荧光基团发出荧光信号。RNA 产物越多, 与产物杂交的探针就越多, 发出的荧光信号就越强。检测仪器可以实时检测到发出的荧光信号。荧光信号到达特定阈值的反应时间与靶标 RNA 起始浓度成比例。每个反应都有内标 (IC), 用于质控样本在处理、扩增和检测期间的变化差异。样本的浓度由软件根据每个反应的靶标检测信号和 IC 信号与内置校准信息进行比较后确定。

二、临床前研究概述

(一) 主要原材料

本产品的主要原材料包括: 酶液、dNTPs、NTPs、引物、探针、假病毒、磁珠等, 这些原材料为外购方式获得。引物、探针均为申请人自行设计后由专业的合成公司合成, 并经 PAGE 或 HPLC 纯化获得; 酶液由原料提供商克隆表达纯化后

获得；dNTPs、NTPs 由原料提供商直接化学合成获得。

申请人从有资质的供应商中，通过功能性试验，筛选出最佳原材料和供应商。制定了各主要原材料质量标准并经检验合格。

企业参考品设置情况：申请人设计了完整的企业参考品，包括阳性参考品、阴性参考品、定量参考品（主要用于最低检出限、线性、准确度、精密度检测），参考品采用临床标本和假病毒制备而成。阳性参考品来源于 5 份 HBV 阳性血清样本，涵盖 B 型和 C 型。阴性参考品来源于 3 份不同的 HBV 阴性血清样本，涵盖健康人群、丙肝感染、HIV 核酸阳性样本。准确度检测用参考品采用 HBV RNA 假病毒样本进行梯度稀释而成，浓度为 $1.0 \times 10^5 \text{copies/mL}$ 、 $1.0 \times 10^4 \text{copies/mL}$ 、 $1.0 \times 10^3 \text{copies/mL}$ 。最低检出限检测用参考品采用 HBV RNA 假病毒样本进行梯度稀释而成，浓度为 50copies/mL 。精密度检测用参考品采用 HBV RNA 假病毒样本进行梯度稀释而成，浓度为 $1.0 \times 10^6 \text{copies/mL}$ 、 $1.0 \times 10^3 \text{copies/mL}$ 两个浓度水平。所采用临床样本采用已上市核酸检测试剂盒和实时荧光核酸检测方法进行确认。各企业参考品用于产品特异性、准确性、最低检出限、精密度检测。

（二）生产工艺及反应体系研究

申请人通过使用初步确定的配方进行反应体系配制，以企业参考品/质控品，对反应体系中的 HBV 引物/探针浓度、

内标引物/探针浓度、阳离子浓度、反应体系体积、恒温扩增反应温度和时间、样本用量、样本保存、核酸提取液体积、缓冲液成分、磁珠用量、捕获探针浓度、内标用量、洗涤次数、裂解时间和温度、磁珠吸附时间、矿物油等分别进行了筛选或优化，最终确定了最佳的生产工艺和反应体系。

（三）分析性能评估

该产品分析性能包括核酸提取纯化性能、最低检出限与定量限、线性范围、准确度、精密度、特异性（交叉反应、干扰物质）、HBV DNA 干扰浓度等。申请人提交了有效运行的质量管理体系下生产的三批产品在适用机型全自动核酸检测分析系统（AutoSAT）上的性能评估资料。

在核酸提取纯化性能评估中，申请人用含高脂血、溶血的 HBV 阴性临床血清稀释 HBV RNA 强阳性质控品，制备高、中、低浓度样本，与无干扰血清样本进行对比，结果表明以上干扰物质对核酸提取性能无影响。

在最低检出限与定量限的性能评估中，申请人对 HBV RNA 假病毒样本进行梯度稀释，采用三批次试剂对系列浓度样本分别进行 25 次重复检测，以 $\geq 95\%$ 阳性检出率的最低稀释浓度作为最低检出限，将检出率为 100% 且浓度对数值与理论对数值差值 $\leq \pm 0.5$ 的最低稀释浓度作为定量限。最终确定该产品最低检出限为 50copies/mL，定量限为 100copies/mL。

采用三批次试剂对 HBV 不同型别临床样本进行重复检测验证

证，试剂盒性能可满足最低检出限 50copies/mL，定量限 100copies/mL 的要求。

在线性范围的性能评估中，申请人采用 HBV 不同型别的样本，制备 9 个浓度梯度样本进行线性范围研究， 1.0×10^2 copies/mL ~ 1.0×10^8 copies/mL 范围浓度呈线性相关，线性相关系数 > 0.980 ，符合线性范围的性能要求。

在准确度的性能评估中，申请人采用 HBV 阴性样本对假病毒和阳性标本进行系列稀释，分别制备 1.0×10^5 copies/mL、 1.0×10^4 copies/mL、 1.0×10^3 copies/mL 三个梯度样本，进行准确度研究，结果表明三次检测的平均浓度 lg 值与理论值浓度 lg 值的绝对偏差不超过 ± 0.5 ，符合准确度的性能要求。

在精密度的性能评估中，申请人对精密度检测样本进行高、中、低、阴性共 4 个浓度分别进行连续 20 天、每天每个浓度 20 次重复的检测，分别对批内、批间、日内、日间的检测结果进行分析，结果表明精密度样本的变异系数均 $< 10\%$ ，符合精密度的性能要求。

交叉反应的性能评估中，申请人对甲型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、丁型肝炎病毒、人巨细胞病毒、人类免疫缺陷病毒、单纯疱疹病毒 2 型、甲型流感病毒、柯萨奇病毒 A16 型、金黄色葡萄球菌、E-B 病毒、梅毒螺旋体、白色念珠菌样本进行交叉反应评价。结果显示，上述样本与本产品均不产生

交叉反应。

干扰实验中，申请人采用向中低浓度 HBV RNA 假病毒样本中加入干扰物质的方法进行验证，胆红素（30mg/dL）、G 型免疫球蛋白（5000mg/dL）、恩替卡韦（50ng/mL）、替比夫定（20μg/mL）、普通 IFN α （5000IU/mL）和聚乙二醇干扰素 α （100ng/mL）、10mg/mL 及以下血红蛋白、30mg/mL 及以下甘油三酯、小于等于 10⁶ IU/mL 的 HBV DNA 对本试剂盒检测结果不产生干扰。

本次申报产品仅包括 1 种包装规格（100 人份/套），1 种适用机型，申请人提供了三批产品在适用机型上的性能评估资料。以上性能研究符合 44 号公告要求。

（四）阳性判断值研究

申请人选择稀释到检测下限血清标本（50copies/mL）、来自乙肝感染者的血清标本及来自不同人的阴性血清标本，采用本试剂盒进行阳性判断值的研究，对检测的靶标 dt 值分别进行 ROC 分析，确定其阳性判断值为靶标 dt $\leq$ 27.3，内标 dt $\leq$ 30.6。通过对 HBeAg 阴性/阳性亚群和 HBV DNA 阴性/阳性亚群检测限样本的靶标 dt 值分析，HBeAg 阴性/阳性和 HBV DNA 阴性/阳性对靶标判断界值判定无影响。

（五）稳定性研究

申请人对本产品的实时稳定性、运输稳定性、开瓶及冻融次数限度稳定性、运输稳定性以及样本稳定性进行研究，

确定了在各种条件下本产品及样本的有效保存时间。所用试剂批次包括 20171101、20171102、20171103、20190801。

实时稳定性研究：将试剂 A 储存于 2~8℃；试剂 B 储存于-35~-15℃条件下，连续 15 个月对试剂盒的外观、阴阳性符合率、最低检出限、线性、准确度、精密度进行考察，各项性能指标均符合要求，确定产品在规定的储存条件下，可稳定保存 12 个月。

此外，申请人对产品的开瓶及冻融次数限度稳定性、运输稳定性和样本稳定性分别进行了研究。结果显示，产品的性能均满足产品说明书声称的要求。

三、临床评价概述

申请人在吉林大学第一医院、上海市公共卫生临床中心、上海交通大学医学院附属瑞金医院和新疆医科大学第一附属医院共 4 家机构完成了临床试验，对考核试剂检测人血清中 HBV RNA 的临床准确性和临床有效性进行验证。

（一）临床准确性验证

采用考核试剂与参比方法对临床样本进行比较研究试验的方法验证本产品的临床准确性。入组样本为经临床诊断为乙型肝炎病毒感染的阳性样本和排除乙型肝炎病毒感染的其他人群的血清样本，共计 1340 例。参比方法选择文献报道的 RNA 提取、逆转录和定量 PCR 联合测序的方法。

临床准确性研究在 4 家临床单位共检测了 1340 例血清

标本，实际纳入检测 1340 例，其中 HBV 感染者 1035 例（77.24%），非 HBV 感染者 305 例（22.76%）。129 例有分型结果的样本中，B 基因型 40 例、C 基因型 71 例、D 基因型 18 例。

考核试剂与参比方法比较，阳性符合率为 100%、阴性符合率为 96.73%、总符合率为 98.96%。

经 Kappa 检验分析，Kappa 值为 $\kappa=0.9759$ ， $p<0.0001$ ，考核试剂与参比方法具有较好的一致性。

相关性分析显示考核试剂和参比方法线性 $r=0.9884$ ， $p<0.0001$ ，回归分析得出的线性回归方程为 $Y=a+bX=0.0494+0.9788X$ ，其中 a 的 95% 的置信区间为 $[-0.0123, 0.1056]$ ， b 的 95% 的置信区间为 $[0.9675, 0.9901]$ 。

对 129 例有基因分型数据的样本检测结果进行分析。B 基因型血清样本，考核试剂与参比方法定量检测组间相关系数 $r=0.9878$ ，线性回归方程为 $Y=a+bX=-0.04694+0.9873X$ ，截距 95% 置信区间为 $[-0.3746, 0.2807]$ ，斜率 95% 置信区间为 $[0.9313, 1.0432]$ 。C 基因型血清样本，考核试剂与参比方法定量检测组间相关系数 $r=0.9794$ ，线性回归方程为 $Y=a+bX=0.4336+0.9358X$ ，截距 95% 置信区间为 $[0.1072, 0.7599]$ ，斜率 95% 置信区间为 $[0.8827, 0.9889]$ 。D 基因型血清样本，考核试剂与参比方法的定量检测结果均在线性范围内，定量检测结果（lgcopies/mL）之差在 ± 0.5 范围内。

综上所述，申请人考核试剂与参比方法检测结果一致，具有等效性。

（二）临床有效性研究

分别对考核试剂定量检测血清 HBV RNA 用于预测 PegIFN- α 治疗患者 HBeAg 血清学转换、HBV DNA 低浓度的 CHB 患者中 HBV RNA 的检出率进行了临床研究。

1. 考核试剂定量检测血清 HBV RNA 用于预测 PegIFN- α 治疗患者 HBeAg 血清学转换研究。

考核试剂对来源于 82 个患者（使用 PegIFN- α 治疗的 HBeAg 阳性乙肝患者）的 328 例血清标本进行了 HBV RNA 定量检测。每个患者采集 4 个标本，这些来源于治疗前和治疗中四个不同的时间点：PegIFN- α 治疗前（基线）、治疗 12 周、24 周、48 周的血清标本。研究者对患者 PegIFN- α 治疗基线（0 周）、12 周、24 周和 48 周的血清标本中 HBsAg、HBV DNA、HBV RNA 定量值用于预测 HBeAg 血清转换进行了受试者工作特征曲线（ROC）分析和这些定量值对 HBeAg 血清学转换的预测值分析。

82 例患者中，28 例在停药后随访的 24 周检测时发生了 HBeAg 血清学转换。分析结果显示治疗 12 周 HBsAg 定量、HBV DNA 定量和 HBV RNA 定量预测停药后 24 周 HBeAg 血清学转换的曲线下面积（AUC）依次为 0.562、0.610 和 0.592，治疗 24 周三者的 AUC 依次为 0.584、0.664 和 0.675。

另外, 根据《慢性乙型肝炎防治指南》和《聚乙二醇干扰素 α 治疗慢性乙型肝炎专家共识》(以下简称《指南》和《共识》), HBeAg 阳性慢性乙肝患者治疗 24 周时 HBsAg 定量水平是治疗应答的预测因素。如果 24 周 HBsAg 定量 $<1500\text{IU/mL}$, 可以继续干扰素治疗, 可以获得较高的 HBeAg 血清学转换率; 如果 24 周 HBsAg 定量 $>20000\text{IU/mL}$, 建议停止干扰素治疗。而对于 $1500\text{IU/mL} \leq \text{HBsAg} \leq 20000\text{IU/mL}$, 尚无预测指标。

本研究对此也进行了分析。82 例患者治疗 24 周后, HBsAg $<1500\text{IU/mL}$ 和 HBsAg $>20000\text{IU/mL}$ 的患者分别占总患者数的 30.49% (25/82) 和 8.54% (7/82), 其余患者(即《指南》和《共识》中尚无预测指标的患者)占 60.98% (50/82)。结果表明, HBsAg $<1500\text{IU/mL}$ 预测 HBeAg 血清学转换的阳性预测值为 44%, HBsAg $>20000\text{IU/mL}$ 的阴性预测值为 71.43%; HBV RNA (以 $\leq 38904\text{copies/mL}$ 为 cutoff 值) 和 HBV DNA (以 $\leq 5888\text{IU/mL}$ 为 cutoff 值) 分别独立预测 HBeAg 血清学转换的阳性预测值为 60.0%、57.7%, 阴性预测值分别为 80.8%、76.8%; HBV RNA 定量和 HBV DNA 定量的独立阳性预测价值均高于 HBsAg; 如果同时使用 HBV RNA 定量和 HBV DNA 定量 (HBV RNA $\leq 38904\text{copies/mL}$ 和 HBV DNA $\leq 5888\text{IU/mL}$) 进行预测, HBeAg 血清学转换阳性预测值可以达到 70.0%。

另外,对于目前《指南》无法预测的患者(占比 60.98%, HBsAg 定量值在 1500IU/mL 到 20000IU/mL), HBV RNA 定量和 HBV DNA 定量独立预测 HBeAg 血清学转换的阳性预测值分别为 58.8%和 47.1%,阴性预测值分别为 84.8%和 78.8%, HBV RNA 的阳性预测值和阴性预测值均高于 HBV DNA。

2. HBV DNA 低浓度的 CHB 患者中 HBV RNA 的检出率研究

考核试剂完成了 305 例 HBV DNA 低浓度慢性乙肝患者的血清样本 HBV RNA 检测。305 例标本 HBV DNA 检测结果均低于 500IU/mL,其中 HBV DNA 阴性(无法检出)102 例。在 HBV DNA 阴性的 102 例标本中,HBV RNA 阳性为 67 例,阳性检出率为 65.69%(67/102)。在所有 305 例 CHB 患者标本检测中,HBV DNA 阳性检出率为 66.56%(203/305),HBV RNA 为 76.72%(234/305)。HBV RNA 阳性检出率高于 HBV DNA 阳性检出率,卡方检验, $\chi^2=7.754$, $P=0.007$ 。

四、产品受益风险判定

参照“YY/T 0316-2016 医疗器械风险管理对医疗器械的应用”标准,对该产品进行风险分析。经综合评价,乙型肝炎病毒核酸测定试剂盒(RNA 捕获探针法)已知和可预见的安全风险主要有以下几个方面:

1. 与生物学危害有关的安全风险,例如用完的试剂盒未经处理即丢弃。

2. 与环境有关的危害,例如生产中的废液没有分类处

理。

3. 与使用有关的安全风险，例如使用试剂和仪器时没有按照说明书要求进行操作。

4. 与运输、储存有关的安全风险，例如试剂的运输和储存超出规定条件。

5. 与预期用途有关的安全风险，例如本产品的检测结果非患者病情评价的唯一指标，未结合患者临床表现和其他诊断方法对病情进行综合分析。

6. 功能性失效引起的安全风险，例如未按规定保存试剂。

7. 产有关的安全风险，例如使用失效的原材料。

通过环境控制、生产监控、原材料管理、成品检验和增加说明书警示内容等防范措施，对该产品的已知和可预见的安全风险进行控制和降低，剩余风险可以被控制在可接受准则规定的可接受范围内，同时没有带来新的危害与安全风险。

我国乙型肝炎患者比较多，干扰素可以提高乙型肝炎患者的治愈率，本试剂盒可以对干扰素的治疗效果作为预测。另外，随着其他乙肝新型药物及治疗手段的出现，乙肝治愈率也越来越高。单独检测 HBV DNA 可能存在漏检风险。通过对 HBV DNA 已经检测不到的患者进行 RNA 检测，可以辅助对患者病情进行监测。在目前认知水平上，认为该产品上市带

来的受益大于风险。

尽管目前认为该产品的受益大于风险，但为保证用械安全，基于对主要剩余风险的防控，已在产品说明书中提示以下信息：

1. 本产品用于定量检测人血清样本中的乙型肝炎病毒（HBV）RNA。

已有研究数据显示，外周血血清中 HBV RNA 可反应肝内 HBV 病毒的转录活性，在部分血清 HBV DNA 低于检测下限的样本中，HBV RNA 仍可以被检测到。同时，在 Peg-IFN- α 治疗中，血清 HBV RNA 可辅助作为 HBeAg 的血清转换预测的指标之一，血清 HBV RNA 结果为阴性，需要结合其他指标共同用于指导 Peg-IFN- α 的治疗。该检测结果不得作为患者病情评价的唯一指标，必须结合患者临床表现和其他实验室检测对病情进行综合分析。本试剂盒不得用于 HBV 的血液筛查。

2. 警示及注意事项：产品说明书中介绍了该产品检验方法的局限性及使用中的注意事项。

综合评价意见

本申报项目为境内第三类医疗器械产品注册，属于优先审批项目（编号：20190009）。申请人的注册申报资料符合现行要求，依据《医疗器械监督管理条例》（国务院令第680号）、《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2014年第5号）等相关医疗器械法规与配套规章，经系统评价后，建议准予注册。

2021年3月10日

附件：产品说明书



乙型肝炎病毒核酸测定试剂盒（RNA 捕获探针法）

说明书

【产品名称】

通用名称：乙型肝炎病毒核酸测定试剂盒（RNA 捕获探针法）

【包装规格】

100 人份/套

【预期用途】

本产品用于定量检测人血清样本中的乙型肝炎病毒（HBV）RNA。

已有研究数据显示，外周血血清中 HBV RNA 可反应肝内 HBV 病毒的转录活性，在部分血清 HBV DNA 低于检测下限的样本中，HBV RNA 仍可以被检测到。同时，在 Peg-IFN- α 治疗中，血清 HBV RNA 可辅助作为 HBeAg 的血清转换预测的指标之一，血清 HBV RNA 结果为阴性，需要结合其他指标共同用于指导 Peg-IFN- α 的治疗。该检测结果不得作为患者病情评价的唯一指标，必须结合患者临床表现和其他实验室检测对病情进行综合分析。本试剂盒不得用于 HBV 的血液筛查。

【检验原理】

本试剂盒的乙型肝炎病毒核酸定量检测分为核酸捕获和实时荧光核酸恒温扩增检测。

核酸捕获是通过病毒核酸提取液中的磁性颗粒特异捕获靶标 RNA，形成磁性颗粒和靶标 RNA 的复合物，通过磁场将该复合物从样本中分离出来，再使用洗涤液对磁性颗粒清洗，获得纯净的磁性颗粒和靶标 RNA 的复合物。该磁性颗粒和靶标 RNA 的复合物进入扩增检测体系。

实时荧光核酸恒温扩增检测（Simultaneous Amplification and Testing, SAT）是一种 RNA 转录扩增同时使用探针实时检测的方法。带有 T7 序列的引物与靶标 RNA 结合，在反转录酶 M-MLV 作用下产生靶标核酸（RNA）的 DNA 拷贝；T7 RNA 聚合酶以 DNA 拷贝为模板产生多个 RNA 产物。产物 RNA 拷贝可以继续作为模板逆转录出新的 DNA 拷贝，继续转录出更多的 RNA 产物。在循环扩增的同时，反应体系内的特异性探针可以与 RNA 产物结合。探针上标记有荧光基团和淬灭基团，探针未与 RNA 产物结合时淬灭基团与荧光基团非常接近，抑制荧光产生；当探针与 RNA 产物结合时，淬灭基团与荧光基团分离，荧光基团发出荧光信号。RNA 产物越多，与产物杂交的探针就越多，发出的荧光信号就越强。检测仪器可以实时检测到发出的荧光信号。荧光信号到达特定阈值的反应时间与靶标 RNA 起始浓度成比例。每个反应都有内标（IC），用于质控样本在处理、扩增和检测期间的变化差异。样本的浓度由软件根据每个反应的靶标检测信号和 IC 信号与内置校准信息进行比较后确定。

【主要组成成份】

试剂 A

组成成分	100 人份/套	主要成分
病毒核酸提取液	1×25mL	内标、捕获探针、磁性颗粒
洗涤液	1×150mL	0.1%SDS
矿物油	1×18mL	矿物油

试剂 B

组成成分	100 人份/套	主要成分
扩增检测液 1	1×5.0 mL	引物、dNTPs 和 NTPs
扩增检测液 2	1×4.5 mL	引物、dNTPs 和 NTPs 荧光探针
酶液	1×4.0mL	反转录酶，T7 聚合酶
阳性校准物	1×3.0 mL	含 HBVRNA 目的片段的病毒样颗粒及稳定剂
阴性质控品	1×1.5 mL	阴性血清
低阳性质控品	1×1.5 mL	含 HBVRNA 目的片段的病毒样颗粒及稳定剂
高阳性质控品	1×1.5mL	含 HBVRNA 目的片段的病毒

批次信息码	1	/
-------	---	---

注：请勿互换、混合或合并不同批号的试剂盒中的试剂。

检测过程中仪器配套使用的石蜡及耗材未提供，需要咨询厂家采购，检测前请确保耗材满足试验需要。

【储存条件及有效期】

储存条件：试剂 A：2~8℃ 储存，试剂 B：-35~-15℃ 储存（扩增检测液 2 避光保存），试剂盒有效期 12 个月。

打开包装使用后的试剂盒可于 2~8℃ 存放 7 天，反复冻融不超过 3 次。冰袋、干冰加泡沫箱在 20℃ 以下运输不超过 6 天。

生产日期及有效期至：详见试剂盒外包装。

【适用仪器】

本试剂适用于全自动核酸检测分析系统（AutoSAT）。

【样本要求】^[1]

1. 适用样本类型：人血清样本

2. 样本采集

2.1 血清样本采集

抽取受检者静脉血 2~5mL，收集于不含添加剂的采血管或者含促凝剂的采血管中，室温（15~30℃）放置 30~60 分钟，1500rpm~2000rpm 离心 5 分钟，使血细胞和血清充分分离，该样本可直接置于仪器样本架，作为待测样本。

2.3 单次检测待测样本体积不少于 400μL，检测实际取样量 250μL。

3. 保存：收集的样本应在 8 小时内完成血清分离及上机检测；8 小时内无法立即进行检测的，应在 8 小时内将血清分离到新的样品保存管（仪器配套耗材）内，置于 -20℃ 及以下温度保存。-20℃ 保存不超过 3 个月，样品避免反复冻融。

4. 运输：样本采用泡沫箱加冰袋或者干冰密封进行运输。

【检验方法】

本试剂盒搭载全自动核酸分析系统（AutoSAT）使用（可根据 AutoSAT 全自动核酸分析系统仪器操作手册进行适当调整）。

检测过程包括：250μL 待测样本与病毒核酸提取液混合；60℃ 孵育 10min；室温冷却杂交捕获；吸磁后弃除废液；使用洗涤液清洗磁性颗粒两次；含有纯净 RNA 靶标的磁性颗粒进入由扩增检测液 1、扩增检测液 2 和酶液组成的扩增检测液体系，42℃ 反应 40 分钟，实时采集荧光信号并进行分析。

具体检测程序如下：

1. 仪器准备

启动 AutoSAT 全自动核酸检测分析系统和控制电脑，运行 AutoSAT 操作软件，根据 AutoSAT 操作软件提示设置仪器程序，将各耗材放置到仪器的对应位置。

2. 试剂准备

2.1 将所有试剂温度平衡到室温（15~30℃），充分混匀，将试剂管外壁擦拭干净；试剂 B 各管开盖前需要适当离心，将管内试剂离心到管底。

2.2 将洗涤液和矿物油小心转移至仪器指定的洗涤槽内。

2.3 按照软件提示将其余试剂及质控品移去管盖后，直接放入仪器指定槽位，并且扫描批次信息码，确保机器可以扫描到试剂信息。

2.4 将试剂架推入仪器对应位置。

3. 样本准备

打开样本管盖，将待测样本置于 AutoSAT 样本架上，根据提示推入仪器进行条码扫描。

注意：冻存样本需待样本全部融化后混匀，再置于样本架上。

4. 仪器运行

4.1 点击软件页面的“开始任务”按钮，仪器首先对校准物和质控品进行处理。

4.2 在以下两个条件中的任一个得到满足时仪器开始对样本进行移液检测：

A、系统当前正在处理校准物和质控品。

B、校准物和质控品的有效结果已录入系统。

注意：1、仪器运行过程中可随时将样本加载到样本架中，需暂停仪器后加载样本。

2、校准物和质控品在仪器运行 24 小时内有效，若移走或者更换试剂盒、关机后再开机，需要重新进行校准物和质控品检测。

5. 结果分析

用户可在 AutoSAT 全自动核酸检测分析系统软件中查看检测结果。

6. 质量控制

6.1 测定校准

要生成有效结果，必须完成测定校准。测定校准指对阳性校准物同时重复检测三次，校准物的验收标准由系统中的软件自动验收，显示“有效”即通过验收。校准物在每天检测开始时首先进行检测，当天有效；当天若更换试剂盒，需重新进行测定校准。软件验证不通过时，需要考虑更换试剂盒，样本重新进行检测。

6.2 阴性质控品和阳性质控品

要生成有效的结果，必须测试一组质控品，包括阴性质控品、低阳性质控品和高阳性质控品。质控品的验收标准由软件自动验证。要生成有效结果，阴性质控品的结果必须是“未检出”，而阳性质控品的结果必须是“有效”。如果任一质控品存在无效结果，软件将自动作废本次试验，需要考虑更换试剂盒，样本重新进行检测。质控品在每天检测开始时与测定校准物一起进行检测，检测结果当天有效；当天若更换试剂盒，需重新进行质控品检测。

6.3 内标

每个样本都包含内标。在处理过程中，内标的验收标准由软件自动验证。如果内标结果无效，该样本结果作废。每个带有无效内标结果的样本都必须复检，以获取有效结果。

【阳性判断值】

- 对最低检出限模拟样本和临床样本的检测和统计分析，利用 ROC 曲线分析确定靶标阳性判断值为 $dt \leq 27.3$ ；
- 对大量定量上限模拟样本的重复检测，利用 95% 参考区间分析确定内标的阳性判断值 $dt \leq 30.6$ ；
- 内标为阳性时，结果有效；内标为阴性时，结果无效。

【检验结果的解释】

系统通过比较结果和校准曲线自动确定样本和质控品 HBV RNA 的浓度。HBV RNA 浓度报告的单位是 copies/mL。结果解释在表 1 中提供。

表 1 结果解释

报告 HBV RNA 的测定结果 (copies/mL)	解释
未检出	未检出 HBV RNA
检出 <100	检出的 HBV RNA 水平低于定量下限
$10^2 \sim 10^8$	检出的 HBV RNA 浓度在 $10^2 \sim 10^8$ copies/mL 的线性范围内
$>10^8$	HBV RNA 浓度高于定量上限
无效	结果无效，该样本需要重新进行检测

【检验方法的局限性】

- 本试剂盒的检测结果仅供临床参考，对患者的临床诊治应结合其症状/体征、病史、其他实验室检查及治疗反应等情况综合考虑。
- 不合理的样本采集、转运、储存及处理过程均有可能导致错误的检测结果。
- 该试剂仅限于规定的样本类型及适用机型。

【产品性能指标】

- 本试剂盒为定量产品，线性范围为 10^2 copies/mL $\sim$ 10^8 copies/mL；检测下限为 50 copies/mL。
- 本试剂盒可以检测 HBV A、B、C、D、E、F、G 和 H 基因型。基因型 A~H 经过了假病毒模拟样本验证，临床研究中进行了 B、C、D 型基因型的检测验证。
- 与感染部位相同或感染症状相似的其它病原体人类免疫缺陷病毒 (HIV)、丙型肝炎病毒 (HCV)、金黄色葡萄球菌 (SA)、单纯疱疹病毒 2 型 (HSV-2)、柯萨奇病毒 A16 型 (CA16)、E-B 病毒、甲

型肝炎病毒、丁型肝炎病毒、梅毒螺旋体、白色念珠菌等无交叉反应。

- 普通 IFN α 和聚乙二醇干扰素 α 对本试剂盒检测不产生干扰；10mg/mL 及以下血红蛋白、30mg/mL 及以下甘油三酯对本试剂盒检测结果不产生干扰。
- 小于等于 10^6 IU/mL 的 HBV DNA 浓度对本试剂盒检测结果不产生干扰。
- 临床评价：在 4 家临床机构完成 1340 例样本的临床试验，与参比方法相比，阳性符合率为 100%、阴性符合率为 96.73%、总符合率为 98.96%；在 $100 \sim 1.0 \times 10^8$ copies/mL 范围内，本品与参比方法相比，结果经线性回归方程分析，二者无显著性差异。82 例慢性乙肝患者接受 Peg-IFN- α 治疗 48 周的临床研究显示，使用治疗 24 周时血清 HBV RNA 的定量水平，预测停药后 24 周时 HBeAg 血清学转换，其阳性预测值为 60.0%，阴性预测值为 80.8%。

【注意事项】

- 本试剂盒仅用于体外诊断。
- 由于本产品的检测靶标为 RNA，操作过程中应特别注意防止 RNase 对 RNA 的降解作用，请使用仪器配套耗材。在实验操作之前请操作人员戴上无粉手套、口罩，穿好实验服。
- 扩增检测液 2 对光敏感，在储存期间和使用准备期间应避免曝光。
- 试剂 B 应避免反复冻融。
- 操作过程的环境温度应控制在 $15 \sim 30^\circ\text{C}$ 。
- 如果没有特别说明，请勿合并任何分析试剂或溶液。
- 洗涤液室温平衡后如果仍有白色絮状沉淀物，用之前应先 37°C 加热，直至澄清。
- 酶在用之前要先离心，并将温度平衡至 42°C 。
- 所有临床样品都可能是潜在的污染源，操作应戴手套，使用过的试剂瓶等必需经无菌处理才可丢弃，进行分析操作时，应建立规范的器具操作和废物处理规程。妥善处置所有接触到标本和试剂的材料，彻底清洗并消毒所有操作台面。
- 仪器维护：每天实验结束后，将仪器中的剩余试剂取出，密封后，放在 $2 \sim 8^\circ\text{C}$ 保存，1 周内用完，将仪器下部的垃圾袋封口密封后移除。
- 试剂盒内校准物、质控品含有人源物质的组分，虽已通过乙型肝炎、人类免疫缺陷病毒、丙型肝炎等项目的检测为阴性，但截至目前，没有任何一项检测可以确保绝对安全，故仍应将这些组分作为潜在传染源对待。
- 临床实验室应严格按照《临床基因扩增实验室工作规范》配备设备及操作人员，应严格按照说明书要求进行操作。

【参考文献】

- 《全国临床检验操作规程》（第四版）。

【基本信息】

注册人/生产企业名称：上海仁度生物科技有限公司

住所：上海市张江高科技园区东区瑞庆路 528 号 10 幢乙号 3 层 A 室

联系方式：

售后服务单位名称：

联系方式：

生产地址：上海市张江高科技园区东区瑞庆路 528 号 10 幢乙号 3 层；

上海市张江高科技园区东区瑞庆路 528 号 8 幢甲 6 层；上海市张江高科技园区东区瑞庆路 590 号 7 幢 301 室（PCR 检定）

生产许可证编号：

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

【说明书核准日期及修改日期】