

受理号：CSZ2100047

体外诊断试剂产品注册技术审评报告

产品中文名称：乙型肝炎病毒核糖核酸（HBV RNA）检测试剂盒
（PCR-荧光探针法）

产品管理类别：第三类

申请人名称：圣湘生物科技股份有限公司

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	12
四、 产品受益风险判定	14
综合评价意见	17

基本信息

一、申请人名称

圣湘生物科技股份有限公司

二、申请人住所

长沙高新技术产业开发区麓松路 680 号

三、生产地址

长沙高新技术产业开发区麓松路 680 号

技术审评概述

一、产品概述

（一）产品主要组成成分

本试剂盒包括逆转录、荧光 PCR 扩增反应试剂，主要组成成分见表 1。

表 1 主要组成成分

序号	试剂名称	规格与装量	主要成分
1	HBV RNA 反应液	588 μL/管×1 管	引物、探针、dNTPs、PCR buffer
2	HBV RNA 酶混合液	96 μL/管×1 管	Tth酶、Taq酶
3	RT 增强剂	50 μL/管×1 管	硫酸锰
4	HBV RNA 定量参考品A	500 μL/管×1 管	含目标片段的假病毒 (3.00E+07copies/mL)
5	HBV RNA 定量参考品B	500 μL 管×1 管	含目标片段的假病毒 (3.00E+06 copies/mL)
6	HBV RNA 定量参考品C	500 μL/管×1 管	含目标片段的假病毒 (3.00E+05copies/mL)
7	HBV RNA 定量参考品 D	500 μL/管×1 管	含目标片段的假病毒 (3.00E+04 copies/mL)
8	HBV RNA 阴性对照	500 μL/管×1 管	灭活的阴性血清
9	HBV RNA 阳性对照	500 μL/管×1 管	含目标片段的假病毒
10	HBV RNA 内标	50 μL 管×1 管	含内标片段的假病毒

备注：

1.不同批号产品的成分之间不可以混用或互换。

2.本试剂盒定量参考品溯源至制造商选定测量程序。

3. 自备试验器材：无 DNA 酶、RNA 酶的 1.5 mL 离心管、0.2 mL PCR 反应管；台式离心机；台式振荡混合器；磁珠分离器、各种规格的加样枪及相应 Tip 头(10 μ L, 200 μ L, 1000 μ L)。所有的反应管都需经无 RNase 处理。

4.提取试剂盒使用本公司生产的核酸提取或纯化试剂（湘长械备 20150021 号）进行核酸提取。

（二）产品预期用途

本试剂盒用于体外定量检测临床血清样本中的乙型肝炎病毒（HBV）RNA。

乙型病毒性肝炎（乙肝）是由乙型肝炎病毒（Hepatitis B Virus, HBV）引起的、以肝脏炎性病变为主并可引起多器官损害的一种传染病，临床上以疲乏、食欲减退、肝肿大、肝功能异常为主要表现。人感染乙型肝炎病毒（HBV）后，病毒持续未被清除者可能发展为慢性肝炎，如果不进行适当的干预，约 15%~40% 的慢性乙型肝炎病毒（HBV）感染者最终将发生肝硬化、终末期肝病及肝癌。因此，乙型肝炎病毒（HBV）感染者应积极进行抗病毒治疗，并监测其病毒载量变化。本试剂盒通过对经核苷（酸）类似物治疗、乙型肝炎表面抗原浓度低于 1500 IU/mL 的病例，检测血清中乙型肝炎病毒（HBV）RNA，

用于该人群经核苷（酸）类似物联合干扰素治疗后乙型肝炎表面抗原转阴的提示。

（三）产品包装规格

24 人份/盒。

（四）产品检验原理

本试剂盒通过逆转录 HBV 核酸中的 pgRNA，利用针对 HBVpgRNA 序列设计的一组特异性引物与荧光探针，配以 PCR 反应液，在荧光定量 PCR 仪上，应用实时荧光定量 PCR 检测技术，通过荧光信号的变化实现 HBVpgRNA 的定量检测。

PCR 检测体系含有阳性内对照（内标），通过检测内标基因来监测提取核酸中是否具有 PCR 抑制物，评价核酸提取的质量，避免 PCR 假阴性。

二、临床前研究概述

（一）主要原材料

1.主要原材料的选择

本产品制备过程中主要原材料包括引物、荧光探针、dNTPs（T）、Tth DNA Polymerase（Tth 酶）、Taq 酶、HBV RNA 假病毒、HBV RNA 内标假病毒等，主要原材料为外购方式获得。申请人选择有资质的供应商提供的原料，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的质量标准并经检验合格。

2.企业参考品和对照品的设置情况

本产品企业参考品包括阳性参考品、阴性参考品、线性参考品、检出限参考品和精密度参考品。参考品采用临床样本和假病毒制备而成。组成如下：

阳性参考品 6 份（P1～P6）：由含不同乙肝病毒型别（B 型、C 型、D 型）与浓度的 6 份乙型肝炎病毒核糖核酸（HBV RNA）阳性样本组成。

阴性参考品 8 份（N1～N8）：N1～N3 为正常人乙型肝炎病毒阴性血清样本；N4～N8 为种属相近的或引起症状相似的病毒，分别为丙型肝炎病毒（两份） 戊型肝炎病毒、巨细胞病毒、EB 病毒阳性样本。

线性参考品 8 份（L0～L7）：由不同浓度的乙型肝炎病毒核糖核酸（HBV RNA）假病毒组成。经标定的乙型肝炎病毒核糖核酸（HBV RNA）强阳性假病毒，用阴性血清分别稀释至 $1.0 \times 10^9 \text{copies/mL}$ 、 $1.0 \times 10^8 \text{copies/mL}$ 、 $1.0 \times 10^7 \text{copies/mL}$ 、 $1.0 \times 10^6 \text{copies/mL}$ 、 $1.0 \times 10^5 \text{copies/mL}$ 、 $1.0 \times 10^4 \text{copies/mL}$ 、 $1.0 \times 10^3 \text{copies/mL}$ 、 $1.0 \times 10^2 \text{copies/mL}$ ，即企业线性参考品 L0～L7。

检出限参考品 3 份（S1～S3）：来源于 1 份乙型肝炎病毒阳性血清样本，使用企业线性参考品定值后，用阴性血清稀释至 5000copies/mL ，编号为 S，使用时用阴性血清分别稀释至 100copies/mL ， 50copies/mL 和 25copies/mL ，编号分别为 S1，S2 和 S3。

精密度参考品 2 份（R1～R2）：经标定的乙型肝炎病毒核

糖核酸（HBV RNA）强阳性假病毒，用阴性血清分别稀释至 $1.5 \times 10^4 \text{copies/mL}$ 、 $1.5 \times 10^2 \text{copies/mL}$ 两个浓度，编号 R1 和 R2。

本产品设置了 HBV RNA 阴性对照和 HBV RNA 阳性对照，用于检测过程中试剂盒和仪器的质量控制。此外，PCR 检测体系含有阳性内对照（内标），通过检测内标基因来监测提取核酸中是否具有 PCR 抑制物，评价核酸提取的质量，避免 PCR 假阴性。

（二）生产工艺及反应体系研究

申请人对生产工艺及反应体系的研究包括核酸提取方法研究、样本用量研究、核酸用量研究；对引物探针离心时间、不同温度和时间复溶等进行优化；对 PCR buffer、引物、探针、Taq 酶、Tth 酶、dNTPs（T）等的用量进行了优化；对 HBV RNA 反应液、HBV RNA 定量参考品、HBV RNA 阳性对照及 HBV RNA 内标在 $2-8^{\circ}\text{C}$ 不同保存时间进行研究；并对反应条件进行优化，包括逆转录温度、逆转录时间、预变性时间、退火和延伸温度、循环数的选择研究。

申请人通过企业内部研究试验，确定了最佳的生产工艺及反应体系。

（三）分析性能评估

本产品分析性能包括核酸提取方法研究、测量范围、准确度、检出限与定量限、精密度、分析特异性、包容性，申请人提交了三批试剂，在适用机型（ABI7500 荧光 PCR 仪、SLAN-96P

全自动医用 PCR 分析系统、雅睿 MA-6000 荧光 PCR 仪) 上的性能评估资料。

1. 核酸提取

申请人使用 HBV RNA 阳性样本, 使用圣湘的核酸提取或纯化试剂和凯杰 (QIAamp Viral RNA Mini Kit (50)) 的提取试剂盒进行对比研究, 结果核酸提取或纯化试剂与对照试剂无明显区别, 相对提取效率高。

2. 测量范围

申请人使用 HBV RNA 强阳性血清为初始样本, 用阴性血清稀释至 $1.0 \times 10^9 \text{copies/mL} \sim 1.0 \times 10^2 \text{copies/mL}$, 分别使用三批质检合格的试剂盒进行检测, 结果均符合线性范围的性能要求。

3. 准确度

申请人将乙型肝炎病毒 RNA 检测试剂国家标准品稀释 100 倍后作为待测样本, 分别使用三批质检合格的试剂盒进行检测, 结果样本浓度对数值与理论对数值的绝对偏差均不超过 ± 0.5 个对数数量级, 符合准确度的性能要求。

4. 检出限与定量限研究

将已定值的 HBV RNA 阳性样本用阴性血清进行梯度稀释, 分别使用三批质检合格的试剂盒进行检测, 确定本试剂盒的最低检出限为 50 copies/mL, 定量限为 100 copies/mL。使用三批质检合格的试剂盒对不同型别 (B 型、C 型、D 型) 的 HBV RNA

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：

<https://d.book118.com/268015054112006112>