

受理号: CSZ2100268

体外诊断试剂产品注册技术审评报告

产品中文名称: HLA-B*1301 基因检测试剂盒
(PCR-荧光探针法)

产品管理类别: 第三类 6840

申请人名称: 山东百骏生物科技有限公司

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
产品审评摘要	4
一、产品概述	4
二、临床前研究摘要	6
三、临床评价	10
四、产品受益风险判定	11
综合评价意见	14

基本信息

一、申请人名称

山东百骏生物科技有限公司

二、申请人住所

山东省烟台市经济技术开发区潮水文化路东电子工业园内

三、生产地址

山东省烟台市经济技术开发区潮水文化路东电子工业园内

产品审评摘要

一、产品概述

(一) 产品主要组成成分

产品主要组成成分见下表

产品组分	主要成分	装量
PCR 反应混合液 P1	P1 正、反向引物, dNTPs, 缓冲液	700 μ L
PCR 反应混合液 P2	P2 正、反向引物, dNTPs, 缓冲液	700 μ L
PCR 反应混合液 C	内参基因正、反向引物, dNTPs, 缓冲液	700 μ L
PCR 反应探针 P1	P1 荧光探针	60 μ L
PCR 反应探针 P2	P2 荧光探针	60 μ L
PCR 反应探针 C	内参基因荧光探针	60 μ L
Taq 酶	热启动 DNA 聚合酶	21 μ L
阳性对照	含有靶标基因片段的质粒	100 μ L
阴性对照	不含靶标基因片段的空载质粒	100 μ L
无核酸酶水	水	1600 μ L

(二) 产品预期用途

本产品用于体外定性检测人外周静脉全血样本中 HLA-B*1301 等位基因, 不能区分 HLA-B*1301 基因纯合型和杂合型。

本产品用于计划服用氨苯砒治疗麻风病等疾病患者的用药指导, 以避免氨苯砒综合征不良反应。

氨苯砒综合征 (DHS) 是由临床服用氨苯砒引起的严重副作用, 属于重症药物不良反应 (ADR) 的范畴。本病于 1949 年被首次报道, 1951 年被 Allday 和 Barnes 命名为“D.A.D.P.S. syndrome” (氨苯砒综

合征)。氨苯砜综合征是一种非剂量依赖性的药物超敏反应综合征 (DIHS)，以突然发生的丘疹或剥脱性皮炎、发热、淋巴结肿大、单核细胞增多以及内脏损害等为临床表现特点。临床发病率为 0.5-3.6%，死亡率高达 10% 左右，严重威胁患者的生命健康。

根据 2013 年发表于《新英格兰医学杂志》期刊的文献，HLA-B*1301 作为氨苯砜超敏反应综合征 (DHS) 生物学标记物，两者的相关性 OR 值为 20.53，P 值为 6.84×10^{-25} ，具有显著的统计学意义，证实 HLA-B*1301 与氨苯砜超敏反应综合征 (DHS) 发生紧密相关。携带 HLA-B*1301 等位基因单个拷贝的个体 (杂合携带者)，服药后发生 DHS 的风险是不携带该等位基因个体的 33.6 倍；携带 HLA-B*1301 等位基因两个拷贝的个体 (纯合携带者)，服药后发生 DHS 的风险是不携带该等位基因个体的 100.7 倍。

2021 年，中华医学会皮肤性病学分会药物不良反应研究中心发表的《Stevens-Johnson 综合征/中毒性表皮坏死松解症诊疗专家共识》中提出“HLA-B*1301 与氨苯砜、柳氮磺吡啶和复方磺胺甲噁唑诱发的药物超敏反应综合征及 SJS/TEN 相关”，治疗前检测风险 HLA 基因可预防 SJS/TEN 等重症药物不良反应。

本试剂盒的检测结果仅供临床参考，对患者个体化治疗的选择应结合其症状/体征、病史、其它实验室检查及治疗反应等情况综合考虑，不能以本试剂盒检测结果作为临床是否用药的唯一依据。

(三) 产品包装规格

50 人份/盒。

(四) 产品检验原理

本试剂盒采用实时荧光定量 PCR 方法结合水解探针技术，对 HLA-B*1301 等位基因的两个特定区域进行特异性扩增，通过扩增曲线和 Ct 值来判断该个体是否携带 HLA-B*1301 等位基因。

二、临床前研究摘要

(一) 主要原材料研究

1. 主要原材料的选择

主要原材料包括：引物、探针、Taq 酶、dNTP 和阴阳性对照品等，原材料均通过外购的方式获得。其中引物和探针为申请人自行设计，由合成公司采用 DNA 合成仪合成，经纯化后获得。

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。

2. 企业参考品设置

申请人设计了完整的企业参考品 (RM (P001))，包括企业准确度参考品、企业特异性参考品、企业检出限参考品、企业精密度参考品。参考品采用临床样本制备而成。组成如下：

(1) 阳性参考品 10 份，命名为企业准确度参考品 (P01~P10)。来源于经检测为 HLA-B*1301 纯合型阳性及 HLA-B*1301 杂合型阳性的样本。

(2) 阴性参考品 10 份，命名为企业特异性参考品 (N01~N10)。来源于经检测为 HLA-B*1301 阴性的样本。

(3) 精密度参考品 2 份，命名为企业精密度参考品 (PC01~PC02)。为使用 HLA-B*1301 阴性的样本作为基质，将 HLA-B*1301 杂合型阳性样本稀释至指定浓度后获得。

(4) 检出限参考品 1 份，命名为企业检出限参考品 LD01。为使用 HLA-

B*1301 阴性的样本作为基质，将 HLA-B*1301 杂合型阳性样本稀释至指定浓度后获得。

(二) 生产工艺和反应体系研究

申请人对试剂盒反应体系的研究包括靶标序列的选择、引物探针浓度的确定、Taq 酶浓度的确定、dNTP Mix 浓度的确定、镁离子浓度的确定、阴/阳性对照品配方的确定等。对反应条件的研究包括 PCR 退火温度、扩增循环数、扩增反应时间、PCR 反应体积等。通过功能性实验，最终确定了最佳的反应体系。

申请人根据试剂盒中试剂及组分的主要生产工艺的研究结果，确定了最佳的生产工艺。

(三) 分析性能评估

该产品分析性能包括最低检出限、精密度、准确度、分析特异性（交叉反应、干扰试验）、核酸提取纯化性能等。申请人提交了有效运行的质量管理体系下生产的 3 批产品在适用机型上的性能评估资料。

在最低检出限研究中，申请人对将 HLA-B*1301 杂合基因稀释至指定浓度的样本进行 20 次重复检测，将至少 18 次检测结果 CT 值 ≤ 30 且扩增曲线为指数扩增曲线的浓度作为 P1、P2 反应体系的各自最低检出限。另采用 3 批试剂进行检出限的验证，符合检出限的性能要求，即最低检出限为 5ng/ μ L。

在准确度研究中，申请人选取了 120 例测序结果为 HLA-B*1301 阳性的样本（其中 7 例纯合型），采用 3 批试剂按说明书要求进行检测，结果显示阳性符合率 100%。

在精密度研究中，申请人针对 HLA-B*1301 阴性，HLA-B*1301 弱阳性和 HLA-B*1301 中/强阳性三个水平的临床样本进行了精密度评

价。分别评价了本产品的室内和室间精密度，试验包含不同地点、操作者、仪器、运行、批次等影响因素，结果显示 CT 值 CV 值均符合性能要求。

分析特异性实验涵盖交叉反应研究及干扰因素研究。交叉反应评价中，申请人采用了自然人群中 HLA-B 区域携带频率大于 4% 的 15 种同源性序列进行了交叉反应研究，经验证，所选择 15 种同源序列样本与本产品均不产生交叉反应。

干扰研究实验中，申请人采用在中低浓度的 HLA-B*1301 阳性及阴性样本中加入干扰物质的方法进行验证，干扰实验结果显示，样本中内源性干扰物质不大于以下浓度时，试剂盒各项检测结果符合要求：血红蛋白 300g/L、甘油三酯 6mmol/L、胆红素 25 $\mu\text{mol/L}$ 、西替利嗪 500 $\mu\text{g/L}$ 、泼尼松 90 $\mu\text{g/L}$ 、克拉霉素 5 $\mu\text{g/mL}$ 、伊曲康唑 4 $\mu\text{g/mL}$ 、阿维 A1000ng/mL、甲氨蝶呤 30 $\mu\text{mol/L}$ 、氨基砒 4.82mg/L。

针对核酸提取纯化步骤，申请人将试剂盒配套使用的核酸提取试剂与已上市质量较好的提取试剂对全血样本的 DNA 提取效率进行平行比对，结果显示核酸提取效率相当，并对配套使用的核酸提取试剂提取后 DNA 的纯度、浓度、精密度和抗干扰能力进行了评估，性能均可满足试剂盒检验要求。

(四) 阳性判断值的确定

使用 ROC 曲线法，采用 HLA-B*1301 杂合、纯合阳性及阴性全血样本共计 260 例，利用考核试剂 P1 及 P2 反应体系的检测结果与样本测序结果进行一致性比对分析。通过 ROC 曲线计算，最终确定检测基因片段 P1 及 P2 的阳性判断值，均为 Ct 值 ≤ 30 。

同时通过对上述 260 例样本的内参基因检测结果进行置信区间分

析，最终确定了内参基因检测结果的合格标准为 $Ct \leq 30$ 。

(五) 稳定性研究

申请人对本产品的货架效期稳定性、开瓶稳定性、冻融稳定性、样本稳定性进行了研究，确定了在各种条件下本产品及样本的有效保存时间。

货架效期稳定性：采用3批试剂进行研究，将试剂盒保存在 $-20 \pm 5^\circ\text{C}$ 条件下，分别于保存第0月、第3月、第6月、第9月、第11月、第12月、第13月和第14月时取出试剂盒，对试剂盒的分析特异性、检出限、测量准确度、测量精密度四项性能指标进行检测，确定产品在规定的储存条件下，可稳定保存12个月。

开瓶稳定性：将试剂盒于室温下开瓶解冻后，再置于 $-20 \pm 5^\circ\text{C}$ 冷冻条件下冷冻保存，参考实验室日常检测条件下使用频次及使用方式，分别设置开瓶后第1天、第2天、第3天、第4天、第5天、第6天、第7天分别对准确度、分析特异性、测量精密度、检出限指标进行评估，试剂盒在开瓶冻融后短期（7天内）各性能均符合产品技术要求。同时，申请人使用开瓶复融试剂完成长期（7个月）稳定性研究，各性能均符合产品技术要求。最终开瓶稳定性结论为：在不同使用频次下，试剂盒性能均满足要求，确定试剂盒开瓶冻融稳定性有效期为6个月。

冻融稳定性：试剂盒置于 $-20 \pm 5^\circ\text{C}$ 冷冻条件下冷冻保存，期间分次取出，室温放置至试剂盒内组分完全融化后再重新放置于 $-20 \pm 5^\circ\text{C}$ 冷冻条件下冷冻保存。分别在冻融第1次，第2次，第3次，第4次、第5次、第6次、第7次设取样检测时间点。对于不同冻融次数的试剂盒分别评价分析特异性、检出限、测量准确度、测量精密度四项性能指标，结果均合格。试剂盒反复冻融稳定性结论为不多于6次。

样本稳定性：申请人对全血样本、提取后的DNA样本进行了样本稳定性研究，研究结果表明：全血样本短期（30天内）可保存于 $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ ，反复冻融不宜超过2次，长期保存可置于 -70°C 以下，但不宜超过6个月，反复冻融不宜超过3次；提取后样本短期（30天内）可保存于 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ ，长期（6个月内）可保存于 $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ ，反复冻融不宜超过3次。

三、临床评价

本产品依据《体外诊断试剂临床试验技术指导原则》进行审评。申请人在烟台市烟台山医院、烟台毓璜顶医院、长沙市第三医院和山东第一医科大学附属皮肤病医院共四家临床试验机构开展了临床试验。

本次临床试验的适用人群为服用氨苯砜的患者，包括氨苯砜药物适应证相关人群，如：麻风病和银屑病等。临床试验分为如下两部分：

（一）采用考核试剂与测序法进行比较研究，确认考核试剂的临床检测性能。该部分临床试验中，最终满足适用人群要求且符合研究方案的全血样本共1317例，包括152例阳性样本（包括靶基因纯合型和杂合型），1165例阴性样本。临床试验结果如下：与测序法相比，考核试剂的阳性符合率为100%（95%CI: 99.8%~100%），阴性符合率为100%（95%CI: 99.9%~100%），总符合率为100%（95%CI: 99.9%~100%）。结果表明考核试剂与测序法具有良好的检测一致性。

（二）采用考核试剂与临床参考标准（氨苯砜综合征的临床诊断结论）进行比较研究，确认考核试剂的临床意义。该部分临床试验中，最终满足适用人群要求且符合研究方案的全血样本共464例，包括105例阳性样本（包括靶基因纯合型和杂合型），359例阴性样本。临床试验结果如下：与临床参考标准相比，考核试剂的灵敏度为93.2%（95%CI: 87.7%~98.6%），特异度为93.9%（95%CI: 91.4%~96.4%），总符合率

为93.8%（95%CI: 91.6%~95.9%），结果表明考核试剂与临床参考标准具有良好的 consistency。同时，计算发生氨苯砒综合征患者中靶基因的检出率为93.2%，未发生氨苯砒综合征患者中靶基因的检出率为6.1%，两组人群的靶基因检出率具有显著差异。综合上述结果与相关专家共识和权威文献，说明：靶基因可作为氨苯砒综合征的风险预测因子，靶基因与氨苯砒综合征不良反应具有显著相关性。

综上，该产品临床试验资料符合技术审评要求。

四、产品受益风险判定

根据 YY/T 0316-2016《医疗器械风险管理对医疗器械的应用》对 HLA-B*1301 基因检测试剂盒（PCR-荧光探针法）进行产品受益风险判定。

（一）收益评估

氨苯砒综合征是由临床服用氨苯砒引起的严重不良反应，是一种非剂量依赖性的药物超敏反应综合征。以突然发生的丘疹或剥脱性皮炎、发热、淋巴结肿大、单核细胞增多以及内脏损害等为临床表现特点，严重威胁患者的生命健康。该产品为临床上服用氨苯砒药物的患者提供了一种避免发生氨苯砒综合征的辅助诊断方法。检查结果为阳性的患者服用氨苯砒发生氨苯砒综合征可能性大，从而避免服用该药物。检查结果仅供临床参考，对患者个体化治疗的选择应结合其症状/体征、病史、其它实验室检查及治疗反应等情况综合考虑，不能以本试剂盒检测结果作为临床是否用药的唯一依据。

（二）风险评估

该试剂盒已知和可预见的安全风险主要有以下几个方面：

- 1.与预期用途有关的风险，例如本产品不能作为避免发生氨苯砒

综合征的唯一确定依据，临床医生应结合其它诊断方法进行综合诊断。

2.与生产过程相关的风险，例如说明书印刷错误。

3.与储存或运输相关的风险，例如在不正确的储存和运输条件下储存、运输试剂。

4.与使用有关的风险，例如使用非推荐的提取试剂或荧光定量PCR仪。

5.生物危险，例如使用后或失效的产品直接丢弃或产品使用过程中产生的废弃物未按照要求按医疗废弃物统一销毁处理。

通过对 HLA-B*1301 基因检测试剂盒（PCR-荧光探针法）从生产原料、配制、检测、标志、包装、运输、储存、使用方法及安全注意事项、保存和使用处理等全过程危害判定、风险评估、预防化解，从产品技术要求和使用说明书及企业规章制度对产品质量的全过程控制和风险防控措施，已将产品的风险系数降低到了验收准则规定的可接受范围内，同时采取降低风险的措施后没有引入新的风险。在目前认知水平上，认为该产品上市带来的受益大于风险。尽管目前认为该试剂盒的受益大于风险，但是为保障用械安全，基于对主要剩余风险的控制已在该试剂盒说明书提示以下信息：

1.本试剂盒的检测结果仅供临床参考，对患者个体化治疗的选择应结合其症状/体征、病史、其它实验室检查及治疗反应等情况综合考虑，不能以本试剂盒检测结果作为临床是否用药的唯一依据。

2.本检测结果仅可用于基因型别判断，药物的使用方式取决于临床医师的专业判断，不得以本检测结果作为唯一判断标准。

3.不合理的样本采集、转运及处理，以及不当的试验操作和实验环境均有可能导致假阴性或假阳性结果。

- 4.本试剂盒检测仅限于此说明书中规定的样本类型及检测系统。
- 5.该试剂盒说明书中明确了该试剂盒使用中的注意事项。

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。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 739 号）、《体外诊断试剂注册与备案管理办法》（国家市场监督管理总局令 第 48 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。

2023 年 2 月 6 日

附件：产品说明书

HLA-B*1301 基因检测试剂盒 (PCR-荧光探针法) 说明书

【产品名称】

通用名称: HLA-B*1301 基因检测试剂盒 (PCR-荧光探针法)

【包装规格】

50 人份/盒

【预期用途】

本产品用于体外定性检测人外周静脉全血样本中 HLA-B*1301 等位基因, 不能区分 HLA-B*1301 基因纯合型和杂合型。

本产品用于计划服用氨苯砒治疗麻风病等疾病患者的用药指导, 以避免氨苯砒综合征不良反应。

氨苯砒综合征(DHS)是由临床服用氨苯砒引起的严重副作用, 属于重症药物不良反应(ADR)的范畴。本病于 1949 年被首次报道, 1951 年被 Allday 和 Barnes 命名为“D.A.D.P.S. syndrome”(氨苯砒综合征)。氨苯砒综合征是一种非剂量依赖性的药物超敏反应综合征(DIHS), 以突然发生的丘疹或剥脱性皮炎、发热、淋巴结肿大、单核细胞增多以及内脏损害等为临床表现特点。临床发病率为 0.5-3.6%, 死亡率高达 10%左右, 严重威胁患者的生命健康^[1]。

根据 2013 年发表于《新英格兰医学杂志》期刊的文献, HLA-B*1301 作为氨苯砒超敏反应综合征(DHS)生物学标记物, 两者的相关性 OR 值为 20.53, P 值为 6.84×10^{-25} , 具有显著的统计学意义^[2], 证实 HLA-B*1301 与氨苯砒超敏反应综合征(DHS)发生紧密相关。携带 HLA-B*1301 等位基因单个拷贝的个体(杂合携带者), 服药后发生 DHS 的风险是不携带该等位基因个体的 33.6 倍; 携带 HLA-B*1301 等位基因两个拷贝的个体(纯合携带者), 服药后发生 DHS 的风险是不携带该等位基因个体的 100.7 倍。

2021 年, 中华医学会皮肤性病学会药物不良反应研究中心发表的《Stevens-Johnson 综合征/中毒性表皮坏死松解症诊疗专家共识》中提出“HLA-B*1301 与氨苯砒、柳氮磺吡啶和复方磺胺甲噁唑诱发的药物超敏反应综合征及 SJS/TEN 相关”, 治疗前检测风险 HLA 基因可预防 SJS/TEN 等重症药物不良反应^[3]。

本试剂盒的检测结果仅供临床参考, 对患者个体化治疗的选择应结合其症状/体征、病史、其它实验室检查及治疗反应等情况综合考虑, 不能以本试剂盒检测结果作为临床是否用药的唯一依据。

【检验原理】

本试剂盒采用实时荧光定量 PCR 方法结合水解探针技术, 对 HLA-B*1301 等位基因的两个特定区域进行特异性扩增, 通过扩增曲线和 Ct 值来判断该个体是否携带 HLA-B*1301 等位基因。

【主要组成成分】

产品组分	主要成分	装量
PCR 反应混合液 P1	P1 正、反向引物, dNTPs, 缓冲液	700 μ L
PCR 反应混合液 P2	P2 正、反向引物, dNTPs, 缓冲液	700 μ L
PCR 反应混合液 C	内参基因正、反向引物, dNTPs, 缓冲液	700 μ L
PCR 反应探针 P1	P1 荧光探针	60 μ L
PCR 反应探针 P2	P2 荧光探针	60 μ L
PCR 反应探针 C	内参基因荧光探针	60 μ L
Taq 酶	热启动 DNA 聚合酶	21 μ L
阳性对照	含有靶标基因片段的质粒	100 μ L
阴性对照	不含靶标基因片段的空载质粒	100 μ L

无核酸酶水	水	1600 μ L
-------	---	--------------

本试剂盒中不包含核酸提取所需试剂与耗材, 推荐使用如下核酸提取试剂: EasyPure Blood Genomic DNA Kit (北京全式金生物技术有限公司生产, 目录号: EE121)。

【储存条件及有效期】

本试剂盒于 $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 避光保存, 有效期为 12 个月。本试剂盒各组分反复冻融不宜超过 6 次。试剂盒在开瓶后, 有效期为 6 个月。

【适用仪器】

ABI 7500 实时荧光 PCR 仪

【样本要求】

1. 样本采用外周静脉血。采血时使用 EDTA 为抗凝剂的采血管。
2. 样本采集后应尽量在当天提取基因组 DNA; 若无法当天提取, 短期(30 天内)可保存于 $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$, 反复冻融不宜超过 2 次, 长期保存可置于 -70°C 以下, 但不宜超过 6 个月, 反复冻融不宜超过 3 次。
3. 提取完毕的 DNA 质量浓度应不低于 $10 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 。如提取后样本中 DNA 浓度高于 $150 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 时, 可以将提取后 DNA 进一步稀释至 $10\text{-}150 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 范围后使用。建议提取完毕后即时完成检测。若无法即时检测, DNA 提取物短期(30 天内)可保存于 $2\text{-}8^{\circ}\text{C}$, 长期(6 个月内)可保存于 $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$, 反复冻融不宜超过 3 次。

【检验方法】

1. HLA-B*1301 等位基因的检测:

为了保证 HLA-B*1301 等位基因的准确测定, 每一个样本必须进行两个该基因特异性片段 P1 和 P2 的检测; 为了监测样本 DNA 质量, 需要同时进行内参基因的检测。

2. 试剂的准备:

在室温下解冻各试剂组分(请勿将不同批次的试剂混用), 核算当次实验所需要的反应数(N), 并根据表 1 反应体系配制方法计算当次实验所需要的各种试剂量。

$$N = \text{阴性对照数} (1T) + \text{阳性对照数} (1T) + \text{误差预留量} (1T) + \text{样本数} (n)$$

表 1: 反应体系配制方法

试剂组分	P1 检测体系	P2 检测体系	内参基因检测体系
PCR 反应混合液 P1	12.5 μ L	-	-
PCR 反应混合液 P2	-	12.5 μ L	-
PCR 反应混合液 C	-	-	12.5 μ L
PCR 反应探针 P1	1.0 μ L	-	-
PCR 反应探针 P2	-	1.0 μ L	-
PCR 反应探针 C	-	-	1.0 μ L
Taq 酶	0.125 μ L	0.125 μ L	0.125 μ L
无核酸酶水	9.375 μ L	9.375 μ L	9.375 μ L
总体积	23 μ L	23 μ L	23 μ L

混合均匀后瞬时离心, 按 $23 \mu\text{L}/\text{管}$ 分装至对应 PCR 反应管中。

在 P1、P2 及内参 C 反应管对应 PCR 反应孔中, 按 $2 \mu\text{L}/\text{孔}$ 量加入对应样本 DNA 提取物、阴性对照或阳性对照。加样后反应管总反应体积为 $25 \mu\text{L}$ 。

要求每次实验中, 针对 P1、P2 及内参 C 反应管应独立设置阳性对照和阴性对照, 以监测 PCR 反应的有效性、是否有外源污染等。

3. 实时荧光 PCR 反应条件:

将各反应管放入定量 PCR 仪器的反应槽内, 按对应顺序设置阳性对照、阴性对照以及待测样

本，并设置反应体积和样本名称。同时选择荧光报告基团FAM和VIC，淬灭基团选择NFQ-MGB或None，参比荧光（Passive Reference）选择None。反应体积参数设置为25μL。

步骤	描述	反应温度	反应时长	循环数
1)	DNA 聚合酶激活	95℃	10 min	1
2)	DNA 变性	95℃	15 sec	40
3)	退火和延伸	62℃	1 min	

在步骤3)中，即62℃时采集荧光信号。基因片段P1检测通道：VIC；基因片段P2及内参基因检测通道：FAM。

【阳性判断值】

若样本中内参基因 Ct≤30	P1 Ct 与 P2 Ct 均≤30	阳性
	P1 Ct 与 P2 Ct 均 > 30 或无法测定 (undetermined)	阴性
	P1 Ct 或 P2 Ct 其中一个≤30，但扩增曲线为非指数扩增曲线，而另一个>30 或无法测定 (undetermined)。	阴性
	P1 Ct 或 P2 Ct 其中一个≤30，且扩增曲线为指数扩增曲线，而另一个>30 或无法测定 (undetermined)。	重新检测并判定；若重复结果与前次结果一致，可判定为阳性。
若样本中内参基因 Ct > 30 或无法测定 (undetermined)	PCR 反应受到抑制、模板 DNA 质量不合格或者所加模板 DNA 的量没有达到本试剂盒的检出限要求。	重新检测并判定；若重复结果仍不合格，则重新提取 DNA。

【检验结果的解释】

1. 分析条件设定：

直接读取检测结果。将基线（Base Line）的Start Cycle设定为5，将End Cycle设定为20，阈值（Threshold）设定，如下表所示。

荧光定量PCR系统	阈值	
	P1	P2和内参基因
ABI 7500 PCR System	3x10 ⁴	3x10 ⁴

2. 实验有效判定：

检测基因片段P1、P2和内参基因的阳性对照品扩增曲线呈指数扩增曲线，且Ct值均≤32；阴性对照品均未呈典型的指数扩增曲线，且Ct值均>32或无法测定(undetermined)。

3. 检测结果判读：

根据【阳性判断值】进行结果判读。

【检验方法的局限性】

1. 本试剂盒的检测结果仅供临床参考，对患者个体化治疗的选择应结合其症状/体征、病史、其它实验室检查及治疗反应等情况综合考虑，不能以本试剂盒检测结果作为临床是否用药的唯一依据。
2. 本检测结果仅可用于基因型别判断，药物的使用方式取决于临床医师的专业判断，不得以本检测结果作为唯一判断标准。
3. 不合理的样本采集、转运及处理，以及不当的试验操作和实验环境均有可能导致假阴性或假阳性结果。
4. 本试剂盒检测仅限于此说明书中规定的样本类型及检测系统。

【产品性能指标】

1. 外观：

试剂盒内外包装完整，外观清洁，无泄漏，无破损；标志、标签字迹清晰；试剂盒组分齐全，内附产品说明书。

2. 检出限：

本试剂盒最低检出限为5ng/μL。

3. 测量准确度：

检测10份企业阳性参考品，检测结果均为阳性。

4. 测量精密度：

重复检测企业精密度参考品PC01、PC02各10次，检测结果应均为阳性且CT值的变异系数（CV）≤5%。

5. 分析特异性：

检测10份企业阴性参考品，检测结果均为阴性。

6. 稳定性：

试剂盒置于-20±5℃避光保存至12个月，各项性能指标均应符合产品技术要求。

7. 干扰物质：

样本中内源性 & 药源性干扰物质不大于以下浓度时，试剂盒各项检测结果符合要求。血红素300g/L、甘油三酯6mmol/L、胆红素25 μmol/L、西替利嗪500μg/L、泼尼松90μg/L、克拉霉素5μg/mL、伊曲康唑4μg/mL、阿维A1000ng/mL、甲氨蝶呤30 μmol/L、氨苯砞4.82mg/L。

8. 临床试验：

本试剂盒在三家临床单位完成1317例样本的临床试验，与对比方法的阳性符合率为100%，阴性符合率为100%，总符合率为100%。

【注意事项】

1. 本试剂盒仅用于体外检测，使用前请仔细阅读说明书并严格按照说明书的要求进行操作。
2. 实验室管理应严格按照现行有效的临床基因扩增检验实验室管理规范执行，操作人员须接受并通过相关专业培训。
3. 荧光探针在储存、运输及使用过程中应注意全程避光。
4. 如因故中断实验，应重新操作以获得正确的结果。

【参考文献】

- [1]. 岳振华. 氨苯砞综合征风险因子的新发现[D].山东大学,2018.
- [2]. Zhang F-R et al. HLA-B*13:01 and the dapsone hypersensitivity syndrome.[J]. The New England journal of medicine, 2013, 369(17): 1620-8.
- [3]. 中华医学会皮肤性病学分会药物不良反应研究中心.Stevens-Johnson 综合征/中毒性表皮坏死松解症诊疗专家共识[J].中华皮肤科杂志,2021,54(05):376-381.

【基本信息】

注册人/生产企业名称：山东百骏生物科技有限公司
 住所：山东省烟台市经济技术开发区潮水文化路东电子工业园内
 电话：0535-5778988/6679385
 传真：0535-6858515
 电子邮箱：sdbjswkj@163.com
 网址：www.baijunshengwu.com
 售后服务单位名称：山东百骏生物科技有限公司
 生产地址：山东省烟台市经济技术开发区潮水文化路东电子工业园内
 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】