

受理号：CSZ2300184

# 体外诊断试剂产品注册技术审评报告

产品中文名称：寡糖链检测试剂盒（荧光毛细管电泳法）

产品管理类别：第三类

申请人名称：江苏先思达生物科技有限公司

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.....	5
三、临床评价概述.....	10
四、产品受益风险判定.....	11
综合评价意见.....	13

## 基本信息

### 一、申请人名称

江苏先思达生物科技有限公司

### 二、申请人住所

泰州市中国医药城口泰路东侧、新阳路北侧 G26 幢六层东

侧

### 三、生产地址

泰州市中国医药城口泰路东侧、新阳路北侧 G26 幢六层东

侧

## 技术审评概述

### 一、产品概述

#### (一) 产品主要组成成分

本试剂盒组分、规格及主要成分见下表。

序号	组分名称	规格/装量	主要成分	稀释液成分
1	G1	90 $\mu$ L $\times$ 1 瓶	十二烷基硫酸钠 (SDS)	NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> 溶液
2	G2	54 $\mu$ L $\times$ 1 瓶	糖苷酶 (糖酰胺酶)	糖酰胺酶 buffer (NP40)
3	G3A	18 $\mu$ L $\times$ 1 瓶	荧光标记物 (三磺酸三钠盐)	柠檬酸溶液
4	G3B	18 $\mu$ L $\times$ 1 瓶	有机物还原剂 (氰基硼氢化钠)	DMSO
5	G4	36 $\mu$ L $\times$ 1 瓶	糖苷外切酶 (唾液酸酶)	唾液酸酶 buffer (CaCl <sub>2</sub> 、NaAC 溶液)
6	GW	4000 $\mu$ L $\times$ 1 瓶	纯化水	/
7	阳性对照品	6 $\mu$ L $\times$ 1 瓶	寡糖 NGA2F (无半乳糖基 $\alpha$ -1,6 核心岩藻糖基化二天线 N-糖链)、寡糖 NA3 (半乳糖基化三天线 N-糖链)	/
8	空白对照品	6 $\mu$ L $\times$ 1 瓶	纯化水	/

注：不同批次试剂盒各组分不可混用。

#### (二) 产品预期用途

本试剂盒用于体外定性检测人血清样本中的九个寡糖链 (NGA2F、NGA2FB、NG1A2F 及其同分异构体、NA2、NA2F、NA2FB、NA3、NA3Fb)。

适用于临床上对乙肝肝硬化患者的原发性肝细胞癌的辅助诊断。本试剂盒检测结果阳性不作为原发性肝细胞癌临床确诊

的唯一依据，检测结果阴性也不能排除原发性肝细胞癌的可能。该检测不能作为原发性肝细胞癌确诊的依据，不宜用于普通人群的肿瘤筛查。

本试剂盒对于肝内胆管癌、混合型肝癌也有一定的阳性检出率。本试剂盒对于丙肝肝炎、丙肝肝硬化、丙肝肝癌、肝脓肿、转移性肝癌、食管癌、贲门癌、胃癌、肠癌和肺癌的检测特异性较低，这类疾病患者不适合采用本试剂盒进行检测。当检测结果为阳性时，临床医生需要对上述疾病进行综合考虑。

### **(三) 产品包装规格**

16 次测试/盒。

### **(四) 产品检验原理**

本产品用于乙肝肝硬化患者原发性肝细胞癌（HCC）的辅助诊断，其技术原理为，首先将人血清中的蛋白质变性，用糖酰胺酶对变性后的糖蛋白进行酶切释放寡糖链，用高灵敏度的荧光标记物三磺酸三钠盐标记寡糖链，进一步使用唾液酸酶酶切去除寡糖链上的唾液酸，最后，将荧光标记的寡糖链通过毛细管电泳仪进行分离，得到相应的寡糖链图谱。提取图谱中对应的九个寡糖链峰高值，输入至 XSD-HCC 函数，计算得到 G 值，最后根据阳性判断值判断样本的阴阳性。

## **二、临床前研究概述**

## **(一) 主要原材料**

### **1. 主要原材料的选择**

本试剂盒的主要原材料包括糖苷酶、荧光标记物、糖苷外切酶和寡糖。申请人对主要原材料进行了供应商的选择，通过功能性试验，筛选出合格供应商，制定了各主要原材料的技术要求和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**

企业参考品包括阴性参考品、阳性参考品、精密度参考品、批间差参考品、检测限参考品。

阴性参考品有 10 份，包括健康人样本、高血糖样本、乙肝肝炎病人样本、乙肝肝硬化病人样本及其他脏器恶性肿瘤病人样本。阳性参考品有 10 份，为乙肝肝硬化原发性肝细胞癌病人样本，包含不同 G 值水平。精密度参考品 3 份，包括阴性、阳性和临界阳性的浓度水平。检测限参考品 8 份，分别由不同的靶标寡糖配制组成。

本试剂盒设置了阳性对照品与空白对照品，其中阳性对照品由寡糖 NGA2F 和 NA3 配制组成，空白对照品为纯化水。

## **(二) 生产工艺及反应体系研究**

申请人通过功能性试验确定最佳的反应体系，包括：十二烷基硫酸钠反应时间、温度、加样量的研究；糖苷酶反应时间、

温度、加样量的研究；荧光标记物反应时间、温度、加样量的研究；有机物还原剂加样量的研究；糖苷外切酶反应时间、温度、加样量的研究。

申请人根据试剂盒中试剂及组件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

申请人提交的产品分析性能评估内容主要包括：准确度、精密度、检测限、分析特异性（交叉反应及干扰试验）等。

准确度研究中，申请人使用 3 批试剂盒在适用机型上对企业阴性、阳性参考品进行检测，符合率均为 100%。

在精密度研究中，申请人使用 3 批试剂盒在适用机型上对弱阳性和阴性样本进行精密度研究，分别对日内/日间（20 天）、批内/批间、室间、试验人员间、不同仪器之间的检测结果进行分析，结果显示弱阳性样本的结果均为阳性；阴性样本结果均为阴性。

在检测限研究中，申请人使用 3 批试剂盒检测不同浓度梯度的标准寡糖溶液样本，建立试剂盒的检测限，即分别对经标化的 8 份浓度均为 50pM 的企业检测限参考品（L1-L8）进行检测，检测结果均能检出对应峰。然后以 $\geq 95\%$ 阳性检出率作为标准，使用检测限参考品和临床阳性样本进行了检测限的验证，

结果通过。

在分析特异性研究中，申请人进行了干扰和交叉反应的研究。在干扰研究中，检测了常见的内源性干扰和外源性干扰，评价其对试剂盒检测结果的影响。结果为血清中添加如下浓度的干扰物质：甘油三酯（1500mg/dL）、胆红素（40mg/dL）、血红蛋白（2.0g/L）、DNA（77ng/ $\mu$ L）、RNA（475.2ng/ $\mu$ L）、蛋白质（白蛋白）（60  $\mu$ g/ $\mu$ L）、糖蛋白 MUC1（25 ng/mL）、糖蛋白 CA125（48IU/mL）、对乙酰氨基酚（50mg/L）、盐酸金刚烷胺（20mg/L）、阿莫西林（7.5mg/L）、护肝片（0.28g/L）、葡萄糖（30mmol/L）、蔗糖（30mmol/L）、果糖（30 mmol/L）、5000pM 的其他寡糖链（环糊精、 $\alpha$ -环糊精、唾液酸化路易斯寡糖-X），检测结果不受干扰。另外，本试剂盒检测结果不受类风湿因子（RF）阳性或抗核抗体（ANA）阳性的干扰。

在交叉反应研究中，结果显示本试剂盒对以下疾病的特异性为：糖尿病（n=30，特异性 100%）、肝血管瘤（n=35，特异性 91.43%）、酒精性肝病（n=48，特异性 81.25%）、药物性肝病（n=39，特异性 87.18%）、甲肝肝炎（n=27，特异性 92.59%）、乙肝肝炎（n=30，特异性 90.00%）、丁肝（n=11，特异性 90.91%）、戊肝肝炎（n=30，特异性 93.33%）、卵巢癌（n=34，特异性 91.18%）、前列腺癌（n=32，特异性 87.50%）、乳腺癌（n=30，特异性 86.67%）。



肝囊肿 (n=46, 特异性 71.74%)。

本试剂盒对以下恶性肿瘤的特异性较低: 食管癌 (n=57, 特异性 75.44%)、贲门癌 (n=80, 特异性 76.25%)、胃癌 (n=60, 特异性 78.33%)、肠癌 (n=45, 特异性 71.11%) 和肺癌 (n=34, 特异性 76.47%)。这些疾病患者不适合采用本试剂盒进行检测。

本试剂盒对以下肝脏良性疾病的特异性较低: 丙肝肝炎 (n=143, 特异性 59.44%)、丙肝肝硬化 (n=46, 特异性 36.96%)、丙肝肝癌 (n=76, 特异性 30.26%)、肝脓肿 (n=31, 特异性 25.81%)、转移性肝癌 (n=46, 特异性 50.00%)。这些疾病患者不适合采用本试剂盒进行检测。

#### (四) 阳性判断值研究

本研究分为阳性判断值建立和验证两部分。在阳性判断值建立阶段纳入 1068 例患者样本, 包括正常健康人、乙肝肝炎、乙肝肝硬化和乙肝肝癌。采用 ROC 受试者工作特征曲线法确定试剂盒的阳性判断值。在阳性判断值验证阶段, 纳入 2381 例患者样本, 包括乙肝肝炎、乙肝肝硬化、乙肝肝癌、其他肝脏良性疾病 (丙肝肝硬化、酒精性肝硬化、药物性肝硬化)、其他病毒性肝炎 (甲型肝炎、丙型肝炎、戊型肝炎)、其他类型肝癌 (丙肝肝癌、混合型肝癌、肝内胆管癌和转移性肝癌)、其他脏器恶性肿瘤等, 最终确认了本产品对于乙肝肝硬化患者的原发性肝

细胞癌的阳性判断值（G 值）为 5。

### （五）稳定性研究

申请人对该试剂盒的稳定性研究包括实时稳定性、运输稳定性、使用稳定性及样本稳定性。

实时稳定性：将三批试剂盒置于 2<sup>-</sup>8℃ 冷藏箱中保存，在第 0、3、6、9、12、15 个月取样检测，按照产品技术要求进行性能评估。结果表明本试剂盒保存于 2<sup>-</sup>8℃ 条件下，有效期为 12 个月。

此外，申请人对试剂盒的运输稳定性、使用稳定性及样本稳定性分别进行了研究。结果显示，产品的性能均能满足产品说明书的声称。

## 三、临床评价概述

申请人在首都医科大学附属北京佑安医院、北京清华长庚医院、青岛大学附属医院、天津市第二人民医院、南阳市第一人民医院、石家庄第五医院共六家临床试验机构进行临床试验，采用试验体外诊断试剂与肝细胞癌诊断的临床参考标准进行比较研究，确认产品的临床性能。

共纳入病例共 1514 例，其中适用人群乙肝肝硬化病例共 789 例（包括 HCC 病例 288 例，乙肝肝硬化 501 例），HCC 病例组覆盖不同分期 HCC 病例以及不同病因的 HCC 病例；其他类型

肝癌、酒精性肝硬化、其他良性肝部疾病、病毒性肝炎、其他恶性肿瘤等干扰病例共 706 例。

试验结果显示：针对所有入组的 1514 例病例，本产品针对 HCC 病例的临床灵敏度为 88.54% (95%CI: 84.34%, 91.72%)，针对非肝癌病例的临床特异度 91.02% (95%CI: 89.12%, 92.62%)。针对入组的预期人群 789 例乙肝肝硬化患者，本产品针对 HCC 病例的临床灵敏度为 88.54% (95%CI: 84.34%, 91.72%)，针对非肝癌病例的临床特异度 95.21% (95%CI: 92.97%, 96.76%)。其中针对早期 HCC 病例 147 例，临床灵敏度 87.76% (95%CI: 81.47%, 92.11%)，中期 HCC 病例 51 例，临床灵敏度 86.27% (95%CI: 74.28%, 93.19%)，晚期 HCC 病例 85 例，临床灵敏度 90.59% (95%CI: 82.51%, 95.15%)。

综上所述，申报产品对乙肝肝硬化患者人群的原发性肝细胞癌的辅助诊断具有良好的灵敏度和特异度，能够满足临床使用需求。

#### **四、产品受益风险判定**

申请人参照 YY/T0316-2016《医疗器械 风险管理对医疗器械的应用》对医疗器械产品的安全风险分析方式，对寡糖链检测试剂盒（荧光毛细管电泳法）进行风险分析。

##### **(一) 受益评估**

本产品适用于临床上乙肝肝硬化患者原发性肝癌的辅助诊断，检测结果不能作为临床诊断的唯一依据，临床医生应结合患者病情及其他指标等情况综合判断。其临床应用的主要受益在于可以为乙肝肝硬化患者的原发性肝癌的辅助诊断提供多一种非侵入性检测方法。

## （二）风险评估

本产品已知和可预见的风险主要有以下几个方面：

1. 与预期用途有关的风险：检测结果阳性不作为原发性肝癌临床确诊的唯一依据，检测结果阴性也不能排除原发性肝癌的可能。该检测不能作为原发性肝癌早期诊断或确诊的依据，不宜用于普通人群的肿瘤筛查。

2. 临床前研究及临床试验结果表明，本试剂盒对于丙型肝炎、丙肝肝硬化、丙肝肝癌、肝脓肿、转移性肝癌、食管癌、贲门癌、胃癌、肠癌和肺癌的检测特异性较低，这类疾病不适用于本试剂盒。对于肝内胆管癌、混合型肝癌也有一定的阳性检出率。当检测结果为阳性时，临床医生需要对上述疾病进行综合考虑。

## 综合评价意见

本申报项目为境内第三类体外诊断试剂产品注册，属于创新医疗器械（创新审查受理号：CQTS1800089）。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，经对申请人提交的注册申报资料进行系统评价，申报产品符合安全性、有效性的要求，符合现有认知水平，建议准予注册。

2024 年 4 月 3 日

附件：产品说明书

## 寡糖链检测试剂盒（荧光毛细管电泳法）

### 说明书

#### 【产品名称】

通用名称：寡糖链检测试剂盒（荧光毛细管电泳法）

#### 【包装规格】

16 次测试/盒

#### 【预期用途】

本试剂盒用于体外定性检测人血清样本中的九个寡糖链（NGA2F、NGA2FB、NG1A2F 及其同分异构体、NA2、NA2F、NA2FB、NA3、NA3Fb）。

适用于临床上对乙肝肝硬化患者的原发性肝细胞癌的辅助诊断。本试剂盒检测结果阳性不作为原发性肝细胞癌临床确诊的唯一依据，检测结果阴性也不能排除原发性肝细胞癌的可能。该检测不能作为原发性肝细胞癌确诊的依据，不宜用于普通人群的肿瘤筛查。

人体血液中的糖蛋白主要由肝脏合成，其合成代谢与肝脏的功能密切相关。研究表明，原发性肝细胞癌（HCC）患者中血清糖蛋白的寡糖链发生改变<sup>1-4</sup>。与乙肝肝炎患者、乙肝肝硬化患者和健康人相比，乙肝相关的 HCC 患者血清中的 NA2FB（无半乳糖基  $\alpha$ -1,6 核心岩藻糖基化平分型二天线 N-糖链）和 NA3Fb（半乳糖基化  $\alpha$ -1,3 分支岩藻糖基化三天线 N-糖链）的含量具有显著差异<sup>5</sup>。除此之外，NGA2F（无半乳糖基  $\alpha$ -1,6 核心岩藻糖基化二天线 N-糖链）、NGA2FB（无半乳糖基  $\alpha$ -1,6 核心岩藻糖基化平分型二天线 N-糖链）、NG1A2F（单支链半乳糖基  $\alpha$ -1,6 核心岩藻糖基化二天线 N-糖链）及其同分异构体、NA2（半乳糖基化二天线 N-糖链）、NA2F（半乳糖基化  $\alpha$ -1,6 核心岩藻糖基化二天线 N-糖链）和 NA3（半乳糖基化三天线 N-糖链）也与乙肝背景的 HCC 密切相关<sup>6-7</sup>。

本试剂盒对于肝内胆管癌、混合型肝癌也有一定的阳性检出率。本试剂盒对于丙肝肝炎、丙肝肝硬化、丙肝肝癌、肝脓肿、转移性肝癌、食管癌、贲门癌、胃癌、肠癌和肺癌的检测特异性较低，这类疾病不适用于本试剂盒。当检测结果为阳性时，

临床医生需要对上述疾病进行综合考虑。

### 【检验原理】

本产品用于乙肝肝硬化患者原发性肝细胞癌（HCC）的辅助诊断，其技术原理为，首先将人血清中的蛋白质变性，用糖酰胺酶对变性后的糖蛋白进行酶切释放寡糖链，用高灵敏度的荧光标记物三磷酸三钠盐（APTS）标记寡糖链，进一步使用唾液酸酶酶切去除寡糖链上的唾液酸，最后，将荧光标记的寡糖链通过毛细管电泳仪进行分离，得到相应的寡糖链图谱。提取图谱中对应的九个寡糖链峰高值，输入至XSD-HCC函数，计算得到G值，最后根据阳性判断值判断样本的阴阳性。

### 【主要组成成分】

本试剂盒由 G1、G2、G3A、G3B、G4、GW、阳性对照品和空白对照品组成。试剂盒组分、规格及主要成分见表 1：

表 1 主要组成成分表

序号	组分名称	规格/装量	主要成分	稀释液成分
1	G1	90 $\mu$ L $\times$ 1 瓶	十二烷基硫酸钠（SDS）	NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> 溶液
2	G2	54 $\mu$ L $\times$ 1 瓶	糖苷酶（糖酰胺酶）	糖酰胺酶 buffer (NP40)
3	G3A	18 $\mu$ L $\times$ 1 瓶	荧光标记物（三磷酸三钠盐）	柠檬酸溶液
4	G3B	18 $\mu$ L $\times$ 1 瓶	有机物还原剂（氰基硼氢化钠）	DMSO
5	G4	36 $\mu$ L $\times$ 1 瓶	糖苷外切酶（唾液酸酶）	唾液酸酶 buffer (CaCl <sub>2</sub> 、 NaAC 溶液)
6	GW	4000 $\mu$ L $\times$ 1 瓶	纯化水	/
7	阳性对照品	6 $\mu$ L $\times$ 1 瓶	寡糖 NGA2F(无半乳糖基 $\alpha$ -1,6 核心岩藻糖基化二天线 N-糖链)、寡糖 NA3(半乳糖基化三天线 N-糖链)	/
8	空白对照品	6 $\mu$ L $\times$ 1 瓶	纯化水	/

注：① 不同批次试剂盒不可混用；不可混用其他厂家试剂。

② 阳性/空白对照品使用次数不超过 3 次/盒。

③ 本试剂盒不包含配套使用软件：寡糖链检测试剂盒（荧光毛细管电泳法）计算软件（版本号：1.0，包含 XSD-HCC 函数；厂家：江苏先思达生物科技有限公司）。

### 【储存条件及有效期】

1. 本试剂盒置于 2~8℃ 条件下储存，有效期为 12 个月。
2. 首次开封后在 2~8℃ 条件下储存，有效期为 7 天。
3. 生产日期及使用期限见产品标签。

### 【适用仪器】

生命科技控股私人有限公司（Life Technologies Holdings Pte Ltd）生产的基因分析仪（Genetic Analyzer），型号为 3500 Dx。

### 【样本要求】

1. 适用样本类型：人血清。
2. 样本采集要求：静脉采血后分离并取上层血清，转移至新的离心管备用。
3. 样本保存条件：2~8℃ 保存不超过 7 天，-20±5℃ 保存不超过 5 年，反复冻融不得超过 3 次。

### 【检验方法】

#### 1. 实验前准备

- (1) 检查 G1 试剂是否完全溶解：如发现 G1 试剂出现晶体析出，需置于室温环境至晶体消失后使用；
- (2) 新鲜配制 G3 试剂：G3 试剂需要在实验前按照 G3A:G3B=1:1 比例新鲜配制。每个测试 G3 试剂用量为 2μL（例如进行 8 次测试，需配制 16μL G3 试剂，即 8μL G3A 和 8μL G3B 混匀即可使用）。

#### 2. 实验步骤

##### 步骤 1:

- (1) 在 Eppendorf 管（EP1）中加入 2μL 待测样本（或阳性对照品、或空白对照品）；
- (2) 继续在 EP1 中加入 5μL 的 G1，充分混匀后，95℃ 放置 5 分钟，然后冷却到 4℃；
- (3) 继续在 EP1 中加入 3μL 的 G2，充分混匀后，37℃ 放置 3 小时，然后加入



50 $\mu$ L 的 GW，充分混匀后，室温静置 1 分钟。

#### 步骤 2:

(1) 从 EP1 管中取出 10 $\mu$ L 的反应产物，加入到新的 Eppendorf 管 (EP2) 中，60 $^{\circ}$ C 干燥 90 分钟；

(2) 在干燥后的 EP2 管中加入 2 $\mu$ L 新鲜配置的 G3，充分混匀后，90 $^{\circ}$ C 放置 2 小时，然后加入 100 $\mu$ L 的 GW，充分混匀后，室温静置 1 分钟。

#### 步骤 3:

(1) 从 EP2 管中取出 2 $\mu$ L 的反应产物，加入到新的 Eppendorf 管 (EP3) 中；

(2) 继续在 EP3 中加入 2 $\mu$ L 的 G4，充分混匀后，42 $^{\circ}$ C 放置 4 小时，然后加入 40 $\mu$ L 的 GW，充分混匀后，室温静置 1 分钟。

#### 步骤 4:

(1) 从 EP3 管中取出 10 $\mu$ L 的反应产物，移入到 3500 Dx 分析仪专用的 96 孔板中，将 96 孔板放入 3500 Dx 分析仪，按照分析仪使用说明书，选择片段分析方法，依次进行运行程序参数设置 (炉温 60 $^{\circ}$ C、运行电压 19.5kv、预跑电压 15kv、进样电压 1.6kv、进样时间 60s、尺寸标准 None、分析范围 2600-5500)，完成参数设置后，点击 Start Run 开始运行；

(2) 运行结束后，得到寡糖链图谱，如图 1 所示：

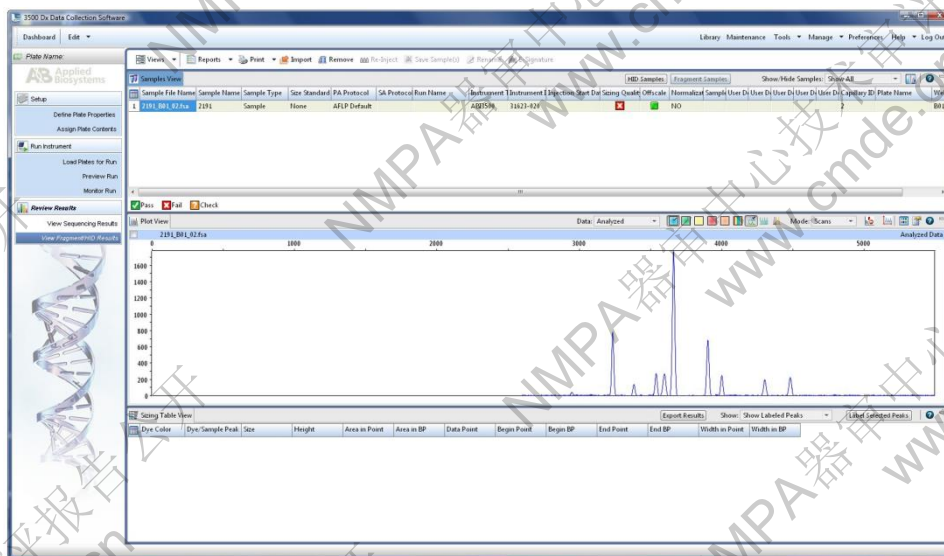


图 1 ABI 3500Dx 界面效果图

### 步骤 5:

按照 3500 Dx 分析仪使用说明书提取寡糖链图谱中九个寡糖的峰高值,在 R 语言环境下,将寡糖链图谱中的九个寡糖的峰高值输入到 XSD-HCC 函数进行计算,得到 G 值。

### 3. 质量控制

(1) 阳性对照品、空白对照品与血清样本的实验操作步骤相同。

(2) 阳性对照品由两个寡糖 (NGA2F 和 NA3) 配制而成。阳性对照品的寡糖链图谱中,第一个峰对应寡糖 NGA2F,定义为 M;第二个峰对应寡糖 NA3,定义为 N;两者的峰高比值  $M/N$  就是阳性对照品的靶值。当  $M/N$  的比值大于 5 时,检测结果有效;当  $M/N$  的比值小于等于 5 时,检测结果无效,需查明原因,重新检测。

(3) 空白对照品的寡糖链图谱中不应出峰。如果图谱中有明显出峰,则检测结果无效,需查明原因,重新检测。

### 【阳性判断值】

样本检测结果 G 值的计算过程详述如下:

1. 样本经试剂盒检测后可获得对应的寡糖链图谱,然后提取图谱中 P1~P9 九个寡糖在该图谱中对应的峰高值 (响应值)。

2. 每个样本的 P1~P9 九个寡糖的峰高值,输入到 XSD-HCC 函数计算可获得该样本的 G 值。

3. 根据函数建立时最终设定 G 值的阳性判断值,当  $G \geq 5$ ,判断为阳性;当  $G < 5$ ,判断为阴性。

如需获得 G 值,必须同时满足以下两个条件:

(1) P1~P9 九个寡糖链必须在同一张图谱中同时存在;

(2) 输入 XSD-HCC 函数的数据必须同时包含 P1~P9 九个寡糖峰高值。

函数建立、阳性判断值的建立和确认详述如下:

以临床诊断为标准,阳性判断值研究纳入临床样本 3449 例,其中 862 例样本用于函数建立,206 例样本用于阳性判断值的建立,2381 例样本用于阳性判断值的确认。

认。所有样本经本试剂盒检测，得到血清寡糖链图谱。

如图 2 所示，血清寡糖链图谱中显示的九个峰（P1~P9），分别对应不同的寡糖链。在图谱中每个峰的 H（Height）即寡糖链的峰高值，代表寡糖链的相对荧光强度；D（Data Point）即寡糖链的出峰位置，代表寡糖链的迁移时间。寡糖链图谱中九个峰的名称和出峰位置见表 2。

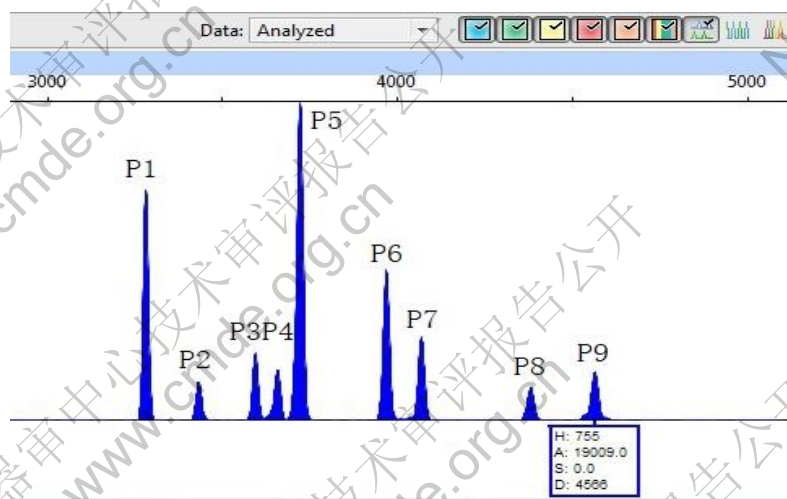


图 2 血清寡糖链图谱中九个寡糖峰示意图

表 2 寡糖链图谱中九个峰的名称和出峰位置

寡糖链图谱	寡糖链名称	出峰位置（Data Point）
峰 1（P1）	NGA2F	2934~3362
峰 2（P2）	NGA2FB	3070~3516
峰 3（P3）	NG1A2F	3212~3683
峰 4（P4）	NG1A2F	3268~3747
峰 5（P5）	NA2	3330~3825
峰 6（P6）	NA2F	3543~4065
峰 7（P7）	NA2FB	3633~4167
峰 8（P8）	NA3	3905~4490
峰 9（P9）	NA3Fb	4073~4682

注：不同毛细管电泳设备的出峰位置会有细微差异。

采用 R 语言的决策树算法，输入训练集 862 例样本的寡糖链图谱中九个寡糖峰高值，计算峰高值的相对高度并作为变量。通过信息熵增益率确认了每个寡糖峰的权重，并进行了算法准确度（Bias）和算法明确度（Variance）之间的控制选择，确定最佳决策树算法，建立 XSD-HCC 函数，即用寡糖链图谱中的九个寡糖峰高值计

算得到 G 值。

将验证集 206 例样本的寡糖链图谱中九个寡糖峰高值数据，输入到 XSD-HCC 函数得到 G 值，结合临床诊断，构建特征工作曲线 ROC，根据约登指数最大的原则，建立试剂盒的阳性判断值为 5。

通过确认集 2381 例样本，最终确认试剂盒对于乙肝肝硬化患者的原发性肝细胞癌的阳性判断值为 5。

#### 【检验结果的解释】

1. 当 G 值  $\geq 5$  时，检验结果为阳性。
2. 当 G 值  $< 5$  时，检验结果为阴性。

#### 【检验方法的局限性】

1. 本试剂盒的检测结果仅供临床参考，不单独作为临床诊断依据。
2. 本试剂盒仅适用于乙肝肝硬化患者。不适用于丙肝相关疾病患者、肝脓肿、转移性肝癌的患者。
3. 本试剂盒对食管癌、贲门癌、胃癌、肠癌、肺癌、肝囊肿检测特异性相对较低。
4. 本试剂盒对肝内胆管癌、混合型肝癌有一定阳性检出率。
5. 由于本试剂盒的检测依赖于血清样本中的寡糖链，所以可能受样本采集过程、样本保存方式、患者个体因素（如其他疾病背景）的影响，血清的采集和保存应达到要求，否则将影响检测结果，不当的试验操作和实验环境均有可能影响检测结果。

#### 【产品性能指标】

- 1 外观：外包装盒应该完整无破损；试剂盒组分应齐全、完整，液体无渗漏；标签应清晰，易识别。
- 2 阴性参考品符合率：用本试剂盒对经标化的 10 份企业阴性参考品（N1~N10）进行检测，检测结果应均为阴性，寡糖图谱的峰特征需在对应范围内。
- 3 阳性参考品符合率：用本试剂盒对经标化的 10 份企业阳性参考品（P1~P10）

进行检测，检测结果应均为阳性，寡糖图谱的峰特征需在对应范围内。

- 4 检测限：用本试剂盒分别对经标化的 8 份浓度均为 50pM 的企业检测限参考品（L1~L8）进行检测，检测结果应均能检出对应峰。
- 5 精密度：用本试剂盒对经标化的 3 份企业精密度参考品（1 份阴性参考品、2 份阳性参考品）各检测 10 次，批内精密度变异系数（CV%）应不超过 12.0%。
- 6 批间差：用三批试剂盒分别对经标化的 3 份企业精密度参考品（1 份阴性参考品、2 份阳性参考品）各检测 10 次，批间精密度变异系数（CV%）应不超过 12.0%。
- 7 血清中添加如下浓度的干扰物质，检测结果不受干扰：甘油三酯（1500mg/dL）、胆红素（40mg/dL）、血红蛋白（2.0g/L）、DNA（77ng/ $\mu$ L）、RNA（475.2ng/ $\mu$ L）、蛋白质（白蛋白）（60  $\mu$ g/ $\mu$ L）、糖蛋白 MUC1（25 ng/mL）、糖蛋白 CA125（48IU/mL）、对乙酰氨基酚（50mg/L）、盐酸金刚烷胺（20mg/L）、阿莫西林（7.5mg/L）、护肝片（0.28g/L）、葡萄糖（30mmol/L）、蔗糖（30mmol/L）、果糖（30 mmol/L）、5000pM 的其他寡糖链（环糊精、 $\alpha$ -环糊精、唾液酸化路易斯寡糖-X）；本试剂盒检测结果不受类风湿因子（RF）阳性或抗核抗体（ANA）阳性的干扰。
- 8 特异性：
  - （1）本试剂盒对以下疾病的特异性为：糖尿病（n=30，特异性 100%）、肝血管瘤（n=35，特异性 91.43%）、酒精性肝病（n=48，特异性 81.25%）、药物性肝病（n=39，特异性 87.18%）、甲肝肝炎（n=27，特异性 92.59%）、乙肝肝炎（n=30，特异性 90.00%）、丁肝（n=11，特异性 90.91%）、戊肝肝炎（n=30，特异性 93.33%）、卵巢癌（n=34，特异性 91.18%）、前列腺癌（n=32，特异性 87.50%）、乳腺癌（n=30，特异性 86.67%）、肝囊肿（n=46，特异性 71.74%）。
  - （2）本试剂盒对以下恶性肿瘤的特异性较低：食管癌（n=57，特异性 75.44%）、贲门癌（n=80，特异性 76.25%）、胃癌（n=60，特异性 78.33%）、肠癌（n=45，特异性 71.11%）和肺癌（n=34，特异性 76.47%）。这些疾病患者不适合采用本试剂盒进行检测。

(3) 本试剂盒对以下肝脏良性疾病的特异性较低：丙肝肝炎 (n=143, 特异性 59.44%)、丙肝肝硬化 (n=46, 特异性 36.96%)、丙肝肝癌 (n=76, 特异性 30.26%)、肝脓肿 (n=31, 特异性 25.81%)、转移性肝癌 (n=46, 特异性 50.00%)。这些疾病患者不适合采用本试剂盒进行检测。

9 在 6 家临床试验机构进行了多中心研究, 共入组 1514 例受试者样本。使用本试剂盒进行检测, 以临床和/或病理诊断作为对比方法。临床试验结果显示, 本试剂盒在适用人群中对乙肝 HCC 检测的灵敏度为 88.54%, 特异性为 95.21%。

#### 【注意事项】

1. 实验室人员必须经过专业培训, 操作前应仔细阅读产品说明书, 严格按产品说明书的操作程序进行, 严格控制每步反应的时间和温度。
2. 试剂必须混匀离心后使用, 试剂开封后需储存于 2~8℃。
3. 应按照产品说明书要求妥善处理样本。
4. 所有样本和废弃物处理应符合《医疗废物管理条例》的要求。

#### 【参考文献】

1. Block T M, Comunale M A, Lowman M, et al. Use of targeted glycoproteomics to identify serum glycoproteins that correlate with liver cancer in woodchucks and humans. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(3):779-784.
2. Kamiyama T, Yokoo H, Furukawa JI, et al. Identification of novel serum biomarkers of hepatocellular carcinoma using glycomic analysis. Hepatology, 2013, 57(6):2314-2325.
3. Tsai TH, Wang M, Di Poto C, et al. LC-MS profiling of N-glycans derived from human serum samples for biomarker discovery in hepatocellular carcinoma. Journal of proteome research, 2014, 13(11):4859-4868.
4. Mehta A, Herrera H, Block T. Glycosylation and liver cancer. Advances in cancer research, 2015, 126:257-279.

5. Liu XE, Desmyter L, Gao CF, et al. N-glycomic changes in hepatocellular carcinoma patients with liver cirrhosis induced by hepatitis B virus. *Hepatology*, 2007, 46(5):1426-1435.
6. Fang M, Zhao YP, Zhou FG, et al. N-glycan based models improve diagnostic efficacies in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *International Journal of Cancer*, 2010, 127(1):148-159.
7. Huang C, Xu X, Wang M, et al. Serum N-glycan fingerprint helps to discriminate intrahepatic cholangiocarcinoma from hepatocellular carcinoma. *Electrophoresis*, 2021, 42(11):1187-1195.

#### 【基本信息】

注册人/生产企业名称：江苏先思达生物科技有限公司

住所：泰州市中国医药城口泰路东侧、新阳路北侧 G26 幢六层东侧

联系方式：0523-80580888

售后服务单位名称：江苏先思达生物科技有限公司

联系方式：0523-80580888

生产地址：泰州市中国医药城口泰路东侧、新阳路北侧 G26 幢六层东侧

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】