

受理号：CSZ2300316

体外诊断试剂产品注册技术审评报告

产品中文名称：人CDO1和CELF4基因甲基化检测试剂盒
(PCR-荧光探针法)

产品管理类别：第三类

申请人名称：北京起源聚禾生物科技有限公司

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..... | 9 |
| 四、 产品受益风险判定..... | 10 |
| 综合评价意见..... | 12 |

基本信息

一、申请人名称

北京起源聚禾生物科技有限公司

二、申请人住所

北京市大兴区中关村科技园区大兴生物医药产业基地华佗路 50 号院 5 号楼 4 层 401 室

三、生产地址

北京市大兴区中关村科技园区大兴生物医药产业基地华佗路 50 号院 6 号楼 4 层 A 区、北京市大兴区中关村科技园区大兴生物医药产业基地华佗路 50 号院 18 号楼 3 层

技术审评概述

一、产品概述

(一) 产品主要组成成分

产品试剂盒由以下组分组成，主要组成成分见下表。

表 1 试剂盒主要组成成分

| 序号 | 产品组成 | 主要成分 | 规格及装量 | |
|----|--------------------|--------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | | | 12 人份 | 24 人份 |
| 1 | 人 C1 和 C4 甲基化反应液 | Taq 酶、Mg ²⁺ 、dNTP 等 | 180 μ L \times 1 管 | 360 μ L \times 1 管 |
| 2 | 人 C1 和 C4 甲基化引探混合液 | 引物、探针 | 60 μ L \times 1 管 | 120 μ L \times 1 管 |
| 3 | 人 C1 和 C4 阳性质控品 | 含相关检测基因甲基化序列的质粒 | 30 μ L \times 1 管 | 60 μ L \times 1 管 |
| 4 | 人 C1 和 C4 阴性质控品 | 纯化水 | 30 μ L \times 1 管 | 60 μ L \times 1 管 |

注：不同批次之间同一组分不可相互替换。

(二) 产品预期用途

本试剂盒用于体外定性检测人宫颈脱落细胞 DNA 中 CDO1 和 CELF4 基因的甲基化水平。

临床上与超声等其他诊断方法联合用于疑似子宫内膜癌患者的辅助诊断。检测结果阳性不能作为肿瘤早期诊断或者确诊的依据，检测结果阴性也不能排除子宫内膜癌的可能。临床医生应该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。该检测不宜用于普通人群的肿瘤筛查。

DNA 甲基化是表观遗传学中的一种，是在 DNA 5' 端对胞嘧啶进行共价修饰，这种修饰通常与基因沉默相关。异常的甲基化在癌症的发生发展过程中起着重要作用。在以子宫内膜癌患者为对象的甲基化

研究中发现，CDO1 (Cysteine Dioxygenase Type 1) (简称 C1)和 CELF4 (CUGBP Elav-Like Family Member 4) (简称 C4)基因 CpG 岛的甲基化水平比正常人明显升高，即发生超甲基化现象。多个病理确诊的子宫内膜癌病理研究报告都表明可以通过检测人宫颈脱落细胞 DNA 中 C1 和 C4 基因的甲基化情况来识别是否发生子宫内膜病变。

(三) 产品包装规格

12 人份/盒、24 人份/盒。

(四) 产品检验原理

本检测试剂盒采用重亚硫酸盐转化技术和荧光定量 PCR 技术对基因的甲基化情况进行定性检测，具体如下：

重亚硫酸盐转化：将提取的宫颈脱落细胞 DNA 利用重亚硫酸盐转化，使未发生甲基化的胞嘧啶转变成尿嘧啶，而发生甲基化的胞嘧啶则不会发生转变；

荧光定量 PCR：利用特异性引物结合荧光探针技术，检测 DNA 样本中是否存在发生甲基化的位点。特异性引物能够选择性地扩增发生甲基化的基因，而荧光探针在 Taq 酶的作用下水解释放荧光，在实时荧光定量 PCR 仪上进行 DNA 样本的甲基化检测。

二、临床前研究概述

(一) 主要原材料

1. 主要原材料的选择

本产品主要原材料包括：甲基化反应液、引物和探针、菌液，均通过外购的方式获得。其中引物和探针由申请人自行设计，由合成公

司经过合成和纯化后获得；菌液基因序列由申请人自行设计，由合成公司负责合成提供。

申请人对主要原材料进行了供应商的选择，通过功能性实验筛选出合格供应商，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

包括阴性参考品、阳性参考品、精密度参考品以及最低检测限参考品。

阴性参考品9份，包括不同浓度CDO1和CELF4甲基化均为阴性的样本，其他常见甲基化基因阳性的样本以及含有内、外源性干扰物质样本。阳性参考品9份，包括不同浓度不同甲基化比例的CDO1单基因、CELF4单基因以及CDO1和CELF4双基因甲基化阳性的样本。精密度参考品3份，包括不同浓度不同甲基化比例的CDO1和CELF4双基因甲基化阳性样本以及CDO1和CELF4均为甲基化阴性的样本。最低检测限参考品3份，包括最低检出限水平CDO1单基因、CELF4单基因、CDO1和CELF4双基因甲基化阳性样本。

本产品设置了阴性质控品和阳性质控品各1管，阳性质控品为含相关检测基因甲基化序列的质粒，阴性质控品为纯化水，用于检测过程中的质量控制。

(二) 生产工艺及反应体系研究

申请人通过功能性实验，最终确定了最佳的生产工艺。

申请人通过比较宫腔内和宫颈取样样本检测结果的一致性和宫颈脱落细胞组织来源分析，确定申报产品的适用样本类型。

申请人通过对宫颈脱落细胞样本和转化后临床样本等的检测和功

能性试验确定了最终反应体系，研究包括：引物探针的浓度、反应液用量、样本用量、PCR反应加样体积、PCR反应条件、细胞保存液、宫颈采样拭子材质、核酸提取试剂盒和亚硫酸盐转化试剂盒的筛选和优化等。

（三）分析性能评估

本产品分析性能评估内容主要包括：准确度、精密度、最低检测限、分析特异性等。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，在适用机型上的性能评估资料。

准确性研究使用三批次试剂盒，对阳性参考品和阴性参考品进行检测，检测结果显示阳性参考品符合率、阴性参考品符合率均为 100%。同时使用若干临床样本对试剂盒准确性进行了研究，结果显示试剂盒检测结果与 Sanger 测序法结果一致，与临床诊断结果具有较高一致性。

精密度研究中，采用三批次试剂盒对阴性临床样本、弱阳性临床样本和阳性临床样本进行了连续 20 天的检测，统计其检测结果，并对批内、批间、日内、日间、不同操作者之间以及实验室间精密度等进行了评价。研究结果显示试剂盒对不同甲基化水平的临床样本检测结果的 Ct 值变异系数（CV）均不大于 5.0%。

最低检测限研究中，使用三批次试剂盒，采用阴性样本、阳性细胞系混合样本和不同甲基化比例临床样本，采用不同梯度的样本转化量进行检测，最终得出 CDO1 基因和 CELF4 基因最低检出甲基化比例为 5%，最低转化量为 200 ng。

分析特异性研究采用三批次试剂盒进行了交叉反应和干扰研究，交叉反应研究结果表明本试剂盒与常见甲基化基因无交叉反应，对目

标基因的同源基因无交叉反应。同时，本产品对 19 种人生殖道寄生微生物以及性传播疾病病原体（包括单纯疱疹病毒 II 型、梅毒螺旋体、解脲支原体、人型支原体、淋球菌、白色念珠菌、阴道毛滴虫、沙眼衣原体、阴道加德纳氏菌、短小芽孢杆菌、鲍曼不动杆菌、耻垢分枝杆菌、脆弱类杆菌、阴沟肠杆菌、粪肠球菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、甲型链球菌）均有良好的检测特异性。本产品对其他女性生殖道肿瘤宫颈癌和卵巢癌均具有良好的检测特异性。干扰实验研究结果显示，甲硝唑含量为 10 mg/ml、壬苯醇醚栓含量为 20 mg/ml、抗宫炎胶囊含量为 5 mg/ml、33% 的人体润滑液、血红蛋白 5 mg/ml、牛血清白蛋白 50 g/L 时，50% 宫颈粘液、白细胞含量为 1×10^6 cells/mL 时均不影响试剂盒对弱阳性样本和阴性样本的检测结果。申请人对 CDO1 基因和 CELF4 基因扩增区域进行 SNP 比对分析，结果显示所有 SNP 位点均为低频突变位点，对检测不产生潜在影响。

（四）阳性判断值研究

本产品阳性判断值的研究采用宫颈脱落细胞样本 937 例，其中包含对照组（子宫内膜不典型增生/上皮内瘤样病变、子宫良性样本、其他生殖道良恶性样本）共计 705 例，阳性组（子宫内膜癌）样本共计 232 例。以病理结果为金标准，采用 ROC 曲线法确定每个基因 ΔCt 值的阳性判断值。申请人对内参基因的范围进行了统计分析，并将内参基因 Ct 值范围确定为 < 32.2 。在内参基因符合要求的基础上，利用约登指数最大的原则确定每个基因的最佳阈值，确定 CDO1 基因 ΔCt 值的阳性判断值为 8.4，CELF4 基因 ΔCt 值的阳性判断值为 8.8。并对其结果进行了验证。

(五) 稳定性研究

申请人对本产品的实时稳定性、使用稳定性、运输稳定性等进行了研究，确定了在各种条件下试剂的有效保存时间。

实时稳定性研究：采用三批次试剂于 $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 条件下避光保存，分别在效期的第 0、3、6、8、9、10 个月进行阴性符合率、阳性符合率、检测限和精密度检测，均符合要求。确定试剂在 $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 条件下避光保存，可稳定保存 8 个月。

此外，申请人对产品的使用稳定性、运输稳定性和样本稳定性分别进行了研究。结果显示，产品的性能均能满足产品说明书的声称。

三、临床评价概述

申请人在中国医学科学院北京协和医院、复旦大学附属妇产科医院、中南大学湘雅三医院和浙江大学医学院附属妇产科医院共四家临床机构完成了临床试验。采用试验用体外诊断试剂与子宫内膜癌临床参考标准进行比较研究，对产品临床性能进行评价。入组病例为有子宫内膜癌相关症状/体征、临床需进一步检查的疑似子宫内膜癌初诊患者，以及经影像学等非侵入性方法无法决策是否进行宫腔镜检查的病例。样本类型为宫颈脱落细胞样本。临床试验共入组受试者 4818 例，其中临床参考方法确认子宫内膜癌病例 437 例，非子宫内膜癌病例 4381 例，其中不典型增生 190 例。临床确诊为子宫内膜癌的病例中包括 I 期 246 例，II 期 71 例，III 期 74 例，IV 期 46 例；入组病例包括 I 型子宫内膜癌病例 323 例，II 型子宫内膜癌病例 114 例；包括不同组织分型的病例，其中子宫内膜样癌 323 例，浆液性癌 36 例，透明细胞癌 27 例，混合型癌 29 例，癌肉瘤 22 例等。非子宫内膜癌病例包括子

官良性疾病 3991 例，其他生殖道肿瘤（宫颈癌和卵巢癌）104 例，其他生殖道良性疾病 96 例等。试验结果显示，本产品与临床参考标准相比，临床灵敏度为 94.51%（95%CI: 91.94%，96.45%），临床特异度为 94.16%（95%CI: 93.42%，94.83%）。针对子宫内膜样腺癌，灵敏度为 94.12%，针对其他病理类型的子宫内膜癌，灵敏度为 95.61%。针对 I 型子宫内膜癌，灵敏度为 94.12%。针对 II 型子宫内膜癌，灵敏度为 95.61%。针对不典型增生病例，灵敏度为 83.16%。

此外，临床试验还纳入 347 例疑似子宫内膜癌病例，采用试验体外诊断试剂与 Sanger 测序方法进行比较研究，确认本产品的临床检测性能。试验结果显示：针对 CDO1 基因，阳性病例共 195 例，阳性符合率为 100%（95%CI: 98.13%，100%），阴性符合率为 96.71%（95%CI: 92.49%，98.92%）；针对 CELF4 基因，阳性病例共 217 例，阳性符合率为 100%（95%CI: 98.31%，100%），阴性符合率为 96.92%（95%CI: 92.31%，99.16%）。上述结果显示两者之间具有良好的一致性，本产品临床检测性能满足要求。

综上所述，该产品临床试验符合技术审评要求。

四、产品受益风险判定

申报产品根据 GB/T 42062-2022 标准的要求、结合 YY/T 1437-2023 的指南的要求对人 CDO1 和 CELF4 基因甲基化检测试剂盒（PCR-荧光探针法）进行产品受益风险判定。

（一）受益评估

申报产品用于体外定性检测人宫颈脱落细胞 DNA 中 CDO1 和 CELF4 基因的甲基化水平。适用于与超声等其他诊断方法联合用于子

子宫内膜癌患者的辅助诊断。使患者多了一种无创性子宫内膜癌辅助诊断方法的选择。

(二) 风险评估

根据申请人提供的申报资料，经综合评价，在目前认知水平上，认为该产品上市带来的受益大于风险。但为保证用械安全，基于对主要剩余风险的规避，产品说明书明确局限性。

1.预期用途：本试剂盒用于体外定性检测人宫颈脱落细胞 DNA 中 CDO1 和 CELF4 基因的甲基化水平。

临床上与超声等其他诊断方法联合用于疑似子宫内膜癌患者的辅助诊断。检测结果阳性不能作为肿瘤早期诊断或者确诊的依据，检测结果阴性也不能排除子宫内膜癌的可能。临床医生应该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。该检测不宜用于普通人群的肿瘤筛查。

2.警示及注意事项：该试剂盒说明书中明确了该试剂盒检查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体外诊断试剂产品注册。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 12 月 16 日

附件：产品说明书

人 CDO1 和 CELF4 基因甲基化检测试剂盒 (PCR-荧光探针法)产品说明书

【产品名称】

通用名称：人 CDO1 和 CELF4 基因甲基化检测试剂盒(PCR-荧光探针法)

【包装规格】

12 人份盒、24 人份盒

【预期用途】

本试剂盒用于体外定性检测人宫颈脱落细胞 DNA 中 CDO1 和 CELF4 基因的甲基化水平。

临床上与超声等其他诊断方法联合用于疑似子宫内膜癌患者的辅助诊断。检测结果阳性不能作为肿瘤早期诊断或者确诊的依据，检测结果阴性也不能排除子宫内膜癌的可能。临床医生应该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。该检测不宜用于普通人群的肿瘤筛查。

DNA 甲基化是表观遗传学中的一种，是在 DNA 5'端对胞嘧啶进行共价修饰，这种修饰通常与基因沉默相关。异常的甲基化在癌症的发生发展过程中起着重要作用。在以子宫内膜癌患者为对象的甲基化研究中发现，CDO1 (Cysteine Dioxygenase Type 1) (简称 C1)和 CELF4 (CUGBP Elav-Like Family Member 4) (简称 C4)基因 CpG 岛的甲基化水平比正常人明显升高，即发生超甲基化现象。多个病理确诊的子宫内膜癌病理研究报告都表明可以通过检测人宫颈脱落细胞 DNA 中 C1 和 C4 基因的甲基化情况来识别是否发生子宫内膜病变。

【检验原理】

本检测试剂盒采用重亚硫酸盐转化技术和荧光定量 PCR 技术对基因的甲基化情况进行定性检测，具体如下：

重亚硫酸盐转化：将提取的宫颈脱落细胞 DNA 利用重亚硫酸盐转化，使未发生甲基化的胞嘧啶转变成尿嘧啶，而发生甲基化的胞嘧啶则不会发生转变；

荧光定量 PCR：利用特异性引物结合荧光探针技术，检测 DNA 样本中是否存在发生甲基化的位点。特异性引物能够选择性地扩增发生甲基化的基因，而荧光探针在 Taq 酶的作用下解释放荧光，在实时荧光定量 PCR 仪上进行 DNA 样本的甲基化检测。

【主要组成成分】

1、产品中包含的试剂组分

表 1 试剂盒主要组成成分

| 序号 | 产品组成 | 主要成分 | 规格及装量 | |
|----|--------------------|--------------------------------|-----------|-----------|
| | | | 12 人份 | 24 人份 |
| 1 | 人 C1 和 C4 甲基化反应液 | Taq 酶、Mg ²⁺ 、dNTP 等 | 180μL×1 管 | 360μL×1 管 |
| 2 | 人 C1 和 C4 甲基化引探混合液 | 引物、探针 | 60μL×1 管 | 120μL×1 管 |
| 3 | 人 C1 和 C4 阳性质控品 | 含相关检测基因甲基化序列的质粒 | 30μL×1 管 | 60μL×1 管 |
| 4 | 人 C1 和 C4 阴性质控品 | 纯化水 | 30μL×1 管 | 60μL×1 管 |

注 1：不同批次之间同一组分不可相互替换。

注 2：试剂盒以外必需的设备及材料

- 1) 荧光定量 PCR 仪
- 2) 生物安全柜
- 3) 一次性使用宫颈采样拭子、移液器及吸头
- 4) 离心管、离心机
- 5) PCR 反应管

2、需要但未提供的试剂

宁波华莱斯医疗器械有限公司生产的一次性使用宫颈采样拭子(浙械注准 20172181163) (A1 规格，刷杆由聚丙烯 (PP) 制成，刷头由聚乙烯 (PE) 制成)；豪洛捷公司的 PreservCyt®Solution 细胞保存液(国械备 20140197) 货号为 70098-004，体积 20mL；天根生化科技(北京)有限公司的血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒(离心柱型)(京

昌械备 20200061) (货号为 DP304) 和 Zymo Research 公司的 EZ-96 DNA Methylation-Lightning™ MagPrep (货号 D5046)。

【储存条件及有效期】

-20±5℃ 避光保存，有效期 8 个月。

开管后稳定保存不超过 2 个月，反复冻融次数不超过 3 次。

采用干冰密封运输，运输温度以及开箱温度范围在 -80℃~-15℃，运输时间不超过 5 天。到货后按照 -20±5℃ 条件下保存，产品可稳定保存至产品效期末。

生产日期和有效期至：见标签。

【适用仪器】

适用于 SLAN-96S 全自动医用 PCR 分析系统。

【样本要求】

1 检测样本类型：宫颈脱落细胞。

2 样本收集

采用一次性使用宫颈采样拭子 (A1 规格，刷杆由聚丙烯 (PP) 制成，刷头由聚乙烯 (PE) 制成) 采集宫颈脱落细胞，保存在含有细胞保存液的样本管中，在常温 (15℃-30℃) 下保存不超过 9 个月。

【检验方法】

1 样本处理

1.1 核酸提取：利用细胞 DNA 提取试剂盒进行宫颈脱落细胞 DNA 提取(推荐提取量为 2~3mL)，提取完毕后建议立即进行重亚硫酸盐转化。若提取的 DNA 不立即使用，可将其置于 -20±5℃ 储存不超过 9 个月，期间冻融不超过 3 次，推荐标准转化上样量为 1000ng，建议转化上样量不低于 200ng。

1.2 重亚硫酸盐转化：利用 DNA 重亚硫酸盐转化试剂盒处理提取后的核酸，转化完成的 DNA(Bis-DNA)建议立即进行 PCR 检测，若不立即使用，可将 Bis-DNA 置于 -20±5℃ 储存不超过 9 个月，期间冻融不超过 3 次。

2 试剂配制

2.1 提前将试剂盒各组分取出，室温融化，漩涡震荡 10 秒，2000rpm 离心 10 秒去除管壁上的液体。

2.2 试剂配制

2.2.1 待检测数为 n，所需要配制的反应数 N=待检测数(n)+1。计算加到反应混合物中的各个试剂的量，计算如下：

表 2 体系配制

| 试剂 | 人 C1 和 C4 甲基化反应液 | 人 C1 和 C4 甲基化引探混合液 |
|---------|------------------|--------------------|
| | 15×N | 5×N |
| 体积 (μL) | | |

2.2.2 取 1.5mL 离心管配制反应体系，试剂全部加入后漩涡震荡 10 秒，2000rpm 离心 10 秒去除管壁上的液体。

2.2.3 将上述反应液按 20μL/管分装到 PCR 反应管中。

3 加样

将转化完成的 Bis-DNA、阴性质控品和阳性质控品分别加样 5μL，然后小心盖上 PCR 反应管的管盖(避免气泡产生)，2000rpm 离心 10 秒，然后立即进行 PCR 扩增反应。

4 PCR 扩增程序设置

按下表设置仪器扩增相关参数并开始扩增。

表 3 PCR 扩增程序

| 序号 | 阶段 | 温度 | 时间 | 循环数 |
|----|---------|-----|-------|-----|
| 1 | 预变性 | 96℃ | 10 分钟 | 1 |
| 2 | 变性 | 94℃ | 15 秒 | 45 |
| | 退火 | 64℃ | 5 秒 | |
| | 延伸、荧光采集 | 60℃ | 30 秒 | |
| 3 | 仪器冷却 | 25℃ | 1 分钟 | 1 |

靶基因 CDO1: FAM 通道; 靶基因 CELF4: ROX 通道; 内标基因 GAPDH: HEX 通道 (或 VIC 通道)

5 质量控制

5.1 阴性质控品: 内标通道与靶基因通道检测均无 S 型扩增曲线或检测 Ct 值 >40。

5.2 阳性质控品: 内标通道与靶基因通道检测均有 S 型扩增曲线且 $25 \leq Ct \leq 31$ 。

以上两个条件必须在同一次实验中全部满足, 否则本次实验结果无效。

注: 扩增曲线不成标准 S 型曲线, 如无明显对数增长期或者是线性曲线导致扩增曲线与阈值线的交叉, 被认为是阴性结果。

【阳性判断值】

阈值的设定: 根据内标扩增曲线的拐点处为阈值线, 得到各反应管的 Ct 值。

各个反应管 FAM 通道 (基因 CDO1) 的 Ct 值为 CtC1, ROX 通道 (基因 CELF4) 的 Ct 值为 CtC4, HEX 通道 (内标基因 GAPDH) 的 Ct 值为 CtG。ΔCtC1 和 ΔCtC4 为相应的靶基因与 CtG 的差值。按照表 4 进行结果判定。

表 4 反应结果的判定

| | GAPDH | C1 和 C4 基因可能情况 | |
|----|------------|----------------|--|
| 阳性 | CtG < 32.2 | 情况 1 | C1 基因: ΔCtC1 ≤ 8.4 C4 基因: ΔCtC4 > 8.8 |
| | | 情况 2 | C1 基因: ΔCtC1 > 8.4 C4 基因: ΔCtC4 ≤ 8.8 |
| | | 情况 3 | C1 基因: ΔCtC1 ≤ 8.4 C4 基因: ΔCtC4 ≤ 8.8 |
| 阴性 | CtG < 32.2 | 情况 1 | C1 基因: ΔCtC1 > 8.4 C4 基因: ΔCtC4 > 8.8 |
| 无效 | CtG ≥ 32.2 | 不予判读 | |

注: 扩增曲线不成标准 S 型曲线, 如无明显对数增长期或者是线性曲线导致扩增曲线与阈值线的交叉, 被认为是无判读; 无判读的 Ct 值默认为 45。

【检验方法的局限性】

1. 本试剂盒仅用于临床辅助诊断, 不能以本试剂盒检测结果作为临床诊断的唯一根据。
2. 本试剂盒仅用于 C1 和 C4 基因甲基化的定性检测, 无法判断甲基化发生程度。
3. 由于肿瘤检测依赖于样品中肿瘤 DNA 的量, 所以可能受样品收集过程、样品储存方式、病人个体因素以及肿瘤级别影响。因此宫颈脱落细胞的采集、细胞 DNA 制备和储存均应按照要求进行, 否则可能导致错误的检测结果。
4. 由于扩增的初始靶 DNA 含量较低, 并且反应循环数较多。故应尽量避免检测环境的污染而产生假阳性信号。

【产品性能指标】

1 准确度

1.1 阴性符合率: 检测 9 份阴性参考品 N1~N9, 检测结果均为阴性。

1.2 阳性符合率: 检测 9 份阳性参考品 P1~P9, 检测结果均为对应的阳性。

2 检测限

检测 3 份最低检测限参考品 L1~L3, 分别重复 3 次, 检测结果均为对应的阳性。

研究结果表明, 检测限为 60808 copies/μL 野生型 DNA 背景下 5% 的 CDO1 基因或 CELF4 基因的甲基化 DNA。

3 精密度

3.1 检测 3 份精密度参考品 J1~J3, 分别做 10 次重复, 检测结果 J1 和 J2 均为对应的阳性, 检测结果 J3 均为阴性, 且靶基因 Ct 值的变异系数(CV)均 ≤ 5.0%。

3.2 使用试剂盒检测不同浓度和不同甲基化比例的中强阳性、弱阳性以及阴性临床样本, 连续 20 天由不同实验员、不同实验室进行检测的日内、日间、批内、批间、人员、室间以及总不精密度的 CV 值均 ≤ 5%。

4 分析特异性

4.1 交叉研究: 本试剂盒与 SDC2、TFPI2、RNF180、Septin9、SHOX2、PTGER4 和 RASSF1A 常见甲基化基因无交叉反应。同时, 本试剂盒对 19 种人生殖道寄生微生物以及性传播疾病病原体 (包括单纯疱疹病毒 II 型、梅毒螺旋体、解脲支原体、人型支原体、淋球菌、白色念珠菌、阴道毛滴虫、沙眼衣原体、阴道加德纳氏菌、短小芽孢杆菌、鲍曼不动杆菌、耻垢分枝杆菌、脆弱类杆菌、阴沟肠杆菌、粪肠球菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、甲型链球菌) 均有良好的检测特异性。本试剂盒对其他女性生殖道肿瘤宫颈腺癌和卵巢癌均具有良好的检测特异性。

4.2 干扰研究: 甲硝唑含量为 10mg/ml、壬苯醇醚含量为 20mg/ml、抗宫炎胶囊含量为 5mg/ml、33% 的人体润滑液、血红蛋白 5mg/ml、牛血清白蛋白 50g/L 时, 50% 宫颈粘液、白细胞含量为 1×10^6 cells/mL 时均不影响试剂盒对弱阳性样本和阴性样本的检测结果。

5. 临床试验结果: 在 4 家临床试验机构进行临床试验, 共纳入 4818 例临床样本。考核试剂与组织病理学金标准相比, 在子宫内膜癌中的检测灵敏度为 94.51%, 临床特异性为 94.16%; 在 EIN/AH 中的检测灵敏度为 83.16%, 临床特异性为 97.66%。

【注意事项】

1. 本产品仅用于体外诊断, 使用前请仔细阅读本说明书。
2. 实验室管理应严格按照 PCR 基因扩增实验室的管理规范, 实验过程分区进行 (试剂准备区、样本处理区、扩增区), 实验操作的每个阶段使用专用的仪器和设备, 各区用品不能交叉使用。
3. 实验操作人员应接受过基因扩增或分子生物学方法检测的专业培训, 具备相关的实验操作资格, 实验室应具备合理的生物安全防护设施及防护程序。
4. 样本处理在生物安全柜内进行操作, 防止污染环境和保护操作者。因操作易发生污染, 宜采用带滤芯枪头, 以免发生交叉污染。
5. 实验后的废弃物, 如吸头、扩增产物等需进行无害化处理后方可丢弃。
6. 实验完毕后使用 10% 次氯酸或 75% 乙醇处理操作台面和移液器、离心机、PCR 仪等仪器表面, 然后紫外灯照射 25~30 分钟。
7. 不同批次之间同一组分不可相互替换, 请在有效期内使用本试剂盒, 不使用本试剂盒中的组分进行实验可能会导致错误的结果。

【参考文献】

- [1] 《体外诊断试剂注册与备案管理办法》
- [2] 《体外诊断试剂说明书编写指导原则》
- [3] Integrated Epigenomics Analysis Reveals a DNA Methylation Panel for Endometrial Cancer Detection Using Cervical Scrapings, Clin Cancer Res. 2017 Jan 1;23(1):263-272.
- [4] Combined genetic mutations and DNA-methylated genes as biomarkers for endometrial cancer detection from cervical scrapings, Clinical Epigenetics. 2019.

【基本信息】

注册人/生产企业名称: 北京起源聚禾生物科技有限公司

住所: 北京市大兴区中关村科技园区大兴生物医药产业基地华佗路 50 号院 5 号楼 4 层 401 室

联系方式:

售后服务单位:

联系方式:

生产地址: 北京市大兴区中关村科技园区大兴生物医药产业基地华佗路 50 号院 6 号楼 4 层 A 区, 北京市大兴区中关村科技园区大兴生物医药产业基地华佗路 50 号院 18 号楼 3 层

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】