

受理号：CSZ2500160

体外诊断试剂产品注册技术审评报告

产品中文名称：人类 c-Met 基因扩增检测试剂盒（荧光原位杂交法）

产品管理类别： 第三类

申请人名称： 厦门艾德生物医药科技股份有限公司

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.....	10
四、产品受益风险判定.....	12
综合评价意见.....	15

基本信息

一、申请人名称

厦门艾德生物医药科技股份有限公司

二、申请人住所

厦门市海沧区鼎山路 39 号

三、生产地址

厦门市海沧区鼎山路 39 号

技术审评概述

一、产品概述

（一）产品主要组成成分

检测试剂由 1 管 LSP c-Met/CSP7 探针和 1 管 DAPI 复染液 II 组成，具体见表 1。

表 1 人类 c-Met 基因扩增检测试剂盒组成

组分名称	组成成分	体积
LSP c-Met/CSP7 探针	c-Met 探针、CSP7 探针、Cot-1 DNA、 2 × SSC、去离子甲酰胺、硫酸葡聚糖	100μL
DAPI 复染液 II	4',6-二脒基-2-苯基吲哚、对苯二胺、丙 三醇、PBS 缓冲液、碳酸盐缓冲液	900μL

说明：不同批号试剂盒中各组分在有效期内不可互换使用。

（二）产品预期用途

本试剂盒用于体外定性检测经 10% 中性缓冲福尔马林固定石蜡包埋（FFPE）的非小细胞肺癌组织切片中 c-Met 基因扩增情况，辅助鉴别可使用赛沃替尼（Savolitinib）治疗的非小细胞肺癌患者，用作赛沃替尼（Savolitinib）的伴随诊断。伴随诊断适应症及具体适用人群见表 2。

表 2 伴随诊断适应症及适用人群

肿瘤适应症	c-Met 扩增状态	适用人群
-------	------------	------

非小细胞肺癌	阳性： c-Met 基因信号数平均值 $\geq$ 5.0	经一或二代 EGFR-TKI 治疗进展后的患者
	强阳性： c-Met 基因信号数平均值 $\geq$ 10.0	经三代 EGFR-TKI 治疗进展后的患者

本试剂盒针对 c-Met 基因扩增的检测性能进行验证，检测结果仅供临床参考，不应作为诊治的唯一依据，临床医生应结合患者病情、药物适应症、治疗反应及其它实验室检测指标等因素对检测结果进行综合判断。

（三）产品包装规格

10 测试/盒。

（四）产品检验原理

本试剂盒基于荧光原位杂交原理，采用双荧光探针技术，用荧光标记的 DNA 作为探针（c-Met 探针用红色荧光染料 Cy3 标记，显示为红色荧光信号，7 号染色体着丝粒 CSP7 探针用绿色荧光染料标记，显示为绿色荧光信号），与经过一系列预处理的待检组织切片样本在高温下共变性成单链，经降温退火，按照碱基互补配对的原则，c-Met 探针与样本中的 c-Met 基因，CSP7 探针与 7 号染色体着丝粒进行特异性结合，形成可被检测的杂交双链 DNA，洗涤非特异性杂交后，使用 DAPI 复染液复染细胞核，由于探针上带有不同颜色的荧光标记，可在配备合适滤光片的荧光显微镜下观察和记录肿瘤细胞核中两种颜色荧光信

号的数量,统计红色信号总数(c-Met)和绿色信号总数(CSP7),计算 c-Met 基因信号数平均值和 c-Met/CSP7 比值,以此来判断待检样本中 c-Met 基因是否发生扩增,从而实现对样本 c-Met 基因扩增状态的检测。

二、临床前研究概述

(一) 主要原材料

1.主要原材料的选择

本产品的主要原材料包括用于探针制备的 DNA 文库、引物、荧光染料、酶、dNTPs, Cot-1 DNA, DAPI 等,均为外购方式获得,其中 DNA 文库序列由申请人自行设计,委托专业的合成公司合成。通过关键原材料的筛选与适用性研究,申请人确定了原材料和生产商,同时制定了各主要原材料质量标准并经检验合格。

2.企业参考品和质控品设置情况

本产品企业参考品包括阳性参考品、阴性参考品和中期分裂相细胞参考品。其中中期分裂相细胞参考品,通过体外培养获得,其余为非小细胞肺癌(NSCLC) FFPE 样本。

本产品于说明书中明确了质量控制方案,包括病理质控步骤,内、外对照质控步骤以及外对照质控片的性质、细胞系选择建议、质控品的制备方法等,以确保检测结果的准确性。

（二）生产工艺及反应体系研究

申请人对 FFPE 样本处理条件、反应体系中的探针用量、Cot-1 DNA 用量、蛋白酶消化、杂交条件等核心条件进行优化和验证，并通过功能性实验，确定了最佳的反应体系。

申请人通过对试剂主要生产工艺，包括探针标记和纯化、Human Cot-1 DNA 用量等生产工艺研究，确定了最佳生产工艺。

（三）分析性能评估

分析性能评估内容包括：探针信号强度、分析特异性、灵敏度、准确度、精密度。

1. 探针信号强度

使用 3 批试剂检测 6 例中期分裂相细胞样本、24 例非小细胞肺癌 FFPE 样本和 20 例肺部良性疾病组织 FFPE 样本，结果显示，所有样本均发出可被肉眼识别的红色荧光信号和绿色荧光信号，符合产品性能要求。

2. 分析特异性

使用 3 批试剂检测 6 例中期分裂相细胞样本，结果显示，所有样本的探针特异性（只在 c-Met 基因位点区域显示红色荧光信号和 7 号染色体着丝粒位点区域显示绿色荧光信号的染色体数目/100 条）均不低于 98%，符合产品性能要求。

3. 灵敏度

灵敏度包括基于 FFPE 样本的杂交效率和基于中期分裂相细胞的探针敏感性。

杂交效率：使用 3 批试剂检测 24 例不同组织类型非小细胞肺癌 FFPE 样本和 20 例肺部良性疾病组织 FFPE 样本，结果显示，每例样本的杂交效率均不低于 75%，符合产品性能要求。

探针敏感性：使用 3 批试剂检测 6 例不同健康人来源，由处于中期分裂相的外周血淋巴细胞制备的样本，结果显示，所有样本的探针敏感性（分别显示 1 个红色荧光信号和 1 个绿色荧光信号的染色体数目/100 条）均不低于 98%，探针敏感性符合产品性能要求。

4. 准确度

使用 3 批试剂检测 24 例不同组织类型非小细胞肺癌 FFPE 样本和 20 例肺部良性疾病组织 FFPE 样本，结果显示，3 批试剂的阳性符合率、阴性符合率和总符合率均为 100%，符合产品性能要求。

5. 精密度

精密度包括内部重复性和外部重复性研究。

内部重复性：申请人使用 3 批试剂对 22 例非小细胞肺癌 FFPE 样本（12 例阴性和 10 例阳性，包含 5 例阈值附近阳性样本）进行检测，通过不同批次内/间、日内/日间、不同操作者间、

仪器间对阳性和阴性精密度参考品进行精密度评价，结果显示，批内/日内精密度、批间精密度、日间精密度、人员间精密度、仪器间精度总符合率均不小于 95%，且总符合率 95%置信区间下限均不低于 85%，符合产品性能要求。

外部重复性：申请人采用随机盲法设计，使用消除识别信息的非小细胞肺癌 FFPE 样本，在两个外部实验室进行外部重复性研究。结果显示，室间精密度和阅片者间精密度总符合率均不小于 95%，且总符合率 95%置信区间下限均不低于 85%，符合产品性能要求。

（四）阳性判断值研究

选择药物关键性临床试验分析方法（CTA）所用的阳性判断值：c-Met/CSP7 比值 ≥ 2.0 或 c-Met 基因信号数平均值 ≥ 5.0 ，c-Met 基因信号数平均值 ≥ 10.0 时，为强阳性结果，作为本试剂盒的阳性判断值。选择 195 例非小细胞肺癌样本进行阳性判断值验证，得到本试剂盒的阳性判断值为：

在油镜（ $100\times$ ）下，计数 30 个肿瘤细胞，统计红色信号总数（c-Met）和绿色信号总数（CSP7），计算 c-Met 基因信号数平均值：

c-Met 基因信号数平均值 = 30 个细胞中红色信号总数 / 计数的 30 个细胞；

根据如下标准判读 c-Met FISH 结果:

(1) 若 c-Met 基因信号数平均值 ≥ 5.0 , 判为阳性结果, 提示该样本 c-Met 基因发生扩增;

(2) 当 c-Met 基因信号数平均值 ≥ 10.0 时, 可视为强阳性结果;

(3) 若 c-Met 基因信号数平均值 < 5.0 , 判为阴性结果, 提示该样本 c-Met 基因未发生扩增。

(五) 稳定性研究

申请人对产品的实时稳定性、使用稳定性、运输稳定性及样本稳定性进行研究。

实时稳定性研究: 将 3 批本产品置于 $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 条件下避光储存, 分别于 0 点、第 3、6、9、12、14、18 和 20 个月时对物理性能、净含量、探针信号强度、探针质量 (探针敏感性和探针特异性)、杂交效率以及探针有效性 (阴性符合率和阳性符合率) 进行考察, 结果显示, 产品在 $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 条件下避光储存 20 个月, 各项性能指标均符合要求, 产品有效期可达到 18 个月。

此外, 申请人对产品的开瓶稳定性、冻融稳定性、光照稳定性、运输稳定性和样本稳定性分别进行了研究。结果显示, 产品性能均能满足产品说明书声称。

三、临床评价概述

本产品临床试验可分为两部分，第一部分为临床检测性能的研究，第二部分为伴随诊断用途的研究。

第一部分：临床检测性能

该部分研究在复旦大学附属肿瘤医院、河南省人民医院、温州医科大学附属第一医院 3 家临床试验机构完成临床试验，采用临床参考方法作为对比方法。临床试验共纳入 637 例非鳞状非小细胞肺癌病例。以 c-Met 基因信号数平均值 ≥ 5.0 为阳性判断值，入组阳性病例 258 例，阴性病例 379 例，临床试验本试剂盒与对比方法检测结果的阳性符合率为 98.45% (95%CI: 96.08%, 99.40%)，阴性符合率为 99.74% (95%CI: 98.52%, 99.95%)，总符合率为 99.22% (95%CI: 98.18%, 99.66%)。以 c-Met 基因信号数平均值 ≥ 10.0 为阳性判断值，入组阳性病例 108 例，阴性病例 529 例，临床试验本试剂盒与对比方法检测结果的阳性符合率为 100.00% (95%CI: 96.57%, 100.00%)，阴性符合率为 100.00% (95%CI: 99.28%, 100.00%)，总符合率为 100.00% (95%CI: 99.40%, 100.00%)。

第二部分：伴随诊断研究

申报产品通过桥接试验确认伴随诊断临床意义，桥接试验由和记黄埔医药(上海)有限公司在药物临床试验过程中开展。入组病例为赛沃替尼药物关键注册临床研究(2020-504-00CH3)

中受试者的剩余 FFPE 样本，共入组病例 370 例。试验结果显示，本产品与药物临床试验分析方法 (CTA) 阳性符合率为 96.79% (95%CI: 93.77%, 98.60%)，阴性符合率为 95.69% (95%CI: 90.23%, 98.59%)，总符合率为 96.44% (95%CI: 93.99%, 98.09%)。针对桥接试验中试验体外诊断试剂检测阳性 205 病例，研究者评估的试验组中位 PFS 为 8.345 个月 (95%CI: 6.899, 11.565)，药物临床试验中入组病例研究者评估的试验组中位 PFS 为 8.181 个月 (95%CI: 6.899, 11.170)，试验体外诊断试剂检测阳性病例与药物临床试验入组病例药物疗效结果一致。临床试验还对于药物临床试验中的其他次要评价指标也进行了充分评价，结果符合要求。

综上，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 GB/T 42062-2022《医疗器械—风险管理对医疗器械的应用》对产品进行风险分析。

(一) 受益评估

本试剂盒用于体外定性检测经 10%中性缓冲福尔马林固定石蜡包埋 (FFPE) 的非小细胞肺癌组织切片中 c-Met 基因扩增情况，辅助鉴别可使用赛沃替尼 (Savolitinib) 治疗的非小细胞肺癌患者，用作赛沃替尼 (Savolitinib) 的伴随诊断。

本产品临床应用的主要受益在于：产品可作为赛沃替尼的伴随诊断试剂对靶向用药人群进行筛选，可以让 c-Met 扩增的非小细胞肺癌患者获得及时的治疗。

（二）风险评估

申请人对已知危险进行风险评价，按照风险可接受准则判断每个危险的风险是否达到可接受水平，对合理可行降低的风险、不经过风险/收益分析既判定为不可接受的风险采取控制措施，并对具体措施进行实施验证，同时重新对采取措施后的风险进行估计，确认其风险水平可接受。本产品上市带来的获益大于风险，但为保证用械安全，基于对主要剩余风险的规避，需要在说明书中提示以下信息：

预期用途：本试剂盒用于体外定性检测经 10%中性缓冲福尔马林固定石蜡包埋（FFPE）的非小细胞肺癌组织切片中 c-Met 基因扩增情况，辅助鉴别可使用赛沃替尼（Savolitinib）治疗的非小细胞肺癌患者，用作赛沃替尼（Savolitinib）的伴随诊断。

本试剂盒针对 c-Met 基因扩增的检测性能进行验证，检测结果仅供临床参考，不应作为诊治的唯一依据，临床医生应结合患者病情、药物适应症、治疗反应及其它实验室检测指标等因素对检测结果进行综合判断。

警示及注意事项：产品说明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体外诊断试剂产品注册，属于优先审批产品。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。

2026 年 03 月 17 日

附件：产品说明书

人类 c-Met 基因扩增检测试剂盒（荧光原位杂交法）

说明书

【产品名称】

人类 c-Met 基因扩增检测试剂盒（荧光原位杂交法）

【包装规格】

10 测试/盒

【预期用途】

本试剂盒用于体外定性检测经10%中性缓冲福尔马林固定石蜡包埋（FFPE）的非小细胞肺癌组织切片中c-Met基因扩增情况，辅助鉴别可使用赛沃替尼（Savolitinib）治疗的非小细胞肺癌患者，用作赛沃替尼（Savolitinib）的伴随诊断。

伴随诊断适应症及具体适用人群见表1。

表 1 伴随诊断适应症及适用人群

肿瘤适应症	c-Met 扩增状态	适用人群
非小细胞肺癌	阳性： c-Met 基因信号数平均值 ≥ 5.0	经一或二代 EGFR-TKI 治疗进展后的患者
	强阳性： c-Met 基因信号数平均值 ≥ 10.0	经三代 EGFR-TKI 治疗进展后的患者

MET基因也称c-Met，是一种原癌基因，位于7号染色体的长臂，包含了21个外显子^[1]。它编码的c-Met蛋白是肝细胞生长因子（HGF）的酪氨酸激酶受体，与多种癌基因产物和调节蛋白相关，参与细胞信息传导、

细胞骨架重排的调控，是细胞增殖、分化和运动的重要因素^[2-3]。

研究表明，许多肿瘤病人在其肿瘤的发生和转移过程中均有c-Met过度表达和基因扩增。多项大规模临床研究证实，包括c-Met在内的多个驱动基因，均与肺癌患者的靶向治疗相关，其中c-Met扩增也是导致EGFR-TKIs的重要耐药机制之一^[4]。c-Met通路参与非小细胞肺癌的发生及耐药进展，在多项权威指南和共识中均建议进行c-Met扩增检测^[5-7]。

本试剂盒针对c-Met基因扩增的检测性能进行验证，检测结果仅供临床参考，不应作为诊治的唯一依据，临床医生应结合患者病情、药物适应症、治疗反应及其它实验室检测指标等因素对检测结果进行综合判断。

【检验原理】

本试剂盒基于荧光原位杂交原理，采用双荧光探针技术，用荧光标记的DNA作为探针（c-Met探针用红色荧光染料Cy3标记，显示为红色荧光信号，7号染色体着丝粒CSP7探针用绿色荧光染料标记，显示为绿色荧光信号），与经过一系列预处理的待检组织切片样本在高温下共变性成单链，经降温退火，按照碱基互补配对的原则，c-Met探针与样本中的c-Met基因，CSP7探针与7号染色体着丝粒进行特异性结合，形成可被检测的杂交双链DNA，洗涤非特异性杂交后，使用DAPI复染液复染细胞核，由于探针上带有不同颜色的荧光标记，可在配备合适滤光片的荧光显微镜下观察和记录肿瘤细胞核中两种颜色荧光信号的数量，统计红色信号总数（c-Met）和绿色信号总数（CSP7），计算c-Met基因信号

数平均值和 c-Met/CSP7 比值，以此来判断待检样本中 c-Met 基因是否发生扩增，从而实现对样本 c-Met 基因扩增状态的检测。

【主要组成成分】

检测试剂由1管LSP c-Met/CSP7探针和1管DAPI复染液II组成（见表2）。

表 2 人类 c-Met 基因扩增检测试剂盒组成

组分名称	组成成分	体积
LSP c-Met/CSP7 探针	c-Met 探针、CSP7 探针、Cot-1 DNA、 2×SSC、去离子甲酰胺、硫酸葡聚糖	100μL
DAPI 复染液 II	4',6-二脒基-2-苯基喹啉、对苯二胺、丙三醇、 PBS 缓冲液、碳酸盐缓冲液	900μL

说明：不同批号试剂盒中各组分在有效期内不可互换使用。

其他需要自备的试剂和耗材：

样本释放剂（使用厦门艾德生物医药科技股份有限公司生产的样本释放剂，型号：FFPE 样本，货号：8.03.0031，备案号：闽厦械备 20180033 号）、二甲苯或环保型脱蜡液、无水乙醇、10M NaOH、12M HCl、去离子水、封片胶、盖玻片（如 18 mm×18 mm 或 22 mm×22 mm 等）、质控片。

【储存条件及有效期】

-20±5℃避光储存，有效期 18 个月。

开瓶后使用不影响产品有效期，可反复冻融 10 次。使用完毕后于-

20±5℃避光保存。

运输条件及方法：低温运输，运输时间不超过7天，运输温度不高于28℃。

生产日期及有效期至见标签。

【适用仪器】

本试剂选用的荧光染料为花菁素 Cy3（橘红色荧光，激发波长为 550 nm，发射波长为 570 nm），FITC（绿色荧光，激发波长为 495 nm，发射波长为 520 nm）和 DAPI（激发波长为 360 nm，发射波长为 450 nm），结果分析在荧光显微镜下进行，荧光显微镜应配备有 DAPI、FITC、Cy3 相匹配的滤片组，金属卤化物灯光源，10×目镜和 10×、40×及 100×（油镜）物镜，使用低自发荧光优质镜油。

【样本要求】

1. 检测样本为手术或活检标本制成的石蜡包埋块或石蜡切片。活检或手术切除后的新鲜肿瘤组织离体后应尽快（1h 内）放入 10%中性缓冲福尔马林溶液中固定，当组织较大时，应将其每隔 5~10 mm 切开，并可在组织间嵌入纱布或滤纸等物，以保障固定液的充分渗透和固定。固定液用量应足够，建议固定液量为所浸泡组织的 4~20 倍，固定时间以 6~72h 为宜。固定后，参照病理技术规范要求进行脱水、透明、浸蜡，最后制成蜡块。

2. 要求使用病理防脱载玻片进行切片，切片厚度建议为 3~5 μm。

3. 石蜡切片室温（15~25℃）保存，保存时间不应超过 3 年。

【检验方法】

使用厦门艾德生物医药科技股份有限公司生产的样本释放剂（型号：FFPE样本）进行样本的处理。

1. 实验前准备

1.1 试剂准备（请确保试剂按如下方法正确配制）：

- 1) 2 × SSC溶液（pH 7.0）配制：用去离子水将20 × SSC溶液稀释10倍，调节pH至7.0。2~8℃密封保存12个月，若试剂出现混浊或污染，请立即丢弃。
- 2) 洗涤液配制：取适量体积的NP-40于2 × SSC溶液（pH 7.0）中，如取500 μL NP-40于500 mL 2 × SSC溶液（pH 7.0）中，充分混匀，配成0.1%（V/V）洗涤液，2~8℃密封保存12个月，若试剂出现浑浊或污染，请立即丢弃。
- 3) 70%、85%乙醇配制：分别将700 mL、850 mL无水乙醇用去离子水稀释至1000 mL，室温密封保存。试剂配制1个月后或若试剂出现混浊或污染，请立即丢弃。
- 4) 蛋白酶K工作液配制：取100 μL蛋白酶K溶液加入到已预热至37℃的装有40 mL 2 × SSC溶液（pH 7.0）的考普林瓶中（比例为1:400），配成终浓度为0.05 mg/mL的蛋白酶K工作液，需现配现用。
- 5) 胃蛋白酶母液配制：取0.2 g胃蛋白酶粉末溶解于5 mL去离子水中，配

成40 mg/mL胃蛋白酶母液。待完全溶解后，每400 μ L分装于干净的1.5 mL离心管中，于-20 $\pm$ 5 $^{\circ}$ C保存12个月。

6) 胃蛋白酶缓冲液配制：取4 mL 1M HCl溶液于36 mL去离子水中，混匀即可。

7) 胃蛋白酶工作液配制：从-20 $\pm$ 5 $^{\circ}$ C中取出胃蛋白酶母液（40 mg/mL），摇匀，用胃蛋白酶缓冲液进行稀释（比例为1:100），配成终浓度为0.4 mg/mL的胃蛋白酶工作液进行使用，配制好的胃酶工作液可分装后（避免反复冻融）于-20 $\pm$ 5 $^{\circ}$ C进行保存，有效期为12个月；消化前的胃蛋白酶工作液需预热到37 $^{\circ}$ C进行使用。

注1：除70%、85%乙醇和胃蛋白酶缓冲液外，其余组分来自配套使用的样本释放剂。

注2：若选择蛋白酶K消化，按（4）准备蛋白酶K工作液，若选择胃蛋白酶消化，按（5），（6）和（7）准备胃蛋白酶工作液。

1.2仪器准备：

1) 实验开始前，打开恒温水浴锅，调节水温至37 $^{\circ}$ C，取40 mL 2 $\times$ SSC溶液（pH 7.0）于考普林瓶中，或胃蛋白酶工作液放入水浴锅中，预热20 min以上。

2) 脱蜡过程中，打开磁力加热搅拌器或其他加热器，将预处理液（pH 7.0）加热煮沸，备用。

3) 在洗涤开始前，打开恒温水浴锅，调节水温至46 $^{\circ}$ C，同时将洗涤液放

入水浴锅中预热20 min以上。

2. 实验步骤

2.1 样本预处理

1) 烤片：将玻片放在56℃烤片机上烤片15~30 min。

2) 脱蜡：在通风橱中，将玻片依次浸入3缸二甲苯或环保型脱蜡液中，每次10 min。

3) 去除残留的二甲苯或环保型脱蜡液：将玻片依次浸入3缸无水乙醇中，每次2 min，将二甲苯或环保型脱蜡液去除干净。

4) 水化：将玻片依次浸入85%乙醇、70%乙醇、去离子水，每次1 min。

5) 预处理液处理：将玻片（组织面朝上）浸入煮沸的预处理液（pH 7.0）中，微沸煮20 min。

6) 将玻片浸入去离子水中洗涤1 min。

7) 将玻片浸入2 × SSC溶液（下同）中洗涤1 min。

8) 消化：可选择蛋白酶K消化，也可选择胃蛋白酶消化，消化方式有两种选择：浸泡法消化或滴片法消化。

浸泡法消化：将玻片浸入蛋白酶K工作液或胃蛋白酶工作液中（每个考普林瓶不宜放置超过8片），37℃消化2~15 min。

滴片法消化：将玻片放置于烤片机或杂交仪上，每张玻片滴加500 μL左右蛋白酶K工作液或胃蛋白酶工作液，覆盖整个组织区域，37℃消化2~15 min。

消化程度对后续的杂交有重要影响，应通过试验确定最适的消化时间。消化程度可通过如下方法进行检测：

让玻片自然干燥，滴加10 μ L DAPI复染液II，盖上盖玻片后在荧光显微镜下观察消化情况。若消化过度，则应重新实验，并缩短消化时间；若消化不充分，则将玻片浸入2 $\times$ SSC溶液中以脱去盖玻片，然后继续消化；若消化适中，则将玻片浸入2 $\times$ SSC溶液中以脱去盖玻片，继续以下实验操作。

9) 消化后，将玻片浸入2 $\times$ SSC溶液中，洗涤1 min。

10) 逐步脱水：将玻片依次浸入70%乙醇、85%乙醇、无水乙醇，每次3 min。

11) 取出玻片，平放于晾干板上，晾干。

2.2变性、杂交（在避光条件下进行）：

1) 用记号笔在玻片背面画出样本区域。

2) 打开杂交仪，设定或选择已保存的程序：85 $^{\circ}$ C变性5 min，37 $^{\circ}$ C杂交过夜（12 h~24 h）。

3) 将杂交仪的湿条用水浸湿，放入杂交仪中，使杂交在一定的湿度条件下进行。

4) 从-20 $\pm$ 5 $^{\circ}$ C取出探针，振荡混匀，瞬时离心。

5) 取10 μ L探针加在样本中心区域（每个样本加入的探针量为10 μ L），小心盖上盖玻片并压紧（避免产生气泡），然后用封片胶封住盖玻片。

6) 将玻片轻放于杂交仪中，启动杂交程序。

2.3 洗涤（在避光条件下进行）：

- 1) 杂交结束后，从杂交仪中取出玻片，用镊子去掉封片胶。
- 2) 室温下，将玻片浸入 $2 \times \text{SSC}$ 溶液中，以脱去盖玻片，然后继续浸泡5 min。注意：脱去盖玻片时，不可损伤组织。
- 3) 将玻片浸入预热至 46°C 的洗涤液中，洗涤7 min。
- 4) 逐步脱水：将玻片依次浸入70%乙醇、85%乙醇、无水乙醇，每次1min，取出平放于晾干板上，晾干。

2.4 复染（在避光条件下进行）：

- 1) 用记号笔在玻片背面画出样本区域。
- 2) 取 $10\ \mu\text{L}$ DAPI复染液II加在样本中心区域，小心盖上盖玻片并压紧，避免产生气泡。
- 3) 室温下，静置约15 min。

2.5 荧光显微镜下分析结果（在避光条件下进行）。

2.6 实验结束后，玻片可置于 $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 中避光保存达3个月。

3. 质量控制

3.1 病理质控：

对每例待检测的样本，均应进行病理质控。具体方法：每例待检测的样本，取石蜡切片1张，进行HE染色，由病理医生在显微镜下判断和记录每例样本的肿瘤细胞含量，质控合格的标准为存活肿瘤细胞数

≥100 个。对病理质控不合格的样本，不进行后续的 FISH 检测，可取其他蜡块或重新取样后再质控。

3.2 质控片质控（外对照）：

（1） 建议每次检测设置质控片作为外对照，将质控片与待检测样本同时检测，以对整个操作流程进行质量控制，监测探针性能，确认实验室人员操作是否正确以及仪器设备运行是否正常。

（2） 建议每次检测所用质控片应包含c-Met基因扩增阴性质控片和c-Met基因扩增阳性质控片，以监控检测性能并评估结果判读的准确性。质控片可以是组织切片或细胞系包埋切片。质控用的肿瘤组织或细胞系（阳性细胞系建议Hs746T，阴性细胞系建议T-47D）均应采用与待检测样本相同的流程进行固定、包埋与制片，详见【样本要求】。

（3） 若使用肿瘤组织切片作质控片，质控片也应行HE病理质控，详见3.1；肿瘤组织或细胞系质控片应显示出可被肉眼识别的清晰的红色荧光信号和绿色荧光信号，杂交效率不低于75%，且按照判读标准，阳性质控片检测结果应为阳性，阴性质控片检测结果应为阴性。

（4） 若质控片检测结果满足以上标准，则认为该次检测成功，可接着分析待检测样本；若质控片检测结果未能满足以上标准，则认为该次检测失败，应排查原因后对待检测样本和质控片重新实验，直至外对照合格。

3.3 待检测样本质控：

(1) 内对照：非小细胞肺癌组织癌旁或间质内的正常细胞，如巨噬细胞、淋巴细胞、血管内皮细胞、成纤维细胞等可作为内对照。内对照细胞中应同时含有红色和绿色荧光信号，杂交效率不低于 75%。若内对照未能满足以上标准，则认为该待检测样本检测失败，应排查原因后重新实验直至内对照合格。

(2) 当待检测样本出现以下任一种情况时，视为该样本检测失败，应重新检测；若未出现这类情况视为样本检测成功，可进行结果判读：

- ①因肿瘤存在异质性，当出现明显的组织脱落时可能导致漏检；
- ②出现大量高荧光背景，干扰荧光信号的识别，导致无法判读；
- ③荧光信号太弱，导致无法被肉眼清晰识别。

【阳性判断值】

在油镜（100×）下，计数 30 个肿瘤细胞，统计红色信号总数（c-Met）和绿色信号总数（CSP7），计算 c-Met 基因信号数平均值：

c-Met 基因信号数平均值 = 30 个细胞中红色信号总数 / 计数的 30 个细胞；

根据如下标准判读 c-Met FISH 结果：

- (1) 若 c-Met 基因信号数平均值 ≥ 5.0 ，判为阳性结果，提示该样本 c-Met 基因发生扩增；
- (2) 当 c-Met 基因信号数平均值 ≥ 10.0 时，可视为强阳性结果；
- (3) 若 c-Met 基因信号数平均值 < 5.0 ，判为阴性结果，提示该样本 c-Met

基因未发生扩增。

【检验结果的解释】

1. 结果判读原则：

- (1) 分析区域必须是肿瘤细胞集中的部位。
- (2) 计数细胞必须同时具有两种信号，且信号都清晰可辨。
- (3) 细胞核轮廓不清或有重叠的不要分析。
- (4) 杂交不均匀的区域不要分析。
- (5) 背景深影响信号判断的区域不要分析。
- (6) 如果超过 25%的细胞核内信号太弱，则该区域不要分析；如果超过 10%的细胞质内有信号，则该区域不要分析。

2. 结果判读步骤：

- (1) 在 10×或 20×倍镜下，观察整张切片，找到肿瘤区域。
- (2) 在 40×倍镜下，观察肿瘤细胞的异质性及样本质量，合格的样本应是 75%以上肿瘤细胞核中都有杂交信号。
- (3) 在油镜（100×）下，按照结果判读原则开始对信号进行计数。注意上下调整显微镜微调旋钮，以使细胞核内所有信号都能被计数。找到含有 c-Met 基因拷贝数最多的肿瘤区域作为分析区域，分析每个细胞内的信号情况，有关信号的判断方法参照表 3。

表3 信号的判断方法

●：红色信号（c-Met） ●：绿色信号（CSP7）

信号情况	判断方法
	计算为2个红色信号（c-Met）和2个绿色信号（CSP7）
	计算为2个红色信号（c-Met）和1个绿色信号（CSP7）
	计算为4个红色信号（c-Met）和4个绿色信号（CSP7）
	此为c-Met发生扩增情况，计算为5个红色信号（c-Met）和2个绿色信号（CSP7）
	此为c-Met发生点状扩增情况，对红色信号（c-Met）点状扩增区域进行估算，计算为27个红色（c-Met）信号（点扩区域估算为25个c-Met信号和2个单独红色信号）和2个绿色信号（CSP7）
	此为c-Met发生簇状扩增情况，可根据单个信号点大小对簇状范围内的信号点进行估算，此时，红色信号总数（c-Met）为一个估值。计算为18个红色（c-Met）信号（簇状区域估算为15个c-Met信号和3个单独红色信号）和3个绿色信号（CSP7）
	此为细胞核发生了重叠，导致并非所有的细胞核区域都清晰可见，部分信号点存在重叠，不进行计数

（4）计数 30 个肿瘤细胞，统计红色信号总数（c-Met）和绿色信号总数（CSP7），计算 c-Met 基因信号数平均值。

（5）根据结果判读依据（阳性判断值）得出结论。

【检验方法的局限性】

1. 本试剂盒为体外诊断试剂，检测结果的临床判定均应结合患者医疗病史和其他临床诊断结果进行综合评估，不得作为临床诊治的唯一依据。
2. 肿瘤组织 c-Met 基因扩增的异质性可能影响检测结果。不同部位取样可能会得到不同的检测结果，例如原发灶和转移灶、活检标本和手术切除标本的检测结果不一致。对于肺癌活检标本，多点活检有助于减少肿瘤异质性的影响，提高检测的准确性。

3. 本试剂盒检测结果受样本来源、样本采集过程、样本质量、样本运输条件、样本预处理等因素影响。同时由于结果判断的主观性，可能导致得出假阳性或假阴性的检测结果，使用者应了解检测过程中可能存在的潜在错误导致结果不准确等局限性。
4. 检测结果如与组织病理学特征不符，应核实病理诊断或重新检测。
5. 本产品的性能指标是基于说明书所述检测程序获得，对该程序进行更改，可能会改变该检验的结果。
6. 本试剂盒仅用于 c-Met 基因扩增的检测，不能用于检测单个碱基突变。

【产品性能指标】

1. 非临床性能评价

使用 3 批“人类 c-Met 基因扩增检测试剂盒（荧光原位杂交法）”进行分析性能评价。

1) 物理性能

试剂盒外观均整洁，无破损，标签清晰，试剂无漏液。探针溶液均为澄清、透明、粘稠的浅粉色液体，DAPI 复染液 II 均为澄清、透明的粘稠状液体。

2) 探针信号强度

检测 6 例外周血（或其培养液）淋巴细胞制成的对照片、24 例非小细胞肺癌和 20 例肺良性病变组织/癌旁正常组织 FFPE 组织切片，探针在与对照片或 FFPE 组织切片杂交后，在配有相应滤光块的荧光显微镜（100

倍物镜，10 倍目镜）下观察，均能发出可被肉眼识别的荧光信号。

3) 探针质量

检测 6 例外周血（或其培养液）淋巴细胞制成的对照片，每例分析 50 个细胞，考察探针质量（包括探针敏感性和探针特异性）。

探针敏感性：分析 50 个处于中期分裂相的细胞的 100 条染色体，均至少有 98 条（98%）染色体分别显示 1 个红色荧光信号（c-Met 位点）和 1 个绿色荧光信号（CSP7 着丝粒位点）。

探针特异性：分析 50 个处于中期分裂相的细胞的 100 条染色体，均至少有 98 条（98%）只在 c-Met 基因位点区域和 7 号染色体着丝粒位点区域分别显示红色荧光信号和绿色荧光信号。

4) 杂交效率

检测 24 例非小细胞肺癌和 20 例肺良性病变组织/癌旁正常组织 FFPE 组织切片，探针在与 FFPE 组织切片杂交后，在配有相应滤光块的荧光显微镜（100 倍物镜，10 倍目镜）下观察，每例样本分析 90 个细胞中 2 种荧光信号的分布情况，统计同时具有 2 种荧光信号的细胞的比例，均不低于 75%。

5) 探针有效性

对已确证的 c-Met 基因扩增阴性样本（12 例非小细胞肺癌和 20 例肺良性病变组织/癌旁正常组织）、c-Met 基因扩增阳性样本（8 例非小细胞肺癌）和 c-Met 基因扩增强阳性样本（4 例非小细胞肺癌），均可准确

无误地检出，阴性符合率、阳性符合率、强阳性符合率和总符合率均为 100%。

6) 精密度

对 22 例非小细胞肺癌样本（包括 12 例阴性、7 例阳性、3 例强阳性）进行精密度研究，包括批内、批间、日间、人员间、阅片者间、不同实验室间和仪器间精密度，总符合率 95% 置信区间下限均不低于 85%，符合要求。

2. 临床性能评价

临床性能评价分为如下两部分。

第一部分：临床试验性能

在 3 家临床试验机构完成临床试验，采用临床参考方法作为对比方法。以 c-Met 基因信号数平均值 ≥ 5.0 为阳性判断值，临床试验本试剂盒与对比方法检测结果的阳性符合率为 98.45%，阴性符合率为 99.74%，总符合率为 99.22%。以 c-Met 基因信号数平均值 ≥ 10.0 为阳性判断值，临床试验本试剂盒与对比方法检测结果的阳性符合率为 100.00%，阴性符合率为 100.00%，总符合率为 100.00%。

第二部分：伴随诊断研究

申报产品通过桥接试验确认伴随诊断临床意义，桥接试验由和记黄埔医药（上海）有限公司在药物临床试验过程中开展。入组病例为赛沃替尼药物关键注册临床研究（2020-504-00CH3）中受试者的剩余 FFPE 样

本。试验结果显示，本产品与药物临床试验分析方法（CTA）阳性符合率为 96.79%，阴性符合率为 95.69%。针对桥接试验中试验体外诊断试剂检测阳性病例，研究者评估的试验组中位 PFS 为 8.345 个月，药物临床试验中入组病例研究者评估的试验组中位 PFS 为 8.181 个月，试验体外诊断试剂检测阳性病例与药物临床试验入组病例药物疗效结果具有一致性。

【注意事项】

1. 实验前请仔细阅读本说明书。
2. 实验前请熟悉和掌握需使用的各种仪器的操作方法和注意事项。
3. 本试剂盒所有试剂均经过特别配制，以用于上述检测。不可随意减少试剂的使用量。不要使用超过有效期的试剂。
4. 本试剂盒采用低温方式运输，运输时间不超过 7 天，运输温度不超过 28℃，不影响产品有效期，试剂盒性能无变化。
5. 荧光染料对光敏感，在光照条件下易淬灭，为降低该影响，实验过程中除样本预处理步骤外，其余步骤均应注意避光，对所有含荧光探针的溶液，包括杂交后样本载玻片均应尽量避免或者减少在光照条件下的保存和处理，推荐在暗室里操作。
6. 应使用校准过的温度计测量水浴锅、溶液的温度，应使用校准过的 pH 计测量溶液的 pH 值。
7. 所有化学药品都具有潜在的危险性。只有经过培训，具有相应实验室技术的人员才能使用本试剂盒。操作时，请穿着合适的实验室工作服、

并佩戴口罩和乳胶手套等防护措施，尤其值得注意的是使用二甲苯应在通风橱中进行。产品在正确使用过程中不慎溅入眼内应立即用冲眼器或大量清水冲洗眼睛。

8. 实验完毕用 10%次氯酸或 75%酒精或紫外灯处理工作台和移液器。
9. 所有检测样本和试剂盒中的试剂应视为具有传染性物质，操作和废弃物处理均需符合相关法规要求：卫生部《病原微生物实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》。
10. 荧光原位杂交实验室建议设立 2 个不同的分区，分别为实验操作区和结果分析区，结果分析区用于放置荧光显微镜，建议妥善维护。

【标识的解释】

☞：保持干燥；☞：向上；☞：易碎，小心轻放。

【参考文献】

1. Fujino, T., K. Suda, and T. Mitsudomi. 2021. "Lung cancer with MET exon 14 skipping mutation: genetic feature, current treatments, and future challenges." Lung Cancer (Auckl) 12: 35–50.
2. 苏会玲. HGF/c-MET 通路在癌症中的研究进展[J]. 实用癌症杂志, 2013, 28(1):3.
3. Guo A, Villien J, Kornhauser J, et al. Signaling networks assembled by oncogenic EGFR and c-Met[J]. Proc Natl Acad Sci, 2008, 105(2): 692-697.
4. Guo R, Luo J, Chang J, et al. MET-dependent solid tumours-molecular

- diagnosis and targeted therapy[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2020, 17(9):569-587.
- 5.Jürgen Wolf, Seto T, Han J Y ,et al. Capmatinib in MET Exon 14-Mutated or MET-Amplified Non-Small-Cell Lung Cancer[J].New England Journal of Medicine, 2020, 383(10):944-957.
- 6.陈军, 韩宝惠, 胡毅, 等. MET 异常 NSCLC 诊疗专家共识 (2025 版) [J/OL]. 中国肺癌杂志, 2025:1-13.
- 7.中华医学会病理学分会, 国家病理质控中心, 中华医学会肿瘤学分会肺癌学组, 等. 非小细胞肺癌 MET 临床检测中国专家共识. 中华病理学杂志, 2022, 51(11): 1094-1103.

【基本信息】

注册人/生产企业/售后服务单位名称: 厦门艾德生物医药科技股份有限公司

住所/生产地址: 厦门市海沧区鼎山路 39 号

邮编: 电话:

传真:

网址:

E-maiL:

生产许可证编号:

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

【说明书批准日期/生效日期及修改日期】

NMPA器审中心技术审评报告公开
www.cmde.org.cn