

受理号：CSZ2200292

体外诊断试剂产品注册技术审评报告

产品中文名称：人类免疫缺陷病毒 1 型（HIV-1）核酸测定
试剂盒（PCR-荧光探针法）

产品管理类别：第三类

申请人名称：广州达安基因股份有限公司

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	11
四、 产品受益风险判定	12
综合评价意见	14

基本信息

一、申请人名称

广州达安基因股份有限公司

二、申请人住所

广州市高新技术产业开发区香山路 19 号

三、生产地址

广州市高新技术产业开发区香山路 19 号；广州市高新技术产业开发区荔枝山路 6 号；广州市黄埔区香山路 17 号 B104 号房

技术审评概述

一、产品概述

(一) 产品主要组成成分

含有 HIV-1 反应液 A、HIV-1 反应液 B、HIV-1 内标溶液、HIV-1 阴性质控品、HIV-1 强阳性质控品、HIV-1 弱阳性质控品、HIV-1 阳性定量参考品 1、HIV-1 阳性定量参考品 2、HIV-1 阳性定量参考品 3、HIV-1 阳性定量参考品 4，主要组成成分见表 1。

表 1 试剂盒主要组成成分

组分名称		规格	数量	主要成分
质控品及阳性定量参考品	HIV-1 阴性质控品	2500μL/管	1	已灭活的阴性血清或血浆
	HIV-1 强阳性质控品	2500μL/管	1	含有 HIV-1 目的片段的病毒样颗粒
	HIV-1 弱阳性质控品	2500μL/管	1	含有 HIV-1 目的片段的病毒样颗粒
	HIV-1 阳性定量参考品 1 (1.0×10 ⁶ IU/mL)	2500μL/管	1	含有 HIV-1 目的片段的病毒样颗粒
	HIV-1 阳性定量参考品 2 (1.0×10 ⁵ IU/mL)	2500μL/管	1	含有 HIV-1 目的片段的病毒样颗粒
	HIV-1 阳性定量参考品 3 (1.0×10 ⁴ IU/mL)	2500μL/管	1	含有 HIV-1 目的片段的病毒样颗粒
	HIV-1 阳性定量参考品 4 (1.0×10 ³ IU/mL)	2500μL/管	1	含有 HIV-1 目的片段的病毒样颗粒
PCR 检测试剂	HIV-1 内标溶液	250μL/管	1	含有 HIV-1 内标片段的病毒样颗粒（内标靶标为人工设计的与 HIV-1 基因组无同源性的寡核苷酸序列）
	HIV-1 反应液 A	825μL/管	1	HIV-1 特异性的引物和探针，MgCl ₂ 、Tris 盐酸缓冲液
	HIV-1 反应液 B	275μL/管	1	热启动 Taq 酶、逆转录酶、UDG 酶、dNTPs、RNasin

(二) 产品预期用途

用于体外定量检测人血清或血浆样本中人类免疫缺陷病毒 1 型核酸 HIV-1 RNA 的含量。

人类免疫缺陷病毒是获得性免疫缺陷综合症的病原体。本试剂盒应用荧光定量 PCR 技术，对血清或血浆样本中的人类免疫缺陷病毒 1 型核酸 HIV-1 RNA 进行定量检测，可检测 HIV-1 M 组的 A、B、C、BC、D、AE、F、G、AG-GH、01B 型以及 O 组、N 组基因亚型，用于人类免疫缺陷病毒 1 型感染者药物治疗的疗效监测。检测结果仅供临床参考，不能单独作为确诊或排除病例的依据。本试剂盒不用于血源筛查用途。

（三）产品包装规格

48 人份/盒。

（四）产品检验原理

利用荧光定量 PCR 技术，以 HIV-1 基因组中两个不同的高度保守区 LTR 和 GAG 为靶标，分别设计特异性引物和探针，通过实时荧光定量 PCR 技术对血清或血浆样本中的 HIV-1 RNA 进行定量检测。本试剂盒还带有内标溶液，用于对样品核酸提取和扩增整个过程进行监控，减少假阴性结果的出现。

使用本试剂盒推荐的核酸提取或纯化试剂对待检测样本进行核酸提取后，以试剂盒中提供的 PCR 检测试剂配制成 PCR 反应管，将提取的核酸加入 PCR 反应管中，使用荧光定量 PCR 仪

进行一步法 RT-PCR 扩增，仪器软件系统检测荧光信号，并自动绘制出实时扩增曲线。PCR 扩增曲线的阈循环值（Ct 值）与加入 PCR 反应的起始核酸数量有关，根据定量参考品和 Ct 值实现对未知样本的定量检测。

二、临床前研究概述

（一）主要原材料

生产工艺过程所用的主要原材料包括引物、荧光探针、热启动 Taq 酶、C-MMLV 酶、UDG 酶、RNasin、dNTPs、含 HIV-1 目的片段的病毒样颗粒、含 HIV-1 内标片段的病毒样颗粒。其中，引物、荧光探针、热启动 Taq 酶、C-MMLV 酶、含 HIV-1 目的片段的病毒样颗粒、含 HIV-1 内标片段的病毒样颗粒由申请人自行生产，UDG 酶、RNasin、dNTPs 为外购，申请人制定了各主要原材料质量要求并经检验合格。

申请人设计了完整的企业参考品，包括阳性参考品、阴性参考品、线性参考品、灵敏度参考品和精密性参考品。其中，阳性参考品由 8 份 HIV-1 阳性样本组成，型别包含 BC 型、AE 型、B 型；阴性参考品由 8 份 HIV-1 阴性样本组成，涵盖易与 HIV-1 检测产生交叉的样本，包含 HBV、HCV；线性参考品包含不同梯度；灵敏度参考品由人类免疫缺陷病毒阳性样本稀释获得；精密性参考品浓度为 1.0×10^5 IU/mL、 1.0×10^3 IU/mL 和 5.0×10^1

IU/mL。各项企业参考品综合用于产品检测灵敏度、线性、特异性和重复性评价。

(二) 生产工艺及反应体系研究

申请人通过企业内部试验确定最佳的生产工艺及反应体系，包括 PCR buffer、PCR 反应液、质控品、定量参考品的配液工序、分装工序、组装工序等，同时对试剂用量、样本用量、PCR 反应条件、提取方法、适用仪器等进行研究，还包括对样本类型的研究、样本稳定性的研究。

(三) 分析性能评估

分析性能包括核酸提取性能、适用的样本类型、灵敏度及定量限、线性范围、分析特异性、准确度、精密性、不同基因型的覆盖、样本稳定性等，申请人提交了有效运行的质量管理体系下生产的 3 批产品在所有适用机型上的性能评估资料。

在核酸提取纯化性能评估中，申请人通过对提取试剂的核酸提取效率（回收率）、重复性、线性范围、灵敏度、抗干扰能力在所有适用仪器上进行验证，确认试剂盒选择的两种提取试剂均可作为本产品对人类免疫缺陷病毒 1 型（HIV-1）样本的提取方法。

在样本适用类型研究中，申请人对同源血清和血浆样本检测的一致性和相关性研究，以及对三种抗凝血浆样本检测的准

确度研究结果，最终确认本产品适用的样本类型为血清、乙二胺四乙酸钠抗凝血浆、乙二胺四乙酸钾抗凝血浆和枸橼酸钠抗凝血浆样本。

在灵敏度性能评估中，申请人通过对人类免疫缺陷病毒核糖核酸（HIV-1 RNA）国家参考品（220017-20140930）中的 HIV-1 RNA 灵敏度/定量参考品进行梯度稀释，对系列浓度样本分别进行 20 次重复检测，以阳性检出率为 95% 的浓度作为灵敏度。最终确定该产品的灵敏度为 20IU/mL，并对 HIV-1 不同型别样本进行重复检测验证，确认本产品灵敏度为 20IU/mL。

在定量限的性能评估中，申请人通过对人类免疫缺陷病毒核糖核酸（HIV-1 RNA）国家参考品（220017-20140930）中的 HIV-1 RNA 灵敏度/定量参考品进行梯度稀释，对系列浓度样本分别进行 10 次重复检测，以定量浓度对数值与理论浓度对数值差异在 ± 0.5 范围内的浓度作为定量限。最终确定该产品的定量限为 50IU/mL，并对 HIV-1 不同型别样本进行重复检测验证，确认本产品定量限 50IU/mL。

在线性范围的性能评估中，申请人采用 HIV-1 临床样本梯度稀释后进行线性范围研究。研究结果显示：50IU/mL $\sim 1 \times 10^9$ IU/mL 范围，样本定量浓度对数值与理论浓度对数值差异在 ± 0.5 范围内，相关系数大于 0.98。并对 HIV-1 不同型别样本

进行线性范围验证，结果符合线性范围的要求。

在交叉反应性能评估中，申请人对人巨细胞病毒、EB 病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、人类疱疹病毒 6 型、单纯疱疹病毒 1 型、单纯疱疹病毒 2 型、痤疮丙酸杆菌、甲型流感病毒、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌、甲型肝炎病毒（HAV）、自身免疫疾病或血清标志物类风湿因子（RF）、系统性红斑狼疮（SLE）和抗核抗体（ANA）等进行交叉反应评价，结果显示上述样本与本产品不产生交叉反应。

干扰试验中，申请人对含高浓度干扰物质的弱阳性样本进行检测，结果表明临床中可能存在的潜在干扰物如胆红素（22mg/dL）、甘油三酯（2900mg/dL）、游离血红蛋白（23g/dL）、白蛋白（6g/dL）、总 G 型免疫球蛋白（IgG）（40mg/mL）以及治疗性药物（拉米夫定、阿得福韦、恩替卡韦、替必夫定、普通干扰素 IFN α （2a、2b、1b）、聚乙二醇干扰素 α （2a、2b）、利巴韦林）等对本产品的检测结果无干扰。

在准确度的性能评估中，申请人对人类免疫缺陷病毒核糖核酸（HIV-1 RNA）国家参考品（220017-20140930）中的阴性参考品、阳性参考品、线性参考品、HIV-1 RNA 灵敏度/定量参考品稀释的最低检测限、精密性参考品、准确性参考品进行符合性及定值准确性验证，并对人类免疫缺陷病毒 1 型（HIV-1）

RNA 标准品（220021-20160101）进行最低检测限、精密性及准确性验证，结果表明本产品的阴阳性参考品符合率、精密性、线性、定值准确性、最低检出限均符合准确度的要求。

在精密度的性能评估中，申请对 1×10^5 IU/mL、 1×10^3 IU/mL、50 IU/mL 3 个不同浓度的 HIV-1 阳性样本进行检测，结果表明各浓度样本检出率均为 100%，且 1×10^5 IU/mL、 1×10^3 IU/mL 的变异系数（CV） $\leq 5\%$ 。批内、批间、日内、日间、操作者间、室间、设备间重复性好，核酸提取再现性好。

在不同基因型别检测能力的性能评估中，申请人对“2nd WHO International Reference Panel Preparation for HIV-1 Subtypes for NAT”（第 2 代 HIV-1 分型参考品）中的 HIV-1 A 型、B 型、C 型、D 型、AE 型、F 型、G 型、AG-GH 型、N 组、O 组参考品及 BC 型、01B 型阳性样本对于不同基因型的覆盖进行考察，结果表明 HIV-1 M 组的 A 型、B 型、C 型、BC 型、D 型、AE 型、F 型、G 型、AG-GH 型、01B 型和 N 组、O 组 12 种基因型别，均能检出。

（四）阳性判断值研究

申请人通过对 191 例血清和血浆样本进行检测的结果分析，利用 ROC 曲线法最终确定本产品的阳性判断值为 Ct 值为 45；采用 T 检验确定内标检测通道阳性判断值为 Ct 值为 40。申请人进

一步使用本产品和已上市同类产品同时对临床样本进行检测，对阳性判断值的适用性进行验证，结果显示本产品与对比试剂检测结果符合率良好。

(五) 稳定性研究

申请人对本产品实时稳定性、加速稳定性、使用稳定性（冻融、开封稳定性）、运输稳定性等进行研究，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：将本产品储存于 $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 条件下，分别于0月、3月、6月、9月、11月、12月、13月、14月对外观、阴性符合率、阳性符合率、线性、准确性、最低检测限、精密性等进行考察，各项指标均符合要求，确定产品在规定的储存条件下，可稳定保存12个月。

此外，申请人对产品加速稳定性、冻融稳定性、开封稳定性、运输稳定性以及样本稳定性分别进行了研究。结果显示，产品的性能均满足产品说明书声称的要求。

三、临床评价概述

申请人在福建医科大学孟超肝胆医院、武汉市传染病医院、长沙市第一医院以及成都市公共卫生临床医疗中心共4家临床机构完成临床试验。采用考核试剂与已上市同类产品进行对比试验。入组受试者主要为HIV感染患者，包括国内常见基因型

病例样本和不同抗病毒治疗方案病例样本，同时纳入部分正常受试者和干扰组病例样本；样本类型包括血清和血浆。

临床试验共计入组受试者 1110 例，其中 HIV 核酸阳性 995 例，阴性 115 例，包括一定数量低病毒载量样本。试验体外诊断试剂与对比试剂检测阳性符合率为 100.00% (95%CI: 99.62%, 100%)，阴性符合率为 98.26% (95%CI: 93.88%, 99.52%)，总符合率为 99.82% (95%CI: 99.35%, 99.95%)。在定量线性范围内，回归方程为 $Y=0.991X+0.204$ ， $|r|=0.968$ ，分析表明，本试剂盒与对比试剂检测定量结果一致性较好。此外，纳入血清盘样本 47 例，含 M 组罕见型、O 组、N 组血清/血浆样本，试验体外诊断试剂均能够有效检出。

综上，临床试验设计符合《体外诊断试剂临床试验技术指导原则》和《人类免疫缺陷病毒检测试剂临床研究注册技术审查指导原则》的相关要求，产品临床性能满足要求。

四、产品受益风险判定

申请人对已知危险（源）进行风险评价，按照风险可接受准则判断每个危险（源）的风险是否达到可接受水平，对合理可降低的风险、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，确认其风险水平是否可接受。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：

1、本试剂盒用于人类免疫缺陷病毒 1 型感染者药物治疗的疗效监测。检测结果仅供临床参考，不能单独作为确诊或排除病例的依据。本试剂盒不用于血源筛查用途。

2、警示及注意事项：产品说明书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，属于优先审批项目。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。

2023年12月22日

附件：产品说明书

人类免疫缺陷病毒 1 型 (HIV-1) 核酸测定试剂盒 (PCR-荧光探针法) 说明书

【产品名称】

通用名称：人类免疫缺陷病毒 1 型 (HIV-1) 核酸测定试剂盒 (PCR-荧光探针法)

【包装规格】

48 人份/盒

【预期用途】

本试剂盒用于体外定量检测人血清或血浆样本中人类免疫缺陷病毒 1 型核酸 HIV-1 RNA 的含量。

人类免疫缺陷病毒是获得性免疫缺陷综合征的病原体。本试剂盒应用荧光定量 PCR 技术，对血清或血浆样本中的人类免疫缺陷病毒 1 型核酸 HIV-1 RNA 进行定量检测，可检测 HIV-1 M 组的 A、B、C、BC、D、AE、F、G、AG-GH、01B 型以及 O 组、N 组基因亚型，用于人类免疫缺陷病毒 1 型感染者药物治疗的疗效监测。检测结果仅供临床参考，不能单独作为确诊或排除病例的依据。本试剂盒不用于血源筛查用途。

【检验原理】

本试剂盒利用荧光定量 PCR 技术，以 HIV-1 基因组中两个不同的高度保守区 LTR 和 GAG 为靶标，分别设计特异性引物和探针，通过实时荧光定量 PCR 技术对血清或血浆样本中的 HIV-1 RNA 进行定量检测。本试剂盒还带有内标溶液，用于对样品核酸提取和扩增整个过程进行监控，减少假阴性结果的出现。

使用本试剂盒推荐的核酸提取或纯化试剂对待检测样本进行核酸提取后，以试剂盒中提供的 PCR 检测试剂配制 PCR 反应管，将提取的核酸加入 PCR 反应管中，使用荧光定量 PCR 仪进行一步法 RT-PCR 扩增，仪器软件系统检测荧光信号，并自动绘制出实时扩增曲线。PCR 扩增曲线的阈循环值 (Ct 值) 与加入 PCR 反应的起始核酸数量有关，根据定量参考品和 Ct 值实现对未知样本的定量检测。

【主要组成成分】

组分名称		规格	数量	主要成分
质控品及阳性定量参考品	HIV-1 阴性质控品	2500μL/管	1	已灭活的阴性血清或血浆
	HIV-1 强阳性质控品	2500μL/管	1	含有 HIV-1 目的片段的病毒样颗粒
	HIV-1 弱阳性质控品	2500μL/管	1	含有 HIV-1 目的片段的病毒样颗粒
	HIV-1 阳性定量参考品 1 (1.0×10 ⁶ IU/mL)	2500μL/管	1	含有 HIV-1 目的片段的病毒样颗粒
	HIV-1 阳性定量参考品 2 (1.0×10 ⁵ IU/mL)	2500μL/管	1	含有 HIV-1 目的片段的病毒样颗粒
	HIV-1 阳性定量参考品 3 (1.0×10 ⁴ IU/mL)	2500μL/管	1	含有 HIV-1 目的片段的病毒样颗粒
	HIV-1 阳性定量参考品 4 (1.0×10 ³ IU/mL)	2500μL/管	1	含有 HIV-1 目的片段的病毒样颗粒
PCR 检测试剂	HIV-1 内标溶液	250μL/管	1	含有 HIV-1 内标片段的病毒样颗粒 (内标靶标为人工设计的与 HIV-1 基因组无同源性的寡核苷酸序列)
	HIV-1 反应液 A	825μL/管	1	HIV-1 特异性的引物和探针，MgCl ₂ 、Tris 盐酸缓冲液
	HIV-1 反应液 B	275μL/管	1	热启动 Taq 酶、逆转录酶、UDG 酶、

				dNTPs、RNasin
--	--	--	--	--------------

注：

- (1) 不同批号试剂盒的以上成分不可以互换使用。
- (2) 需自备的试剂：核酸提取或纯化试剂（备案号：粤穗械备 20170665 号或粤穗械备 20170583 号（包装规格为双孔预封装：32 反应/盒））
- (3) 质控品说明：HIV-1 强阳性质控品、HIV-1 弱阳性质控品、HIV-1 阳性定量参考品均为含 HIV-1 目的片段的病毒样颗粒的溶液，HIV-1 阴性质控品为已灭活的阴性血清或血浆，使用时参与提取，应视为具有传染性物质，操作和处理均需符合相关法规要求。

【储存条件及有效期】

试剂盒-20±5℃保存，有效期 12 个月。

试剂盒 2-8℃保存 13 天，37℃保存 4 天不影响本试剂盒的检测性能。保存期间，请避免反复冻融、开瓶（反复冻融、开瓶次数应在 4 次以内）；试剂盒在-20±5℃冷链运输 96 个小时不影响本试剂盒的检测性能。

本试剂盒生产日期、有效期见产品标签。

【适用仪器】

ABI Prism 7500，AGS 4800。

【样本要求】

1. 适用标本类型：血清或血浆。
2. 标本采集和处理：
- 2.1 血清 — 用不含抗凝剂的采血管采集受检者 3~5mL 静脉血，室温（10~30℃）放置 30~60 分钟，血标本可自发完全凝集析出血清，或直接使用水平离心机，1500rpm 离心 15 分钟，上层即为血清。
- 2.2 血浆 — 用含乙二胺四乙酸钠、乙二胺四乙酸钾（EDTA-Na、EDTA-K）或枸橼酸钠抗凝剂的采血管采集受检者 3~5mL 静脉血，立即轻轻颠倒真空管混合 5~10 次，使抗凝剂与静脉血充分混匀，将采集的抗凝全血 1500rpm 离心 15 分钟，上层即为血浆。
3. 标本保存：所采集的标本可立即用于测试，也可保存于-20±5℃待测，保存期为 6 个月；-70±5℃以下保存期为 1 年，应避免反复冻融。

【检验方法】

1.样本处理和核酸提取（样本处理区）

可采用本公司生产的核酸提取或纯化试剂【备案号：粤穗械备 20170665 号（样本用量为 1000μL）或粤穗械备 20170583 号（包装规格为双孔预封装：32 反应/盒，样本用量为 600μL）】，具体操作步骤请按照试剂盒说明书指引进行。

本试剂盒中的内标溶液参与提取过程，用于提取过程及 PCR 扩增全过程的监控，按照提取试剂说明书中说明的使用方法，建议每个测试加入 4μL 内标溶液后进行核酸提取。

本试剂盒中的 HIV-1 阴性质控品、HIV-1 强阳性质控品、HIV-1 弱阳性质控品和 HIV-1 定量参考品均参与提取，用于对环境进行监控和 PCR 检测试剂的质控。提取后的病毒核酸溶液，建议立即使用，如需保存，置于-20±5℃可保存 7 天。

2.PCR 试剂准备（试剂准备区）

从试剂盒中取出 HIV-1 反应液 A、HIV-1 反应液 B，室温融化后振荡混匀，8,000rpm 离心数秒后使用。

取 N 个（N=待测样本个数+1 个 HIV-1 阴性质控品+1 个 HIV-1 强阳性质控品+1 个 HIV-1 弱阳性质控品+4

个 HIV-1 阳性定量参考品) PCR 反应管, HIV-1 单人份扩增体系配制如下表:

组分	HIV-1 反应液 A	HIV-1 反应液 B	体积
单人份用量	15 μ L	5 μ L	20 μ L

将 HIV-1 反应液 A、HIV-1 反应液 B 充分混合, 混合好后进行短时离心将管壁上的液体全部离心至管底, 之后将 20 μ L 扩增体系分装到 PCR 管中。

3.加样(样本制备区)

往上述 HIV-1 反应管中用带滤芯吸头分别加入待测样本、HIV-1 阴性质控品、HIV-1 阳性质控品和 HIV-1 定量参考品提取后的核酸, 体积为 40 μ L, 盖紧管盖, 8,000rpm 离心数秒后转移至扩增检测区。

4.PCR 扩增(扩增和产物分析区)

4.1 ABI 7500 仪器设置

4.1.1 先开电脑, 再开定量 PCR 仪主机电源, 最后启动 ABI 7500 软件。

4.1.2 新建文件: 菜单 File $\rightarrow$ New Experiment 中选择 Advanced Setup, 打开一个空白文件, 在“Experiment Name”中编辑实验名。

4.1.3 打开“Plate Setup”窗口, 点击 Add New Target 按钮, 新建探针, 探针检测模式设置为: Reporter Dye1: FAM, Quencher Dye1: none, Reporter Dye2: VIC, Quencher Dye2: none; 点击“Assign Target Samples”按钮, 按样本对应顺序设置阴性质控(NEG)、阳性质控以及未知样本(Unknown)、阳性定量参考品(Standard), 并在“Sample Name”一栏中设置样本名称, Passive Reference: none。

4.1.4 打开instrument窗口, 设置循环条件如下:

Program name	Cycles	Temperature Target(°C)	Running Time	Analysis Mode	Acquisition Mode
1	1	50	00: 15: 00	None	None
2	1	95	00: 15: 00	None	None
3	45	94	00: 00: 15	None	None
		55	00: 00: 45	Quantification	Single
4	1	40	00: 00: 20	None	None

并在“Reaction Volume Per Well”中设置PCR反应体积为60 μ L。

4.1.5 设置完成后, 保存文件, 点击“Start the instrument run”按钮, 运行程序。

4.1.6 监控进程: 切换程序运行页面, 可以实时显示 PCR 曲线随着循环增加而逐步增长的实际情况。如果标记物选 FAM 或 VIC, 只显示对应探针的变化情况。

4.1.7 保存结果: 程序结束后, 自动保存到文件路径。

4.2 AGS 4800 仪器设置

4.2.1 先开电脑, 再开定量 PCR 仪主机电源, 最后启动 AGS4800 软件, 选择对应的层(上、中、下)。

4.2.2 点击“新建”, 在试验名称中编辑实验名、文件路径, 保存后点击确定打开一个空白文件。

4.2.3 点击对应层次后的“锁头”, 打开扩增仪器, 将反应管放入仪器样品槽内。再点击“锁头”, 关闭扩增仪器。

4.2.4 打开“程序参数”窗口, 扩增参数如下:

Program Name	Cycles	Temperature Target (°C)	Running Time	Analysis Mode	Acquisition Mode
1	1	50	00: 15: 00	None	None

2	1	95	00: 15: 00	None	None
3	45	94	00: 00: 15	None	None
		55	00: 00: 45	Quantification	Single
4	1	40	00: 00: 20	None	None

“加血量”设定为 60μL。

4.2.5 打开“样本参数”窗口，在菜单快捷键中选择当前程序染料设置（通道 1 FAM，通道 2 VIC）在 48 孔表中选定样品孔，右边染料类型勾选 FAM 和 VIC，并选择对应的样本类型：标准，未知，阴性等。

4.2.6 启动扩增：确认仪器参数，点击开始运行按钮启动 PCR 扩增。

4.2.7 监控进程：切换程序运行页面，可以实时显示 PCR 曲线随着循环增加而逐步增长的实际情况。如果标记物选 FAM 或 VIC，只显示对应探针的变化情况。

4.2.8 保存结果：程序结束后，自动保存到文件路径。

5. 结果分析（请参照各仪器使用说明书进行设置，以 ABI7500 仪器为例）

5.1 反应结束后保存检测数据文件。

5.2 分析条件设置：根据分析后图像调节 Baseline 的 Start 值、End 值以及 Threshold 的 Value 值（用户可根据实际情况自行调整，Start 值可以在 3~15、End 值可设在 5~20，调整阴性质控品的扩增曲线平直或低于阈值线），点击 Analysis 自动获得分析结果，在 Amplification Plot 界面察看结果。

6. 质量控制

6.1 HIV-1 阴性质控品：FAM 通道无扩增曲线，VIC 通道扩增曲线呈 S 型扩增曲线且 $Ct \leq 40$ ；

6.2 HIV-1 阳性质控品：FAM 通道扩增曲线呈 S 型扩增曲线，其中强阳性质控品定值范围在 $3.0 \times 10^4 \sim 3.0 \times 10^5$ IU/mL；弱阳性质控品定值范围在 $3.0 \times 10^2 \sim 3.0 \times 10^3$ IU/mL；VIC 通道扩增曲线呈 S 型扩增曲线且 $Ct \leq 40$ ；

6.3 HIV-1 定量参考品：FAM 通道扩增曲线呈 S 型扩增曲线， Ct 值 ≤ 35 ，且线性相关系数的 $R^2 \geq 0.98$ ；VIC 通道扩增曲线呈 S 型曲线且 $Ct \leq 40$ ；

以上要求需在同一次实验中同时满足，否则，本次实验无效，需重新进行实验。

【阳性判断值】

根据样本的检测结果，确定本试剂盒的 HIV-1 阳性判断值为 Ct 值等于 45，内标阳性判断值为 Ct 值等于 40。

【检验结果的解释】

1. 每次实验均需检测阴性质控品，阳性质控品和定量参考品，质控品结果满足质量控制要求时方可进行检测结果判定。

2. 阳性结果判定标准：FAM 通道扩增曲线呈 S 型曲线且 $Ct < 45$ ；同时 VIC 通道扩增曲线呈 S 型曲线且 $Ct \leq 40$ 。

3. 阴性结果判定标准：FAM 通道无扩增曲线，同时 VIC 通道扩增曲线呈 S 型曲线且 $Ct \leq 40$ 。

4. 报告建议采用以下格式：

4.1 阴性结果报告格式为：样本未检测到人类免疫缺陷病毒 1 型 RNA，浓度低于试剂盒的检测下限；

4.2 阳性结果报告格式为：

1) 当样本的试验结果 HIV-1 RNA 浓度 $C > 1.00E+09$ 时，报告格式为：该样本检测到人类免疫缺陷病毒 1 型 RNA

浓度大于 1.0×10^9 IU/mL；如经稀释后检测，则报告格式为：该样本检测到人类免疫缺陷病毒 1 型 RNA，其浓度为 $(C \times \text{稀释倍数})$ IU/mL。

2) 当样本的试验结果 HIV-1 RNA 浓度在 $50 \leq C \leq 1.00E+09$ 时，报告格式为：该样本检测到人类免疫缺陷病毒 1 型

RNA，其浓度为 C IU/mL；

3) 当样本的试验结果 HIV-1 RNA 浓度在 $20 \leq C < 50$ 时，报告格式为：该样本检测到人类免疫缺陷病毒 1 型 RNA 浓度低于试剂盒定量下限，检测值仅供参考；

4) 当样本的试验结果 HIV-1 RNA 浓度 $C < 20$ ，报告格式为：该样本检测到人类免疫缺陷病毒 1 型 RNA 载量低于

试剂盒的检测下限。

4.3 若内标通道无扩增曲线，则该样本的检测结果无效，应查找并排除原因，并对此样本进行重复检测（若结果仍为无效，请与本公司联系）。

5. 本检测结果仅供临床参考，如需确诊病例请结合临床症状及其他检测手段。

【检验方法的局限性】

1. 可靠的结果取决于样本采集、转运、储存及处理程序。样本检测结果和样本收集、处理、运送及保存质量有关，其中任何失误都将会导致假阴性结果。如果样本处理时没有控制好交叉污染，可能出现假阳性结果。

2. 本试剂盒的检测结果仅供临床参考，对患者的临床诊治应结合其症状/体征、病史、其他实验室检查及治疗反应等情况综合考虑。

3. 本试剂盒仅验证适用于标本类型血清、血浆，适用机型为 ABI 7500，AGS4800。

4. 本试剂盒涵盖的 HIV-1 基因组中高度保守区内发生的各种突变可能影响引物和/或探针结合，可能导致检测到的病毒含量偏低以致不足以定量或者检测不到病毒。

5. HIV-1 RNA 的定量检测取决于样本中存在的病毒颗粒数，并可能受到样本收集方法，患者因素（如年龄，是否存在症状）和/或感染阶段等因素的影响。

6. 因临床样本获得困难，本产品对于 HIV-1 N 组检测性能尚无充分的临床评价数据支持。

【产品性能指标】

1. 灵敏度及定量限：本试剂盒的检测灵敏度为 20IU/mL，定量限为 50IU/mL。通过分析人类免疫缺陷病毒核糖核酸（HIV-1 RNA）国家参考品稀释的一系列浓度的检出结果，采用 Sigmoidal Fit 的方法拟合成曲线从而得到检出率为 95% 的浓度来确定本试剂盒灵敏度，定量限通过本试剂盒检测人类免疫缺陷病毒核糖核酸（HIV-1 RNA）国家参考品实测浓度与理论浓度对数值差异均在 ± 0.5 范围内的浓度进行确认，并对 HIV-1 M 组的 A、B/B'、C、BC、D、AE、F、G、AG-GH、01B 型以及 O 组、N 组基因型进行了灵敏度及定量限的验证。

2. 精密度：通过使用 1×10^5 IU/mL、 1×10^3 IU/mL、50IU/mL 3 个不同浓度的 HIV-1 阳性样本对本试剂盒进行精密度验证，实验表明，本试剂盒的不同操作者间、日内和日间、批内、批间、室间和设备间重复性好，检测结果符合可接受标准。

3. 线性范围：本试剂盒的线性定量范围为 50IU/mL $\sim 1.0 \times 10^9$ IU/mL，通过 HIV-1 临床样本对本试剂盒检出 HIV-1 线性定量范围进行了确定和验证，检测浓度与理论浓度对数值的相关系数均大于 0.98，各检测浓度与理论浓度对数值差异均在 ± 0.5 范围内。

4. 不同基因型的覆盖：根据本试剂盒进行的基因型验证结果，本试剂盒可检测 HIV-1 M 组的 A、B、C、BC、D、AE、F、G、AG-GH、01B 型以及 O 组、N 组基因型。

5.分析特异性:

a.经测试, 本试剂盒与以下感染部位相同或感染症状相似的其他病毒、细菌无交叉反应。

病毒			细菌	酵母菌	其它干扰样本
人巨细胞病毒	丙型肝炎病毒	人类疱疹病毒 6 型	痤疮丙酸杆菌	白色念珠菌	类风湿因子
单纯疱疹病毒 2 型	EB 病毒 (EBV)	乙型肝炎病毒	金黄色葡萄球菌	/	抗核抗体
单纯疱疹病毒 1 型	甲型流感病毒	甲型肝炎病毒	/	/	系统性红斑狼疮

b.浓度不大于 22mg/dL 的胆红素, 不大于 2900mg/dL 的甘油三脂, 不大于 23g/dL 的游离血红蛋白, 不大于 6g/dL 的白蛋白, 不大于 40 mg/mL 的总 G 型免疫球蛋白 (IgG) 对试剂盒的检测无干扰。样本中可能存在的普通干扰素 IFN α (2a、2b、1b)、聚乙二醇干扰素 α (2a 和 2b)、拉米夫定 (Lamivudine)、阿德福韦 (Adefovir)、恩替卡韦 (Entecavir)、替必夫定 (Telbivudine)、利巴韦林 (Ribavirin) 等高于药峰浓度的外源性物质对试剂盒检测结果无干扰。

6.准确度:

a) 本试剂盒检测中国食品药品检定研究院的人类免疫缺陷病毒核糖核酸 (HIV-1 RNA) 国家参考品, 阴、阳性参考品的符合率为 100%; 检验国家线性参考品稀释线性, 检测结果线性相关系数 (R 值) ≥ 0.980 ; 检验国家灵敏度参考品最低检出量不高于 20IU/mL; 重复检测 10 次国家灵敏度/定量参考品稀释的精密性参考品, 检测结果的对数值绝对偏差均不超过 0.5, 浓度对数值的变异系数 (CV, %) $\leq 5\%$ 。

b) 本试剂盒检测中国食品药品检定研究院的人类免疫缺陷病毒 1 型 (HIV-1) RNA 标准品, 最低检出量不高于 20IU/mL; 重复检测 10 次标准品稀释的精密性参考品, 浓度对数值的变异系数 (CV, %) $\leq 5\%$; 检测标准品稀释的准确性参考品, 检测结果的对数值绝对偏差均不超过 0.5。

7.本试剂盒临床试验共检测样本 1110 例, 与对比试剂相比, 本试剂盒检测样本阳性符合率为 100.00%, 阴性符合率为 98.26%, 总符合率为 99.82%。在定量线性范围内, 回归方程为 $Y=0.991X+0.204$, $|r|=0.968$, $P<0.001$, $n=981$, 分析表明, 本试剂盒与对比试剂检测定量结果一致性较好, 且具有统计学意义。

【注意事项】

1. 本品仅用于体外检测, 实验前请仔细阅读本说明书。
2. 为了避免样本中任何潜在的生物危险, 检测样本应视为具有传染性物质, 避免接触到皮肤和粘膜; 样本的处理应在可防止气雾外流的生物安全柜中操作, 样本制备区所用过的试管、吸头需打入盛有消毒剂的容器, 并与废弃物一起灭菌后方可丢弃; 样本操作和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》;
3. 试剂盒中组分需在有效期内使用, 不使用本试剂盒提供的组分进行实验将可能导致错误结果。
4. 实验室管理应严格按照 PCR 基因扩增实验室的管理规范, 实验人员必须进行专业培训, 实验过程严格分区进行 (试剂准备区、样本制备区、扩增和产物分析区), 所用消耗品应灭菌后一次性使用, 实验操作的每个阶段使用专用的仪器和设备, 各区各阶段用品不能交叉使用。
5. 使用经高压灭菌的一次性离心管和吸头或购买无 DNA 酶、RNA 酶的离心管和吸头。
6. PCR 检测试剂使用前要完全解冻, 8,000rpm 离心数秒后使用, 但应避免反复冻融。
7. 完成样本核酸提取后, 建议马上进行下一步实验, 否则请保存于 $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 待用。
8. 如果在标本处理中没有控制好交叉污染, 可能出现假阳性。
9. 对每次实验进行质量控制。
10. 实验完毕用 10%次氯酸或 75%酒精处理工作台和移液器, 然后用紫外线灯照射 20—30 分钟。

11. 本试剂盒内的阳性质控品和检测样本均应视为具有传染性物质，因此标本操作和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》。

【参考文献】

1. Burchard PR, Abou Tayoun AN, Scherer A, Tsongalis GJ. 2014. A rapid RT-PCR assay for the detection of HIV-1 in human plasma specimens. Exp Mol Pathol. 97(1):111-115.
2. Sayaka Yamazaki, Makiko Kondo, Koji Sudo, et al. 2016. Qualitative Real-Time PCR Assay for HIV-1 and HIV-2 RNA. Jpn. J. Infect. Dis., 69:367-372.

【生产企业】

注册人/生产企业名称：广州达安基因股份有限公司
住所：广州市高新技术产业开发区香山路 19 号
联系方式：
售后服务单位名称：广州达安基因股份有限公司
联系方式：
生产地址：广州市高新技术产业开发区香山路 19 号；
广州市高新技术产业开发区荔枝山路 6 号；
广州市黄埔区香山路 17 号 B104 号房
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】



医课汇
公众号
专业医疗器械资讯平台
WECHAT OF
HLONGMED



hlongmed.com
医疗器械咨询服务
MEDICAL DEVICE
CONSULTING
SERVICES



医课培训平台
医疗器械任职培训
WEB TRAINING
CENTER



医械宝
医疗器械知识平台
KNOWLEDG
ECENTEROF
MEDICAL DEVICE



MDCPP.COM
医械云专业平台
KNOWLEDG
ECENTEROF MEDICAL
DEVICE