

受理号：CSZ2200218

体外诊断试剂产品注册技术审评报告

产品中文名称：人类 CYP2D6 基因分型检测试剂盒（PCR-荧光探针法）

产品管理类别：第三类

申请人名称：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.....	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

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

本试剂盒包含 CYP2D6*10 PCR 反应液 A、CYP2D6*10 PCR 反应液 B、CYP2D6*10 阳性质控品 1、CYP2D6*10 阳性质控品 2、CYP2D6*10 阳性质控品 3、阴性质控品。（具体详见产品说明书）

注：不同批号试剂盒的以上成分不可以互换使用。

(二) 产品预期用途

试剂盒适用于体外定性检测人静脉全血样本基因组 DNA 中 CYP2D6 基因 C188T 位点的多态性。

细胞色素 P450 2D6 (CYP2D6) 是人体中重要的药物代谢酶之一，而其基因多态性是引起个体间和种族间对同一药物表现出不同代谢能力的重要原因之一。CYP2D6 基因在不同种族间发生多态性的位点存在明显差异，亚洲人主要为 CYP2D6 基因 C188T 位点突变。CYP2D6 野生型定义为 CYP2D6*1，CYP2D6 基因 C188T 位点突变型定义为 CYP2D6*10。CYP2D6 基因 C188T 位点多态性可表现为 3 种基因型：CYP2D6*1/*1 野生型、CYP2D6*1/*10 杂合突变型和 CYP2D6*10/*10 纯合突变型，其中 CYP2D6*10 频率在中国人中为 48%~70%。CYP2D6 与多种心血管药物和 β 受体拮抗剂有关，如美托洛尔、他莫昔芬、阿米替林和异喹胍等，同时在一些钙离子通道阻滞剂和 HMG-CoA 还原

酶抑制剂的氧化过程中起重要作用。

产品检测结果仅代表 CYP2D6 基因 C188T 位点多态性检测，不能作为临床用药调整的唯一依据，临床医生应结合病例的实际情况及多方检查结果进行综合判断。试剂盒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。

(三) 产品包装规格

大包装，20 人份/盒；大包装，48 人份/盒。

(四) 产品检验原理

试剂盒针对人类基因组 DNA 中 CYP2D6 基因 C188T 位点的单核苷酸多态性 (Single Nucleotide Polymorphisms, SNP) 设计特异性引物和探针，配以热启动 DNA 聚合酶等成分组成核酸扩增试剂，使用荧光 PCR 仪进行 PCR 扩增，并检测荧光信号，根据野生型和突变型检测结果在荧光值上的差异实现对样本型别的检测。

试剂盒添加了相关的防污染组分 (尿嘧啶 DNA 糖基化酶，即 UDG/UNG 酶)，其作用机理是选择性水解断裂含有 dU 的双链或者单链 DNA 中的尿嘧啶糖苷键，形成的有缺失碱基的 DNA 链，在碱性介质以及高温下会进一步水解断裂，从而被消除。

二、临床前研究概述

(一) 主要原材料

1. 主要原材料的选择

产品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、UDG 酶、dNTPs、细胞核酸。其中细胞核酸为申请人自行

生产，引物、荧光探针、热启动 Taq 酶、UDG 酶、dNTPs 为外购。

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：准确性参考品、特异性参考品、最低检测限参考品和重复性参考品。其中准确性参考品由 6 份不同浓度水平且能够覆盖申报试剂盒检测位点基因型别的临床样本核酸组成。特异性参考品由 4 份申报试剂盒检测范围外其他细胞色素酶基因的突变临床样本核酸、细胞株核酸以及大肠杆菌基因组 DNA 组成。最低检测限参考品由 3 份能够覆盖申报试剂盒检测位点基因型别的临床样本核酸组成。重复性参考品由 6 份能够覆盖试剂盒检测位点基因型别的临床样本核酸组成，每种型别各包含低、中两个浓度。

本产品设置了阴性和阳性质控品，阳性质控品包含 CYP2D6*10 不同基因型的基因组 DNA，阴性质控品为纯化水。

（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

本产品分析性能包括核酸提取性能、适用的样本类型、分析灵敏

度、分析特异性、准确度、精密度等，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。

在核酸提取纯化性能评估中，申请人通过对提取试剂的浓度、纯度、核酸提取效率（回收率）在适用仪器进行验证，最终确定了试剂盒配套使用的核酸提取试剂。

在适用的样本类型研究中，申请人选取 CYP2D6*10 野生型(CC)、CYP2D6*10 杂合突变型(CT)、CYP2D6*10 纯合突变型(TT)的柠檬酸钠抗凝人静脉全血样本、EDTA-2K 抗凝人静脉全血样本、EDTA-2Na 抗凝人静脉全血样本进行研究，最终确认申报产品适用的样本类型为人静脉全血、适用抗凝剂为 EDTA 或柠檬酸钠。

在最低检出限性能评估中，申请人选取 CYP2D6*10 野生型(CC)、CYP2D6*10 杂合突变型(CT)、CYP2D6*10 纯合突变型(TT)抗凝全血样本作为检测样本，提取基因组 DNA 后进行梯度稀释，对系列浓度样本分别进行 3 次重复检测，以各浓度样本均能准确分型的核酸浓度范围做为申报试剂盒的检测范围；对初步确定的检测上限（100ng/μL）和下限浓度（1 ng/μL）分别进行 20 次重复检测，符合率 ≥95%，验证申报试剂盒的检测范围为 1 ng/μL~100 ng/μL，最低检测限为 1 ng/μL。

在交叉反应性能评估中，申请人对与 CYP2D6 的同源基因 CYP2C19、CYP2C9、CYP3A5、CYP1A2、CYP4F2，CYP2D6 基因多态性等位基因 CYP2D6*4、CYP2D6*14、CYP2D6*17、CYP2D6*3、CYP2D6*2、CYP2D6*6、CYP2D6*7、CYP2D6*8、CYP2D6*9、

CYP2D6*29、CYP2D6*35、非人类基因组大肠杆菌、人类血液中存在
的病原体：金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、乙型肝炎病毒、丙型肝炎
病毒、梅毒螺旋体、人类免疫缺陷病毒进行交叉反应评价，结果显示
上述样本中 CYP2D6*4 和 CYP2D6*14 与申报产品产生交叉反应，其
余均不产生交叉反应。

在干扰试验中，申请人选取 CYP2D6*10 野生型(CC)、CYP2D6*10
杂合突变型(CT)、CYP2D6*10 纯合突变型(TT)人静脉全血样本
对高浓度干扰物进行检测，结果表明血红蛋白(200 g/L)、胆红素(684
μmol/L)、甘油三酯(37 mmol/L)、白蛋白(60 g/L)、组织胺(0.1
mg/mL)和外源性干扰物质：EDTA-2Na 抗凝剂(10 mg/mL)、EDTA-2K
抗凝剂(10 mg/mL)、柠檬酸钠抗凝剂(160 mg/mL)以及治疗性药
物(美托洛尔、比索洛尔、他莫昔芬、氯沙坦、卡托普利、硝苯地平、
氢氯噻嗪)对本产品的检测结果无干扰。

在准确度性能评估中，申请人对企业准确性参考品(P1-P6)以及
CYP2D6*10 野生型(CC)、CYP2D6*10 杂合突变型(CT)、CYP2D6*10
纯合突变型(TT)三种基因型的临床样本进行准确性验证，检测结果
均为相应基因型别，符合率为 100%，符合试剂盒准确性要求。

在精密度性能评估中，申请人对浓度约为 5ng/μL 和 20ng/μL 的
CYP2D6*10 野生型(CC)、CYP2D6*10 杂合突变型(CT)、CYP2D6*10
纯合突变型(TT)人静脉全血临床样本进行了 20 天的精密度研究，
结果表明各浓度的样本均检出，批内、批间、日内、日间、不同操作
者之间的检测结果均一致，分型准确，表明申报试剂盒重复性良好。

(四) 阳性判断值研究

申请人通过对 228 例人静脉全血样本，进行检测的结果分析，最终确定申报产品的 QV 值 (Quality Value) 为 95。申请人进一步验证设定 QV 值的合理性。结果显示申报产品与对比试剂检测结果符合率良好，QV 值设置为 95 合理可靠。

(五) 稳定性研究

申请人对产品的稳定性研究包含实时稳定性、加速稳定性、使用稳定性 (冻融、开瓶稳定性)、运输稳定性等进行研究。

实时稳定性研究：将申报产品储存于 $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 条件下，分别于 0 月、3 月、6 月、9 月、10 月、11 月、12 月对外观、准确性、特异性、最低检测限、重复性、批间差等进行考察，各项指标均符合要求。为保证试剂盒的扩增效率及稳定性，确定产品在规定的储存条件下，可稳定保存 9 个月。

此外，申请人对产品加速稳定性、冻融稳定性、开瓶稳定性、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

申请人在珠海市人民医院、山西白求恩医院、贵州省人民医院和海南医学院第一附属医院共 4 家机构完成了临床试验。采用试验用体外诊断试剂与已上市同类产品进行比较研究试验，确认本产品的临床性能。共纳入统计 744 例病例，均为高血压患者，样本类型为抗凝静脉全血。入组样本中，针对 c.188 C>T 位点，其中 CC 型 163 例，CT

型 302 例，TT 型 276 例，阴性 3 例，并对阴性样本进行了测序复核，阴性样本为 CYP2D6 基因缺失型。

试验结果显示，本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：CC 型 99.39%(95%CI: 96.61%，99.89%)，CT 型 100%(95%CI: 98.74%，100%)，TT 型 100%(95%CI: 98.63%，100%)，阴性符合率 100%。综上所述，该产品临床试验设计符合《体外诊断试剂临床试验技术指导原则》的相关要求，临床试验结果显示该产品与对比方法一致性较好，临床性能满足临床需求。

四、产品受益风险判定

本产品根据 YY/T 0316-2016 医疗器械风险管理对医疗器械产品的安全风险分析方式，对本产品进行风险分析。

(一) 受益评估

本产品适用于体外定性检测人静脉全血样本基因组 DNA 中 CYP2D6 基因 C188T 位点的多态性，为临床医生调整高血压治疗药物-β 受体拮抗剂药物（如美托洛尔）提供用药指导依据。本试剂盒检测结果仅供临床参考，不能作为临床用药调整的唯一依据，临床医生应结合病例的实际情况及多方检查结果进行综合判断。其临床应用的主要受益在于：产品可以作为 β 受体拮抗剂药物（如美托洛尔）的用药指导试剂，对需要用药人群进行基因检测，从而使 CYP2D6 基因 C188T 位点不同基因型的患者获得合适的药物用量，降低药物引起的心率过缓风险。

(二) 风险评估

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.预期用途：本试剂盒适用于体外定性检测人静脉全血样本基因组 DNA 中 CYP2D6 基因 C188T 位点的多态性。

CYP2D6 基因 C188T 位点检测，与 β 受体拮抗剂药物（如美托洛尔）用药相关，建议患者使用美托洛尔等临床应用药物前，进行 CYP2D6 基因 C188T 位点多态性检测。

本产品检测结果仅代表 CYP2D6 基因 C188T 位点多态性检测，不能作为临床用药调整的唯一依据，临床医生应结合病例的实际情况及多方检查结果进行综合判断。本试剂盒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。

2.警示及注意事项：该试剂盒说明书中明确了该试剂盒检测方法的局限性及使用中的注意事项。

综合评价意见

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。

2024 年 1 月 5 日

附件：产品说明书

人类 CYP2D6 基因分型检测试剂盒 (PCR-荧光探针法) 说明书

【产品名称】

人类 CYP2D6 基因分型检测试剂盒 (PCR-荧光探针法)

【包装规格】

大包装, 20 人份/盒; 大包装, 48 人份/盒。

【预期用途】

本试剂盒适用于体外定性检测人静脉全血样本基因组 DNA 中 CYP2D6 基因 C188T 位点的多态性。

细胞色素 P450 2D6 (CYP2D6) 是人体中重要的药物代谢酶之一, 而其基因多态性是引起个体间和种族间对同一药物表现出不同代谢能力的重要原因之一。CYP2D6 基因在不同种族间发生多态性的位点存在明显差异, 亚洲人主要为 CYP2D6 基因 C188T 位点突变。CYP2D6 野生型定义为 CYP2D6*1, CYP2D6 基因 C188T 位点突变型定义为 CYP2D6*10。CYP2D6 基因 C188T 位点多态性可表现为 3 种基因型: CYP2D6*1/*1 野生型、CYP2D6*1/*10 杂合突变型和 CYP2D6*10/*10 纯合突变型, 其中 CYP2D6*10 频率在中国人中为 48%~70%^[1]。CYP2D6 与多种心血管药物和 β 受体拮抗剂^[2]有关, 如美托洛尔^[3,4]、他莫昔芬、阿米替林和异喹胍等, 同时在一些钙离子通道阻滞剂和 HMG-CoA 还原酶抑制剂的氧化过程中起重要作用。中国药物代谢酶和药物作用靶点基因检测技术指南(试行)^[4]提到 CYP2D6 基因 C188T 位点突变可引起蛋白酶第 34 位脯氨酸被丝氨酸替换, 导致酶活性下降, 从而影响美托洛尔^[1,5]等多种重要临床应用药物的代谢。CYP2D6 基因 C188T 位点检测, 与 β 受体拮抗剂药物 (如美托洛尔) 用药相关, 建议患者使用美托洛尔等临床应用药物前, 进行 CYP2D6 基因 C188T 位点多态性检测。

本产品检测结果仅代表 CYP2D6 基因 C188T 位点多态性检测, 不能作为临床用药调整的唯一依据, 临床医生应结合病例的实际情况及多方检查结果进行综合判断。本试剂盒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。

【检验原理】

本试剂盒针对人类基因组 DNA 中 CYP2D6 基因 C188T 位点的单核苷酸多态性 (Single Nucleotide Polymorphisms, SNP) 设计特异性引物和探针, 配以热启动 DNA 聚合酶等成分组成核酸扩增试剂, 使用荧光 PCR 仪进行 PCR 扩增, 并检测荧光信号, 根据野生型和突变型检测结果在荧光值上的差异实现对样本型别的检测。

本试剂盒添加了相关的防污染组分 (尿嘧啶 DNA 糖基化酶, 即 UDG/UNG 酶), 其作用机理是选择性水解断裂含有 dU 的双链或者单链 DNA 中的尿嘧啶糖苷键, 形成的有缺失碱基的 DNA 链, 在碱性介质以及高温下会进一步水解断裂, 从而被消除。

【主要组成成分】

组分名称	规格	数量	主要成分	
PCR 检测试剂 (适用于大包装, 20 人份/盒)	CYP2D6*10 PCR 反应液 A	160 μ L/管	1	特异性引物和探针
	CYP2D6*10 PCR 反应液 B	200 μ L/管	1	热启动 Taq 酶、UDG 酶和 dNTPs、热启动 Taq 酶稀释液
PCR 检测试剂 (适用于大包装, 48 人份/盒)	CYP2D6*10 PCR 反应液 A	384 μ L/管	1	特异性引物和探针
	CYP2D6*10 PCR 反应液 B	480 μ L/管	1	热启动 Taq 酶、UDG 酶和 dNTPs、热启动 Taq 酶稀释液
质控品 (适用于大包装, 20 人份/盒及大包装, 48 人份/盒)	CYP2D6*10 阳性质控品 1	50 μ L/管	1	CYP2D6*10 野生型细胞核酸
	CYP2D6*10 阳性质控品 2	50 μ L/管	1	CYP2D6*10 杂合突变型细胞核酸
	CYP2D6*10 阳性质控品 3	50 μ L/管	1	CYP2D6*10 纯合突变型细胞核酸
	阴性质控品	400 μ L/管	1	纯化水

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: 本公司生产的核酸提取或纯化试剂 (粤穗械备 20170666 号)。

(3) 阳性质控品说明: CYP2D6*10 阳性质控品均为人工体外培养细胞提取的核酸, 使用时应视为具有潜在传染性的物质, 操作和处理均需符合相关法规要求。

【储存条件和有效期】

试剂盒保存于 $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$, 有效期 9 个月。

试剂盒应避免反复冻融, 反复冻融次数不超过 8 次; 在 $2 \sim 8^{\circ}\text{C}$ 下可以保存 14 天; 在 37°C 下可以保存 96 小时; 开瓶后保存于 $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 。

试剂盒生产日期和有效期见产品标签。

【适用仪器】

ABI 7500 (软件版本: V2.4)。

【样本要求】

1. 适用样本类型：人静脉全血。
2. 样本采集：抽取受检者静脉全血不少于 1.5 mL 注入 EDTA 或柠檬酸钠抗凝管中，立即轻轻颠倒玻璃管混合 5~10 次，使抗凝剂与静脉血充分混匀，密闭送检。
3. 样本的保存和运送：可立即用于核酸提取；在 2~8℃ 保存期不超过 4 周；在 -20±5℃ 保存期为 12 个月；在 -80±5℃ 保存期为 2 年；应避免反复冻融，冻融不超过 10 次。

【检验方法】

1. PCR 试剂准备（试剂准备区）

从试剂盒中取出 CYP2D6*10 PCR 反应液 A、CYP2D6*10 PCR 反应液 B、阴性质控品、CYP2D6*10 阳性质控品 1、CYP2D6*10 阳性质控品 2、CYP2D6*10 阳性质控品 3，室温融化后振荡混匀，8,000 rpm 瞬时离心后使用。

CYP2D6*10 PCR 反应管体系配制

组分	CYP2D6*10 PCR 反应液 A (μL)	CYP2D6*10 PCR 反应液 B (μL)	总体积 (μL)
N 人份用量	(N+4) × 8 μL	(N+4) × 10 μL	(N+4) × 18 μL

将 CYP2D6*10 PCR 反应液 A 与 CYP2D6*10 PCR 反应液 B 充分混合配制成相应的 CYP2D6*10 PCR 反应管，瞬时离心，以使管壁上的液体全部离心至管底，取 18 μL 的扩增体系分装到每个 PCR 反应管中。

备注：“N”代表待检测样本数；“4”代表质控品个数。

2. 样本处理和核酸提取（样本处理区）

- 1) 核酸提取使用本公司生产的核酸提取或纯化试剂（粤穗械备 20170666 号）。
- 2) 建议采用分光光度计（NanoDrop2000 微量分光光度计或其他分光光度计仪器）对提取后的核酸进行检测，浓度应不高于 100 ng/μL（若高于 100 ng/μL 稀释后再加样）。按试剂盒步骤提取的基因组 DNA，可立即加样或置于 -20±5℃ 保存不超过 24 个月。避免反复冻融，冻融不超过 10 次。
- 3) 本试剂盒中的阴性质控品需参与核酸提取。

3. 加样（样本制备区）

往分装有 18 μL 扩增体系的 PCR 反应管中按顺序分别加入阴性质控品、CYP2D6*10 阳性质控品 1、CYP2D6*10 阳性质控品 2 和 CYP2D6*10 阳性质控品 3、待测样本核酸（核酸浓度为 1~100 ng/μL，推荐浓度为 20 ng/μL）各 2 μL，使各反应总体积为 20 μL。盖紧管盖，8,000 rpm 瞬时离心后转移至扩增检测区。

4. PCR 扩增（扩增检测区）

4.1 将 PCR 反应管放入仪器样品槽内。

4.2 仪器设置

- 1) 打开 ABI 7500 软件，点击“New Experiment”新建一个实验，“instrument”设置为“7500 (96 wells)”，“type of experiment”设置为“Genotyping”，“reagents”设置为“TaqMan® Reagents”，“ramp speed”设置为“Standard (~2 hours to complete a run)”，确认仪器设置为“Pre-PCR Read”、“Amplification”和“Post-PCR Read”。
- 2) 在“Plate Setup”窗口，点击“Creat New Snp Assay”，选中 SNP Assay1 后，点击“Edit▼”，编辑 SNP Assay，按下表设置命名，按样本对应顺序在“Task”设置阴性质控（Negative control）、未知样本（Unknown）、CYP2D6*10 阳性质控品 1（Positive Control Allele 1/Allele 1）、CYP2D6*10 阳性质控品 2（Positive Control Allele 1/Allele 2）和 CYP2D6*10 阳性质控品 3（Positive Control Allele 2/Allele 2），并在“Sample Name”一栏中设置样本名称。选择参比荧光（Passive Reference）为 ROX。

SNP Assay Name	CYP2D6*10	Assay ID			
Allele 1 Name or Base(s)	野生型	Reporter	FAM	Quencher	NFQ-MGB
Allele 2 Name or Base(s)	纯合突变型	Reporter	VIC	Quencher	NFQ-MGB

- 3) 打开 Run Method 窗口，设置反应体积为 20 μL，并设置循环条件如下：

步骤	温度	时间	循环数	备注
1	60℃	30 秒	1×	收集荧光
2	95℃	5 分钟	1×	
3	95℃	15 秒	40×	/
	60℃	1 分钟		收集荧光
4	60℃	30 秒	1×	收集荧光

- 4) 设置完成后，保存文件，运行程序。

5. 结果分析

运行结束后自动保存结果，点击 Analysis，选择 Allelic Discrimination Plot 窗口，自动获得分析结果。

6. 质量控制

6.1. 阴性质控品

阴性质控品检测结果为阴性，位于等位基因分型散点图左下角，为黑色正方形。

6.2. CYP2D6*10 阳性质控品

CYP2D6*10阳性质控品1：检测结果为CYP2D6*1/*1野生型，等位基因分型散点图上为红色图形（靠近X轴）。

CYP2D6*10阳性质控品2：检测结果为CYP2D6*1/*10杂合突变型，等位基因分型散点图上为绿色图形（靠近对角线）。

CYP2D6*10阳性质控品3：检测结果为CYP2D6*10/*10纯合突变型，等位基因分型散点图上为蓝色图形（靠近Y轴）。

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。

7. 结果判断

CYP2D6 基因 C188T 位点基因分型检测结果：野生型为等位基因分型散点图上的红色图形（靠近 X 轴），杂合突变型为等位基因分型散点图上的绿色图形（靠近对角线），纯合突变型为等位基因分型散点图上的蓝色图形（靠近 Y 轴），具体如图 1 所示。具体结果判读如下表 1。

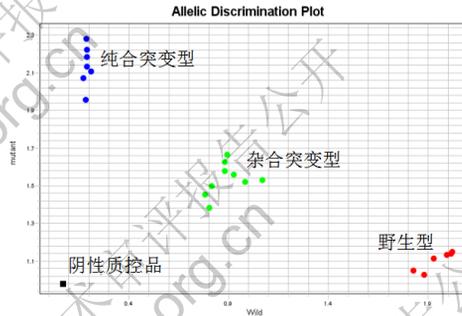


图 1 正常结果判读图

表 1 散点图样本分型结果

分型结果	ABI7500 散点图
CYP2D6*1/*1	红色 ●
CYP2D6*1/*10	绿色 ●
CYP2D6*10/*10	蓝色 ●
Undetermined	黑色 ×

【阳性判断值】

通过临床样本的检测，基于 PCR 扩增的荧光值差异结合 ABI7500 的随机软件的分析功能，设置仪器的 Quality Value 为 95，仪器可自动给出分析结果。

【检验结果的解释】

1. 若阴性质控品检测结果不是位于等位基因分型散点图左下角的黑色正方形，可能是由于存在环境污染、试剂污染、PCR产物污染或样本间交叉污染等导致，建议排除污染原因后重新检测。
2. 若检测的样本分型为×，则可能是由于样本存在污染、核酸浓度不在本试剂检测浓度范围内或核酸样本中不含目的检测片段，需确认污染问题或者调整样本核酸浓度重新检测。若重新检测仍为×，本试剂盒无法判定。

【检验方法的局限性】

1. 本试剂盒检测核酸浓度范围为1~100 ng/μL，低于最低检测限或高于最高检测浓度的样本本试剂盒无法给出正确的分型结果。
2. 使用本试剂盒单次检测样本例数应≥2，单次只检测1例样本时建议做复孔检测。
3. 当检测的样本分型为×Undetermined，若重新检测仍为×，结果可能为阴性或无法判定，本试剂盒无法判定。
4. 本试剂盒除上述提及的CYP2D6基因C188T位点外，不能检测未在本试剂盒设计范围内的CYP2D6基因的其他位点。
5. CYP2D6*4、CYP2D6*14及其他包含C188T位点的基因多态性，使用本试剂盒检测会判读为CYP2D6*10基因型。
6. 样本检测结果与样本收集、处理、运送及保存质量有关，其中任何失误都可能会导致假阴性结果。如果样本处理时没有控制好交叉污染，可能出现分型不准确或图形为×的结果。
7. 本产品检测结果仅代表对CYP2D6基因C188T位点多态性检测，不能作为临床用药调整的唯一依据，临床医生应结合病例的实际情况及多方检查结果进行综合判断。

【产品性能指标】

1. 特异性：检测本试剂盒检测范围外的企业特异性参考品，符合率 100%。
2. 准确性：检测本试剂盒检测范围内的企业准确性参考品，符合率为 100%。
3. 检测范围：本试剂盒可以准确检测 1~100 ng/μL 浓度范围内的样本核酸。

4. 重复性：不同操作人在不同时间段分别用三批次试剂检测各型别样本，结果均为对应基因型。
5. 交叉实验：本试剂盒与CYP2D6的同源基因CYP2C19、CYP2C9、CYP3A5、CYP1A2和CYP4F2不存在交叉反应；与CYP2D6基因多态性等位基因CYP2D6*17、CYP2D6*3无交叉反应；与非人类基因组大肠杆菌无交叉反应；与人类血液中存在病原体：金黄色葡萄球菌（ 10^6 CFU/mL）、肺炎链球菌（ 10^6 CFU/mL）、乙型肝炎病毒（ 1×10^6 IU/mL）无交叉反应。
6. 干扰实验：在本试剂盒的实验条件下，样本中可能存在的内源性干扰物质：血红蛋白（200 g/L）、胆红素（684 μ mol/L）、甘油三酯（37 mmol/L）、白蛋白（60 g/L）、组织胺（0.1 mg/mL）和外源性干扰物质：EDTA-2Na抗凝剂（10 mg/mL）/EDTA-2K抗凝剂（10 mg/mL）、柠檬酸钠抗凝剂（160 mg/mL）、美托洛尔（1.5 μ g/mL）、比索洛尔（600 ng/mL）、他莫昔芬（3 μ g/mL）对样本检测结果均无干扰。
7. 临床评价：在4家临床单位完成744例样本的临床试验，与已经批准上市的同类产品相比：CYP2D6*1/*1野生型符合率为99.39%，CYP2D6*1/*10杂合突变型符合率为100%，CYP2D6*10/*10纯合突变型符合率为100%，本试剂盒总符合率为99.87%，一致性系数（Kappa值）为0.9980。

【注意事项】

1. 本产品适用机型应具有终点荧光法等位基因分型的功能。
2. 本产品仅用于体外检测，结果仅供临床参考，用于辅助指导个体化用药，不得作为临床诊断的唯一依据，实验前请仔细阅读本说明书。
3. 保存不当会影响本试剂的性能进而导致假阴性结果的发生，请严格按照说明书储存条件保存试剂。
4. 本试剂盒CYP2D6*10 C188T位点检测结果分析图的横坐标均为FAM通道，纵坐标均为VIC通道。
5. 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：包括卫生部《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》。
6. 全程应避免DNA酶污染，实验过程中穿工作服，佩戴一次性手套和口罩。在洁净消毒、紫外光杀菌的化学通风橱或生物安全柜完成操作，避免有害物质进入呼吸道。
7. 建议实验室管理应参考PCR基因扩增实验室管理的相关规范且实验人员进行相关专业培训，实验过程可参考分区进行（试剂准备区、样本制备区、扩增检测区），各区各阶段用品不能交叉使用。
8. PCR检测试剂使用前要完全解冻，8,000 rpm离心数秒后使用，但应避免反复冻融。
9. 如果在标本处理中没有控制好交叉污染，可能出现分型不准确或图形为x的结果。
10. 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。
11. 产物处理：PCR结束之后，产物容易引起污染，应由当天不再参与实验的人员将所有反应管放入生物安全垃圾处理袋或其他容器中确认完全封闭后方可丢弃。

【参考文献】

1. Lympelopoulous A, McCrink KA, Brill A. Impact of CYP2D6 Genetic Variation on the Response of the Cardiovascular Patient to Carvedilol and Metoprolol. *Curr Drug Metab.* 2015;17(1):30-6.
2. Blake CM1, Kharasch ED, Schwab M, et al. A meta-analysis of CYP2D6 metabolizer phenotype and metoprolol pharmacokinetics. *Clinical pharmacology and therapeutics.* 2013 ,94(3):394-9.
3. Hamadeh IS, Langaee TY, Dwivedi R, et al. Impact of CYP2D6 polymorphisms on clinical efficacy and tolerability of metoprolol tartrate. *Clinical pharmacology and therapeutics.* 2014 Aug;96(2):175-81.
4. 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 药物代谢酶和药物作用靶点基因检测技术指南（试行）. 2015.
5. 李芹，王睿，郭雅等. 中国人群 CYP2D6 基因多态性对美托洛尔药代动力学的影响，*临床药理学.* 2008,13（7）:786-802.

【基本信息】

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：

售后和服务单位名称：

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】