

《氨基酸和肉碱检测试剂盒（串联质谱法）》行业标准编制说明

一、工作简况

1、任务来源

质谱技术飞速发展，已经在临床上用于各种代谢产物以及蛋白质、多肽、维生素、激素等项目的检测。目前基于液相色谱-串联质谱法的氨基酸和肉碱检测试剂盒已经用于临床检测，但是该类试剂盒没有相应的国家标准或行业标准。

根据国家药监局综合司关于印发 2019 年医疗器械行业标准制修订项目计划的通知药监综械注（2019）23 号，项目编号为：I2019012- zjy，项目名称定为：“氨基酸和肉碱检测试剂盒（串联质谱法）”。标准起草由中国食品药品检定研究院发起，深圳华大基因股份有限公司、广州市达瑞生物技术股份有限公司、珀金埃尔默医学诊断产品（上海）有限公司、北京华大吉比爱生物技术有限公司、广州市丰华生物工程有限公司、中国人民解放军总医院(301 医院)、北京博晖创新生物科技股份有限公司等单位共同参与撰写。主要起草人：曲守方、颜妙丽、吴英松、陈亚洁、李欣、汪勤、田亚平、卢向东、黄杰、于婷。

2、工作过程

本标准于 2019 年 3 月形成工作组草案，2019 年 4 月 4 日在北京召开了工作组启动会，5 月 29 日召开工作组讨论稿研讨会，针对工作组草案和验证方案进行了讨论。会后在 2019 年 6 月至 7 月组织企业对标准进行了验证，并形成征求意见稿。

二、标准编制原则和确定标准主要内容

1、标准制定的意义、原则

质谱技术在临床检测中的逐步推广，国内外越来越多的公司进行了基于液相色谱-串联质谱法的氨基酸和肉碱检测试剂盒的开发和应用。串联质谱技术(tandem mass spectrometry, MS/MS)，能够检测干血滤纸片中的氨基酸谱和酰基肉碱谱，为临床快速诊断氨基酸、有机酸和脂肪酸代谢性疾病提供了技术支持，使得筛查更多严重的遗传代谢病成为可能。串联质谱技术是通过检测样品中物质的质荷比（相对分子质量），对物质进行定性和定量分析，可同时检测血中 70 余种氨基酸和酰基肉碱，并可以对 40 余种氨基酸、有机酸和脂肪酸氧化代谢病进行快速的筛查和诊断。

目前尚无相关的标准对试剂盒的性能及使用进行规范，对临床使用上的风险不易把控。所以需要确认此类产品的技术评价指标，并制定其行业标准对试剂盒进行评估。行业标准的制定将有助于提高并统一产品标准。

本标准编写格式按照 GB/T 1.1-2009《标准化工作导则》的格式要求进行编写。制定的标准应能反映我国氨基酸和肉碱检测试剂盒（串联质谱法）的水平。制定标准时尽可能地做到简化、统一、协调、

优化；既要考虑其先进性，也要考虑到实用性、可行性；既要符合国内外发展的需要，也要结合国内目前的实际状况。

本标准主要内容包括范围、规范性引用文件、分类、要求、试验方法、标签和使用说明书、包装、运输、贮存、资料性附录 A、参考文献。本标准编制时遵守了 GB/T 1.1《标准化工作导则》系列标准确定的规则。本标准在相关技术指标的确定参考了相关文件以及目前市场上产品说明书和性能评估资料，并结合临床要求，确定了本标准。

2、本标准性能指标制定依据，对于有争议指标的处理及验证情况。

对现有氨基酸和肉碱检测试剂盒（串联质谱法）指标进行调研评估，考虑到不同质谱仪器可能存在不同的结果评价指标，因此需要在这些指标中找到具有代表性的通用评价指标，才可以对不同质谱仪器的试剂盒检测结果进行规范性评判，以满足标准制定需要简化、统一的要求。经过研究与分析，选定符合的评价指标，主要包括准确度、线性、重复性（精密度）、灵敏度、质控品测定值。

以上指标即作为本标准评定氨基酸和肉碱检测试剂盒（串联质谱法）的评价指标。

征求意见稿形成前，对标准中以下问题进行了探讨：

1.针对范围 “本标准适用于采用串联质谱法定量检测新生儿滤纸干血片样本中的氨基酸和肉碱的试剂盒” 中的“定量”是否改为“半定量”。标准起草小组认为这个产品其实是一个半定量的试剂盒，其原理是使用含有内标准品的溶液对干血斑进行萃取并分析，每种待测分析物对于内标准品的响应程度与它的浓度成比例，根据内标准品的浓度即可计算分析物的浓度。经讨论后，专家认为还是定义为定量试剂盒，建议不修改。

2.针对 4.2 准确度“a)用参考物质作为样本进行检测，其测量结果的相对偏差应在 $\pm 20.0\%$ 范围内。b)各分析物的回收率应在 80.0%-120.0%之间。” 标准起草小组提出国家参考品的各个分析物能否均能达到相对偏差应在 $\pm 20.0\%$ 范围内，企业参考品的各个分析物能否均能达到 80.0%-120.0%之间，是否需要加注,注明哪些分析物不能达到这个要求。经讨论后，专家和与会代表建议可以先通过验证试验，再进行讨论。

3.针对 4.4.1 批内精密度“各分析物检测结果的 CV (%) 应不大于 20.0%”，个别代表认为范围太宽，建议修改为 15.0%。经讨论会，专家和与会代表认为这个产品一般包括几十种分析物，多项分析物难以保证均能达到 15.0%，建议仍然为 20.0%。

4.针对“灵敏度”，标准起草小组详细介绍了检测方法和来源，提出的问题是该方法是否可行，该方法不同于原国家食品药品监督管理总局 2018 年度的氨基酸、琥珀酰丙酮及肉碱检测试剂（串联质谱法）注册技术审查指导原则（征求意见稿），即应建立能够覆盖所有待测分析物的检测限参考品，参考品中的待测分析物浓度应为检测限浓度，或略高于检测限浓度。该方法是将特制的滤纸干血片样本为测试样本，用不含内标的萃取液进行萃取，获得干血片萃取液；用含内标的溶液进行倍比稀释，将每一个样品重复检测至少 3 次，以内标物/分析物信号

比例值（Y 轴）和血液中内标物理论浓度值（X 轴）线性回归分析， r 值应不低于 0.9900，同时每一比例浓度样品的重复性变异系数应不大于 20.0%，最后一个符合要求的样品中分析物对应的同位素内标理论浓度为分析物灵敏度。专家认为标准中提出的方法已经进行了多个试剂盒的注册检测，经过了验证，可以采纳。

经过验证后形成征求意见稿，收到相关意见后进行修改，并且在 10 月份的研讨会上，提交了标准征求意见及验证情况，与会专家及代表对征求意见稿的标准征求意见进行了全面讨论，形成以下主要意见：

本标准在制定过程中，为了充分验证标准各条款的可操作性和合理性，制定了科学的验证方案，选择国内外的产品进行验证。产品的方法原理覆盖非衍生化和衍生化法等不同的方法学。参与验证的单位是：中国食品药品检定研究院、深圳华大基因股份有限公司、广州市达瑞生物技术股份有限公司、珀金埃尔默医学诊断产品（上海）有限公司、北京华大吉比爱生物技术有限公司、广州市丰华生物工程有限公司、中国人民解放军总医院(301 医院)、北京博晖创新生物科技股份有限公司。经验证，行标中各项指标均可达到标准要求，可操作性强，指标设置科学合理，能够满足临床使用的要求。

三、主要实验（或验证）的分析、综述报告、技术经济论证、预期的经济效果

目前国内外开展了串联质谱法用于氨基酸和肉碱检测试剂盒检测，临床对该试剂盒的需要也越来越强烈。但是由于目前国内外都尚未有标准可供参考，无法对相应试剂盒的性能评价和使用进行规范。因此中国食品检定研究院联合国内外主要生产单位制定相应的行业标准。对于所选择的具体评价指标值的设定，在本标准成稿过程中也被反复斟酌考量。本标准通过综合比较分析选定了现有的标准项目。

我国是出生缺陷的大国，每 30 秒种就有一个缺陷儿出生。新生儿遗传代谢疾病发病率较高，其中苯丙酮尿症发病率为 0.72/万，先天性甲状腺功能低下症发病率为 4.75/万。遗传性代谢病包括氨基酸、有机酸、脂肪酸和糖代谢异常及溶酶体贮积病等。其中，氨基酸代谢病主要是由于氨基酸代谢途径受阻导致体内相应氨基酸水平的增高或降低，其旁路代谢产物有机酸相应增加，对机体造成损伤。有机酸血症是一组遗传代谢病，包括甲基丙二酸尿症、丙酸血症、异戊酸血症、3-甲基巴豆酰辅酶 A 羧化酶缺乏症，生物素酶缺乏症和全羧化酶合成酶缺乏症等 10 余种疾病。由于机体蛋白质、脂肪或糖代谢过程中产生有机酸进一步代谢途径受阻，体内有机酸大量增加，对机体产生危害，体内过多的有机酸一方面与游离肉碱结合，形成不同碳链长度的酰基肉碱，一方面通过尿液排出，患者尿中有机酸水平大量增加。串联质谱通过检测血酰基肉碱水平对有机酸血症进行检测。脂肪酸氧化代谢病是指脂肪酸进入线粒体途径或脂肪酸在 β 氧化过程中，由于所需酶的功能障碍导致脂肪酸氧化受阻所导致的一组疾病。由于这些疾病缺乏特异的临床表现和常规实验室检查方法，诊断比较困难。游离肉碱和酰基肉碱是脂肪酸氧化代谢的必需物质及中间产物，故脂肪酸氧化代谢障碍导致体内游离肉碱或酰基肉碱的增高或减少，故可通过串联质谱检测血中游离肉碱或酰基肉碱水平，根据不同长度碳链的酰基肉碱水平的变化可对脂肪酸代谢病进行筛查和诊断。

新生儿遗传代谢疾病筛查是遗传代谢缺陷病的一种早期诊断和早期防治方法，其根本在于对检出的遗传代谢缺陷病进行治疗。实施新生儿遗传代谢疾病筛查，对遗传代谢缺陷病进行早期诊断和早期防治，缺陷儿在出生后的代谢异常不发生或及早被纠正，不影响婴幼儿智能发育；或先天已发生的损伤不再继续，患儿早期就得到康复；继而维持婴幼儿智能正常发育所需体内环境，从而使缺陷儿获得正常生长发育。

制定本标准的目的在于对遗传代谢病相关的氨基酸和肉碱检测试剂盒标准制定性能验证通则，保证基于干血片样本提取的氨基酸和肉碱质。本标准若经批准实施后，可以规范这个行业，确保企业产品质量，从而更好的确定新生儿是否患有遗传代谢性疾病，为后续的治疗提供更好的依据，确保孩子的健康成长。

四、采用国际标准和国外先进标准的程度，以及与国际、国外同类标准水平的对比情况，或与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况。

目前国际上没有相关产品的官方标准，在标准制定过程中参考了生产企业的产品标准和技术要求。

五、与有关的现行法律、法规和强制性国家标准的关系。

本标准引用了 GB/T 29791.2 体外诊断医疗器械 制造商提供的信息（标示）第 2 部分：专业用体外诊断试剂和 GB/T 191 包装储运图示标志两个标准。

六、重大分歧意见的处理经过和依据。

无。

七、行业标准作为强制性行业标准或推荐性行业标准的建议。

该标准申报时为推荐性标准，同时，由于测序技术发展日新月异，方法学的进步可能会带来相应产品技术指标的提高，制造商在制定产品标准的过程中应参考该标准，同时，鼓励大家通过不断完善产品，不断提高产品的性能。国家食品药品监督管理局以推荐性标准下达了项目计划（项目编号为：I2019012-T-zjy），本标准按计划实施。

八、贯彻行业标准的要求和措施建议（包括组织措施、技术措施、过渡办法等内容）

建议在本行业标准发布后一年内进行宣贯，宣贯对象是企业、医学实验室、省市药局等相关部门。

九、废止现行有关标准的建议

无

十、其他应予说明的事项。

无

标准起草工作组
2019年7月12日