

《一次性使用人体静脉血样采集容器中添加剂量的测定方法

第 6 部分：咪唑烷基脲》标准编制说明

一、工作简况

1、任务来源

根据国家药监局综合司药监综械注〔2019〕23 号文《关于印发 2019 年医疗器械行业标准制修订项目计划的通知》，由全国医用输液器具标准化技术委员会归口，中国食品药品检定研究院中心负责制定《一次性使用人体静脉血样采集容器中添加剂量的测定方法 第 6 部分：咪唑烷基脲》行业标准（项目编号：N2019059-JN）。

2、工作过程

在接到标准制定任务后，起草小组认真查阅资料，经过前期开展的调研与预实验，中检院根据《一次性使用人体静脉血样采集容器中添加剂量的测定方法》第 1-4 部分起草标准草案稿，经过中检院、山东中心、康为世纪公司、阳普公司 4 家单位的充分验证，并于 2019 年 1 月 15 日，召开采血管工作组第一次视频会议，对草案稿进行进一步修改。2019 年 7 月 10 日召开第二次工作组会议，总结验证工作情况，并对本方法的线性范围也进行了多次调整，以适用于不同的仪器设备，最终确定了 0~0.8mg/mL 的范围，同时对同类产品重氮烷基脲的测定做了备注，以利于同类添加剂的检测。修改完成后形成标准征求意见稿。

.....

二、标准编制原则和确定标准主要内容的论据

1、标准制定的意义

本标准是对 YY0314-2007《一次性使用人体静脉血样采集容器》标准的补充完善。YY0314 规定了带有添加物、添加剂和塞子的用于装样品的真空或非真空器皿性能要求。由于采血管中添加剂的多样性和复杂性，YY 0314-2007 参考 NCCLS 和 ISO6710:1995 以资料性附录形式给出了各种添加剂浓度指标，而未给出每种添加剂的测定方法，因此制造商需要根据所生产产品添加剂的种类建立检验方法。这就造成实际检测中添加剂测定方法不统一，不同的方法测得的添加剂浓度存在差异。尤其是甘氨酸和咪唑烷基脲，目前没有标准方法，给该产品的检验造成困难。

随着胎儿游离 DNA（cell-free fetal DNA, cffDNA）和肿瘤游离 DNA

(cell-free tumor DNA, ctDNA) 在孕妇和肿瘤患者体内的发现，临床上对应了 2 个火热的领域：无创产前检测和肿瘤的液态活检。对 cffDNA 的检测已经覆盖很多方面，尤其是染色体整倍型的分析，截止目前已经在全球范围内广泛进行。随着 cffDNA 对于无创产前检测明确的临床意义和随之而来商业上的成功，近几年来也开始聚焦 ctDNA 在肿瘤液态活检中的种种应用。游离 DNA 的用途广泛，可直接应用于下游检测，如荧光定量 PCR、数字 PCR 和高通量测序等，在目前正在申报的试剂盒中，有许多涉及循环血液游离 DNA 的样本，如癌症液态活检。因此，游离 DNA 的保存质量对检测结果起重要作用，在运输、保存过程中，既要防止血浆中的核酸酶对游离 DNA 的降解，又要避免血液有核细胞中基因组 DNA 的释放。因此，保存管中添加核酸酶抑制剂以及有核细胞保护剂是必须的。目前，上市的一次性真空采血管较多，但未查到获批的针对游离 DNA 保存的采血管，意味着目前市场上的具备游离 DNA 保存的采血管大都处于无证状态，各检测结构在进行高通量测序检测或其他使用游离 DNA 样本时使用的游离 DNA 保存管均处于不被监管的状态，属于监管漏洞。目前尚没有针对游离 DNA 保存管的评价方法。我们在接收的注册检验中，也是发现了企业在制定技术要求时，由于缺乏可参考的方法，有的故意回避该项检验，只作为常规采血管进行。常规添加的核酸酶抑制剂为咪唑烷基脲，目前尚没有针对游离 DNA 保存管添加该成分的检测方法。本标准制定将统一检测方法，规范行业要求，便于产品质量控制，为采血管的市场监管提供有效的技术支持。

2、确定标准主要内容的依据（以下条款号与标准条款号一致）

方法原理：本法系用汉栖反应（Hantzsch Reaction）原理测定甲醛的含量以当量咪唑烷基脲含量。咪唑烷基脲水溶液中存在尿囊素和甲醛的缩合片段，在 Nash's 试剂中会分解释放出甲醛。甲醛在接近中性的乙酰丙酮、铵盐混合液中，生成黄色的产物[3,5-二乙酰基-1,4-二氢二甲基吡啶（DDL）]，该产物在波长 412nm 处的吸光度与甲醛含量成正比，根据供试品的吸光度，计算供试品的游离甲醛含量，从而当量咪唑烷基脲的含量。

本标准为试验方法标准，给出了一次性使用采血管中添加剂咪唑烷基脲浓度的测定方法：乙酰丙酮比色法。本标准适用于含咪唑烷基脲添加剂的一次性使用采血管。

常见规格:

序号	规格	采血量	添加剂
1	13×75mm	1ml	
2	13×75mm	2ml	
3	13×75mm	3ml	
4	13×75mm	4ml	
5	13×75mm	5ml	
6	13×100mm	5ml	
7	13×100mm	6ml	
8	13×100mm	7ml	
9	16×100mm	10ml	
10	13×75mm	1ml	
11	13×75mm	2ml	
12	13×75mm	3ml	EDTA-K ₃
13	13×75mm	4ml	EDTA-K ₃
14	13×75mm	5ml	EDTA-K ₃
15	13×100mm	5ml	EDTA-K ₃
16	13×100mm	6ml	EDTA-K ₃
17	13×100mm	7ml	EDTA-K ₃
18	16×100mm	10ml	EDTA-K ₃
19	13×75mm	2ml	EDTA-Na ₂
20	13×100mm	5ml	EDTA-Na ₂

3 乙酰丙酮比色法 (条款号与标准中一致)

标准中茚三酮法为中检院提供, 从方法学确认验证结果看:

- a、线性范围试验, $r > 0.9900$, 相关性良好。
- b、精密度试验: $RSD < 5\%$ 。
- c、准确性试验: 回收率 $> 90\%$ 。

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。

详见验证报告。

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。

目前国内外暂无相关标准。

五、与有关的现行法律、法规和强制性国家标准的关系。

本部分与有关的现行法律、法规和强制性国家标准无冲突和交叉。

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。

本标准与方法标准，是满足基础通用的要求，建议作为推荐性行业标准上报、实施。建议本标准自发布之日起后 12 个月开始实施，便于标准使用时，尤其相关产品注册时，实现顺利过渡。

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）

标准发布后视各方反映情况，可以举办培训班来指导标准的实施。

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 10 日