附件1：

定量检测试剂性能评估注册技术审查指导原则

(征求意见稿)

本指导原则旨在指导注册申请人对定量检测试剂性能评估注册申报资料的准备及撰写，同时也为技术审评部门审评注册申报资料提供参考。

本指导原则是对定量检测试剂性能评估的一般要求，申请人应依据产品的具体特性确定其中内容是否适用，若不适用，需具体阐述理由及相应的科学依据，并依据产品的具体特性对注册申报资料的内容进行充实和细化。

本指导原则是供申请人和审查人员使用的指导性文件，但不包括注册审批所涉及的行政事项，亦不作为法规强制执行，如果有能够满足相关法规要求的其他方法，也可以采用，但需要提供详细的研究资料和验证资料，相关人员应在遵循相关法规的前提下使用本指导原则。

本指导原则是在现行法规、标准体系及当前认知水平下制定的，随着法规、标准的不断完善和科学技术的不断发展，本指导原则相关内容也将适时进行调整。

一、适用范围

本指导原则所述定量检测试剂是指可测量分析物的量或浓度并以适当单位的数字量值表达结果的试剂，其产品预期用途一般描述为“本产品用于体外定量检测某样本中的某分析物”。本文件不适用于定性或半定量检测试剂，包括基于量值检测并通过阈值判断结果的定性试剂。

申请人应根据产品特性选择科学合理的方法进行性能评估，可参考具体产品的注册技术审查指导原则。本文件是对定量检测试剂性能评估资料的通用要求。

本指导原则适用于进行相关产品注册和许可事项变更的性能评估，包括申报资料中的部分要求，其他未尽事宜，应当符合《体外诊断试剂注册管理办法》（国家食品药品监督管理总局令第5号，以下简称《办法》）等相关法规要求。

二、技术审查要点

（一）分析性能评估的总体要求

1. 试剂要求

主要原材料和生产工艺经过选择和确认后，在有效质量管理体系下生产的质量稳定的体外诊断试剂产品，方可进行性能评估，用于注册申报。实验室研究阶段的性能资料仅作为研发过程的支撑，不可用于性能评估资料提交。

2. 操作要求

操作者应能正确、熟练地进行试剂、方法及样本相关的操作，按照产品说明书等相关要求进行校准和质控程序，质控符合要求后，按试验方案进行试剂的性能评估。

3. 适用机型的要求。

如试剂用于不同适用机型，需要在不同机型上分别进行性能评估。但并不意味着，每个适用机型均采用相同的性能评估试验方案，对于某些性能，可采用主机型进行充分的性能研究，其他机型采用验证的试验方案进行，具体要求见（二）分析性能评估的项目具体要求。但对于主机型的判断，应有充分依据。

4. 试剂批次要求

针对性能评估的每个项目，均应采用至少三批产品进行，以充分研究确定产品性能。

5.不同包装规格的要求。

如试剂包括不同包装规格，需对不同包装规格间的差异进行分析或验证。如不同规格间存在性能差异，需采用每个包装规格产品进行性能评估；如不存在性能差异，需要详细说明不同规格间的差别。

6. 样本要求

进行分析性能评估所采用的样本/样本基质应尽量与预期适用的临床真实样本一致。如需对临床样本进行稀释或添加，应不显著影响样本基质。稀释时应采用低浓度的临床样本或经验证基质效应的稀释液；添加分析物时，加入体积应尽可能少（原则上少于总体积的10%）；添加干扰/交叉物质时，应尽量使用接近体内循环形式的样品（加入体积不超过5%）或纯品。如果特定的临床样本难以获得，可采用其他合适的替代样本，例如标准菌株或毒株、临床分离培养物、细胞系等。所用样本的稳定性应符合实验要求。

（二）分析性能评估的项目具体要求

定量检测试剂的分析性能评估包括正确度、精密度、线性、空白限、检出限与定量限、分析特异性等。其中正确度、精密度与产品的准确度（accuracy）有关，准确度指一个测得量值与一个真量值间的一致程度，体现测量的总误差。

申请人应设计合理的试验方案，对各项性能进行充分研究。各项性能可单独设计试验，亦可在一个试验中研究两个或多个性能。下面将对各性能的要求逐一进行介绍。

1. 正确度

正确度（trueness）指无穷多次重复测量所得量值的平均值与一个参考量值间的一致程度。正确度由系统测量误差决定，通常用偏倚表示。根据检测试剂的实际情况，参考物质及参考方法的可获得性，申请人可选择下述方法进行正确度评价，一般建议优先选择1.1或1.2方法。如产品适用于多个机型，每个机型均应进行正确度的研究。

1.1使用参考物质的正确度评价。

推荐的参考物质包括：具有互换性的有证参考物质/公认的参考品、标准品，参考测量程序/参考方法赋值的临床样本。参考物质的值可作为参考量值，评估试剂检测结果的偏倚。不可采用申报试剂定值的质控品进行正确度评价，因其定值无法作为参考量值。

采用至少两个水平的参考物质，代表试剂测量范围的高、低浓度，进行重复检测（至少3～5重复）。

1.2使用患者样本的正确度评价

使用患者样本的正确度评价需要选取合理的比较方法，首选参考方法，如果参考方法难以获得，可选择比申报试剂具有更低不确定度的其他方法。申报试剂和比较方法同时检测患者样本，通过比较两种方法之间的系统误差，进行申报试剂的正确度评价。应在多天进行检测，患者样本的浓度水平应覆盖申报试剂的测量范围并尽量均匀分布。

1.3回收试验

对于可获得标准溶液/高浓度参考物质或被测物纯品的试剂，可采用回收试验进行正确度评价。将标准溶液/高浓度参考物质或被测物纯品加入临床样本中，配制成回收样品，进行检测。标准溶液/高浓度参考物质的体积与临床样本的体积比应不会产生基质的变化，一般前者体积不超过总体积的10%。

检测至少三个水平的回收样品，代表试剂测量范围的高、中、低浓度，其中一份回收样品的浓度在医学决定水平附近。每个浓度重复检测（至少3～5重复）。

2. 精密度

精密度（precision）是指在规定条件下，对同一或类似被测对象重复测量所得标示值或测量值间的一致程度。精密度由随机测量误差决定，通常用标准差、方差或变异系数表示。精密度包括重复性、中间精密度和再现性。影响精密度的因素包括：操作者、试剂批次、校准（校准品批次，校准周期）、运行/分析批（run）、时间、设备、地点、环境条件（实验室温度、湿度、空气质量、管理等条件）等。

重复性又称批内精密度，表示上述影响因素变化最小的情况（上述影响因素均不变），即相同操作者、相同试剂、相同操作条件、相同设备、相同地点，并在短时间段内完成检测。

再现性又称实验室间精密度，表示上述影响因素变化最大的情况，即不同地点、不同操作者、不同设备。

重复性和再现性是精密度的两种极端情形，在这两种极端情形之间的精密度，称为中间精密度（相同地点、不同时间、其他影响因素亦可发生变化），日间精密度，设备内精密度、实验室内精密度均属于中间精密度。

精密度研究中应至少在每个适用机型上进行重复性、日间精密度和批间差的研究，同时根据影响因素的重要性分析，进行其他中间精密度和/或再现性研究。不必对每个影响因素单独评估，可采用多因素整合的嵌套设计进行实验。

建议采用2～5个水平的样本进行精密度的研究，代表试剂测量范围的不同浓度，应有医学决定水平附近的样本。精密度研究可能涉及多天、多地点检测，应确保样本的稳定性和一致性，可将样本等分保存。

3. 测量区间

申请人应评估试剂的线性区间与测量区间。

线性（linearity）是给出与样品中被测量的值直接成比例的测得量值的能力。线性区间（linear range）指覆盖检测系统可接受线性关系的范围，非线性误差小于设定标准。

当建立试剂的线性区间时，需要7到11个不同浓度的样本（建议用高值和低值浓度的样本按比例精确配制），建议比预期的线性区间宽20～30%，每个浓度样本检测2～4次。评价检测结果是否呈线性可采用多项式回归的统计方法，或根据产品特性选择其他方法。逐渐减少浓度点，直到有可接受的线性区间。精密度水平的优劣会影响线性关系的评价，因此在评价线性时，建议纳入重复性的检查。

如果试剂具有多个适用机型，应至少对主机型进行线性区间的建立，对其他适用机型，可进行线性区间的验证，即采用5到7个不同浓度的样本，覆盖整个线性区间，每个浓度样本检测2次。

在线性区间确定后，应进一步明确产品的测量区间（measuring interval）。测量区间是指在规定条件下，由具有一定的仪器不确定度的测量仪器或测量系统能够测量出的一组同类量的量值。测量区间内所有检测结果的总误差应限定在一个特定范围内（达到预设准确度要求）。测量区间的下限可为定量限，不应为检出限。

如对高浓度样本可进行稀释后检测，应研究可用的稀释液和最大可稀释倍数，从而确定试剂的可报告区间。

4. 分析灵敏度

定量检测试剂的分析灵敏度包括空白限（LoB）、检出限（LoD）与定量限（LoQ），是评估该试剂检测区间下限的指标。LoB指空白样本的检测上限，即空白样本可能测得的最高检测结果。LoD指可持续检出待测物的最低浓度。LoQ指达到预设准确度要求时可测量的最低待测物浓度。LoB永远低于LoD，而LoD则低于或等于LoQ。

为充分体现产品的检测区间下限，可能需要使用上述1个、2个或全部指标，对于定量检测试剂，一般应至少研究LoQ。对于某些产品，LoB、LoD和LoQ的概念并不适用，其检测区间下限由其他标准设定，申请人可根据产品的具体情况选择其适用的研究方法；如果产品无需研究检测区间下限，应有充分理由。

4.1 空白限、检出限与定量限的建立

LoB一般由多个空白样本的检测结果，经计算获得；LoD一般由多个低浓度（含有分析物）样本的检测结果，结合LoB进行计算获得，应根据具体产品的原理、检测结果差异和分布，选择合适的模型和分析方法（非参数/参数数据）进行计算。对于空白样本检测结果为阴性或零，LoD浓度样本在预设概率的情况下（例如95%）检测结果为阳性的试剂，例如检测感染病原体的分子测量试剂，及其他使用PCR技术的核酸检测试剂，其LoD可采用对多个已知待测物浓度的样本进行系列稀释后重复检测的方法（例如95%阳性检出率），而不需依赖LoB的值进行计算。对于分子测量试剂的检测区间下限进行评价时，应纳入所有代表型别的样本，分别计算各基因型的LoD估计值，取最大值作为整个测量系统的LoD。罕见基因型可纳入LoD建立过程中，亦可在验证过程中进行确认。

LoQ应考虑总误差（偏倚和精密度）的要求。偏倚可通过检测具有可接受参照值的样本或回收试验进行估计，所以需获得已知浓度的低水平样本，例如有证参考物质（公认的参考品/标准品），或经参考测量程序/参考方法确定浓度的样本。如涉及将样本稀释至低浓度水平，应确保稀释液不引起基质效应，且在低浓度区间呈线性。精密度的估计可根据检测试剂及其应用确定其影响因素，一般应至少包括重复性和日间精密度。

在某些情况下，如无法在合适的低水平待测物浓度下确定偏倚，可采用其他合理的替代方法评估LoQ，例如研究试剂精密度达到固定要求时的最低待测物浓度。因替代方法未考虑偏倚的要求，本文件不推荐采用，建议仅在无法确定偏倚时采用替代方法，并且应设置较为严格的精密度要求。

LoB，LoD，LoQ的研究需选择多个样本（空白样本、低浓度水平样本、已知浓度的低水平样本），在多天内进行研究。如果试剂具有多个适用机型，应至少对主机型进行检测区间下限的研究，对其他适用机型，可按照4.1进行研究，亦可根据4.2进行验证。

4.2空白限、检出限与定量限的验证

LoB，LoD，LoQ的验证，每个项目需选择至少2个样本（空白样本、检出限浓度样本、定量限浓度样本），在多天内进行试验。每个试剂批次至少需要获得20个检测结果，计算与4.1研究获得的LoB，LoD，LoQ呈现一致性的检测结果比例，如果比例符合统计学要求/预设的临界值，则LoB，LoD，LoQ得到验证。

5. 高剂量钩状效应

高剂量钩状效应（high dose hook effect）是指在免疫化学测量程序中由相对抗体浓度抗原浓度过量或相对抗原浓度抗体浓度过量时的抗原-抗体交联减少而引起的负偏倚。对适用的产品，应评估是否存在高剂量钩状效应。建议对高浓度样本进行梯度稀释后逐一检测，明确不产生钩状效应的最高分析物浓度。

6. 分析特异性

分析特异性（analytical specificity）受干扰和交叉反应的影响。干扰（interference）是由一个影响量引起的测量的系统效应，该影响量自身不在测量系统中产生信号，但它会引起示值的增加或减少。交叉反应（cross-reactivity）指不是分析物的物质与试剂反应的程度。

申请人应分析待测样本中和试剂使用过程中潜在的干扰物质和交叉反应，并对干扰和交叉的程度进行量化。干扰试验可采用如下方法：首先对可疑干扰物质采用相对较高的浓度进行干扰筛查，可采用配对的方法，比较含有干扰物质的样本与不含干扰物质的样本（对照）检测结果的差异。如果差异超出接受范围或存在临床显著性影响，可确认该物质为干扰物质，应进一步评估该干扰物质浓度与干扰程度之间的关系；如果差异在接受范围内或对临床无显著性影响，可认为该浓度的物质不产生干扰，应明确不产生干扰的物质浓度上限。

在对可疑干扰物质进行干扰筛查时，建议采用至少两个被测物水平的样本，应包括医学决定水平。在评估干扰物质浓度与干扰程度之间关系时，可适当增加样本数量，纳入更多被测物水平的样本。

申请人除按照上述方法采用添加干扰物的样本进行研究外，亦可采用病人标本通过对比申报试剂与其他测量程序的检测结果，进行干扰影响的评价。

常见的内源性干扰物质包括血红蛋白、脂质、胆红素、白细胞裂解物、血小板裂解物、自身免疫抗体、异嗜性抗体、疾病相关蛋白、患者体内的异常生化代谢物等；常见的外源性干扰物质包括样本添加剂（抗凝剂或防腐剂）、常用药物及其代谢物、患者群体使用的药物及其代谢物、膳食物质、样本收集或处理过程中接触到的物质，样本污染物；亦应研究已报道对类似试剂或测量程序存在干扰的物质。

交叉反应研究可参考干扰试验的方法，检测样本可包括阴性样本。交叉反应评估的物质包括分析物的结构类似物、具有同源性序列的核酸片段、易共存的其他类似物、易引起相同或相似的临床症状的其他病原体、采样部位正常寄生或易并发的其他微生物，已报道对类似试剂或测量程序存在交叉的物质等。

如试剂用于不同适用机型，可分析各机型在干扰和交叉反应间的差别，如无明显差别，可仅采用一个主机型进行分析特异性的研究。

7. 适用的样本类型

如果试剂适用于多种样本类型，应采用合理方法评价每个样本类型的适用性。对具有可比性的样本类型，可进行样本一致性的同源比对研究；对于不具有可比性的样本类型，应对每个样本类型分别进行性能评估。如果样本的采集、制备或处理方式存在差别，应分析这些差别的潜在影响，并进行针对性的性能验证。

8. 方法学比对

对于免于进行临床试验的体外诊断试剂，申请人应按照《免于进行临床评价的体外诊断试剂同品种比对技术指导原则》的要求进行评估并提交研究资料。

本文件主要介绍定量检测试剂常见的分析性能，根据产品特性，可能还需研究其他性能，例如对被测物各型别的包容性、核酸提取验证等。按照RPS目录，分析性能还包括样本稳定性，校准品的量值溯源和质控品的定值，反应体系确认，阳性判断值或参考区间，本文件暂不对这些内容进行叙述。

（三）申报资料的通用要求

一般应有研究方案和研究报告，清晰描述研究目的，试验地点和方法，试验采用的具体试剂名称、规格和批次，仪器名称和型号，样本类型、来源、处理方法、基质类型及背景信息等，体现结果数据和数据的统计分析过程及结果。

分析性能评估的结果应在产品说明书中进行描述，合理声称产品性能。