

丙型肝炎病毒核酸基因分型检测试剂 注册技术审查指导原则

本指导原则旨在指导注册申请人对丙型肝炎病毒核酸基因分型检测试剂注册申报资料的准备及撰写，同时也为技术审评部门对注册申报资料的技术审评提供参考。

本指导原则是对丙型肝炎病毒核酸基因分型检测试剂的一般要求，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。如申请人认为有必要增加本指导原则不包含的研究内容，可自行补充。

本指导原则是对申请人和审查人员的指导性文件，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和标准体系以及当前认知水平下制定的，随着法规和标准的不断完善，以及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、范围

丙型肝炎病毒（HCV）基因分型检测试剂是指利用包括分子生物学相关方法在内的核酸检测技术，以 HCV 基因序列为检测靶标，对人血清、血浆等样本中的 HCV 不同基因型进行体外定性检

测的试剂。结合临床表现和其他实验室指标，可作为丙型肝炎感染者临床诊疗的辅助指标之一。

HCV 目前至少可分为 6 个基因型及多个亚型，1b 和 2a 基因型在我国较为常见，其中以 1b 型为主，其次为 2 型和 3 型，4 型和 5 型仅见于输入型患者，6 型相对较少，还有少数混合型的患者。不同 HCV 基因型患者，采用的治疗方案以及疗程不同。所以，我国《丙型肝炎防治指南》中明确指出，对于丙型肝炎病毒核酸阳性的患者，在抗病毒治疗前，应进行 HCV 基因分型。

本指导原则适用于基于实时荧光 PCR (polymerase chain reaction) 方法的 HCV 基因分型检测试剂，其他方法学的定性检测方法可参照本指导原则，但应根据产品特性确定其中具体内容是否适用，如不适用，应另行选择符合自身方法学特性的技术要求或评价方法。本指导原则适用于进行产品注册和相关许可事项变更的产品。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、注册申报资料要求

(一) 综述资料

综述资料主要包括产品预期用途、产品描述、有关生物安全性的说明、研究结果的总结评价以及同类产品上市情况介绍等内容，其中同类产品上市情况介绍部分应着重从方法学及不同基因型检出能力等方面写明拟申报产品与目前市场上已获批准的同类产品之间的主要区别。若尚无同类产品批准上市，则应详细对该产品的有效性及安全性进行论述，说明理论依据。

申报试剂检测原理如基于 5' -UTR 区段设计且检测基因型中包括 1 型与 6 型或不同亚型, 申请人需提供能有效区分上述不同基因型或不同亚型的研究资料, 如: 引物探针设计研究资料及临床研究中对该部分基因型进行单独统计分析的资料。

提交的资料应符合《办法》和《关于公布体外诊断试剂注册申报资料要求和批准证明文件格式的公告》(国家食品药品监督管理总局公告 2014 年第 44 号)(以下简称 2014 年第 44 号公告)的相关要求。

(二) 主要原材料研究资料

应提供主要原材料如引物、探针、企业参考品的选择与来源、制备过程、质量分析和质控标准等相关研究资料。若主要原材料为企业自己生产, 其生产工艺必须相对稳定, 并提交工艺验证报告; 若主要原材料购自其他供应商, 应提供的资料包括: 供应商提供的质量标准、出厂检定报告, 以及该原材料到货后的质量检验资料。主要包括以下内容:

1. 核酸分离/纯化组分(如有)的主要组成、原理介绍及相关的验证资料。

2. RT-PCR 组分的主要材料(包括引物、探针、各种酶及其他主要原料)的选择、制备、质量标准及实验研究资料, 主要包括以下内容:

2.1 脱氧三磷酸核苷(dNTP)

核酸的组成成分, 包括: dATP、dUTP、dGTP、dCTP 和 dTTP, 对纯度、浓度、保存稳定性等验证资料。

2.2 引物

由一定数量的 dNTP 构成的特定序列，通常采用 DNA 合成仪人工合成，合成后经聚丙烯酰胺凝胶电泳或其他适宜方法纯化。需提供序列准确性、纯度、稳定性、功能性实验等验证资料。如为外购，应提供合成机构出具的合成产物的质检证明，如 PAGE 电泳结果或 HPLC 分析图谱。

2.3 探针

特定的带有示踪物（标记物）的已知核酸片段（寡聚核苷酸片段），能与互补核酸序列退火杂交，用于特定核酸序列的探测。合成后经聚丙烯酰胺凝胶电泳或其他适宜方法纯化，在 5' - 端（和/或 3' - 端）进行标记，并经 HPLC 或其他适宜方法纯化。纯度应达到 HPLC 纯，应提供合成机构出具的合成产物的质检证明。

2.4 PCR 反应所需酶

DNA 聚合酶，应具有 DNA 聚合酶活性，无核酸内切酶活性，具热稳定性，如：94℃ 保温 1 小时后仍保持 50% 活性；尿嘧啶糖基化酶（UNG），具有尿嘧啶糖基化活性，无核酸外切酶及核酸内切酶活性，应对酶活性有合理验证；逆转录酶，具逆转录酶活性，无核酸内切酶活性。应提供有关保存稳定性、活性及功能实验等的验证资料。

3. 企业内部参考品及试剂内对照（质控品）

企业内部参考品以及质控品设置必须客观合理，能够充分评价产品的质量。应采用金标准或其他方法对企业内部参考品以及质控品中物质成分进行确认。参考品及质控品与被测临床样本在整个试验过程中应保持相同的检测方式。

3.1 阳性参考品及阳性质控品

阳性参考品应包含试剂盒所能检测的所有基因类型，每个基因型应设置不同浓度水平，应能满足验证产品性能的需要，至少设置两个浓度水平（弱阳性、中或强阳性）；常见基因型阳性参考品设置建议采用灭活病毒的血清/血浆。其他基因型阳性参考品设置可采用模拟临床样本，如假病毒。对于阳性参考品的获取方式建议使用金标准的方法或同类方法或者其他能证明的方法进行确认。

阳性质控品应包含目标靶基因，用于监控整个检测过程，包括：核糖核酸提取，基因扩增和检测。阳性质控品作为单独检测过程，用于模拟患者样本，用于与患者样本进行同时检测。

3.2 阴性参考品及阴性质控品

可采用经确认无目标靶基因的序列样本。阴性参考品及阴性质控品可反映非特异扩增或检测过程，当不存在目标序列时不会得到相关信号。阴性参考品设置建议采用灭活的血清/血浆。阴性质控品应参与样本核酸的平行提取，对假阳性结果进行质量控制。

3.3 检测限参考品

检测限参考品是评价产品检测能力的重要工具，对于定性产品来说，其设计的合理性显得非常重要。在基因型设置方面，应包括试剂盒所包含的所有基因型。在浓度设置方面，应采用核酸定量的方法对该参考品进行定量检测，明确被测物的具体量值，设置浓度应接近产品最低检出限。

3.4 精密度参考品

精密度参考品应反映产品检测的重复性以及重复检测的稳

定性，该部分参考品应采用临床样本作为精密度参考品，需包括弱阳性、中等强度阳性两个浓度水平的精密度验证。如有必要，建议同时设置阴性参考品对精密度进行验证。

3.5 内对照（内标）

与目标靶基因平行提取和扩增，用于对检测管内抑制物造成的假阴性结果进行质量控制。不建议使用裸露 RNA 片段。内对照（内标）可采用竞争性或非竞争性的引物设置。

4. 核酸类检测试剂的包装材料和耗材应无 DNase 和 RNase 污染。

（三）主要生产工艺及反应体系的研究资料

基本生产工艺主要包括：配制工作液、半成品检定、分装和包装。配制工作液的各种原材料及其配比应符合要求，原材料应混合均匀，配制过程应对 pH、电导率等关键参数进行有效控制。

生产工艺研究的资料应能对反应体系涉及到的基本内容，如样本类型、样本用量、试剂用量、反应条件、质控方法、稳定性和有效期，提供确切的依据，主要包括以下内容：

1. 主要生产工艺介绍，可以图表方式表示。
2. 反应原理介绍。
3. 基因位点选择、RT-PCR 方法学特性介绍。
4. 确定最佳 RT-PCR 反应体系的研究资料，包括酶浓度、引物/探针浓度、dNTP 浓度、阳离子浓度等。
5. 确定 RT-PCR 反应各阶段温度、时间及循环数的研究资料。
6. 对于基线阈值（threshold）和阈值循环数（Ct）确定的研究资料。
7. 不同适用机型的反应条件如果有差异应分别详述。

（四）分析性能评估资料

申请人应提交在产品研制阶段对试剂盒所有性能的研究资料，包括具体研究方法、内控标准、实验数据、统计分析等详细资料。如有相应的国家参考品，应在分析性能评估阶段采用国家参考品对产品性能进行验证。建议着重对以下分析性能进行研究：

1. HCV 核酸分离纯化

病毒 RNA 提取主要有以下目的：富集目的基因、保证目的基因序列的完整性、增加 PCR 模板溶液均一性、去除 PCR 抑制物，是决定 PCR 成败的重要因素之一。申请人应对核酸提取的环节做详细的验证。

申请人应结合申报产品的特性，合理选择优化 RNA 分离/纯化试剂，建议包含纯化步骤且内标、校准品、质控品均应全程参与提取纯化，并提供详细的验证资料。

2. 阳性/阴性参考品符合率

所有基因型的阳性参考品均应按要求检出阳性且基因型别一致，考虑到浓度梯度的不同，应对各水平阳性参考品设置相应 Ct 值的限制；阴性参考品应按要求检出为阴性。

3. 最低检测限

建议采用 95% ($n \geq 20$) 的阳性检出率作为最低检测限确定的标准，应明确各基因型的最低检出限。申报试剂应在最低检出限或接近最低检出限的病毒核酸浓度对说明书描述的所有基因型进行验证。需对申报产品所声称的所有基因亚型进行验证。罕见亚型可采用模拟样本验证。

4. 分析特异性

4.1 交叉反应

用于 HCV RNA 分型检测试剂交叉反应验证的病原体种类主要考虑以下几方面可能性：

4.1.1 核酸序列具有同源性、易引起相同或相似的临床症状的其他病原体。

4.1.2 申报产品中不同基因型以及 HCV 其他基因型对被检测基因型的影响。对于难以获得的基因型，可采用针对该基因型构建的质粒或其他基因工程产品进行交叉验证。

4.1.3 建议用医学相关水平的病原体对 HCV 核酸阴性样本进行交叉反应的验证。申请人应提供所有用于交叉反应验证的病毒和细菌的来源、种属/型别和浓度确认等试验资料。

4.2 干扰物质

潜在的干扰物质主要包括：内源性干扰物质和外源性干扰物质。

4.2.1 内源性干扰物质：样本中常见干扰物质对检测结果的影响，如血红蛋白、甘油三酯、胆红素等。

4.2.2 外源性干扰物质：常用抗凝剂，临床常用抗病毒药物如：干扰素、利巴韦林、常见直接抗病毒药物（DAAs）等对检测结果的影响。

4.2.3 建议在病毒的检测临界值水平对每种干扰物质的干扰影响进行检测。干扰物浓度的分布应覆盖人体生理及病理状态下可能出现的物质浓度。应注明不同干扰物质对被检测物质无干扰的最高限值。对于不易收集的干扰物质浓度样本可使用临床模拟样本进行调节。

5. 精密度

精密度的评价方法可根据不同产品特征或申请人的研究习惯进行，前提是必须保证研究的科学合理性。具体实验方法可以参考相关国外或国内体外诊断产品性能评估的文件进行。申请人应对每项精密度指标的评价标准做出合理要求，如标准差或变异系数的范围等。针对本类产品的精密度评价主要包括以下要求：

5.1 用于精密度评价的样本浓度水平应至少包括弱阳性、中等强度阳性两个浓度水平。如有必要，建议同时设置阴性参考品对精密度进行验证。

5.2 合理的精密度评价周期，例如：为期至少 20 天的连续检测，每天至少由 2 人完成不少于 2 次的完整检测，从而对批内/批间、日内/日间以及不同操作者之间的精密度进行综合评价。如有条件，申请人应选择不同的实验室进行重复实验以对室间精密度进行评价。

6. 不同基因型的混合研究

申请人应设置不同混合比例的基因型进行验证。因理想的不同浓度比例在临床机构中不易收集，申请人可以使用临床模拟样本进行验证。该部分样本建议用核酸测序等方法明确样本中包含的所有基因型序列，同时应使用核酸定量等方法确定丙型肝炎总病毒浓度和不同基因型浓度。

如申报产品的结果判读无法有效区分不同基因型混合样本，应在产品说明书中进行注明。

（五）阳性判断值确定资料

阳性判断值确定资料主要指对核酸检测的 Ct 值进行确认，建议申请人对申报产品用于结果判断的临界值予以确认。阳性判

断值研究资料样本来源应考虑不同年龄、性别、地域等因素，尽可能考虑样本来源的多样性、代表性。如存在判定值灰区，应提供灰区的确认资料。如采用其他方法对阳性判断值进行确认研究，应说明这种方法的合理性。

（六）稳定性研究资料

稳定性研究资料主要涉及两部分内容，申报试剂的稳定性和适用样本的稳定性研究。前者主要包括实时稳定性（有效期）、运输稳定性、开瓶稳定性及冻融次数限制等研究，申请人可根据实际需要选择合理的稳定性研究方案。稳定性研究资料应包括研究方法的确定依据、具体的实施方案、详细的研究数据以及结论。对于实时稳定性研究，应提供至少 3 批样品在实际储存条件下保存至成品有效期后的研究资料。

应对样本稳定性进行研究，主要包括室温保存、冷藏和冷冻条件下的有效期验证，可以在合理的温度范围内选择温度点（温度范围），每间隔一定的时间段即对储存样本进行全性能的分析验证，从而确认不同类型样本的存储稳定性。适于冷冻保存的样本还应对冻融次数进行评价。

试剂稳定性和样本稳定性两部分内容的研究结果应在说明书【储存条件及有效期】和【样本要求】项中进行详细说明。

（七）临床评价资料

申请人应在符合要求的临床机构，在满足临床试验最低样本量要求的前提下，根据产品临床预期用途、相关疾病的流行率和统计学要求，制定能够证明其临床性能的临床试验方案，同时最大限度地控制试验误差、提高试验质量并对试验结果进行科学合理的分析。

1. 临床试验方案

临床试验实施前，研究人员应从流行病学、统计学、临床医学、检验医学等多方面考虑，设计科学合理的临床试验方案。各临床试验机构的方案设置应一致，且保证在整个临床试验过程中遵循预定的方案实施，不可随意改动。整个试验过程应在临床试验机构的实验室内并由该实验室的技术人员操作完成，申报机构的技术人员除进行必要的技术指导外，不得随意干涉试验进程，尤其是数据收集过程。

方案中临床样本信息应明确以下信息：采集时间要求、标本类型、采样质量的要求，该类要求应与产品说明书中规定的要求一致，如产品说明书中未列明，应在临床方案中列明。

试验方案中应确定严格的病例纳入/排除标准，任何已经入选的病例再被排除出临床研究都应记录在案并明确说明原因。在试验操作过程中和判定试验结果时应采用盲法以保证试验结果的客观性。各研究机构选用的对比试剂应完全一致，以便进行合理的统计学分析。临床方案中还应明确复核试剂及方法。另外，拟申报产品（以下称“考核试剂”）适用的样本类型、可检测的基因类型不应超越对比试剂的相应检测范围，若超出对比试剂的检测范围，则应选择其他合理对比方法对额外的样本类型和基因类型进行验证。

2. 临床试验必须符合赫尔辛基宣言的伦理学准则，必须获得临床试验机构伦理委员会的同意。

3. 对比方法学选择

3.1 如选择已有同类上市产品，其临床研究可以选择境内已批准上市且质量较好的同类产品作为对比试剂，应充分了解产品

方法学、临床预期用途、主要性能指标、阳性判断值、基因型选择等，以便对试验结果进行科学分析。采用考核试剂与之进行对比试验研究，充分考虑已上市同类试剂与考核试剂应具有相同基因型，且对比试剂检测结果可以区分不同基因型等特性，确保考核试剂与对比试剂具有明确可比性。

3.2 如选择核酸序列测定（测序）方法作为此类试剂临床试验的对比方法，验证考核试剂检测结果与测序结果之间的一致性情况，临床研究报告中应对选用的测序方法作详细介绍。

申请人应提供以下关于测序部分的详细试验资料，需由临床试验机构签章确认。

3.2.1 测序方法原理、测序仪型号、测序试剂及消耗品的相关信息。

3.2.2 测序方法所用引物相关信息，如基因区段选择，分子量、纯度、功能性实验等资料。引物设计应能区分所有基因型但需避开考核试剂扩增的靶核酸区段。

3.2.3 对所选测序方法的分析性能进行合理验证，尤其是最低检测限的确认，建议将所选测序方法与考核试剂的相关性能进行适当比对分析。

3.2.4 测序方法应建立合理的阳性质控品和阴性质控品，对临床样本的检测结果进行质量控制。

3.2.5 提交有代表性的样本测序图谱及结果分析资料。

4. 临床试验对象选择

4.1 基因型方面的考虑

HCV 病毒为 RNA 病毒，其基因具有显著的多样性，不同的地区和民族，HCV 流行的基因型不同。因此，在选择 HCV 感染者病

例时，首先应根据 HCV 流行的情况，选择能代表我国不同地区流行基因型的 HCV 感染者病例，以对试剂检测我国流行的 HCV 病毒的能力进行客观科学的评价。

4.2 病例选择及样本类型

应涵盖考核试剂所声称的所有基因型，应选择部分干扰样本（交叉反应样本），分析干扰组和病例组结果，以便对申报产品的临床性能做出科学的分析。临床试验所需样本总例数不少于 500 例，每种常见基因型或亚型阳性病例数应具有统计学意义，每种罕见基因型或亚型阳性病例数可酌情减少。临床样本应来源于丙型肝炎病毒核酸阳性患者。

因 HCV 病毒核酸 4 型和 5 型基因型感染病例多见于输入性病例，考核试剂中如包含 HCV 核酸 4 型和/或 5 型，也应进行适当验证，考虑到此类样本的不易获得性，样本可来源于 HCV 核酸阳性患者，也可来源于经过科学验证的血清盘。血清盘检测结果的评价，应参考国内、国际相关规定或文献，并在产品说明书中对血清盘临床验证信息进行说明。

在样本选择时，应注重患者来源的不同地域性，疾病进展不同阶段，不同药物治疗方案等。对于干扰组样本的选择，应考虑到检测过程中容易产生的干扰，可能造成假阳性/假阴性的情况，以从临床角度考察其分析特异性。

5. 统计学分析

临床试验方案中应明确统计检验假设，明确评价考核试剂与对比试剂一致性的接受标准（如设置目标值或估计精度等）。对临床试验结果的统计应选择合适的统计方法，如检测结果一致性

分析、不同基因型阴性/阳性符合率等。对于本类产品对比试验一致性研究，常选择配对四格表的形式总结两种试剂定性检测结果，对定性结果进行四格表 χ^2 检验或 kappa 检验以验证两种试剂定性结果一致性，统计分析应可以证明两种方法检测结果有无明显统计学差异，建议在分析中给出各基因型阳性符合率 95%置信区间的结果。

6. 结果差异样本的验证

在数据收集过程中，对于两种试剂检测结果有不一致的样本，应采用临床上公认较好的第三种同类试剂或参考方法对结果进行确认，同时结合患者的临床病情对差异原因及可能结果进行分析。

7. 临床试验总结报告撰写

根据《体外诊断试剂临床试验技术指导原则》（国家食品药品监督管理总局通告 2014 年第 16 号）的要求，临床试验总结报告应该对试验的整体设计及各个关键点给予清晰、完整的阐述，应该对整个临床试验实施过程、结果分析、结论等进行条理分明的描述，并应包括必要的基础数据和统计分析方法。

（八）产品风险分析资料

产品风险分析资料应符合 2014 年第 44 号公告的基本要求，并参照相应的行业标准进行风险分析。风险分析中应充分考虑到各种可能影响检测结果的因素，如某些样本在进行 HCV 核酸基因分型检测时可能存在一定的干扰、实验过程不规范、有些核酸含量低导致的检测结果不稳定等，申请人应根据这些不确定的因素分析产品应用可能存在的风险。

（九）产品技术要求

拟定产品技术要求应符合《办法》和 2014 年第 44 号公告的相关规定。申请人应当在原材料质量和生产工艺稳定的前提下，根据申请人产品研制、前期临床评价等结果，依据国家标准、行业标准及有关文献，按照《医疗器械产品技术要求编写指导原则》（国家食品药品监督管理总局通告 2014 年第 9 号）的有关要求编写。内容主要包含产品性能指标和检验方法。第三类产品技术要求中还应当以附录形式明确主要原材料、生产工艺及半成品要求。

附录中应将待测基因型的基因位点、引物/探针设计及来源、参考品设置及验证资料、各种酶的来源及特性验证等重点内容予以明确。

HCV 基因分型检测试剂的产品技术要求应主要包括以下性能指标：物理性状、阴/阳性参考品符合率、精密度、最低检测限等。阳性参考品主要考察对试剂盒覆盖范围内不同基因型的检测符合性，阴性参考品则重点对申报试剂的分析特异性进行验证。

（十）产品注册检验报告

根据《办法》要求，首次申请注册的第三类产品应该在具有相应承检范围的医疗器械检验机构进行连续 3 个生产批次样品的注册检验。对于已经有国家参考品的检测项目，在注册检验时应采用相应的国家参考品进行检验；对于目前尚无国家参考品的项目，生产企业应建立自己的参考品体系并提供相应的内部参考品。

（十一）产品说明书

说明书承载了产品预期用途、标本采集及处理、实验方法、检验结果解释以及注意事项等重要信息，是指导实验室工作人员

正确操作、临床医生针对检验结果给出合理医学解释的重要依据，是体外诊断试剂注册申报最重要的文件之一。产品说明书的格式应符合《体外诊断试剂说明书编写指导原则》（国家食品药品监督管理局通告 2014 年第 17 号）的要求。境外试剂的中文说明书除格式要求外，其内容应尽量保持与原文说明书的一致性，翻译应准确且符合中文表达习惯。产品说明书的所有内容均应与申请人提交的注册申报资料中的相关研究结果保持一致，如某些内容引用自参考文献，则应以规范格式对此内容进行标注，并单独列明文献的相关信息。

结合《体外诊断试剂说明书编写指导原则》的要求，明确 HCV 基因分型检测试剂说明书的重点内容，以指导注册申报人员更合理地完成说明书编制。

1. 【预期用途】

应至少包括以下内容：

1.1 试剂盒用于体外定性检测已明确为丙型肝炎病毒核酸阳性患者的血清、血浆等样本中的丙型肝炎病毒基因型。辅助医疗专业人员了解患者的丙型肝炎病毒基因型以确定适宜的治疗方法。

1.2 简要介绍丙型肝炎病毒基因型的特征，包括不同基因型的特征、不同基因型常见亚型、不同基因型在地域及人群中的分布情况、不同基因型感染的临床特点。

1.3 强调该试剂盒检测结果仅供临床参考，不应作为治疗药物调整的唯一依据，临床医生应结合患者病情及其他实验室检测指标等因素对患者治疗进行综合判断。

2. 【检验原理】

2.1 对试剂盒检测能够覆盖的所有基因型进行详细描述（靶序列长度及来源区段、基因型及相关特征等），对引物及探针设计、不同样品反应管组合、对照品设置及荧光信号检测原理等进行逐项介绍。

2.2 核酸提取纯化的方法、原理等。

2.3 试剂盒技术原理的详细介绍，建议结合适当图示进行说明。如反应体系中添加了相关的防污染组分（如 UNG 酶），也应对其作用机理作适当介绍。

3. 【主要组成成分】

3.1 详细说明试剂盒内各组分的名称、数量、比例或浓度等信息，阴性/阳性对照品（或质控品）可能含有生物源性物质的组分，应说明其生物学来源、活性及其他特性；说明不同批号试剂盒中各组分是否可以互换。

3.2 试剂盒中如不包含该项检测必需的组分，说明书中应列出相关试剂/耗材的名称、注册证号（如有）及其他相关信息。

3.3 如果试剂盒中不包含用于核酸分离/纯化的试剂组分，则应在此注明经验证后推荐配合使用的商品化核酸分离/纯化试剂盒的生产企业、产品名称、注册证/备案号（如有）以及配套仪器等详细信息。

4. 【适用仪器】

注明所有适用的仪器型号，并提供与仪器有关的重要信息以指导用户操作。

5. 【储存条件及有效期】

说明试剂盒的效期稳定性、开封稳定性、复溶稳定性、运输稳定性、冻融次数要求等，应标明具体的储存条件及有效期。

6. 【样本要求】

6.1 样本收集要求：结合临床需要并参照丙型肝炎防治指南（现行版）相关要求。

6.2 血液样本应当说明对采血管及抗凝剂的要求：明确样本类型、采血管和抗凝剂，其他样本应说明样本采集、处理及保存方式。

6.3 样本处理、运送及保存：对血液样本离心条件的要求，核酸提取前的预处理、运送条件、保存条件及期限（短期、长期）等。冷藏/冷冻样本检测前是否需恢复至室温，冻融次数的要求。

7. 【检验方法】

详细说明试验操作的各个步骤：

7.1 试剂准备及配制方法、注意事项。

7.2 详述待测样本、质控品核酸提取的条件、步骤及注意事项。

7.3 核酸提取/纯化方法的详细介绍。

7.4 扩增反应前准备：加样体积、顺序等。

7.5 PCR 各阶段的温度、时间设置、循环设置及相关注意事项。

7.6 仪器设置：特殊参数、结合探针的荧光素标记情况对待测基因及内标的荧光通道选择。

7.7 基线、循环阈值（Ct 值）的选择方法。

8. 【阳性判断值】

该产品用于定性检测，Cut-off 值是检测试剂有效区分检测结果阳性和阴性的标准，如产品检测原理为荧光 PCR 法。Cut-off 的描述包括基线的确定方法和循环阈值（Ct 值）的要求。

除 Ct 值要求外，对于接近 Cut-off 值的弱阳性结果或者接近 Cut-off 值的阴性结果建议结合扩增结果的 S 形曲线对结果进行判断。

9. 【检验结果的解释】

结合阳性对照、阴性对照以及反应管中靶基因和内标的检测结果（Ct 值），对所有可能出现的结果组合及相应的解释进行详述。如存在检测灰区，应对灰区结果的处理方式一并详述。建议将不同结果的典型性图谱纳入说明书中，便于用户对结果的读取。

10. 【检验方法的局限性】

10.1 该产品仅用于丙型肝炎病毒核酸阳性患者的临床样本检测。

10.2 该产品仅用于不同基因型的定性检测，不适用定量检测。

10.3 如丙型肝炎病毒核酸浓度过低，可能导致丙型肝炎病毒核酸基因型无法有效检出。

10.4 该产品仅用于产品说明书预期用途所包含的已知基因型的检测，不适用其他基因型的检测。当本试剂盒检测结果为阴性时，并不能排除被检测者带有丙型肝炎病毒的其他基因型。

10.5 如申报产品因产品原理导致无法对丙型肝炎病毒不同基因型混合样本进行区别，应在产品说明书中进行注释，帮助医疗专业人员对检测结果进行客观认识。

10.6 模板RNA质量将影响该产品检测结果。模板RNA的质量可能受样本来源、采集过程、运输条件、样本处理等因素影响，同时也受RNA提取方法、PCR仪类型、操作环境以及当前分子生物学技术的局限性等的限制，可能导致出现假阳性和假阴性的检测结

果。使用者须了解检测过程中可能存在的潜在风险。

10.7 该产品以丙型肝炎病毒基因上的特定RNA片段为检测靶标，如试剂盒引物与探针结合区出现基因突变或基因型变异体等，导致检测结果异常，建议复核检测。

11. 【产品性能指标】

详述以下性能指标：

11.1 最低检出限：说明试剂不同样本类型及不同基因型的最低检出限，应包括产品声称的全部基因型/亚型，简要介绍最低检出限的确定方法。如不同基因型之间最低检出限不同，应分别列出。

11.2 精密度/重复性：精密度参考品的组分、浓度及评价标准、评价结果。

11.3 特异性

11.3.1 交叉反应：易产生交叉反应的其他病原体以及丙型肝炎病毒其他基因型的验证情况，建议以列表的方式表示经过交叉反应验证的病原体名称、型别、浓度等信息。

11.3.2 干扰物质：样本中常见干扰物质及常用抗病毒药物、干扰素等药物对检测结果的影响。如未进行相关研究也应提供相关警示说明。

11.4 对比试验研究（如有）：简要介绍对比试剂（方法）的信息、所采用的统计学方法及统计分析结果。

11.5 不同基因型混合性能研究（如有）：简要介绍不同基因型混合检出研究结论；如未进行该部分研究，应在【检验方法的局限性】中进行注明。

12. 【注意事项】

应至少包括以下内容：

12.1 如该产品含有人源或动物源性物质，应给出具有潜在感染性的警告。

12.2 临床实验室应严格按照《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》等有关分子生物学实验室、临床基因扩增实验室的管理规范执行。

三、参考文献

1. 《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），2014年7月30日

2. 《体外诊断试剂临床试验技术指导原则》，（国家食品药品监督管理总局公告2014年第16号），2014年9月11日

3. 《体外诊断试剂说明书编写指导原则》，（国家食品药品监督管理总局公告2014年第17号），2014年9月11日

4. 国家食品药品监督管理总局关于公布体外诊断试剂注册申报资料要求和批准证明文件格式的公告（国家食品药品监管总局公告2014年第44号），2014年9月5日

5. 国家食品药品监督管理总局关于发布乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸定量检测试剂注册技术审查等4项指导原则的通告（国家食品药品监管总局通告2013年第3号），2013年5月17日

6. 国家食品药品监督管理总局关于发布丙型肝炎病毒核糖核酸测定试剂等4个医疗器械技术审查指导原则的通告（国家食品药品监管总局通告2015年第93号），2015年11月26日

7. 中华医学会肝病学会，中华医学会感染病学分会. 丙型肝炎防治指南（2015年更新版）. 临床肝胆病杂志第31卷第12期 2015年12月：1961—1979.

8. 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 原发性肝癌诊疗规范（2017年版）. 临床肝胆病杂志第33卷第8期2017年8月：1419—1431.

9. WHO. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection [EB/OL]. 2014-04

四、起草单位

国家食品药品监督管理总局医疗器械技术审评中心。



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