

# 乳酸脱氢酶测定试剂盒注册技术 审查指导原则

本指导原则旨在指导注册申请人对乳酸脱氢酶测定试剂盒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。

本指导原则是对乳酸脱氢酶测定试剂盒的一般要求，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文件，不涉及注册审批等行政事项，亦不作为法规强制执行，如有能够满足法规要求的其他方法，也可以采用，但应提供详细的研究资料和验证资料。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、标准体系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

乳酸脱氢酶测定试剂盒是指基于分光光度法原理，利用全自动、半自动生化分析仪或分光光度计，对血清、血浆或其他体液中的乳酸脱氢酶活性进行体外定量分析的试剂。

依据《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）、《食品药品监管总局关于印发体外诊断试剂分类子目录的通知》（食药监械管〔2013〕242号），

乳酸脱氢酶测定试剂盒管理类别为 II 类，分类代号为 6840。

乳酸脱氢酶活性的测定方法目前主要有乳酸→丙酮酸  
乳酸底物法 (L→P) 和丙酮酸 → 乳酸丙酮酸底物法 (P→L)

### 1. 乳酸→丙酮酸乳酸底物法 (L→P)

在碱性条件下，乳酸脱氢酶催化 L-乳酸生成丙酮酸，同时  
时将 NAD<sup>+</sup>（氧化型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸）还原成 NADH  
（还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸）。NADH 生成的速率与血  
清中乳酸脱氢酶的活性成正比，340nm 波长处监测 NADH 吸  
光度上升时变化速率，计算乳酸脱氢酶的活性。（国际临床  
化学联合会 IFCC 参考方法）

### 2. 丙酮酸→乳酸丙酮酸底物法 (P→L)

中性条件下，乳酸脱氢酶催化丙酮酸生成 L-乳酸，同时  
时将 NADH（还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸）氧化成 NAD<sup>+</sup>（氧  
化型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸）。NADH 消耗的速率与血清中  
乳酸脱氢酶的活性成正比，340nm 波长处监测 NADH 吸光度  
下降时变化速率，计算乳酸脱氢酶的活性。

从方法学考虑，本指导原则主要指乳酸脱氢酶催化丙酮酸  
和乳酸之间的氧化或还原反应的相互转化的同时，NADH 量  
的下降或上升速率，通过在 340nm 处吸光度的变化，计算乳  
酸脱氢酶活性。不包括干化学、酶联免疫类检测试剂及电泳

乳酸脱氢酶 (中性)



乳酸脱氢酶 (碱性)

等检测方法。

## 二、注册申报材料要求

## （一）综述资料

综述资料主要包括产品预期用途、产品描述、方法学特征、生物安全性评价、研究结果总结以及同类产品上市情况介绍等内容，应符合《体外诊断试剂注册管理办法》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）的相关要求。相关描述应至少包含如下内容：

### 1.产品预期用途及辅助诊断的临床适应症背景情况：

（1）乳酸脱氢酶的生物学特征、结构与功能，在体内正常和病理状态下的代谢途径和存在形式。

（2）与预期用途相关的临床适应症背景情况，如临床相关疾病的发生、实验室诊断方法等。

2.产品描述：包括产品所采用的技术原理，主要原材料的来源、质量控制及制备方法，主要生产工艺过程及关键控制点，质控品、校准品的制备方法及其溯源情况。

3.有关生物安全性方面的说明：如果体外诊断试剂中的主要原材料，采用各种动物、病原体、人源的组织 and 体液等生物材料经处理或添加某些物质制备而成，为保证产品在运输、使用过程中对使用者和环境的安全，研究者应提供对上述原材料所采用的灭活等试验方法的说明。

4.有关产品主要研究结果的总结和评价。

5.其他：包括同类产品在国内外批准上市的情况。相关产品所采用的技术方法及临床应用情况，申请注册产品与国内外同类产品的异同等。

## （二）主要原材料研究资料（如需提供）

应提供主要原材料、校准品（如产品包含）、质控品（如

产品包含)的选择、制备、质量标准及验证有关的研究资料,质控品、校准品的定值试验材料,校准品的溯源性文件等。

### (三) 主要生产工艺和反应体系的研究资料(如需提供)

主要工艺包括:配制、分装等描述及确定依据,应包含产品的工艺流程图和关键控制点;反应体系包括样本采集及处理、样本要求、试剂用量、反应条件(温度、时间等)等研究资料。

### (四) 分析性能评估资料

应至少提供多个批次样品的分析性能评估资料,包括具体的研究方法、试验数据、统计方法、研究结论等。性能评估时应将试剂和所选用的校准品、质控品作为一个整体进行评价,评估整个系统的性能是否符合要求。

性能评估应至少包括准确度、精密度、线性范围、分析特异性(抗干扰能力)、分析灵敏度、其他影响检测的因素等。

#### 1. 准确度

对测量准确度的评价依次包括:与国家标准品(和/或国际标准品)的偏差分析、方法学比对等方法,企业可根据实际情况选择合理方法进行研究。

##### 1.1 与国家(国际)标准品的比对研究

该研究项目已有相应国家(国际)标准品,优先使用国家(国际)标准品进行验证,重点观察对相应标准品检测结果的偏差情况。

##### 1.2 方法学比对

采用参考方法或国内/国际普遍认为质量较好的已上市同类试剂作为参比方法,与拟申报试剂同时检测一批病人样

品（至少 40 例样本），从测定结果间的差异了解拟申报试剂与参比方法间的偏倚。如偏倚很小或在允许的误差范围内，说明两检测系统对病人标本测定结果基本相符，对同一份临床样本的医学解释，拟申报试剂与参比方法相比不会产生差异结果。

在实施方法学比对前，应分别对拟申报试剂和参比试剂进行初步评估，只有在确认两者都分别符合各自相关的质量标准后方可进行比对试验。方法学比对时应注意质量控制、样本类型、浓度分布范围并对结果进行合理的统计学分析。其中，浓度分布应覆盖产品的可报告范围。

## 2. 精密度

测量精密度的评估应至少包括生理和病理两个浓度水平的样本进行。

测量精密度的评价方法并无统一的标准可依，可根据不同的试剂特征或申请人的研究习惯进行，建议参考 **CLSI EP15-A**。

## 3. 线性范围

建立试剂线性范围所用的样本基质应尽可能与临床实际检测的样本相似，理想的样本为分析物浓度接近预期测定上限的混合人血清，且应充分考虑多倍稀释对样本基质的影响。

超出线性范围的样本如需稀释后测定，应作相关研究，明确稀释液类型及最大可稀释倍数，研究过程应注意基质效应影响，必要时提供基质效应研究有关的资料。

## 4. 分析特异性

应明确已知干扰因素对测定结果的影响：可采用回收实

验对不同浓度的溶血、黄疸、脂血对检测结果的影响进行评价，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，明确干扰物质影响的最大浓度。药物干扰的研究可根据需要由申请人选择是否进行或选择何种药物及其浓度进行。

## 5.分析灵敏度

用已知活性的样品进行测试，记录在试剂（盒）规定参数下产生的吸光度改变。换算为  $n$  单位吸光度差值 ( $\Delta A$ ) 或吸光度变化 ( $\Delta A/\text{min}$ ) 即为本产品的分析灵敏度。

## 6.其他需注意问题

6.1 不同适用机型的反应条件如果有差异应分别评估，不同样本类型应分别进行分析性能评估。

分析性能评估报告应明确所用仪器设备型号、试剂、校准品、质控品等的产品名称、生产企业名称、产品批号、注册证等信息。

## 6.2 校准品溯源及质控品赋值

应参照 GB/T 21415—2008《体外诊断医疗器械 生物样品中量的测量 校准品和控制物质赋值的计量学溯源性》的要求，提供企业（工作）校准品及试剂盒配套校准品定值及不确定度的研究资料，提供质控品赋值及其靶值范围确定的研究资料。

### （五）参考区间确定资料

提供参考区间确定所采用的样本来源、确定方法及详细的试验资料，建议参考 CLSI/NCCLS C28-A2。研究结论应与产品说明书【参考区间】的相应描述保持一致。

### （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。这里主要指试剂的稳定性，通常包括保存期稳定性（有效期）、开瓶稳定性、复溶稳定性等（各 3 个批次）。申请人应至少提供保存期稳定性和开瓶稳定性、干粉试剂同时应提供复溶稳定性研究资料。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，应涵盖产品中受稳定性影响的性能指标（如准确度、线性范围等）。

保存期稳定性研究，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。

试剂稳定性和样本稳定性两部分内容的研究结果均应在说明书【储存条件及有效期】和【样本要求】两项中进行详细说明。

### （七）临床评价资料

临床研究资料应符合《关于发布体外诊断试剂临床试验技术指导原则的通告》（国家食品药品监督管理总局通告 2014 年第 16 号）的要求，同时研究资料的形式应符合《体外诊断试剂注册申报资料要求和批准证明文件格式》中临床研究资料有关的规定。临床实验中的基本要求：

#### 1. 研究方法

选择境内已批准上市的性能不低于试验用体外诊断试剂的同类产品作为参比试剂，采用试验用体外诊断试剂（以下称待评试剂）与之进行对比试验研究，证明本品与已上市产品等效。

#### 2. 临床试验机构的选择

应选择至少两家获得国家食品药品监督管理局资质认可的临床检测机构，临床检测机构实验操作人员应有足够的时间熟悉检测系统的各环节（试剂、质控及操作程序等），熟悉评价方案。在整个实验中，待评试剂和参比试剂都应处于有效的质量控制下，最大限度保证试验数据的准确性及可重复性。

### 3. 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研究方案。各临床研究机构的方案设置应保持一致，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研究机构的实验室内并由本实验室的技术人员操作完成，申报单位的技术人员除进行必要的技术指导外，不得随意干涉实验进程，尤其是数据收集过程。

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。各研究单位选用的参比试剂及所用机型应保持一致，以便进行合理的统计学分析。另外，待评试剂的样本类型应与产品说明书一致，且不应超越参比试剂对样本类型的检测要求，如果选择了参比试剂适用样本类型以外的样本，则应采用其他合理方法对额外的样本类型进行验证。

开展体外诊断试剂临床试验，申请人应当按照试验用体外诊断试剂的类别、风险、预期用途等特性，组织制定科学、合理的临床试验方案。一般应当包括以下内容：

- (1) 一般信息（包括产品信息、临床试验开展的时间和人员等相关信息、申请人相关信息等）；
- (2) 临床试验的背景资料；
- (3) 试验目的；
- (4) 试验设计；
- (5) 评价方法；
- (6) 统计方法；
- (7) 对临床试验方案修正的规定；
- (8) 临床试验涉及的伦理问题和说明、《知情同意书》文本（如有）；
- (9) 数据处理与记录保存；
- (10) 其他需要说明的内容。

#### 4. 研究对象选择

临床试验应选择具有特定症状/体征人群作为研究对象。企业在建立病例纳入标准时，应考虑到不同人群的差异，尽量覆盖各类适用人群。在进行结果统计分析时，建议对各类人群分别进行数据统计分析。总体样本数不少于 200 例，异常值样本数不少于 60 例。

血浆应明确抗凝剂的要求、存贮条件、可否冻融等要求及避免使用的样本。实验中，尽可能使用新鲜样本，避免贮存。

样本中待测物浓度应覆盖待评试剂线性范围，且尽可能均匀分布。

申报的样本类型均应在临床试验中进行验证。如果声称同时适用于血清和血浆样本，可完成一个样本类型（血清或血浆）不少于 200 例的临床研究，同时可选至少 100 例血清

或血浆同源样本进行比对研究（采用考核试剂评价），其中不同浓度样本分布情况与总例数中分布情况应一致。

如产品发生涉及检测条件优化、增加与原样本类型具有可比性的其他样本类型等变更事项，临床样本总数至少为100例，并在至少两家临床试验机构开展临床试验；变更参考区间及增加临床适应症等变更事项，应根据产品具体变更情况，酌情增加临床试验总样本数。

### 5. 统计学分析

对临床试验结果的统计应选择合适的统计方法，如相关分析、线性回归、绝对偏倚/偏差及相对偏倚/偏差分析等。对于对比实验的等效性研究，最常用是对待评试剂和参比试剂两组检测结果的相关及线性回归分析，应重点观察相关系数（ $r$ 值）或判定系数（ $R^2$ ）、回归拟合方程（斜率和 $y$ 轴截距）等指标。结合临床试验数据的正/偏态分布情况，建议统计学负责人选择合理的统计学方法进行分析，统计分析应可以证明两种方法的检测结果无明显统计学差异。在临床研究方案中应明确统计检验假设，即评价待评试剂与参比试剂是否等效的标准。

### 6. 结果差异样本的验证

对于比较研究试验中测定结果不符的样本，应采用“金标准”或其他合理的方法进行复核，以便对临床试验结果进行分析。如无需复核，应详细说明理由。

### 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》的要求，临床试验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。申请人或临床试验牵头单位应对各临床试验机构的报告进行汇总，并完成临床试验总结报告。临床试验报告的格式及内容如下：

### 7.1 首篇

首篇是每份临床试验报告的第一部分，所有临床试验报告均应包含该部分内容。

#### 7.1.1 封面标题

包括试验用体外诊断试剂的通用名称、试验开始日期、试验完成日期、主要研究者（签名）、临床试验机构（盖章）、统计学负责人签名及单位盖章、申请人（盖章）、申请人的联系人及联系方式、报告日期、原始资料保存地点。

#### 7.1.2 目录

列出整个临床试验报告的内容目录和对应页码。

#### 7.1.3 研究摘要

对临床试验情况进行简单的介绍。

#### 7.1.4 试验研究人员

列出临床试验主要研究人员的姓名、单位、在研究中的职责及其简历（列于附件中），主要研究人员包括主要研究者及各单位的主要参加人员、统计学负责人、临床试验报告的撰写人。

#### 7.1.5 缩略语

临床试验报告中所用的缩略语的全称。

## 7.2 正文内容和报告格式

### 7.2.1 基本内容

引言：介绍与临床试验产品有关的背景情况，包括（1）

被测物的来源、生物及理化性质；（2）临床预期使用目的，所针对的目标适应症人群，目前针对该适应症所采用的临床或实验室诊断方法等；（3）所采用的方法、原理、技术要求等；（4）国内外已批准上市产品的应用现状等。说明申请人和临床试验机构间的合作关系。

#### 7.2.2 研究目的。

说明本临床试验所要达到的目的。

#### 7.2.3 试验管理。

对试验管理结构的描述：管理结构包括主要研究者、主要参加人员、实验室质量控制情况、统计/数据管理情况以及试验中发生的问题及其处理措施等。

#### 7.2.4 试验设计。

##### 7.2.4.1 试验总体设计及方案的描述。

试验的总体设计和方案的描述应清晰、简洁，必要时采用图表等直观的方式。试验进行时方案修改的情况和任何方案以外的信息来源也应详细叙述。应包括：

7.2.4.1.1 临床试验的整体管理情况、临床试验机构选择、临床主要研究人员简介等基本情况介绍；

7.2.4.1.2 病例纳入/排除标准、不同年龄段人群的预期选择例数及标准；

7.2.4.1.3 样本类型，样本的收集、处理及保存等；

7.2.4.1.4 统计学方法、统计软件、评价统计结果的标准

##### 7.2.4.2 试验设计及试验方法选择。

试验设计中应包括以下内容：

7.2.4.2.1 样本量及样本量确定的依据；

7.2.4.2.2 样本选择依据、入选标准、排除标准和剔除标

准；

7.2.4.2.3 样本采集、保存、运输方法等；

7.2.4.2.4 对比试剂的确立；

7.2.4.2.5 临床试验用所有产品的名称、规格、来源、批号、效期及保存条件，对比试剂的注册情况。考核试剂和参比试剂的名称、批号、有效期及所用机型等信息；

7.2.4.2.6 质量控制方法：对质量控制方法进行简要的阐述。试验人员培训、仪器日常维护、仪器校准、质控品运行情况，对检测精密度、质控品回收（或测量值）、抽查结果评估；

7.2.4.2.7 临床试验数据的统计分析方法：对各研究单位的病例数、病种分布情况进行总合，建议以列表或图示方式给出具体例数及百分比。

7.2.4.2.7.1 数据预处理、差异数据的重新检测或第三方验证以及是否纳入最终数据统计、对异常值或缺失值的处理、研究过程中是否涉及对方案的修改。

7.2.4.2.7.2 定量值相关性和一致性分析

用回归分析验证两种试剂结果的相关性，以  $y=a+bx$  和  $R^2$  的形式给出回归分析的拟合方程，其中： $y$  是考核试剂结果， $x$  是参比试剂结果， $b$  是方程斜率， $a$  是  $y$  轴截距， $R^2$  是判定系数，同时应给出  $b$  的 95%（或 99%）置信区间，定量值结果应无明显统计学差异。

7.2.4.2.8 具体试验过程，样本检测、数据收集、样本长期保存、结果不一致样本的校验等。

7.2.4.2.9 试验过程中方案的修改。

一般情况下，临床试验方案不宜更改。试验过程中对方

案的任何修改均应说明，对更改的时间、理由、更改过程及有无备案进行详细阐述并论证其对整个研究结果评价的影响。

7.2.5 临床试验结果及分析。

7.2.6 讨论和结论。对总体结果进行总结性描述并简要分析试验结果，对本次临床研究有无特别说明，最后得出临床试验结论。

7.3 有关临床试验中特别情况的说明

7.4 附件

7.4.1 临床试验中所采用的其他试验方法或其他诊断试剂产品的基本信息，如试验方法、诊断试剂产品来源、产品说明书及注册批准情况。

7.4.2 临床试验中的所有试验数据，需由临床试验操作者、复核者签字，临床试验机构盖章（封面盖章和骑缝章）。

7.4.3 主要参考文献。

7.4.4 主要研究者简历。

7.4.5 申请人需要说明的其他情况等。

#### （八）产品风险分析研究资料

申请人应考虑产品寿命周期的各个环节，从预期用途、可能的使用错误、与安全性有关的特征、已知及可预见的危害等方面的判定以及对患者风险的估计进行风险分析，应符合 YY/T 0316—2008/ISO 14971: 2007《医疗器械风险管理对医疗器械的应用》的要求。

#### （九）产品技术要求

产品技术要求应符合《体外诊断试剂注册管理办法》、《体外诊断试剂注册申报资料要求和批准证明文件格式》和

《关于发布医疗器械产品技术要求编写指导原则的通告》  
(国家食品药品监督管理总局通告 2014 年第 9 号) 的相关规定。

该产品技术要求中涉及的产品适用的引用文件和主要性能指标等相关内容：

产品适用的相关文件：

(1) GB/T 21415—2008 体外诊断医疗器械 生物样品中量的测量 校准品和控制物质赋值的计量学溯源性

(2) GB/T 191—2008 包装储运图示标志

(3) GB/T 26124—2011 临床化学体外诊断试剂 (盒)

(4) YY/T 0316—2008 医疗器械 风险管理对医疗器械的应用

(5) YY/T 0638—2008 体外诊断医疗器械 生物样品中量的测量 校准品和控制物质物中酶催化浓度赋值的计量学溯源性

(6) YY/T 0466.1—2009 医疗器械 用于医疗器械标签、标记和提供信息的符号 第 1 部分：通用要求

(7) YY/T 1241—2014 乳酸脱氢酶测定试剂(盒)

2.主要性能指标：

2.1 外观

应与技术要求中表明的试剂外观一致。这里应当包括试剂 (盒) 包装外观、试剂内包装外观、试剂的外观。

2.2 装量

试剂装量应不少于标示装量或规定限。

2.3 试剂空白

2.3.1 试剂空白吸光度

在 37℃、340nm、1cm 光径条件下试剂空白吸光度应不大于 0.50。

### 2.3.2 试剂空白吸光度变化率

在 37℃、340nm、1cm 光径条件下，用生理盐水作为样品加入试剂测试时，试剂空白吸光度变化率( $\Delta A/\text{min}$ )应不大于 0.002。

用生理盐水测试试剂（盒），在 37℃、340nm、1cm 光径条件下，记录测试启动时的吸光度（A1）和约 5min(t)后的吸光度（A2），A2 测试结果即为试剂空白吸光度测试值，计算出吸光度变化值（ $|A2-A1|/t$ ）（t 为测量时间间隔）即为试剂空白吸光度变化率( $\Delta A/\text{min}$ )。

### 2.4 分析灵敏度

用已知活性的样本测试试剂（盒），记录在试剂（盒）在 37℃、340nm、1cm 光径条件下的吸光度变化率。按照生产企业规定的分析灵敏度计算公式计算分析灵敏度，应符合生产企业声称的要求。

### 2.5 线性区间

测试血清样本，试剂线性在 25U/L—750U/L(37℃)区间内；

#### 2.5.1 线性相关系数（r）应不小于 0.990；

2.5.2 25U/L—100U/L 区间内，线性绝对偏差应不超过  $\pm 10\text{U/L}$ ；101U/L—750U/L 区间内，线性相对偏差应不超过 10%。

用接近线性区间下限的低活性样品稀释接近线性区间上限的高活性样品，混合成至少 5 个有效稀释浓度（ $x_i$ ），分别测试试剂（盒），每个稀释浓度测试 3 次，分别求出测定

结果的均值 ( $y_i$ )。以稀释浓度 ( $x_i$ ) 为自变量, 以测定结果均值 ( $y_i$ ) 为因变量求出线性回归方程。按公式 (1) 计算线性回归的相关系数 ( $r$ )。

$$r = \frac{\sum [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2 \sum (y_i - \bar{y})^2}} \dots\dots\dots (1)$$

稀释浓度 ( $x_i$ ) 代入线性回归方程, 计算  $y_i$  的估计值及  $y_i$  与估计值的相对偏差或绝对偏差。

2.6 精密度

2.6.1 重复性

在重复性条件下, 用 (200±20) U/L 的血清样本或质控样品, 重复测试至少 20 次, 分别计算测量值的平均值 ( $\bar{x}$ ) 和标准差 (SD)。计算变异系数 (CV) 应不大于 5%。

2.6.2 批内瓶间差 (适用于干粉或冻干试剂)

用(200±20) U/L 的血清样本或质控样品分别测试同一批号的 10 个待检试剂(盒), 并计算 10 个测量值的平均值( $\bar{x}_1$ ) 和标准差 (SD<sub>1</sub>)。

用(200±20) U/L 的血清样本或质控样品对该批号的 1 个待检试剂 (盒) 重复测试 10 次, 计算结果的均值 ( $\bar{x}_2$ ) 和标准差 (SD<sub>2</sub>)。按式 (2)、式 (3) 计算瓶间差的变异系数 (CV), 批内瓶间差均应不大于 5%。

$$s_{\text{瓶间}} = \sqrt{SD_1^2 - SD_2^2} \dots\dots\dots (2)$$

$$CV = s_{\text{瓶间}} / \bar{x} \times 100\% \dots\dots\dots (3)$$

当  $s_1 < s_2$  时, 令  $CV=0$

### 2.6.3 批间差

用  $(200 \pm 20)$  U/L 的血清样本或质控样品分别测试 3 个不同批号的试剂 (盒), 每个批号测试 3 次, 分别计算每批 3 次测定的均值  $\bar{x}_i (i=1,2,3)$ , 按公式 (4)、(5) 计算相对极差 (R)。

$$\bar{x}_T = \frac{\bar{x}_1 + \bar{x}_2 + \bar{x}_3}{3} \quad \dots\dots\dots (4)$$

$$R = \frac{\bar{x}_{\max} - \bar{x}_{\min}}{\bar{x}_T} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (5)$$

中:

$\bar{x}_{\max}$  ——  $\bar{x}_i$  中的最大值;

$\bar{x}_{\min}$  ——  $\bar{x}_i$  中的最小值。

试剂 (盒) 批间相对极差应不大于 10%。

### 2.7 准确度

可选用以下方法进行验证; 优先采用相对偏差的方法。

#### 2.7.1 相对偏差: 相对偏差应不超过 $\pm 10\%$ 。

用可用于评价常规方法的有证参考物质 (CRM) 对试剂 (盒) 进行测试, 重复检测 3 次, 取测试结果均值 (M) 按式 (6) 计算相对偏差 (B)。

或用由 IFCC 乳酸脱氢酶参考测量程序定值的参考范围上限和上限 2—5 倍浓度水平各一个人源样品 (可适当添加被测物, 以获得高浓度的样品) 对试剂 (盒) 进行测试, 每个浓度样品重复检测 3 次, 分别取测试结果均值按式 (6) 计算相对偏差 (B)。

$$B = \frac{M - T}{T} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (6)$$

式中：

**B**—相对偏差；

**M**—测试结果均值；

**T**—有证参考物质标示值，或各浓度人源样本定值。

2.7.2 比对试验：相关系数  $r^2 \geq 0.95$ ，相对偏差应不超过  $\pm 10\%$ 。

参照 CLSL EP9-A2 的方法，用不少于 40 个在检测范围内不同浓度的人源样品，用生产企业指定的分析系统作为比对方法，每份样品按待测试剂（盒）操作方法及比对方法分别测试。用线性回归方法计算两组结果的相关系数及每个浓度点的相对偏差。

## 2.8 稳定性

可选用以下方法之一进行验证：

2.8.1 效期稳定性：生产企业应规定产品的有效期。取到有效期后的样品检测，线性区间、准确度应符合技术要求。

2.8.2 热稳定性试验：检测线性区间、准确度应符合技术要求。

注 1：热稳定性试验不能用于推导产品有效期，除非是采用基于大量的稳定性研究数据建立的推导公式。

注 2：根据产品特性可选择 a)、b)方法的任意组合，但所选用的方法宜能验证产品的稳定性，以保证在有效期内产品的性能符合技术要求。

冻干品应同时进行复溶稳定性试验，复溶后放置到有效

期末，产品性能应符合线性区间、准确度的技术要求。

## 2.9 校准品和质控品的性能指标（如产品中包含）

应至少包含外观、装量、准确度、均一性、稳定性。冻干型校准品和质控品还应检测批内瓶间差和复溶稳定性。

### （十）产品注册检验报告

首次申请注册的乳酸脱氢酶测定试剂盒，应该在具有相应医疗器械检验资质和承检范围的医疗器械检测机构进行注册检验。出具注册检验报告和产品技术要求预评价意见。

### （十一）产品说明书

说明书承载了产品预期用途、试验方法、检测结果解释以及注意事项等重要信息，是指导使用人员正确操作、临床医生准确理解和合理应用试验结果的重要技术性文件。产品说明书的格式应符合《关于发布体外诊断试剂说明书编写指导原则的通告》（国家食品药品监督管理总局通告 2014 第 17 号）的要求。下面对乳酸脱氢酶测定试剂说明书的重点内容进行详细说明。

#### 1. 【产品名称】

通用名称应当按照《体外诊断试剂注册管理办法》规定的命名原则进行命名，可适当参考相关“分类目录”和/或国家标准及行业标准。

（1）试剂（盒）名称：乳酸脱氢酶测定试剂盒（乳酸底物法）或（丙酮酸底物法）

（2）英文名称：例如：L-Lactate dehydrogenase test reagent (kit)

#### 2. 【包装规格】

注明可测试的样本数或装量，如××测试/盒、××人份/盒、

××mL，除国际通用计量单位外，其余内容均应采用中文进行表述。如产品有不同组分，可以写明组分名称。如有货号，可增加货号信息。

(1) 包装规格应明确单、双试剂类型；

(2) 不得多于技术要求中所列的包装规格；

(3) 如不同包装规格有与之特定对应的机型，应同时明确适用机型。

### 3. 【预期用途】

应至少包括以下几部分内容：

(1) 乳酸脱氢酶测定试剂盒用于体外定量检测血清、血浆和/或其他体液中乳酸脱氢酶的活性；

(2) 应明确与目的检测物相关的临床适应症背景情况。乳酸脱氢酶异常情况常见于哪些疾病，其升高或降低可能有哪些医学解释。

作为支持性资料，申请人应提供由教科书、临床专著、核心期刊文献或英文 SCI 文献等有关临床适应症背景的资料。

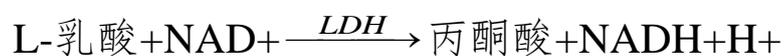
### 4. 【检验原理】

应结合产品主要成分简要说明检验的原理、方法，必要时可采取图示方法表示。

如：在碱性条件下，乳酸脱氢酶催化 L-乳酸生成丙酮酸，同时将 NAD<sup>+</sup>

还原为 NADH，因此在 37℃、340nm 波长下监测吸光度上升速率，可得出乳酸脱氢酶的活性。

反应式如下：



## 5. 【主要组成成分】

应明确以下内容：

试剂盒提供的试剂组分的名称、数量、每个组成成分在反应体系中的比例或浓度。

如检测中需使用校准品或质控品，应明确说明，并提供校准品溯源性，溯源性应写明溯源的最高级别，包括标准物质或参考物的发布单位及编号，质控品应明确靶值范围等。

例如：

本试剂盒由试剂 1、试剂 2 和校准品（选配）组成：

试剂 1：Tris 缓冲液，80mmol/L (pH9.0±0.1)；L-乳酸，70mmol/L。

试剂 2：烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD<sup>+</sup>)，5.0mmol/L。

试剂盒如果配备校准品，需注明校准品定值信息及溯源性（量值最终溯源至国际参考物质 ERM-AD453/IFCC）。试剂盒如果配备质控品，需注明质控品靶值范围。

## 6. 【储存条件及有效期】

(1) 应明确未开封的试剂实际储存条件及有效期，开瓶稳定期。干粉试剂应明确复溶稳定期。

(2) 说明产品的储存条件，如：2—8℃、避免 / 禁止冷冻或-18℃以下等。其他影响稳定性的条件，如：光线、湿度等也必须说明。

(3) 如试剂盒各组分的稳定性不一致，则应对各组分的储存条件和有效期分别进行描述。

## 7. 【适用仪器】

说明可适用的仪器及型号，并提供与仪器有关的信息以便用户能够正确选择使用。

## 8. 【样本要求】

重点明确以下内容：

样本类型、为保证样本各组分稳定所必需的抗凝剂或保护剂等、保存期限及保存条件（短期、长期），能够保证样本稳定的储存、处理和运输方法、已知的干扰物等。如有血浆样本，应注明对抗凝剂的要求（如草酸盐既可与丙酮酸或乳酸发生竞争性抑制，又能与 LDH 及 NADH 或 NAD<sup>+</sup>形成复合物。从而抑制催化的还原或氧化反应。应明确避免使用的提示）。特殊体液标本还应详细描述对采集条件、保存液、容器等可能影响检测结果的要求。

中度及重度溶血时，因红细胞内的乳酸脱氢酶浓度很高（约为血浆中 360 倍），避免使用此类样本。

## 9. 【检验方法】

详细说明试验操作的各个步骤，包括：

（1）试剂配制方法、注意事项。

（2）试验条件：温度、时间、测定主/副波长、试剂用量、样本用量、测定方法、反应类型、反应方向、反应时间等以及试验过程中的注意事项。

（3）校准程序（如果需要）：校准品的使用方法、注意事项、校准曲线的绘制。

（4）质量控制程序：质控品的使用方法、对质控结果的必要解释以及推荐的质控周期等。

（5）检验结果的计算：应明确检验结果的计算方法。包括对每个系数及对每个计算步骤的解释。如果可能，应举例说明。

如果超出线性范围，样本需要稀释测定时，应根据试剂

特性说明稀释液的种类及最大稀释倍数。

#### 10. 【参考区间】

应注明常用样本类型及反应方式的参考区间，并说明参考区间确定方法。注明“由于地理、人种、性别和年龄等差异，建议各实验室建立自己的参考值（范围）”。

#### 11. 【检验结果的解释】

说明可能对检验结果产生影响的因素。说明在何种情况下需要进行确认试验。

#### 12. 【检验方法的局限性】

说明该检验方法的局限性，如：存在的干扰因素，明确黄疸、溶血、脂浊及药物等内、外源性干扰物对测定的影响，同时列出干扰物的具体浓度。

#### 13. 【产品性能指标】

至少应详述以下性能指标，性能指标应不低于标准有关技术指标的要求。

- (1) 试剂空白吸光度及试剂空白吸光度变化率；
- (2) 分析灵敏度；
- (3) 准确度；
- (4) 精密度（重复性和批间差）；
- (5) 线性区间（线性相关系数和线性偏差）；
- (6) 特异性。

#### 14. 【注意事项】

应至少包括以下内容：

(1) 本试剂盒仅供体外检测使用，试剂中含有的化学成分应说明接触人体后产生不良的影响后果。

(2) 采用不同方法学的试剂检测所得结果不应直接相

互比较，以免造成错误的医学解释；建议实验室在发给临床医生的检测报告注明所用试剂特征。

(3) 有关人源组分的警告，如：试剂盒内的质控品、校准品或其他人源组分，虽已经通过了 HBs-Ag、HIV1/2-Ab、HCV-Ab 等项目的检测，但截至目前，没有任何一项检测可以确保绝对安全，故仍应将这些组分作为潜在传染源对待。

(4) 样本：对所有样本和反应废弃物都应视为传染源对待。

(5) 其他有关乳酸脱氢酶测定的注意事项。

#### 15. 【标识的解释】

如有图形或符号，请解释其代表的意义。

#### 16. 【参考文献】

应当注明在编制说明书时所引用的参考文献。

#### 17. 【基本信息】

符合《体外诊断试剂说明书编写指导原则》对基本信息的要求。

#### 18. 【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

产品的注册证编号/产品技术要求编号

#### 19. 【说明书核准日期及修改日期】

注明该产品说明书的核准日期。如曾进行过说明书的变更申请，还应该同时注明说明书的修改日期。

### 三、审查关注点

(一) 关注产品预期用途有关的描述是否与临床研究结论一致。临床研究用参比试剂和第三方确认试剂的预期用途应与申请产品预期用途一致。申报样本类型应在临床研究中进行验证。

(二) 审查产品技术要求时应注意产品应不低于 YY/T 1241—2014《乳酸脱氢酶测定试剂(盒)》的有关规定。

(三) 说明书中预期用途(样本类型)、储存条件及有效期、检验方法、参考区间、产品性能指标等描述应分别与临床研究资料、稳定性研究资料、主要生产工艺和反应体系研究资料、参考区间研究资料、分析性能评估资料的研究结论相一致。

(四) 干粉试剂应提供复溶稳定性研究资料并在说明书储存条件及有效期中说明。

#### 四、名词解释

(一) 准确度(Accuracy): 一个测量值与可接受的参考值间的一致程度。

(二) 分析特异性(Analytical Specificity): 测量程序只测量被测量物的能力。用于描述检测程序在样本中有其他物质存在时只测量被测量物的能力。通常以一个被评估的潜在干扰物清单来描述,并给出在特定医学相关浓度值水平的分析干扰程度。(潜在干扰物包括干扰物和交叉反应物)

(三) 线性(Linearity): 在给定测量范围内,给出的测量结果与样品中实际存在的被测量物的值成比例的能力。线性是描述一个测量系统的测量示值或测量结果相关于样本的赋值符合直线的属性。

(四) 精密度(Precision): 在规定条件下,相互独立的测试结果之间的一致程度。精密度的程度是用统计学方法得到的测量不精密度的数字形式表示,如标准差(SD)和变异系数(CV)。

#### 五、参考文献

(一)《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)

(二)《关于发布体外诊断试剂临床试验技术指导原则的通告》(国家食品药品监督管理总局通告2014年第16号)

(三)《关于发布体外诊断试剂说明书编写指导原则的通告》(国家食品药品监督管理总局通告2014年第17号)

(四)《全国临床检验操作规范》(第三版), 中华人民共和国卫生部医政司

(五)《临床化学常用项目自动分析法》(第三版), 辽宁科技出版社

(六) GB/T 21415—2008 体外诊断医疗器械 生物样品中量的测量 校准品和控制物质赋值的计量学溯源性

(七) GB/T 26124—2011 临床化学体外诊断试剂(盒)

(八) YY/T 0638—2008 体外诊断医疗器械 生物样品中量的测量 校准品和控制物质物中酶催化浓度赋值的计量学溯源性

(九) YY/T0466.1—2009 医疗器械 用于医疗器械标签、标记和提供信息的符号 第1部分: 通用要求

(十) YY/T 1241—2014 乳酸脱氢酶测定试剂(盒)

(十一) YY/T 1227—2014 临床化学体外诊断试剂(盒)  
命名

# 乳酸脱氢酶测定试剂盒 注册技术审查指导原则编写说明

## 一、编写目的和背景

(一) 本指导原则编写的目的是用于指导和规范乳酸脱氢酶测定试剂盒产品注册申报过程中审查人员对注册材料的技术审评；同时也可指导注册申请人的产品注册申报。

(二) 本指导原则旨在让初次接触该类产品的注册审查人员对产品诊断方法或原理、主要组分、主要性能指标、临床用途等各个方面进行基本了解，同时让技术审查人员在产品注册技术审评时把握基本的要求尺度，以确保产品的安全、有效。

(三) 本指导原则中的乳酸脱氢酶测定试剂盒是指基于分光光度法原理对人血清、血浆或其他体液中的乳酸脱氢酶活性进行体外定量分析的试剂。

(四) 本指导原则中的术语、定义采用 GB/T 26124—2011《临床化学体外诊断试剂(盒)》标准的术语和定义。

## 二、编写依据

(一) 《医疗器械监督管理条例》(国务院令第 650 号)

(二) 《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)

(三) 《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》(国家食品药品监督管理总局公告 2014 年第 44 号)

(四) 《关于发布体外诊断试剂说明书编写指导原则的

通告》(国家食品药品监督管理总局通告 2014 年第 17 号)

(五)《关于发布医疗器械产品技术要求编写指导原则的通告》(国家食品药品监督管理总局通告 2014 年第 9 号)

(六)《关于发布体外诊断试剂临床试验技术指导原则的通告》(国家食品药品监督管理总局通告 2014 年第 16 号)

(七) GB/T 26124—2011 临床化学体外诊断试剂(盒)

(八) YY/T 1241—2014 乳酸脱氢酶测定试剂(盒)

(九) YY/T 1227—2014 临床化学体外诊断试剂(盒)命名

(十) 国家食品药品监督管理部门发布的其他规范性文件

### 三、重点内容说明

(一) 指导原则主要根据体外诊断试剂产品注册申报资料的要求, 借鉴国家食品药品监督管理部门已发布的相关产品注册技术审查指导原则的体例进行编写, 以便于注册技术审评人员理解。

(二) 在产品综述资料中, 全面介绍了该类体外诊断试剂产品的预期用途、产品描述、方法学特征、生物安全性评价、研究结果总结以及同类产品上市情况介绍等内容。

(三) 本指导原则不涉及产品作用机理的内容, 主要描述相应的诊断方法和原理。

(四) 产品应适用的相关标准中给出了现行有效的国家标准、行业标准(包括产品标准、基础标准), 以及相应的国际标准。

(五) 产品的主要性能指标中给出了产品需要考虑的各个方面, 主要提出共性要求, 具体量化指标需要参照相关的

国家标准、行业标准和生产商技术能力予以确定。

#### 四、指导原则编写单位和人员

本指导原则的编写成员由河北省食品药品监督管理局医疗器械监管处注册技术审评人员、行政审批人员、河北省医疗器械与药品包装材料检验研究院、临床专家及相关企业技术人员共同组成。



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