体外诊断试剂生产质量体系检查要点指南

（2017年修订版）

按照医疗器械管理的体外诊断试剂是一类特殊的产品，包括可单独使用或与仪器、器具、设备或系统组合使用，在疾病的预测、预防、诊断、治疗监测、预后观察和健康状态评价的过程中，用于对人体样本（各种体液、细胞、组织样本等）进行体外检测的试剂、试剂盒、校准品（物）、质控品（物）等。其研制、生产、检验等过程的控制能力直接影响着产品的质量。

本指南是对国家食品药品监督管理总局2015年发布实施的《医疗器械生产质量管理规范附录体外诊断试剂》中重点检查条款的解释和说明，并归纳明确了体外诊断试剂生产质量管理体系中重点环节的审查要求，旨在帮助北京市医疗器械监管人员对体外诊断试剂产品生产质量管理体系的认知和掌握，可作为北京市食品药品监督管理局组织、实施医疗器械注册质量管理体系现场核查、《医疗器械生产许可证》现场核查、医疗器械生产监督检查等各类检查的参考资料。帮助北京市医疗器械监管人员增强对体外诊断试剂生产管理体系的了解和掌握，提高全市医疗器械监管人员对体外诊断试剂的监督检查水平。同时，为医疗器械生产企业开展体外诊断试剂生产管理活动提供参考。

当国家相关法规、标准、监管要求发生变化时，应当重新修订以确保本指南持续符合要求。

一、人员管理要求

（一）体外诊断试剂生产、技术和质量管理人员应当具有医学、检验学、生物学、免疫学或药学等与所生产产品相关的专业知识，并具有相应的实践经验，以确保具备在生产、质量管理中履行职责的能力。生产负责人和质量负责人不得互相兼任。

与医学、检验学、生物学、免疫学或药学等相关的专业包括：医学、药学、化学、检验学、细菌学、病毒学、生物学、分子生物学、生物化学、免疫学、遗传学、血液学、微生物学等。

（二）从事生产操作和检验的人员应当经过岗前专门培训，培训记录应当涉及本岗位工作的操作规程，可采用口试、笔试或实操的方式，并保留培训记录。凡在洁净室（区）工作的人员应当定期进行卫生和微生物学基础知识、洁净作业等方面培训。临时进入洁净室（区）的人员，应当对其进行指导和监督。从事体外诊断试剂生产的全体人员，包括清洁、维修等人员均应当根据其产品和所从事的生产操作进行专业和安全防护培训。从事体外诊断试剂的检验人员应当具有医学、检验学、生物学、免疫学或药学等与所生产产品相关的专业背景或从事该专业工作经历，考核合格后由企业任命方可上岗。企业还应当配备专职成品检验员。

（三）对生产高生物活性、高毒性、强传染性、强致敏性等有特殊要求产品的企业，应当建立人员花名册，对生产和质量检验的人员应当进行登记，并重点对《危险化学品安全管理条例》、《微生物和生物医学实验室生物安全通用准则》等法规进行培训，保存相关培训记录。

（四）应当建立对人员的清洁要求、健康要求和服装要求，人员进入洁净室（区）应当按照程序进行净化，并穿戴工作帽、口罩、洁净工作服、工作鞋。裸手接触产品的操作人员每隔一定时间应当对手再次进行消毒。裸手消毒剂的种类应当定期更换。直接接触物料和产品的操作人员每年至少体检一次，并建立人员健康档案。患有传染性和感染性疾病的人员不得从事直接接触产品的工作。工作服及其质量应当与生产操作的要求及操作区的洁净度级别相适应，其式样和穿着方式应当能够满足保护产品和人员的要求。洁净工作服和无菌工作服不得脱落纤维和颗粒性物质，无菌工作服应当能够包盖全部头发、胡须及脚部，并能阻留人体脱落物。

二、生产环境与设施设备控制要求

（一）应当有整洁的生产环境。厂区的地面、路面周围环境及运输等不应对产品的生产造成污染。行政区、生活区和辅助区的总体布局合理，不得对生产区有不良影响。厂区应当远离有污染的空气和水等污染源的区域。

（二）生产厂房应当设置防尘、防止昆虫和其他动物进入的设施。洁净室（区）的门、窗及安全门应当密闭，洁净室（区）的门应当向洁净度高的方向开启。

（三）应当根据体外诊断试剂的生产过程控制，确定在相应级别的洁净室（区）内进行生产的过程，避免生产中的污染。空气洁净级别不同的洁净室（区）之间的静压差应当大于5帕，洁净室（区）与室外大气的静压差应当大于10帕，并应当有指示压差的装置。相同级别洁净室间的压差梯度应当合理。

（四）洁净室（区）应当按照体外诊断试剂的生产工艺流程及所要求的空气洁净度级别进行合理布局，人流、物流走向应当合理。同一洁净室（区）内或相邻洁净室（区）间的生产操作不得互相交叉污染。

（五）在同一洁净室（区）内生产不同品种产品时应当做到有效隔离，以避免相互混淆和污染。有数条包装线同时进行生产时，企业应当采取隔离或其他有效防止混淆的措施。

（六）企业应当确定工艺所需的空气净化级别，其生产环境洁净度应当满足以下要求：

1．阴性或阳性血清、质粒或血液制品等的处理操作，生产区域应当不低于10，000级洁净度级别，并应当与相邻区域保持相对负压。

2．酶联免疫吸附试验试剂、免疫荧光试剂、免疫发光试剂、聚合酶链反应（PCR）试剂、金标试剂、干化学法试剂、细胞培养基、校准品与质控品、酶类、抗原、抗体和其他活性类组分的配制及分装等产品的配液、包被、分装、点膜、干燥、切割、贴膜以及内包装等，生产区域应当不低于100,000级洁净度级别。无菌物料等分装处理操作，操作区域应当符合局部100级洁净度级别。

3．对生产环境没有空气净化要求的体外诊断试剂，如普通化学类诊断试剂，应当在清洁环境内进行生产。清洁条件的基本要求：要有防尘、通风、防止昆虫或其他动物以及异物混入等措施；人流、物流分开，人员进入生产车间前应当有换鞋、更衣、佩戴口罩和帽子、洗手、手消毒等清洁措施；生产场地的地面应当便于清洁，墙、顶部应当平整、光滑，无颗粒物脱落；操作台应当光滑、平整、无缝隙、耐腐蚀，便于清洗、消毒；应当对生产区域进行定期清洁、清洗和消毒；应当根据生产要求对生产车间的温湿度进行控制。

普通化学类试剂一般包括不含生物活性物质的生化试剂，如无机离子测定试剂盒、白蛋白测定试剂盒（BCG法）、总胆固醇测定试剂盒（COD-CE-PAP法）等；电解质分析仪随机试剂、生化分析仪用稀释液等；溶血剂等。

（七）根据工艺规程等文件，应当明确洁净室(区) 温湿度的要求、监测频次和记录的要求，温湿度监测装置应当处于正常的工作状态，并有检定标识；空调机组应当有温湿度控制设施。洁净室（区）内的温度、相对湿度应当符合医疗器械相关行业标准要求。对空气有干燥要求的操作间，应当配置空气干燥设备，保证物料不会受潮变质，干燥间湿度一般为10％～30％，生物活性原料一般要求储存于-15℃以下。有特殊要求的，根据特殊要求储存或按照原料厂家规定执行。

（八）生产激素类、操作有致病性病原体或芽胞菌制品的，应当使用单独的空气净化系统，与相邻区域保持负压，排出的空气不能循环使用。已知现有的激素类试剂名录可参考2013版体外诊断试剂分类子目录“Ⅱ-3 用于激素检测的试剂”。

（九）对特殊的高致病性病原体的采集、制备，应当按照《微生物和生物医学实验室生物安全通用准则》等相关规定，具备P3级实验室等相应设施。P3级实验室应当取得中国合格评定国家认可委员会颁发的证书。特殊的高致病性病原体可参见《人间传染的病原微生物名录》。

（十）生产聚合酶链反应（PCR）试剂的，其生产和检验应当在独立的建筑物或空间内，保证空气不直接联通，防止扩增时形成的气溶胶造成交叉污染。生产聚合酶链反应（PCR）试剂的，其生产和质检的器具不得混用，用后应当严格清洗和消毒。

阳性质粒的生产一般分为菌液培养、质粒提取、稀释分装等过程，要求稀释分装应当有防止气溶胶污染的措施。

（十一）与试剂直接接触的设备和器具应当易于清洁和保养、不与成分发生化学反应或吸附作用，不会对试剂造成污染。应当对与产品直接接触的设备和器具予以验证，并保存记录。

1．与试剂直接接触的设备一般包括：包被机、封闭机、灌装机、蠕动泵、洗板机、搅拌器、切条机、点膜机等。

2．与试剂直接接触的器具一般包括：塑料桶，量筒，烧杯，锥形瓶、玻璃瓶等。

3．常见的体外诊断试剂生产、检验设备清单详见附件1。

（十二）动物室应当在隔离良好的建筑体内，与生产、质检区分开，不得对生产造成污染。

三、物料采购控制要求

（一）应当确定外购、外协物料清单，应当至少包含以下信息：名称、规格型号、分类等级，并明确所有物料的技术指标和质量要求。外购、外协物料清单应当包含包材、标签和检验中的耗材（质控品、校准品、培养基等）；物料清单中应当包括申报产品标准中所列的原料。有特殊要求的物料应当根据国家相关法规要求进行采购和进货检验，如氰化钾、叠氮钠等。

（二）外购的标准品、校准品、质控品、生产用或质控用血液的采购应当满足可追溯要求。应当由企业或提供机构测定病原微生物及明确定值范围；应当对其来源地、定值范围、灭活状态、数量、保存、使用状态等信息有明确记录，并由专人负责。

校准品：其值在一个校准函数中用作独立变量的参考物质。应当具有定值和已知的测量不确定度，其目的应当是校准某一测量系统，从而建立此系统测量结果的计量学溯源性。

质控品：用于体外诊断的质量控制物质，是一种旨在用于医学检测系统中使用的物质、材料等，其目的是评价或验证测量精密度或由于试剂或分析仪器的变化导致的分析偏差等。用于能力验证、实验室内质量控制等。

（三）应当明确各类物料的仓储环境和控制要求，并定期监测，提供环境监测的记录。仓储现场的环境监测设施应当定期计量、校准；应当具有校准品、质控品和生物活性物质等需要低温保存的仓库（如有），需要冷藏、冷冻储存的原料、半成品和成品，应当配备相应的冷藏、冷冻储存设备，并按规定监测设备运行状况、记录储存温度。冷藏冷冻条件温度计量装置的量程应当符合要求。冷藏、冷冻体外诊断试剂应当配备符合其温度要求的运输设施设备。

（四）应当按照物料的性状和储存要求进行分类存放管理，应当明确规定中间品的储存条件和期限。所有物料的名称、批号、有效期和检验状态等标识必须明确。空间区域划分应能识别检验状态，如检验区、合格品区等。物料应当在规定的使用期限内，按照先进先出的原则使用。无规定使用期限的，应当根据物料的稳定性数据确定储存期限。一般情况下，物料无规定使用期限的，其储存期限一般不超过三年，规定有效期的，遵其规定。企业应当依据物料性质确定复验周期，储存期内发现储存条件变化且可能影响产品质量时，应当及时进行复验。已被取样的包装应当有取样标记。应当对检测用外购标准品、质控品复溶后中间品的储存条件及有效期进行验证。

（五）易燃、易爆、有毒、有害、具有污染性或传染性、具有生物活性或来源于生物体的物料的存放应当符合《危险化学品安全管理条例》、《生物制品生产、检定用菌种、毒种管理规程》、《人间传染的病原微生物名录》、《常用危险化学品的分类及标志》、《危险货物品名录》、《危险化学品目录》、《麻醉品和精神药品名录》等相关国家规定，应当做到专区存放并有明显的识别标识，应当由专门人员负责保管和发放，在受控条件下进行处理，避免造成传染、污染或泄漏等，发放后剩余物料应当妥善保管。

（六）生产过程中所涉及的化学、生物及其它危险品，企业应当列出清单，并制定相应的防护规程，其环境、设施与设备应当符合国家相关安全规定。生产过程中涉及的化学、生物及其它危险品一般包括：甲醇、无水乙醇、硫酸、盐酸、三氯硝基甲烷、高锰酸钾、甲醛、病毒菌种等。

（七）具有污染性、传染性的物料、高风险的生物活性物料的病原体物料的管理应当符合国家相关规定。专区存放、专人保管和发放，并制定相应的防护规程。

（八）高生物活性、高毒性、强传染性、强致敏性产品可参照《危险货物品名录》。生物活性是指能引起细胞正常机理发生改变的能力，主要指一些基因表达产物如具有酶活的抑癌基因表达蛋白；还有一些激素类物质如性激素。高致敏性物质是指能引起个体强烈过敏反应的物质如青霉素、链霉素、花粉等。

应当明确该类物料的使用管理的要求，物料的领取和操作应当在受控条件下进行，不应造成传染、污染或泄漏等。物料操作应当在单独的净化间进行，高风险的生物活性物料操作间应当与相邻区域保持负压，排出的空气不能循环使用，高风险生物活性物料操作间内应当设有生物安全柜，空气应当进行除菌过滤方可排出。

应当能证明生产或检验用人血清/血浆的来源，明确使用目的，与供方签订技术协议。应当由企业或医疗机构测定病原微生物及明确定值范围。应当对其来源地、定值区间、灭活状态、数量、保存、使用状态等信息有明确记录，并由专人负责，确保物料的质量和稳定性。外购的商品化质控物应当能溯源，人血清/血浆原则上应当提供乙肝、丙肝、艾滋、梅毒阴性报告。应当对生产用需要灭活的血清或血浆建立灭活处理的操作规程，并按照操作规程的要求，对生产用灭活前后的血清或血浆状态进行明显的区分和标识。应当有对阳性血清的防护措施，如灭活记录、不得直接用手接触等。

（九）应当明确生产检验过程中所产生废物、废液的种类，对于有毒、有污染的废液、废物应当有完备的回收与无害化处理措施，并保留回收处理的记录。如采取委托方式，应当与受托方签订委托协议，并保存相关记录。符合相关的环保要求。

生产检验过程中所产生废物、废液一般包括：口罩、手套、枪头、反应完成的酶标板、实验完毕培养基、洗板机废液桶内液体，试剂盒剩余液体、微生物无菌检查废液以及阳性等传染性物料等。

（十）不同性状和储存要求的物料应当进行分类存放，按效期管理。应当建立复验制度。应当制定仓储与运输管理制度，应当有不同性状和储存要求的物料的分类要求；复验制度应当明确复验时机及复验方法。冷藏、冷冻的物料应当分类分开存放，并标明有效期。

1．复验：指超过自定效期的物料继续使用前应当检验。

2．物料管理制度应当有对校准品和质控品的存放管理。

四、生产过程控制要求

（一）应当按照国家批准的工艺进行生产，应当制定生产所需的工序流程、工艺文件和标准操作规程，明确关键工序或特殊工序，确定质量控制点，并规定应当形成的生产记录。

本指南主要例举了几种常见的体外诊断试剂产品的生产工艺流程，见附件2～5。例举这几种产品生产工艺流程是为了更直接的体现不同试剂产品生产工艺的异同，并不代表作为企业生产产品的依据。企业应当结合自己的实际情况，制订相应产品的工艺流程及质量要求。

（二）当生产工艺变更足以影响产品安全性、稳定性时，应当重新申报变更生产工艺，并按程序进行工艺修订。

（三）应当对每批产品中关键物料进行物料平衡核查。如有显著差异，必须查明原因，在得出合理解释，确认无潜在质量事故后，方可按正常产品处理。

物料平衡计算公式为：

实际产出量（合格+不合格+取样+剩余等）/理论产出量×100%

应当至少要求从关键原料到成品环节计算物料平衡；应当有对物料平衡可接受标准的要求；应明确物料平衡超出可接受标准的处理方法。

（四）应当建立清场的管理规定。前一道工艺结束后或前一种产品生产结束后必须进行清场，确认合格后才可以入场进行其他生产，并保存清场记录。

（五）清场时，配制和分装器具等应当进行清洗、干燥等洁净处理，并进行验证，必要时，器具清洗干燥后应当有有效保存时间的验证。

（六）应当建立生产用菌毒种的原始种子批、主代种子批和工作种子批系统。生产和检验用的菌毒种应当标明来源，验收、储存、保管、使用、销毁应当执行《中国医学微生物菌种保藏管理办法》。

（七）生产用细胞应当建立原始细胞库、主代细胞库、工作细胞库。应当建立细胞库档案资料和细胞操作日志。自行制备抗原或抗体，应当对所用原料的来源和性质有详细的记录并可追溯。

（八）应当制定批号管理制度，对主要物料、中间品和成品按规定进行批号管理，并保存和提供可追溯的记录。同一试剂盒内各组分批号不同时应当尽量将生产日期接近的组分进行组合，在每个组分的标签上均标明各自的批号和有效期。整个试剂盒的有效期应当以最先到有效期的组分的效期为准。

五、产品检验与质量控制要求

（一）使用一级标准物质、二级校准物质应当能够对量值进行溯源，明确其来源、准确度及不确定度。

1．标准物质：具有一种或多种足够均匀和很好地确定了的特性，用以校准测量装置、评价测量方法或给材料赋值的一种材料或物质。标准物质应为经国家批准的参考物质。

2．标准物质的分级：

（1）一级标准物质

1）用绝对测量法或两种以上不同原理的准确可靠的方法定值。在只有一种定值方法的情况下，用多个实验室以同种准确可靠的方法定值；

2）准确度具有国内最高水平，均匀性在准确度范围之内；

3）稳定性在一年以上或达到国际上同类标准物质的先进水平；

4）包装形式符合标准物质技术规范的要求。

（2）二级标准物质

1）用与一级标准物质进行比较测量的方法或一级标准物质的定值方法定值；

2）准确度和均匀性未达到一级标准物质的水平，但能满足一般测量的需要；

3）稳定性在半年以上，或能满足实际测量的需要；

4）包装形式符合标准物质技术规范的要求。

（二）应当建立校准品、参考品量值溯源程序。对每批生产的校准品、参考品进行赋值。应当能提供外购的校准品和质控品的来源和溯源性的相关证明。应当对检验过程中使用的标准品、校准品、质控品建立台账及使用记录。应当记录其来源、批号、效期、溯源途径、主要技术指标、保存状态等信息，按照规定进行复验并保存记录。

（三）对不具备检测能力的外购物料，企业应当制定验收规程。

（四）需要常规控制的检验项目原则上不得进行委托检验，确需委托检验的，受托方应当具备相应的资质条件，企业应当有委托检验协议，协议内容应当包括委托检验的数量、周期、项目要求；并保存检验报告和验收记录。

（五）如试样，企业应当有试样验证的验收规程和记录，并保存试样批号、试样生产记录、检测报告、操作人员签字、批准人员签字等相关记录。

（六）留样应当在规定条件下储存。应当建立留样台账，及时记录留样检验信息，留样检验报告应当注明留样批号、效期、检验日期、检验人、检验结果等。留样期满后应当对留样检验报告进行汇总、分析并归档。

注：对于与质量管理体系有关的要求已单独制定检查指南的，可参照相应检查指南执行。

附件：1. 常见的体外诊断试剂的生产、检验设备清单

2. 化学发光法主要生产工艺

3. 胶体金法主要生产工艺

4. 酶联产品主要生产工艺

5. 生化试剂主要生产工艺

6. 常见的人血基质质控品生产工艺

附件1

常见的体外诊断试剂的生产、检验设备清单

**化学发光试剂：**

生产设备：天平、离心机、配液桶、烧杯、吸管、量筒、蠕动泵、分装机、包被机、洗板机、除湿机、干燥箱、分装机、封口机、喷码机、标签机、贴标机、冰箱等

检测设备：PH计、电导率仪、发光分析仪、洗板机、恒温箱

**胶体金试剂：**

生产设备：天平、离心机、喷膜机、喷金机、加热搅拌设备、除湿机、干燥箱、切条机、压卡机、封口机、喷码机、包装机、冰箱等

检测设备：PH计、紫外分光光度计、卡尺、胶体金读数仪、电泳仪

**酶联免疫试剂：**

生产设备：天平、离心机、配液桶、磁力搅拌器、烧杯、吸管、量筒、蠕动泵、分装机、包被机、洗板机、甩干机或吸液机、除湿机、干燥箱、恒温箱、分装机、封口机、喷码机、标签机、贴标机、冰箱等

检测设备：PH计、电导率仪、酶标仪、洗板机、恒温箱、电泳仪、紫外分光光度计、天平

**生化试剂：**

生产设备：天平、配液桶、烧杯、吸管、量筒、容量瓶、移液器、搅拌器、蠕动泵、分装机、冻干机、喷码机、标签机、贴标机、冰箱等

检测设备：PH计、电导率仪、生化分析仪、分光光度计、水分滴定仪

附件2

化学发光法主要生产工艺

一、原理

化学发光免疫分析（chemiluminescence immunoassay，CLIA），是将具有高灵敏度的化学发光测定技术与高特异性的免疫反应相结合，用于各种抗原、抗体、激素、酶、脂肪酸、维生素和药物等的检测分析技术。化学发光免疫分析包含两个部分，即免疫反应系统和化学发光分析系统。免疫反应系统是将发光物质（在反应剂激发下生成激发态中间体）直接标记在抗原或抗体上，或酶作用于发光底物。化学发光分析系统是利用化学发光物质经催化剂的催化和氧化剂的氧化，形成一个激发态的中间体，当这种激发态中间体回到稳定的基态时，同时发射出光子，利用发光信号测量仪器测量光量子产额，该光量子产额与样品中的待测物质的量成正比，由此可以建立标准曲线并计算样品中待测物质的含量。

二、化学发光免疫分析的类型

（一）化学发光标记免疫分析

化学发光标记免疫分析又称化学发光免疫分析（CLIA），是用化学发光剂直接标记抗原或抗体的免疫分析方法。常用于标记的化学发光物质有吖啶酯类化合物（AE）。

（二）化学发光酶免疫分析

从标记免疫分析角度，化学发光酶免疫分析（CLEIA），应属酶免疫分析，只是酶反应的底物是发光剂，操作步骤与酶免分析完全相同：以酶标记生物活性物质（如酶标记的抗原或抗体）进行免疫反应，免疫反应复合物上的酶再作用于发光底物，在信号试剂作用下发光，用发光仪进行发光测定。目前常用的标记酶为辣根过氧化物酶（HRP）和碱性磷酸酶（ALP），它们有各自的发光底物。

（三）时间分辨荧光免疫分析（TRFIA）

是用三价稀土离子及其螯合剂作为示踪物，如铕（Eu3+）、铽（Te3+）及钐（Sm3+）、镝（De3+）等代替传统的荧光物质、放射性同位素、酶和化学发光物质，来标记抗体、抗原、多肽、激素、核酸探针或生物活性细胞，待反应体系发生后，用时间分辨荧光仪测定最后产物中的荧光强度，根据荧光强度和相对荧光强度比值，判断反应体系中分析物的浓度，达到定量分析的目的。

（四）电化学发光免疫分析（ECLIA）

是电化学发光（ECL）和免疫测定相结合的产物，是一种在电极表面由电化学引发的特异性化学发光反应，包括了电化学和化学发光二个过程。ECL 反应底物有两种：三氯联吡啶钌[Ru（bpy）3]2+、络合物三丙胺（TPA）。

三、主要生产工艺（以微孔板载体的化学发光酶免疫分析为例进行描述）

（一）固相载体的制备

1．包被板的准备

准备经检验合格的包被板，记录批号、数目、状态标识。

常规质控项目：尺寸，外观，包装。

2．包被液的配制

配制包被缓冲液，加入包被的抗体或抗原至工作浓度，混合均匀，即成所需的包被液，工作浓度的包被液应在规定时间内使用。

常规质控项目：包被缓冲液配方，pH值。

3．包被板的包被

包被液按工艺要求加入包被板。记录所包被的包被板数量。

常规质控项目：包被体积，温度，时间，过程监控。

关键设备：包被机、天平、加样器。

4．洗板工作液的配制（按各单位工艺要求，可以不洗板）

按配方配制洗板工作液。

常规质控项目：洗板工作液配方，pH值。

5．封闭液的配制

按配方配制封闭液。

常规质控项目：封闭液配方，pH值。

6．洗板和封闭

包被完成后，抽去孔内包被液，用洗板工作液洗板后（按各单位工艺要求，可以不洗板），加入封闭液。

常规质控项目：封闭体积，温度，时间，过程监控。

关键设备：包被机、洗板机、天平、加样器。

7．抽干

封闭后的反应板，抽干孔内液体。

常规质控项目：过程监控。

8．干燥

反应板应按工艺的要求进行干燥。

常规质控项目：温度，湿度，时间，过程监控等。

9．密封包装

将干燥后的反应板用铝箔袋密封包装，内放干燥剂（按各单位工艺要求，可以不放）。

常规质控项目：密封性能，标识及效期等。

关键设备：包装机。

10．反应板（半成品）检验

对装袋密封后的反应板进行抽样检验。

常规质控项目：外观、板内变异、板间变异等。

（二）滴配过程

1．酶结合物（也称酶标记物）的制备（根据各产品实际情况，该步骤可不进行）

采用常规过碘酸钠——乙二醇法将相关的抗体（或抗原）标记辣根过氧化物酶（或其他酶），酶标记后的抗体（或抗原）应加入适当的保护剂保存于低温。

常规质控项目：标记方法，过程控制。

2．酶结合物的鉴定

（1）功能性实验

将酶结合物用酶稀释液稀释后，用于产品的滴配，其结果应符合相关试剂盒的质量标准。

（2）稳定性

将酶结合物用酶稀释液稀释，进行2～8℃，及热稳定性实验，滴配结果应符合相关试剂盒的质量标准。

3．酶结合物稀释液

按酶结合物稀释液的配方配制，存放在2～8℃保存，并于规定时间内使用。

常规质控项目：酶结合物稀释液配方，pH值。

4．酶结合物工作浓度的滴配

取酶结合物，用酶结合物稀释液稀释到不同的浓度，用已制备好的反应板进行滴配。测定系列标准品及相应的质控品，确定使体系达到最优的酶结合物工作浓度。

5．酶结合物工作液配制

将所需量酶结合物和酶结合物稀释液按滴配浓度混合均匀。

常规质控项目：分装前检验，用配套的反应板进行检验，外观、灵敏度、质控品测定值、定量产品应作校准品线性检测。

6．酶结合物工作液的分装

按工艺要求分装酶结合物工作液。

常规质控项目：分装前确认试剂名称、批号、数量，分装量，封装后密封性。

7．酶结合物工作液（半成品）检验

对分装后的酶结合物工作液进行抽样检验，外观、分装量、灵敏度、校准品剂量-反应曲线线性、质控品测定值。

（三）校准品、阴/阳性对照或质控品的制备

1．稀释液

按稀释液的配方配制，存放在2～8℃或-20℃以下保存，并于有效期内使用。

常规质控项目：稀释液配方，pH值。

2．校准品、阴/阳性对照的配制

校准品、阴/阳性对照品的配制应具有量值溯源性，可参照国家标准品、WHO标准品或其他级别的标准物质进行配制。

常规质控项目：分装前检验，准确性、剂量－反应曲线线性（定量产品）、质控品测定值。

3．校准品、阴/阳性对照或质控品的分装

按工艺要求分装校准品、阴/阳性对照或质控品。

常规质控项目：分装前确认试剂名称、批号、数量，分装量。

4．校准品、阴/阳性对照或质控品（半成品）检验

对分装后的校准品、阴/阳性对照或质控品进行抽样检验，外观、分装量、准确性、剂量－反应曲线线性（定量产品）、质控品测定值。

（四）化学发光底物的制备

1．底物缓冲液

按底物缓冲液的配方配制，存放在2～8℃保存，并于有效期内使用。

常规质控项目：底物缓冲液配方，pH值。

2．化学发光底物（氧化剂和发光剂）的配制

分别按氧化剂和发光剂的配方在底物缓冲液中加入相应的氧化剂和发光剂。

常规质控项目：氧化剂和发光剂配方。

常规质控项目：分装前检验，本底、发光强度。

3．化学发光底物（氧化剂和发光剂）的分装

按工艺要求分装化学发光底物（氧化剂和发光剂）。

常规质控项目：分装前确认试剂名称、批号、数量，分装量，封装后密封性。

4．化学发光底物（半成品）检验

对分装后的化学发光底物进行抽样检验，外观、分装量、本底、灵敏度、发光强度。

（五）分装、目检和贴签

分装量用减重称量法进行测量，把质量换算成体积后进行分装量的控制。目检是目测检查各组分的色泽、分装量以及是否混浊、有杂质等。

（六）包装

根据试剂盒包装SOP要求及说明书的要求，以流水线操作形式进行包装。包装时应严格检查品名、批号、装量，认真核对各物料数量，并在关盒前进行复核。

附件3

胶体金法主要生产工艺

一、原理

免疫胶体金技术是以胶体金作为示踪标志物应用于抗原抗体的一种免疫标记技术。胶体金是由氯金酸（HAuCl4）在还原剂如白磷、抗坏血酸、枸橼酸钠、鞣酸等作用下，聚合成为特定大小的金颗粒，并由于静电作用成为一种稳定的胶体状态，称为胶体金。胶体金在弱碱环境下带负电荷，可与蛋白质分子的正电荷基团形成牢固的结合，由于这种结合是静电结合，所以不影响蛋白质的生物特性。胶体金类试剂是采用胶体金标记的抗体或抗原包被于玻璃纤维膜、聚酯膜或其他载体，将相关抗原或抗体固相连接在硝酸纤维膜，应用层析法的原理检测样品中的抗原或抗体的快速检测试剂。

二、主要生产工艺

（一）胶体金的制备

采用枸橼酸三钠还原法或其他方法制备胶体金，胶体金颗粒大小应符合规定，胶体金标记物在510～560nm波长处应有最大吸收值，置2～8℃保存，应在规定的保存期内使用。用枸橼酸三钠还原法生产胶体金，金颗粒大小受用量、煮沸时机等因素影响。改变这些因素便可生产出不同颗粒大小的胶体金。

胶体金的检查指标有颗粒的大小，粒径的均一程度和浓度，可以通过肉眼观察，但需要一定的经验，良好的胶体金应该是清亮透明的。

所用设备：加热搅拌设备。

（二）胶体金的标记以及浓度的确定

胶体金对蛋白的吸附主要取决于pH值，在接近蛋白质的等电点或偏碱的条件下，二者容易形成牢固的结合物。如果胶体金的pH值低于蛋白质的等电点时，则会聚集而失去结合能力。除此以外胶体金颗粒的大小、离子强度、蛋白质的分子量等都影响胶体金与蛋白质的结合。

（三）检测线及质控线的制备

取已确定使用浓度的相关抗原或抗体，在硝酸纤维素膜上制备检测线，应用同样方法制备质控线，根据生产工艺在规定的温度、湿度条件下干燥，在规定的湿度（通过验证方法确定相对湿度要求）条件下存放。检测线与质控线应具有间隔距离要求，应对所用的金标用玻璃纤维、硝酸纤维素膜、塑料卡等进行质量检测，如尺寸、外观、包装及性能等，并记录批号、规格、数目、标识。不同规格的玻璃纤维、硝酸纤维素膜及塑料卡不能混用。

（四）贴膜、切割、装卡、装袋

贴膜、切割、装卡、装袋应在具有相应温湿度（通过验证方法确定相对温湿度要求）条件下操作，切割的膜条应有宽度要求。

附件4

酶联产品主要生产工艺

一、原理

ELISA是酶联接免疫吸附剂测定（Enzyme-Linked Immunosorbnent Assay）的简称。ELISA的基础是抗原或抗体的固相化及抗原或抗体的酶标记。结合在固相载体表面的抗原或抗体仍保持其免疫学活性，酶标记的抗原或抗体既保留其免疫学活性，又保留酶的活性。在测定时，受检标本（测定其中的抗体或抗原）与固相载体表面的抗原或抗体反应。用洗涤的方法使固相载体上形成的抗原-抗体复合物与液体中的其他物质分开。再加入酶标记的抗原或抗体，也通过反应结合在固相载体上。此时固相上的酶量与标本中受检物质的量呈一定的比例。加入酶反应的底物后，底物被酶催化成为有色产物，产物的量与标本中受检物质的量直接相关，故可根据呈色的深浅进行定性或定量分析。由于酶的催化效率很高，间接地放大了免疫反应的结果，使测定方法达到很高的敏感度。

二、主要生产工艺

（一）酶标板的制备：

1．工艺流程                         （B）封闭液的配制

                                      ↓

（A）包被液的配制 →（C）酶标板的包被 →（D）酶标板封闭 →（E）酶标板的干燥、包装              （有些产品封闭前需先洗板）

2．关键点控制

（1）包被：

1）确认包被液的相关信息（名称、浓度、批号、批量等）；

2）包被液量控制在要求范围内；

3）温育或冷育的温度、时间在要求范围内。

关键设备：包被机、天平、加样器。

（2）封闭：

1）确认洗板的次数（如有洗板）；

2）确认配制封闭液的相关信息（名称、浓度、批号、批量等）；

3）封闭液量控制在要求范围内；

4）温育或冷育的温度、时间在要求范围内。

关键设备：包被机、洗板机、天平、加样器。

（3）干燥、包装：

1）干燥的温湿度在要求范围内；

2）干燥结束的酶标板逐一装入铝箔袋中同时放入一袋干燥剂，装袋同时要将酶标板标识不清楚的、板孔有缺损的挑出报废。

关键设备：包装机。

（二）酶标试剂的制备：

1．工艺流程

（A）液体的配制→（B）液体的分装

2．关键点控制

（1）液体配制过程物料量取准确；

（2）确认配制溶液的外观符合要求；

（3）确认配制试剂的相关信息（名称、浓度、批号、批量等）；

（4）控制液体分装量范围，应满足要求。

关键设备：天平、分装机。

（三）阴、阳性对照的制备：

1．工艺流程

（A）原料的灭活（如需）→（B）液体的配制→（C）液体的分装

2．关键点控制

（1）控制灭活温度和时间（如灭活）；

（2）液体配制过程物料量取准确；

（3）确认配制阴阳性对照的相关信息（名称、浓度、批号、批量等）；

（4） 控制液体分装量范围，应满足要求。

关键设备：水浴锅（如灭活）、天平、分装机。

（四）其他组分的制备：

1．工艺流程

（A）液体的配制→（B）液体的分装

2．关键点控制

（1）液体配制过程物料量取准确；

（2）确认配制试剂的相关信息（名称、批号、批量等）；

（3）控制液体分装量范围，应满足要求。

关键设备：天平、分装机。

附件5

生化试剂主要生产工艺

一、常见生产流程

容器清洗——称量（关键工序）——溶解、配制（过滤）——半成品检验——分装——如有冻干（特殊工序）——打印批号、贴标、包装、装盒——成品检验

二、操作规程及质量控制点

（一）主要原材料

与产品质量密切相关的主要原材料包括各种酶制剂、化学试剂、抗原、抗体等。主要原料的常规检验项目一般包括：

**1.外观**

**2.含量（化学试剂）：**根据国家、国际标准或本企业内部标准。质量要求一般为分析纯以上。

**3.酶活性（酶制剂）**：根据通用标准或本企业内部标准。

**4.抗体效价：**通过倍比稀释法与抗原反应进行检测（建议通过配制试样检测到货产品质量）。

（二）其它

**1.包装瓶**

质量要求：外观、密封性、抗跌性、溶出物、脱色试验、振荡试验。

**2.说明书、包装外盒、瓶签等标识**

参照国家食品药品监督管理局颁布的《医疗器械说明书和标签管理规定》和《体外诊断试剂说明书编写指导原则》。

（三）试剂盒生产的关键步骤及质控项目

试剂的生产包括试剂的制水、配制、过滤、冻干（冻干试剂）、分包装等步骤；并通过产品的半成品检验和成品检验两个质控过程来保证其质量符合相关规定。

**1.制水**

使用水处理设备进行工艺用水的制备，并经过专用管路连接到各用水点。

**2.容器清洗**

（1）用水清洁配制所需容器。

（2）质控要求：清洁无污渍。

（3）容器的清洗要按验证方案进行；应有对清洗用水的要求；

（4）如有对容器清洗后干燥的要求，应有干燥过程参数的验证报告。

**3.称量**

（1）称量前天平应调节水平并经校准，称量时应双人复核，应有天平调零过程；

（2）天平精度应至少高于所称量物品最小精度的一个数量级；

**4.配制**

（1）应有搅拌方法的要求：如用搅拌机应有速率及时间的要求，如人工搅拌应有搅拌圈数的要求；

（2）配制间温度一般应控制在18～25℃，配制、过滤时间一般不超过4小时。

**5.过滤（如有）**

根据各产品的规程选择不同的滤膜进行过滤，确保溶液无杂质、空白吸光度符合要求。

常规质控项目：试剂外观、空白吸光度（通过后续的半成品检验完成）。

**6.分装**

（1）按工艺要求试剂分装。分装前、分装中、分装末均需对分装量进行校验。

常规质控项目：分装前确认试剂名称、批号、数量、分装量、封装后密封性。

（2）应有试分装的要求，或首瓶检测的要求；

**7.冻干**

（1）使用冻干机对试剂进行冻干。各种冻干试剂都需建立相应的冻干工艺，冻干过程的重要参数主要为冻干时间、冻干压力、冻干温度。

（2）冻干品外观应该呈现疏松的粉末状固体，在规定时间内（一般不超过60分钟）复溶完全。

（3）冻干过程一般为：预冻（降温）——抽真空——化霜[加热升温（逐渐）]

**8.包装**

将试剂各组分、合格证及说明书，放入相应的试剂盒内。包装时应检查品名、批号、失效期、装量、规格，核对各物料数量，并在盖盒前进行复核。

**9.封膜**

将组装好的试剂放在自动封膜机上封装，控制封膜时间以及封膜的温度。确保膜完整及与试剂盒吸附紧密。

附件6

常见的人血基质质控品生产工艺

一、血清/血浆基质加生物活性物质方法（适用于定值质控）

|  |
| --- |
|  |
|  | D:\new folder\Desktop\体外诊断试剂生产质量体系检查要点指南（2017年修订版）.files\image004.gif |

质控点：确定分装、冻干后质控品的浓度、瓶间变异、稳定性等

二、混合血清/血浆方法（适用于定性质控）



质控点1：确定混合后血清、血浆的阴阳性

质控点2：确定分装、冻干后质控品的阴阳性、瓶间变异、稳定性等

参考资料

1．《危险化学品安全管理条例》（中华人民共和国国务院令第591号）

2．《血液制品管理条例》（中华人民共和国国务院令第208号）

3．《卫生部关于印发<人间传染的病原微生物名录>的通知》（中华人民共和国卫生部令第45号）

4．《中国医学微生物菌种保藏管理办法》（1985年3月23日中华人民共和国卫生部发布）

5．《标准物质管理办法》（1987年7月10日国家计量局发布）

6.《关于发布医疗器械生产质量管理规范的公告》（国家食品药品监督管理总局公告2014年第64号）

7.《关于发布医疗器械生产质量管理规范附录体外诊断试剂的公告》（国家食品药品监督管理总局公告2015年第103号）

8.《关于印发医疗器械生产质量管理规范现场检查指导原则等4个指导原则的通知》（食药监械监〔2015〕218号）

9．《关于印发酶联免疫法检测试剂注册技术审查等6项指导原则的通知》（食药监办械函[2013]3号）

-《酶联免疫法检测试剂注册技术审查指导原则》

-《发光免疫类检测试剂注册技术审查指导原则》

-《核酸扩增法检测试剂注册技术审查指导原则》

-《金标类检测试剂注册技术审查指导原则》

-《生物芯片类检测试剂注册技术审查指导原则》

10．《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》（GB/T21415-2008）

11．《无菌医疗器具生产管理规范》（YY0033-2000）

12．《微生物和生物医学实验室生物安全通用准则》（WS233-2002）

13．《常用危险化学品的分类及标志》（GB13690-2009）

14．《危险货物品名录》（GB12268-2012）

15.《实验室生物安全通用要求》(GB19489-2008)

16.《中华人民共和国药典》（2015版）

17．《危险化学品目录（2015版）》

18．《生物制品生产、检定用菌种、毒种管理规程》

