

附件 2

呼吸道病毒多重核酸检测试剂注册技术 审查指导原则

本指导原则旨在指导注册申请人对呼吸道病毒多重核酸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审评注册申报资料提供参考。

本指导原则是对呼吸道病毒多重核酸测定试剂的一般要求，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未包含的研究内容，可自行补充。

如果申报产品检测项目包括的病毒有相应的指导原则，应首先满足指导原则要求的内容。

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

呼吸道感染（Respiratory tract infection, RTI）是人类最常见的一类疾病，可以在任何性别、年龄和地域中发生，是全球范围内引起人群发病和死亡的最主要原因之一。呼吸道

感染引起的临床症状和体征都较为相似，其临床表现主要为鼻炎、咽炎、喉炎、扁桃体炎等症状，严重的可引起气管炎、支气管炎及肺炎等，但不同病原体引起的感染，其治疗方法、疗效和病程也不尽相同。目前已证明，大部分呼吸道疾病是由细菌外的病原体引起，其中以呼吸道病毒最常见。

本指导原则适用于呼吸道病毒多重核酸检测试剂，适用样本类型为鼻咽拭子、鼻拭子、咽拭子、肺泡灌洗液、痰液或其他呼吸道分泌物样本等，可包括但不限于：

甲型流感病毒（Influenza A, IFV A）、乙型流感病毒（Influenza B, IFV B）、呼吸道合胞病毒（Respiratory Syncytial Virus, RSV）、副流感病毒（Parainfluenza Virus, PIV）、人偏肺病毒（Human Metapneumovirus, hMPV）、腺病毒（Adenovirus, Adv）、呼吸道感染肠道病毒（肠道病毒/鼻病毒）（Enterovirus, EV/ Rhinovirus, RhV）、冠状病毒（Coronavirus, CoV）等。

本指导原则适用于利用荧光探针聚合酶链式反应（Real-time PCR）或其他分子生物学方法，以特定的呼吸道病毒基因序列为检测目标，对来源于人体样本中的呼吸道病毒核酸进行体外定性检测，临床用于辅助诊断呼吸道病毒感染相关性疾病。涉及其他临床用途的呼吸道病原体核酸检测试剂可参考本指导原则。

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、有关产品主要研究结果的总结和评价以及其他内容，其中的其他内容包括同类产品在国内批准上市情况。与预期用途相关的临床适应症应重点描述呼吸道病毒型别与临床适应症的相关性及相关病毒在我国的流行特征；产品描述应明确申报产品所有可检出的病毒型别、尚未验证的

病毒型别，陈述应科学、客观且有依据；与国内外同类产品的比较内容应着重从方法学、病毒种类及基因型检出能力、检出限等方面进行比较。应符合《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）和《体外诊断试剂注册申报资料要求及说明》（国家食品药品监督管理总局公告2014年第44号）的相关要求。

（二）主要原材料的研究资料

此类产品的主要原材料包括引物、探针、酶、dNTP、核酸分离/纯化组分（如有）、企业参考品、质控品等。应提供主要原材料的选择与来源、制备过程、质量标准等相关研究资料、质控品的定值试验资料等。如主要原材料为企业自制，应提供其详细制备过程；如主要原材料源于外购，应提供资料包括：选择该原材料的依据及对比试验资料、供货方提供的质量标准、出厂检定报告，以及该原材料到货后的质量检验资料。

1.引物和探针：应详述引物和探针的设计原则，提供引物、探针核酸序列、模板核酸序列及两者的对应情况。建议每种病毒设计两套或多套引物、探针以供筛选，针对所有预期适用的病毒种类及基因型别进行检出能力和特异性（如交叉反应）的评价，选择最佳组合，并提交筛选的研究数据。引物、探针的质量标准应至少包括序列准确性、纯度、浓度及功能性实验等。

如为外购，引物和探针应提供合成机构出具的质检证明，如纯度（应达到电泳级或 HPLC 级）、序列准确性等，申请人应对引物、探针核酸序列准确性、纯度、浓度、探针标记的荧光素或化学发光物等进行核实，同时申请人应进行功能性验证，并提供相关资料。

2.脱氧三磷酸核苷（dNTP）：包括 dATP、dUTP、dGTP、dCTP、dTTP，应提供对其纯度、浓度、功能性等的详细验

证资料。

3.酶：需要的酶主要包括 DNA 聚合酶、逆转录酶、尿嘧啶 DNA 糖基化酶等，应分别对酶活性、功能性等进行评价和验证。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；逆转录酶，具逆转录酶活性，无核酸内切酶活性；尿嘧啶 DNA 糖基化酶（UNG），应对酶活性及热稳定性有合理验证。

4.试剂盒内质控品

试剂盒的质控体系通过设置各种试剂盒对照品（质控品）来实现，其参与样本核酸的平行提取，以对整个 PCR 反应过程、试剂/设备、交叉污染等环节进行合理质量控制。质控品浓度及成分的设置应与待测样本相近。申报资料应对试剂盒对照品有关原料选择、制备、定值过程、浓度范围等试验资料详细说明。

4.1 阴性质控品应不含试剂盒所检测的靶序列，应参与样本处理和检测的全过程。以对可能存在的交叉污染产生的假阳性结果或扩增反应中背景值进行质量控制。阴性质控品可来自非呼吸道病毒感染患者样本、假病毒、含非靶向序列的生物样本。建议采用与实际检测样本具有相同或相似性状的基质溶液作为阴性对照（质控）品，不推荐采用水作为阴性对照（质控）品。

4.2 阳性质控品

4.2.1 全过程阳性质控品应参与样本处理和检测的全过程，如核酸的平行提取等步骤。全过程阳性质控品可用 1~2 个病毒株为代表，应含有天然的或人工合成的包含试剂盒可检测靶序列，可来自灭活病毒、假病毒、疫苗株等。企业应对质控品的检测结果（如 Ct 值）做出明确的范围要求。

4.2.2 扩增/检测用阳性对照品（如有）可为浓度在最低检出限附近的纯化靶核酸，以对检测过程进行质量控制。

4.3 内对照（内标）可以对管内抑制导致的假阴性结果进行质量控制，应与靶核酸一同提取及扩增，申请人应对内对照（内标）的引物、探针设计和模板浓度做精确验证，既要保证内标荧光通道呈明显的阳性曲线又要尽量降低对靶基因检测造成的抑制。对内对照的检测结果（如 Ct 值）亦应做出明确的范围要求。内标可设置为与待测病毒共提取的人核酸、人管家基因（如 RNaseP、 β -肌动蛋白）或人工合成的外源片段。

5.企业参考品：应详细提供有关企业参考品的原料选择、制备、阴阳性确认等试验资料。企业参考品的核酸性质应与产品预期检测的靶物质一致。建议企业参考品优先采用病毒培养物，如病毒难以培养，可采用假病毒、病毒株感染的细胞系等。

5.1 阳性参考品和阴性参考品

阳性参考品应覆盖申报产品声称可检出的主要呼吸道病毒亚型（详见表 1）。阴性参考品应考虑检测特异性的评价，应纳入不在试剂盒检测范围内、易引发相似症状的其他呼吸道病原体样品。

表 1 推荐用于企业参考品、最低检出限和包容性实验的病毒亚型

病毒名称	亚型
甲型流感病毒	H1N1（新型甲型 H1N1 流感病毒（2009）、季节性 H1N1 流感病毒）、H3N2、H5N1、H7N9
乙型流感病毒	Yamagata、Victoria
副流感病毒	1、2、3、4
呼吸道合胞病毒	A、B
偏肺病毒	A、B
腺病毒	1、2、3、4、5、7、55
呼吸道感染肠道病毒	肠道病毒：A、B、C、D

(肠道病毒/鼻病毒)	鼻病毒：A、B、C
冠状病毒	229E、OC43、NL63、HKU1

5.2 检测限参考品

申请人应明确检测限参考品中病毒核酸浓度的确定方法，明确检测限参考品中病毒核酸浓度的确定依据，检测限参考品中呼吸道病毒核酸浓度应为申报产品检测限浓度或略高于检测限浓度，检测限参考品应包含申报产品可检出的呼吸道病毒主要亚型（详见表 1）。

5.3 精密度参考品

可不包含所有涉及的呼吸道病毒亚型，但应选择多个临床较常见的型别，针对所选型别应至少包含 3 个水平：阴性水平、临界阳性水平、（中或强）阳性水平。

（三）主要生产工艺及反应体系的研究资料

1.介绍产品主要生产工艺，可用图表方式表示，并说明主要生产工艺的确定依据。

2.反应原理介绍。

3.详述样本采集、样本处理方式的选择和设置，提供相关的研究资料。

4.确定最佳反应体系的研究资料，包括样本用量、各种酶浓度、引物/探针浓度、dNTP 浓度、阳离子浓度及反应各阶段温度、时间、循环数等。

5.不同适用机型的反应条件如果有差异应分别详述，并提交验证资料。

6.如申报产品包含核酸分离/纯化试剂，应提交对核酸分离/纯化过程进行工艺优化的研究资料。

（四）分析性能评估资料

申请人应提交生产者在产品研制阶段对试剂盒进行的所有性能评价的研究资料，对于每项分析性能的评价都应包括具体研究目的、试验方法、可接受标准、试验数据、统计

方法等详细资料。有关分析性能验证的背景信息也应在申报资料中有所体现，包括实验地点、适用仪器、试剂规格、批号、临床样本来源等。

针对不同的样本类型，申请人应分别完成性能评估，包括阴阳性符合率、最低检测限、精密度、分析特异性等。

分析性能评价的试验方法可以参考国际或国内有关体外诊断试剂性能评估的指导原则进行。对于此类产品，性能评估中所用样品（除非特别说明）可参考上述企业参考品的制备要求。各项性能评价应符合以下要求：

1.核酸分离/纯化性能

在进行靶核酸检测前，应有适当的核酸分离/纯化步骤。该步骤的目的除最大量分离出目的核酸外，还应有相应的纯化作用，尽可能去除 PCR 抑制物。无论检测试剂是否含有核酸分离/纯化的组分，企业都应结合检测试剂的特性，对配合使用的核酸分离/纯化试剂的提取效率、提取核酸纯度等做充分的验证，提供详细的验证资料。

2.阳/阴性参考品符合率

阳性参考品的检测旨在验证试剂盒检测范围内的各呼吸道病毒主要亚型均可被检测到，阳性参考品检测结果应为阳性。阴性参考品旨在评价试剂特异性，阴性参考品检测结果应为阴性。

3.最低检出限

申报产品最低检测限的性能评估资料应包含最低检测限的确定及验证过程。

病毒原液浓度测定建议采用空斑形成单位（PFU）或半数组织培养感染/致死剂量（TCID₅₀）为计量单位（最低检出限建议的病毒亚型见表 1）。建议建立 PFU/TCID₅₀ 与拷贝数之间的关系。

企业应能够提供用于最低检出限验证的病毒株的来源、

型别确认及滴度确认试验等信息。

用于最低检测限确定和验证的病毒株如包括疫苗株，其应能够体现发病季的病毒特点。

3.1 最低检测限的确定

应针对申报产品所能检出的主要呼吸道病毒亚型分别进行确定。在进行最低检测限的确定时，参与研究的病毒各亚型应至少包括不同来源的 2 个具有代表性的病毒株的系列稀释梯度。建议采用培养后病毒原液、以混合阴性样本基质作为稀释液进行梯度稀释，难以培养的病毒也可采用假病毒或其他适宜方法进行最低检出限的确定。配制系列稀释的样品每个稀释度上重复制备 3~5 份样本，系列稀释度应能够覆盖大部分检出概率区间（0~100%），可通过概率计算或其他适当方法进行测算选取适当检出率水平的浓度作为最低检测限确定的标准，如 90-95%（ $n \geq 20$ ）的阳性检出率水平。

通过另制备至少 5 份最低检测限浓度水平的病毒稀释液对 90%~95% 的检出率进行确认。

3.2 最低检测限的验证

申报试剂应在最低检出限或接近最低检出限的病毒浓度、对每种常见待测病毒亚型具有时间和区域特征性的至少 3 个不同来源的病毒（病毒株或临床样本）进行验证，总测试数不少于 20 次。

4. 包容性验证

建议申请人在病毒 LoD 水平上或附近对声称样本进行分析，证明试验能够检测代表时间和地理多样性的、每种病毒主要亚型至少 3 个不同来源的临床样本（推荐病毒亚型见表 1）。包容性验证所用临床样本与最低检测限验证的样本不能重复使用。

企业应能够提供用于包容性验证的病毒株的来源、型别确认、滴度确定等信息。

5. 干扰试验（分析特异性）

在本项试验中，申请人应充分评估整个系统即从核酸提取到扩增的全过程的分析特异性。用于分析特异性验证的样本应使用声称的样本类型基质，并包括每种申报的样本类型。

5.1 内源/外源物质干扰

应根据所采集样本类型，针对可能存在的干扰情况进行验证。建议申请人在每种干扰物质的潜在最大浓度（“最差条件”）条件下进行评价，并针对有代表性的呼吸道病毒亚型，在病毒临界阳性水平进行干扰试验验证。检测的潜在干扰物包括样本中的原有物质（如血液、鼻腔分泌物或粘膜，及用于缓解淤血、鼻塞、刺激或哮喘和过敏症状的鼻腔和咽喉药物）及在样本采集和制备期间引入的物质（推荐用于干扰性试验的物质见表 2）。由于体外试验不一定能完全反映药物影响，在适用情况下可考虑替代性试验如评估临床实验中所纳入患者的用药影响，因此申请人也应评估其他常规或非处方药物及其代谢物。

表 2 推荐用于干扰试验的物质

物质	活性成分
粘蛋白	纯化粘蛋白
血液（人类）	
鼻腔喷雾剂或滴鼻剂	苯福林、羟甲唑啉、氯化钠（含防腐剂）
鼻用皮肤类固醇	倍氯美松、地塞米松、氟尼缩松、曲安奈德、布地奈德、莫米松、氟替卡松
过敏性症状缓解药物	盐酸组胺
流感疫苗	鼻内活流感病毒疫苗
润喉片、口服麻醉剂和镇痛剂	苯佐卡因、薄荷脑

抗病毒药物	扎那米韦、利巴韦林、奥司他韦、帕拉米韦
抗生素、鼻用软膏	莫匹罗星
全身性抗菌药	妥布霉素

5.2 竞争性干扰

申请人应充分考虑临床上常见的呼吸道病毒混合感染情况下（如甲型流感病毒与呼吸道合胞病毒），高浓度分析物对低浓度分析物检测的影响。建议申请人结合申报试剂的反应模式，使用一种最低检测限浓度的分析物和一种高浓度分析物评估竞争性干扰，竞争性感染的病毒组合建议为同一反应体系内病毒、常见重症感染病毒及常见混合感染病毒（如 IFV A 和 RhV、IFV B 和 RhV、IFV A 和 PIV、EV 和 RhV、PIV 和 HRV、以及其他的多重感染等）。竞争性干扰试验可与最低检测限、重复性或其他干扰试验同时进行。

6.交叉反应

6.1 与试剂盒中其他病毒的交叉反应性

建议申请人充分验证试剂盒中可检测病毒及亚型之间的交叉反应性，应使用病毒最高临床水平浓度进行。

6.2 与不在试剂盒检测范围中的病原体的交叉反应性

申请人应针对可能出现在检测样本中的病原体（如采样部位常见微生物、其他呼吸道感染病原体等）进行交叉反应验证。用于交叉反应验证的样品，应尽量采用灭活病原体或临床样本。建议在病毒和细菌感染的医学相关水平进行交叉反应的验证，申请人应详细说明交叉反应样本来源、病原体鉴定和滴度确定的方法和结果。病原体种类主要考虑以下几方面：试剂盒检测范围以外的其他呼吸道病原体、感染人群呼吸道样本中的其他微生物（如 EBV 和 CMV）、样本中可能出现的其他病原体。

表 3 推荐用于交叉反应的病原体

博卡病毒	肺炎支原体	诺卡菌*
巨细胞病毒	脑膜炎奈瑟菌*	粘质沙雷菌*
单纯疱疹病毒 1 型	奈瑟氏菌属	柠檬酸杆菌*
水痘带状疱疹病毒	铜绿假单胞菌*	隐球菌*
EB 病毒	金黄色葡萄球菌	烟曲霉*
百日咳杆菌	表皮葡萄球菌	黄曲霉*
肺炎衣原体	肺炎链球菌	肺孢子菌
棒状杆菌属	化脓性链球菌	白念珠菌
大肠杆菌*	唾液链球菌	粘液罗氏菌*
流感嗜血杆菌	鲍曼不动杆菌*	口腔链球菌*
乳酸杆菌属	嗜麦芽窄食单胞菌*	肺炎克雷伯菌
嗜肺军团菌	洋葱伯克霍尔德菌*	鹦鹉热衣原体*
卡他莫拉菌	纹带棒杆菌*	Q 热立克次体*
结核分枝杆菌减毒株*		

注：*项为选择性验证

7. 精密度

企业应对精密度指标，如标准差或变异系数等的评价标准做出合理要求。模拟样本并不能体现临床样本可能带来的所有变异因素，因此精密度评价中应同时包含若干临床样本，且精密度评价试验应包含核酸分离/纯化步骤。针对本类产品的精密度评价主要包括以下要求。

7.1 对可能影响检测精密度的主要变量进行验证，除检测试剂（包括核酸分离/纯化组分）本身的影响外，还应对分析仪、操作者、地点、检测轮次等要素进行相关的验证。

7.2 设定合理的精密度评价周期，例如：为期至少 20 天的检测，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。

7.3 用于精密度评价的人工模拟样品和临床样本均应至少包含 3 个水平：阴性样品、临界阳性样品、（中或强）阳性样品，并根据产品特性设定适当的精密度要求，临床样本精密度评价中的每一次检测均应从核酸提取开始。

7.3.1 阴性样本：待测物浓度低于最低检测限或为零浓度，阴性检出率应 $\geq 95\%$ （ $n \geq 20$ ）。

7.3.2 临界阳性样本：待测物浓度略高于试剂盒的最低检测限，阳性检出率应 $\geq 95\%$ （ $n \geq 20$ ）。

7.3.3 中/强阳性样本：待测物浓度呈中度到强阳性，阳性检出率为 100%且 $CV \leq 10\%$ （ $n \geq 20$ ）。

（五）阳性判断值确定资料

阳性判断值确定资料主要指对每种声称可检出的病毒核酸检测的 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。提供内标值的确定方法和研究资料。

（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）、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，应提供至少三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。

考虑到病毒 RNA 极易被降解的特性，企业也应对样本

稳定性进行研究，主要包括冷藏和冷冻两种条件下的有效期验证，可以在合理的温度范围内，每间隔一定的时间段即对储存样本进行验证，从而确认不同类型样本的效期稳定性。适于冷冻保存的样本还应对冻融次数进行评价。

对于样本提取后不能立即进行检测的，应明确核酸储存条件、储存时间等，同时应提供相应的核酸稳定性研究资料。

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

临床试验的开展、方案的制定以及报告的撰写等均应符合相关法规及《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。临床试验应能检出所有声称可检出的呼吸道病毒，每种呼吸道病毒检测阳性例数可采用统计方法进行计算，建议每种罕见病毒类型的阳性样本例数不少于 50 例，每种病毒类型的阳性例数在满足最低例数要求的基础上还应符合统计学要求，方案中需要给出明确的样本量确定依据，如每种病毒类型与对照方法的检测阳性一致率 95% 的置信区间下限 > 90%。临床试验应选择不少于 3 家（含 3 家）能代表不同地域的临床试验机构完成。

1. 病例选择及样本类型

申请人应选择体征/症状符合呼吸道感染的目标人群，进行前瞻性临床试验。申请人在建立病例纳入标准时，应考虑到各年龄段人群的差异，尽量覆盖各个年龄段人群。在进行结果统计分析时，除总体病例数的要求外，建议对各年龄段人群分层进行数据统计分析（如 < 5、6—21、22—59 和 > 60 岁），总体病例数应符合统计学要求。临床试验入组病例应与产品预期用途中适用人群一致。临床试验应首选新鲜样本，

每种病毒应有前瞻性阳性样本检出；某些呼吸道病毒在人群中具有低流行率，可用已知含特定病毒的样本（即留存样本）进行补充。如果选择留存样本，则应证明冻存或其他保存方法的样本稳定性，且应使用盲法，避免检测偏差。

2.参比方法

申请人应选择已批准上市、临床普遍认为质量较好的同类产品作为参比试剂，采用拟申报产品（以下称考核试剂）与之进行对比试验研究，证明本品与已上市产品等效或优于已上市产品。

如无已上市产品可选用病毒分离培养鉴定或测序方法进行比对。对于难以培养的呼吸道病毒（如人偏肺病毒）也可直接采用测序方法作为参比方法。

2.1 测序试验中的核酸扩增方法所测靶序列应与申报产品所测靶序列不同，且申请人应对该靶序列/引物提供文献或实验室数据支持。申请人应在临床研究报告中对选用的测序方法做详细介绍，并提供以下关于测序试验的详细信息及资料：

2.1.1 测序方法原理、测序仪型号、测序试剂及消耗品的相关信息。

2.1.2 测序方法所用引物相关信息，如基因区段选择、分子量、纯度、功能性试验等资料。

2.1.3 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拟申报产品的相关性能进行适当比对分析。

2.1.4 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。

2.1.5 提交有代表性的样本测序图谱及结果分析资料。

2.2 病毒培养时，除细胞病变效应（CPE）外，申请人还应进行病毒鉴定如病毒特异性抗体染色或 PCR 扩增后测序。

单纯的 CPE 无法提供准确的病毒鉴别。申请人应提供病毒分离培养的详细实验室流程，以及特定细胞系可作为分离某种病毒的文献或数据支持。

3.另外，对于流感病毒，申请人还应根据病毒流行情况选择新鲜采集样本，使用考核试剂与流感病毒感染检测的“金标准”方法—病毒分离培养鉴定方法进行比较研究，每种样本类型不少于 30 例经病毒分离培养方法确定为阳性的样本。

4.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，如检测结果一致性分析、阴性/阳性符合率等。对于本类产品对比实验的等效性研究，常选择交叉四格表的形式总结两种试剂的定性检测结果，对定性结果进行四格表卡方或 kappa 检验以验证两种试剂定性结果的一致性，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，即评价考核试剂与参比试剂是否等效的标准。

申请人应分别统计各病毒检测的阴、阳性符合率，同时应分别统计混合感染样本使用考核试剂和参比试剂的检测结果。如考核试剂存在灰区，申请人还应统计灰区样本使用参比试剂的检测结果。

在数据收集过程中，对于两种试剂检测结果不一致的样本，应采用“金标准”方法或临床上普遍认为质量较好的第三种同类试剂进行复核，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。

5.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。建议在临床总结报告中对以下内容进行详述。

5.1 临床试验总体设计及方案描述

5.1.1 临床试验的整体管理情况、临床研究单位选择、临床主要研究人员简介等基本情况介绍。

5.1.2 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、盲法的操作流程等。

5.1.3 样本类型，样本的收集、处理及保存等。

5.1.4 统计学方法、统计软件、评价统计结果的标准。

5.2 具体的临床试验情况

5.2.1 临床试验所用体外诊断试剂及仪器的名称、批号、机型等信息。

5.2.2 对各研究单位的病例数、年龄分布情况、不同病毒分布情况进行综合，建议以列表或图示方式列出各年龄组和不同病毒的样本例数。

5.2.3 质量控制，试验人员培训、仪器日常维护、仪器校准、质控运行情况。

5.2.4 具体试验过程，样本收集、样本保存、样本检测、结果处理、结果不一致样本的确认等。

5.3 统计学分析

5.3.1 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、对异常或缺失值的处理、研究过程中是否涉及对方案的修改。

5.3.2 结果的一致性分析

计算阳性符合率、阴性符合率、总体符合率，采用适当的统计学方法，如四格表卡方检验或 kappa 检验以验证两种试剂定性结果的一致性。

5.4 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。

（八）产品技术要求

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情况、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，编写产品技术要求。

呼吸道病毒核酸测试剂的产品性能指标应主要包括：物理性状、阴/阳性参考品符合率、精密度、最低检测限等。如果申报试剂已有适用的国家标准品、参考品发布，则申请人应在产品技术要求中提出检测要求。

按照《办法》的规定，此类产品为第三类体外诊断试剂，申请人应按照《医疗器械产品技术要求编写指导原则》的要求，以附录形式明确主要原材料、生产工艺及半成品要求，附录的编制应符合相关编写规范的要求。

（九）产品注册检验报告

应提供该产品符合产品技术要求的、在具有相应医疗器械检验资质和承检范围的医疗器械检验机构进行的产品检验报告；应提供连续 3 个生产批次样品的检验合格报告。

（十）产品说明书

结合《体外诊断试剂说明书编写指导原则》的要求，下面对呼吸道病毒核酸测试剂说明书的重点内容进行详细说明，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】

1.1 首段：本产品用于定性检测人鼻咽拭子、咽拭子或其他样本的××、××呼吸道病毒核酸。

适用样本类型应结合实际临床研究完成情况进行确认。应明确所有可检测的病毒种类及亚型。

1.2 简单介绍待测目标的特征，如病毒种系渊源、生物学性状、宿主特性、致病性、感染后临床表现、待测靶基因

特征等。明确呼吸道病毒核酸试剂的临床意义，通过对有呼吸道感染体征和症状的个体检测和鉴别特异性病毒核酸，联合其他临床和实验室结果以辅助诊断呼吸道病毒感染。

1.3 阴性结果不能排除呼吸道病毒感染，不能用作诊断、治疗或其他管理决策的唯一依据。

1.4 阳性结果不能排除检测指标外细菌感染或其他病毒混合感染情况。

1.5 待测人群特征介绍：具有呼吸道病毒感染症状的患者、相关的密切接触者、地域要求或年龄限制（如有）等，待测人群应与申报产品临床试验中入组人群一致。

1.6 应强调实验操作人员应接受过基因扩增或分子生物学方法检测的专业培训，具备相关的实验操作资格，实验室应具备合理的生物安全防护设施及防护程序。

2. 【检验原理】

详细说明试剂盒技术原理，及核酸分离/纯化方法、原理。说明检测的靶基因座位、序列长度等；介绍引物及探针设计、不同样品反应体系（管）组合、对照品（质控品）设置及荧光信号标记等。如添加了相关的防污染组分，也应对其作用机理作适当介绍。

3. 【主要组成成分】

3.1 说明试剂盒包含组分的名称、数量、比例或浓度等信息，阴性/阳性对照品（或质控品）可能含有人源组分，应提供其生物学来源、活性及其他特性；明确不同批号试剂盒中各组分是否可以互换。

3.2 试剂盒中不包含但对该项检测必须的组分，企业应列出相关试剂/耗材的生产企业、产品名称、货号以及医疗器械注册证号/备案号（如有）等详细信息。

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

化试剂盒的如上信息。

4. 【储存条件及有效期】

试剂盒的效期稳定性、开瓶稳定性、复溶稳定性、冻融次数要求等，应与相应的稳定性研究结论一致。

5. 【适用仪器】

所有适用的仪器型号，提供仪器的生产企业、产品名称、型号以及医疗器械注册证号/备案号（如有）等详细信息，以指导用户操作。

6. 【样本要求】重点明确以下内容：

6.1 样本采集时间点的选择：是否受临床症状、用药情况等因素的影响。

6.2 对采样拭子、容器及保存液的要求：对采样拭子的材质要求（包括对拭子头和拭子杆的要求）、保存容器、转运保存液的要求、转运条件等。

6.3 样本采集：具体采集部位及类型，详述具体的操作方法或列出相关操作指南文件以指导使用者（最好能够给出具体图示），尽量减少由于样本采集或处理不当对实验造成的影响。样本的取材及处理方式等若有通用的技术规范或指南，则应遵循，并在此处引用。

6.4 样本处理及保存：核酸提取前的预处理、保存条件及期限（短期、长期）等。冷藏/冷冻样本检测前是否须恢复室温，冻融次数限制。有关描述均应建立在相关性能评价及稳定性研究的基础上。

7. 【检验方法】详细说明实验操作的各个步骤，包括：

7.1 试剂配制方法、注意事项。

7.2 核酸分离/纯化的条件、步骤及注意事项。对照品（质控品）参与样本核酸的平行提取要求等。应对核酸浓度、纯度等指标提出质量要求。

7.3 扩增反应前准备：各组分加样体积、顺序、相关注

意事项等。

7.4 逆转录过程的温度和时间设置、PCR 各阶段的温度、时间、循环数设置及相关注意事项。

7.5 仪器设置：特殊参数，待测基因、内标的荧光通道选择等。

7.6 质量控制：说明对照品（质控品）的检测要求。质控品如不与申报产品一同提供，应说明质控品规格，包括病毒水平、病毒来源、灭活方法和生物安全性测定方法。

8. 【阳性判断值】

简要总结阳性判断值研究方法及结论。

9. 【检验结果的解释】

结合对照品（质控品）以及样本管中靶基因和内标的检测结果，对所有可能出现的结果组合及相应的解释进行详述。检验结果的解释应以阳性判断值的研究结论为依据。如有适用的临床诊疗或筛查指南，则应在此项下引用，相应检验结果的解释应符合相关指南的要求。

10. 【检验方法的局限性】

应至少包括如下描述：

10.1 本试剂检测结果应结合患者临床症状及其他相关医学检查结果进行综合分析，不得单独作为患者管理的依据。

10.2 检验的病毒核酸出现序列变异时会存在假阴性风险。

10.3 不合理的样本采集、转运及处理以及不当的实验操作和实验环境均有可能导致假阴性或假阳性结果。

10.4 申报产品应明确不同病程不同阶段样本的阳性率不一致。

10.5 取标本期间，接种减毒活疫苗的患者可能会导致检测试剂检测结果呈阳性。

10.6 阳性和阴性预测值很大程度上取决于流行率。该检验性能是在流行季节期间（如 2018/2019）确立。对某些病

毒的检验性能可能随检测流行率和检测人群变化。

10.7 待检核酸序列可能长时间出现在体内，而与病毒活性无关。核酸检测阳性并不一定意味着目前感染了相应病毒或其为临床症状的致病因子。

11. 【产品性能指标】

依据分析性能评估资料，详述以下性能指标：

11.1 对相应国家标准品、参考品（如有）检测的符合情况。

11.2 最低检测限

11.3 企业内部阳性/阴性参考品符合率

11.4 精密度：精密度评价结果可采用列表形式描述。

11.5 分析特异性：建议以列表方式说明验证的其他呼吸道病毒亚型、相关病原体等的交叉反应性及其验证浓度水平。总结潜在干扰物质的评价浓度水平及干扰情况。

11.6 简要描述临床试验的基本信息、试验方法和结论。

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，应给出生物安全性的警告。

12.2 临床实验室应严格按照《医疗机构临床基因扩增实验室管理办法》（卫办医政发〔2010〕194号或现行有效版本）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。

12.3 强调产品性能仅针对声称的适用样本类型及【样本要求】项下说明的样本采集和处理方法（包括样本采集液等）进行了验证，其他样本类型或样本采集、处理方法不能保证产品性能。

三、名词解释

PCR-荧光探针法：在 PCR 过程中利用荧光标记的特异

性探针，对 PCR 产物进行标记跟踪，释放的荧光能量的变化直接反映出 PCR 扩增产物量的变化，并通过对荧光的采集和分析以达到对原始模板量进行分析的 PCR。

四、起草单位

国家药品监督管理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