

后泌乳素水平变化[J]. 长江大学学报(自然科学版), 2008, 5(2): 10-11.

[16] 梅爱红, 梅爱东, 杨篷, 等. 原发性甲状腺功能减退患者治疗前后血清泌乳素变化[J]. 湖南医学, 2005, 16(12): 54 转 13.

[17] 胡绍文. 甲状腺功能减退症与乳溢[J]. 中国实用内科杂志, 1994, 14(11): 645-647.

[18] 顾一村, 高永利. 隐匿性高催乳素血症与不孕症[J]. 国外医学

妇产科学分册, 2002, 29(2): 85-87.

[19] 中华医学会内分泌学分会《中国甲状腺疾病诊治指南》编写组. 中国甲状腺疾病诊治指南——甲状腺疾病的实验室及辅助检查[J]. 中华内科杂志, 2007, 46(8): 697-702.

[20] 陈立芳, 牛喜英, 叶山东. 原发性甲减继发垂体腺瘤和高泌乳素血症二例[J]. 中国厂矿医学, 2003, 16(1): 78-79.

(2010-06-30 收稿)

· 讲 座 ·

定性检测用体外诊断试剂的企业内部参考品的设置

国家食品药品监督管理局医疗器械技术审评中心(100050) 董劲春

用于定性检测的体外诊断试剂在临床实验室中已经被广泛应用,其检测的也多为临床风险较高的项目,如病原微生物抗原或抗体等,因此对此类产品安全性和有效性的要求相对较高。但是在技术审评的过程中发现,许多产品的企业内部参考品的设置不慎合理,无法客观评价产品的各种性能,因此也给产品带来了许多缺陷以及不足之处。企业内部参考品对于生产企业来说是非常重要的,其是产品原材料选择、制备、鉴定以及确定原材料质量标准,产品生产工艺确定,反应体系组成、反应条件等的最重要的确定标准和依据。

对于此类产品而言,首先原材料对于产品的质量是非常重要的,无论原材料是生产企业外购的还是自己生产的,生产企业都应该严把原材料的质量关。对于原材料如何进行评价、如何确定质量标准,每个企业都有自己的方法,但是通过技术审评发现,多数企业均是使用企业内部参考品作为评价标准。抗原、抗体等主要原材料除了进行蛋白含量、纯度、活性等方面的检测外,最重要的是进行功能性试验,功能性试验就是将原材料组装成试剂盒小样,使用企业内部参考品进行检测,看是否能达到参考品设置的要求或者哪种来源的原材料其检测性能更好,来确定选择哪种来源的原材料。

对于生产工艺和反应体系的确定也主要依赖于企业内部参考品,主要生产工艺包括抗原、抗体的包被浓度、包被时间、显色系统浓度和用量的确定等,反应体系的优化主要包括被测样本用量、试剂用量、反应的温度、湿度、时间等的确定,以上条件的确定均是采用不同生产工艺生产的产品和不同的反应体系检测企业内部参考品,已确定最佳的生产工艺和反应体系。

企业内部参考品设置的是否合理就显得非常重要,如果参考品的设置不合理或者存在缺陷,那就会造成整个产品的原材料选择、生产工艺的确定和反应体系的组成均存在较大的问题,导致产品的质量不能达到临床使用的安全性和有效性,容易在临床检测过程中出现错误结果而影响临床的诊断和治疗。

因此,企业内部参考品的设置必须客观合理,能够充分评价产品的质量,有些企业对于参考品的设置欠考虑,如阳性参考品只选择强阳性的样本,阴性参考品只选择健康人的

阴性样本,精密度参考品只选择中等阳性的样本,根本无法体现产品的任何检测性能,对于产品检测灰区样本的能力没有评价,产品的检测性能也无法明确确定。

所以下文将对企业内部参考品应如何设置进行论述,以下内容只是对定性检测产品如何设置企业内部参考品进行概述,有些特殊产品还应进行特殊的考虑。

参考品的基质应与临床被检样本使用相同的基质,如完全相同基质的样本不易获得,应采用尽可能与临床被检样本基质接近的样本,并对样本的基质效应进行详细的研究。

企业内部参考品至少应包括阳性参考品、阴性参考品、精密度参考品、最低检出限参考品等。

1 阳性参考品

阳性参考品主要可反映产品检测的灵敏度以及对不同型别被测物的检出能力。

1.1 阳性参考品应包括强阳性参考品、中等阳性参考品、弱阳性参考品,其中主要应以中等阳性参考品、弱阳性参考品为主,弱阳性参考品的数量应最多,以更好的反映产品的灵敏度,建议阳性参考品数量至少应包括 20 个不同阳性程度的参考品,如被测物包括不同的型别及亚型,阳性参考品数量还应相应的增加。

阳性参考品的制备可将强阳性参考品使用健康人的阴性血清进行系列稀释得到不同稀释度的阳性样本,该稀释用阴性血清不能对产品检测产生不利的影响。同时还应在临床样本中选择不同阳性强度的样本直接作为参考品。

弱阳性参考品是反映产品检测灰区样本能力的重要指标,其滴度应在产品检测限的附近或稍高于产品的最低检出限,必须精确确定弱阳性参考品中被测物的浓度。

1.2 阳性参考品应包括被检测物质的各种型别,被检测物质可能存在各种基因型,包括不同的型别和亚型,在阳性参考品的设置中应尽可能包括临床样本中所有可能检测到的型别及亚型。并且不同型别也应该设置不同的阳性稀释度样本,特别是低滴度的阳性样本,每个型别的低滴度阳性样本至少应包括三个样本。

1.3 阳性参考品应使用适当的方法或金标准方法进行确

认, 首先应确认被检测物的存在以及存在的形式, 其次应对被检测物的滴度进行确认。需对不同阳性参考品进行定性或定量的确认。

参考品中的被测物应与临床检测样本中的被测物尽可能的一致, 特殊情况下可以采用基因重组或合成的物质, 但是该类物质的性质应进行充分的验证, 确保其与临床样本中的被测物性质基本一致。

2 阴性参考品

阴性参考品的主要用途是反映产品检测的特异性, 特异性的好坏对产品性能的影响是十分重要的。

2.1 阴性参考品应至少包括高值(高滴度)阴性参考品、阴性参考品、干扰样本等。

2.2 高值(高滴度)阴性参考品, 此设置可以验证产品检测的稳定性。高值阴性样本可进一步验证产品 Cut-off 值的设定是否合理及该产品正确检测灰区样本的能力, 此种样本的数量应至少为 3 个。

2.3 阴性参考品为不含被测物的阴性样本, 阴性样本可采集确定没有被测物的健康人血样本。

2.4 干扰样本为设置一定数量的含有可能会产生交叉反应物质的样本, 此项设置对反映产品检测的特异性十分重要。

该类参考品应尽可能包括如具有可能与被测物同源性的病原微生物、抗体等, 对于微生物检测还应具有采样部位正常可能寄生的微生物, 以及引起相似临床症状的病原微生物。此外, 以上参考品还应包括不同稀释度的样本, 主要应为强阳性样本和弱阳性样本, 特别是人体可能出现的病理浓度样本。

对于其它被测物如病原体 IgM 抗体的检测, 需包括含有该被测物 IgG 抗体, 其它同源病原体 IgM 抗体、IgG 抗体的样本, 并应包括不同的滴度。

2.5 干扰样本还应包括治疗药物干扰的样本, 包括对于该检测项目可能的治疗药物及含有常规治疗药物浓度的样本。

2.6 阴性参考品和干扰样本应使用适当的方法或金标准方法进行确认, 确认被检测物为阴性。

3 精密度参考品

精密度参考品可反映产品检测的重复性以及重复检测的稳定性。一般精密度参考品应包括至少两种样本。

3.1 精密度参考品应是包括被测物的主要型别的不同样本, 且不同型别样本应是低滴度阳性样本。

3.2 精密度参考品应包括高值阴性样本, 该样本可反映产品检测的稳定性。

3.3 精密度参考品的检测次数应在 10 次左右, 检测次数过多或过少均无法客观反映产品检测的重复性。

3.4 精密度的计算: 在定性检测的体外诊断试剂产品中, 如可通过阅读仪或其它读取设备读取光强度或其它信号来判断实验结果的, 例如以酶联免疫检测的 OD 值计算重复检测的 OD 值(平均值)来表示产品检测的重复性。

检测的重复性进行评价。

重复性检测结果的 CV 值一般情况下应 $< 10\%$, 有些特殊方法的检测试剂由于方法学的原因可以适当放宽重复性要求。

3.5 对于一些可能产生 HOOK 效应的检测方法, 如酶联免疫分析法、胶体金法, 应制备强阳性精密参考品进行精密度的检测, 以验证产品避免产生 HOOK 效应的能力。HOOK 效应是一些免疫检测方法无法避免的方法缺陷, 企业在研发和生产产品时应对产品的 HOOK 效应进行详细的研究, 并给出产品检测不会产生 HOOK 效应的被测物最大浓度, 企业应该根据此浓度设置强阳性参考品, 以验证同一批产品或不同批次产品之间是否存在差异, 是否会产生 HOOK 效应。

4 最低检出限参考品

最低检出限参考品是评价产品检测能力的重要工具, 对于定性产品其是评价产品检测下限的依据, 因此其设计合理性非常重要。

4.1 如被测物包括多个型别和亚型, 最低检出限参考品至少选择三个主要型别或亚型进行设置。

4.2 选择不同型别的强阳性样本作为基础样本, 使用健康人的阴性血清对强阳性样本进行倍比稀释得到一系列稀释度的样本, 该稀释过程必须保证样本的基质保持不变。使用待评价产品对不同稀释度的参考品进行检测, 每个稀释度参考品至少检测三次, 直至检测为阴性结果为止。检测为阳性的最高稀释度参考品为最低检出限参考品。

4.3 最低检出限参考品的批间一致性是评价产品是否能保持批间一致性的重要指标。因此, 必须对最低检出限参考品进行被测物的定量或半定量。

在技术审评过程中经常发现有些申报企业在设置该参考品时只是选择一个临床的强阳性样本, 然后进行倍比稀释, 对系列稀释的参考品进行检测, 直至检测到结果为阴性的参考品, 并将上一个稀释度参考品设置为最低检出限的评价标准, 或将该参考品的稀释度设定为评价标准。但是其并不能清楚的确定参考品中的被测物的具体浓度。因此, 这种设置并不能有效的评价产品的最低检出限, 也不能使不同批次的参考品保持一致性。所以应采用可能的方法对该参考品进行被测物的定量或半定量, 以期给出最低检出限参考品中的被测物的具体量值。

4.4 最低检出限参考品可以采用国家药监局已经批准上市的产品、质量较好的同类定量试剂对参考品进行定值, 如该检测项目存在国家或国际的定量标准品, 则应对该参考品进行量值的溯源。如该检测项目没有定量检测试剂可以进行参考, 则可以采用其它方法或金标准的方法对参考品进行定量或半定量。

如果检测项目已经有国家参考品或者国际参考品, 企业内部参考品的设置应尽可能的溯源至国家参考品或国际参考品, 除了设置国家参考品或国际参考品设定的项目外, 企业应

性能, 保证生产的

(2011-01-22 收稿)



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