

抗人球蛋白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抗人球蛋白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。

本指导原则是对抗人球蛋白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

抗人球蛋白检测试剂可进行直接抗人球蛋白试验和间接抗人球蛋白试验，主要用于不规则抗体筛查、交叉配血、抗体致敏红细胞的检测等。

本指导原则适用于抗人球蛋白检测试剂，同时适用于不同的

检测方法，如试管法、柱凝集法等，但不适用于血源筛查用抗人球蛋白检测试剂。

本指导原则仅包括对抗人球蛋白检测试剂注册申报资料中部分项目的要求，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

综述资料的撰写应符合《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“44号公告”）的相关要求。内容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同类产品在国内外批准上市的情况介绍等内容，其中同类产品上市情况介绍部分应着重从灵敏度、特异性、效价、重复性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异同。

（二）主要原材料研究资料

主要原材料研究资料应包括主要组成成分（抗体、凝胶、玻璃珠等）的选择、制备及其质量标准的研究资料。

1. 抗体的选择及质量标准

明确抗体的来源，如为单克隆抗体应明确细胞株、克隆号等内容。提供抗体灵敏度、特异性、效价等基本性能的验证资料。

抗体如为自行生产，提供抗体的详细生产及鉴定过程。

1.1 灵敏度：已知抗体效价的临床有意义的血型系统至少 7 种血型抗体（IgG）的最高稀释倍数的凝集强度不小于 1+。

1.2 特异性：临床有意义的已知血型系统至少 7 种，每种选 1 个抗体（IgG），与对应的抗原阳性细胞均应检测阳性。

与不规则抗体阴性样本检测结果应为阴性。

1.3 效价：如采用倍比稀释的方法验证抗人球蛋白试剂的效价，分别采用 IgG 和/或 C3d 致敏的细胞或根据厂家确立的研究方法进行验证。

2. 填充物的选择：说明填充物如凝胶、玻璃珠的特性，如组成、粒径及其质量控制要求。应提交选择比较过程，提交验证试验资料。

3. 填充缓冲液：应说明组成成分，并对外观、性状、pH 值等物理指标及功能性进行研究验证。

4. 液体试剂稀释液：应说明组成成分，并对外观、性状、pH 值等物理指标及功能性进行研究验证。

（三）主要生产工艺及反应体系的研究资料

1. 主要生产工艺介绍，可用流程图方式表示，并简要说明主要生产工艺的确定依据。

2. 产品基本反应原理介绍。

3. 主要生产工艺过程的研究资料、每一步生产工艺的确认资料及试验数据。如抗体浓度的选择确定过程、凝胶溶胀条件的确定、填充量及填充过程的研究资料，填充应确保均匀无气泡，以及质量控制的要求。

4. 主要反应体系的研究资料、每一步反应体系的确认资料及

试验数据。

反应体系的设置应符合《全国临床检验操作规程》等公认标准操作规范、指南或标准的要求。如红细胞悬液制备要求及红细胞浓度的确定、用量的要求、孵育时间等；应提交离心条件的研究资料，建议以离心力或固定离心机型号固定转数和时间的的方式设置离心条件。

（四）分析性能评估资料

申请人应提交在产品研制或成品验证阶段对试剂进行的所有性能验证的研究资料，对于每项分析性能的评价都应包括具体研究目的、实验设计、研究方法、可接受标准、实验数据、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（实验室）、适用仪器、试剂规格、批号、临床样本来源等。分析性能评估的实验方法可以参考国内或国际有关体外诊断产品性能评估的指导原则进行。

产品性能研究所采用的各种仪器、试剂或其他物品如可能均应采用境内或境外已批准上市的产品，如抗体筛查红细胞、血型抗体等。

分析性能评估试验中应明确所有试验每种试剂的用量、试剂红细胞的浓度、采用的试验方法（试管法、柱凝集法、微孔板法等）。所有试验方法应符合配合使用的血型试剂的具体操作要求。

对于抗人球蛋白检测试剂建议着重对以下分析性能进行研究：

1. 间接抗人球蛋白试验：

提供临床有意义的血型系统至少 7 种不规则抗体（IgG）检测灵敏度和特异性的验证资料，明确所检出抗体的抗体效价的具

体要求，可参照以下要求进行实验。

1.1 灵敏度

与已知抗体效价的血型抗体的最高稀释倍数的凝集强度不小于 1+，并且抗体效价不低于试管间接抗人球蛋白法测定结果。

C3d 凝集强度 $\geq 2+$ 。

1.2 特异性

与已知抗体类型的血型抗体对应的 O 型相应抗原阳性红细胞的反应为阳性。

与已知抗体类型的血型抗体对应的 O 型相应抗原阴性红细胞的反应为阴性。

与 **C3d** 阳性或阴性样本反应为阳性或阴性。

1.3 重复性

分别采用 **IgG** 性质抗 **D** 抗体，**IgG** 性质抗 **Jka/Jkb** 抗体，**IgG** 性质抗 **Fya/Fyb** 抗体进行重复性验证。

批内重复性采用同一批次检测卡重复进行检测，重复次数不少于 10 次。

日间重复性采用同一批次检测卡每日重复进行检测，重复天数不少于 10 天。

批间重复性采用至少三批检测卡进行重复检测。

批内、日间、批间重复性检测结果应基本一致，检测结果凝集强度差异不超过 1+。

采用阴性结果的血清重复 10 次检测，均应出现阴性反应。

1.4 干扰

提供溶血、脂血、黄疸干扰的评估资料，应至少采用强、中、弱性质的抗体进行评价。

1.5 血清、血浆比对的评估资料。

1.6 抗凝剂的适用性研究验证。

1.7 采用部分临床样本进行检测灵敏度和特异性的评价，应考虑涵盖肿瘤、血液病、自身免疫病和贫血患者、老人及儿童等病例来源，应包括阳性和阴性病例。

1.8 分别进行每个预期用途的完整的性能评估资料，应至少包括 50 例阳性病例。

2. 直接抗人球蛋白试验

使用被不规则抗体和/或 C3d 致敏的红细胞进行反应，评价产品性能，适用的性能评价内容可以参照间接抗人球蛋白试验。

（五）阳性判断值

给出不同凝集强度的研究方法，并明确不同凝集强度代表的具体意义，并应包含溶血、混合视野双群等情况，明确具体的试验方法、实验步骤，提供不同凝集强度的图例或相片。

（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）、加热稳定性、开瓶稳定性等研究，申请人可根据实际需要选择合理的稳定性研究方案，实验项目应至少包括灵敏度、特异性、重复性等内容。

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。

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分别在说明书【储存条件及有效期】和【样本要求】两项中进行详细说明。

（七）临床试验

临床试验总体要求及临床试验资料的内容应符合《办法》、“44号公告”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）的规定，以下仅结合抗人球蛋白检测试剂的具体特点对其临床试验中应重点关注的内容进行阐述。

1.研究方法

该类试剂已有同类产品上市，按照法规要求应选择境内已批准上市、临床普遍认为质量较好的同类产品作为对比试剂，采用试验用体外诊断试剂（以下称考核试剂）与之进行比较研究试验，证明本品与已上市产品等效。

2.临床试验单位的选择

应选择符合相关法规要求的临床试验机构进行临床试验，不得选择血站进行临床试验。

3.病例选择

临床总病例数应不少于 3000 例。应采用临床患者样本进行临床研究，供血者样本不得作为临床病例纳入。应包括对检测易

产生干扰的病例，尽量选择多种疾病患者样本（如肿瘤患者、自身免疫病患者、血液病患者）、老人、儿童（不同年龄段）等。

4. 实验过程

无论直接抗人球蛋白试验还是间接抗人球蛋白试验，均应根据产品的预期用途和适用人群分别进行临床试验。

在进行间接抗人球蛋白检测试剂临床试验的过程中除与对比试剂进行比较外，阳性结果应给出不规则抗体的具体鉴定结果。

产品如适用于不同的预期用途（如不规则抗体筛查、抗体致敏红细胞检测、交叉配血等），每种预期用途均应分别进行至少 3000 例的临床试验，如适用于不规则抗体筛查或抗体致敏红细胞检测等，每种预期用途应分别包含不少于 100 例阳性病例，如适用于交叉配血相关用途，应包含不少于 100 例交叉配血不合病例。抗体致敏红细胞检测应根据疾病的种类，分别进行临床试验。

交叉配血使用的供血者样本，最多只能使用两次，交叉配血不得使用血型不合的样本进行实验。

同时应明确配合使用的试剂产品。

5. 统计学分析

应进行考核试剂与对比试剂检测结果的阳性符合率、阴性符合率、总符合率的计算，并以四格表的形式进行列表，并对定性结果进行 **Kappa** 检验以验证检测结果的一致性。

6. 结果差异样本的验证

对于两种试剂检测结果不一致[考核试剂与对比试剂检测结果不一致、与对比试剂凝集强度差异较大（差异 2 个凝集强度及

以上)]的样本, 应采用临床上公认较好的第三种同类试剂进行确认试验, 同时应给出最终的抗体鉴定结果。

7. 临床试验数据记录表应作为临床试验报告附件提交。临床试验数据记录表应列明所有病例的具体临床诊断信息、凝集强度和抗体鉴定结果, 如有不符样本应列明第三方确认的结果。

(八) 产品风险分析资料

产品风险分析资料应符合“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(如肿瘤患者、自身免疫病患者、血液病患者等)在进行抗人球蛋白检测时可能存在一定的干扰、实验过程不规范、有些抗体较弱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

申请人应当在原材料质量和生产工艺稳定的前提下, 根据产品研制、性能评估等结果, 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, 编写产品技术要求。产品技术要求应符合《办法》和“44号公告”的相关规定。

如果拟申报试剂已有相应的国家/行业标准发布, 则企业标准的要求不得低于上述标准要求。

产品技术要求的性能指标应至少包括灵敏度、特异性、重复性等。

产品技术要求的附录应包括主要原材料、生产工艺及半成品

检定要求。主要原材料应明确抗体来源、克隆号、纯度、效价、特异性以及功能性验证要求，应明确填充物来源及主要特征、质量控制要求，缓冲液应明确组成、pH 值等特性及质控要求。主要生产工艺应以流程图形式描述主要生产工艺过程，并明确主要生产工艺的具体条件和质量控制点。半成品检定应明确半成品的检验要求及方法。

（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体外诊断试剂产品应在国家食品药品监督管理部门认可的、具有相应承检范围的医疗器械检验机构进行连续三个生产批次样品的注册检验。

（十一）产品说明书

说明书承载了产品预期用途、检验原理、试验方法、检测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，因此，产品说明书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总局通告 2014 年第 17 号）的要求，境外产品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，翻译力求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，并单独列明参考文献的相关信息。

以下内容仅对抗人球蛋白检测试剂说明书的重点内容进行详细说明，说明书其他内容应根据《体外诊断试剂说明书编写指

导原则》要求进行编写。

1. 【预期用途】

1.1 写明本试剂用于直接抗人球蛋白试验和/或间接抗人球蛋白试验，主要用于不规则抗体筛查、交叉配血、抗体致敏红细胞的检测（明确疾病类型）等，同时明确不用于血源筛查，仅用于临床检验。

1.2 说明与预期用途相关的临床适应症背景情况，说明相关的临床或实验室诊断方法。

2. 【储存条件及有效期】

说明试剂的储存条件及有效期、加速稳定性、开瓶稳定性等。

3.【适用仪器】明确具体的离心机和/或孵育器型号(如适用)。

4. 【样本要求】

明确溶血、脂血、黄疸样本是否可以使用，或提供使用此类样本的最低要求。依据稳定性研究结果写明样本稳定性。

明确适用的抗凝剂的要求。

明确具体的样本采集、处理方法及过程。

明确红细胞配制使用的 LISS 液的生产厂家、规格、货号等内容。

5. 【阳性判断值】

明确各种试验方法的结果判断方法及标准，并通过不同凝集强度的图例或照片进行详细解释。

6. 【检验方法】

明确配合使用的抗体筛查用红细胞的生产厂家、规格、货号等内容。

须明确具体的检验步骤，反应体系的描述应准确且应与研究资料一致，不同的预期用途应分别详细描述实验过程。如配合其他试剂进行试验，需注明试验方法应完全符合配合试剂的试验操作要求。

7. 【检验方法的局限性】

未被检出的抗 IgG 抗体在某些病例中可能有临床意义。

8. 【注意事项】

8.1 上腔部分或封口处有气泡或液滴的卡，必须在使用前离心。

8.2 浓度过高或过低的红细胞悬液会引起异常结果。

8.3 在不规则抗体筛查、交叉配血试验中 LISS 液可以增强抗原抗体的反应，应严格按产品说明书规范使用低离子液。

三、参考文献

1.国家食品药品监督管理总局.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）.2014 年 9 月

2.国家食品药品监督管理总局.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通告 2014 年第 17 号）.2014 年 9 月

3.中国生物制品规程（2000 年版）.化学工业出版社

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。

