

抗核抗体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核抗体（Antinuclear antibody, ANA）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。

本指导原则是对抗核抗体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。

本指导原则是供申请人和审查人员使用的指导性文件，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、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

抗核抗体作为自身免疫病（autoimmune diseases, AID）重要的生物学标志，是临床应用中最广泛、最基础的一组自身抗体。临床常见于系统性红斑狼疮（Systemic Lupus Erythematosus, SLE）、干燥综合征、系统性硬化病、混合结缔组织病及多发性肌炎/皮肌炎等系统性（非器官特异性）AID 患者。同时，ANA 可见于器官特异性 AID 患者，如自

身免疫性肝病、自身免疫性甲状腺炎等。除此之外，ANA 也可见于慢性感染性疾病及健康人群中。

细胞核是 ANA 靶抗原所在的最重要的结构部位，因此传统意义上的 ANA 是指抗细胞核抗原成分的自身抗体总称。随着检测技术的改进，尤其是培养细胞抗原基质（如 HEp-2 细胞）的广泛应用，ANA 的定义扩展到以真核细胞各种成分（包括细胞核、细胞浆、细胞骨架蛋白及细胞分裂周期蛋白等）为靶抗原的自身抗体的总称。

目前，ANA 检测分成 ANA 总抗体的检测和针对靶抗原的特异性自身抗体检测。其中，ANA 总抗体的检测方法主要包括间接免疫荧光法（indirect immunofluorescence, IIF）、酶联免疫吸附法（Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, ELISA）等。ANA 特异性自身抗体检测方法主要包括 ELISA 法、线性免疫印迹法（line immunoassay, LIA）、化学发光免疫分析法（chemiluminescence immunoassay, CLIA）等。

本指导原则所述抗核抗体检测试剂是指利用间接免疫荧光法、酶联免疫吸附法、化学发光法、线性免疫印迹法等基于抗原抗体反应原理，针对人血清、血浆样本中总抗核抗体或针对靶抗原的特异性自身抗体进行体外定性和/或半定量和/或定量检测的试剂。同时，本指导原则是针对抗核抗体检测试剂的通用指导原则，申请人应结合具体产品的特点进行申报。如果申报产品有具体指导原则，应参照执行。

本指导原则适用于进行注册申请和相关许可事项变更的产品。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）（以下简称《办法》）、《食品药品监督管理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),抗核抗体及针对靶抗原的特异性自身抗体检测试剂属于自身抗体检测试剂,管理类别为II类 6840。

二、注册申报资料要求

注册申报资料的撰写应符合《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)(以下简称 44 号公告)的相关要求。

(一) 综述资料

综述资料主要包括产品预期用途、临床适应症背景情况、产品描述、有关生物安全性的说明、研究结果的总结评价以及同类产品上市情况介绍等内容。其中,需注意以下内容:

1.临床适应症背景情况

应对申报的每一个抗核抗体具体项目进行详细的描述,分别阐述每个靶抗原特异性自身抗体的具体特点及相应临床适应症信息,包括适应症的发生率、适用人群等。说明具体的临床意义,例如:是否用于辅助诊断、鉴别诊断、分型及疾病活动性监测等。介绍相关的临床或实验室诊断方法。

2.同类产品上市情况

应着重从技术方法、主要原材料、检测限、阳性判断值或参考区间等方面写明拟申报产品与目前市场上已获批准同类产品之间的主要区别。

3.关于抗 DNA 抗体的几点考虑

3.1 如产品声称用于高亲和力抗 ds-DNA 抗体检测,应描述如何证明产品仅针对高亲和力抗体进行检测。

3.2 如产品包括对抗单链 DNA (ss-DNA) 抗体的检测,并同时声称具备检测抗 ds-DNA 抗体的能力,应说明检测结

果需结合抗 ds-DNA 抗体检测结果进行解释，并对解释时的难点进行分析。

（二）主要原材料的研究资料（如需提供）

若主要原材料为申请人自己生产，其生产工艺必须稳定；如主要原材料源于外购，应提供的资料包括：供应商提供的质量标准、出厂检定报告以及申请人对到货后主要原材料的质量检验资料。

1. 抗原

应详述抗原的名称及生物学来源，如为外购抗原，则应提供外购方名称，外购方出具的抗原性能指标及检验证书，详述申请人对该抗原技术指标的要求以及申请人确定该抗原作为主要原材料的依据。如为企业自制抗原，对于天然抗原，则应提供抗原提取及纯化、鉴定等实验过程予以详述；对于重组抗原，则应提交有关特定基因选择、基因序列、质粒转化、抗原表达及抗原纯化、鉴定等详细内容。

2. 其他主要原辅料

应提交各种原辅料的选择及验证资料，如二抗、工具酶、固相载体、化学发光剂、反应缓冲液等，如为外购，应详述每一原辅料的外购方名称，提交外购方出具的每一原辅料性能指标及检验证书，详述申请人对每一原辅料技术指标的要求以及申请人确定该原辅料作为主要原辅料的依据。

3. 校准品、质控品（如有）

应包括原料选择、制备、定值过程及试验资料。校准品应溯源至现行的国家或国际参考品（如有）。质控品应至少包含阴性和阳性两个水平。阳性质控品可选择临床阳性样本，阴性质控品可选择临床阴性样本或缓冲溶液等。

4.企业内部参考品

如申报产品有相应的国家参考品，则企业内部参考品应参考国家参考品的项目设置，且不低于国家参考品要求。若无国家参考品，申请人应根据产品性能验证的实际情况自行设定企业内部参考品。

应提交企业内部参考品的原料选择、制备、阴阳性及浓度/滴度确认等相关验证资料。说明参考品阴阳性及浓度/滴度确认的方法或试剂（建议采用国内已上市的、临床上普遍认为质量较好的同类试剂）。浓度确认应采用国家或国际标准品进行溯源（如有）。企业内部参考品的基质应与待测样本相同。针对多项目联合检测试剂，应分别对每一个靶抗原特异性自身抗体项目进行研究。

对于 IIF-ANA 检测试剂，企业内部参考品至少应包括：阴性参考品、阳性参考品和精密度参考品。其中，阳性参考品应充分考虑可报告荧光模型的验证（至少包括均质型、胞浆颗粒型、分裂期细胞着丝点型等三种荧光模型），可选择多份确认为阳性的临床样本，并设置不同滴度水平。阴性参考品应考虑检测特异性的评价，适当纳入其他 AID 特异性自身抗体阳性样本。精密度参考品应至少设置一个弱阳性水平参考品。

（三）主要生产工艺及反应体系的研究资料（如需提供）

生产工艺主要包括：各组分制备工艺的研究，包括试剂的配方及工艺关键参数的确定依据等。反应体系主要包括样本采集及处理、样本要求、样本用量、试剂用量、反应条件等确定的依据，以及校准方法、质控方法。

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.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。

3.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，包括样本采集及处理、样本要求、样本用量、试剂用量、反应条件、校准方法（如有）、质控方法等。

（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盒所有的分析性能进行研究的资料，对于每项分析性能的研究都应包括研究目的、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。有关研究背景信息也应在资料中有所体现，包括实验地点、适用仪器、试剂规格、批号和临床样本来源等。分析性能评估的实验方法可以参考相关国内外有关体外诊断产品性能评估的指导原则进行。

1.检测限

申请人可根据实际情况选择合理方法研究拟申报试剂的检测限。

1.1 定性/半定量检测试剂

对检测限国家参考品或生产企业提供的参考品进行检测，浓度高于检测限参考品应检出阳性，浓度低于检测限参考品应检出阴性，检测限参考品可检出阴性或阳性。

1.2 定量检测试剂

建议参照国内相关性能评估文件或 **EP17-A2** 文件推荐的定义和设计方案，对申报产品的空白限（**LoB**）、检出限（**LoD**）以及定量限（**LoQ**）进行合理评估和验证。

2.精密度

针对本类产品的精密度评价主要包括以下要求：

2.1 对于半定量/定量检测试剂，在可报告浓度范围内，至少应在接近医学决定水平（cut-off 值）浓度点以及阳性水平浓度点进行精密度的评价。对于定性检测试剂，至少应选择接近 cut-off 值的样本进行精密度的评价。

2.2 合理的精密度评价周期，例如：为期至少 20 天的连续检测，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。

2.3 对于采用新技术进行的试验，或需要对检测结果进行主观解释时，申请人应选择不同的实验室进行重复实验以对室间精密度进行评价。

3.线性范围

对于定量或半定量检测的试剂，建议通过检测已知自身抗体浓度的样本来描述产品测试的线性范围。在产品的设计研究描述中，建议包含样本类型、准备方法、样本浓度、测试重复数以及采用的统计方法。同时声明可接受标准，并通过数据来证实研究结果满足预期要求。研究结果应包含线性回归斜率和截距的 95%置信区间，以及整个线性范围内的偏差。同时建议研究结果中包含不同水平的期望值和观测值。

4.准确度

对于定量检测的试剂，申请人可根据实际情况合理选择一种或多种方法对试剂进行准确度研究，如：与国家/国际参考品的相对偏差、方法学比对或回收试验等方法。

5.阳性/阴性参考品符合率

对于定性或半定量检测的试剂，如申报产品有相应的国家参考品，则企业内部阳性/阴性参考品应参考国家参考品的项目设置。在不低于国家参考品要求的前提下，申请人可以结合实际情况设置合理的内部阳性/阴性参考品。对于没有国家参考品的产品，申请人应根据产品性能验证的实际情况自行设定企业内部参考品，阳性参考品应着重考虑抗体滴度要求，阴性参考品则主要涉及对分析特异性（交叉反应）的验证情况。

申请人应提供企业内部阳性/阴性参考品的来源、抗体滴度等信息，并提交详细的验证资料。

6. 特异性

6.1 交叉反应

建议通过检测来自其它自身免疫性疾病患者的临床样本，来评价试验的特异性，并在提交的申报资料中详述产品的研究设计和评价结果。

6.2 干扰物质

6.2.1 内源性干扰

对样本中常见的内源性干扰物质进行检测，如甘油三酯、血红蛋白、胆红素、类风湿因子（RF）、干扰抗体（如人抗鼠抗体，**human anti-mouse antibodies, HAMA**）等。建议对抗核抗体阴性、弱阳性（临界浓度）的临床样本或模拟添加样本分别进行验证，以确定可接受干扰物质的浓度。

6.2.2 抗凝剂的干扰（如有）

如果试剂盒适用样本类型包括血浆样本，应采用各种适用抗凝剂抗凝的血浆样本分别与血清样本进行对比实验研究。

7.钩状（Hook）效应

需采用高浓度自身抗体阳性血清进行梯度稀释后由低浓度至高浓度开始检测，每个梯度的稀释液重复3~5次，对钩状效应进行合理的验证。应给出不会产生钩状效应的抗体浓度，并在产品说明书上写明对钩状效应的研究结果。

8.溯源性

对于企业内部参考品、校准品均应提供详细的溯源资料，包括溯源方法、溯源过程，溯源过程中每一步的不确定度的计算等内容。

（五）阳性判断值确定资料

应详细说明产品阳性判断值（cut-off值）确定的基本原理。包括确定正常人群的数量与患病人群的数量所采用的统计学方法。如果可能，建议能够提供评价人群的年龄、性别和统计学信息。应证明采用的cut-off值能够有效区分阴、阳性样本。如果检测结果存在可疑区间，应该定义可疑结果的基础，并指出可疑结果如何处理，例如，对可疑结果的样本是否需要重复测试。

（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、加速破坏稳定性、运输稳定性及开封/开瓶稳定性（如涉及）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。

样本稳定性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即对储存样本进行拟检测项目的分析验证，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。

试剂稳定性和样本稳定性两部分内容的研究结果分别应在说明书【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

根据《关于公布新修订免于进行临床试验医疗器械目录的通告》（国家药品监督管理局通告 2018 年第 94 号），抗核抗体检测试剂可免于进行临床试验，申请人可依照《免于进行临床试验的体外诊断试剂临床评价资料基本要求（试行）》开展评价。申请人如无法或不适于按照上述要求对产品进行临床评价，则应按照《体外诊断试剂临床试验技术指导原则》的要求开展临床试验。

下面仅对临床试验中的基本问题进行阐述。

1. 研究方法

建议将试验用体外诊断试剂（以下称考核试剂）检测结果与具有相同临床适应症的已获批上市产品进行比对。如有条件，建议与公认参考方法（例如：以 HEp-2 细胞为实验基质的 IIF 法是进行总 ANA 检测的参考方法和首选方法）进行比对，与参考方法进行比对有助于科学评价考核试剂的性能特性，尤其在已与上市产品方法学/技术学原理方面存在较大差异的时候。

对于某些目前临床上尚不存在明确的临床参考标准、亦

无同类产品上市的新 ANA 标志物，临床试验研究者应依据现有临床实践和理论基础，建立目前公认、合理的方法，进行比较研究。临床试验方法的选择应根据产品预期用途、检测结果的性质（定性或定量等）以及临床参考标准和对比试剂的可获得性等因素进行综合考虑，临床试验结论应能够支持预期用途描述的内容。

2. 样本选择

建议选择产品可报告范围内，不同 ANA 浓度水平的临床样本进行评估，包括接近 cut-off 值浓度的样本。冻存（回顾性）样本如包括相关信息（如性别、年龄、临床诊断等），也可用于这些研究。对样本入选的纳入/排除标准，应进行详尽的描述。

对于多项目联合检测试剂，每一个检测项目应分别进行统计，且应满足至少 200 例的要求，对于每一个检测项目病例选择中应包括一定数量的交叉反应样本，以评价产品检测的特异性。

对于适用于对多个样本类型进行检测的产品，如不同样本类型之间具有可比性，应至少完成一个样本类型不少于 200 例的临床研究，同时再进行不少于 100 例同源样本的比较研究。

3. 统计学分析

对于定性和半定量检测试剂至少应计算阳性符合率、阴性符合率、总符合率，并以四格表的形式进行列表，并对结果进行 Kappa 检验以验证检测结果的一致性。

对于半定量检测产品还应对检测的分级结果进行统计，明确分级存在差异的样本数量和分级差异情况，同时提供样

本检测结果的频率分布图。

对于定量检测试剂除计算阳性符合率、阴性符合率、总符合率外，还应进行相关性分析，给出相关系数，进行回归分析，给出回归方程和试验数据的散点图，回归分析结果应包括斜率、截距以及 95%的置信区间。

4.结果差异样本的验证

对于两种试剂的检测结果有不一致（检测结果差异较大）的样本，应采用临床上公认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、临床资料对差异原因及可能结果进行分析。

对于半定量检测产品，在检测结果阴阳性判定一致的情况下，如分级差异等于或大于 2 个级别，应采用第三种方法进行复核。

5.交叉反应样本的比较

对于选择的交叉反应样本应单独列出并进行统计，应对检测结果进行详细描述，并对可能产生交叉反应的原因进行详尽描述。

（八）产品风险分析资料

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 0316-2016《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》（国家食品药品监督管理总局令第 5 号）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局通告 2014 年第 9 号）的相关规定。如果申报产品已有适用的国家/行业标准发布，则产品技术要求的内容应不低于适用标准。至少应包括以下性能指标：

1.定性检测试剂：物理性状、阴性/阳性参考品符合率、精密度、检测限等。

2.半定量检测试剂：物理性状、阴性/阳性参考品符合率、相关性、精密度、检测限等。

3.定量检测试剂：物理性状、准确度、线性、精密度、检测限等。

针对多项目联合检测试剂，每个项目均须进行阳性参考品符合率和精密度的检测。性能指标及检验方法中应明确写明阳性参考品所包含的检测项目。

（十）产品注册检验报告

根据《体外诊断试剂注册管理办法》要求，首次申请注册的第二类产品应该在国家食品药品监督管理局认可的、具有相应承检范围的医疗器械检测机构进行样品的注册检验。由其出具检验报告和产品技术要求预评价意见。

（十一）产品说明书和标签

产品说明书和标签应满足《医疗器械说明书和标签管理规定》（国家食品药品监督管理局令第 6 号）和《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局通告 2014 年第 17 号）的要求。下面对抗核抗体检测试剂说明书的重点内容进行阐述。

1.【预期用途】

至少包括以下几部分内容：

1.1 试剂盒用于体外定性和/或半定量和/或定量检测人血清和/或血浆样本中的抗核抗体或针对靶抗原的特异性自身抗体。上述内容均应有相应的分析性能评估资料和临床评价资料支持。对于多项目联合检测试剂，应逐项列明所检测的具体靶抗原特异性自身抗体项目。

1.2 适用人群特征介绍：例如高危人群，临床疑似或已诊断 AID 疾病的人群。

1.3 说明与预期用途相关的临床适应症及背景情况。应针对每个可报告靶抗原特异性自身抗体项目进行编写。说明相关的临床或实验室诊断方法。

2. 【主要组成成分】

2.1 说明试剂盒包含组分的名称、数量、比例或浓度信息。如含有生物源性物质，应说明其生物学来源、活性及其他特性；说明不同批号试剂盒中各组分是否可以互换。

2.2 校准品、质控品（阴/阳性对照品）（如有），应明确具体基质成分，此外，校准品应明确溯源性，质控品应提交靶值单。

2.3 试剂盒中不包含但对该项检测必须的组分，应列出相关试剂的名称、货号及其他相关信息。

3. 【储存条件及有效期】

详细介绍试剂盒的效期稳定性、开封/开瓶稳定性等信息。注明生产日期、使用期限或失效日期。

4. 【样本要求】

4.1 样本的类型：明确适用的样本类型以及所用的抗凝剂或保护剂（如适用）。

4.2 样本的稳定性：明确样本采集后和处理后的保存条

件和期限等。冷藏/冷冻样本检测前是否需恢复至室温、冻融次数的要求。

5. 【检验方法】

应详细说明试验操作的各个步骤，包括：

5.1 试验准备：检测试剂及样本的复温要求及相关注意事项。

5.2 试剂配制方法、注意事项。

5.3 高浓度样本的稀释方法及注意事项，应注明经过确认的稀释步骤。

5.4 试验条件：操作步骤、温度、时间等以及试验过程中的注意事项。

5.5 校准程序（如适用）：校准品的准备和使用，校准曲线的绘制方法。

5.6 质量控制程序：操作步骤，质控结果的要求（试验有效性的判断），质控结果不符合要求的处理方式。

5.7 试验结果的计算或读取：详细描述对检测结果的判定或计算方法、对质控品（阴/阳性对照品）的检测结果要求（试验有效性的判断）等。

6. 【检验结果的解释】

说明可能对试验结果产生影响的因素；明确对于可疑区间或灰区样本是否需要重复测试，如需要，测试样本是否为同一个样本，或者重新采集新鲜样本。

7. 【检验方法局限性】

综合产品的预期用途、临床背景、检测方法等信息，对可能出现的局限性进行相关说明，申请人选择适用的条款在产品说明书中予以阐述。

7.1 本产品检测结果仅供临床参考，不应作为临床诊治的唯一依据，应结合患者性别、年龄、病史及其他实验室指标等信息综合考虑。当检验结果出现与临床不符甚至相悖的情况，应分析查找原因并重新确认等。

7.2 健康人群（包括孕妇、老年人等）或感染性疾病、肝脏疾病、肿瘤性疾病等多种疾病患者可能出现 ANA 抗体低滴度弱阳性的情况。

7.3 一些自身抗体阳性的患者可能并未出现临床症状。

7.4 阴性结果并不能排除自身免疫性疾病的可能。

7.5 ANA 相关抗体缺失，针对高度可溶性抗原的自身抗体（如抗 SSA 抗体）、针对含量极少的胞质靶抗原（如抗 Jo-1 抗体）等情况，甚至可能存在系统性自身免疫病患者 IIF-ANA 检测结果阴性，而针对靶抗原的特异性自身抗体检测结果阳性的情况。

7.6 有关假阳性结果的可能性原因分析，如某些含普鲁卡因酰胺或胍苯吡嗪的药物；或假阴性结果，如钩状效应，或由于多种抗体同时存在时，核免疫荧光染色模式的掩盖效应。

7.7 其他可能存在的问题。

8. 【注意事项】应至少包括以下内容：

8.1 由于方法学或抗体特异性等原因，使用不同生产商的试剂对同一份样本进行检测可能会得到不同的测试结果，因此，用不同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中注明所用试剂特征。

8.2 对所有样本和反应废弃物都应视为传染源对待，提

示操作者采取必要的防护措施。

三、审查关注点

(一) 产品技术要求中性能指标的设定及检验方法是否符合相关行业标准的要求；产品技术要求的格式是否符合《医疗器械产品技术要求编写指导原则》的相关规定。

(二) 产品说明书的编写内容及格式是否符合《体外诊断试剂说明书编写指导原则》的要求，相关内容是否符合《医疗器械说明书和标签管理规定》(国家食品药品监督管理总局令第6号)中对说明书的要求。

(三) 分析性能评估指标及结果是否满足本指导原则中各指标验证的要求。

(四) 参考区间确定使用的方法是否合理，数据统计是否符合统计学的相关要求，结论是否和说明书声称一致。

(五) 试剂盒的稳定性研究方法是否合理，稳定性结论是否和说明书声称的一致。

四、编制单位

浙江省医疗器械审评中心。



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