

# 糖化血红蛋白测定试剂盒（酶法） 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糖化血红蛋白测定试剂盒（酶法）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。

本指导原则是对糖化血红蛋白测定试剂盒（酶法）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、标准体系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

从方法学考虑，在本文中糖化血红蛋白测定试剂是指以多步酶耦联法为基本原理，利用全自动、半自动生化分析仪或分光光度计，在医学实验室对人体全血样本中糖化血红蛋白占总血红蛋白比例间接进行体外定量分析的试剂。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），糖化血红蛋白测定试剂盒管理类别为II类，

分类代号为 6840。

本指导原则不适用于：

- （一）单独申请注册的糖化血红蛋白校准品和质控品。
- （二）酶法原理之外的其他糖化血红蛋白测定试剂盒。

## 二、注册申报材料要求

### （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、研究结果的总结评价以及同类产品上市情况介绍等内容，应符合《体外诊断试剂注册管理办法》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）的相关要求，下面着重介绍与糖化血红蛋白测定试剂预期用途有关的临床背景情况。

糖化血红蛋白（Haemoglobin A1c, HbA1c）测定试剂盒用于检测人体样本中糖化血红蛋白的含量，临床上主要用于糖尿病（Diabetes）的辅助诊断和血糖水平的监控。糖化血红蛋白的浓度主要反映被检者过去 8—12 周体内血糖的平均水平，不受抽血时间、是否空腹、是否使用胰岛素以及其他能使血糖水平短暂波动的因素影响。糖化血红蛋白检测特异性强、重复性好、灵敏度高，被明确规定为国际公认的糖尿病监控“金标准”。

HbA1c 的检测方法，常见的有色谱法、酶法和胶乳增强免疫比浊法等。其中酶法试剂又分为两种，一种是在一次样本与试剂的反应中通过吸光度变化值直接测得糖化血红蛋白占总血红蛋白（Haemoglobin, Hb）百分比例的试剂（以下简称一步法试剂），另一种是分别测定糖化血红蛋白与总

血红蛋白的绝对浓度，进而通过公式计算得出糖化血红蛋白占总血红蛋白比例的试剂（以下简称两步法试剂）。以上两种试剂均基于酶法的基本原理，但在工作模式、试剂组成、性能指标等方面均存在差异，应注意区分。

## （二）主要原材料研究资料（如需提供）

主要原材料的选择、制备、质量标准及实验验证研究资料；质控品、校准品的原料选择、制备、定值过程及试验资料；校准品的溯源性文件，包括具体溯源链、实验方法、数据及统计分析等详细资料。

## （三）主要生产工艺及反应体系的研究资料（如需提供）

- 1.主要生产工艺介绍，可以图表方式表示；
- 2.反应原理介绍；
- 3.检测方法的介绍：含样本采集、标准品和质控品、测试步骤、结果计算等；
- 4.反应体系研究：含样本采集及处理、样本要求（抗凝剂的选择）、样本用量、试剂用量、反应条件（波长、温度、时间等）、校准方法（如有）、质控方法等的研究资料；
- 5.不同适用机型的反应条件如果有差异应分别详述。

## （四）分析性能评估资料

企业应提交在产品研制阶段对试剂盒进行的所有性能验证的研究资料，包括具体研究方法、试验数据、统计方法等详细资料。对于糖化血红蛋白测定试剂，建议着重对以下分析性能进行研究。

### 1.精密度

#### 1.1 批内重复性

测量批内重复性的评估应至少包括两个浓度水平的样

本进行，两个浓度都应在试剂盒的测量范围内且有一定的临床意义，通常选用该检测指标的正常参考值（范围）附近和异常值样本。样本浓度不宜过小，否则易导致 CV 假性偏大。

测量批内重复性的评价方法并无统一的标准可依，可根据不同的试剂特征或企业的研究习惯进行，前提是必须保证研究的科学合理性。具体实验方法可以参考相关的 CLSI-EP 文件或《中国糖化血红蛋白实验室检测指南》进行。建议在以下两种方式中选择一种对批内重复性进行评价。

1.1.1 日间重复性：选择两个不同浓度水平的样本（建议其浓度在医学决定水平的两侧），进行多日测定，计算所有测定结果变异系数 CV，以百分数表示。

1.1.2 日内重复性：选择两个不同浓度水平的样本（建议其浓度在医学决定水平的两侧），在单日（或单次检测）内进行重复测定，计算相应次数测定结果的变异系数 CV，以百分数表示。

## 1.2 批间差

用三个不同批号试剂盒，对样本分别重复测定至少 3 次，计算每个浓度样本每批号测量结果的平均值 ( $X_i$ ,  $i=1, 2, 3$ ) 及每个浓度样本三个批号测量结果的总平均值 ( $X_T$ )，得出批间相对极差 ( $R$ )，以百分数表示。

## 2. 准确度

对测量准确度的评价依次包括：与国家标准品（和/或国际标准品）的偏差分析、企业参考品的偏差分析等方法，可根据实际情况选择合理方法进行研究。

### (1) 与国家（国际）标准品的偏差分析

目前糖化血红蛋白有已知的国家标准品及国际标准品，

以其作为样本，合理设置至少 2 个浓度，进行测试，相应标准品检测结果与既定靶值的相对偏差。

### (2) 企业参考物质的偏差分析

由申请人提供企业参考物质，测试方法与国家（国际）标准品的偏差分析相同。如适用此做法，则企业需提供企业参考物质的溯源性资料。

### 3. 线性范围

建立试剂线性范围所用的样本基质应尽可能与临床实际检测的样本相似。在浓度梯度的选择上，应使用具有溯源性的具有浓度差的样本，或经上一级方法或临床已注册上市的试剂盒验证其测值真实性的样本，样本浓度应适当覆盖其线性范围。线性范围不得窄于（4%—12%）。一般在预期测定范围内选择 5—7 个浓度水平进行测试。以预期浓度（ $x_i$ ）为自变量，以测定结果均值（ $y_i$ ）为因变量做线性回归，得出相关系数  $R$ 。将预期浓度（ $x_i$ ）代入线性回归方程得到  $x_i$  的估计值，计算测定结果均值（ $y_i$ ）与相应估计值的偏差。不强制要求企业对线性范围内的偏差进行分段评估，如不分段，各浓度的相对偏差应 $\leq 10\%$ 。如分段，则分界点设置不宜过高，高于分界点的浓度相对偏差应 $\leq 10\%$ ，低于分界点的浓度绝对偏差应不高于分界点浓度的 10%。

对于两步法试剂，不强制要求企业分别对血红蛋白（Hb）试剂与糖化血红蛋白（HbA1c）试剂的线性进行评价，如企业认为有必要，可自行建立评价方式及线性范围。无论是否分别对两种试剂进行评价，都应评价糖化血红蛋白占比（HbA1c%）的线性范围。

#### 4.分析灵敏度

(1) 一步法试剂：测定一份已知浓度（建议在医学决定水平附近）的样本，计算该样本产生的吸光度变化值（ $\Delta A$ ），并按照试验的标准曲线等比换算出某一指定浓度的 HbA1c 所产生的吸光度差值（ $\Delta A$ ）。

(2) 两步法试剂：测定一份已知浓度（建议在医学决定水平附近）的样本，分别计算该样本与血红蛋白试剂产生的吸光度变化值（ $\Delta A1$ ）及样本与糖化血红蛋白试剂产生的吸光度变化值（ $\Delta A2$ ）。对于血红蛋白试剂，按照试验的标准曲线等比换算出浓度为某一指定浓度的 Hb 所产生的吸光度差值（ $\Delta A1$ ）；对于糖化血红蛋白试剂，按照试验的标准曲线等比换算出浓度为某一指定浓度的 HbA1c 所产生的吸光度差值（ $\Delta A2$ ）。

#### 5.特异性

(1) 溶血（血红蛋白）、高脂、高胆红素等干扰因素对检测结果的影响。

(2) 样本中其他可能干扰试剂反应的物质对检测结果的影响。

(3) 资料中所提到的干扰物质，其干扰程度均不应使用模糊的描述方式，而应细化到干扰量，并提供相应的试验数据予以支持。

#### 6.校准品及质控品

参照 GB/T 21415—2008《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》的要求，提供企业（工作）校准品及试剂盒配套校准品定值及不确定度计算相关资料，提供质控品赋值及其质控范围确定的相关

资料。同时，应对校准品、质控品的赋值结果的瓶内均匀性、瓶间均匀性，以及其赋值结果的准确度进行评价。如校准品或质控品的基体不同于临床常用样本类型，还应提交校准物质互换性的相关研究资料。

## 7.其他需注意问题

(1) 对于适用多个机型的产品，应提供如产品说明书【适用机型】项中所列的所有适用机型的性能评估资料。

(2) 不对试剂空白吸光度的评价作出要求，如企业认为有必要对试剂空白吸光度进行评价，应自行建立评价方式，并在产品说明书及产品技术要求中作出相应的描述与说明。

### (五) 参考区间确定资料

应提交验证参考值（区间）所采用样本来源及详细的试验资料。

应明确参考人群的筛选标准，研究各组（如性别、年龄等）例数不应低于 120 例。

参考值研究结果应在说明书【参考区间】项中进行相应说明。

### (六) 稳定性研究资料

稳定性研究主要包括注册单元中所有组成部分的效期稳定性及开瓶（复溶）稳定性等，如有需要可增加运输稳定性、机载稳定性研究等。如试剂需要配制，还应对配制后试剂的稳定性进行研究。企业可根据实际需要选择合理的稳定性研究方案。常用的稳定性研究方案为证实试剂在经过被作用于指定条件后仍能主要性能指标要求或与未被作用于指定条件的试剂性能一致。稳定性研究资料应包括研究方法的

确定依据、具体方法及过程。对于实时稳定性研究，应提供至少 3 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。

### （七）临床评价资料

试剂（盒）按照《体外诊断试剂注册管理办法》及《关于发布体外诊断试剂临床试验技术指导原则的通告》（国家食品药品监督管理总局通告 2014 年第 16 号）执行。

#### 1. 研究方法

选择境内已批准上市的性能相近的同类产品作为对比试剂，采用试验用体外诊断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。建议企业尽量选择方法学相同、线性范围及精密度等性能接近的同类试剂作为对比试剂。

#### 2. 临床试验机构的选择

应选择至少两家经国家食品药品监督管理总局资质认可的临床试验机构，临床试验机构实验操作人员应充分熟悉检测系统的各环节（试剂、质控及操作程序等），熟悉评价方案。在整个实验中，考核试剂和参比试剂都应处于有效的质量控制下，定期对仪器进行校准、保养，最大限度保证试验数据的准确性及可重复性。

#### 3. 临床试验方案

临床试验实施前，研究人员应从流行病学、统计学、临床医学、检验医学等多方面考虑，设计科学合理的临床研究方案。各临床研究机构的方案设置应基本一致，且保证在整个临床试验过程中遵循预定的方案实施，不可随意改动。整个试验过程应在临床研究机构的实验室内并由本实验室的

技术人员操作完成，申报单位的技术人员除进行必要的技术指导外，不得随意干涉实验进程，尤其是数据收集过程。

试验方案中应确定严格的病例纳入/排除标准，任何已经入选的病例再被排除出临床研究都应记录在案并明确说明原因。在试验操作过程中和判定试验结果时应采用盲法以保证试验结果的客观性。临床试验中所涉及的样本类型应与产品说明书一致，且不应超越参比试剂对样本类型的检测要求，如果选择了参比试剂适用样本类型以外的样本，则应采用其他合理方法对额外的样本类型进行验证。

开展体外诊断试剂临床试验，申请人应当按照试验用体外诊断试剂的类别、风险、预期用途等特性，组织制定科学、合理的临床试验方案。一般应当包括以下内容：

- (1) 一般信息（包括产品信息、临床试验开展的时间和人员等相关信息、申请人相关信息等）；
- (2) 临床试验的背景资料；
- (3) 试验目的；
- (4) 试验设计；
- (5) 评价方法；
- (6) 统计方法；
- (7) 对临床试验方案修正的规定；
- (8) 临床试验涉及的伦理问题和说明、《知情同意书》文本（如有）；
- (9) 数据处理与记录保存；
- (10) 其他需要说明的内容。

#### 4. 研究对象的选择

选择具有特定症状/体征人群作为研究对象。企业在建立

病例纳入标准时，应考虑到不同人群的差异，尽量覆盖各类适用人群。在进行结果统计分析时，建议对各类人群分别进行数据统计分析。糖化血红蛋白检测样本通常为全血，总体样本数不少于 200 例，异常值样本不少于 30%。样本中待测物浓度应覆盖待评试剂线性范围，且尽可能均匀分布。

申报的样本类型均应在临床试验中进行验证。如产品发生涉及检测条件优化、增加与原样本类型具有可比性的其他样本类型等变更事项，临床样本总数至少为 100 例，并在至少 2 家（含 2 家）临床试验机构开展临床试验；变更抗体等主要原材料的供应商、参考区间的变化及增加临床适应症等变更事项，应根据产品具体变更情况，酌情增加临床试验总样本数。

全血应明确抗凝剂的要求、存贮条件、可否冻融等要求及避免使用的样本。实验中，尽可能使用新鲜样本，避免贮存。

## 5. 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，如相关分析、线性回归、配对 t 检验等。建议统计学负责人选择合理的统计学方法进行分析，统计分析应可以证明两种方法的检测结果无统计学差异。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。

## 6. 结果差异样本的验证

对于比较研究试验中测定结果不符的样本，应采用“金标准”或其他合理的方法进行复核，以便对临床试验结果进行分析。如无需复核，应详细说明理由。

## 7. 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。

申请人或临床试验牵头单位应对各临床试验机构的报告进行汇总，并完成临床试验总结报告。临床试验报告的格式及内容如下：

### 7.1 首篇

首篇是每份临床试验报告的第一部分，所有临床试验报告均应包含该部分内容。

#### 7.1.1 封面标题

包括试验用体外诊断试剂的通用名称、试验开始日期、试验完成日期、主要研究者（签名）、临床试验机构（盖章）、统计学负责人签名及单位盖章、申请人（盖章）、申请人的联系人及联系方式、报告日期、原始资料保存地点。

#### 7.1.2 目录

列出整个临床试验报告的内容目录和对应页码。

#### 7.1.3 研究摘要

对临床试验情况进行简单的介绍。

#### 7.1.4 试验研究人员

列出临床试验主要研究人员的姓名、单位、在研究中的职责及其简历（列于附件中），主要研究人员包括主要研究者及各单位的主要参加人员、统计学负责人、临床试验报告的撰写人。

#### 7.1.5 缩略语

临床试验报告中所用的缩略语的全称。

## 7.2 正文内容和报告格式

### 7.2.1 基本内容

引言。

介绍与临床试验产品有关的背景情况：包括（1）被测物的来源、生物及理化性质；（2）临床预期使用目的，所针对的目标适应症人群，目前针对该适应症所采用的临床或实验室诊断方法等；（3）所采用的方法、原理、技术要求等；（4）国内外已批准上市产品的应用现状等。说明申请人和临床试验机构间的合作关系。

### 7.2.2 研究目的。

说明本临床试验所要达到的目的。

### 7.2.3 试验管理。

对试验管理结构的描述。

管理结构包括主要研究者、主要参加人员、实验室质量控制情况、统计/数据管理情况以及试验中发生的问题及其处理措施等。

### 7.2.4 试验设计。

#### 7.2.4.1 试验总体设计及方案的描述。

试验的总体设计和方案的描述应清晰、简洁，必要时采用图表等直观的方式。试验进行时方案修改的情况和任何方案以外的信息来源也应详细叙述。应包括：

（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；

（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；

- (3) 样本类型，样本的收集、处理及保存等；
- (4) 统计学方法、统计软件、评价统计结果的标准

#### 7.2.4.2 试验设计及试验方法选择。

试验设计中应包括以下内容：

- (1) 样本量及样本量确定的依据。
- (2) 样本选择依据、入选标准、排除标准和剔除标准。
- (3) 样本采集、保存、运输方法等。
- (4) 对比试剂的确立。
- (5) 临床试验用所有产品的名称、规格、来源、批号、效期及保存条件，对比试剂的注册情况。考核试剂和参比试剂的名称、批号、有效期及所用机型等信息。

(6) 质量控制方法。对质量控制方法进行简要的阐述。试验人员培训、仪器日常维护、仪器校准、质控品运行情况，对检测精密度、质控品回收（或测量值）、抽查结果评估；

(7) 临床试验数据的统计分析方法。对各研究单位的病例数、病种分布情况进行总合，建议以列表或图示方式给出具体例数及百分比。

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、对异常值或缺失值的处理、研究过程中是否涉及对方案的修改。

#### ②定量值相关性和一致性分析

用回归分析验证两种试剂结果的相关性，以  $y=a+bx$  和  $R^2$  的形式给出回归分析的拟合方程，其中： $y$  是考核试剂结果， $x$  是参比试剂结果， $b$  是方程斜率， $a$  是  $y$  轴截距， $R^2$  是判定系数，同时应给出  $b$  的 95%（或 99%）置信区间，定量值结果应无明显统计学差异。

(8) 具体试验过程，样本检测、数据收集、样本长期保存、结果不一致样本的校验等。

(9) 试验过程中方案的修改。

一般情况下，临床试验方案不宜更改。试验过程中对方案的任何修改均应说明，对更改的时间、理由、更改过程及有无备案进行详细阐述并论证其对整个研究结果评价的影响。

7.2.5 临床试验结果及分析。

7.2.6 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。

7.3 有关临床试验中特别情况的说明

7.4 附件

7.4.1 临床试验中所采用的其他试验方法或其他诊断试剂产品的基本信息，如试验方法、诊断试剂产品来源、产品说明书及注册批准情况。

7.4.2 临床试验中的所有试验数据，需由临床试验操作者、复核者签字，临床试验机构盖章（封面盖章和骑缝章）。

7.4.3 主要参考文献。

7.4.4 主要研究者简历。

7.4.5 申请人需要说明的其他情况等。

(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—2008/ISO 14971: 2007《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》和《体外诊断试剂注册申报资料要求和批准证明文件格式》的相关规定。如已有相应的国家/行业标准发布，则企业技术要求的标准不得低于其相关要求。

作为定量检测试剂，糖化血红蛋白检测产品的注册检测应主要包括以下性能指标：物理特性、线性范围、准确度、分析灵敏度、批内重复性、批间重复性等。各性能指标的检验方法应清晰明了且具可操作性。

下面就技术要求中涉及的相关内容作简要叙述。

#### 1.产品型号/规格及其划分说明

##### （1）试剂组成及规格

明确试剂的组成及规格。

##### （2）试剂盒组成成分

明确试剂盒中每个组分的主要组成成分。

#### 2.性能指标：

##### 2.1 外观

符合生产企业规定的正常外观要求。

##### 2.2 装量

液体试剂的装量应不少于标示值。

##### 2.3 精密度

###### 2.3.1 日间重复性

测试两个不同浓度水平的样本，变异系数 CV 结果均应 $\leq$ 3%。

###### 2.3.2 日内重复性：

测试两个不同浓度水平的样本，变异系数 CV 结果均应 $\leq$ 3%。

#### 2.4 批间差

三个不同批号试剂盒测试相同样本，相对极差 R 应 $\leq$ 10%。

#### 2.5 分析灵敏度

2.5.1 对于一步法试剂，测试浓度为 6% 的样本时，吸光度差值  $\Delta A$  应 $\geq$ 0.020。

2.5.2 对于两步法试剂，用血红蛋白试剂测试浓度为 120  $\mu\text{mol/L}$  的血红蛋白样本时，吸光度差值  $\Delta A$  应符合企业要求；用糖化血红蛋白试剂测试浓度为 5.0  $\mu\text{mol/L}$  的糖化血红蛋白样本时，吸光度差值  $\Delta A$  应符合企业要求。

#### 2.6 线性范围

在[4%—12%]的区间内，线性相关系数 r 应 $\geq$ 0.990；不强制要求企业对线性范围内的偏差进行分段评估，如不分段，各浓度的相对偏差应 $\leq$ 10%。如分段，则分界点设置不宜过高，高于分界点的浓度相对偏差应 $\leq$ 10%，低于分界点的浓度绝对偏差应不高于分界点浓度的 10%。

#### 2.7 准确度

##### 2.7.1 与国家（国际）标准品的相对偏差

相对偏差应不超过 $\pm$ 10%。

##### 2.7.2 企业参考物质的相对偏差

相对偏差应不超过 $\pm$ 10%。

#### 2.8 均匀性（适用于校准品或质控品）

##### 2.8.1 瓶内均匀性

赋值结果的瓶内均匀性（瓶内重复性变异系数）应符合

企业要求。

### 2.8.2 瓶间均匀性

赋值结果的瓶间均匀性（瓶间重复性变异系数）应符合企业要求。

### 2.9 赋值准确度（适用于校准品或质控品）

选用适当的参考物质（有证参考物质、其他公认的参考物质、制造者溯源文件声称的参考物质或参考测量程序赋值血清均可）对校准品进行试验，其量值传递的准确度应满足企业要求。

## 3. 检验方法

### 3.1 外观

正常视力目测检查，应符合生产企业规定的正常外观要求。

### 3.2 装量

通用量具测量，应不少于标示值。

### 3.3 精密度

3.3.1 日间重复性：选择两个不同浓度的样本（建议其浓度在医学决定水平的两侧），每天测 2 次，其中时间间隔不少于 2 小时，每次测试重复 2 次，连续测定 20 天，计算 80 次测定结果的平均值（M）和标准差（S），根据公式（1）、（2）计算变异系数 CV。

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n - 1}} \dots\dots\dots (1)$$

$$CV (\%) = \frac{S}{\bar{X}} \times 100 \% \dots\dots\dots (2)$$

式中：

$X$ ——系列测定值；

$\bar{x}$ ——测定均值；

$n$ ——测定次数；

$S$ ——标准差。

3.3.2 日内重复性：对两个不同浓度的样本（建议其浓度在医学决定水平的两侧）使用同一批号试剂在 1 日内分别重复测定至少 10 次，计算相应次数测定结果的平均值（ $M$ ）和标准差（ $S$ ），根据公式（1）、（2）计算变异系数  $CV$ 。

### 3.4 批间差

用三个不同批号试剂盒，对样本分别重复测定至少 3 次，计算每个浓度样本每批号测量结果的平均值（ $X_i$ ,  $i=1、2、3$ ）及每个浓度样本三个批号测量结果的总平均值（ $X_T$ ），根据公式得出批间相对极差（ $R$ ）。

$$\bar{x}_T = \frac{\bar{x}_1 + \bar{x}_2 + \bar{x}_3}{3} \dots\dots\dots (3)$$

$$R = \frac{\bar{x}_{\max} - \bar{x}_{\min}}{\bar{X}_T} \times 100\% \dots\dots\dots (4)$$

式中：

$\bar{x}_{\max}$  ——  $\bar{x}_i$  中的最大值；

$\bar{x}_{\min}$  ——  $\bar{x}_i$  中的最小值；

$\bar{x}_T$  —— 3 批试剂检测均值。

### 3.5 分析灵敏度

一步法试剂：测定一份指定浓度的样本，重复测定 3 次，

计算该样本产生的吸光度变化值( $\Delta A$ ),取3次结果的均值,按照试验的标准曲线等比换算出浓度为6%的HbA1c所产生的吸光度差值( $\Delta A_0$ )。

$$\Delta A_0 = \Delta A_{\text{样本}} \times C_0 / C_{\text{样本}} \dots \dots \dots (5)$$

式中:

$\Delta A_{\text{样本}}$ ——测试得出的吸光度变化值均值

$C_0$ ——要求规定的浓度(即6%)

$C_{\text{样本}}$ ——已知的样本浓度

两步法试剂:测定一份指定浓度的样本,重复测定3次,分别计算该样本与血红蛋白试剂产生的吸光度变化值( $\Delta A_1$ )及样本与糖化血红蛋白试剂产生的吸光度变化值( $\Delta A_2$ ),取3次结果的均值。对于血红蛋白试剂,按照试验的标准曲线等比换算出浓度为120  $\mu\text{mol/L}$ 的Hb所产生的吸光度差值( $\Delta A_1$ );对于糖化血红蛋白试剂,按照试验的标准曲线等比换算出浓度为5.0  $\mu\text{mol/L}$ 的HbA1c所产生的吸光度差值( $\Delta A_2$ )。

### 3.6 线性范围

在预期测定范围内选择5—7个浓度水平进行测试。以预期浓度( $x_i$ )为自变量,以测定结果均值( $y_i$ )为因变量做线性回归,得出相关系数 $r$ 。将预期浓度( $x_i$ )代入线性回归方程得到 $x_i$ 的估计值,计算测定结果均值( $y_i$ )与相应估

$$r = \frac{\sum [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2 \sum (y_i - \bar{y})^2}} \dots \dots \dots (6)$$

$$\text{相对偏差} = 100\% \times \frac{|y_i - y_i \text{估计值}|}{y_i \text{估计值}} \dots \dots \dots (7)$$

$$|\text{绝对偏差}| = |y_i - y_i \text{估计值}| \dots \dots \dots (8)$$

计值的偏差。

式中：

$x_i$ ——测定管溶液的理论浓度；

$y_i$ ——与测定管溶液浓度相对应的实际测量值；

$i$ ——1, 2, 3, …….,  $n$ ；

### 3.7 准确度

#### 3.7.1 与国家（国际）标准品的偏差分析

合理设置至少 2 个浓度，进行测试，每个样本重复 3 次，根据公式计算对相应标准品检测结果与既定靶值的相对偏差。

$$\text{相对偏差 (\%)} = \frac{|\text{测得的均值} - \text{参考物质靶值}|}{\text{参考物质靶值}} \times 100\% \dots\dots\dots (9)$$

#### 3.7.2 企业参考物质的偏差分析

检验方法同 3.7.1。

4.如注册单元中包含校准品或质控品，其性能指标的检验方法应在技术要求中予以描述。应当包括准确度、均匀性、开瓶/复溶稳定性的检验方法的详细描述。

### （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具有相应医疗器械检验资质和承检范围的医疗器械检测机构进行注册检测。承接注册检测的机构在出具检测报告的同时，应出具相应的检测预评价表，预

评价表在提交注册资料时应随注册检测资料时一并提交。

### **(十一) 产品说明书**

产品说明书承载了产品预期用途、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。

结合《关于发布体外诊断试剂说明书编写指导原则的通告》（国家食品药品监督管理总局通告 2014 年第 17 号）的要求，下面对糖化血红蛋白测定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. 【产品名称】**

(1) 试剂（盒）名称由三部分组成：被测物名称、用途、方法或原理。例如：糖化血红蛋白测定试剂盒（酶法）。

(2) 英文名称应当正确、完整、直译，不宜只写缩写。

#### **2. 【包装规格】**

(1) 应与产品技术要求包装规格一致；

(2) 应能清晰地描述出试剂盒的构成，不得出现试剂盒的组成成分与包装规格中描述不一致的情况。

(3) 应注明可测试的样本数或装量，如××测试/盒、××mL。

(4) 如不同包装规格有与之特定对应的机型，则应同时明确适用机型。

#### **3. 【预期用途】**

应至少包括以下几部分内容：

(1) 说明试剂盒用于直接或间接定量检测人体全血样

本中糖化血红蛋白占总血红蛋白的比例；

(2) 应强调（可使用不同的描述方式）：临床意义是反映被检者过去 8—12 周体内血糖的平均水平，而非样本采集时的瞬间血糖水平；是血糖控制水平监控的金标准，但不是确诊糖尿病的金标准。

#### 4. 【检验原理】

应详细阐明试剂的工作原理，至少应包括用以区分一步法试剂及两步法试剂的描述，明确是否需要测试总血红蛋白（Hb）；是否需要通过计算得出结果。如一步法试剂：全血经溶血处理后，用特异蛋白内切酶将 Hb 酶解消化成果糖氨基酸，再经果糖氨基酸氧化酶作用下产生过氧化氢（Hydrogenperoxide, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>），H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的浓度与血液中 HbA<sub>1c</sub> 的含量成正比，H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 在过氧化物酶的作用下与相应的色原耦联，从而得知样本中 HbA<sub>1c</sub> 的含量。

#### 5. 【主要组成成分】

(1) 说明试剂盒包含组分的名称信息，如果对于正确的操作或使用理解其用途很重要，应详细说明。

(2) 应说明工作液的主要组成成分。如注册单元含校准品或质控品也应进行相应说明，并注明其定值及溯源性。溯源性应写明溯源的最高级别，包括标准物质或参考物的发布单位及编号。

如：校准品：为糖化血红蛋白冻干品，校准品具有批特异性，每批定值，定值见瓶签标示，量值可溯源至 GBW09181—09183 或国际参考物质 BCR405。

#### 6. 【储存条件及有效期】

(1) 对试剂盒的效期稳定性、开瓶稳定性等信息做详

细介绍，包括环境温湿度、避光条件等。如注册单元含校准品或质控品且其形态为干粉，则应对复溶后的储存条件、稳定性做详细介绍。如试剂需要配制，则应对配制后的试剂的储存条件、稳定性做详细介绍。

(2) 保存温度不应有模糊表述，如“常温”、“室温”，应直接以℃为单位。小于3个月的稳定期限应以日或小时为单位，大于或等于3个月的稳定期限应以月为单位。

#### 7. 【适用机型】

注明所适用的仪器类型，应细化到型号。如需要可提供与仪器有关的信息以指导用户操作。

#### 8. 【样本要求】

重点明确以下内容：样本类型、处理方式、保存期限、保存条件（短期、长期）等。应描述样本的采集条件、添加物等可能对检测结果造成的影响。全血样本应明确描述使用何种抗凝剂。

#### 9. 【检验方法】

详细说明试验操作的各个步骤，包括：

(1) 试剂配制方法（如有）、注意事项。

(2) 详细描述样本的检测前处理方法。

(3) 试验条件：温度、时间、仪器波长等以及试验过程中的注意事项。

(4) 如有校准品，应说明校准品的使用方法、注意事项、推荐的校准周期，以及何种情况须重新校准。

(5) 如有质控品，应说明质控品的使用方法、注意事项、对质控结果的必要解释以及推荐的质控周期等。

#### 10. 【产品性能指标】

详述以下性能指标：

(1) 本试剂盒可达到的线性范围。如对线性范围内的偏差进行分段评估，说明线性分界点及分界点两侧象限各自的偏差评价方式及偏差允许范围。

(2) 批内精密度以变异系数 (CV) 的形式表示；批间精密度以相对极差 (R) 的形式表示。

(3) 试剂分析灵敏度：检测某一浓度（尽量靠近医学决定水平）样本时吸光度差值的范围。

(4) 准确度以预期值的百分率（或与预期值的相对偏差）表示。

## 11. 【参考区间】

根据检测系统的报值方式注明常用样本类型的正常参考值（范围），可根据参考范围的确定方法对不同性别、年龄等分别描述，如作出此种描述，应简单说明参考范围的确定方法。提供 NGSP 测定结果与 IFCC 测定结果的换算公式。建议注明以下字样“由于地理、人种、性别及年龄等差异，建议各实验室建立自己的参考值（范围）”。

## 12. 【检验结果的解释】

应根据其临床意义对可能出现的结果进行合理的解释。

说明试剂盒的检测结果仅供临床参考，对患者的临床诊治应结合其症状/体征、病史、其他实验室检查等情况综合考虑。

说明在何种情况下应对样本进行重复测试，以及在重复测试时需要采取的样本处理方式。强调当检测结果超过线性范围时是否适用稀释检测的处理方式。如不适用，应说明。

如适用，说明最大稀释倍数。

### 13. 【检验方法的局限性】

明确常见干扰物质对检测结果的影响，企业可根据自身情况对特殊干扰物进行说明，并注明可接受的最高限值，不应使用模糊的描述方式。不建议使用存在明显干扰物如乳糜、黄疸等样本。

### 14. 【注意事项】

不一定作为单独项目列出，但说明书中应包括以下内容：

(1) 说明不同分析系统间的检测结果可能存在的差异。

(2) 说明对所有样本和反应废弃物都应视为传染源对待。

(3) 说明检测过程中应严格按照说明书提供的操作步骤及相关实验室规范要求进行操作，否则可能对结果造成的影响。

(4) 说明样本处理后放置时间对检测结果的影响。

(5) 说明质控检测结果对临床检测结果的重要性。

(6) 其他需要说明的注意事项。

15. 【标识的解释】如有图形或符号，请解释其代表的意义。

### 16. 【参考文献】

注明引用参考文献，其书写应清楚、易查询且格式规范统一。

### 17. 【基本信息】

#### 17.1 境内体外诊断试剂

17.1.1 注册人与生产企业为同一企业的，按以下格式标注基本信息：注册人/生产企业名称，住所，联系方式，售后

服务单位名称，联系方式，生产地址，生产许可证编号。

17.1.2 委托生产的按照以下格式标注基本信息：注册人名称，住所，联系方式，售后服务单位名称，联系方式，受托企业的名称，住所，生产地址，生产许可证编号。

### 17.2 进口体外诊断试剂

按照以下格式标注基本信息：注册人/生产企业名称，住所，生产地址，联系方式，售后服务单位名称，联系方式，代理人的名称，住所，联系方式。

### 18. 【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

应当写明医疗器械注册证编号/产品技术要求编号。

### 19. 【说明书核准日期及修改日期】

应注明该产品说明书的核准日期。如曾进行过说明书的变更申请，还应该同时注明说明书的修改日期。

## 三、审查关注点

（一）说明书中预期用途、储存条件及有效期、检验方法、参考范围、产品性能指标、抗干扰能力等描述应分别与临床评价资料、稳定性研究资料、主要生产工艺和反应体系研究资料、参考范围研究资料、分析性能评估资料的研究结论相一致。

（二）由于基于酶法原理的试剂分为一步法试剂和两步法试剂，试剂组成、性能指标等方面存在差异，审查时予以关注。

（三）关注临床试验所采用的样本类型、样本量及临床研究单位的选择、对比试剂的选择、统计方法及研究结果、临床方案及报告撰写的格式等是否符合《体外诊断试剂临床试验技术指导原则》对相关内容的规定。

（四）由于糖化血红蛋白试剂盒（酶法）存在一定的特

殊性，本指导原则未对其空白吸光度作出评价要求，对于两步法试剂，也不分别对其两种试剂作要求。如注册人对相关内容进行了研究并作出了描述或给出了指标，则应关注其设置该指标合理性。

#### 四、名词解释

(一) 糖化血红蛋白 (Haemoglobin A1c, HbA1c): 人体血液中红细胞内的血红蛋白与血糖不可逆结合的产物。

(二) 准确度 (Accuracy): 一个测量值与可接受的参考值间的一致程度。

(三) 分析特异性 (Analytical Specificity): 测量程序只测量被测量物的能力。分析特异性用于描述检测程序在样本中有其他物质存在时只测量被测量物的能力。通常以一个被评估的潜在干扰物清单来描述，并给出在特定医学相关浓度值水平的分析干扰程度。

(四) 线性 (Linearity): 在给定测量范围内，给出的测量结果与样品中实际存在的被测量物的值成比例的能力。线性是描述一个测量系统的测量示值或测量结果相关于样本的赋值符合直线的属性。

(五) 精密度 (Precision): 在规定条件下，相互独立的测试结果之间的一致程度。精密度的程度是用统计学方法得到的测量精密度的数字形式表示，如标准差 (SD) 和变异系数 (CV)。

(六) 参考物质 (Reference Material): 具有一种或多种足够均匀和很好地确定了特性，用于校准测量装置、评价测量方法或给材料赋值的一种材料或物质。对于该项目，指国家标准物质、可溯源至 IFCC 糖化血红蛋白参考方法或标准

品的标准物质、可溯源至 NGSP 参考方法或标准品的标准物质。

## 五、参考文献

(一)《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 5 号)

(二)《关于发布体外诊断试剂临床试验技术指导原则的通告》(国家食品药品监督管理总局通告 2014 第 16 号)

(三)《关于发布体外诊断试剂说明书编写指导原则的通告》(国家食品药品监督管理总局通告 2014 第 17 号)

(四) Corinne E. Joshi, Anna E. Prizment, Paul J. Dlugiewski, et al. Glycated hemoglobin and cancer incidence and mortality in the Atherosclerosis in Communities (ARIC) Study, 1990 —2006 [J]. Int. J. Cancer, 2012, 131(7): 1667—1677

(五) Selvin Elizabeth, Steffes Michael W, Zhu Hong, et al. Glycated hemoglobin, diabetes, and cardiovascular risk in nondiabetic adults [J]. The New England journal of medicine, 2010, 362(9): 800—811

(六) 全国临床检验操作规程(第三版). 叶应妩,王毓三主编,中华人民共和国卫生部医政司编.东南大学出版社,2006:712.

(七) GB/T 26124—2011 《临床化学体外诊断试剂(盒)》

# 糖化血红蛋白测定试剂盒（酶法） 注册技术审查指导原则编制说明

## 一、指导原则编写目的

为了指导和规范糖化血红蛋白测定试剂盒（酶法）技术审评工作，帮助审评人员理解和掌握该类产品的性能、预期用途等内容，把握技术审评工作基本要求和尺度，对产品安全性、有效性作出系统评价；同时也为生产企业的产品注册工作提供指导。

## 二、指导原则编写依据

（一）《医疗器械监督管理条例》（国务院令第 650 号）

（二）《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）

（三）《关于发布体外诊断试剂临床试验技术指导原则的通告》（国家食品药品监督管理总局通告 2014 年第 16 号）

（四）《关于发布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）

（五）《糖化血红蛋白实验室检测指南》

（六）GB/T 26124—2011《临床化学体外诊断试剂（盒）》

（七）国家食品药品监督管理部门发布的其他规范性文件。

## 三、指导原则重点内容说明

（一）关于指导原则适用范围

目前，临床实验室普遍采用的 HbA1c 测定方法有多种，按原理可分为离子交换层析法、电泳法、免疫法、亲和层析

法及酶法等，不同方法采用的原理不同，所测组分不同。因糖化血红蛋白诊断试剂盒（酶法）是我国主要上市产品，故纳入本指导原则的范围。其他原理的产品不适用本指导原则，但可参考本指导原则适用部分进行技术审查。

### （二）关于产品的主要技术指标的确定依据

目前本产品尚无已发布的国/行标，本指导原则中的性能指标依据课题组进行的验证试验的结果，也重点参考了糖化血红蛋白测定试剂盒（胶乳免疫比浊法）的工作组讨论稿、《中国糖化血红蛋白实验室检测指南》、YY/T 1246—2014 糖化血红蛋白分析仪。

### （三）关于溯源性

本指导原则中提到的溯源性，均指可溯源至 IFCC 糖化血红蛋白参考方法或标准品，即溯源链的源头。如企业通过 NGSP 认证，可视为与 IFCC 溯源性具有同等效力。

## 四、指导原则编写单位和人员

本指导原则的编写成员由湖南省医疗器械技术审评人员、检验检测人员、行政审批人员等相关专家共同组成。



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