附件1

定性检测体外诊断试剂分析性能评估

注册审查指导原则

分析性能评估资料是评价产品安全有效性的重要支持性资料之一。科学合理地开展产品的分析性能评估，确定产品的各项分析性能指标，是产品设计开发的关键过程。本指导原则旨在指导注册申请人对定性检测体外诊断试剂进行充分的分析性能评估，并整理形成注册申报资料，同时也为技术审评部门审评注册申报资料提供参考。

本指导原则是对定性检测体外诊断试剂分析性能评估的一般要求，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。

本指导原则是供注册申请人和技术审评人员使用的指导性文件，但不包括审评审批所涉及的行政事项，亦不作为法规强制执行，应在遵循相关法规的前提下使用本指导原则。如果有能够满足相关法规要求的其他方法，也可以采用，但是需要提供详细的研究资料和验证资料。

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

本指导原则所述定性检测体外诊断试剂是指仅提供两种检测结果（即阳性/阴性或有反应/无反应）的体外诊断试剂。包括：无量值报告的检测试剂和基于量值检测后通过阈值判断结果的检测试剂。本指导原则不适用于结果报告为阴性、1+、2+或3+的分等级报告或滴度的半定量检测试剂和定量检测试剂。

本指导原则适用于基于所有方法学的定性检测体外诊断试剂，包括核酸扩增技术、标记免疫分析技术、免疫组织化学技术等。

本指导原则适用于所有预期用途的定性检测体外诊断试剂，包括：筛查试剂、诊断/辅助诊断试剂和确认试剂。

本指导原则主要描述定性检测体外诊断试剂分析性能评估的原则性要求，如申报产品已有针对性的具体指导原则，其分析性能评估可同时参照相应产品的指导原则进行。

本指导原则适用于进行相关产品注册和变更注册的分析性能评估，包括申报资料中的部分要求，其他未尽事宜，应当符合《体外诊断试剂注册与备案管理办法》等相关法规要求。

二、注册审查要点

（一）分析性能评估的总体要求

1.检测系统的要求

体外诊断试剂的检测系统是指由样本处理用产品、检测试剂、校准品、质控品、检测设备等构成的，可完成样本从处理到最终结果报告所有阶段的组合。应采用完整、确定的检测系统进行分析性能评估。

2.试剂要求

分析性能评估用试剂应为原材料和生产工艺经过选择和确定后，在有效质量管理体系下生产的体外诊断试剂产品。申请人研发实验室配制试剂的分析性能评估资料不作为注册资料提交。

3.操作要求

操作者应能正确、熟练地进行试剂、方法及样本相关的操作，按照产品说明书等相关要求进行校准和质控程序，质控符合要求后，按试验方案进行试剂的分析性能评估。

4.适用机型的要求

如果试剂适用不同的机型，需要在不同机型上分别进行分析性能评估。应采用一个或多个机型，进行充分的试剂分析性能建立研究，对于其他机型，应分析各适用机型的工作原理、检测方法、反应条件控制、信号处理等，如基本相同，可基于风险分析对已建立的分析性能指标进行合理验证。所有适用机型验证的分析性能应基本一致，如不同机型对某一检测项目的某一分析性能存在差异，应针对该差异采用不同机型进行充分的分析性能建立研究。

5.包装规格的要求

如试剂包含不同包装规格，需对各包装规格间的差异进行分析或验证。如不同规格间存在性能差异，需采用每个包装规格产品进行分析性能评估；如不同规格间不存在性能差异，需要详细说明各规格间的差别及可能产生的影响，采用具有代表性的包装规格进行分析性能评估。

6.样本要求

用于分析性能评估的样本，应尽量与预期适用的真实临床样本一致，并按照说明书描述的方式进行样本采集、处理、运输和保存。如特定浓度的样本难以获得，可采用不同浓度的样本及阴性样本进行混合；如特定型别的样本难以获得，可合理采用标准菌株或毒株、临床分离培养物等。

（二）分析性能评估项目的具体要求

定性检测体外诊断试剂的分析性能评估一般包括适用的样本类型、准确度、精密度、空白限与检出限、分析特异性、高剂量钩状效应等。申请人应设计合理的试验方案，对各项分析性能进行充分评估。

1.适用的样本类型

如果试剂适用于多种样本类型（包括抗凝剂），应采用合理方法评价每种样本类型的适用性。对具有可比性的样本类型，可选择具有统计学意义数量的样本进行样本一致性的同源比对研究；对于不具有可比性的样本类型，应对每种样本类型分别进行分析性能评估。此处所述可比样本，一般指：性能指标相同、阳性判断值相同、预期人群一致、临床意义相同。反之，则应视为不可比样本。

如果样本的采集、处理方式存在差别，例如适用不同采样器、不同样本保存液、不同处理方法（如核酸的提取与纯化、抗原修复条件等），应分析这些差别的潜在影响，并进行针对性的分析性能验证。

2.准确度

申请人可选择下述两种方式或两种方式之一进行准确度研究。

2.1方法学比对

采用申报试剂与诊断准确度标准或已上市产品，同时检测临床样本，比较检测结果之间的一致性程度，进行申报试剂的准确度评价。

样本应选择符合样本稳定性的预期人群样本，或参考样本盘。研究应纳入一定数量的阴性和阳性样本，并注意包含一定数量的阳性判断值附近的样本和干扰样本。

2.2参考品（盘）的检测

通过检测参考品（盘）分析申报产品检测结果与经确认结果的符合情况，评价申报产品的准确度。此处所述参考品（盘）指已经诊断准确度标准/其他成熟方法检测确认过的，或有准确临床诊断信息的，由多份样本组成的一套样本。

应注意参考品（盘）对各种常见型别/流行株的覆盖和对所有检测位点的覆盖，包含不同来源、不同浓度水平的临床样本/临床混合样本和/或菌株/毒株。建议参考品（盘）还应包含不含待测靶物质的干扰及交叉样本等。对于临床罕见样本可采用细胞系或人工制备的样本作为参考品（盘）的组成，但应注意样本基质与临床样本的一致性，提交人工制备的样本与临床真实样本的一致性研究分析。

3.精密度

3.1重复性、中间精密度和再现性

精密度包括重复性、中间精密度和再现性。影响精密度的条件包括：操作者、测量仪器、测量程序、试剂批次（lot）、运行（run）、时间、地点、环境条件（实验室温度、湿度、空气质量、管理等）等。

重复性指在重复性条件下的精密度，包括相同测量程序、相同操作者、相同测量系统、相同操作条件和相同地点，并且在短时间段内对同一或相似被测对象重复测量。重复性条件代表基本不变的测量条件，此条件产生测量结果的变异最小。

再现性又称实验室间精密度，指在包括了不同地点、不同操作者、不同测量系统的测量条件下对同一或相似被测对象重复测量的精密度，其中不同测量系统可使用不同测量程序。再现性条件代表最大改变的测量条件。

重复性和再现性是精密度的两种极端情况，界于两种极端情况之间的精密度，称为中间精密度，指在包括相同的测量程序、相同地点的测量条件下对相同或相似的被测对象在一长时间段内重复测量的精密度，可包含其他相关条件的改变，例如不同操作者、试剂批号等。实验室内精密度考虑了体外诊断试剂在医学实验室使用过程中的运行、时间等影响因素，归类为中间精密度的一种情况。

应根据各测量条件对检测结果影响程度的分析，设计合理的精密度试验方案进行评价，包括重复性、实验室内精密度、实验室间精密度和批间（lot-to-lot）精密度。

应选择包括最低检出限水平、中强浓度水平、阴性的至少三个分析物浓度水平样本进行精密度研究。精密度研究可能涉及多天、多地点检测，应确保样本的稳定性和一致性，可将样本等分保存。

建议选择典型或临床常见型别样本进行精密度研究。对于多项联检试剂产品，尤其是核酸和染色体检测试剂，一般可根据产品设计原理，每一反应单元选择易错或代表性样本进行研究。应阐述研究位点选择依据，明确样本的来源、浓度和性质确定方法。

3.2临界值水平的精密度研究（如适用）

除上述精密度研究外，建议申请人对申报产品的临界值进行确定，并采用该浓度/水平样本进行精密度研究。此处所述临界值水平不同于通过ROC曲线等方法确定的阳性判断值。理想情况下，临界值浓度水平，即为多次重复试验时，50%的结果为阴性，50%的结果为阳性浓度水平，在本文以C50表示。

建议采用C5～C95区间描述分析物浓度接近C50的样本重复检测的不精密度。

首先建立C50浓度，并通过对该浓度水平样本进行多次重复检测，以对C50浓度进行确认。而后以各浓度水平样本进行多次重复检测的方式，判断某一特定可接受范围，如C50±20%，是否包含了C5～C95区间。如果-20%至+ 20%的浓度范围包含了C5～C95区间，则可以认为距离C50点达20%或以上的样本可产生一致的结果; 即在C5～C95以外的样本的结果是精密的，此时试剂精密度可接受。申请人可结合产品的特点，设置合理的结果接受标准，并详述设定依据。一般可依据产品的临床预期用途、方法学自身的准确度、生物学变异、靶物质的特性等设定产品的精密度可接受范围。

申请人可结合产品的特点，设置合理的（单侧或双侧）置信度水平，采用合理的统计方法对数据进行分析。推荐对C50±20%两个浓度水平分别重复进行40次检测，当+20%浓度水平全部为阳性，-20%浓度水平全部为阴性时，得出-20%到+ 20%浓度范围包含C5～C95区间的置信度＞80%。

4.检出限和空白限

4.1检出限

一般采用检出限（Limit of Detection, LoD）指标来体现注册申报产品的检出能力。检出限的研究，应采用多批试剂，多个样本进行，且研究应持续多天。

可给出连续量值信号的定性检测试剂，如基于酶联免疫吸附技术的检测试剂采用吸光度响应区别“有反应”和“无反应”结果。对于此类检测，可参考《定量检测试剂分析性能评估注册技术审查指导原则》中相关内容，设定空白限和LoD。注意：这不适用于临界值远高于检出限的检出项目。

4.1.1LOD的建立

建议采用对已知分析物浓度的样本进行系列稀释后重复检测的方法，确定申报试剂的检出限。在上述重复检测过程中，记录不同稀释度/浓度检出（或阳性）的结果。采用适当的模型（如Probit分析）和分析方法，计算申报试剂在设定概率下的检出限，一般在该检测浓度下应具有95%的阳性检出率。

染色体检测试剂，需要考虑不同嵌合比例的检出情况（如适用）。

线粒体突变检测试剂和肿瘤基因突变检测试剂，应考虑特定核酸浓度下，不同突变比例检出情况下的LOD（如适用）。

病原体检测试剂，应纳入代表性型别，分别计算每个型别的LoD，并取最大值作为整个检测试剂的LOD，或分别声称不同型别的LOD。 对于罕见的型别，可在后续的检出限验证试验中进行确认。

人类基因突变（胚系突变）或基因多态性检测试剂，应包含对型别为杂合子的样本进行LOD（核酸浓度）研究。

4.1.2LOD的验证

注册申报产品应在检测限浓度水平对常见分析物型别进行验证，一般采用对检出限浓度水平样本进行至少20次的重复试验的方法对LOD进行验证。申请人应明确检出限验证中，各个样本的来源、型别及浓度确认的方法信息。

4.2包容性（inclusivity）

对于病原体检测试剂和部分人基因检测试剂，应证明申报试剂具有检出不同型别待测病原体/不同基因型/不同基因突变位点的能力。包括中国人群已知常见基因型别/基因突变位点、病原体的亚群（组）和血清型。应采用略高于检出限浓度的各型别样本进行重复检测研究。建议采用样本为灭活的临床样本或标准菌株/毒株。对于罕见的型别可根据推荐度依次选用：假病毒（病原体检测适用）、细胞株（人基因检测适用）、人工克隆或合成的DNA或RNA或蛋白。应提供各个研究样本的来源、性质确定方法及浓度等信息。

5.分析特异性

分析特异性受干扰和交叉反应的影响。申请人应分析待测样本中及试剂使用过程中潜在的干扰物质和交叉反应，并对干扰和交叉的程度进行量化。

5.1干扰试验

可采用添加干扰物质的样本进行研究，如果干扰物质的基质与适用样本不同，则添加量宜少于总体积的5%（溶解度允许条件下），并尽量使用接近体内循环形式的样品或纯品。

干扰试验可采用如下方法：首先对可疑干扰物质采用临床样本中的最高浓度（最差情形）进行干扰筛查或验证，一般采用配对比对的方式，比较添加与未添加高浓度干扰物质的样本检测结果的差异。如果差异超出接受范围或对临床有显著性影响，可确认该物质为干扰物质，应评估该干扰物质浓度与干扰程度之间的关系；如果差异在接受范围内或对临床无显著性影响，可认为该浓度的物质不产生干扰，应明确不产生干扰的物质浓度上限。

结合产品的特点，设置合理的结果接受标准，并详述设定依据。对于可给出量值数据或计数结果的定性检测试剂，如OD值、Ct值，一般可依据产品预期用途、生物学变异等设定产品的可接受标准。

在对可疑干扰物质进行干扰筛查或验证时，建议采用包含弱阳性水平在内，至少两个分析物水平的样本。在评估干扰物质浓度与干扰程度之间关系时，可适当增加样本数量，纳入更多分析物水平的样本。

申请人除按照上述方法采用添加干扰物的样本进行研究外，亦可采用有代表性的患者样本，通过对申报产品与不受该干扰物影响的测量方法检测结果进行对比，进行干扰物质研究。

常见的内源性干扰物质包括血红蛋白、脂类、胆红素、白细胞裂解物、自身抗体、异嗜性抗体、疾病相关蛋白、患者体内的异常生化代谢物等；常见的外源性干扰物质包括样本添加剂（抗凝剂或防腐剂）、常用药物及其代谢物、患者群体使用的药物及其代谢物、膳食物质、样本收集或处理过程中接触到的物质，样本污染物；亦应考虑文献中已报道的对类似试剂或测量程序存在干扰的物质。申请人应根据产品特点选择潜在的干扰物质进行验证。

5.2交叉反应

5.2.1常见交叉反应物质

包括分析物的结构类似物、具有同源性序列的核酸片段、检测范围外的型别，易共存的其他类似物、易引起相同或相似的临床症状的其他病原体、相同或相似的临床症状出现时，体内易升高的其他蛋白、采样部位正常寄生或易并发的其他微生物（包含近缘微生物），已报道对类似试剂或测量程序存在交叉的物质等。

还应考虑到由于产品原材料设计可能引入的交叉反应。如病原体抗体检测试剂采用基因重组抗原，应增加对异源物质，如重组基因及表达宿主的特异性抗体的交叉反应评价。

5.2.2研究方法

企业应根据产品特点选择潜在的交叉反应物质进行验证。建议选择高浓度交叉反应物水平进行验证，细菌或者真菌的最低浓度为106 CFU/mL；病毒的最低浓度为105 PFU/mL；人野生型DNA至少包含100 ng/μL野生核酸样本。对于交叉反应中病原体的最低浓度，生产商也可根据病原体的具体特性规定相应浓度及浓度单位。应提供用于交叉反应验证的病原体的制备方法、来源、种属和浓度信息。

对于核酸检测试剂，当遇交叉反应物难以获得，如病原体难以培养或基因型频率低时，可采用核酸样本进行交叉反应的验证。此时应将核酸样本视为实际使用过程中参与检测反应的核酸样本，根据说明书的要求配制反应体系，进行检测。

对于血清学检测试剂，用于交叉反应研究的抗体类型应与待测目的的抗体类型相同，如检测病原病原体特异性IgG抗体，应研究与其他相关病原体特异性IgG抗体的交叉反应。

6.高剂量钩状效应

对于部分免疫学原理的产品，检测含有极高浓度的待测抗体/抗原的样本时，饱和反应可能导致检测浓度值低于真实值或出现假阴性结果。建议对多个含有高浓度分析物的样本进行梯度稀释后由低浓度至高浓度检测，每个梯度的稀释液重复多份进行检测，明确不产生钩状效应的最高分析物浓度。

7.诊断灵敏度

对于预期用途为病原体感染辅助诊断的检测试剂，如有经全面验证的转换盘，建议额外采用转换盘进行诊断灵敏度的研究。比较与同类已上市产品的诊断灵敏度差异。

8.其他

8.1核酸提取

对于核酸检测试剂，不同的核酸提取方法直接影响待测核酸的质量与浓度水平，此类试剂应进行核酸提取性能研究。申请人可通过对比不同提取方法的提取纯度、浓度、提取效率和精密度，选择申报产品配套使用的核酸提取方法/试剂。

若注册申报试剂声称适用两种或以上核酸提取方法/试剂，则应对选定的每一种核酸提取方法的检测试剂性能进行验证，一般而言，应至少包含对LoD和精密度的验证，此处精密度应参考本文此前关于再现性的研究要求。

8.2免疫反应性

对于免疫组织化学抗体试剂及检测试剂，应提交试剂对正常人体组织和非正常组织，每种组织类型不少于3例的免疫反应性研究。评价阴、阳性表达情况并描述着色位置及染色特点。一般而言，非正常组织包括：相关良性、恶性病变组织和经文献报道可能出现阳性表达的恶性病变组织。

8.3基于原位杂交方法的检测试剂的其他性能评估

一般应进行杂交效率以及探针特异性的研究。

杂交效率用于评价申报产品探针结合靶序列的能力。该研究建议使用中期分裂相的外周血淋巴细胞进行涂片分析。杂交效率的研究应考虑不同判读者差异的影响。对于检测特定肿瘤细胞中目标序列的检测试剂，还应选择相关肿瘤组织样本进行杂交效率的研究。

探针特异性通过特异杂交到染色体正确位置的杂交信号占全部杂交信号的比例来表示。该研究建议使用中期分裂相的外周血淋巴细胞涂片分析，选择来源于不同人体的细胞，对至少200个靶位点进行分析计数，研究应结合显带技术进行观察。同时如果研究出现交叉杂交，应考虑靶序列与交叉杂交序列的同源性程度，是否存在其他相似染色体异常类型等问题。

建议该类产品分析性能评估参照相应的审查指导原则进行。

本文件主要介绍定性检测体外诊断试剂常见的分析性能根据产品特性，可能还需研究其他分析性能，暂不在本文叙述。

（三）分析性能评估申报资料的要求

申请人应提交体外诊断试剂产品的分析性能评估资料，对于每项性能均应明确具体研究目的、试验方法、原始数据和数据的统计分析过程及结果。相关基本信息也应在申报资料中进行描述，包括试验地点，试验采用的具体试剂、校准品和质控品的名称、规格和批号，仪器名称和型号，样本类型、来源、处理方法、基质类型及所含物质信息等。

分析性能评估的结论应在产品说明书中进行描述，综合不同试剂规格、批次及适用机型的试验结果，合理描述产品的分析性能。

三、名词解释

1.准确度：被分析物质的测定结果与真实结果之间的接近程度。

2.阳性判断值（cut-off value）：用于鉴别样品，作为判断特定疾病、状态或被测物存在或不存在的界限的量值。对于定性试验，高于此阈值的结果报告为阳性，而低于此阈值的结果报告为阴性。

3. C50（50%浓度）:接近临界值的分析物浓度，多次重复检测此浓度的单一样本时将获得50%的阳性结果和50%的阴性结果。

4. C5～C95区间：临界值附近的分析物浓度，可认为此浓度区间之外的分析物检测结果始终为阴性（浓度＜C5）或始终为阳性（浓度＞C95）

5. 诊断准确度标准：使用一种方法或联合多种方法，包括实验室检测、影像学检测、病理和随访信息在内的临床信息，来界定状况、事件和关注特征有无的标准。

6. 检出限（Limit of Detection，LOD）：由给定测量程序得到的测得量值，对于此值，在给定声称物质中存在某成分的误判概率为α时，声称不存在该成分的误判概率为β。

注1:对于分子测量程序，指持续检出的最低分析物浓度。（通常是指常规临床实验室条件下，特定样本类型>95%检出率。）

7.包容性（inclusivity）：指检测试剂可以对预期范围内的靶物质（如基因型/位点等）及其状态的检出能力。

8.高剂量钩状效应：是指在免疫化学测量程序中由相对抗体浓度抗原浓度过量或相对抗原浓度抗体浓度过量时的抗原-抗体免疫复合物减少而引起的负偏倚。

9.测量程序：按照一个或多个测量原理和给定的测量方法，基于一种测量模型，对测量所作的详细描述，包括获得测量结果所必需的任何计算。

四、参考文献

[1] GB/T 29791.1-2013，体外诊断医疗器械制造商提供的信息（标示）第1部分：术语、定义和通用要求[S].

[2] WS/T 505-2017, 定性测定性能评价指南[S].

[3] CLSI. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance. Approved Guideline—Second Edition. CLSI document EP12-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.

[4] CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.

[5] CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline—Third Edition. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.

[6] CLSI. Interference Testing in Clinical Chemistry. 3rd ed. CLSI guideline EP07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.

[7] CLSI. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. 1st ed. CLSI guideline EP37. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.