附件11

高敏心肌肌钙蛋白检测试剂注册审查

指导原则

本指导原则旨在指导注册申请人对高敏心肌肌钙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审评注册申报资料提供参考。

本指导原则是针对高敏心肌肌钙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。

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，相关内容也将适时进行调整。

一、适用范围

本指导原则适用于以抗原抗体反应为基本原理对人血清、血浆或全血样本中心肌肌钙蛋白（包括cTnI和cTnT）进行体外定量检测的高敏心肌肌钙蛋白检测试剂，如电化学发光免疫分析法、直接化学发光免疫分析法、酶促化学发光免疫分析法等，不适用于以胶体金或其他方法标记的定性或半定量检测试剂以及无法满足本指导原则中定义的hs-cTn要求的定量检测试剂。

二、注册审查要点

注册申报资料的撰写应符合《体外诊断试剂注册申报资料要求及说明》的相关要求。

（一）监管信息

1.产品名称

产品名称一般由三部分组成。第一部分：被测物名称；第二部分：用途，如测定试剂盒；第三部分：方法或者原理，如电化学发光免疫分析法、直接化学发光免疫分析法等，本部分应当在括号中列出。

2.分类依据

根据《体外诊断试剂分类子目录》，高敏心肌肌钙蛋白检测试剂管理类别为二类，分类编码为6840。

3.注册单元划分

高敏心肌肌钙蛋白测定试剂盒如包含不同的包装规格，不同规格间仅试剂组分装量或检测数有差异，原则上划分为同一注册单元；如包含不同的包装规格，不同规格间除试剂装量或检测数的差异外，适用于不同的仪器机型，原则上划分为同一注册单元。校准品、质控品可以与配合使用的高敏心肌肌钙蛋白检测试剂合并申请注册，也可以单独申请注册。

（二）综述资料

主要包括概述、产品描述、预期用途、申报产品上市历史等内容。其中，需注意以下内容：

1.产品描述

1.1产品综述

着重描述产品所采用的技术原理，包括反应原理（如：双抗体夹心法、三抗体夹心法等）和方法学（如：电化学发光免疫分析法、酶促化学发光免疫分析法、直接化学发光免疫分析法等），主要原材料（如捕获/标记抗体、标记物、固相载体等）的来源及制备方法（如为外购，应明确生产商名称及质量标准），质控品的制备方法及赋值情况，校准品的制备方法及溯源情况等。

1.2与同类和/或前代产品的比较

应着重从抗体识别表位、溯源性、空白限、检出限、定量限、参考区间及临床适用范围等方面写明拟申报产品与境内、外已上市同类产品和/或前代产品之间的主要区别。

2.临床适应证

cTn是心肌细胞损伤的特异性标志物，临床上主要用于急性心肌梗死（AMI）的辅助诊断以及急性冠脉综合征（ACS）的早期鉴别诊断、危险分层和预后评估。

申请人应根据产品临床性能阐述临床适应证。适应证声称应与临床评价结论一致。

（三）非临床资料

1.产品风险分析资料

申请人应参照YY/T 0316《医疗器械风险管理对医疗器械的应用》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。

2.产品技术要求及检验报告

2.1产品技术要求

应符合《医疗器械产品技术要求编写指导原则》的相关规定。产品性能指标应主要包括：外观、准确度、精密度、空白限和/或检出限、线性区间等。申报试剂如有适用的国家标准品发布，申请人应在产品技术要求中提出检测要求。应当符合适用的强制性标准。

2.2产品检验报告

应提交按产品技术要求进行检验的检验报告，可以是申请人的自检报告，也可以是委托有资质的医疗器械检验机构出具的检验报告。检验用产品应当能够代表申请注册产品的安全性和有效性，其生产应当符合医疗器械生产质量管理规范的相关要求。有适用的国家标准品的，应当使用国家标准品对产品进行检验。

3.分析性能研究

申请人应提交在符合质量管理体系的生产环境下生产的试剂盒进行的所有性能评估验证的研究资料，对于每项分析性能的研究都应包括研究目的、试验设计、研究方法、可接受标准、试验数据、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，包括试验地点、适用仪器、试剂规格、批号和临床样本来源等。分析性能评估的试­­验方法可以参考相关国内或国外有关体外诊断产品性能评估的指导原则进行。

如申报产品适用不同的机型，需要提交在不同机型上进行评估的资料。如申报产品包含不同的包装规格，需要对各包装规格进行分析或验证。

3.1样本稳定性

申请人应充分考虑实际使用过程中样本采集、处理、运输及保存等各个阶段的条件，对不同类型样本的稳定性分别进行评价并提交研究资料。包括建议的保存条件（室温、冷藏、冷冻）、添加剂（如抗凝剂）和运输条件（如涉及）等。对于冷冻保存的样本还应对冻融次数进行评价。

3.2适用的样本类型

如申报产品适用于血清和血浆，可采用一定数量血清、血浆同源样本进行对比试验的方法，或采用回收试验的方法，验证各种抗凝剂的适用性。如果选择具有代表性的样本类型代替其他可比的样本类型进行分析性能评估，应说明原因并提供证据支持。

如申报产品适用于全血，可采用该样本类型进行全性能评估，亦可至少进行精密度、空白限、检出限及定量限研究，同时进行同源比对试验。

3.3校准品的量值溯源和质控品的赋值

应提供详细的产品溯源性研究资料，检测结果的量值应溯源至参考物质（如适用）。对于制造商工作校准品、试剂盒产品校准品应提供详细的赋值试验资料和溯源性文件等。质控品（如有）应提供在所有适用机型上进行赋值和验证的资料。

3.4准确度

对准确度的评价方法一般包括：参考物质检测、回收试验、方法学比对等，申请人可根据实际情况选择一种或多种方法进行研究。

3.4.1参考物质检测

采用国家标准品、具有互换性的有证参考物质（CRM）或参考测量程序赋值的临床样本作为样本进行检测，其测量结果的偏倚符合相应的接受标准。

3.4.2回收试验

将标准溶液/高浓度参考物质加入临床样本中，配制成回收样品，进行检测。标准溶液/高浓度参考物质的体积与临床样本的体积比应不会产生基质的变化，一般加入体积不超过总体积的10%。

检测至少三个水平的回收样品，代表试剂测量区间内的高、中、低浓度，其中一份回收样品的浓度应在医学决定水平或参考区间上限附近。每个浓度应进行多次重复检测，取其均值进行计算。

3.4.3方法学比对

采用参考方法或国内/国际普遍认为质量较好的已上市同类试剂作为比对方法，与拟申报试剂同时检测一批临床样本，通过两者的比对研究和偏差估计，进行申报试剂的准确度评价。临床样本的选择应尽可能覆盖申报试剂的检测范围并尽量均匀分布。

3.5精密度

精密度一般包括重复性、中间精密度和再现性。针对本类产品的精密度评价主要包括以下要求：

3.5.1对可能影响检测精密度的主要变量进行验证，除检测试剂本身的影响外，还应对操作者、测量仪器、试剂批次、试验地点、环境条件等要素进行相关的验证。

3.5.2合理的精密度评价周期，例如：为期至少20天的检测，每天运行两次，每次运行两个重复样本，从而对批内/批间、日内/日间的精密度进行综合评价。

3.5.3精密度研究用样本一般为临床实际检测样本或其混合物，必要时可进行稀释、添加或采用基质合理的质控品。样本浓度一般包括测量区间高、中、低在内的3～5个水平，应至少包含第99百分位值参考区间上限附近样本，且检测不精密度CV≤10%。

3.6空白限、检出限及定量限

针对hs-cTn项目，申请人需要严格对申报产品的空白限（LoB）、检出限（LoD）及定量限（LoQ）进行合理评估和验证。

3.6.1空白限和检出限的建立

空白限一般由多个空白样本（无分析物）的检测结果，经计算获得；检出限一般由多个低浓度（含有分析物）样本的检测结果，结合空白限进行计算获得。应根据具体产品的原理、检测结果差异和数据分布，选择合理的试验方案和统计分析方法。

3.6.2定量限的建立

定量限应满足预设准确度指标，即考虑偏倚和精密度的要求。如无法在合适的低水平分析物浓度下确定偏倚，可采用其他合理的替代方法评估定量限，例如研究试剂精密度达到固定要求时的最低分析物浓度。建议仅在无法确定偏倚时采用替代方法，并且应设置较为严格的精密度要求。

3.6.3空白限、检出限及定量限的验证

空白限、检出限及定量限的验证，每个项目需选择至少2个样本（空白样本、检出限浓度样本、定量限浓度样本），在多天内进行试验。每个试剂批次至少需要获得20个检测结果，计算与3.6.1和3.6.2研究获得的空白限、检出限及定量限呈现一致性的检测结果比例，如果比例符合统计学要求/预设的临界值，则空白限、检出限及定量限得到验证。

3.7分析特异性

3.7.1交叉反应

易产生交叉反应的验证情况，hs-cTnI应至少验证与cTnT、cTnC、骨骼肌钙蛋白I和骨骼肌钙蛋白T的交叉反应情况，hs-cTnT应至少验证与cTnI、cTnC、骨骼肌钙蛋白I和骨骼肌钙蛋白T的交叉反应情况。交叉反应验证物质的浓度应涵盖人体生理及病理状态下及临床治疗过程中可能出现的最高浓度值。

3.7.2干扰物质

应评估内源性干扰物样本中常见干扰物质对检测结果的影响，如溶血、高脂、黄疸、类风湿因子（RF）、异嗜性抗体等。干扰物浓度的分布应覆盖人体生理及病理状态下可能出现的物质浓度。

药物干扰的研究可根据需要由申请人选择是否进行或选择何种药物及其浓度进行。

3.8钩状（HOOK）效应

建议采用高浓度样本进行梯度稀释后由低浓度至高浓度开始检测，对钩状效应进行合理的验证。建议在产品说明书中明示不产生钩状效应的最高分析物浓度。

3.9线性区间与可报告区间

3.9.1线性区间

线性区间的研究，需采用高值和低值样本配制一系列不同浓度的样本。当建立试剂的线性区间时，需配制出较预期线性区间更宽的至少9个左右不同浓度的样本，每个样本进行多次重复检测，根据可接受线性偏差和各浓度的重复性，确定检测次数。采用重复检测均值和预期值进行直线回归分析，建议采用加权最小二乘回归等分析方法，提供散点图、线性回归方程、线性相关系数（*r*）及线性偏差，判断结果是否满足可接受标准。线性区间下限通常介于检出限（LoD）和第99百分位值参考区间上限（URL）之间。

当验证试剂的线性区间时，需配制覆盖整个线性区间的至少5个不同浓度的样本，每个样本至少重复检测2次。

3.9.2可报告区间

如对超出线性区间的浓度样本可进行稀释后检测，应研究适用的稀释液和声称的稀释倍数，从而确定试剂的可报告区间。

3.10反应体系（如需提供）

以下内容可根据具体的方法学特点进行编写。

3.10.1发光系统的介绍以及最适条件研究。

3.10.2反应条件确定：申请人应考虑反应时间、判读时间、反应温度、洗涤液体积和洗涤次数（如涉及）等条件对产品性能的影响，通过试验确定上述条件的最佳组合。

3.10.3反应体系中样品加样方式及加样量确定：通过试验确定最佳的加样方式及加样量。如样本需采取稀释或其他必要的方法进行处理后方可用于最终检测，申请人还应对样本稀释液及其用量、其他必要的处理方法等进行研究。

4.稳定性研究

主要包括实时稳定性（货架有效期）、使用稳定性以及运输稳定性等。申请人可根据实际需要选择合理的稳定性研究方案，同时应注意选取代表性包装规格进行研究。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。

4.1实时稳定性（货架有效期）

提交至少三批申报产品在实际储存条件下保存至成品有效期后的实时稳定性研究资料。明确储存的环境条件（如温度、湿度和光照）及有效期。

4.2使用稳定性

提交申报产品实际使用期间稳定性的研究资料，应包括所有组成成分的开封稳定性。适用时提交复溶稳定性、开瓶稳定性及机载稳定性研究资料等。如涉及校准品，还应提交校准频率或校准稳定性研究资料。明确产品使用的温度、湿度条件等。

4.3运输稳定性

提交申报产品可在特定或者预期的条件下运输的研究资料，应说明产品正确运输的环境条件（如温度、湿度、光照和机械保护等）。同时说明产品的包装方式以及暴露的最差运输条件。

5.参考区间确定资料

申请人应提交具体的试验方案、人群及样本选择、评价标准、统计学分析和研究数据等资料。参考样本应明确纳入和排除标准，样本选择应根据产品的预期用途，充分考虑不同年龄、性别、地域等因素的影响，纳入的样本应具有代表性。

第4版全球心肌梗死通用定义建议将表观健康人群第99百分位值参考区间上限（URL）作为诊断AMI的临界（cut-off）值，并建议hs-cTn检测应按照不同性别分别设置。

如何定义表观健康人群尚存争议，多项研究表明，针对潜在合并症筛查越严格，则URL值越低。申请人可参照国内外相关专家共识或IFCC指南设立表观健康人群的要求。如：选择表观健康的男性和女性个体各不少于300例，排除服用心血管药物（如他汀）的个体，以及通过利尿钠肽（脑利钠肽或氨基末端脑利钠肽前体）、糖化血红蛋白（HbA1c）、肾小球滤过率（eGFR）等特异性标志物检测排除隐匿性并发症的个体，统计过程中，应排除离群值，并建议采用非参数统计方法。

6.其他资料

6.1主要原材料研究资料（如需提供）

应提供主要原材料如捕获/标记抗体、标记物、固相载体、校准品（如有）、质控品（如有）等的选择、制备及其质量标准等的研究资料。具体要求如下：

6.1.1抗体

如抗体为申请人外购，应明确生产商名称、抗体名称及生物学来源，提交外购方出具的原材料性能指标及检验证书，详述确定该抗体作为主要原材料的依据，明确申请人对抗体的质量控制要求和方法。

如抗体为申请人自制，应明确抗体名称、生物学来源、制备过程、鉴定方法、质量控制要求及方法，详述确定该抗体作为主要原材料的依据。

6.1.2标记物

应明确标记物名称、结构、质量要求以及生产商名称。

6.1.3固相载体

应明确所用载体的名称、质量要求以及生产商名称。

6.1.4校准品和质控品（如有）

应包括原材料选择、制备、赋值过程及试验资料。校准品应溯源至参考物质（如适用）。质控品建议设置三个水平：（1）水平1：浓度介于检出限（LoD）和最低的性别特异性第99百分位值URL之间；（2）水平2：浓度高于较高性别特异性第99百分位值URL，但不超过20%；（3）水平3：可报告结果的高浓度或与临床有关的重要评价浓度（例如数倍于第99百分位值URL浓度）。申请人可视申报产品具体情况合理设置质控品。

6.2生产工艺研究资料（如需提供）

6.2.1产品基本反应原理介绍。

6.2.2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。

6.2.3包被/标记工艺研究，申请人应考虑如包被/标记液量、浓度、时间、条件等指标对产品性能的影响，通过试验确定上述指标的最佳组合。

（四）临床评价资料

hs-cTn预期用于心肌梗死的辅助诊断时，属于列入《免于临床试验体外诊断试剂目录》项目，申请人可按照《免于临床试验的体外诊断试剂临床评价技术指导原则》要求进行临床评价。

hs-cTn预期用于ACS早期鉴别诊断、危险分层、预后评估或者其它新的临床适应证时，应结合临床诊疗现状进行研究，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。

（五）产品说明书和标签样稿

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》和《体外诊断试剂说明书编写指导原则》的要求。下面对hs-cTn检测试剂说明书的重点内容进行阐述。

1.【产品名称】

试剂（盒）名称由三部分组成：被测物名称、用途、方法或原理。如：高敏心肌肌钙蛋白Ⅰ检测试剂盒（化学发光免疫分析法）。名称中不应当出现定性/定量等内容。

2.【预期用途】

2.1用于体外定量测定人血清、血浆和/或全血样本中心肌肌钙蛋白（cTnI或cTnT）的浓度，适用的样本类型应结合实际的临床研究情况进行确认。

2.2简要说明与预期用途相关的临床适应证及背景情况。说明相关的临床或实验室诊断方法。

3.【检验原理】

应结合产品主要成分详细说明检验原理、方法，必要时可采用图示方法描述。

4.【主要组成成分】

4.1详细说明试剂盒内各组分的名称、数量、成分、浓度等信息，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。

4.2对于校准品和质控品（如适用）：

4.2.1注明校准品的定值及其溯源性，溯源性应写明溯源的最高级别（包括参考物质或参考方法的发布单位及编号或制造商选定测量程序名称）。

4.2.2应明确说明质控品的生物学来源、活性及其他特性，应明确靶值范围（如靶值范围为批特异，可注明批特异，并附单独的靶值单）。

4.3对于多组分试剂应明确说明不同批号试剂盒中各组分是否可以互换，如可互换，则需提供相应的性能验证资料。

4.4对于产品中不包含，但对该试验必需的试剂组分，应列出相关试剂的名称、货号及其他相关信息。

5.【储存条件及有效期】

5.1应明确未开封的试剂实际储存条件及有效期，开封后的待机稳定期或开瓶稳定期。干粉试剂应明确复溶稳定期。

5.2不同组分保存条件及有效期不同时，应分别说明，产品总有效期以其中效期最短的为准。

注：保存条件不应有模糊表述，如“常温”、“室温”。

5.3生产日期、使用期限或失效日期（可见标签）。

6.【适用仪器】

6.1如适用仪器为通用型的酶标仪则需给出配置波长的要求。

6.2如适用仪器为非通用的仪器则需写明具体适用仪器的厂家和型号，不能泛指某一系列仪器，并且与分析性能评估资料一致。

6.3如需要可提供与仪器有关的信息以便指导用户操作。

7.【样本要求】重点明确以下内容：

7.1明确本产品适用的样本类型，并说明对采血管及抗凝剂的要求。

7.2样本采集：采集时间点是否受临床症状、用药情况等因素的影响，尽量减少由于样本采集或处理不当对试验造成的影响。

7.3样本处理、运送及保存：明确样本处理方法、样本的保存条件及期限（短期、长期）等。冷藏/冷冻样本检测前是否需恢复室温，冻融次数的要求。

8.【检验方法】

详细说明试验操作的各个步骤，包括：

8.1试验环境：温、湿度条件及试剂、样本复温等要求。

8.2试剂处理：试剂的使用方法、注意事项，试剂开封后注意事项等。

8.3样本处理：待测样本的预处理方法、步骤及注意事项。

8.4检测步骤：明确操作要求，如样本满足临床检测需要的加样量及观察时间等。

8.5校准：校准品的使用方法、注意事项、校准曲线的绘制方法。对适用于具有校准曲线保存功能检测仪器的产品，应注明校准周期。

8.6质量控制：质控品的使用方法、对质控结果的必要解释以及推荐的质控周期等。

8.7结果计算：对于手工/半自动仪器，说明校准曲线拟合方式及结果计算方法。结果建议以ng/L作为报告单位，并以整数报告（如以其他单位报告，应注明转换公式）。

9.【参考区间】

结合参考区间确定资料，简要说明参考区间确定方法，包括表观健康人群的入选和排除标准、样本类型、样本数量以及统计方法等。建议注明“由于地理、人种、性别和年龄等差异，建议各实验室建立自己的参考区间”。

10.【检验结果的解释】

10.1应根据其临床意义对可能出现的结果进行合理的解释。

10.2明确有可能存在引起样本浓度升高及降低因素，并说明在何种条件下需要进行确认试验，以及在确认试验时，需要采取的样本处理方式。

10.3超出检测范围的样本怎样报告结果，如要得到准确的结果需怎样处理，如需稀释，应注明稀释方法、最佳或最大稀释比例等。

11.【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：

11.1对有关假性升高或降低结果的可能性分析，说明本试剂的检测结果仅供参考，不能单独作为确诊或排除病例的依据，对患者的临床诊治应结合其症状/体征、病史、其他实验室检查及治疗反应等情况综合考虑。

11.2干扰物质及钩状效应（HOOK效应，如适用）对检测结果的影响，结果应量化表示，不应使用模糊的描述方式。

12.【产品性能指标】

详述以下性能指标：空白限（LoB）、检出限（LoD）、定量限（LoQ）、线性区间、准确度、精密度、分析特异性（交叉反应）等。

13.【注意事项】

13.1本试剂盒仅用于体外诊断，试剂中含有的化学成分接触人体后是否会产生不良的影响后果。

13.2有关试验操作、样本保存及处理等其他注意事项。

13.3采用不同厂家及不同方法学的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（如参考区间或方法学）。

13.4有关人源组分（如有）的警告，如：试剂内质控品或其他可能含有人源物质的组分，虽已经通过了HBsAg、HIV1/2-Ab、HCV-Ab等项目的检测，但截至目前，没有任何一项检测可以确保绝对安全，故仍应将这些组分作为潜在传染源对待。提示对于潜在传染源的处理方式。

13.5如无确切的证据证明其安全性，对所有样本和反应废弃物都视为传染源进行处理。

13.6对于动物源性组分，应给出具有潜在感染性的警告。

（六）质量管理体系文件

主要包括综述、生产制造信息、质量管理体系程序、管理职责程序、资源管理程序、产品实现程序、质量管理体系的测量、分析和改进程序、其他质量体系程序信息以及质量管理体系核查文件等。

三、参考文献

[1] Fred S Apple, Paul O Collinson, for the IFCC Task Force on Clinical Applications of Cardiac Biomarkers, Analytical Characteristics of High-Sensitivity Cardiac Troponin Assays[J]. Clinical Chemistry, Volume 58, Issue 1, 1 January 2012, Pages 54–61.

[2]中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会.高敏心肌肌钙蛋白在急性冠状动脉综合征中的应用中国专家共识[J].中华检验医学杂志,2012,35(012):1073-1076.

[3]中华医学会心血管病学分会,中华医学会检验医学分会.高敏感方法检测心肌肌钙蛋白临床应用中国专家共识(2014)[J].中华内科杂志,2015,54(010):899-904.

[4]Fred S Apple, Yader Sandoval, Allan S Jaffe, Jordi Ordonez-Llanos, for the IFCC Task Force on Clinical Applications of Cardiac Bio-Markers, Cardiac Troponin Assays: Guide to Understanding Analytical Characteristics and Their Impact on Clinical Care[J]. Clinical Chemistry, Volume 63, Issue 1, 1 January 2017, Pages 73–81.

[5]Thygesen K , Alpert J S , Jaffe A S , et al. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018)[J]. European Heart Journal, 2018, 40(3).

[6]中国医师协会检验医师分会心血管专家委员会.心肌肌钙蛋白实验室检测与临床应用中国专家共识[J].中华医学杂志,2021,101(37):2947-2961.