附件

定量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量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。

本指导原则是对定量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

本指导原则所述定量检测体外诊断试剂是指可测量分析物（analyte）的量或浓度并以适当单位的数字量值表达结果的试剂，其产品预期用途一般描述为“本产品用于体外定量检测某样本中的分析物浓度或含量等”。本指导原则不适用于基于量值检测并通过阈值判断结果的定性检测试剂或半定量检测试剂。

本指导原则主要描述定量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。

本指导原则适用于定量检测体外诊断试剂，产品分类编码为6840。

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》等相关法规的要求。

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

定量检测体外诊断试剂的分析性能一般包括正确度，精密度，包容性，空白限、检出限及定量限，分析特异性，高剂量钩状效应，测量区间及可报告区间，适用的样本类型等。产品的准确度（accuracy）与正确度和精密度有关。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. 正确度（trueness）

正确度由系统测量误差决定，通常用偏倚（bias）表示。根据检测试剂的实际情况，参考物质、比较测量程序等的可获得性，申请人可选择下述方法进行正确度评价。应提供正确度评价用物质或比较测量程序的基本信息和选择依据。

1.1使用参考物质的正确度评价

参考物质的值可作为参考量值，用于评估试剂检测结果的偏倚。推荐的参考物质包括：具有互换性的有证参考物质，公认的参考品、标准品，参考测量程序赋值的临床样本。不可采用产品校准品、申报试剂检测系统定值的质控品进行正确度评价。

建议采用2～3个水平的参考物质，代表试剂测量区间内的不同浓度，其中应包括医学决定水平或参考区间上/下限附近的浓度。进行多次重复检测，采用检测结果平均值与参考量值计算偏倚。如参考物质只有1个水平，且无合理稀释方法，亦可在说明原因的基础上，仅采用1个水平的参考物质进行正确度评价。

1.2方法学比对

采用申报试剂与合理的比较测量程序同时检测临床样本，通过两者的比对研究和偏倚估计，进行申报试剂的正确度评价。比较测量程序可选择同类试剂或者参考测量程序。临床样本的浓度水平应覆盖申报试剂的测量区间。在性能建立时，建议对每个样本重复检测，以平均值或中位数进行回归分析，并评价医学决定水平或参考区间上/下限浓度的偏倚。

1.3回收试验

对于可获得标准溶液、标准物质或分析物纯品的试剂（例如部分临床化学检测试剂），可采用回收试验进行正确度评价。将标准溶液、标准物质或分析物纯品加入临床样本中，配制成回收样品，进行检测。标准溶液、标准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3个水平的回收样品，代表试剂测量区间内的高、中、低浓度，其中应包括医学决定水平或参考区间上/下限附近的浓度。每个浓度应进行多次重复检测，采用检测结果平均值计算回收率。

2. 精密度（precision）

精密度由随机测量误差决定，通常用标准差、方差或变异系数表示。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)、校准（校准品批次，校准周期）、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。精密度包括重复性、中间精密度和再现性。

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。

精密度研究用样本一般为临床实际检测样本或其混合物。样本浓度一般包括测量区间高、中、低在内的3～5个水平，应有医学决定水平或参考区间上/下限浓度附近的样本。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。

3. 包容性（inclusivity）

对于病原体检测试剂，应验证申报试剂具有检出不同亚群（组）、血清型或基因型的能力。对于部分人类基因检测试剂，应验证申报试剂可检出中国人群已知的常见基因型别和突变位点。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（人类基因检测适用）、人工克隆或合成的DNA、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。

4. 空白限、检出限及定量限

定量检测体外诊断试剂对样本浓度下限的检出能力指标包括空白限（LoB）、检出限（LoD）及定量限（LoQ）。申请人应根据产品的具体情况选择适用的方法进行检出能力的研究，如产品不适用于LoB、LoD和LoQ的概念，应提供充分说明。

4.1 空白限、检出限及定量限的建立

LoB，LoD，LoQ的建立需分别选择多个独立的样本（空白样本、低浓度水平样本、已知浓度的低水平样本），在多天内进行研究。

LoB一般由多个独立的空白样本（无分析物）的检测结果计算获得；LoD一般由多个独立的低浓度（含有分析物）样本的检测结果，结合LoB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。对于空白样本检测结果为阴性或零，LoD浓度样本在预设概率下（例如95%）检测结果为阳性的试剂，可采用对多个已知分析物浓度的样本进行系列稀释后重复检测获得LoD，例如病原体核酸检测试剂，采用95%阳性检出率作为其LoD。对于分析物包括不同型别的检测试剂，应纳入所有代表型别的样本，分别计算各型别的LoD，取最大值作为申报试剂的LoD。罕见型别可在LoD建立过程中评估，亦可在验证过程中进行确认。

LoQ应满足预设准确度指标，即考虑偏倚和精密度的要求。偏倚可通过检测具有可接受参考量值的样本进行评估，所以需获得已知浓度的低水平样本，例如本文（二）1.1中所述参考物质。如涉及将样本稀释至低浓度水平，应确保稀释液不引起明显的基质效应，且在低浓度区间呈线性。精密度的评估可根据检测试剂及其应用确定其测量条件，一般应至少包括重复性和日间精密度。

在某些情况下，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LoQ，例如研究试剂精密度达到特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。

4.2空白限、检出限及定量限的验证

LoB，LoD，LoQ的验证需各选择至少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，计算符合要求的检测结果比例，如果比例符合统计学要求/预设的临界值，则4.1建立的LoB，LoD，LoQ得到验证。一般来讲，LoB总是低于LoD，而LoD则低于或等于LoQ。

5. 分析特异性（analytical specificity）

分析特异性受干扰（interference）和交叉反应（cross-reactivity）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。

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。

添加干扰物质的研究方法如下：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。

在对可疑干扰物质进行干扰筛查或验证时，建议采用至少2个分析物水平的样本，其浓度应在医学决定水平或参考区间上/下限附近。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质的样本进行研究外，亦可采用有代表性的患者样本，通过申报试剂与不受该干扰物影响的测量程序检测结果间的比对，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

交叉反应研究需对可能的交叉反应物质进行检测，对检测结果设定合理的接受范围，如果超出接受范围，可认为该物质产生交叉反应，应评估该物质浓度与交叉程度之间的关系。如检测结果在接受范围内，可认为该浓度的物质不产生交叉反应，应明确不产生交叉反应的物质浓度上限。

建议选择高浓度的交叉反应物质进行验证，应提供用于交叉反应验证物质的来源、制备、浓度等基本信息。

常见的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、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反应的物质等。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，如表达宿主的特异性抗体的交叉反应评价。申请人应根据产品特点选择潜在的交叉反应物质进行验证。

6. 高剂量钩状效应（high dose hook effect）

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。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. 测量区间及可报告区间

7.1线性区间（linearity interval）及测量区间（measuring interval）

线性区间的研究，需采用高值和零浓度/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，需配制较预期线性区间更宽的9个左右不同浓度的样本（不包括零浓度样本），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。

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。

测量区间，也称分析测量区间，在该区间内，临床样本在未经稀释、浓缩，或非常规测量程序中步骤的其他前处理情况下，检测结果的线性偏差、不精密度和偏倚均在可接受范围内。测量区间下限为定量限，线性区间包含测量区间。

7.2扩展测量区间和可报告区间

如对超出测量区间浓度的样本可进行稀释后检测，应研究合适的稀释液和稀释倍数，从而确定试剂的扩展测量区间和可报告区间。两者上限均为测量区间上限╳稀释倍数，扩展测量区间的下限为测量区间上限，可报告区间下限为检出限。

8. 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。

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、不同核酸提取与纯化等处理方法，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。

本文件主要介绍定量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. 分析物：具有可测量特性的样品组分。例如在“血浆中葡萄糖物质浓度”中，“葡萄糖”是分析物。

2. 正确度：指无穷多次重复测量所得量值的平均值与一个参考量值间的一致程度。

3. 精密度：是指在规定条件下，对同一或相似被测对象重复测量得到测量示值或测得量值间的一致程度。

4. 线性：指给出与样品中被测量的值直接成比例的测得量值的能力。

5. 线性区间：在这个区间内，测量结果充分地符合一条合适的直线。

6. 空白限：指测量空白样本时可能观察到的最高测量结果。

7. 检出限：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。对于核酸检测试剂，指持续检出的最低分析物浓度。

8. 定量限：指达到预设准确度要求时可测量的最低分析物浓度。

9. 干扰：是由一个影响量引起的测量的系统效应，该影响量自身不在测量系统中产生信号，但它会引起示值的增加或减少。

10. 交叉反应：指不是分析物的物质与试剂反应的程度。

11. 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。

12. 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] CLSI. User Verification of Precision and Estimation of Bias; Approved Guideline—Third Edition. CLSI document EP15-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.

[3] CLSI. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. 3rd ed. CLSI guideline EP09c. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.

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

[5] CLSI. Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures. 2nd ed. CLSI guideline EP06. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020.

[6] 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.

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

五、起草单位

国家药品监督管理局医疗器械技术审评中心