附件1

EB病毒核酸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EB病毒核酸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对注册申报资料的技术审评提供参考。

本指导原则是针对EB病毒核酸检测试剂技术审查的一般要求，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。

本指导原则是对申请人和审查人员的指导性文件，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，但需要详细阐明理由，并对其科学合理性进行验证，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，随着法规和标准的不断完善，以及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

EB病毒（Epstein－Barr virus，EBV）为疱疹病毒科，疱疹病毒IV型，是一种嗜人类淋巴细胞的疱疹病毒。EBV是双链DNA病毒，基因组长约172kb，在病毒颗粒中呈线性分子，进入受感染细胞后，其DNA发生环化并能自我复制。淋巴细胞中潜伏感染的EBV可表达2种不翻译成蛋白质的RNA（即EBV-encoded RNAs，EBERs），包括EBER1和EBER2，6种核抗原（EBNA1、EBNA2、EBNA3A、EBNA3B、EBNA3C和LP），2种潜伏期膜蛋白（潜伏膜蛋白，latent membrane protein，LMP），包括LMP1、LMP2A/B。

EBV在人群中感染非常普遍。除原发性EBV感染可致传染性单核细胞增多症外，EBV还引起慢性活动性EBV感染和EBV相关噬血细胞性淋巴组织细胞增生症等非肿瘤性重症EBV相关疾病。EBV还与许多肿瘤的诊疗相关。针对不同的EBV感染相关疾病，选择适当的临床标本和实验室检测方法，对于EBV感染相关疾病的诊断和治疗十分重要。

本指导原则所述EB病毒核酸检测试剂指基于分子生物学相关方法的核酸检测技术，以EB病毒核酸序列为检测靶标，对来自人体样本（如全血、血浆、血清等）中的EB病毒进行体外定量检测的试剂。结合临床表现和其他实验室指标，本类产品可用于EB病毒感染实验室诊断及临床应用。

本指导原则适用于基于实时荧光PCR（Real-time polymerase chain reaction，qPCR）等核酸检测方法的EB病毒核酸检测试剂。对于EB病毒定性检测或其他方法，可能部分要求不完全适用或本文所述内容不够全面，申请人可以根据产品特性对适用部分进行评价或补充其他的评价资料进行相应性能的验证，但需阐述不适用的理由，并说明替代方法的科学合理性。

本指导原则适用于进行产品注册和相关许可事项变更的产品。

二、注册申报资料要求

（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，其中同类产品上市情况介绍部分应着重从方法学及病原体检出能力等方面写明拟申报产品与目前市场上已获批准的同类产品之间的主要区别。对于本类申报产品，应着重从样本类型、样本采集与制备方式、目标基因片段的选择、方法学特征等方面描述。

（二）主要原材料的研究资料

此类产品的主要原材料应包括EB病毒检测试剂的所有主要组成成分，如引物、探针、酶、提取成分等。如为申请人自行研制的主要原材料，申请人应对EB病毒目的基因序列确定、引物和探针选择、酶的选择和验证等实验过程予以详述；并提供对各主要原材料的性能研究资料，如：外观、纯度、蛋白浓度、功能性研究等。制备完成的原料成品应进行质量检验以确认其符合标准要求，整个生产工艺应稳定可控。如为申请人外购主要原材料，应详述每一原材料外购方来源，提交外购方出具的原材料性能指标及质量控制资料，并详述申请人对外购主要原材料的各指标质量要求以及确定该原材料作为本产品主要原材料的详细依据。

1.核酸分离/纯化组分（如有）的主要组成、原理介绍及相关的验证资料。

2.PCR组分的主要原料（包括引物、探针、各种酶及其他主要原料）的选择、制备、质量标准及实验研究资料，主要包括以下内容：

2.1脱氧三磷酸核苷（dNTP）

核酸的组成成分，包括：dATP、dUTP、dGTP、dCTP和dTTP；应提交对其纯度、浓度、保存稳定性等的验证资料。

2.2引物

由一定数量的dNTP构成的特定序列，通常采用DNA合成仪人工合成，合成后经聚丙烯酰胺凝胶电泳或其他适宜方法纯化，并对序列准确性、纯度、稳定性、功能性实验等的验证。如为外购，应提供合成机构出具的合成产物的质检证明，如聚丙烯酰胺凝胶电泳法（PAGE）结果或高效液相色谱法（HPLC）分析图谱。

2.3探针

特定的带有示踪物（标记物）的已知核酸片段（寡聚核苷酸片段），能与互补核酸序列退火杂交，用于特定核酸序列的探测。合成后经PAGE或其他适宜方法纯化，在5'-端（和/或3'-端）进行标记，并经HPLC或其他适宜方法纯化，纯度应达到HPLC纯。应提供合成机构出具的合成产物质检证明，如HPLC分析图谱，应对探针的分子量、纯度及标记的荧光基团进行核实，并进行功能性试验验证。

2.4酶

DNA聚合酶，应具有DNA聚合酶活性，无核酸内切酶活性，具热稳定性，如：94℃保温1小时后仍保持50%活性。尿嘧啶DNA糖基化酶（UDG/UNG），具有水解尿嘧啶糖苷键的活性，无核酸外切酶及核酸内切酶活性。逆转录酶，具逆转录酶活性，无核酸内切酶活性。应对酶活性进行合理验证。

3.核酸类检测试剂的包装材料和耗材应无脱氧核糖核酸酶（DNase）和核糖核酸酶（RNase）污染。

4.企业内部参考品：

企业内部参考品是保证产品性能稳定性以及检测值可溯源的重要构成之一。参考品研究应包括原料选择、制备过程、定值研究、评价指标、统计学分析等。建议采用灭活病毒的临床样本或细胞培养后的病毒株建立参考品，并溯源至国际参考物质/国家参考品（如有），不宜使用质粒。内标设置应合理，阴/阳性质控品宜采用混合临床样本或病毒株或假病毒制备。试剂盒中包含的定量标准品可采用临床样本或病毒株、假病毒或质粒等制备。

内对照（内标）以对管内抑制可能造成的假阴性结果进行质控。申请人应对内标的引物、探针和模板的浓度做精确验证，保证内标荧光通道呈明显的阳性曲线，不应对目的基因的检测造成竞争性抑制而导致假阴性，对内标的Ct应有明确的范围要求。

阴/阳性质控品应参与样本核酸的平行提取，以对整个PCR反应过程、试剂/设备、交叉污染等环节进行合理质量控制。企业应对各种质控品的Ct做出明确的范围要求。

企业应提交详细的溯源性研究资料。企业制备的企业内部参考品、商品化校准品均应能够溯源至国际参考物质/国家参考品（如有）。

（三）主要生产工艺及反应体系的研究资料

基本生产工艺主要包括：配制工作液、半成品检定、分装和包装。配制工作液的各种原材料及其配比应符合要求，原材料应混合均匀，配制过程应对pH等关键参数进行有效控制。

生产工艺研究的资料应能对反应体系涉及到的基本内容，如样本类型、样本用量、试剂用量、反应条件、校准方法、质控方法、稳定性和有效期，提供确切的依据，主要包括以下内容：

1.主要生产工艺介绍，可以图表方式表示。

2.DNA提取纯化方法优化，建议包含纯化步骤，内标、质控品均应全程参与提取纯化。

3.确定最佳PCR反应体系的研究资料，包括酶浓度、引物/探针浓度、dNTP浓度、阳离子浓度、样本量、加样量及反应体积等。

4.确定PCR各阶段温度、时间及循环数的研究资料。

5.对于基线阈值（threshold）和阈值循环数（Ct）确定的研究资料。

6.不同适用机型的反应条件的对比分析，如果有差异应分别详述。

（四）分析性能研究资料

申请人应提交生产者在产品研制或成品验证阶段对试剂盒进行的所有性能验证的研究资料，对于每项分析性能的评价都应包括具体研究目的、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。有关分析性能验证的背景信息也应在申报资料中有所体现，包括实验地点（实验室）、适用仪器、试剂规格、批号、临床样本来源等。分析性能评价的实验方法可以参考相关的美国临床实验室标准化协会批准指南（CLSI-EP）文件或国内有关体外诊断产品性能评估的指导原则进行，建议着重对以下分析性能进行研究。

1.EB DNA提取

病毒DNA提取主要有以下目的：富集目的基因浓度、保证目的基因序列的完整性、增加PCR模板溶液均一性、去除PCR抑制物，是决定PCR成败的关键环节。因此，无论申报产品是否含有DNA分离/纯化的组分，企业都应对核酸提取的环节做详细的验证。临床标本中可能含有各式各样的PCR抑制物，因此，对于DNA提取试剂的选择，除最大量分离出目的DNA外，还应有纯化步骤，尽可能去除PCR抑制物。目前常见的DNA分离纯化方法和改良方法各有优势和不足，申请人应结合申报产品的特性，合理选择DNA分离/纯化试剂，并提供详细的验证资料（提取效率、与后续试验的配合等）。

2.最低检出限与定量限（分析灵敏度）

（1）最低检出限与定量限的确定

建议使用国际参考物质/国家参考品（如有）进行梯度稀释并多次检测，并建议采用95%（n≥20）的阳性检出率作为最低检测限确定的标准。

定量限应高于或等于检出限，将多次（至少20次）测量的结果符合试剂准确度要求的最低病毒水平作为定量限。

（2）最低检出限和定量限的验证

申报试剂应在最低检出限或接近最低检出限、定量限的病毒浓度进行验证。

企业应能够提供用于最低检出限/定量限验证的病毒株的来源、及浓度确认试验等信息。不同样本类型（如涉及），应分别评价最低检出限及定量限。

3.线性范围

线性范围确定的研究应使用高值临床样本或病毒株按一定浓度加入血液基质中（由可溯源至国际参考物质/国家参考品（如有）的方法定量）进行梯度稀释，稀释液应使用经确认为阴性的混合人血液样本，应包含不少于9个浓度（应包含接近最低检测限的临界值浓度），使用至少3个批次的试剂进行试验。通过评价一定范围内的线性关系及各水平的准确度确定该产品的线性范围。不同样本类型（如涉及），应分别评价线性范围。

4.准确度

应使用国际参考物质/国家参考品（如有）或企业内部参考品和临床样本进行阳性/阴性符合率或者方法学比对研究。

5.精密度

应对可能影响检测精密度的主要变量进行验证，评估重复性和重现性，包括运行内的变异和运行间、日内、日间、批次间、操作者间、仪器间和地点间的变异。

建议设定合理的精密度评价周期，例如为期12天的检测，每天由2人完成不少于2次的完整检测，注意应包括核酸分离/纯化步骤。可采用临床样本进行试验，至少包含3个浓度水平：阴性样本、略高于最低检测限的弱阳性样本、中等阳性样本。

6.特异性

（1）交叉反应

①用于EB DNA检测试剂交叉反应验证的病原体种类主要考虑以下几方面可能性：核酸序列具有同源性、易引起相同或相似的临床症状（推荐种类见表1）。

②建议在病毒和细菌感染的医学相关水平进行交叉反应的验证。通常，细菌感染的水平为106 cfu/mL或更高，病毒为105 pfu/mL或更高。

③申请人应提供所有用于交叉反应验证的病毒和细菌的来源、种属/型别和浓度确认等试验资料。有关交叉反应验证的信息应以列表的方式在产品说明书的【产品性能指标】项中有所体现。

表1 用于交叉反应研究的微生物（推荐）

|  |
| --- |
| **微生物** |
| [水痘-带状疱疹病毒](https://baike.baidu.com/item/%E6%B0%B4%E7%97%98-%E5%B8%A6%E7%8A%B6%E7%96%B1%E7%96%B9%E7%97%85%E6%AF%92)（人类疱疹病毒3型） |
| 人类免疫缺陷病毒\* |
| 乙型肝炎病毒 |
| 梅毒\* |
| [巨细胞病毒](https://baike.baidu.com/item/%E5%B7%A8%E7%BB%86%E8%83%9E%E7%97%85%E6%AF%92)（人类疱疹病毒5型） |
| [人疱疹病毒6型](https://baike.baidu.com/item/%E4%BA%BA%E7%96%B1%E7%96%B9%E7%97%85%E6%AF%926%E5%9E%8B) |
| [人疱疹病毒7型](https://baike.baidu.com/item/%E4%BA%BA%E7%96%B1%E7%96%B9%E7%97%85%E6%AF%926%E5%9E%8B) |
| 人疱疹病毒8型 |
| 单纯疱疹病毒1型（[人类疱疹病毒](https://baike.baidu.com/item/%E4%BA%BA%E7%B1%BB%E7%96%B1%E7%96%B9%E7%97%85%E6%AF%92)1型） |
| 单纯疱疹病毒2型（人类疱疹病毒2型） |
| 甲型流感病毒\* |
| 金黄色葡萄球菌 |
| 白色念珠菌 |
| 腺病毒\* |

\*为可选验证的交叉反应病原体。

（2）干扰物质

应针对不同样本类型，分别评价可能存在的干扰情况。建议在每种干扰物质的潜在最大浓度（“最差条件”）进行评价，并在待测物的医学决定水平进行检测。潜在的干扰物质包括内源性、外源性和其他已报道的干扰物质。

样本应至少选取全血（或血红蛋白和白细胞）、人白蛋白、胆红素、甘油三酯、自身抗体等进行验证，并注明对被测物不产生干扰的最高限值。

7.其他需注意问题

对于适用多个机型的产品，应提供如产品说明书【适用机型】项中所列的所有型号仪器的性能评估资料。如适用于不同样本类型，应提交对不同样本类型一致性的验证，包括不同抗凝剂、采血管（如涉及）的验证。

（五）阳性判断值研究资料

申请人应考虑不同地理区域流行病学背景以及人口统计学特征（包括性别、地域、种族等因素）的差异，选择具有代表性的样本建立阳性判断值，注意应纳入一定数量的弱阳性样本。如采用其他研究方法，应说明其合理性。

对于荧光实时PCR方法即为用于结果判读的Ct值和/或核酸浓度的确定资料，包括确定基线阈值（threshold）、阈值循环数（Ct）、核酸浓度（如适用）的研究资料等。

另外，建议申请人考虑建立阳性判断值时使用的受试者样本对于目标人群的代表性，通过临床评价进一步验证和确认阳性判断值的准确性。

（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（有效期）、运输稳定性、开瓶稳定性及冻融次数限制等研究，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。

应对样本稳定性进行研究，主要包括冷藏和冷冻等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主要性能的分析验证，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均应在说明书【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

临床试验的开展、方案的制定以及报告的撰写等均应符合相关法规及《体外诊断试剂临床试验技术指导原则》（国家食品药品监督管理总局通告2014年第16号）的要求。

1.试验方法

对于EB病毒核酸检测试剂而言，临床试验可采用试验用体外诊断试剂与临床普遍认为质量较好的已上市同类产品进行比较研究试验，证明两者具有等效性，从而间接证明试验用体外诊断试剂临床性能能够满足预期用途的要求。对比试剂在预期用途、适用人群、样本类型、检测性能等方面应与试验用体外诊断试剂具有较好的可比性。

对于比较研究试验中测定结果不符的样本，应采用临床检验实验室已建立的参考方法或者其他合理的方法（如第三方试剂、核酸序列测定方法等）进行复核。

2.试验机构

应考虑拟申报产品的特点和预期用途，结合流行病学背景，选择具有一定地域代表性的试验机构和受试者。原则上应具有分子生物学方法检测以及相关学科的优势，实验操作人员有足够的时间熟悉检测系统的各环节，熟悉评价方案。

3.试验方案

临床试验实施前，研究人员应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。

受试人群应尽可能全面地代表预期适用人群。体外诊断试剂的比较研究试验中应对受试者样本设盲，并使检测顺序随机，以避免因操作者和检测结果的评价者知晓受试者的疾病诊断或对比试剂检测结果等信息而引入偏倚。

试验用体外诊断试剂检测应与对比试剂的检测同步进行，以避免因疾病进程不同或样本采集时间不同而造成临床试验结论偏离真值。不同临床试验机构在临床试验中应尽可能统一试验操作和判读标准等。

应明确统计检验假设，如评价试验用体外诊断试剂与对比试剂是否等效的标准，并提出适合的数据统计分析方法。建议根据预实验的结果，对检测样本的类型和数量提出要求。

4.受试者

EB病毒核酸检测应与临床症状、体征及其他诊断方法相结合，用于EB病毒感染的辅助诊断、治疗监测等。临床试验受试者应包括各种可能接受EB病毒核酸感染检查的人群，如原发性EB病毒感染相关疾病（传染性单核细胞增多症等）、慢性活动性EB病毒感染、EB病毒感染相关的恶性肿瘤（鼻咽癌等）、免疫功能低下（器官移植患者等）或者接受免疫抑制剂治疗等人群。另外，建议根据流行病学证据纳入不同地区的患者/人群，以验证本产品的临床检出能力。

5.样本分布

建议至少原发性EB病毒感染、慢性EB病毒感染、EB病毒感染相关的恶性肿瘤、免疫功能低下或者接受免疫抑制剂治疗等人群中均应检测出具有EB病毒阳性的临床结果。

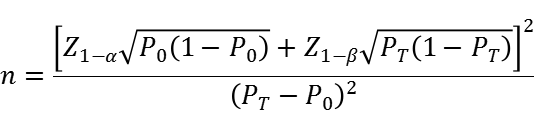
其中阳性样本应包含一定数量的弱阳性样本或灰区样本，并在检测范围内的不同水平均有分布。在病例选择时可考虑具有不同临床症状、体征的患者等。阴性样本主要考虑可能存在的交叉反应情况，应选择其他类疱疹病毒感染患者，以从临床角度考察其特异性。

临床试验中所涉及的样本类型应为实际临床检测中常用的样本类型。对于同时能够检测血清和血浆样本的试剂，应对同一EB病毒感染患者分别采集的血清和血浆样本进行比对试验研究，阳性样本应包括强、中、弱阳性及部分阴性样本。临床研究应以前瞻性样本为主，如采用回顾性样本应另行说明 。

6.样本量

适当的样本量是保证体外诊断试剂临床性能得到准确评价的必要条件。临床试验样本量应满足统计学要求，可采用适当的统计学方法进行估算。根据不同的预期用途，设计相应临床试验，以辅助诊断用途为例，临床试验可依据试验用体外诊断试剂相对于对比试剂的阴阳性符合率分别估算最低阴阳性样本例数。

临床样本量的估算建议采用如下样本量公式计算，



公式中，n为样本量；Z1-α、Z1-β为显著性水平和把握度的标准正态分布的分数位，P0为评价指标的临床可接受标准，PT为试验用体外诊断试剂评价指标预期值。

其中，阴阳性符合率的临床可接受标准（P0）建议不低于95%。获得临床试验数据后，证明产品相对于对比方法的阴阳性符合率（置信区间下限）不低于预设的临床可接受标准（P0）。当评价指标P接近100%时，上述样本量估算方法可能不适用，应考虑选择更加适宜的方法进行样本量估算和统计学分析，如精确概率法等。

7.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，对于本类产品对比实验的等效性研究，常用相关性、线性回归、相关系数（r）等对检测结果进行统计分析，考察两组数据之间是否存在相关性，统计分析应可以证明两种方法的检测结果无明显统计学差异。在临床研究方案中应明确统计检验假设，即评价考核试剂与对比试剂是否等效的标准。选择交叉四格表的形式总结两种试剂的定性检测结果，对检验结果进行符合率分析，计算阳性符合率、阴性符合率、总符合率和Kappa值等指标及其可信区间。

8.结果不符的样本

在数据收集过程中，对于两种试剂的检测结果不一致的样本，应进行第三方复核，并结合受试者的临床诊断信息对差异原因进行分析，但第三方复核结果不应纳入统计分析。如无需复核，应详细说明理由。

（八）产品技术要求

申请人应当在原材料质量和生产工艺稳定的前提下，根据申请人产品研制、前期临床评价等结果，依据国家标准、行业标准及相关文献，按照《医疗器械产品技术要求编写指导原则》（国家食品药品监督管理总局通告2014年第9号）的有关要求，编写产品技术要求。

如果申报试剂已有适用的国家标准品、参考品发布，则申请人应在产品技术要求中提出检验要求。

按照《办法》的规定，此类产品为第三类体外诊断试剂。申请人应按照《医疗器械产品技术要求编写指导原则》的规定，以附录形式明确主要原材料、生产工艺及半成品要求。附录的编制应符合相关编写规范的要求，主要原材料部分建议包括目标物的基因位点区域，引物/探针的设计及来源（包括目标物和内对照），各种酶的来源、技术指标和验收标准，内对照和质控品的设置和验证情况等内容。

（九）产品检验报告

应依据产品技术要求，在符合《办法》要求的医疗器械检验机构进行连续3个生产批次样品的检验，提供检验合格报告。

（十）产品说明书

说明书承载了产品预期用途、标本采集及处理、检验方法、检验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。产品说明书的格式应符合《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）的要求，进口体外诊断试剂的中文说明书除格式要求外，其内容应尽量保持与原文说明书的一致性，翻译力求准确且符合中文表达习惯。产品说明书中相关技术内容均应与申请人提交的注册申报资料中的相关研究结果保持一致，如某些内容引用自参考文献，则应以规范格式对此内容进行标注，并单独列明文献的相关信息。

下面对EB病毒核酸检测试剂说明书的重点内容进行详细说明。

1．【预期用途】

应至少包括以下内容：

1.1试剂盒用于定量检测人体样本（如全血、血浆、血清等）中的EB DNA，适用样本类型应依据申报产品的分析性能评估和临床研究情况进行确认。

1.2目标物的特征：简要描述病原体生物学特征及致病性，感染后临床表现，相关的实验室诊断方法等。

1.3目标人群：各种可能接受EB病毒核酸感染检查的人群。例如原发性EB病毒感染、慢性EB病毒感染、EB病毒感染相关的恶性肿瘤、免疫功能低下或者接受免疫抑制剂治疗等人群。注：未对上述目标人群进行相关临床研究的产品应在此项下声明：由于未做相关验证，本产品不能用于相关临床预期人群。

1.4产品功能：结合目标人群的临床表现和其他诊断指标，可用于EB病毒感染的辅助诊断、治疗监测等。

2.【检验原理】

2.1 描述试剂盒检测能够覆盖的目标基因序列特征，引物及探针的设计，反应体系（管）组合形式，内对照和质控品的设置及荧光信号标记等。

2.2 描述核酸提取纯化的方法、原理等。

2.3 描述试剂盒的技术原理，可结合图示进行说明。如反应体系中添加了相关的防止扩增产物污染组分（如尿嘧啶DNA糖基化酶），也应介绍其作用机理。

3.【主要组成成分】

3.1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；说明不同批号试剂盒中各组分是否可以互换。

3.2 如果试剂盒中不包含用于核酸分离/纯化的试剂组分，应在此明确经验证后推荐配合使用的核酸分离/纯化试剂盒的生产企业、产品名称、注册证号（如有）以及配合使用的仪器等信息。

3.3试剂盒中不包含但对该项检测必需的组分，应列出相关试剂的生产企业、产品名称以及备案凭证号或注册证号（如有）等信息。

4.【储存条件及有效期】

说明试剂盒的效期稳定性、开封稳定性、复溶稳定性、运输稳定性、冻融次数要求等，应标明具体的储存条件及效期。

5.【适用机型】

注明所有适用的仪器型号，并提供与仪器有关的重要信息以指导用户操作。

6.【样本要求】

6.1样本收集要求：结合临床公认推荐的采样要求。

6.2血液样本应当说明对采血管及抗凝剂的要求：明确样本类型、采血管和抗凝剂，其他样本应说明样本采集、处理及保存方式。

6.3样本处理、运送及保存：对血液样本离心条件的要求，核酸提取前的预处理、运送条件、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至室温，冻融次数的要求。如有需要应对高于检测范围的样本稀释方法进行规定。

7.【检验方法】

描述自动分析的工作流程或者详细说明试验操作的各个步骤，例如：

7.1试剂准备及配制方法、注意事项。

7.2详细描述待测样本、质控品的核酸提取/纯化方法，包括条件、步骤及注意事项。

7.3扩增反应前准备：加样体积、顺序等。

7.4 PCR各阶段的温度、时间设置、循环设置及注意事项。

7.5仪器设置：特殊参数、结合探针的荧光素标记情况设置目标基因及内标的荧光通道。

7.6基线、循环阈值（Ct值）的选择方法。

7.7质量控制方法：试剂盒内阴/阳性质控品、内标的Ct值范围要求。

8.【检验结果的解释】

结合阳性对照、阴性对照、内对照（内标）以及目标基因的检测结果，以列表形式详细描述所有可能出现的结果组合及相应的解释，可用Ct值表示。如存在灰区，应同时说明对灰区结果的处理方式，包括在何种情况下需要进行重复检测，重复检测的方法，对样本可能采取的优化条件（如采集要求或采集方法）等。如适用，也可结合扩增结果的S形曲线对灰区结果进行判定。

9．【检验方法局限性】

9.1本试剂盒的检测结果应结合患者的症状/体征、病史、其他实验室诊断结果等情况进行综合分析以及解释，不得作为患者临床诊治或管理的唯一依据。

9.2导致假阴性/假阳性结果的可能性分析：

9.2.1不合理的样本采集、处理、运输及保存条件，样本中目标物滴度过低。

9.2.2EB病毒核酸目标基因序列的变异或其他原因导致的序列改变。

9.2.3同一患者不同时间、不同部位或者多次采集样本会降低假阴性结果的可能性。

9.2.4未经验证的其他干扰，如内源性或外源引入样本的物质。

9.2.5样本间的交叉污染。

9.2.6未经验证的其他交叉反应物质。

10.【产品性能指标】详述以下性能指标：

10.1最低检出限及定量限：说明试剂不同样本类型的最低检出浓度和最低定量浓度，简单介绍最低检出限/定量限的确定及验证方法。

10.2线性范围：确定线性范围的方法、浓度范围、相关系数等信息。

10.3精密度：说明不同类型样本的重复性和重现性评价结果。

10.4分析特异性：包括交叉反应和干扰物质

10.4.1可能产生交叉反应的其他病原体的验证情况，建议以列表的方式描述病原体名称、型别、浓度等信息。

10.4.2样本中常见干扰物质对检测结果的影响，应注明可接受的最高限值。

10.5临床试验：简要介绍试验方法、受试者及样本、试验结果和结论等。

11.【注意事项】应至少包括以下内容：

（1）有关人源组分（如有）的警告，如：试剂盒内校准品、质控品或其他可能含有人源物质的组分，虽已通过乙型肝炎表面抗原（HbsAg）、人类免疫缺陷病毒抗体（抗-HIV1/2）、丙型肝炎抗体（抗-HCV）等项目的检测为阴性，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。

（2）临床实验室应严格按照《临床基因扩增实验室工作规范》配备设备及操作人员，应严格按照说明书要求进行操作。

三、参考文献

1.国家食品药品监督管理总局.体外诊断试剂注册管理办法（局令第5号），2014年7月.

2.国家食品药品监督管理总局.体外诊断试剂临床试验技术指导原则，2014年9月.

3.国家食品药品监督管理总局.体外诊断试剂说明书编写指导原则，2014年9月.

4.国家食品药品监督管理总局.体外诊断试剂注册申报资料要求和批准证明文件格式，2014年9月.

5.全国儿童EB病毒感染协作组.EB病毒感染实验室诊断及临床应用专家共识. 中华实验和临床病毒学杂志，2018.2（32）：2-8.

6.中国抗癌协会肿瘤标志专业委员会鼻咽癌标志物专家委员会.鼻咽癌标志物临床应用专家共识.中国癌症防治杂志，2011.6（11） ：183-193.

四、起草单位

国家药品监督管理局医疗器械技术审评中心。