附件1

异常凝血酶原检测试剂

非临床研究审评要点

本审评要点主要针对异常凝血酶原（PIVKA-II）检测试剂的分析性能、阳性判断值与参考区间、稳定性、主要原材料等研究过程，为体外诊断试剂注册申请人和技术审评部门提供参考。

本审评要点是对异常凝血酶原检测试剂的一般要求，注册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。

本审评要点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审评要点。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。

本审评要点是在现行法规和标准体系以及当前认知水平下制定，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

本审评要点适用于体外定量测定人血清和血浆中的异常凝血酶原（PIVKA-II）检测试剂。产品用于临床肝细胞癌（HCC）疑似患者的辅助诊断，以及动态监测以辅助判断疾病进程或治疗效果。

本审评要点是对基于免疫学方法的异常凝血酶原（PIVKA-II）检测试剂的一般要求，对于包含PIVKA-II的联合检测产品，可能部分要求不完全适用或本文所述内容不够全面，申请人可以参照本审评要点，根据产品特性对适用部分进行评价，并补充其他的评价资料进行相应验证。

本审评要点适用于进行产品注册和变更注册申报的产品。

1. 注册审查要点

（一）监管信息

1.产品名称及分类编码

产品名称应符合《体外诊断试剂注册与备案管理办法》及相关法规的要求，如异常凝血酶原测定试剂盒（化学发光法）。按照《体外诊断试剂分类规则》和《体外诊断试剂分类目录》，该产品管理类别为Ⅲ类，分类编码为6840。

2.注册申请人还需提交产品列表、关联文件、申报前与监管机构的联系情况和沟通记录及符合性声明等文件。

（二）综述资料

内容应符合《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》的相关要求，主要包括概述、产品描述、预期用途、申报产品上市历史及其他需说明的内容。建议注册申请人着重介绍产品检验原理，抗体、抗原等主要原材料选择，与同类和/或前代产品的量值比较，及产品的预期用途。

（三）非临床资料

1.产品技术要求及检验报告

1.1 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，根据产品研制、前期评价等结果，依据国家标准、行业标准及有关文献资料，结合产品特性按照《医疗器械产品技术要求编写指导原则》[（2022年第8号）](https://www.cmde.org.cn/directory/web/WS01/images/0r3Bxsb30LWy%2Bsa3vLzK9dKqxOx4NC01ri1vNSt1PKjqDIwMjLE6rXaOLrFo6kuZG9j.doc)的要求编写产品技术要求。该类产品作为三类体外诊断试剂，附录中需包含主要原材料及生产工艺要求的内容。

如有适用的国家标准、行业标准，产品技术要求应不低于标准的要求。

1.2产品检验报告

根据《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》的要求，申请人应当提供三个不同生产批次产品的检验报告，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。报告形式可为申请人出具的自检报告或委托有资质的医疗器械检验机构出具的检验报告。申请人开展自检的，应当符合《医疗器械注册自检管理规定》及相关法规的要求。

2.分析性能研究

注册申请人应当在原材料和生产工艺经过选择和确认、质量管理体系得到有效控制并且保证产品质量稳定的基础上，采用完整、确定的检测系统进行分析性能评估，提供具体研究目的、试验方法、相关基本信息、原始数据和数据的统计分析过程及结果。

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（建立/验证）。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。

产品分析性能研究主要包括样本稳定性、适用的样本类型，校准品溯源和质控品赋值，正确度，精密度，空白限、检出限及定量限，测量区间及可报告区间，分析特异性，高剂量钩状效应的研究等。

2.1样本稳定性

建议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（常温、冷藏和冷冻等），进行保存期限验证，以确认样本的保存条件及保存时间。可冷冻保存的样本还应对冻融次数进行合理验证。

2.2适用的样本类型

如同时适用于血清和血浆样本（不同抗凝剂），应采用合理方法评价样本类型的适用性。可选择具有统计学意义数量的样本，进行一致性的同源比对研究。

血清和血浆样本结果不一致时，应分别进行性能研究，以及阳性判断值与参考区间研究。

2.3 校准品溯源和质控品赋值

应明确申报产品适用的校准品和质控品。

如申报产品包含校准品，应当提交溯源资料。

该类产品目前无国家/国际标准品，也无国际约定参考测量程序，一般溯源到制造商选定测量程序、内部参考测量程序或企业校准品。部分产品溯源到纯化的重组异常凝血酶原。如无充分的方法学比对研究数据，不建议将不同的结果浓度单位进行换算。

如申报产品包含质控品，应当提交赋值资料。

2.4正确度

建议采用申报产品和已上市同类试剂进行方法学比对研究。研究人群包括产品的适用人群。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限浓度的偏倚。

2.5精密度

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精密度，应制定合理的精密度评价标准，如标准差或变异系数等。

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限浓度附近的样本。

2.6空白限、检出限及定量限

该类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）。LoB一般由多个独立的空白样本（无异常凝血酶原）的检测结果计算获得；LoD一般由多个独立的低浓度（含有异常凝血酶原）样本的检测结果，结合LoB进行计算获得。LoQ需满足预设准确度指标（即考虑偏倚和精密度的要求）或者精密度指标（无法确定偏倚时）。该部分研究包括建立和验证两部分内容。

2.7测量区间及可报告区间

2.7.1线性区间及测量区间

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至少9个不同浓度的样本（不包括零浓度样本），每个样本进行多次重复检测。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。

线性区间的研究建议包括建立和验证两部分内容。

2.7.1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。

2.8分析特异性

建议评估的内源性干扰物质包括血红蛋白、血脂、胆红素、自身抗体(RF、ANA)、异嗜性抗体（人抗鼠抗体）、凝血酶原、IgG、IgA、IgM、白蛋白、葡萄糖、半乳糖等。建议评估的外源性干扰物质为常用药物（例如：华法林、维生素K、抗坏血酸、维生素B、布洛芬、对乙酰氨基酚、地塞米松、乙酰水杨酸、抗生素等）、乙肝、丙肝等肝脏疾病治疗相关药物（例如：干扰素α、恩替卡韦、利巴韦林、艾米替诺福韦、索磷布韦维帕他韦等），肝细胞癌治疗相关药物。

还应评估其他肿瘤标志物的干扰，如甲胎蛋白、甲胎蛋白异质体、癌胚抗原、α-L-岩藻糖苷酶、糖类抗原19-9、糖类抗原50、人绒毛膜促性腺激素（β-HCG）等。

如果试剂采用了生物素-亲和素系统，需对生物素的干扰进行研究。

干扰研究中需采用至少2个分析物水平的样本，包括阳性判断值或参考区间上限附近浓度的样本。研究的干扰物质需选择临床样本中的最高浓度（最差情形）。

2.9高剂量钩状效应

当检测含有极高浓度的异常凝血酶原样本时，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真实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。

2.10反应体系研究

2.10.1确定抗原抗体反应条件（温度、时间等）的研究资料。

2.10.2确定反应所需物质用量（校准品、样本、包被物、酶标物、底物等）的研究资料；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。

2.10.3底物（发光或变色）的最适条件研究。

2.10.4其他：如清洗次数（如适用）、样本稀释等。

2.10.5不同适用机型的反应条件如果有差异应分别详述。

3.稳定性研究

稳定性研究主要包括实时稳定性（货架有效期）、使用稳定性（包括试剂开封稳定性、校准频率）、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。稳定性研究资料一般包含研究方案、报告和数据。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。

4.阳性判断值与参考区间研究

异常凝血酶原检测试剂为定量检测试剂，一般需要采用健康人群样本确定试剂的参考区间。参考群体的选择应考虑是否依据年龄、性别等因素进行分组。如果不同组之间的差别具有统计学意义，需要分别进行统计分析。

针对辅助诊断的预期用途，需要研究产品的阳性判断值。阳性判断值的研究需采用未经治疗的人群样本，建议纳入临床确诊的HCC病例组，良性肝病患者，除HCC以外的其他恶性肿瘤疾病患者，免疫疾病患者。HCC病例组可参考中国相关指南的分期方案，每个分期均应有一定数量的病例，特别是早期人群应纳入充分的例数。良性肝病患者包括酒精性肝炎（ASH）、肝纤维化、肝硬化患者，乙肝感染患者，丙肝感染患者，非肝硬化非酒精性脂肪性肝炎（NASH）患者等人群。其他恶性肿瘤疾病患者包括胆管癌、胰腺癌、胃肠道癌症患者等人群。对上述样本的检测结果，采用受试者工作特征曲线（ROC）的方式进行阳性判断值的分析，获得本产品灵敏度和特异性最佳的诊断临界值。

需要注意的是，异常凝血酶原在中外人群中可能存在差异，所以参考区间和阳性判断值的研究，均需采用中国人群进行。

为了保证产品阳性判断值的科学性，建议采用与上述建立不同的样本进行阳性判断值的验证。

5.其他资料

5.1主要原材料研究资料

此类产品的主要原材料包括抗体、抗原、磁微粒、标记物等，应提供主要原材料的选择与来源、质量标准等相关研究资料。

 5.1.1抗体

抗体用于检测样本中的异常凝血酶原，与被测物直接结合，决定了试剂的灵敏度和特异性。请对抗体的选择进行充分研究。详述抗体所针对的抗原表位、抗体制备所用免疫原以及确定该抗体作为主要原材料的依据，明确抗体的来源、基本信息（包括生物学来源，单克隆，简述制备及鉴定方法）及质量标准（可包括外观、蛋白浓度、纯度、分子量、效价、功能性试验）。

 5.1.2抗原

抗原用于校准品和质控品的制备，明确抗原的来源，基本信息（包括天然抗原/重组抗原及表达载体，简述制备及鉴定方法）及质量标准（可包括外观、蛋白浓度、纯度、分子量、功能性试验）。

5.1.3其他

 除上述原材料外，产品中包含的其他原材料，如磁微粒、标记物、生物素、链霉亲合素等，均应进行验证并提交相关资料。

5.2 生产工艺

介绍产品的生产工艺，可用流程图结合文字的方式表述，提交主要生产工艺的确定及优化研究资料。