附件1

《人细小病毒B19IgM/IgG抗体检测试剂注册技术指导原则（征求意见稿）》

一、前言

本指导原则旨在指导注册申请人对人细小病毒B19 IgM/IgG抗体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依据。

本指导原则是对人细小病毒B19 IgM/IgG抗体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。

二、范围

人细小病毒B19 IgM/IgG抗体检测试剂是指基于抗原抗体反应原理，采用胶体金法、酶联免疫法和化学发光法等检测技术，对来源于血清或血浆等人体样本中的B19 IgM/IgG抗体进行体外定性、半定量或定量检测的试剂。其临床预期用途为：结合临床表现和其他实验室指标，可用于急性及慢性人细小病毒B19感染的辅助诊断及免疫状态的评估和急性及慢性感染患者抗体的血清学转换的判定。目前IgM定量检测的临床意义尚不明确。本类试剂尚不用作产前筛查。

人细小病毒B19是已知的最小的病毒，属于细小病毒科，无包膜，核心为线状单链DNA。B19病毒可以被分为1、2、3三种基因型，其中1型和3型又各自分为两种亚型。不同基因型的病毒抗原及抗体作用位点有变化。B19病毒感染普遍存在，可通过飞沫、皮肤接触、血液、血液制品进行传播或由胎盘垂直传播。B19新近感染可在各年龄段中发生，急性感染在6-15岁个体中最常出现。儿童感染后最常引发传染性红斑; 免疫力正常人群感染后一般为轻型自限性症状; 孕妇感染可造成胎儿水肿和先天性贫血，严重时导致胎儿死亡; 先天免疫缺陷患者、艾滋病患者、肿瘤或器官移植手术后进行化疗的患者感染会导致慢性贫血症; 镰状细胞贫血症等血液系统疾病患者感染会发生再生障碍性危象而导致急性贫血；部分感染患者会出现关节疼痛等症状，随后演变为多发性关节炎。此外，某些肾病、肝炎、神经性疾病、心肌损伤和一些自身免疫疾病等病例也可能与B19病毒的感染有关。

病毒血症的后期阶段，特异性IgM 抗体开始出现。IgM 抗体出现后可持续约5个月，在有些患者体内还能存在更久，对B19病毒特异IgM 进行检测可用于近期感染和疾病的早期诊断。B19病毒感染后约第15天，IgM 抗体开始下降，同时开始出现特异性IgG 抗体。针对结构蛋白VP1 和VP2 构象性表位的IgG 抗体可维持高滴度数月，并长期存在体内，对该类IgG 抗体进行检测可用于既往感染的诊断和流行病学调查研究。

不同人群感染B19病毒后产生不同强度的免疫应答反应。健康成年人感染B19病毒后抗体反应非常强，能检测到高滴度的特异性IgM 抗体; 而对于B19病毒感染引起传染性红斑的儿童，其抗体反应很弱；当患有溶血性贫血儿童感染B19病毒并发生再障危象时，IgM 抗体反应特别强。因此，检测IgM 对于儿童急性感染的诊断不是一种可靠手段。此外，免疫力缺陷者体内可能检测不到B19病毒抗体，不能依靠抗体反应进行B19病毒感染的诊断，需要对B19病毒本身进行检测。

检测人细小病毒B19感染的常用方法有血清学抗体检测、PCR病毒核酸检测，其中B19病毒血清学抗体检测是目前进行B19病毒感染临床辅助诊断和流行病学调查的主要方法。确定B19病毒急性感染需要临床有B19病毒感染相关的症状, 并同时符合下列条件之一: ①特异性IgM 抗体阳性, 并且B19-DNA 阳性; ②特异性IgG 由阴性转阳性或效价≥ 4 倍升高; ③定量PCR 检测B19-DNA 阳性, 并达到>104 IU/ml( 6.5×103 copies/ml)或逐渐上升; ④骨髓或其他组织中B19病毒抗原阳性或检测出病毒颗粒。

如怀疑孕妇有细小病毒B19接触史，可对母体血液中细小病毒B19的IgM和IgG抗体进行检测，联合使用细小病毒B19核酸的PCR检测方法、超声检查以及持续观察有无胎儿水肿或贫血，用于妊娠期细小病毒B19感染的辅助诊断以及免疫状态的评价。

三、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。建议申请人对以下几方面内容进行着重介绍：

1.临床适应症背景情况

描述人细小病毒B19的生物学特征、流行病学特征、抗体的分布情况（浓度水平、产生和消失的时间等）、易感人群、感染后的临床表现和相关疾病、现有的临床或其他实验室诊断方法等。

2.同类产品上市情况

从技术方法及临床适用范围等方面写明拟申报产品与现行临床诊断方法，以及目前市场上已获批准的同类产品之间的主要异同点。

（二）主要原材料研究资料

由于人细小病毒B19具有不同的基因型，不同的抗原表位对于IgM/IgG抗体的检出能力不同；因此在选择产品原料时，应注重抗原表位的选择，避免不同的基因型毒株间的差异造成的假阴性。原材料研究资料中应详述此方面的考虑。

1．试剂盒所用病原体抗原

首先应详述确定该抗原作为主要原材料的依据，此外应提交抗原来源、制备、筛选、鉴定及质量标准（蛋白纯度、浓度、功能性试验等）等详细试验资料。

主要包括以下两种情况：

1.1企业自制抗原

如为天然抗原，则应对人细小病毒B19毒株选择、培养、抗原提取、纯化、鉴定等实验过程予以详述。如为重组抗原，则应提交有关特定基因选择、序列信息，克隆构建及转化，抗原表达及纯化、鉴定等详细资料。

1.2企业外购抗原

应详述抗原的名称，抗原生物学来源，供应商名称，提交供应商选择的研究资料及供应商出具的抗原性能检验报告。

2.其他主要原辅料

应提交各种原辅料的选择及验证资料，如固相载体、硝酸纤维素膜、化学发光剂、反应缓冲液等，应详述确定该原辅料作为主要原辅料的依据，说明每一原辅料的供应商名称，提交供应商出具的每一原辅料性能指标及检验报告，详述申请人对每一原辅料技术指标要求并提交检验数据。

3.试剂盒质控品（如有）

应包括原料来源、质控品制备、阴阳性确认等相关研究资料。质控品应至少包含阴性和弱阳性两个水平，阳性质控品可选择临床阳性样本，阴性质控品可选择临床阴性样本或样本稀释液。

4.企业参考品

如申报产品有相应的国家参考品（如人细小病毒B19 IgG 抗体检测试剂），则企业参考品应参考国家参考品的项目设置，应不低于国家参考品要求。若尚无国家参考品，申请人应根据产品性能验证的实际情况自行设定企业参考品，其中人细小病毒B19 IgG 抗体的量值单位可以IU/ml表示。建议加入产品校准品。

应提交企业参考品的原料选择、制备、阴阳性及浓度/滴度确认等相关验证资料。说明参考品阴阳性及浓度/滴度确认的方法或试剂（建议采用国内已上市的、临床上普遍认为质量较好的同类试剂）。企业参考品的基质应与待测样本相同。企业参考品的设置建议如下：

4.1阳性参考品和阴性参考品

阳性参考品应人细小病毒B19 IgM/IgG 抗体检出能力的验证，可选择多份确认为阳性的临床样本，并设置不同滴度水平。阴性参考品应考虑检测特异性的评价，适当纳入溶血、脂血、黄疸及自身免疫性疾病其他易混淆、交叉的感染性疾病病原体特异性抗体阳性样本。

4.2检测限参考品

可设置临床阳性样本的系列稀释样本，其中应包含检测限水平。

4.3精密度参考品

应至少设置一个弱阳性水平参考品。

（三）主要生产工艺及反应体系的研究资料

1. 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。

2. 产品基本反应原理介绍。

3. 包被工艺研究，申请人应考虑如包被液量、浓度、时间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。

4. 显色（发光）系统、酶作用底物等的介绍。

5. 实验体系反应条件确定：申请人应考虑反应时间、反应温度、洗涤次数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。

6. 酶催化底物（发光或变色）的最适条件研究。

7. 体系中样品加样方式及加样量确定：申请人应考虑样品加样方式、加样量对产品检测结果的影响，通过实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，申请人还应对可用于样本稀释的基质或处理方法进行研究，通过试验确定最终选择的用于样本稀释的基质或处理方法。

1. 分析性能评估资料

企业应提交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，包括具体研究方法、内控标准、试验数据、统计分析等详细资料。对于本类产品建议着重对以下分析性能进行研究。不同样本类型应分别研究。IgM抗体、IgG抗体应分别研究。

1. 适用的样本类型

如果试剂适用于多种样本类型，应采用合理方法评价每个样本类型的适用性。对于可比样本，可采用同源比对的方法进行验证；对于不可比样本，应对每个样本类型分别进行性能评估。

2. 最低检测限（定性）

建议选取特定滴度的特异性抗体阳性样本梯度稀释进行最低检测限确定。建议设置多个浓度梯度，每个浓度重复检测不少于3次，以100%可检出的最低浓度水平作为预设检测限。在此浓度附近制备若干浓度梯度样品，每个浓度至少重复检测20次，将具有95%阳性检出率的最低浓度作为最低检测限。

选择具有时间和区域特征性的至少3个临床样本（与最低检测限确定不同样本）在最低检测限浓度水平进行验证，应达到90%～95%阳性检出率。

采用的稀释液应与适用样本类型的基质一致，可采用阴性样本进行稀释。同时应提供详细的抗体类型和滴度的确认方法及验证结果。

3. 准确度

3.1商业化血清转换盘的验证

建议通过检测参考盘分析申报产品检测结果与经确认结果的符合情况，评价申报产品的检测准确度。建议选用商业化血清转换盘进行研究，评价检测试剂的诊断灵敏度，对于半定量和定量试剂，还应监测抗体滴度变化趋势的能力。申请人应介绍血清转换盘的组成和来源。

3.2与同类产品的比较

也可选用方法学比对进行准确度验证，使用申报试剂与已上市同类产品对覆盖申报试剂测量区间的多份临床样本进行同时检测，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。应注意包含不同水平/型别待测靶物质，且包含干扰及交叉样本。

3.3其他评价

如有参考物质（如公认的参考品、标准品），建议在验证商业化血清转换盘或者与同类产品进行比较的基础上，使用参考物质的值作为参考量值，评估试剂检测结果的偏倚。建议至少采用高浓度、低浓度两个水平多次重复检测。

4. 分析特异性

4.1交叉反应

4.1.1用于人细小病毒B19交叉反应验证的病原体种类主要考虑以下几方面：抗原结构具有同源性（如在分类学上的近缘病毒）、易引起相同或相似的临床症状、采样部位正常寄生或易并发的其他微生物。（见表1）

其中用于交叉反应研究用的抗体类型应与待测目的抗体类型相同，如检测人细小病毒B19 IgG抗体，则应研究其与相关病原体特异性IgG抗体的交叉反应，如申报两种抗体类型，用于交叉反应研究的病原体的IgM抗体、IgG抗体应分别进行验证。

表1 用于交叉反应研究的病原体抗体（推荐）

|  |  |
| --- | --- |
| ToRCH病原体（弓形虫、风疹病毒、巨细胞病毒及单纯疱疹病毒） | 水痘-带状疱疹病毒 |
| EB病毒 | 流行性腮腺炎病毒 |
| 人博卡病毒 | 甲型流感病毒 |
| 人细小病毒PARV4 | 乙型流感病毒 |
| 腺相关病毒\* | 副流感病毒 |
| 乙型肝炎病毒 | 肺炎支原体 |
| 甲型肝炎病毒 | 呼吸道合胞病毒 |
| 人类免疫缺陷病毒 |  |

注：\*为选做

4.1.2 高浓度病原体特异性IgG抗体与特异性IgM抗体的交叉反应验证。

4.1.3如果检测试剂采用基因重组抗原，应增加对重组基因导入微生物特异性抗体的交叉反应评价。例如，如果采用大肠杆菌作为宿主菌，建议考虑大肠杆菌自身蛋白或载体骨架编码的蛋白产生的抗体与被测物之间可能产生的交叉反应。

申请人应提交所有用于交叉反应验证的病原体来源信息、阴阳性、种属确认等相关信息。

4.2干扰实验

4.2.1内源性及外源性干扰

应对样本中可能存在的内源性及外源性干扰物质（见表2）进行研究。方法为：对人细小病毒B19抗体弱阳性、阳性的临床样本，使用医学相关水平的干扰物质浓度（建议为潜在最大浓度）分别进行添加，评价待测物回收率，确定是否产生干扰。如有干扰，梯度稀释干扰物并进一步确定可接受的干扰物质的最高浓度水平，或产生干扰的浓度水平。应使用多份临床样本，每个样本重复检测不少于3次。申请人应描述干扰物质的种类，说明样本的制备方法及待测物的水平，以及不产生干扰的验收标准。

表2 用于血液中人细小病毒B19抗体检测干扰研究的物质

|  |  |
| --- | --- |
| 物质 | 活性成分 |
| 血液中 | 胆红素、血脂、血红蛋白、类风湿因子、抗核抗体、抗线粒体抗体、异嗜性抗体（如HAMA）、总IgG、总IgM、红细胞压积（全血样本适用）等。 |
| 抗病毒药物 | α-干扰素、扎那米韦、利巴韦林、奥司他韦、帕拉米韦、洛匹那韦、利托那韦 阿比多尔 |
| 抗生素 | 左氧氟沙星 阿奇霉素 头孢曲松 美罗培南 |
| 全身性抗菌药 | 妥布霉素 |
| 常见治疗性药物 | 解痉平喘剂、糖皮质激素、巴曲酶、吲哚美辛、人粒细胞集落刺激因子、人免疫缺陷病毒相关治疗药物 |

4.2.2抗凝剂的干扰

如果试剂盒适用样本类型包括血浆样本，应采用各种适用抗凝剂抗凝的血浆样本分别与血清样本进行对比实验研究。方法如下：对不少于50例源自同一患者的人细小病毒B19特异性抗体阴性和弱阳性的血清和含不同抗凝剂的血浆样本进行检测，以验证申报试剂对于血清和血浆样本的检测结果及不同抗凝剂之间的一致性。

4.2.3 人细小病毒B19 IgM抗体检测特异性验证

可采用对至少10份含有人细小病毒B19特异性IgM抗体的样本进行IgM破坏实验研究，方法为采用特定的化学制剂（如2－巯基乙醇或二硫苏糖醇）处理样本后，重新进行检测，IgM检测结果应为阴性；或者选用其他合理的方法进行验证。

5. 精密度

具体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文件进行。企业应对每项精密度指标的评价标准做出合理要求，如标准差或变异系数的范围等。

5.1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)、校准（校准品批次，校准周期）、运行（run）、时间、地点、环境条件等。除申报试剂本身外，还应对以上可能影响检测精密度的主要变量进行验证。

5.2 设定合理的精密度评价周期。

5.3 用于精密度评价的参考品应使用临床样本。至少包括三个水平：阴性参考品、弱阳性参考品、中等阳性参考品。

6.钩状（HOOK）效应

建议采用高滴度的人细小病毒B19抗体阳性临床样本进行梯度稀释后分别检测，每个梯度重复3至5次，将显色深度或检测值随滴度升高反而变浅或降低时的滴度作为出现钩状效应时人细小病毒B19抗体的最低滴度。

7. 包容性验证

选择中国境内来源于不同地域、不同人群的不少于10份人细小病毒B19抗体弱阳性的患者样本进行研究，样本性质的确认方法可为临床诊断结果或已上市同类产品检测结果。如有条件，可尽量纳入不同人细小病毒B19基因型抗体的患者样本进行验证。

8.企业参考品验证资料：

根据主要原材料研究资料中的企业参考品设置情况，采用三批产品对企业参考品进行检验并提供详细的实验数据。

对于半定量和定量检测试剂，除上述8项外，还应包含以下的评估资料：

9. 检出限与定量限

定量检测试剂的检出能力包括空白限（LoB）、检出限（LoD）与定量限（LoQ）。具体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文件进行。企业应对每项检出能力指标的评价标准做出合理要求。

9.1 空白限、检出限与定量限的建立

LoB一般由多个空白样本（无分析物）的检测结果，经计算获得； LoD一般由多个低浓度（含有分析物）样本的检测结果，结合LoB进行计算获得； LOQ是样品中被测物能被定量测定的最低量，其测定结果应具有一定的准确度和精密度。LoB，LoD，LoQ的建立建议选择5个以上样本（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，每个试剂批次至少获得20个检测结果。

9.2 空白限、检出限与定量限的验证

建议每个项目选择至少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，每个试剂批次至少获得20个检测结果。

10. 测量范围

10.1 线性范围

建立试剂线性范围所用的样本基质应尽可能与临床实际检测样本相似，可使用分析物浓度接近预期测定上限的混合人血清逐级稀释，应充分考虑多倍稀释对样本基质的影响；也可用高值和低值浓度的样本按比例精确配制。

线性范围的建立：将预期测定范围加宽至约130%，在此范围内选择7～11个浓度水平，每个浓度样本检测2～4次。采用合理的统计方法结合图示评价检测结果是否呈线性，然后依据实验结果逐渐减少数据点直至表现出线性关系，可发现最宽的线性范围。

线性范围的验证：建议覆盖整个线性区间下，选择5到9个不同浓度的样本，每个浓度样本检测至少2次。选择合适的统计方法（如多项式回归分析、直线拟合后分析线性回归方程、线性相关系数（r）及偏差）验证产品的线性区间。

10.2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。

（五）阳性判断值确定资料

申请人应考虑不同地理区域流行病学背景以及免疫缺陷人群、免疫抑制人群与正常人群之间的差异，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。若试验结果存在灰区，建议申请人从临床意义的角度出发，合理设定灰区范围并详细说明确定的依据，并提供灰区的确定资料。

试验所用样本来源应考虑到年龄（成人或儿童）、不同的感染阶段（早期和晚期）和生理状态等因素的影响。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，通过临床试验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、运输稳定性、开瓶稳定性（如涉及）及冻融稳定性（如涉及）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。

样本稳定性一般包括样本各种实际运输及储存（常温、冷藏和冷冻）条件下的保存期限验证，以确认样本的保存条件及效期（短期、长期）。需要冷冻保存的样本同时应对冻融次数进行合理验证。某些用于防腐、冷冻用途或起稳定保护作用的添加剂可能会对检测造成影响，如涉及，请对该添加剂的影响进行合理验证。

试剂稳定性和样本稳定性两部分内容的研究结果应在说明书【储存条件及有效期】和【样本要求】两项中进行详细说明。

（七）临床试验资料

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》的要求。

1.试验方法

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，证明两者等效，从而间接证明试验用体外诊断试剂临床性能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。临床试验方案中应针对对比试剂的选择及依据进行详细描述。

对于B19病毒IgM检测试剂，申请人还应选择感染急性期患者采集的样本进行申报试剂与感染急性期判断的方法的一致性研究，以评价申报试剂的检测性能。用于评价的样本可选择处于感染急性期患者的采集样本（不少于30例）；或者选择商业血清转化盘（不少于5套）。可采用的用于感染急性期判断的方法，例如：B19病毒特异性IgG抗体的血清学转换（动态监测2份或以上的血清IgG，恢复期与急性期比较IgG呈4倍以上升高）、核酸检测等方法，对于B19病毒感染急性期的判断应密切结合患者的临床诊断综合进行。

2.受试者选择及样本收集

临床试验方案中应根据试验用体外诊断试剂的预期用途、适用人群和检测要求等合理确定临床试验受试者选择要求，包括：受试者入组/排除标准、样本收集的前瞻性和回顾性设计等，并在临床试验过程中严格遵循。

临床试验的入组人群应为产品的预期适用人群，包括各种可能接受B19病毒感染检查的人群，例如具有疑似B19病毒感染症状、体征或流行病学背景等情况的人群。

入组人群应包含不同年龄段、不同性别人群，以及一定数量的免疫功能受损、接受免疫抑制治疗的人群，应尽量覆盖各类适用人群。

对于IgG半定量和/或定量检测试剂，入组样本应尽量覆盖检测范围内的各个浓度水平。

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。如申报产品所适用的样本类型同时包含血清、血浆等多个样本类型，应针对不同样本类型进行同源比对。

建议临床试验采用前瞻性收集的样本进行研究，同时，在严格控制偏倚的前提下，允许入组部分符合要求的既往留存样本。

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。

3.临床试验机构数量及要求

该类产品临床试验应在三家及以上符合要求的临床试验机构开展。申办者应根据产品特点及其预期用途，综合流行病学背景，选择具有一定地域代表性的机构开展临床试验。原则上应具有相关学科的优势，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。

4.临床试验样本量估算

适当的样本量是保证申报产品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。

当采用申报产品与已上市同类产品进行对比试验时，可采用单组目标值法样本量公式估算最低样本量。

$$n=\frac{\left[Z\_{1-α}\sqrt{P\_{0}\left(1-P\_{0}\right)}+Z\_{1-β}\sqrt{P\_{T}\left(1-P\_{T}\right)}\right]^{2}}{\left(P\_{T}-P\_{0}\right)^{2}}$$

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。

评价指标的临床可接受标准（P0）即B19病毒抗体检测试剂临床阴/阳性符合率建议不低于95%。获得临床试验数据后，证明产品相对于对比试剂的阴/阳性符合率（置信区间下限）不低于预设的临床可接受标准。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，如精确概率法等。

如临床试验研究有更合理的样本量估算方式，在说明其合理性后亦可采用。

临床试验样本量除需满足上述统计学估算的最低样本量要求外，还应保证入组病例覆盖受试者的各种特征；对于定性检测试剂，临床试验样本应包含一定数量的医学决定水平附近样本或灰区样本；对于lgG定量检测试剂，在检测范围内的不同水平均应有一定量的样本例数。

5.临床评价指标的选择与统计学分析

临床评价指标应在临床试验的设计阶段确定，并在临床试验方案中予以明确。

对于此类定性检测试剂的比较研究试验，临床评价指标主要包括试验用体外诊断试剂与已上市同类产品相比的阳性符合率、阴性符合率等。统计分析一般以2×2表的形式总结两种分析方法的检测结果，并据此计算阳性符合率、阴性符合率、总符合率等指标及其95%可信区间。除此之外，还应同时进行假设检验评价两种分析方法的一致性。结果不符样本的复核结果不应纳入上述统计。

对于lgG半定量检测试剂对比实验的等效性研究，可采用R×C表形式总结检测结果，并据此计算各等级的符合率、阴/阳性符合率及其95%可信区间。在上述统计分析的基础上，根据临床试验数据分布特点，采用Pearson相关系数等统计方法对申报试剂检测值与对比试剂检测值线性相关关系进行分析。在临床研究方案中应明确统计检验假设，即评价申报试剂与对比试剂是否等效的标准。

对于lgG定量检测的试剂，应采用回归分析的方法，评价两种检测方法的一致性，应根据数据分布特点等因素选择适用的回归分析方法。主要评价指标包括回归方程（斜率和截距）、相关系数（r）或决定系数（R2）等。计算斜率和截距的95%可信区间，并同时对相关评价指标进行假设检验。同时可采用Bland-Altman分析，通过计算一致性限度，评价两种测量结果的一致性，一致性限度应在临床认可的界值之内。

6.结果不符的样本

对于比较研究试验中申报产品与对比产品检测不一致的结果，应进行合理的分析。如采用实验室参考方法或第三方检测试剂进行确认，结果不应用于修订原有统计结果。

（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。

人细小病毒B19 IgM/IgG抗体检测试剂的产品性能指标应主要包括：物理性状、阴/阳性参考品符合率、最低检测限、精密度等。半定量和/或定量抗体检测试剂除上述性能指标外，还应包含线性和准确性指标。阳性参考品主要考察对试剂盒覆盖范围内不同滴度水平以及基因型样本的检测能力，阴性参考品则重点对申报试剂的分析特异性进行验证。

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符合性的要求。

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》的要求，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。

（九）产品检验报告

根据《办法》的要求，申请注册的第三类体外诊断试剂产品应在具有相应医疗器械检验资质和承检范围的医疗器械检验机构进行连续3个生产批次样品的产品检验。

对于已经有国家参考品的项目，应提供产品能够符合国家标准品、参考品要求的产品检验报告。对于目前尚无国家参考品的项目，申请人应在保证产品原材料和生产工艺稳定可靠的基础上，根据产品设计、技术原理和临床意义，科学合理地进行量值溯源或者设置企业参考品，并提供产品能够符合企业参考品要求的产品检验报告。

（十）产品说明书

下面对人细小病毒B19IgM/IgG抗体检测试剂说明书的重点内容进行详细说明。

1．【预期用途】

1.预期用途

产品预期用途的描述应符合现行的疾病诊疗规范、防治指南、专家共识。

应至少包括以下内容：

1.1该产品用于体外定性和/或半定量和/或定量检测人体血清或血浆样本中的人细小病毒B19 lgG抗体，或该产品用于体外定性检测人体血清或血浆样本中的人细小病毒B19 lgM抗体。

1.2病毒特征：简要描述人细小病毒B19生物学特征及致病性，感染后临床表现，相关的临床或实验室诊断方法等。

1.3目标人群：例如具有人细小病毒B19感染相关症状、体征，具有相关流行病史的患者/人群等。

1.4产品功能：结合目标人群的临床表现和其他诊断指标，用于人细小病毒B19感染的辅助诊断。适用样本类型应结合申报产品的临床性能的确认情况进行描述。

1.5明确说明人细小病毒B19抗体检测不得用于无症状人群的产前筛查；不得将本试剂的检测结果单独作为终止妊娠的依据。

1.6人群中人细小病毒B19特异性抗体的阳性率、人细小病毒B19特异性抗体的产生、持续时间、临床提示作用及与人细小病毒B19核酸等其他检测指标的关联。

2.【主要组成成分】

2.1说明试剂盒包含组分的名称、数量、比例或浓度等信息，质控品应明确具体基质成分。对于胶体金试剂应描述试剂条/卡结构组成。校准品应明确溯源性，质控品应提交靶值单。明确不同批次组分能否混用。

2.2介绍检测中使用的抗原/抗体信息及标记物信息，包括抗原的性质（如纯化的天然抗原、重组抗原等）、抗体的动物源性、抗体的性质（单克隆或多克隆）、标记物种类等。

2.3试剂盒中不包含但对该项检测必须的组分，企业应列出相关试剂的名称、注册证号/备案号（如有）、货号等其他相关信息。

3.【储存条件及有效期】

详细介绍试剂盒的效期稳定性、开封稳定性、运输稳定性等信息。

4.【适用机型】

对于采用酶联免疫吸附法的检测试剂应明确适用酶标仪的波长要求，其他方法学检测试剂应明确具体的适用机型型号。

5.【样本要求】重点明确以下内容

5.1样本采集前的要求：如采集时间、采集顺序、采集量等，是否受临床症状、用药情况等因素的影响。

5.2样本采集：说明采集方法及样本类型，对于血浆样本，应注明对抗凝剂的要求。

5.3干扰物的影响：明确常见干扰物对实验结果是否产生影响，明确可接受的最大干扰物浓度。

5.4样本处理及保存：样本处理方法、保存条件（如冷藏、冷冻等）及不同保存条件下的保存时限和运输条件等。冷藏、冷冻样本检测前是否需要恢复室温，冷冻样本的冻融次数限制等。

6.【检验方法】

详细说明试验操作的各个步骤：

6.1实验环境：检测试剂及样本的复温要求等。

6.2试剂配制方法，试剂开封后使用方法等。

6.3高浓度样本稀释的方法。

6.4试验条件：操作步骤、温度、时间、仪器波长等。

6.5定标（如适用）：标准曲线的制定，对需要进行重新定标情况的说明及对定标周期的建议。

6.6质量控制：操作步骤，质控结果的要求（试验有效性的判断），质控结果不符合要求的处理方式。

6.7对于胶体金法检测试剂可以图示形式显示正确的检验操作方法、程序及注意事项等。特别注意应强调操作温度及湿度条件、读取结果的时间。

6.8特别说明检验操作过程中的注意事项。

7.【检验结果的解释】

详细描述检测结果的判定标准或计算方法，如有灰区判定，应详细说明灰区样本的处理方法。

检验结果的解释应结合相应的临床诊疗指南进行描述。

8.【检验方法局限性】

综合产品的预期用途、临床背景、检测方法及适用范围等信息，对可能出现的局限性进行相关说明。

9.【产品性能指标】

详述以下性能指标：

9.1对相应国家参考品（如有）检测的符合情况。

9.2企业内部阳性和阴性参考品符合率。简单介绍阳性参考品的来源、浓度梯度；阴性参考品的组成、来源以及浓度梯度设置等信息。

9.3最低检测限：简要介绍评价方法、所用病毒或样本情况以及评价结果。

9.4分析特异性

9.4.1交叉反应：详述交叉反应验证的病原体种类，及有/无交叉反应的浓度水平。

9.4.2干扰物质：说明验证的干扰物质种类及有/无干扰反应的浓度水平。

9.5精密度：精密度参考品的组分、浓度及评价标准。

9.6钩状（HOOK）效应：对高浓度抗原/抗体钩状效应的验证情况进行总结。

9.7抗体滴度变化（适用于半定量和/或定量检测试剂）和诊断灵敏度：介绍血清转换盘的来源，将检测结果以图或表的形式列出。

9.7包容性验证 简要介绍样本来源和结论。

9.8 稀释线性（适用于半定量和/或定量检测试剂）：简要介绍评价方法，将评价结果以表格的形式明示。

9.9线性（适用于半定量和/或定量检测试剂）：简要介绍检测范围确定的方法、结论及超出检测范围样本的处理方法。

10.【注意事项】

应至少包括以下内容：

10.1有关试剂盒内人源组分（如有）生物安全性的警告。如：试剂盒内对照品（质控品）或其他可能含有人源物质的组分，虽已经通过了乙型肝炎病毒表面抗原（HBs-Ag）、人类免疫缺陷病毒1/2型抗体（HIV1/2-Ab）、丙型肝炎病毒抗体（HCV-Ab）等项目的检测，结果为阴性，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。

10.2有关实验操作、样本保存及处理等其他注意事项。