附件4

B群链球菌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B群链球菌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B群链球菌核酸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

 无乳链球菌（Streptococcus agalactiae）在兰氏抗原分类中属于B群，B群目前只发现这一种细菌，所以一般也称为B群链球菌（Group B Streptococcus，GBS）。GBS为一种β溶血的革兰阳性球菌，成对或呈短链状排列，根据细菌的荚膜多糖不同，GBS可分为Ia、Ib、Ic、II、III、IV、V、VI、VII、VIII和IX等。GBS是围产期和新生儿感染疾病的致病菌，引起孕产妇的绒毛膜羊膜炎，导致流产、胎膜早破及宫内感染，也可导致新生儿发生肺炎、脑膜炎、败血症等。2018年孕前和孕期保健指南中提到对高危因素的孕妇妊娠35～37周进行GBS筛查。

本指导原则所述GBS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GBS核酸序列为检测靶标，对来自人体样本（如孕妇阴道拭子、直肠拭子、阴道和直肠联合拭子）或经增菌培养后人体样本中的GBS进行体外定性检测的试剂。结合临床表现和其他实验室指标，用于GBS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）检测方法的GBS核酸检测试剂。对于其他方法，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。

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、不同临床型别检出能力、样本类型、样本采集与制备方式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。

（二）主要原材料的研究资料

 提供主要原材料如引物、探针、酶、阴性对照、阳性对照、内对照（内标）以及企业参考品等的选择与来源、制备过程、质量分析和质量控制标准等的研究资料。详细说明基因位点选择的依据，并提供能够覆盖临床型别的证据。若主要原材料为企业自己生产，其生产工艺必须相对稳定，并提供其详细制备过程；如主要原材料购自其他供货商，应提供的资料包括：供货商提供的质量标准、出厂检定报告或性能指标证书，以及该原材料到货后的质量检验资料。

 申报试剂的质控体系通过设置阳性、阴性、内对照（内标）等各种对照来实现，需考虑对样本核酸提取/纯化、配液及加样、试剂及仪器性能、扩增反应抑制物（管内抑制）、交叉污染、靶核酸降解等因素可能造成的假阴性或假阳性结果的质量控制。企业应对各种对照的Ct值或相应判断数值做出明确的范围要求。

1.内对照（内标）

内对照可对实验过程可能存在的扩增反应抑制物、仪器、试剂和操作等所导致的假阴性结果进行质量控制。申请人应对内对照的引物、探针和模板浓度做精确的验证，既要保证内标荧光通道呈明显的阳性曲线又要尽量降低对靶核酸序列检测造成的抑制而导致假阴性。

2.阳性对照

阳性对照可对实验过程进行质控。阳性对照建议采用含有靶核酸序列的GBS菌株或者人工构建的质粒等，企业应对阳性对照的Ct值做出明确的范围要求。

3.阴性对照

阴性对照对可能存在的交叉污染产生的假阳性结果或扩增反应中背景值进行质量控制。阴性对照应参与样本处理和检测的全过程。建议采用与实际检测样本具有相同或相似性状的基质溶液作为阴性对照，不推荐采用水作为阴性对照。

4.PCR组分的主要材料（包括脱氧三磷酸核苷、引物和探针、各种酶等主要原料）的选择、制备、质量控制标准及实验研究资料，主要包括以下内容：

4.1脱氧三磷酸核苷（dNTP）

核酸的组成成分，包括：dATP、dUTP、dGTP、dCTP和dTTP，对纯度、浓度、保存稳定性等详细验证资料。

4.2引物和探针：

应详述引物和探针的设计原则，提供引物、探针核酸序列、模板核酸序列及两者的对应情况。建议设计两套或多套引物、探针以供筛选，针对所有预期适用型别进行检出能力和特异性（如交叉反应）的评价，选择最佳组合，并提交筛选的研究数据。

如为外购，引物和探针应提供合成机构出具的质检证明，如纯度（应达到电泳级或HPLC级）、序列准确性等，申请人应对引物和探针核酸序列准确性、纯度、浓度、探针标记的荧光素或化学发光物等进行核实，同时申请人应进行功能性验证，并提供相关资料。

4.3 PCR反应所需酶

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；尿嘧啶糖基化酶（UNG），具有尿嘧啶糖基化活性，无核酸外切酶及核酸内切酶活性，应对酶活性有合理验证；应提供有关保存稳定性、活性及功能性实验等验证资料。

5.企业参考品

申请人应提供企业参考品的详细制备过程，包括组成、来源、菌株特性（如名称、型别、靶核酸的拷贝数/细菌浓度等）信息。企业参考品的项目应包括：阴性参考品、阳性参考品、最低检测限参考品、精密度参考品等。阳性参考品、最低检出限参考品应能覆盖临床常见型别，至少包括Ia、Ib、III、V等。阳性参考品、最低检测限参考品、精密度参考品等建议采用灭活的菌株。阴性参考品应至少包含分析性能研究资料中交叉反应必须验证的微生物。

（三）主要生产工艺及反应体系的研究资料

1.介绍产品主要生产工艺，可以图表方式表示，并说明主要生产工艺的确定依据。

2.反应原理介绍。

 3.详述样本采集、样本处理方式的选择（如对样本采集拭子和保存液的验证，样本类型为增菌后的人体样本，需验证配套的增菌培养基），提供相关的研究资料。

4.核酸提取/纯化方法确定的研究资料。

5.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、样本量及反应体积等以及PCR各阶段温度、时间及循环数的研究资料。

 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.GBS DNA提取

细菌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。

2.最低检出限

2.1最低检测限的确定

建议使用GBS菌株的梯度稀释液来确定最低检测限。每个梯度进行不少于20次的重复检测，将具有95%阳性检出率的最低菌株浓度作为最低检测限。应明确每份菌株的来源、浓度、制备方法等信息。

2.2最低检测限的验证

建议使用最低检测限水平的菌株浓度，对不同来源的GBS菌株或真实临床样本进行至少20次的重复验证，阳性检出率不低于95%。注册申请人应能够提供用于最低检测限验证的各个菌株或临床样本的来源、制备方法及浓度等信息。最低检测限建议采用菌落形成单位（CFU）和靶核酸的拷贝数两种方法分别进行研究。

最低检测限的确定和验证需要覆盖临床常见型别，至少包括Ia、Ib、III、V等。

3.反应性（包容性）

建议使用具有时间和区域特征性的不同来源的临床样本进行验证，至少包括GBS临床常见型别，如Ia、Ib、III、V等。建议在略高于最低检测限浓度进行研究，并提供样本的来源、浓度、菌株型别的确认方法等信息。

4.精密度

注册申请人应对精密度指标，如标准差或变异系数等评价标准做出合理要求。精密度研究需要覆盖临床常见临床型别，至少包括Ia、Ib、III、V等。精密度评价试验应包含核酸分离/纯化步骤。针对本类产品的精密度评价主要包括以下要求。

4.1对可能影响检测精密度的主要变量进行验证，除检测试剂（包括核酸分离/纯化组分）本身的影响外，还应对分析仪、操作者、地点、检测轮次等要素进行相关的验证。

4.2设定合理的精密度评价周期，例如：为期至少20天的检测，具体方案可参考EP文件进行。从而对批内/批间、日内/日间以及不同操作者之间的精密度进行综合评价。

4.3用于精密度评价的菌株或临床样本均应至少包含3个水平：阴性样品、临界阳性样品、（中或强）阳性样品，并根据产品特性设定适当的精密度要求，临床样本精密度评价中的每一次检测均应从核酸提取开始。

4.3.1阴性样本：待测物浓度低于最低检测限或为零浓度，阴性检出率为100%（n≥20）；

4.3.2临界阳性样本：待测物浓度略高于试剂盒的最低检测限，阳性检出率为100%（n≥20）；

4.3.3中/强阳性样本：待测物浓度呈中度到强阳性，阳性检出率为100%且CV≤5%（n≥20）。

5.特异性

5.1交叉反应

5.1.1用于GBS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：近缘菌、易引起相同或相似的临床症状微生物、感染部位的定植菌等（推荐种类见表1）。

5.1.2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。

5.1.3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）

（其中标记\*的项目为选择性验证）

|  |
| --- |
| 微生物 |
| A群链球菌 |
| C群链球菌 |
| G群链球菌 |
| 肺炎链球菌 |
| 草绿色链球菌 |
| 粪肠球菌 |
| 屎肠球菌 |
| 淋病奈瑟菌 |
| 嗜酸乳杆菌 |
| 梅毒螺旋体 |
| 沙眼衣原体 |
| 人型支原体 |
| 阴道毛滴虫 |
| 白色念珠菌 |
| 单纯疱疹病毒Ⅱ型 |
| 表皮葡萄球菌\* |
| 假豕链球菌\* |
| 阴道棒状杆菌\* |
| 脆弱类杆菌\* |
| 耻垢分枝杆菌\* |
| 人乳头瘤病毒\* |

5.2干扰物质

 建议注册申请人根据所采集的样本类型，针对可能存在的干扰情况进行验证。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GBS临界阳性水平进行检测。潜在干扰物质的选取应至少包括：血红蛋白、白细胞、宫颈粘液、女性卫生用品、阴道用抗真菌药物等。

6.提供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（如适用）。

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【适用仪器】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，应针对不同样本类型分别验证。

（五）阳性判断值研究资料

阳性判断值确定资料主要指对申报产品核酸检测的Ct值，即结果判断的临界值进行确认的资料。阳性判断值研究资料样本来源应考虑不同年龄、地域等因素，尽可能考虑样本来源的多样性、代表性。如存在判定值灰区，应提供灰区的确认资料。建议申请人采用受试者工作特征（ROC）曲线的方式确定申报试剂用于结果判断的临界值。有关ROC曲线分析的细节，请参考国内外相关的文件。如采用其他方法对阳性判断值进行确认研究，应说明其合理性。提供内标值的确定方法和研究资料。阈值设置应科学合理。

另外，考虑建立阳性判断值时使用的临床样本对于目标人群的代表性，建议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，主要包括室温保存、冷藏和冷冻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分析验证，从而确认不同类型样本的稳定性。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》（原国家食品药品监督管理总局通告2014年第16号）的要求，如相关法规、文件有更新，临床试验应符合更新后的要求。

1.临床试验方法

该产品可选择境内已批准上市的同类产品作为对比试剂或选择病原体增菌培养鉴定作为临床参考标准，采用试验用体外诊断试剂（以下称考核试剂）与之进行对比试验研究，评价考核试剂的临床性能。对比试剂的选择应从预期用途、样本要求、检测性能等方面，确认其与考核试剂具有较好的可比性。

若选择境内已上市产品作为对比试剂，除与同类产品的对比试验之外，应再选择一定量的样本与病原体增菌培养鉴定比对评价考核试剂的临床灵敏度和特异性。

2.受试者选择和样本例数

2.1受试者选择：临床试验受试者应根据产品声称的适用人群进行选择，受试人群应能够代表目标人群的特征，包括各种可能的干扰样本、交叉反应样本（其它病原体阳性）等。

2.2样本例数

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，同时应满足法规最低样本量的要求。根据相应临床试验设计，本临床试验可依据考核试剂相对于对比试剂的阴、阳性符合率或相对于临床参考标准的灵敏度和特异度分别估算最低阴、阳性样本例数。

以已上市同类产品作为对比试剂的比较研究中，临床样本量的估算建议采用公式（1）计算，阴阳性符合率的临床可接受标准（P0）建议不低于95%。当评价指标P接近100%时，该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。

………（1）



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为考核试剂评价指标预期值。

以病原体增菌培养鉴定作为对比方法，临床阳性样本量的估算建议采用公式（1）计算，临床灵敏度可接受标准（P0）建议不低于90%。阴性样本量的估算可不采用目标值法，建议根据预实验获得的特异度的预期值P采用公式（2）计算，Δ的取值建议不大于0.03，P和Δ的取值应有充分依据，当预期值P更高时应考虑更优的精度。



*……………………*（2）

公式中n为样本量，Z1-α/2为置信度标准正态分布的分位数，P为评价指标预期值，Δ为P的允许误差大小。

对于选择境内已上市产品作为对比试剂，除同类产品比对试验之外，应再选择一定量的样本与病原体增菌培养鉴定比对评价考核试剂的临床灵敏度和特异性，该部分试验阴、阳性样本量的估计建议采用公式（2）进行估算，其中Δ的常用取值为0.05，当预期值更高时应考虑更优的精度。

临床试验总体样本量确定时应在上述阴、阳性样本最低样本量估算的基础上，同时考虑其他可能造成受试者脱落的情况以及可能需要纳入的干扰样本、交叉反应样本等情况适当增加入组样本量。

此类产品的检测样本类型一般为直肠拭子、阴道拭子或直肠/阴道混合拭子，如果样本类型同时包括直肠拭子和阴道拭子，鉴于同一病例其阴道和直肠感染状态可能存在差异，因此对于这两种拭子应分别和对比试剂或临床参考标准比对进行验证，不同拭子样本量均应分别满足统计学要求，不宜使用同源比对的方法进行评价。

3.临床研究单位的选择

应选择不少于3家（含3家）已备案的临床试验机构，按照相关法规、指导原则的要求开展临床试验。临床试验机构的选择应充分考虑拟申报产品的特点和预期用途，综合流行病学背景，鉴于不同地区及医疗机构中GBS血清型的差异，建议选择不同地区的临床试验机构开展临床试验，使临床试验机构和受试者的选择具有一定的地域代表性。且临床试验机构应具有分子生物学方法和微生物培养检测的优势，实验操作人员应有足够的时间熟悉检测系统的各环节，熟悉临床试验方案。

4.统计学分析

应选择合适的统计方法对临床试验结果进行统计分析，对于考核试剂与对比试剂/参考方法的一致性评价，常选择交叉四格表形式总结两种试剂的检测结果，评价指标一般包括临床灵敏度、临床特异度、阳性符合率、阴性符合率，kappa值等，对于不一致样本，应进行可能的原因分析，如临床试验方案规定采用其他方法进行确认，则确认结果不应纳入统计分析。

5.伦理学要求

临床试验必须符合赫尔辛基宣言的伦理学准则。研究者应考虑临床试验用样本的获得和试验结果对受试者的风险，提请伦理委员会审查，并获得伦理委员会的同意。注册申报时应提交伦理委员会的审查意见。

6.临床试验方案

临床试验实施前，研究人员应从流行病学、统计学、临床医学、检验医学等多方面考虑，设计科学合理的临床试验方案。各临床试验机构应执行统一的临床试验方案，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。整个试验过程应在临床试验机构的实验室内并由本实验室的技术人员操作完成，申报单位的技术人员除进行必要的技术指导外，不得随意干涉实验进程，尤其是数据收集过程。

试验方案中应确定严格的病例纳入/排除标准，任何已经入选的病例再被排除出临床试验都应记录在案并明确说明原因。在试验操作过程中和判定试验结果时应采用盲法以保证试验结果的客观性。

7.质量控制

临床试验开始前，建议进行临床试验的预试验，以熟悉并掌握相关试验方法的操作、仪器、技术性能等，最大限度控制试验误差。整个试验过程都应处于有效的质量控制下，最大限度保证试验数据的准确性及精密度。

8.临床试验报告撰写

临床试验报告应该对试验的整体设计及各个关键点给予清晰、完整的阐述，应该对整个临床试验实施过程、结果分析、结论等进行条理分明的描述，并应包括必要的基础数据和统计分析方法，最后得出临床试验结论。临床试验报告的撰写参考《体外诊断试剂临床试验技术指导原则》的相关要求。

（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》（原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。产品技术要求还应当以附录形式明确主要原材料、生产工艺及半成品要求。

如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。

（九）注册检验

根据《体外诊断试剂注册管理办法》要求，首次申请注册的第三类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三个生产批次样品的注册检测。如申报试剂有适用的国家参考品，应采用国家参考品进行注册检验，并符合国家参考品的相关要求。

（十）产品说明书

说明书承载了产品预期用途、样本采集及处理、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》（原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B群链球菌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试剂盒用于对来自人体样本（如孕妇阴道拭子、直肠拭子、阴道和直肠联合拭子）或经增菌培养后人体样本中的GBS进行体外定性检测。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：例如妊娠35～37周高危因素的孕妇（如合并糖尿病、前次妊娠出生的新生儿有B群链球菌感染等），有胎膜早破、先兆早产等临床症状医生认为有必要进行GBS检测的其他孕周数孕妇等，不建议使用该试剂盒对无症状的孕早、中期孕妇进行筛查。

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B群链球菌感染的辅助诊断。

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（内标）和阴阳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、备案号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.【适用仪器】

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。建议注明配套验证的拭子种类或生产厂家。

6.2样本处理、运送及保存：如果使用增菌培养后的人体样本建议注明配套使用的增菌培养基。核酸提取前的预处理、保存条件及时间、运输条件等。冷藏/冷冻样本检测前是否须恢复室温，冻融次数限制等。

7.【检验方法】

详细说明操作的各个步骤，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、内对照（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，样本中目标物浓度过低；

9.2.2 B群链球菌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：说明试剂的最低检出浓度，简单介绍最低检出限的确定及验证方法。

10.2企业阳性/阴性参考品符合率：简单介绍阳性/阴性参考品组成、来源以及浓度等信息。

10.3精密度：说明不同类型样本的重复性和再现性评价结果。

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：

11.1有关人源组分（如有）的警告，如：试剂盒内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。

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

2.《体外诊断试剂临床试验技术指导原则》，（原国家食品药品监督管理总局公告2014年第16号）.2014年9月

3.《体外诊断试剂说明书编写指导原则》，（原国家食品药品监督管理总局公告2014年第17号）.2014年9月

4.《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》（原国家食品药品监管总局公告2014年第44号）.2014年9月

5.中华医学会妇产科学分会产科学组，孕前和孕期保健指南（2018），中华围产医学杂志，2018年3月第21卷第3期：145-152.

四、起草单位

国家药品监督管理局医疗器械技术审评中心