附件2

过敏原特异性IgE抗体检测试剂

技术审查指导原则

本指导原则旨在指导注册申请人对过敏原特异性IgE抗体（Allergen-specific IgE）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参考。

本指导原则是对过敏原特异性IgE抗体（Allergen-specific IgE）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。如申请人认为有必要增加本指导原则不包含的研究内容，可自行补充。

本指导原则是供申请人和审查人员的指导文件，不涉及注册审批等行政事项，亦不作为法规强制执行，如有能够满足法规要求的其他方法，也可以采用，但应提供详细的研究资料和验证资料。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、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、范围

I型过敏反应性疾病相当普遍，人群总发病率高达10%～30%，是当前世界性的重大卫生学问题，被世界卫生组织（WHO）列为二十一世纪重点防治的三大疾病之一。

过敏性疾病是患者吸入、食入或者注入含有致敏成分的物质（称为过敏原或变应原，Allergen）后触发机体的B细胞产生特异性免疫球蛋白E（Immunoglobulin E, IgE），IgE以其Fc 段与肥大细胞或嗜碱性粒细胞的表面相应的FcεRI结合，使机体处于对该过敏原的致敏状态。当相同过敏原再次或多次进入致敏机体时，可与肥大细胞或嗜碱性粒细胞表面的IgE发生特异性结合，当过敏原与致敏细胞表面的两个或两个以上相邻的IgE结合时，发生FcεRI 交联，使肥大细胞和嗜碱性粒细胞活化，导致细胞脱颗粒并释放储存在细胞浆颗粒里的炎性介质——组胺，并通过花生四烯酸途径合成新介质——白三烯、免疫反应性前列腺素和IL4、IL5等细胞因子及趋化因子，从而引发过敏反应（或称变态反应，Allergy）的疾病及相关症状，如过敏性哮喘、枯草热、荨麻疹、过敏性鼻炎、湿疹、结膜炎及胃肠道I型过敏性疾病及严重过敏反应等。

上述过敏性疾病的发生，IgE抗体起关键作用。I型过敏反应性疾病的特征是患者体内循环血液中的过敏原特异性IgE抗体浓度较正常状况下高，且特异性IgE抗体浓度越高，诊断过敏性疾病的概率越高。

本指导原则适用于过敏原特异性IgE抗体检测试剂，包括总IgE和特异性IgE，同时适用于不同的检测方法（原理）。

本指导原则适用于申请产品注册和相关许可事项变更的产品。

二、基本要求

（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、有关产品主要研究结果的总结和评价以及同类产品在国内外批准上市的情况介绍等内容，其中同类产品上市情况介绍部分应着重从主要原材料、检出限、阳性判断值或者参考区间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，同时应对申报的每一个过敏原具体项目进行详尽的阐述，分别阐述每个过敏原的具体特点及相关信息。

综述资料的撰写应当符合《体外诊断试剂注册管理办法》（国家食品药品监督管理总局令第5号）（以下简称《办法》）和《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》（国家食品药品监督管理总局公告2014年第44号）（以下简称44号公告）的相关要求。

（二）主要原材料的研究资料

若主要原材料为申请人自己生产，其生产工艺必须稳定；如主要原材料源于外购，应提供的资料包括：供货方提供的质量标准、出厂检定报告以及申请人对到货后主要原材料的质量检验资料。

除上述内容外，建议申请人按照以下要求提交研究资料：

1.企业内部参考品的制备、定值过程。详细阐述参考品中过敏原特异性IgE抗体的鉴定方法和浓度确认方法，鉴定方法应科学合理并采用国际公认的方法、金标准方法或临床诊断等方法综合进行确认。浓度确认应采用国家或国际标准品进行溯源。应分别对每一个过敏原项目进行研究。

2.质控品的制备、定值过程应参照企业内部参考品的制备方法进行。

3.过敏原主要原材料的研究资料。

（1）无论是天然提取抗原，还是基因工程重组抗原，均应对原料进行详细分析研究，至少包括主要过敏原（致敏）蛋白的特异性、分子量、纯度、致敏蛋白含量、反应性：生物活性，效价（抑制试验）等内容。

（2）对于以上要求的指标应给出具体的研究方案、研究方法、实验过程、试验数据、相关图谱等内容。

（3）如为自制抗原，还需提供详细的抗原鉴定、提取、制备、生产等的研究资料。

（4）如为外购原材料，还需提供过敏原等主要原材料的出厂报告及进货检验报告。

（5）对于其他主要原材料，如二抗、工具酶、包被板等原材料，应提供主要原材料的选择、制备及质量标准等内容的详细研究资料及试验数据。

（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.主要生产工艺过程的研究资料、每一步生产工艺的确认资料及试验数据。

4.主要反应体系的研究资料、每一步反应体系的确认资料及试验数据。

（四）分析性能评估资料

申请人应提交在产品研制或成品验证阶段对试剂盒所有的分析性能进行研究的资料，对于每项分析性能的研究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。有关分析性能研究的背景信息也应在注册申报资料中有所体现，包括研究地点（实验室）、适用仪器、试剂规格、批号、临床样本来源等。分析性能研究的实验方法，可以参考国内或国际有关体外诊断产品性能评估的指导原则。

对于总IgE抗体的检测，不建议进行定性检测，应采用定量及半定量检测，所有分析性能也应根据定量或半定量检测试剂的要求进行评估。对于过敏原IgE抗体检测试剂，建议着重对以下分析性能进行研究。

1.提供参考品（国家参考品、企业参考品）的验证资料。

2.最低检出限

最低检出限的确定及验证应采用适当的参考品进行，最低检出限参考品应进行精确的浓度确认。对于定性检测产品，可采用每一浓度样本至少20次的检测情况对最低检出限进行研究，选取90%～95%检出率的浓度水平作为最低检出限；对于定量检测产品，可采用每一浓度样本至少10次的检测情况对最低检出限进行研究，选取CV值≤20%的浓度水平作为最低检出限。

过敏原特异性IgE抗体的检测限建议不高于0.35IU/ml，总IgE抗体的检测限建议不高于3～5 IU/ml，可采用稀释或系列参考品的方式进行研究，但应保证不同浓度的样本同时包括上述两个浓度及其邻近的浓度，明确写明最低检出限邻近浓度的检测情况，如过敏原特异性IgE抗体浓度在0.30IU/ml水平的检测情况、总IgE抗体在阳性判断值附近浓度的检测情况。

对于包被过敏原为混合过敏原（非组合）的产品，应对可检测项目中的每一个过敏原项目进行最低检出限的评价及验证。

3.线性范围

对于定量或半定量检测的试剂，均应当进行线性范围的研究。线性范围确定的研究应使用高值临床样本（由可溯源至国家参考品/国际参考品的方法定量）进行梯度稀释，稀释液应使用经确认为相应过敏原项目检测结果为阴性的混合人血清或血浆，建议应包含不少于9个浓度（应包含接近最低检测限的临界值浓度，同时满足国家或国际分级标准的要求），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。

4.准确度

对准确度的评价，可采用与国家/国际参考品的偏差、回收试验或者方法学比对等方法进行，申请人可根据实际情况选择合理方法进行研究。详细描述评价方法中样本的制备过程、评价方案、试验过程、试验数据、统计方法、研究结论等内容。

除上述资料之外，对于过敏原特异性IgE抗体检测试剂，建议提供至少50例与临床诊断结果比对的研究资料，对于极为罕见的过敏原特异性IgE抗体检测项目，可提供至少30例与临床诊断结果比对的研究资料。

5.精密度

精密度的评价方法并无统一的标准可依，可根据不同产品特征或申请人的研究习惯进行，前提是必须保证研究的科学合理性，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）或国内有关体外诊断产品性能评估的文件进行。申请人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。针对本类产品的精密度评价主要包括以下要求：

（1）至少应在产品检测阴性、最低检出限浓度、医学决定水平（Cut-off值）浓度进行精密度的评价。

①阴性样本（质控品）：应尽量采用高值阴性样本（质控品）进行（n≥20），如最低检出限浓度为0.35IU/ml，可选择0.30IU/ml浓度作为评价样本浓度。

②最低检出限浓度样本（质控品）：待测物浓度应接近产品的最低检出限（n≥20）。

③医学决定水平（Cut-off值）浓度样本（质控品）：根据产品设计的Cut-off值确定样本（质控品）的浓度（n≥20）。

（2）合理的精密度评价周期，例如：为期至少20天的连续检测，每天至少由2人完成不少于2次的完整检测，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。如有条件，申请人应选择不同的实验室进行重复实验以对室间精密度进行评价。

6.特异性

（1）交叉反应

在进行交叉反应的研究过程中，对于过敏原的选择建议考虑以下内容：生物学分类的相近性、基因组或结构的保守性和同源性、过敏原蛋白AA序列以及立体结构的类同性、IgE抗体结合表位在构象/拓扑学的兼容性。

①应采用与被检过敏原蛋白在组成或结构上部分相同或者具有相近性的过敏原特异性IgE抗体阳性样本进行交叉反应研究。

②建议采用高浓度的过敏原特异性IgE抗体阳性样本进行交叉反应研究，应明确抗体浓度。

③申请人应对进行交叉反应研究的过敏原特异性IgE抗体阳性样本的确认方法进行详细阐述，并提供详细的确认资料和数据，如：是否经过其他方法检测、经过金标准的确认或经过临床诊断的确认等。

④亦可采用抗原电泳分析致敏蛋白的方法进行研究。

至少应对公认的可能具有交叉反应的过敏原项目进行验证，建议对于每种过敏原至少选取2～3个可能产生交叉反应的过敏原进行研究。

（2）干扰物质

①对样本中常见的内源性干扰物质进行研究，如血红蛋白、甘油三酯或胆固醇、胆红素、类风湿因子（RF）、抗核抗体（ANA）、抗线粒体抗体（AMA）等，确定可接受的干扰物质极限浓度。

建议采用被测物阴性及最低检出限浓度对每种干扰物质的干扰影响进行评价。

②对高浓度的非特异性人IgA、IgG、IgM、IgD抗体阳性样本进行评价，建议采用被测物阴性及最低检出限浓度进行研究。

③对含有高浓度总IgE抗体的特异性IgE抗体阴性或弱阳性样本进行评价。

干扰物质研究的样本可采用临床或模拟添加样本进行验证，样本量选择应体现一定的统计学意义。

7.钩状（HOOK）效应

须采用高浓度过敏原特异性IgE抗体阳性血清进行梯度稀释后由低浓度至高浓度开始检测，每个梯度的稀释液重复3～5份，对钩状效应进行合理的验证。应给出不会产生钩状效应的抗体最高浓度，并在产品说明书上明示对钩状效应的研究结果。

8.溯源性

应提交详细的溯源性研究资料，该类产品有国际标准品，产品检测结果的量值必须溯源至国际标准品。对于企业内部参考品、标准品、质控品均应提供详细的溯源资料，包括溯源方案、溯源方法、溯源过程、溯源步骤，溯源过程中每一步的不确定度的计算等内容。

（五）阳性判断值或参考区间确定资料

对于过敏原特异性IgE抗体检测试剂，不同过敏原检测项目的阳性判断值可能不一致，因此应根据不同项目分别给出适于中国人群的阳性判断值，提供详细的研究资料。如将阳性判断值确定为0.35IU/ml或者按照国际或国家分级标准的不同级别对阳性判断值进行设定，则应当说明确定或者设定的具体依据，并提供详细的验证资料。

对于总IgE抗体检测试剂，应给出参考区间，应按照不同的年龄段分别进行参考区间的研究，并提供详细的研究资料。

（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全性能的分析验证，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

临床试验总体要求及资料内容应符合《体外诊断试剂临床试验技术指导原则》、《办法》和44号公告的规定，以下仅根据过敏原检测试剂的特点对其临床试验中应重点关注的内容进行阐述。

1.研究方法

对于该类试剂已有同类产品上市的，按照法规要求应选择境内已批准上市、临床普遍认为质量较好的同类产品作为对比试剂，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，证明考核试剂与已上市产品等效。

如无已上市同类产品的，应根据产品设计的具体用途进行临床试验。综合临床检测结果、病例临床资料、其他检测检查结果（病史、皮肤试验、激发试验）、患者治疗情况等多方面因素进行综合判断以评价产品检测结果是否准确。

2.病例选择

应充分考虑地域性差异，由于过敏原检测项目很多，包含各种食物、吸入性、注入性等过敏原，而且过敏症状的发生存在季节性，所以应充分考虑各种过敏原的地域性差异、发病时间的不同、流行病学的差异选择有代表性的单位进行临床试验，应尽量选择不同省分的临床单位。

3.样本选择

对于组合过敏原检测项目（套组，非混合），每一个检测项目应分别进行统计，且应满足至少1000例的要求，对于每一个检测项目病例选择中应包括一定数量的交叉反应样本，以评价产品检测的特异性。

对于每一过敏原检测（报告）项目均应提供大于30～50例检测结果与临床诊断结果比对的临床资料，应随机选择病例，先选择高度怀疑的临床病例，再通过样本检测进行比对，比对病例应保证一定的阳性率，并提供详细的病例情况（包括病史、临床诊断方法、各种检测结果等），建议在变态反应科、呼吸科、消化科等临床专业科室进行临床试验。

对于适用于对多个样本类型进行检测的产品，如不同样本类型之间具有可比性，应至少完成一个样本类型不少于1000例的临床研究，同时再进行不少于 200例同一患者不同样本类型之间的比较研究。如样本类型中包括指尖全血或静脉全血等全血样本，应至少进行300例同一患者全血样本与血清或者血浆样本的比对临床资料。

4.统计学分析

对于定性检测试剂至少应计算阳性符合率、阴性符合率、总符合率，并以四格表的形式进行列表，并对定性结果进行Kappa检验以验证检测结果的一致性。

对于定量和半定量检测试剂除计算阳性符合率、阴性符合率、总符合率外，还应进行相关性分析，给出相关系数，进行回归分析给出回归方程和试验数据的散点图，并对相关系数和回归方程的斜率进行显著性分析。

对于半定量检测产品还应对检测的分级结果进行统计，明确分级存在差异的样本数量和分级差异情况，同时提供样本检测结果的频率分布图。

5.结果差异样本的验证

对于两种试剂的检测结果有不一致（检测结果差异较大）的样本，应采用临床上公认较好的第三种同类试剂进行复核，同时结合患者的临床病情、临床资料对差异原因及可能结果进行分析。

对于半定量检测产品，在检测结果阴阳性判定一致的情况下，如分级差异等于或大于2个级别，应采用第三种方法进行复核。

6.交叉反应样本的比较

对于选择的交叉反应样本应单独列出并单独进行统计，并对检测结果进行详细描述，并对可能产生交叉反应的原因进行详尽描述。

7.临床试验结果应提供原始临床试验数据。

8.对于在同一膜条上同时包含总IgE抗体和特异性IgE抗体检测项目的产品，应分别提供每个检测项目与定量检测试剂检测结果的比对研究资料，每个项目应包括不同阳性强度的样本。

（八）产品风险分析资料

基本要求应符合44号公告的要求，同时考虑到过敏原特异性IgE抗体检测可能存在一定的交叉反应，而且过敏原特异性IgE抗体的浓度与患者的临床症状并无绝对相关性，因此申请人应根据这些不确定的因素分析产品应用可能存在的风险。

（九）产品技术要求

产品技术要求应符合《办法》和44号公告的要求。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、分析性能评估等结果，依据国家标准、行业标准及有关文献，按照《医疗器械产品技术要求编写指导原则》的有关要求，编写产品技术要求。如果拟申报产品已有适用的国家/行业标准发布，则产品技术要求的内容应不低于适用标准。定性产品应进行参考品的检测，定量产品除进行参考品的检测外还应进行线性的评价。每个项目均须进行最低检出限和阳性参考品符合率的检测。性能指标及检验方法中应明确写明阳性参考品所包含的检测项目。

（十）产品注册检验报告

根据《办法》及44号公告的要求，申请注册的第三类产品应在具有相应医疗器械检验资质的医疗器械检验机构进行连续3个生产批次样品的注册检验。

目前，过敏原IgE抗体检测试剂尚无适用的国家参考品，可采用企业参考品进行注册检验，但企业参考品的具体信息应明确，如IgE抗体浓度、过敏原检测项目的确定方法等。如有适用的国家参考品/标准品发布，则申请人应采用国家参考品/标准品进行注册检验，并在产品技术要求中写明相应内容。

（十一）产品说明书

产品说明书承载了产品预期用途、检验原理、检验方法、检验结果的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，因此，产品说明书是体外诊断试剂注册申报最重要的文件之一。产品说明书格式应符合《体外诊断试剂说明书编写指导原则》的要求，境外产品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。产品说明书的所有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，并单独列明参考文献的相关信息。

结合《体外诊断试剂说明书编写指导原则》的要求，下面对过敏原特异性IgE抗体（Allergen-specific IgE）检测试剂说明书的重点内容进行详细说明，以指导注册申请人更合理地编写产品说明书。

1.【产品名称】可以根据拟申报产品的具体特点增加描述性语言，（吸入组1或2）、（食物组1或2）、（综合组1或2）等，如组合过敏原检测项目命名为“过敏原特异性IgE抗体检测试剂盒（吸入组1/化学发光法）”，以更好的区分不同的产品。

2.【预期用途】应至少包括以下几部分内容：

（1）试剂盒用于××检测人×××样本中的过敏原特异性IgE抗体和/或总IgE抗体。其中，××应按照产品类型写明具体为定性、半定量还是定量检测，×××应写明适用的样本类型为血清、血浆还是全血，上述内容均应有相应的分析性能评估资料和临床试验资料支持。对于总IgE抗体检测试剂，不建议声称定性检测用途，对于过敏原特异性IgE抗体检测试剂，还应当逐项列明能够检测的具体过敏原项目。

（2）应当说明该试剂不建议用于健康人群体检，检测结果阳性或者阴性仅代表相应的IgE抗体检测结果阳性或阴性，与患者是否患病的相关性不确定，不得作为患者病情评价的唯一指标，必须结合患者临床表现和其他实验室检测对病情进行综合分析。

（3）待测人群特征介绍：应分不同的年龄段、性别进行简单介绍，并对检测结果及患者临床症状之间的关系进行描述。

（4）对过敏反应的机理进行简单的介绍。

（5）临床用途：说明与预期用途相关的临床适应症背景情况，说明相关的临床或实验室诊断方法，应对每个过敏原分别进行编写。

3.【储存条件及有效期】

说明试剂盒的效期稳定性、开封稳定性、运输稳定性等，应标明具体的储存条件及有效期。

4.【阳性判断值或者参考区间】

（1）明确产品的溯源情况，无论定量或是定性产品，其检测结果量值均须溯源至国际或国家标准品，应以IU/ml作为单位或提供与国际单位的换算单位。

（2）分别列出总IgE抗体（建议进行定量检测）和每个过敏原特异性IgE抗体的最低检出限（不大于0.35IU/ml）和参考区间，如两者一致可一同列出。

（3）对于半定量或定量检测产品，可列出现行的国际或国家的定级标准与特异性IgE抗体浓度之间的关系。

（4）应明确检测信号值与特异性IgE抗体浓度之间的关系及标准曲线的制定方法（如适用）。

5.【检验结果的解释】

（1）应明确检测结果是否成立的判定标准，如阴、阳性对照品的检测要求（如适用）。

（2）如不同过敏原的检测结果存在差异，应对每一个过敏原特异性IgE抗体及总IgE抗体的检测结果分别进行阐述，如产品最低检出限、阳性判断值或参考区间与检测结果之间的关系和相关性，同时对检测结果与临床诊断结果、患者临床症状之间可能存在的关系进行详细描述。

6.【检验方法的局限性】

（1）本试剂盒的检测结果仅供临床参考，对患者的临床诊治应结合其症状/体征、病史、其他实验室检查及治疗反应等情况综合考虑。

（2）不合理的样本采集、转运、储存及处理过程均有可能导致错误的检测结果。

（3）明确该试剂仅限于规定的样本类型及适用机型。

（4）不能混用不同批次试剂盒中的组分。

7.【产品性能指标】

（1）参考品（国际参考品、国家参考品、企业参考品）的检测情况。

（2）最低检出限：应采用国际单位，如不同的检测项目最低检出限不同（特异性IgE抗体的检出限定为不大于0.35IU/ml，总IgE抗体应给出具体的检测范围，并明确最低检出限建议不大于3-5 IU/ml），应分别列出。

（3）精密度：精密度检测参考品（样本）的组分、浓度及评价标准、评价结果。

（4）线性范围：确定线性范围的方法、浓度范围、相关系数等信息。

（5）准确性：详细描述准确性的研究方法（与国家/国际参考品的偏差，回收试验，方法学比对等）及结果，详细描述研究用样本的确定方法，提供至少30～50例与临床诊断比对的研究资料。

（6）特异性：

①交叉反应：以列表的方式详细描述可能与每一过敏原产生交叉反应的过敏原种类，建议对于每种过敏原至少提供2～3个可能产生交叉反应的过敏原信息，并详细介绍导致产生交叉反应的过敏原蛋白情况。

②干扰物质：样本中常见干扰物质对检测结果的影响，如血红蛋白、甘油三酯或胆固醇、胆红素等，应注明可接受的最高限值。

③与人IgA、IgG、IgM、IgD等的交叉反应。

（7）钩状（HOOK）效应：对高浓度的IgE抗体的钩状效应验证情况。

三、注册单元划分

过敏原特异性IgE抗体检测试剂的注册单元原则上应按照试剂中包被过敏原的类型进行划分。对于可同时检测多个过敏原特异性IgE抗体的产品，如各过敏原特异性IgE抗体的检测反应体系之间相对独立，不相混合，在不改变试剂中包被过敏原类型的前提下，不同过敏原项目的排列组合产品可作为同一注册单元，但过敏原项目的组合应当具有临床价值，不建议没有临床意义的随意组合。

对于同一注册单元包含多个规格的产品，申请人应当提供检测项目如包含不同项目组合的产品，申报注册时只需提供检测项目最多且能包含其他规格产品检测项目产品的技术资料作为注册申报资料。