附件4

寨卡病毒核酸检测试剂注册审查指导原则

本指导原则旨在指导注册申请人对寨卡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提供参考。

本指导原则是对寨卡病毒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指导原则。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，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

寨卡病毒属于黄病毒科黄病毒属，呈球形，直径约为40-70nm，有包膜。基因组为单股正链RNA，长度约为10.8Kb，两端为非编码区，内部的单一开放读码框依次编码3种结构蛋白，包括衣壳蛋白（C）、膜蛋白前体/膜蛋白（prM/M）、包膜蛋白（E）和7种非结构蛋白（NS1、NS2A、NS2B、NS3、NS4A、NS4B和NS5），根据基因组序列不同分为亚洲型和非洲型两个基因型。

寨卡病毒病的检测方法包括病毒核酸检测、病毒抗原检测、IgM和IgG抗体检测、中和抗体检测和病毒分离培养等。寨卡病毒与黄病毒属其他病毒具有较强的血清学交叉反应，目前主要采用病毒核酸检测。核酸检测主要采用逆转录实时荧光PCR、恒温扩增等方法，检测样本类型包括血清、血浆、尿液、精液或唾液等。

本指导原则适用于采用逆转录实时荧光PCR法，对血清、血浆、尿液、精液或唾液等样本中的寨卡病毒核酸进行体外定性检测的试剂。

对于采用其他方法学的寨卡病毒核酸检测试剂，可能部分要求不完全适用或本文所述内容不够全面，申请人应参照本指导原则，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。

本指导原则适用于寨卡病毒核酸检测试剂注册申请和变更注册申请的情形。本指导原则针对寨卡病毒核酸检测试剂注册申报资料中的部分内容进行撰写，其他未尽事宜应当符合《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》等相关法规要求，同时建议参考《定性检测试剂分析性能评估注册审查指导原则》等适用的技术文件要求。

二、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，如寨卡病毒核酸检测试剂盒（荧光PCR法）。根据《体外诊断试剂分类规则》，该产品按照第三类体外诊断试剂管理，分类编码为6840。

2.其他信息还包括产品列表、关联文件、申报前与监管机构的联系情况和沟通记录以及符合性声明等文件。

（二）综述资料

综述资料主要包括概述、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。应详细说明产品所采用的技术原理及检测流程。提供不同适用机型的检测通量，即一次检测最多可检测的样本数。提供核酸提取（手工和自动提取方式应分别明确）和PCR扩增的时间，以及检测全过程所需的时间。不同检测流程，分别提供最少和最多检测样本量下的检测时间。与已上市同类产品进行比较，比较内容包括样本类型，检测原理，检测靶基因，组成成分，内标，质控品，判读规则，分析性能和临床性能等。

预期用途中明确产品检测的靶基因，需选择保守性和特异性相对较高的基因，同时还应考虑基因的扩增效率。检测基因的选择应提供相关指南或文献，并分析所检测基因的灵敏度和特异性是否符合临床需求。

（三）非临床资料

1.分析性能研究

注册申请人应采用在符合质量管理体系的环境下生产的试剂盒进行所有分析性能研究，提交具体研究方法、试验方案、试验数据、统计分析等详细资料。

分析性能评估所用样本的基本信息均需明确，例如样本来源、样本类型、采集和处理方式、稀释方式、定值过程及数据等。研究中采用的寨卡病毒阳性样本，应采用科学合理的方法确定其阴阳性和浓度水平，提交具体的试验资料。建议采用国际标准品建立校准曲线的方法确定研究样本的浓度。分析性能评估用样本一般应为真实样本，如涉及稀释后检测，应采用与适用样本类型一致的阴性基质。不可采用质粒、假病毒或体外转录RNA等，进行分析性能评估。对于各项性能中采用的样本，在下述各项性能研究资料中分别提供样本信息列表。检出限和包容性研究中所用样本应相互独立。

1.1样本稳定性

考虑到病毒RNA极易被降解的特性，应对样本稳定性进行详细研究，包括采集后未经处理的样本，灭活处理后的样本，研究内容包括冷藏保存时间，冷冻保存时间，冻融次数等。

建议对每种样本类型均进行稳定性研究。

如核酸提取液可不立即进行检测，还需对经提取后的核酸产物的保存条件和稳定性进行研究。

1.2企业参考品验证

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试验数据。

1.3准确度

可采用方法学比对或参考品（盘）检测的方法进行研究。

1.4精密度

应对精密度指标，如标准差或变异系数等的评价标准做出合理要求。应考虑运行、时间、操作者、仪器、试剂批次和地点等影响精密度的条件，设计合理的精密度试验方案进行评价。精密度评价试验应包含核酸提取步骤。设定合理的精密度评价周期，例如为期至少20天的检测。对检测数据进行统计分析，获得重复性、实验室内精密度、实验室间精密度、批间精密度等结果。

采用临床样本或病毒培养物进行精密度评价，应至少包含3个水平：阴性样本、临界阳性样本、中/强阳性样本，并根据产品特性设定适当的精密度要求，例如：

阴性样本：不含待测物，阴性检出率应为100%（*n*≥20）。

临界阳性样本：待测物浓度略高于试剂盒的检出限，阳性检出率应≥95%（*n*≥20）。

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*Ct*值的*CV*≤5%（*n*≥20）。

1.5包容性

1.5.1采用生物信息学方法对产品检测的包容性进行研究，研究应覆盖已公布的寨卡病毒核酸序列。

1.5.2验证具有时间和区域特征性的不同来源的阳性样本，应包括检出限和重复性的验证。样本应覆盖已知寨卡病毒的主要型别，包含对亚洲型、非洲型和其他重点型别各不少于3个不同来源的阳性样本（临床样本或病毒培养物）的研究。

1.6检出限

1.6.1检出限的确定

建议采用亚洲型和非洲型的流行株样本系列稀释于与适用样本一致的基质中，进行检出限的确定。每个浓度梯度重复检测，记录不同浓度检出的结果，采用适当的模型（如Probit分析）和分析方法，将具有95%阳性检出率的最低浓度水平作为确定的检出限。申请人可采用半数组织感染量测定法（TCID50）的方法进行毒株浓度确认，以TCID50/mL作为毒株浓度的表示方式；也可采用空斑形成单位（PFU）的方式进行毒株浓度的确认，以PFU/mL作为毒株浓度的表示方式。除此之外，申请人还应采用数字PCR、标准曲线等方法进行毒株核酸浓度的确认，以copies/mL作为毒株浓度的表示方式；采用国际标准品建立校准曲线的方法确定研究样本的国际单位浓度。

1.6.2检出限的验证

选择另外3例不同来源的寨卡病毒样本在检出限浓度水平进行验证，应达到95%阳性检出率。

1.7分析特异性

1.7.1交叉反应

需验证相关病原体和多例人类基因组DNA（表1）的交叉反应。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，细菌感染的浓度水平为106CFU/mL或更高，病毒为105PFU/mL或更高，提供所有用于交叉反应验证的病原体样本的来源、阴阳性、种属/型别和浓度确认等试验资料。

对于某些难以培养或因为生物安全性无法培养的病原体，可采用病原体核酸样本进行交叉验证。应提供用于交叉反应验证的病原体核酸的来源、组成和浓度等信息，浓度可采用copies/mL单位表示。

表1 需进行交叉反应验证的物质

|  |
| --- |
| 登革病毒（DENV-1～DENV-4）、西尼罗病毒、黄热病毒、基孔肯雅病毒、新型布尼亚病毒、汉坦病毒、汉城病毒、普马拉病毒\*、乙型脑炎病毒、麻疹病毒、风疹病毒、甲型流感病毒、乙型流感病毒、副流感病毒、单纯疱疹病毒、圣路易脑炎病毒\*、罗西奥病毒\*、森林脑炎病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、东部马脑炎病毒\*、人类免疫缺陷病毒、EB病毒、人巨细胞病毒、轮状病毒、诺如病毒、肠道病毒71型、柯萨奇病毒A16型、埃可病毒、细小病毒B19、埃博拉病毒\*、马尔堡病毒\*、乌苏图病毒\* |
| 伤寒杆菌、金黄色葡萄球菌 |
| 立克次体、钩端螺旋体、疟原虫 |
| 高浓度人类基因组DNA |

注：\*标注为可采用生物信息学分析的方法进行研究的病原体。

1.7.2竞争性干扰

申请人应充分考虑临床上容易与寨卡病毒合并感染的病原体，如登革病毒等，在高浓度的情况下对低浓度（例如检出限浓度）寨卡病毒核酸检测的影响，进行竞争性干扰研究。

1.7.3干扰试验

应根据所采集样本类型，针对可能存在的内源/外源物质干扰情况进行验证。建议申请人在每种干扰物质的潜在最大浓度（“最差条件”）条件下进行试验，检测包含临界阳性水平在内的寨卡病毒样本。对结果进行合理的统计分析，对比添加干扰物质前后的*Ct*值差异。检测的潜在干扰物包括样本中的原有物质及在样本采集和处理期间引入的物质。

表2 用于干扰试验的物质

|  |
| --- |
| 抗凝剂 |
| 抗病毒药物：如利巴韦林 |
| 抗生素：如阿莫西林 |
| 激素类药物：如地塞米松 |
| 常用OCT药物：如对乙酰氨基酚/维生素 |
| 内源性干扰物质：血红蛋白、甘油三酯、白蛋白、胆红素等 |
| 样本采集和处理期间引入的物质：如防腐剂、稳定剂等 |
| 唾液样本：蛋白、漱口水、薄荷糖、牙膏 |
| 尿液样本：尿潜血、总蛋白、尿胆红素、尿白细胞、红细胞、尿酮体、尿胆原、亚硝酸盐、葡萄糖、细菌、真菌、尿比重和*pH*、血红蛋白 |

1.8核酸（RNA）提取/纯化性能

在进行核酸检测之前，建议有核酸（RNA）提取/纯化步骤。该步骤的目的除最大量分离出目的RNA外，还应有相应的纯化作用，尽可能去除PCR抑制物。对配合使用的所有核酸提取试剂进行提取核酸纯度、浓度、提取效率的研究，并与质量较好的核酸提取试剂进行平行比对。若产品适用两种或以上核酸提取试剂，则每一种核酸提取试剂均需配合检测试剂**至**少进行抗干扰、再现性和检出限的验证，如果配套核酸提取试剂提取原理存在差异，还需额外进行检出限的建立。

1.9反应体系

1.9.1样本采集和处理

1.9.1.1样本采集方式的选择

1.9.1.2样本采集时间点的选择：是否受病程、临床症状、用药情况等因素的影响。

1.9.1.3样本处理方式的选择：研究产品适用的灭活方式，包括热灭活和化学灭活，化学灭活部分应对常见的消毒剂的适用性进行研究。研究样本前处理方式，包括对不同样本类型的离心条件的确定研究等。

1.9.2核酸提取和反应体系

研究确定最佳核酸提取和反应体系，包括核酸提取用的样本体积、洗脱体积和PCR加样体积、各种酶浓度、引物/探针浓度、dNTP浓度、阳离子浓度及反应各阶段温度、时间、循环数等。建议在保证核酸提取质量的情况下尽量扩大总反应体系和加样量，以提高检测灵敏度。

提交不同适用机型基线和阈值循环数的确定资料。

不同适用机型的反应条件如果有差异应分别详述，并提交验证资料。

2.稳定性研究

申报试剂的稳定性主要包括实时稳定性（有效期）、开瓶稳定性、运输稳定性、机载稳定性（如适用）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具体的实施方案、详细的研究数据以及统计分析结论。对于实时稳定性研究，应提供至少三批产品在实际储存条件下保存至成品有效期后的研究资料。对于开瓶稳定性研究应模拟真实使用情形，包括开瓶稳定性的开瓶频次和开瓶时间等。

3.阳性判断值研究

阳性判断值一般为申报产品检测病毒核酸阳性的*Ct*值。阳性判断值研究用样本来源应具有多样性和代表性，考虑不同时间、地域、不同的感染阶段和生理状态等因素，尽量纳入较多弱阳性的样本，阴性样本应包含易交叉病原体高浓度样本。在条件允许的情况下，建议覆盖目前的流行株进行阳性判断值研究。如判定值存在灰区，应提供灰区的确认资料。

如果产品适用不同样本类型，需要对各样本类型进行阳性判断值的验证。

提交阳性判断值研究所用样本的背景信息列表，至少包括性别、年龄、临床诊断信息、样本来源机构、检测结果等信息。

提供内标检测结果范围的确定方法和研究资料。

4. 其他资料

4.1主要原材料研究资料

该类产品的主要原材料包括引物、探针、酶、dNTP、核酸分离/纯化组分（如有）、质控品、参考品等。应提供主要原材料的选择与来源、制备过程、质量控制标准等相关研究资料、质控品的定值试验资料等。如主要原材料为企业自制，应提供其详细制备过程；如主要原材料源于外购，应提供资料包括：选择该原材料的依据及对比筛选试验资料、供货方提供的质量标准、出厂检验报告，以及该原材料到货后的质量检验资料。供应商应固定，不得随意更换。

4.1.1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、靶序列的基因位点及两者的对应情况。建议每种病毒设计两套或多套引物、探针以供筛选，通过序列比对和功能性试验等方式，对病毒进行包容性和特异性（如交叉反应）的评价，其中序列比对包括与已公布寨卡病毒序列的比对，及与易产生交叉反应的其他病原体的序列比对；功能性试验包括对不同来源、不同滴度的寨卡病毒核酸阳性样本，和不同的近缘病原体的检测。通过筛选确定最佳的引物和探针组合。引物、探针的质量标准应至少包括序列准确性、纯度、浓度及功能性试验等。

4.1.2脱氧三磷酸核苷（dNTP）：包括dATP、dGTP、dCTP、dTTP、dUTP，应提供对其纯度、浓度、功能性等的详细验证资料。

4.1.3酶：需要的酶主要包括DNA聚合酶、逆转录酶、尿嘧啶DNA糖基化酶等，应分别对酶活性、功能性等进行评价和验证。

4.1.4质控品

试剂盒一般包含阴性质控品和阳性质控品。阳性质控品应包含试剂盒检测的靶序列，可采用假病毒制备。质控品需参与样本处理、核酸的平行提取和检测的全过程，以对整个提取和PCR扩增过程、试剂/设备、交叉污染等环节进行合理质量控制。提交试剂盒质控品有关原料选择、制备、定值过程、浓度范围等试验资料，对质控品的检测结果*Ct*值范围做出明确的要求。

4.1.5内标

内标，又称内对照，可对管内抑制导致的假阴性结果进行质量控制，应与靶核酸一同提取及扩增。申请人需对内标的引物、探针设计和相关反应体系的浓度做精确验证，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基因检测造成的抑制。明确内标的检测结果*Ct*值范围。建议科学设置内标，对待测样本的取样质量、试剂的反应体系进行监控。

4.1.6企业参考品

该类产品的企业参考品一般包括阳性参考品、阴性参考品、检出限参考品和重复性参考品。应根据产品性能验证的实际需要设置企业参考品。

应提交企业参考品的原料来源、选择、制备、阴阳性及浓度确认方法或试剂等相关验证资料。企业参考品应采用临床样本，或者使用病毒培养物加入阴性基质。企业参考品的设置建议如下：

阳性参考品：应着重考虑不同来源的病毒样本和滴度要求，应至少选取不同来源的5个病毒样本。

阴性参考品：主要涉及对交叉反应的验证情况，建议包括登革病毒（DENV-1～DENV-4）、西尼罗病毒、黄热病毒、乙型脑炎病毒、森林脑炎病毒、基孔肯雅病毒、新型布尼亚病毒、汉坦病毒、汉城病毒、麻疹病毒、风疹病毒、丙型肝炎病毒 、EB病毒、人巨细胞病毒、肠道病毒71型、柯萨奇病毒A16型、埃可病毒、细小病毒B19；立克次体、钩端螺旋体 、疟原虫；伤寒杆菌、金黄色葡萄球菌等。

检出限参考品：可采用95%阳性检出水平或略高于检出限的水平，如100%阳性检出水平。

重复性参考品：建议包括高、低两个浓度的样本，其中一个浓度应为检出限附近的浓度。

4.2生产工艺研究资料

介绍产品主要生产工艺，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。

（四）临床评价资料

该类试剂应通过临床试验路径进行临床评价。临床试验应符合《体外诊断试剂注册与备案管理办法》《医疗器械临床试验质量管理规范》和《体外诊断试剂临床试验技术指导原则》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。下面仅说明该类产品临床试验中应关注的重点问题。

1.临床试验机构

应选择具备相应条件且按照规定备案的医疗器械临床试验机构开展临床试验。寨卡病毒病属于区域性传染性疾病，建议申请人在相关流行病学多发区域开展临床试验。临床试验机构数量应不少于3家，且具有分子生物学方法检测的优势，试验操作人员应有足够的时间熟悉检测系统的各环节（仪器、试剂、质控及操作程序等），熟悉试验方案。在整个试验中，试验体外诊断试剂和对比方法均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可重复性。

2.临床试验方法

2.1与对比方法的比较研究

2.1.1申请人可采用试验体外诊断试剂与核酸序列测定（Sanger测序）方法进行对比试验，评价两种检测方法的一致性。同时还应进行部分与寨卡病毒分离培养鉴定的对比试验。以上两方面评价结果结合起来共同论证试验体外诊断试剂的临床性能。

临床试验资料中应对测序方法进行详细的介绍，并提交性能验证数据，证明测序方法与试验体外诊断试剂的可比性。如测序试验委托其他机构完成，还应提交由临床试验机构委托第三方机构/实验室开展相关试验的测序服务合同/协议，提交相关机构资质证明文件和选择依据。

2.1.2 如有已上市同类产品，临床试验亦可选择已上市的同类产品作为对比试剂，对比试剂的选择应考虑在预期用途、样本类型、产品性能等方面应与试验体外诊断试剂具有良好的可比性。

2.2 与临床参考标准的比较研究

在上述比较研究的基础上，申请人还应采用试验体外诊断试剂与寨卡病毒病诊断的临床参考标准进行比较研究，评价试验体外诊断试剂的临床性能。寨卡病毒病诊断的临床参考标准可参考国家卫健委发布的现行有效的寨卡病毒病诊疗方案推荐的确诊依据。

3.临床试验受试者的选择

临床试验的受试人群应来自产品的预期适用人群，该产品的适用人群为寨卡病毒感染的疑似病例，申请人在进行临床试验时应依据国家卫健委发布的现行有效的寨卡病毒病诊疗方案中对“疑似病例”的定义确定受试者入组标准。同时还应入组部分需要进行鉴别诊断的其他病原体感染病例，如登革热等，对产品临床特异度进行充分评价。根据产品预期适用人群和寨卡病毒病发病特征，临床试验受试者中应包含一定数量的孕妇和婴幼儿受试者。此外临床试验应纳入部分弱阳性样本。

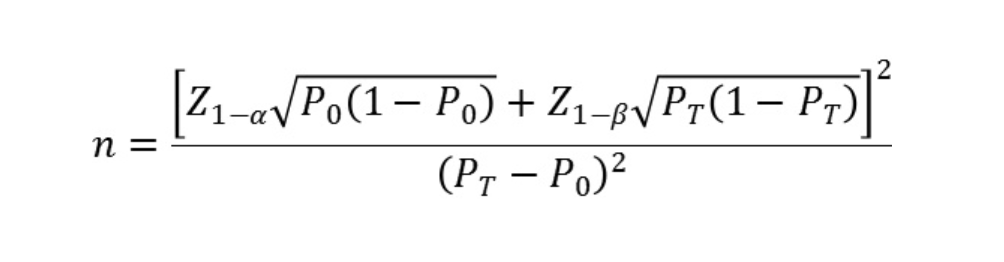
4.临床试验样本类型

寨卡病毒核酸检测可能涉及的样本类型包括血清、血浆、唾液、精液和尿液等。临床样本的采集建议按照国家卫健委发布的相关实验室检测技术方案执行。

如申报产品适用于不同的样本类型，且经分析和验证不同样本类型之间几乎不存在差异，例血清和血浆样本，则临床试验中不同样本类型可进行汇总统计。如不同样本类型在样本基质、干扰因素、被测物浓度水平等方面存在差异，例如血清/血浆与尿液、精液和唾液，则应针对不同样本类型分别进行临床性能评价，包括分别进行样本量的估算等。

5.临床试验样本量

临床试验阳性样本和阴性样本数量应分别满足统计学要求。针对与Sanger测序法或同类已上市产品的对比试验，可采用目标值法公式分别估算最低阳性和阴性样本例数。

****样本量估算公式如下，

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*为试验体外诊断试剂评价指标预期值。

其中阳性符合率和阴性符合率的临床可接受标准（P*0*）建议不低于90%。临床试验结果中，相关评价指标的95%置信区间下限应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和统计学分析，如精确概率法等。

与病毒分离培养鉴定的对比试验亦应入组一定数量的培养阳性及培养阴性病例，可采用抽样精度的公式进行样本量估算。

与临床参考标准对比的比较研究，建议参考上述与对比方法对比的样本量估算方法，设定合理的临床可接受标准。

6.临床试验结果的统计分析

临床试验结果一般以四格表的形式进行总结，并据此计算试验体外诊断试剂的灵敏度和特异度，或与对比方法的阳性/阴性符合率及其95%置信区间。

临床试验报告中应对入组受试者的基本情况进行分析，包括受试者年龄、性别的分布情况，以及临床诊断背景等，确认入组样本具有较好的代表性。临床试验中如涉及不同样本类型，应针对每种样本类型分别进行统计分析（血清、血浆除外）。

临床试验中所有不一致结果均应结合患者的流行病学背景、临床症状、临床诊断以及疾病治疗、转归等信息进行充分的分析。临床试验结果应能够证明产品临床性能满足临床要求。

7.境外临床试验数据的认可

境外临床试验数据应符合《接受医疗器械境外临床试验数据技术指导原则》和《使用体外诊断试剂境外临床试验数据的注册审查指导原则》的相关要求。提交完整的临床试验方案、报告和伦理审查意见，以及该数据适用于中国患者人群的论证资料、境内外临床试验质量管理差异的对比资料和临床试验质量管理差异对于临床试验结果影响的论证资料。

注册申请人应根据上述临床试验技术审评要求，论证境外临床试验数据的充分性。

8.临床试验资料要求

申请人应按照《体外诊断试剂注册与备案管理办法》、《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》等法规文件要求提交各机构伦理审查意见、临床试验方案、临床试验小结、临床试验报告以及临床试验数据库。

（五）产品说明书和标签样稿

产品说明书格式应满足《体外诊断试剂说明书编写指导原则》的要求。产品说明书中技术内容应与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，应以规范格式进行标注，并单独列明文献的相关信息。寨卡病毒核酸检测试剂说明书编写应重点关注以下内容。

1．【预期用途】

1.1试剂盒用于体外定性检测寨卡病毒病疑似病例、其他需要进行寨卡病毒感染诊断或鉴别诊断者的XXX样本（具体描述样本类型）中的寨卡病毒RNA。

1.2有关“疑似病例”等人群的定义参照现行有效的《寨卡病毒病诊疗方案》及《寨卡病毒病防控方案》等文件执行。

1.3简单介绍寨卡病毒病病原学特征、流行病学特征以及临床表现和现有诊断方法等。

1.4强调本试剂盒检测结果仅供临床参考，不得作为临床诊断的唯一标准。建议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。

2.【检验原理】

简述产品的核酸提取和RT-PCR原理。明确内标基因名称及其作用。如采用了防污染措施，进行简要描述。

3.【主要组成成分】

明确试剂盒中各组分及具体成分。明确需要但未提供的材料，例如核酸提取试剂等的产品名称，生产厂家，货号及注册证号、备案号等信息。

4.【样本要求】

4.1样本的收集：分别明确推荐的不同样本类型样本的采集时间（如发病后7天内）。需详细描述样本采集和处理方式，包括采样步骤，灭活方式，采样体积，离心要求等。样本的采集及处理方式若有通用的技术规范或指南，则应遵循，并在此处引用。血浆样本应列明适用的抗凝剂类型。

4.2样本的运送与保存：描述样本及核酸提取液的保存稳定性、运送条件等。如声称样本可以冻存，还应明确冻融次数的限制。

5.【检验方法】

明确核酸提取用的样本体积、洗脱体积和PCR加样体积，阴、阳性质控品与待测样本同步进行核酸提取操作。明确各适用机型的反应参数设置。明确质控品和内标的检测结果*Ct*值范围，作为试验有效性的标准。

6.【检验结果的解释】

通过扩增曲线和*Ct*值进行结果阴阳性的判断，列明结果阴性、阳性、复测、无效等所有情形。

7.【检验方法的局限性】

7.1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。

7.2有关假阳性结果的可能性分析

7.2.1如果样本在运输、处理过程中发生交叉污染，则可能导致假阳性结果；

7.2.2试验环境有PCR产物等气溶胶污染，则可能导致假阳性结果；

7.2.3试验过程中使用的耗材、设备等受污染，则可能导致假阳性结果。

7.3有关假阴性结果的可能性分析

7.3.1不合理的样本采集、转运、储存及处理、样本中病原体含量过低均有可能导致假阴性结果；

7.3.2该病原体待测靶序列的变异或其他原因导致的序列改变可能会导致假阴性结果；

7.3.3 未经验证的其他干扰或PCR抑制因子等可能会导致假阴性结果。

8.【产品性能指标】

简述以下性能指标：

8.1国家标准品和企业参考品的符合率。

8.2检出限：简要介绍评价方法、所用样本情况以及评价结果。

8.3对包容性的研究情况进行总结。

8.4对精密度的研究情况进行总结。

8.5分析特异性

8.5.1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。

8.5.2干扰试验：说明验证的干扰物质种类及有/无干扰反应的浓度水平。

8.6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。

9.【注意事项】

9.1临床实验室应严格按照《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》等有关分子生物学实验室要求、临床基因扩增实验室的管理规范。

9.2 试验操作人员应接受过基因扩增或分子生物学方法检测的专业培训，具备相关的试验操作资格，实验室应符合《病原微生物实验室生物安全管理条例》及其他涉及到传染性病原微生物的管理规定中的相关要求。

9.2试剂保存运输及使用过程中多种因素可能导致性能变化，如保存运输不当、样本采集、样本处理及检测过程操作不规范等，请严格按照说明书操作。

9.3避免实验室污染的措施

1. 参考文献

[1]国家市场监督管理总局.体外诊断试剂注册与备案管理办法:国家市场监督管理总局令第48号[Z]

[2]国家药品监督管理局.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:国家药品监督管理局公告2021年第122号[Z]

[3]国家药品监督管理局 国家卫生健康委.医疗器械临床试验质量管理规范:国家药品监督管理局 国家卫生健康委公告2022年第28号[Z]

[4]国家药品监督管理局.体外诊断试剂临床试验技术指导原则:国家药品监督管理局公告2021年第72号[Z]

[5]国家食品药品监督管理总局.接受医疗器械境外临床试验数据技术指导原则:国家食品药品监督管理总局公告2018年第13号[Z]

[6]国家药品监督管理局.使用体外诊断试剂境外临床试验数据的注册审查指导原则:国家药品监督管理局公告2021年第95号[Z]

[7]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:国家食品药品监督管理总局公告2014年第17号[Z]

[8]中华人民共和国卫生健康委员会.寨卡病毒病诊疗方案（2016年第2版）[Z]2016-03-17

[9]中华人民共和国卫生健康委员会.寨卡病毒病防控方案（第二版）[Z]2016-03-28

[10]卫生部.医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法[Z]2010-12-10

[11]中华人民共和国生态环境部.病原微生物实验室生物安全管理条例:中国人民共和国国务院令第424号公布 2018年第二次修订[Z]