附件4

人类嗜T淋巴细胞病毒抗体检测试剂

注册审查指导原则

本指导原则旨在指导注册申请人对人类嗜T淋巴细胞病毒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。

本指导原则是对人类嗜T淋巴细胞病毒抗体检测试剂注册申报的一般要求，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评人员的指导性文件，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、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、适用范围

本指导原则适用于基于抗原抗体反应原理，采用酶联免疫法或化学发光法等检测技术，对人血清或血浆样本中的人类嗜T淋巴细胞病毒（Human T‐lymphotropic virus，HTLV）1型和2型抗体进行体外定性检测的试剂。结合临床和其他实验室指标，用于人类嗜T淋巴细胞病毒感染的辅助诊断。人类嗜T淋巴细胞病毒的生物学特征，相关疾病以及相关的实验室检查方法等背景信息见附件。

对基于其他方法学或样本类型的试剂，可能部分要求不完全适用或本文所述内容不够全面，申请人可以参照本指导原则，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验证。

本指导原则适用于人类嗜T淋巴细胞病毒抗体检测试剂注册申请和变更申请的情形。本指导原则仅针对人类嗜T淋巴细胞病毒抗体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。

本指导原则不适用于国家法定血源筛查用人类嗜T淋巴细胞病毒抗体检测试剂。

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，如产品名称可命名为人类嗜T淋巴细胞病毒抗体检测试剂（酶联免疫法）。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

综述资料主要包括产品描述、预期用途、申报产品上市历史等内容。产品描述中应说明产品所采用的技术原理。同类产品上市情况介绍部分应着重从方法学、检测原理、特异性抗原抗体等主要组成成分、样本类型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。

（三）非临床资料

1.产品技术要求及检验报告

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，按照《医疗器械产品技术要求编写指导原则》的要求编写。该类产品作为第三类体外诊断试剂，应当以附录形式明确主要原材料及生产工艺要求。

如有适用的国家标准、行业标准，产品技术要求的相关要求应不低于相应的要求。

该项目已有国家标准品，技术要求中应体现国家标准品的相关要求，并使用国家标准品对三批产品进行检验。

人类嗜T淋巴细胞病毒抗体检测试剂的产品性能指标应主要包括：物理性状、阳性参考品符合率、阴性参考品符合率、重复性、最低检出限等。

2.分析性能研究

申请人应提交在符合质量管理体系的生产环境下生产的试剂进行的所有性能评估资料，包括具体研究方法、试验方案、试验数据、统计分析等详细资料。分析性能评估的试验方法可以参考国际或国内有关体外诊断试剂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。

2.1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保存时间。可以在合理的温度范围内，每间隔一定的时间段即对储存样本进行验证，从而确认不同类型样本的稳定性。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

如果试剂适用于多种样本类型，应分别进行性能评估评价每种样本类型的适用性。如产品适用于血清和血浆，可采用同源比对验证样本的可比性和各种抗凝剂的适用性。

2.3企业参考品检验

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。

2.4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。

设定合理的精密度评价周期，至少采用3个水平的真实样本进行精密度评价。具体要求如下：

2.4.1阴性样本：待测物浓度低于最低检出限或为零浓度，阴性符合率应为100%（n≥20）。

2.4.2弱阳性样本：待测物浓度呈弱反应性，阳性检出率应大于95%（n≥20）。

2.4.3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%（n≥20）。

2.5检出限

建议采用已明确HTLV抗体滴度的临床阳性样本，采用阴性样本进行系列稀释，进行最低检出限的建立和验证。应采用合理方法确认抗体类型和滴度，提供详细的确认方法及结果。

2.5.1最低检出限的确定

建议选取至少3份不同来源的临床样本，系列稀释获得多个浓度梯度，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出限。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%及以上阳性检出率的最低浓度作为最低检出限。

不同来源样本建议选择经由免疫印迹法确认且抗体反应谱有差异的样本。

2.5.2最低检出限的验证

选择与确定样本不同的3份临床样本，采用阴性样本稀释到最低检出限浓度水平，重复检测多次进行验证，应达到95%及以上阳性检出率。

2.5.3建议采用商业参考盘分析申报产品检测结果与经确认结果的符合情况，评价申报产品的检出限。

建议在检出限或商业参考盘检测中同时包含HTLV-1和HTLV-2型抗体的研究。

2.6分析特异性

2.6.1交叉反应

应对HTLV的近缘微生物抗体，易引起相同或相似的临床症状、及易合并感染的微生物抗体进行交叉反应验证。交叉反应用临床样本中相关病原体抗体滴度水平应较高，进行交叉反应的验证。应提供用于交叉反应验证的样本来源、阴阳性和滴度确认等信息。

抗体试剂建议进行的交叉反应病原体：人类免疫缺陷病毒、梅毒螺旋体、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、巨细胞病毒、EB病毒等。

2.6.2干扰试验

应根据所采集样本类型，选择适用的干扰物质进行研究。建议申请人在每种干扰物质的潜在最大浓度（“最差条件”）下，采用待测抗体为弱阳性和阴性水平的多例样本进行试验，应至少包括下列可能的干扰物质。

内源性干扰物质：血红蛋白、胆红素、血脂、类风湿因子、其他自身免疫性抗体，异嗜性抗体（如HAMA）、总IgG、总IgM及来自妊娠期妇女的样本。

2.7高剂量钩状效应（HOOK）（如适用）

采用多份高滴度临床样本进行梯度稀释后由低浓度至高浓度分别检测，每个梯度的稀释液重复3～5次，对钩状效应进行合理的验证。

2.8反应体系

反应体系研究资料包括样本的制备方式（采集和处理）、样本要求、样本用量、试剂用量、反应条件、质控方法、结果判读方式等。

反应条件确定：申请人应考虑反应时间、判读时间、反应温度、洗涤液体积和洗涤次数（如涉及）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。

反应体系中样本加样方式及加样量确定：通过试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，注册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。

3.稳定性研究

主要包括实时稳定性（有效期）、开瓶（开封）稳定性、冻融稳定性（如涉及）、机载稳定性（如涉及）、运输稳定性等研究。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、接受标准、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。

4.阳性判断值研究

提交对申报试剂阴性/阳性结果判断的阳性判断值（cut-off）研究资料，包括具体的试验方案、人群及样本选择、评价标准、统计学分析和研究数据等。建立阳性判断值的样本选择应考虑不同的地理区域、不同的感染阶段和生理状态等因素的影响，纳入阴性、阳性及临界值附近的样本。申请人应根据具体情况选择适当的方法，如受试者工作特征曲线（ROC）的分析方式，来确定合理的阳性判断值。若试验结果存在灰区，则应明确灰区建立的基础。

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一般包括抗原、抗体、对照品/质控品和企业参考品等。如主要原材料为企业自制，应提供其详细的制备、鉴定和质量控制过程，其制备工艺必须相对稳定；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、选定的供应商名称，供应商提供的原材料检验报告（质量证书），以及该原材料到货后的入厂检验报告，供应商应为原材料的生产商。申请人应对各主要原材料均明确质量控制标准。

5.1.1抗原

应注重抗原表位的选择，详述选择该抗原的依据及过程。详细描述抗原的名称，生物学来源、供应商、天然/重组表达信息，提交抗原制备、纯化、鉴定及质量标准（外观、蛋白浓度、纯度、分子量、功能性试验等）等详细试验资料。

5.1.2抗体

抗体的选择依据及过程，提交抗体名称、生物学来源、免疫原、克隆号及质量标准（外观、蛋白浓度、纯度、分子量、效价、功能性试验等）等详细试验资料。

5.1.3质控品

质控品应至少包含阴性和阳性两个水平。阳性质控品可选择经合理稀释的临床阳性样本/抗体等；阴性质控品建议选择临床阴性样本或阴性基质。提交相关原料的来源、选择和阴、阳性确认、溯源等相关研究资料。企业应对质控品的检测结果做出明确的范围要求（试验有效性的判断）。

5.1.4其他主要原材料

除上述主要原材料外，产品中包含的其他主要原辅料，如标记物（如辣根过氧化物酶等）、发光底物（如吖啶酯等）、微孔板、磁微粒等，均应进行验证，并提交相关资料。明确主要原辅料的供应商和质量控制标准。

5.1.5企业参考品

企业参考品是保证产品性能稳定的重要构成之一。应提交企业参考品的原料来源、选择、制备、阴阳性及浓度/滴度确认方法或试剂等相关验证资料。企业参考品的设置应至少包括：阳性参考品、阴性参考品、检出限参考品和重复性参考品。

其中阳性参考品重在评估产品的包容性，应选择不同来源的临床样本，并设置不同滴度水平。阴性参考品应可评价产品的特异性，应包含可能的干扰和交叉样本。检出限参考品可设置临床阳性样本的系列稀释样本，其中应包含最低检出限水平，并包含常见型别。重复性参考品可设置至少两个水平的临床阳性样本，包括弱阳性样本。

5.2生产工艺研究资料

5.2.1产品基本反应原理介绍。

5.2.2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。

5.2.3包被/标记工艺研究，申请人应考虑如包被/标记液量、浓度、时间、条件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。

5.2.4显色系统、酶作用底物等的介绍以及最适条件研究。

5.2.5详细描述为消除干扰影响、降低假阳性率等采取的特殊工艺处理（如表面活性剂的选择）。

（四）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》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.临床试验机构

选择不少于3家（含3家）备案的临床试验机构，按照相关法规和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试验体外诊断试剂的特点，并综合考虑流行病学等情况。

2.受试者选择和样本类型

2.1受试者选择

临床试验方案应根据试验体外诊断试剂的预期用途等确定临床试验受试者的入组和排除标准，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HTLV感染检查的人群，如：具有HTLV感染疑似症状/体征的人群、重点流行区域人群（应在数据汇总表中明确受试者所在地区）或具有感染家族史人群（应在数据汇总表中明确家族史相关信息）。阳性病例应包括无症状感染期及发病期病例，发病期病例包括人类（成人）T淋巴细胞白血病/淋巴瘤（ATLL）、HTLV-1相关性脊髓病/热带痉挛性瘫痪（HAM/TSP）等相关疾病病例。

入组人群应包含不同年龄段和不同性别人群，应尽量覆盖各类适用人群。临床试验中还应纳入其他可能会造成交叉反应的病原体感染的样本（如：乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒和人类免疫缺陷病毒），以及需与HTLV-1感染进行鉴别诊断的其他疾病患者的样本（如：外周T细胞淋巴瘤和皮肤T细胞淋巴瘤等）。

对于我国境内罕见的HTLV-2型，也应进行适当验证，优先入组HTLV感染者，考虑到此类样本的不易获得性，也可来源于血清盘等经过科学验证的临床样本。

临床试验中还应注意纳入一定数量的低滴度/弱阳性样本。

2.2 样本类型

适用的样本类型一般包括血清和血浆。如试验体外诊断试剂所适用的样本类型同时包含血清和血浆，且临床前研究证实二者的检测性能无差异，则临床试验中可将两种样本类型的结果进行汇总统计。临床试验中亦可进行两种样本类型的同源比对。

临床样本的采集、处理和保存等应分别满足临床试验中所涉及各产品说明书的相关要求。

3.临床试验方法

临床试验可采用试验体外诊断试剂与已上市同类产品（对比试剂）进行比较研究，确认产品的临床性能。对比试剂在预期用途、适用人群、样本类型和检测性能等方面应与试验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。

4.临床试验样本量

临床试验的样本量应满足统计学要求。建议对比试剂检测为阳性的样本不少于200例，其中发病期病例应有一定的例数，HTLV-2型阳性样本不少于10例。建议对比试剂检测为阴性的样本不低于500例。

5.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，一般选择2×2表的形式总结两种试剂的检测结果，并计算阳性符合率、阴性符合率和总符合率等指标及相应的95%置信区间。

阳性符合率置信区间下限一般不低于90%，阴性符合率置信区间下限一般不低于95%。

临床试验中不一致结果均应结合患者的流行病学背景、临床症状和患者的免疫状态以及其他检验结果等信息对差异原因进行充分分析。

6.伦理学要求

临床试验应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。

7.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、临床医学和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同一临床试验方案，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，申请人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。

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》及关于实施《医疗器械临床试验质量管理规范》有关事项的通告附件《体外诊断试剂临床试验报告范本》的相关要求。

（五）产品说明书

产品说明书编写应符合《体外诊断试剂说明书编写指导原则（2023年修订版）》的要求。试验体外诊断试剂的产品说明书在符合前述指导原则的基础上，应注意：

1．【预期用途】

产品预期用途的描述应符合相关疾病现行的疾病防治指南。建议产品预期用途包括如下内容：

本产品用于体外定性检测人××（如血清、血浆）样本中的人类嗜T淋巴细胞病毒1型和2型抗体。

本产品用于人类嗜T淋巴细胞病毒感染的辅助诊断，不用于血源筛查。本试剂盒检测结果仅供临床参考，建议结合患者临床表现和其他实验室检测结果对病情进行综合分析。

临床背景描述：简单介绍病原体的生物学特征、流行病学特征、潜伏期、易感人群和感染后的临床表现及相关疾病等。简要介绍现有的HTLV临床或实验室诊断方法。

2.【样本要求】

2.1样本采集：明确采集时间、采集顺序和采集量等，是否受临床症状和用药情况等因素的影响。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。

2.2样本处理及保存：样本处理方法和保存条件（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。冷藏或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。如需专用采样工具应进行详细说明。

3.【检验方法】

详细说明试验操作的各个步骤：

3.1实验环境：实验室的温度、湿度要求，检测试剂及样本的复温要求等。

3.2试剂配制方法，试剂开封后使用方法等。

3.3高浓度样本稀释的方法。

3.4试验条件：操作步骤、温度、时间和仪器波长等。

3.5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。

3.6特别说明检验操作过程中的注意事项。

4.【阳性判断值】

说明阳性判断值，并简要说明阳性判断值确定的试验方法。如阳性判断值需进行计算确定，详细描述具体计算方法。

5.【检验结果的解释】

结合质控品以及样本的检测结果，对所有可能出现的结果组合及相应的解释进行详述。

对于检测试剂应明确试验无反应，报告为“HTLV抗体阴性”。试验有反应，是否需要进行复测，复测不同结果的解释和处理均应说明。检验结果的解释应以阳性判断值的研究结论为依据。如有灰区判定，详细说明灰区样本的处理方法。

6.【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，建议包括以下内容：

6.1 本试剂盒的检测结果不得作为临床诊治的唯一依据，对患者的临床管理应结合其症状/体征、病史和其他实验室检查及治疗反应等情况综合考虑。

6.2不合理的样本采集、转运和处理及不当的实验操作和实验环境均有可能导致假阴性或假阳性结果。

6.3感染初期，抗体可能未产生或者产生水平低于产品最低检出限，而产生阴性结果。

6.4免疫功能受损人群，其血清学抗体检测的参考价值有限，可能会导致错误的医学解释。

6.5在近几个月内接受过输血或其他血液制品治疗的人群，对其阳性检测结果的分析应慎重。

7.【产品性能指标】

根据产品性能评估资料，详述以下性能指标：企业参考品符合率、最低检出限、精密度、分析特异性（交叉反应和干扰试验）、钩状（HOOK）效应、临床评价资料的总结。介绍所用样本背景信息、数量和浓度，评价方法及检测结果。

8.【注意事项】

应至少包括以下内容：

8.1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）、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。

8.2血清和血浆的运送应符合生物安全要求，参照《可感染人类的高致病性病原微生物菌（毒）种或样本运输管理规定》。

三、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2021年第122号[Z].

[3]国家药品监督管理局.体外诊断试剂说明书编写指导原则.国家药品监督管理局2024年第1号[Z]

[4]国家药品监督管理局.医疗器械产品技术要求编写指导原则.国家药品监督管理局2022年第8号[Z].

[5]国家药品监督管理局.体外诊断试剂分类规则.国家药品监督管理局2021年第129号[Z].

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

[7]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2021年第72号[Z].

[8]姬慧敏,王露楠.中国输血行业发展报告（2022）[M].北京:社会科学文献出版社,2022.242-250.

附件

背景信息

人类嗜T淋巴细胞病毒(HTLV)是首个发现与癌症相关的RNA逆转录病毒。至今，共有四种HTLV亚型被分离出来，即HTLV-1~4。目前，在全球范围内分布和流行最广的是HTLV-1型和HTLV-2型，它们的基因同源性极高，达到了70%以上，抗原性也高度重叠，90%的HTLV-2型感染可用HTLV-1型抗原检测出来。HTLV-1型包括不同的亚型A~F，在全世界范围内的流行具有区域性，发病率最高的地理区域是日本、非洲、加勒比岛屿和南美洲。HTLV-2型包括不同的亚型A~D，其中A和B为两个主要亚型，HTLV-2型在美国印第安人、非洲俾格米人和静脉注射吸毒者中的流行率较高。我国在全世界范围内属于HTLV低流行区，其中福建省的HTLV流行率显著高于我国其他地区，在福建以外的其他区域，HTLV的流行呈现地区性聚集现象。我国境内流行的HTLV主要为HTLV-1型，HTLV-2型较为罕见。

HTLV在体内主要感染CD4+T淋巴细胞，其主要的传播途径为母婴传播、经血液传播和性传播等。HTLV感染人体后能在体内长期潜伏，大多数HTLV-1型感染者为终身无症状携带者，不到5%的HTLV-1型感染者发展为人类（成人）T淋巴细胞白血病/淋巴瘤(adult T-cell leukemia/lymphoma, ATLL)，还有很低比例的人发展为HTLV-1相关性脊髓病和/或热带痉挛性瘫痪(HTLV-1 associaled myelopathy/ tropical spastic paraparesis, HAM/TSP)。除此之外，葡萄膜炎、结膜炎、关节炎等多种疾病都被报道与HTLV-1型有相关性，但发病率较低。

HTLV-1和HTLV-2抗体在感染后4-8周内产生，血清特异性抗体检测是目前HTLV感染辅助诊断的主要方法，酶联免疫法或化学发光法抗体检测试剂在临床中广泛应用，常用于出现HTLV感染疑似症状/体征、有可疑或确诊的HTLV病毒感染暴露史等情况时的检测。蛋白印迹试验(WB)、条带免疫印迹(LIA)、间接免疫荧光试验(IFA)、放射免疫沉淀试验(RIPA)和PCR法等是检测HTLV主要的确认实验，其中WB的应用范围最广。HTLV感染的诊断应根据流行病学史、临床表现及实验室检查结果进行综合判断。