流行性感冒病毒核酸检测试剂注册审查指导原则（2022年修订版征求意见稿）

本指导原则旨在指导注册申请人对流行性感冒病毒（以下简称流感病毒）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对注册申报资料的技术审评提供参考。

本指导原则是对流感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　 本指导原则适用于采用逆转录实时荧光 PCR法，对人口咽拭子、鼻咽拭子、痰液、鼻拭子、抽吸液等呼吸道分泌物样本中的流感病毒核酸进行体外定性的检测试剂。

对于采用其他方法学或其他样本类型的流感病毒核酸检测试剂，可能部分要求不完全适用或本文所述内容不够全面，申请人可参照本指导原则，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。

流感病毒属于正粘病毒科，是单股、负链、分节段的RNA病毒。根据核蛋白和基质蛋白不同可分为甲、乙、丙、丁（或A、B、C、D）四型。甲型流感病毒根据病毒表面的血凝素（hemagglutinin，HA）及神经氨酸酶（neuraminidase，NA）的蛋白结构和基因特异性，可分为多种亚型。目前发现的HA和NA分别有18个（H1-18）和11个（N1-11）亚型。乙型流感病毒分为Victoria系和Yamagta系。目前引起流感季节性流行的病毒是甲型流感病毒中的H1N1、H3N2亚型及乙型流感病毒中的Victoria和Yamagta系。

流感病毒核酸检测试剂可用于流感的辅助诊断，甲型流感病毒各亚型的核酸检测试剂还可用于区分季节性流感病毒和新型甲型流感病毒，并可获得关于流感暴发的流行病学信息。  
　　本指导原则适用于进行相关注册申请和变更注册申请的产品。本指导原则针对流感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。

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，如甲型/乙型流感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. 产品技术要求及检验报告

注册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，结合产品特性按照《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以及生产工艺要求。

甲型、乙型流感病毒核酸检测试剂已有国家参考品，技术要求中应体现国家标准品的相关要求，并使用国家参考品对三批产品进行检验。

如果有适用的国家标准、行业标准，产品技术要求的相关要求应不低于相应的要求。

2. 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。

如申报产品适用不同的机型，需要提交采用不同机型进行性能评估的资料。如申报产品包含不同的包装规格，需要对各包装规格进行分析或验证。

适用的不同样本类型应分别进行分析性能研究。

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。研究中采用的流行性感冒病毒阳性样本，应采用合理方法确定其阴阳性和浓度水平，包括拷贝数、Ct值、TCID50值等，并提交具体的实验资料。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或病毒培养物，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 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。

2.1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研究，包括采集后未经处理的样本，加入不同裂解液/消化液的样本，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。

如产品适用拭子、痰液等不同的样本类型，因其中干扰物质存在较大差异，可能对病毒RNA降解的影响不同，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，还需对核酸提取液的保存条件和稳定性进行研究。  
　 2.2适用的样本类型

列明产品适用的样本类型。

2.3准确度

采用申报试剂与诊断准确度标准或已上市产品，同时检测临床样本，比较检测结果之间的一致性程度，进行申报试剂的准确度评价。

样本应选择符合样本稳定性的预期人群样本。研究应纳入一定数量的阴性和阳性样本，并注意包含一定数量的阳性判断值附近的样本和干扰样本。

2.4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。

2.5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。

应采用临床样本进行精密度评价，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：不含待测物或待测物浓度为零时，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≤10%（*n*≥20）。

2.6检出限  
　2.6.1检出限的确定

建议使用不同来源的至少3例临床样本或病毒培养物采用梯度稀释的方式进行检出限的确定，每个梯度的病毒稀释液重复3～5份，每份稀释液重复检测不少于20次，将具有95%阳性检出率的病毒水平作为检出限。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。

在进行检出限建立时申请人应对申报产品声称可检测流感病毒的类型及其亚型分别进行研究，甲型流感病毒应至少包括H1N1、H3N2亚型，乙型流感病毒应包括Victoria系和Yamagta系。

2.6.2检出限的验证  
　　选择具有时间和区域特征性的至少3个样本（与检出限确定不同样本）在检出限浓度水平进行验证，应达到95%阳性检出率。

检出限验证的样本型别应覆盖H1N1（新型甲型H1N1流感病毒（2009）、季节性H1N1流感病毒、甲型流感病毒H3N2、H5N1和H7N9亚型，乙型流感Yamagata系和Victoria系以及近3年内我国出现的新的流行亚型，具体可参考中国国家流感中心发布的流感监测报告。

应提供详细的病毒滴度的确定方法，同时应详细描述病毒样本的确认方法及验证结果。

2.7包容性

2.7.1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待测类型流感病毒核酸序列。

2.7.2验证样本型别应覆盖H1N1（新型甲型H1N1流感病毒（2009）、季节性H1N1流感病毒、甲型流感病毒H3N2、H5N1和H7N9亚型，乙型流感病毒Yamagata系和Victoria系以及近3年内出现的新的流行亚型。每种亚型应使用具有时间和区域特征性的不同来源的多例阳性样本（临床样本或病毒培养物）进行研究，应包括检出限和重复性的验证。

申请人应提供用于包容性验证的病毒株的来源、型别确认、滴度确定等信息。

2.8分析特异性  
　　2.8.1交叉反应  
　　用于流感病毒核酸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：核酸序列具有同源性、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。  
　　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。  
　　首先，应在流感病毒不同类型和亚型间进行交叉反应验证，应使用病毒最高临床水平浓度进行；其次，采用其他的病原微生物进行验证（见表1）。  
　　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　推荐用于交叉反应性研究的微生物

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 博卡病毒 | 肺炎支原体 | 诺卡菌＊ |
| 巨细胞病毒 | 脑膜炎奈瑟菌＊ | 粘质沙雷菌＊ |
| 单纯疱疹病毒1型 | 奈瑟氏菌属 | 柠檬酸杆菌＊ |
| 水痘带状疱疹病毒 | 铜绿假单胞菌＊ | 隐球菌＊ |
| EB病毒 | 金黄色葡萄球菌 | 烟曲霉＊ |
| 百日咳杆菌 | 表皮葡萄球菌 | 黄曲霉＊ |
| 肺炎衣原体 | 肺炎链球菌 | 肺孢子菌 |
| 棒状杆菌属 | 化脓性链球菌 | 白念珠菌 |
| 大肠杆菌＊ | 唾液链球菌 | 粘液罗氏菌＊ |
| 流感嗜血杆菌 | 鲍曼不动杆菌＊ | 口腔链球菌＊ |
| 乳酸杆菌属 | 嗜麦芽窄食单胞菌＊ | 肺炎克雷伯菌 |
| 嗜肺军团菌 | 洋葱伯克霍尔德菌＊ | 鹦鹉热衣原体＊ |
| 卡他莫拉菌 | 纹带棒杆菌＊ | Q 热立克次体＊ |
| 结核分枝杆菌减毒株＊ | 新型冠状病毒  2019-nCoV |  |

　　　　　　　　　\*项：选择性验证。

2.8.2竞争性干扰

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

2.8.3干扰物质  
　　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和阴性水平在内的常见亚型流感病毒样本。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　推荐用于干扰研究的物质

|  |  |
| --- | --- |
| 物质 | 活性成分 |
| 粘蛋白 | 纯化粘蛋白 |
| 血液（人类） |  |
| 鼻腔喷雾剂或滴鼻剂 | 苯福林、羟甲唑啉、氯化钠（含防腐剂） |
| 鼻用皮肤类固醇 | 倍氯美松、地塞米松、氟尼缩松、曲安奈德、布地奈德、莫米松、氟替卡松 |
| 过敏性症状缓解药物 | 盐酸组胺 |
| 流感疫苗 | 鼻内活流感病毒疫苗 |
| 润喉片、口服麻醉剂和镇痛剂 | 苯佐卡因、薄荷脑 |
| 抗病毒药物 | 扎那米韦、利巴韦林、奥司他韦、帕拉米韦 |
| 抗生素、鼻用软膏 | 莫匹罗星 |
| 全身性抗菌药 | 妥布霉素 |

2.9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进行抗干扰、精密度和检出限的验证。

2.10反应体系

2.10.1样本采集和处理

2.10.1.1样本采集方式的选择

2.10.1.2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。

2.10.1.3采样拭子及样本保存液的选择：对拭子头和拭子杆的材质要求。明确保存液或裂解液的成分、浓度、使用量的要求等。配套的不同保存液或裂解液需验证检出限和重复性。

2.10.1.4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。

2.10.2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。

3. 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）、运输稳定性、开瓶稳定性、机载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。

4. 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和高阴性水平的样本。建议申请人采用受试者工作特征（ROC）曲线的方式对申报产品进行阳性判断值研究。如存在判定值灰区，应提供灰区的确认资料。如采用其他方法对阳性判断值进行确认研究，应说明这种方法的合理性。提供内标值的确定方法和研究资料。  
 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。

5. 其他资料

5.1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。

5.1.1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流感病毒序列的比对，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、不同滴度的流感病毒核酸阳性样本，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。

5.1.2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。

5.1.3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。

5.1.4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，可采用假病毒等制备。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。

5.1.5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。

5. 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：阳性参考品应设置不同的浓度水平，并应根据申报产品声称可检测流感病毒的类型及亚型情况分别设置，甲型流感病毒应至少包括H1N1、H3N2亚型；乙型流感病毒应包括Victoria系和Yamagta系。

阴性参考品：主要涉及对交叉反应的验证情况，纳入正常临床样本、含除待测类型流感病毒外其他类型流感病毒阳性的样本及含有冠状病毒、肠道病毒、呼吸道合胞病毒、副流感病毒、腺病毒等其他病原体阳性的样本。

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。应针对申报产品声称可检出的不同类型流感病毒分别设置。

精密度参考品：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。应针对申报产品声称可检出的不同类型流感病毒分别设置。

5.2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

1.临床试验机构

申请人应选择至少3家备案的医疗器械临床试验机构开展临床试验。考虑到流感病毒不同病毒株的区域性特征较强，建议申请人在国内不同区域选择临床单位，尽量使各单位的临床样本具有一定的区域代表性；临床试验机构应具有呼吸道疾患诊疗、病毒分离培养鉴定方法或分子生物学方法检测的优势，在整个实验中，试验体外诊断试剂（以下称考核试剂）和对比方法都应处于有效的质量控制下，最大限度保证实验数据的准确性及可重复性。

2.临床试验适用人群和样本类型

临床试验应按照入组标准纳入受试者，应选择具有流感症状/体征(如：咳嗽、鼻塞、鼻漏、咽喉疼痛、发烧、头疼或肌痛等)、流感相似症状或有密切接触史的人群作为适用人群，应尽量覆盖各个年龄段人群。对于通用型甲型、乙型流感病毒核酸检测试剂，临床试验人群应至少涵盖近3年主要流行亚型，可参考中国国家流感中心的流感监测报告。  
　　对于甲型流感病毒新亚型试剂，临床试验所选择病例除甲型流感病毒新亚型感染者及密切接触者外，还应包括其他当年流行的季节性流感病毒感染患者、非流感病毒感染但具有流感样症状的患者等。其临床试验应能够体现该产品对甲型流感病毒新亚型检测的特异性。  
　 临床试验应对考核试剂声称的各种样本类型分别进行验证，应采用临床原始样本进行临床试验，临床样本的处理和保存等应分别满足考核试剂及对比试剂说明书的相关要求。  
　 3.临床试验对比方法  
 3.1 对于已有同类产品上市的试剂，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，采用考核试剂与之进行对比试验研究，证明本品与已上市产品等效或优于已上市产品。  
 3.2 对于无同类产品上市的新亚型试剂，临床试验对比方法应以核酸序列测定为主，辅以病毒分离培养鉴定。其中，用于核酸序列测定的引物应不同于考核试剂的引物。

3.3对于无同类产品上市的新样本类型试剂，在充分考虑样本类型差异的前提下，临床试验对比方法可选择3.2小节的对比方法，也可选择样本类型等具有可比性的已上市同类产品。

4.临床试验最低样本量

目前常见的样本类型为咽拭子，下述样本量估算均以咽拭子样本为例。如涉及其他样本类型，应充分考虑各样本类型之间的差异。如样本类型差异较大，应分别进行样本量估算。  
 4.1 对于已有同类产品上市的试剂

建议采用单组目标值法进行最低样本量的估算，通过阳性和阴性符合率分别估算阳性和阴性样本量，并详细描述各参数的确定依据。阳性和阴性符合率的临床可接受标准（P0）建议不低于90%。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。

4.2 对于无同类产品上市的新亚型试剂

以核酸序列测定作为对比方法时，可参考4.1小节样本量的估算方法。

以病毒分离培养鉴定作为对比方法时，建议采用抽样调查公式进行最低样本量的估算，通过临床灵敏度和特异度分别估算阳性和阴性样本量，并详细描述各参数的确定依据。临床灵敏度的预期值建议不低于95%，临床特异度预期值的设定应有充分依据。

4.3 对于无同类产品上市的新样本类型试剂

如选择3.2小节所述对比方法，可参考4.2小结样本量的估算方法。

如选择具有可比性的已上市同类产品作为对比试剂，可参考4.1小节样本量的估算。

5.统计学分析  
　　常选择交叉四格表形式总结两种方法的结果，评价阳性符合率/阴性符合率、灵敏度/特异度，并计算相应的95%置信区间。不同样本类型和不同对比方法均应分别进行统计分析。对各临床试验机构的病例数、年龄分布情况进行分类汇总。

对两种试剂检测结果不一致的样本，应采用临床参考标准或临床上普遍认为质量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对差异原因及可能结果进行分析。

6.其他

对于已批准上市的甲型流感病毒核酸（通用型）检测试剂，如在其注册证有效期内出现了甲流病毒新亚型的暴发流行，建议申请人对甲流病毒新亚型进行临床试验，可采用针对甲型流病毒新亚型的病毒培养鉴定或临床参考标准作为对比方法，分别对来自甲型流感病毒新亚型感染、其他常见的流感病毒亚型（如当年流行的季节性甲型流感病毒）及非流感病毒感染但具有流感样症状的患者的新鲜样本进行比对试验。申请人应针对产品预期用途覆盖病毒亚型的变化提出变更注册申请，按照法规要求提交临床试验等资料。

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。应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。

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。各临床试验机构的方案设置应一致，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研究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。各研究单位选用的对比试剂应完全一致，以便进行合理的统计学分析。另外，考核试剂的样本类型不应超越对比试剂对样本类型的检测要求，如果选择了对比试剂适用样本类型以外的样本，则应选择病毒分离培养鉴定或其他合理方法对额外的样本类型进行验证。  
 9.临床试验小结和报告

临床试验小结和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。

（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。流感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】  应至少包括以下几部分内容：

1.1试剂盒用于定性检测人口咽拭子、鼻咽拭子、鼻拭子、痰液、抽吸液等呼吸道分泌物样本（根据具体情况描述）中X型流感病毒核酸（根据实际情况描述）。

1.2简单介绍待测目标的特征，如病毒种系渊源、生物学性状、宿主特性、致病性、感染后临床表现、待测靶基因特征等。  
　　1.3待测人群特征介绍：具有流感样症状的患者、相关的密切接触者、地域要求或年龄限制（如有）等。

1.4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】

简述试剂盒技术原理，及核酸分离/纯化方法、原理。说明检测的靶基因座位；介绍引物及探针设计/对照品（质控品）设置及荧光信号标记等。明确内标基因名称及其作用。如添加了相关的防污染组分，也应对其作用机理作适当介绍。

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.【储存条件及有效期】  
　　试剂盒的效期稳定性、开瓶稳定性、复溶稳定性、运输稳定性、冻融次数(如适用)要求等，应与相应的稳定性研究结论一致。

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】  重点明确以下内容：  
　　需详细描述样本采集和处理方式，包括采样时间点的选择、采集部位及类型、采样步骤，适用的拭子材质，保存液、消化液的使用体积，灭活方式等。描述样本及核酸提取液的保存稳定性。

7.【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，作为实验有效性的标准。  
 8.【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。

9.【检验方法局限性】  
　　9.1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。  
　　9.2有关假阴性结果的可能性分析  
　　9.2.1不合理的样本采集、转运及处理、样本中病毒滴度过低均有可能导致假阴性结果。  
　　9.2.2流感病毒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。  
　　9.2.3对于突发的新型流感病毒，其检测的最适样本类型及感染后的最佳采样时间可能尚未确认，因此，在同一患者分次、多部位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或PCR抑制因子，可能会导致假阴性结果（如有）。  
　　9.3有关假阳性结果的可能性分析

9.3.1 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；

9.3.2 实验环境有PCR产物等气溶胶污染，则可能导致假阳性结果；

9.3.3 实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。

9.3.4取标本期间，接种减毒活疫苗的患者可能会导致检测试剂检测结果呈阳性

10.【产品性能指标】 详述以下性能指标：  
　　10.1国家标准品（如有）和企业参考品的符合情况。对于甲型流感通用型核酸检测试剂，应列出所有验证过的甲型流感病毒各亚型病毒株的信息。  
　　10.2检出限：简要介绍评价方法、所用样本情况以及评价结果。

10.3对包容性的研究情况进行总结。  
　　10.4精密度：对精密度的研究情况进行总结。  
　　10.5分析特异性  
　　10.5.1甲型流感病毒各亚型间的交叉反应验证：针对甲型流感病毒亚型检测的试剂盒，则应对较常见的除目的基因外的其他亚型进行交叉反应验证并对结果进行合理分析；  
　　10.5.2交叉反应：易产生交叉反应的其他病原体核酸的验证情况，建议以列表的方式表示经过交叉反应验证的病原体名称、型别、浓度等信息；  
　　10.5.3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。  
　　10.6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。  
 11.【注意事项】应至少包括以下内容：  
　 11.1如该产品含有人源或动物源性物质，应给出生物安全性的警告。

11.2临床实验室应严格按照《医疗机构临床基因扩增实验室管理办法》等有关分子生物学实验室、临床基因扩增实验室的管理规范执行。

11.3强调产品性能仅针对声称的适用样本类型及【样本要求】项下说明的样本采集和处理方法（包括样本采集液等）进行了验证，其他样本类型或样本采集、处理方法不能保证产品性能。

11.4避免实验室污染的措施

11.5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。因拭子等样本采集过程及病毒感染过程本身的特点，可能存在采集到的样本量不足等原因带来的假阴性结果，应结合临床其他诊疗信息综合判断，必要时复测。  
　　三、参考文献：　　[1]《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2021）[Z].

[2]《体外诊断试剂临床研究技术指导原则》（国药监局2021年第72号）[Z].

[3]《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2014年第17号）[Z].

[4]《医疗器械产品技术要求编写指导原则》（国家药监局2022年第8号）[Z].

[5]《定性检测体外诊断试剂分析性能评估注册审查指导原则》（国家药监局医疗器械技术审评中心2022年第36号）[Z].

[6]流行性感冒诊疗方案（2020）

[7]流感病毒疫苗预防接种技术指南（2022-2023）

[8]流行性感冒病毒抗病毒药物治疗与预防应用专家共识（2016）

[9]中国成人流行性感冒诊疗规范急诊专家共识（2019）

[10]儿童流行性感冒中西医结合防治专家共识（2021）  
　　[11]Establishing the Performance Characteristics of In Vitro Diagnostic Devices for the Detection or Detection and Differentiation of Influenza Viruses, CDRH, FDA, USA, July 15, 2011  
　　[12]Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline—Second Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute (Formerly NCCLS), MM3-A2, Vol26 No.8, ISBN 1-56238-596-8.  
　　[13]Quantitative Molecular Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline. NCCLS, MM6-A, Vol. 23 No.28. ISBN 1-56238-508-9.  
　　[14]Verification and Validation of Multiplex Nucleic Acid Assays; Approved Guideline. Clinical and Laboratory Standards Institute (Formerly NCCLS), MM17-A, Vol.28 No.9, ISBN 1-56238-661-1.