

附件 2

ABO、RhD 血型抗原检测卡（柱凝集法） 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 ABO、RhD 血型抗原检测卡（柱凝集法）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 ABO、RhD 血型抗原检测卡（柱凝集法）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、范围

ABO、RhD 血型抗原检测卡（柱凝集法）是指使用凝胶、玻璃微珠等材料进行填充微柱，以免疫血液学、颗粒过筛和离心

技术结合原理, 进行人 ABO 血型的正定型鉴定及 RhD 抗原的检测。

本指导原则适用于 ABO、RhD 血型抗原检测卡（柱凝集法）以及包含 ABO、RhD 血型抗原检测用途的柱凝集法的血型检测卡，但不适用于血源筛查用血型正定型试剂。

本指导原则仅包括对 ABO、RhD 血型抗原检测卡（柱凝集法）注册申报资料中部分项目的要求，适用于进行产品注册和相关许可事项变更的产品。其他未尽事宜，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》）等相关法规要求。

二、注册申报资料要求

（一）综述资料

综述资料的撰写应符合《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》（国家食品药品监督管理总局公告 2014 年第 44 号）（以下简称 2014 年第 44 号公告）的相关要求。内容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抗体生物学来源、抗体效价、特异性、灵敏度、有效期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异同。

（二）主要原材料研究资料

主要原材料研究资料应包括主要组成成分（抗体、凝胶或其他填充物、缓冲液等）的选择、制备及其质量标准的研究资料。

1. 抗体的选择及质量标准。应明确写明抗体的供应来源、生

物学来源或克隆号，抗 D 抗体应明确抗体属性，是 IgM 型或 IgG 型或两者均含有。

1.1 抗体效价

将抗 A、抗 B 抗体进行倍比稀释，应用试管法分别与 A₁ 型、A₂ 型红细胞试剂和 B 型红细胞试剂反应，考察抗体效价。境内产品应与国家标准品比对，抗体效价不得低于国家标准品。进口产品依据原产国适用标准或标准品提交效价研究资料。

将抗 D 抗体进行倍比稀释，应用试管法与 RhD 阳性红细胞试剂反应，考察抗体效价。

1.2 特异性

抗 A 抗体应与 A₁ 型、A₂ 型试剂红细胞和 A₁B、A₂B 型红细胞发生阳性反应，与 B 型、O 型试剂红细胞为阴性反应；

抗 B 抗体应与 B 型试剂红细胞及 A₁B、A₂B 型红细胞发生阳性反应，与 A₁ 型、A₂ 型、O 型试剂红细胞为阴性反应；

抗 D 抗体应与 RhD 阳性试剂红细胞发生阳性反应，与 RhD 阴性试剂红细胞为阴性反应。

所有阳性反应不应有双群现象等混合反应，所有阴性反应不应有凝集、溶血等不易分辨现象。

1.3 抗体亲和力

抗 A、抗 B 抗体亲和力应该满足现行《中华人民共和国药典》要求。将抗 A、抗 B 血型试剂分别与 10% 红细胞悬液于瓷板或玻片上混匀，抗 A 血型试剂与 A₁、A₂、A₂B 血型红细胞出现凝集的时间应分别不长于 15 秒、30 秒、45 秒；抗 B 血型试剂与 B 血型红细胞出现凝集的时间应不长于 15 秒，且在 3 分钟内凝集块应达到 1mm² 以上。

抗 D 亲和力可参考相应的行业标准。将约 50 μ L 抗体置洁净瓷板或玻片上，加等体积 10%RhD 阳性 O 型红细胞悬液（3 人份混合），立即混匀，凝集时间应不大于 15s，3min 内凝集块应不小于 1mm²。

1.4 应提供不同批次抗体的验证资料。

1.5 如为两株抗体混合，应提交验证资料说明混合比例。

2. 填充物的选择

说明填充物如凝胶、玻璃珠的特性，如组成、粒径及其质量控制要求。应提交选择比较过程，提交验证试验资料。

3. 填充缓冲液

应说明组成成分，并对外观、性状、pH 值等物理指标及功能性进行研究验证。

（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。如抗体浓度的选择确定过程、凝胶溶胀条件（如介质、时间、温度等）的确定、填充量及填充过程的研究资料，填充应确保均匀无气泡，以及质量控制的要求。

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。

反应体系的设置应符合《全国临床检验操作规程》等公认标准操作规范、指南或标准的要求。如红细胞悬液制备要求及红细胞浓度的确定、用量的要求、温度、时间等；应提交离心条件的

研究资料，建议以离心力或固定离心机型号固定转数和时间的的方式设置离心条件。反应体系设置与《全国临床检验操作规程》要求不一致的产品应提供充分的验证资料证明反应体系的有效性。

（四）分析性能评估资料

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。分析性能评估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进行。

产品性能研究所采用的仪器、试剂或其他物品如可能均应采用境内或境外已批准上市的产品，如红细胞试剂、抗人球蛋白试剂、离心机等。

分析性能评估试验中应明确所有试验每种试剂的用量、试剂红细胞的浓度、采用的试验方法。所有试验方法应符合产品说明书的具体操作要求。

分析性能研究应采用至少三批产品进行。如检测卡同时适用于手工法及全自动血型分析仪，应分别进行性能验证并对两者性能进行比较。

建议着重对以下分析性能进行研究：

1.外观

检测卡应标识清晰，不同抗体对应不同颜色，封口应严密且能够整条撕脱，检测卡内填充物均匀，无干枯现象，液面高度一致，无明显倾斜，离心后应无气泡。

2. 特异性

抗 A 柱应与 A₁ 型、A₂ 型试剂红细胞和 A₁B、A₂B 型红细胞发生阳性反应，与 B 型、O 型试剂红细胞为阴性反应；

抗 B 柱应与 B 型试剂红细胞和 A₁B、A₂B 型红细胞发生阳性反应，与 A₁ 型、A₂ 型、O 型试剂红细胞为阴性反应；

抗 D 柱应与 RhD 阳性试剂红细胞发生阳性反应，与 RhD 阴性试剂红细胞为阴性反应。

质控柱 (Ctl 柱) (如有) 均呈阴性反应。

所有阳性反应不应有双群现象等混合反应，所有阴性反应不应有凝集、溶血等不易分辨现象。

3. 灵敏度

3.1 凝集强度要求

抗 A 柱与 A₁ 型试剂红细胞发生凝集反应时，反应强度应为 4+，与 A₂ 型及 A₂B 试剂红细胞发生凝集反应时，反应强度应不小于 2+；与 A₁B 试剂红细胞发生凝集反应时，反应强度应不小于 3+；

抗 B 柱与 B 型试剂红细胞发生凝集反应时，反应强度应为 4+，与 AB 型 (A₁B 或 A₂B) 试剂红细胞发生凝集反应时，反应强度应不小于 3+；

抗 D 柱与 RhD 阳性试剂红细胞发生凝集反应时，反应强度应为 4+。

3.2 与试管法的比对试验

采用同样的 A₁ 型、A₂ 型、AB 型、B 型、RhD 阳性试剂红细胞，将试剂卡检测结果与试剂卡使用的抗体采用试管法的检测结果进行比较，依据各自的结果判定方法进行凝集强度的判读，

试剂卡凝集强度不得低于试管法。

所有阳性反应不应有双群现象等混合反应，所有阴性反应不应有凝集、溶血等不易分辨现象。

4.重复性

采用 A₁ 型、A₂ 型、B 型、AB 型、O 型试剂红细胞分别对抗 A 柱和抗 B 柱进行重复性试验，采用 RhD 阳性和阴性试剂红细胞对抗 D 柱进行重复性试验，使用上述所有试剂红细胞对 Ctl 柱（如有）进行重复性试验。

批内重复性采用同一批次检测卡重复检测上述试剂红细胞，重复次数不少于 10 次，比较同一批次检测卡不同次检测之间的检测结果。

日间重复性采用同一批次检测卡每日重复检测上述试剂红细胞，重复天数不少于 10 天，比较同一批次检测卡不同天检测之间的检测结果。

批间重复性采用至少三批检测卡对上述试剂红细胞进行重复检测，比较不同批次间的检测结果。

批内、日间、批间重复性检测结果应分别对应一致，对同一试剂红细胞的检测结果凝集强度差异不超过 1+。阴性结果不应有凝集、溶血等不易分辨现象。

手工法检测还应考察不同操作人员之间的重复性。建议由至少 3 名不同操作人员，采用同一批次检测卡重复检测上述试剂红细胞，重复次数不少于 10 次，比较不同操作人员检测之间的检测结果的重复性。

5.临床样本验证

收集各 ABO 血型临床样本，包括 RhD 阴性样本，采用试剂

卡进行检测，将血型鉴定和凝集强度结果与已上市试剂结果进行比较。临床样本的收集应考虑涵盖肿瘤、血液病、自身免疫病和贫血患者、老人及儿童等来源。

6.收集临床弱凝集红细胞样本，验证抗 A、抗 B 和抗 D 阳性小于 3+及各种凝集强度的情况，并提供各种凝集强度的图片。

7.收集各种血型的直接抗人球蛋白试验阳性红细胞进行检测验证，并提供直接抗人球蛋白试验试剂及检测结果信息。

8.收集弱 D、部分 D 红细胞，考察验证抗 D 柱能否检出，并明确上述 RhD 血型的具体确定方法。

9.溶血、脂血、黄疸等样本的干扰评价。

10.抗凝剂的适用性研究验证。

（五）阳性判断值的确定资料

提供充分的验证试验，体现不同凝集强度的结果，并明确不同凝集强度代表的具体意义，并应包含溶血、混合视野双群等情况，明确具体的试验方法、实验步骤，提供不同凝集强度的图例或相片。

（六）稳定性研究资料

稳定性研究资料主要涉及两部分内容，申报检测卡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）研究，申请人可根据实际需要选择合理的稳定性研究方案，实验项目应至少包括外观、灵敏度、特异性、重复性。

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稳定性。

试剂稳定性和样本稳定性两部分内容的研究结果应分别在说明书【储存条件及有效期】和【样本要求】两项中进行详细说明。

（七）临床试验

临床试验总体要求及临床试验资料的内容应符合《办法》、2014年第44号公告和《体外诊断试剂临床试验技术指导原则》的规定，以下仅结合ABO、RhD血型抗原检测卡的具体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

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或试管法作为对比试剂，采用试验用体外诊断试剂（以下称考核试剂）与之进行比较研究试验，证明考核试剂与已上市产品或试管法等效。

2.临床试验单位的选择

应选择符合法规要求资质的临床试验机构进行临床试验，不得选择血站进行临床试验。

3.病例选择

临床总病例数应不少于 3000 例。应采用临床患者进行临床研究，供血者样本不得作为临床病例纳入。应包括血型鉴定易产生干扰的病例，尽量选择多种疾病患者（如肿瘤患者、自身免疫病患者、血液病患者）、老人、儿童（不同年龄段）等。血型分布尽量均衡，ABO 血型每种均应有统计学意义，RhD 阴性样本

建议不少于 50 例。

4.实验过程

分别采用考核试剂与对比试剂依据各自的说明书对入组临床样本进行血型检测，记录结果应具体到凝集强度。

5.统计学分析

应分别进行考核试剂与对比试剂对不同 ABO 血型、RhD 血型的阳性符合率、阴性符合率、总符合率的计算，并以四格表的形式进行列表，对定性结果进行 Kappa 检验以验证检测结果的一致性。

6.结果差异样本的验证

对于两种试剂检测结果不一致（包括考核试剂与对比试剂定型结果不一致、考核试剂与对比试剂凝集强度差异较大，如 $\geq 2+$ ）的样本，应采用临床上公认较好的第三种同类试剂进行确认试验，同时应结合样本的复测结果进行综合分析，最终应采用适合的方法进行样本血型的最终确认。

如临床样本中包含凝集强度小于 3+ 的样本，应进行进一步确认，明确出现弱凝集的原因。

7.临床试验数据记录表应作为临床试验报告附件提交。临床试验数据记录表应列明所有病例的具体临床诊断信息、凝集强度和血型定型结果，如有不符样本应列明第三方确认的结果。

8.临床试验中应注意考核试剂与对比试剂应严格遵守说明书操作要求，如红细胞悬液浓度、离心条件等，应与说明书一致。

（八）产品风险分析资料

产品风险分析资料应符合 2014 年第 44 号公告的基本要求，并参照相应的行业标准进行风险分析。风险分析中应充分考虑到

各种可能影响检测结果的因素，如某些样本（如肿瘤患者、自身免疫病患者、血液病患者等）在进行血型定型检测时可能存在一定的干扰、抗体效价随放置时间延长的减弱对结果的影响、样本放置的影响等，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

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、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》（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。产品技术要求应符合《办法》和 2014 年第 44 号公告的相关规定。

如果拟申报试剂已有相应的国家/行业标准发布，则标准的要求不得低于上述标准要求。

产品技术要求的性能指标应至少包括外观、灵敏度、特异性、重复性、稳定性。

产品技术要求的附录应包括主要原材料、生产工艺及半成品检定要求。主要原材料应明确抗体来源、克隆号、效价、特异性以及功能性验证要求，应明确填充物来源及主要特征、质量控制要求，缓冲液应明确组成、pH 值等特性及质控要求；主要生产工艺应以流程图形式描述主要生产工艺过程，并明确主要生产工艺的具体条件和质量控制点；半成品检定应明确半成品的检验要求及方法。

（十）产品注册检验报告

根据《办法》要求，申请注册的第三类体外诊断试剂应在具

有相应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验。

（十一）产品说明书

说明书承载了产品预期用途、试验原理、试验方法、检测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，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。产品说明书的格式应符合《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通告 2014 年第 17 号）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。

以下内容仅对 ABO、RhD 血型抗原检测卡说明书的重点内容进行详细说明，说明书其他内容应根据《体外诊断试剂说明书编写指导原则》要求进行编写。

1. 【预期用途】

1.1 写明本试剂用于人 ABO 血型的正定型检测及 RhD 血型抗原的检测，同时明确不用于血源筛查，仅用于临床检验。

1.2 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。

2. 【储存条件及有效期】

说明试剂的储存条件及有效期。

3. 【样本要求】

明确红细胞制备和浓度要求，明确配套红细胞稀释液，建议优先使用生理盐水，如使用配套稀释液，应明确说明使用稀释液替代生理盐水的理由，详细说明稀释液成分并提供充分验证资料。说明溶血、脂血、黄疸样本是否可以使用，或提供使用此类样本的最低要求。依据稳定性研究结果写明样本稳定性要求，明确抗凝剂要求。

4. 【适用仪器】写明适用的离心机及自动化仪器（如适用）。

5. 【阳性判断值】

明确结果判断方法及标准，并通过不同凝集强度的图例或照片进行详细解释。

6. 【检验方法】

写明具体方法及操作步骤。

明确质控要求：应根据相关规定进行每日质控试验。

7. 【检验方法的局限性】

7.1 未完全去除纤维蛋白原的标本，可能因纤维蛋白阻碍红细胞沉降而影响检测结果，造成假阳性，建议洗涤后重新检测。

7.2 被检标本染菌可能造成假阳性结果。

7.3 实验室温度低可能导致凝胶颗粒活动性减少，单个红细胞穿过困难，从而导致假阳性结果。

7.4 使用陈旧样本可能因细胞破碎，细胞膜浮于胶中或胶面呈弱阳性反应。

7.5 对弱 D 等检测情况进行说明。

7.6 对检测结果凝集强度小于 3+ 的情况应如何进行后续处理

进行详细说明。

8. 【注意事项】

8.1 检测卡在使用前应离心，并小心解开封口膜，避免迸溅。

8.2 强调红细胞悬液浓度范围，不得过高或过低。

8.3 微柱中出现溶血情况的处理。

8.4 样本离心时间和离心力应严格按照说明书要求操作。

8.5 其他。

三、编写单位

国家食品药品监督管理总局医疗器械技术审评中心。