

兽用免疫诊断试剂盒试验研究技术指导原则

1 目的 为研制和审批兽用免疫诊断试剂盒的人员提供原则性指导。

2 背景 根据《兽药管理条例》中的有关规定，兽用免疫诊断试剂盒属于兽药。兽用免疫诊断试剂盒的申报和审批程序，与预防和治疗类兽用生物制品相似。但是，作为一类特殊的兽用生物制品，兽用免疫诊断试剂盒的研制过程和申报资料项目要求具有其特殊性。

3 兽用免疫诊断试剂盒的主要技术指标

3.1 敏感性 一般以已知发病动物的阳性率来表示。通过与公认的确证方法（HI、SN、CF、病原分离、培养以及解剖等）的比较确定其敏感性，同时要确定试剂盒的最低检出量。最低检出量一般以抗体滴度、抗原的微克数、变异数以及其他适当的测定方式表示。这种检测方法应当包括几种已知的阴性、弱阳性、强阳性血清或抗原制品。

3.2 特异性 一般是用对已知无病动物的阴性率来表示。对抗体检测试剂盒，应通过检测与目标疾病存在交叉反应的相关病原免疫的动物血清或自然感染血清的交叉反应来确定；对抗原诊断试剂盒，应通过检测与目标疾病存在交叉反应的抗原的交叉反应来确定。

3.3 重复性 一般以变异系数表示。即用试剂盒对已知的阴性、弱阳性、强阳性样品进行反复测定，计算测定结果的变异系数，确定试验的重复性。变异系数必须在可接受的范围内。

3.4 适应性 是指在不同环境条件下试剂盒的可靠性，一般应在具有不同地理位置代表性的 3 个以上实验室对已知样品进行试验，以确定试剂盒对不同环境条件的适应性。

4 试验设计要点

4.1 在设计试验时，应根据《兽药注册办法》中的有关要求（如诊断试剂的试验项目、试验批数、试验数据）及上述主要技术指标进行试验设计。

4.2 实验室试验

4.2.1 基础种子的鉴定

4.2.1.1 抗原性 对采用活的病原体制备抗原的产品，应测定基础种子批、生产种子批不同代次的抗原性，包括测定产品规程中规定的最高代次种子的抗原性。并列测定方法和标准。

对采用人工合成或基因重组技术制备的抗原，应进行不同合成方法或不同序列抗原的抗原性比较试验，提供的试验数据应能证明所采用的方法或抗原序列是最佳选择。必要时，应提供与采用常规方法（由微生物体提取）制备的抗原的比较试验数据，以证明合成或重组抗原与诊断目标抗原的同源性。

必要时，应使用 3 批以上试剂盒对经公认的确证方法确定的、可能存在与目标疾病发生交叉反应的其它疾病的样品进行检测试验，确定试剂盒的假阳性范围或百分比。

对已有国际参考诊断试剂盒的制品，应用该参考制品进行特异性对比试验。

4. 2. 3. 5 可重复性 应使用至少 3 批产品及批内不同试剂盒（每批至少 5 个试剂盒）对已知阴性、弱阳性、强阳性参考试剂进行至少 4 次重复测定，计算批内、批间变异系数，确定该试剂盒的重复性检验方法和标准。

4. 2. 3. 6 消长规律研究 对抗体检测试剂盒，应用疫苗接种动物或人工感染的发病动物，在接种或感染后不同时间进行抗体检测，试验时期应涵盖抗体产生的早期、抗体高峰期和抗体效价降低直至检测结果转阴的全过程。对抗原检测试剂盒，应用人工感染的发病动物，在感染后不同时间进行抗原检测，试验时期应涵盖感染早期、明显发病期和恢复期等直至检测结果转阴的全过程。

4. 2. 4 免疫诊断试剂盒的保存期试验 应将至少 3 批试剂盒在适当条件下保存，并间隔一定时间，按成品检验标准对参考试剂进行检测试验，并与原始成品检验数据进行比较，确定试剂盒的保存条件和有效期。

4. 3 中试生产 按照实验室试验确定的生产工艺在符合条件的生产车间连续生产 5~10 批试剂盒，按照确定的成品检验标准进行全面检验。

根据中试生产的情况，可对生产工艺进行适当调整，使其更能适应工业化生产。

4. 4 临床试验 按照《兽药注册办法》中的规定，采用一定数量的试剂盒中试产品对大量临床样品（包括阳性和阴性样品）进行检测试验，确定试剂盒的实际应用效果。

必要时进行适应性试验，即：使用至少 3 批试剂盒在至少 3 个可代表不同地理位置的实验室对已知阴性、弱阳性、强阳性参考试剂进行比对试验，确定该试剂盒的应用环境条件并对试验结果作出适当的解释。