

兽用诊断制品试验研究技术指导原则

1 目的 为研制兽用诊断制品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，兽用诊断制品属于兽药。兽用诊断制品的申报和审批程序，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，兽用诊断制品的研制过程和申报资料项目要求具有其特殊性。

3 兽用诊断制品的主要技术指标

3.1 敏感性 一般以与公认的确证方法确诊的患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。同时要确定制品的最低检出量。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。在确定最低检出限量时，应当包括对几种已知的阴性、弱阳性、强阳性样品的检测。

3.2 特异性 一般是用对已知无病动物的阴性率来表示。对抗体检测制品，除对已知无病动物的阴性率外，还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；对抗原及基因诊断制品，除对已知无病动物的阴性率外，还应通过检测与目标疾病病原存在交叉反应的抗原或基因的交叉反应来确定。

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（如诊断制品的试验项目、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 对采用病原体制备抗原或血清的产品，应对病原体的基础种子进行以下鉴定。

4.2.1.1 抗原性：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。

4.2.1.2 特异性（血清特异性、免疫特异性） 应测定基础种子的特异性，并列测定方法和标准。

4.2.1.3 种子批的纯净性 对采用活的病原体制备抗原的制品，应对种子批进行细菌/杂菌、支原体、外源病毒等检验。已有国家法定方法的，应采用相应法定方法。没有法定方法

的，可采用自行建立的方法，但须进行方法验证。

4. 2. 1. 4 种子批的保存条件 应确定种子批的适宜保存条件，以保证长期生产的需要。

4. 2. 2 对采用人工合成或基因重组技术制备的抗原或分子生物学试剂（如引物或基因片断），应进行不同合成方法或不同序列抗原的抗原性、不同序列引物的比较试验，提供的试验数据应能证明所采用的方法或抗原、引物序列是最佳选择。对于抗原，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。对于引物或基因片断等分子生物学试剂应进行序列测定，以证明该序列与诊断目标相关基因序列的同源性。

4. 2. 3 生产工艺

4. 2. 3. 1 抗原的制备工艺 应通过比较试验确定最佳的生产工艺，提供培养方法、接种量、收获时间、浓缩纯化方法、效价及特异性测定、标化方法及标准。

4. 2. 3. 2 抗体（包括试验抗体、参考抗体、指示性抗体等）的制备工艺 包括实验动物种类、免疫剂量、免疫途径、免疫次数、采血时间、抗体纯化方法、标记方法、效价和特异性测定方法及标准。

4. 2. 3. 3 引物或基因片断制备工艺：应包括引物或基因片断的合成方法，鉴定方法和鉴定标准

4. 2. 4 诊断试验条件的筛选 包括载体、配套试剂、反应时间等。对于免疫学诊断制品，试验条件的筛选可结合抗原、抗体的效价和特异性测定方法进行，必须通过不同试验条件下的比较试验确定最佳的试验参数。对于分子生物学诊断制品，试验条件的筛选可结合基因扩增、杂交及敏感性和特异性测定方法进行，通过不同试验条件下的比较试验确定最佳的试验参数。

4. 2. 5 试剂盒的组装及成品检验 在制备所有试剂盒组份并经半成品检验合格后，可进行试剂盒组装。组装试剂盒时，应根据实际应用情况来确定每个试剂盒的试剂用量，采用最方便使用的包装。并对组装后的完整试剂盒进行成品检验。

4. 2. 6 试剂盒的试验以及成品检验项目和标准的确定 在试剂盒组装成功的基础上通过以下试验来验证试剂盒的质量，并确定试剂盒的成品检验项目和标准。

4. 2. 6. 1 性状检验 应确定试剂盒的包装及内容物的外观性状、装量检验方法和标准。

4. 2. 6. 2 无菌检验 对试剂盒中的液体组份，应按《中华人民共和国兽药典》中规定的方法进行无菌检验。

4. 2. 6. 3 敏感性 应使用至少 3 批试剂盒对已知发病动物样品以及人工感染或免疫动物样品进行检测。可采用对阳性样品进行系列稀释的方式确定最低检出限量，并与已有的方法进行比较，根据符合率制定试剂盒的敏感性检验方法和标准。

对已有国际参考诊断试剂盒的制品，应用该参考制品进行敏感性对比试验。

4.2.6.4 特异性 应使用至少 3 批试剂盒对经公认的确证方法确定的无病动物样品进行试验。在该项试验中，应采用对样品进行系列稀释的方式确定被检样品最适稀释倍数，并结合敏感性试验确定判定标准（OD 值、P/N 值、PI 值，判定终点等）。同时应确定判定试验系统是否成立的判定条件（同条件下对阴性、弱阳性、强阳性参考试剂的测定值范围）。

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。

4.2.6.5 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。

4.2.6.6 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。对抗原及分子生物学（PCR 等）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或基因检测，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。

4.2.7 诊断制品的保存期试验 应将至少 3 批试剂盒在适当条件下保存，并间隔一定时间，按成品检验标准对质控试剂进行检测试验，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做出适当的解释。