**确定用于检测伯氏疏螺旋体抗体的体外诊断器械的性能特性**

**行业和食品药品监督管理局工作人员指南**

**发布日期：2013年3月28日**

**本文件草案于2011年1月5日发布。**

有关本文件的问题，请以电话301-796-6203或电子邮件prasad.rao@fda.hhs.gov联系Prasad Rao博士。



**美国卫生及公众服务部**

**食品药品监督管理局**

**器械与放射健康中心**

**体外诊断和放射健康办公室**

**微生物学器械部**

**前言**

**公众评论**

贵公司可以随时提交书面评论和建议至食品药品监督管理局，文件管理部（5630 Fishers Lane，rm。1061，（HFA-305），Rockville，MD，20852），供部门审议。电子评论请提交至[http：//www.regulations.gov](http://www.regulations.gov)。请使用提供指南的联邦公报通告中列出的案卷编号标识所有评论。可能直到文件下次修订或更新时，评论才会被机构受理。

**其他副本**

其他副本可从互联网获得。贵公司还可以向dsmica@fda.hhs.gov发送电子邮件请求，以接收本指南的电子副本，或向301-827-8149发送传真请求以接收打印件。请使用文件编号1721来标识贵公司所要求获得的指南。

**目录**

[简介 4](#_Toc479616103)

[背景 4](#_Toc479616104)

[范围 5](#_Toc479616105)

[健康风险 6](#_Toc479616106)

[确定性能特性 6](#_Toc479616107)

[A. 控制 6](#_Toc479616108)

[B. 性能研究 6](#_Toc479616109)

[C. CLIA 豁免 11](#_Toc479616110)

[参考文件 12](#_Toc479616111)

**确定用于检测伯氏疏螺旋体抗体的体外诊断器械的性能特性**

**行业和食品药品监督管理局工作人员指南**

本指南草案定稿时，将代表食品药品监督管理局在这一主题上的最新见解。其不会为任何人创造或赋予任何权利，也不对FDA或公众具有约束力。如果替代方法满足适用的法律、法规或其两者的要求，可以使用替代方法。如果贵公司希望讨论一种替代方法，请联系负责实施本指南的FDA工作人员。如果贵公司无法确定适当的FDA工作人员，请拨打本指南标题页上列出的合适的电话号码。

## 简介

食品药品监督管理局正在发布本指南，为行业和机构工作人员提供研究建议，其中，此类研究旨在确定用于检测伯氏疏螺旋体抗体的体外诊断器械（IVD）的分析和临床性能。这些器械可用于帮助诊断莱姆病。

食品药品监督管理局的指导性文件（包括本指南）并不具有法律上可强制执行的责任。相反，指南说明了审查机构关于某一主题的最新见解，除非引用具体的监管或法定要求，否则应仅视为建议。在审查机构指南中使用这个词“应”是指建议或推荐进行某项事务，但非必须进行某项事务。

## 背景

本文件对旨在确定用于检测人血清、血浆和血液中的伯氏疏螺旋体抗体的体外诊断器械的性能特性的研究提供建议。在莱姆病诊断中针对伯氏疏螺旋体抗体进行的血清学试验是一种两步式程序[参考文件：1，2]。通过酶免疫测定（EIA）或免疫荧光测定（IFA）进行初始试验； 然后，通过使用蛋白质免疫印迹测定进一步对产生阳性或不定结果的样本进行测试。通过灵敏度EIA或IFA而呈阴性的样本无需进行进一步试验。由对伯氏疏螺旋体抗体进行的蛋白质印迹测定而产生的结果仅具补充性而非验证性。两步式阳性结果可提供暴露于伯氏疏螺旋体的支持性证据，其可以支持莱姆病的临床诊断，但不应该用作诊断的唯一标准。

打算上市用于检测伯氏疏螺旋体抗体的体外诊断器械的制造商必须遵守联邦食品、药品和化妆品法案（FD＆C 法案）的一般控制，并且除非豁免，否则在上市器械之前必须获得上市前审批或批准（FD＆C法案第510（k）、513、515条； 21 USC 360（k）、360c、360e）。本文件旨在补充21 CFR 807.87（上市前通知中所需信息）和其他食品药品监督管理局资源，如“上市前通知510（k）”，其网址为：http：//www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/HowtoMarketYour Device / PremarketSubmissions / PremarketNotification510k / default.htm。关于简化和传统510（k）的内容和格式的指南可在标题为“传统和简化510（k）的格式”的指南中找到，其网址为：http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/ DeviceRegulationandGuidance / Guidanc eDocuments / ucm084396.pdf。

有关标准的使用的信息可参见FD＆C法案（21 USC 360d（c）（1）（B））第514（c）（1）（B）节，以及标题为“实质等同性测定中的标准的使用”的食品药品监督管理局指南，其网址为：http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/Guidanc eDocuments / ucm073756.pdf。考虑对其自己的已批准器械进行修改的制造商可以选择提交特殊510（k）。关于如何编制特殊510（k）的信息可以在以下网站获得：http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/HowtoMarketYour Device / PremarketSubmissions / PremarketNotification510k / ucm134573.htm。

贵公司可在标题为“体外诊断（IVD）器械研究 - 常见问题”的指南（其网址为：http://www.vda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/Guidanc eDocuments / ucm071230.pdf）以及标题为“有关用于使用不可单独识别的残留人体样本进行体外诊断器械研究的知情同意的指南”的指南（其网址为http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/Guidanc eDocuments / ucm071265.pdf）中找到关于器械试验的更多信息。

## 范围

本文件对旨在确定用于检测人血清、血浆和血液中的伯氏疏螺旋体抗体的EIA或蛋白质印记器械的性能特性的研究提供建议。以下是根据21 CFR 866.3830批准的伯氏疏螺旋体（莱姆病）II类器械的产品代码：

LSR - 试剂，疏螺旋体属血清学试剂

本文件不适用于伯氏疏螺旋体核酸扩增测定。请联系体外诊断和放射健康办公室的微生物学器械部，以了解有关核酸扩增器械的更多信息。

## 健康风险

莱姆病是一种显著的公共卫生问题。它是北美最常见的传染性传染病。莱姆病的感染因子是螺旋军伯氏疏螺旋体。伯氏疏螺旋体感染的最终诊断由于临床症状的不同性质以及这些症状与许多其它感染性和非感染性疾病重叠而复杂化。

用于检测伯氏疏螺旋体抗体的器械未能如预期地发挥作用或未能正确解释结果可能使患者管理决定不正确以及公共卫生疾病报告不适当。在管理个别患者的情况下，假阴性报告可能导致延迟或未能提供治疗。假阳性报告可能导致不必要或不适当的治疗。因此，确立这些器械的性能并理解与其使用相关的风险对于其安全和有效使用至关重要。

制造商进行的用于确立伯氏疏螺旋体抗体检测器械的性能的研究是确定这些器械的安全性和有效性以及实质等同性的基础。

## 确定性能特性

### 控制

在进行下述性能验证研究时，我们建议贵公司在分析和临床研究期间每天进行适当的控制。

### 性能研究

我们建议贵公司执行以下研究：

#### 交叉反应性

应对已知含有与伯氏疏螺旋体交叉反应的抗体的样本进行评估。我们建议针对每种类型至少测试10例样本。这些样本的示例包括但不限于：（1）从具有以下症状的患者获得的样本：如蜱传回归热等感染、梅毒和其他密螺旋体感染，立克次体疾病、埃里希体病 、巴贝虫病、钩端螺旋体病、细小病毒B19、流感病毒、Epstein-Barr病毒、巨细胞病毒、和幽门螺杆菌的感染；以及（2）从具有可与莱姆病的晚期临床症状混淆的诊断的患者获得的样本，如慢性疲劳综合症、纤维肌痛、类风湿性关节炎、自身免疫疾病、以及多发性硬化

*干扰*

我们建议贵公司详细说明潜在的干扰物对测定性能的影响。实验设计的示例（包括用于选择用于试验的干扰物的指南）见CLSI文献EP7-A2 [参考文件：3]。潜在的干扰源可以包括通常存在于血清中的高水平的化合物，例如甘油三酯、血红蛋白（即溶血样本）、胆红素、蛋白质和脂质。我们建议贵公司说明确定无干扰的标准或级别。

* 1. 精确性

*实验室内精确性/复现性*

我们建议贵公司对（包括工具或自动化组件）器械进行实验室内精确性研究。贵公司可以在内部执行这些研究，即在贵公司自己的公司内。

我们建议贵公司至少对变异性来源（如操作员、天数、测定运行等）测试12天（日期不一定连续），每天运行2次，每次运行对每例样本重复测试2次。这些试验天数应至少跨越两个校准周期。试验小组应由3-6个处于三个不同水平抗体的患者样本组成，包括：

* 阴性样本：不含分析物的样本，因此当时对该样本进行的重复试验结果为100％阴性。
* “高阴性”样本（C5浓度）：分析物浓度低于临床临界点的样本，使得当时对该样本进行的重复试验结果约为95％阴性（当时阳性结果约为5％）。
* “低阳性”样本（C95浓度）：分析物浓度刚好高于临床临界点的样本，使得当时对该样本进行的重复试验结果约为95％阳性。
* “中等阳性”样本：具有预期可使当时的阳性结果约为100％（例如，约临床临界浓度的2-3倍）的浓度的样本。

CLSI文件EP5-A2 [ 参考文件：4]和EP12-A [ 参考文件：5]包含有关设计和执行精确性研究的更多信息。

*复现性*

用于复现性研究的方案可能根据测定形式稍有不同。作为一般指南，我们建议执行以下方案：

* 在3个试验中心（例如，两个外部中心和一个内部中心）评估贵公司所进行的试验的复现性。
* 使用时间长达五天的试验方案，包括每天至少执行两次运行（除非测定设计排除了每天多次运行）以及每次运行中每个小组成员需重复试验三次。
* 每天至少由两个操作员在各场地进行试验。我们建议，对于快速试验或护理点（POC）1器械，贵公司应在评估中纳入更多器械，以最好地表征将使用器械的环境。
* 使用与上述复现性研究中所述相同的样本小组。

CLSI文件，EP15-A2 [参考文件：6]，包含有关复现性研究设计的附加信息。

#### 3.样本采集和处理条件

我们建议贵公司通过评估器械在建议用户使用的存储时间和温度范围内是否可以保持可接受的性能，来证实标签中有关样本存储和运输的声明。例如，适当的研究将包括对在建议的时间、温度或指定数量的冷冻/解冻循环条件下储存的等分试样进行的分析。我们建议贵公司根据CLSI文件H18-A [参考文件：7]中所述的建议存储和处理条件下说明可接受的回收范围的标准。。

#### 测定临界点

我们建议提供数据以说明如何选择和确定测定临界点。如果适当，应提供关于使用不明确区域进行试验的信息。如果数据表明某一不明确的区域不适于进行试验，请提供说明。

#### 临床性能研究

目前推荐的莱姆病血清学试验是一个两步式程序[参考文件：1，2]：

1护理点试验（也称为临床或近患者试验）是一个术语，其包括在患者护理部位附近进行的任何诊断试验，其中，不论该器械是由训练有素的医疗专业人员使用还是由外行用户使用。在护理点附近进行诊断试验的人员，无论是训练有素的医疗专业人员还是外行用户，在此情况下均属于护理人员，因为该人员提供护理。

步骤I：对IgM和/或IgG抗体进行EIA试验

步骤II：当EIA试验的结果为阳性或不明确时，对IgM或IgG抗体进行蛋白质印迹试验

由于来自美国（美国）的伯氏疏螺旋体菌株与欧洲和其他非美国地方性流行区明显不同，所以将在美国上市的莱姆病器械中使用的所有抗原试剂应该由美国菌株制成（准确来说为 B31伯氏疏螺旋体）而不得用其他非美国菌株制成。当使用全细胞超声处理作为抗原试剂以在EIA和蛋白质印迹器械中捕获伯氏疏螺旋体抗体时，上述要求尤其重要。然而，可以接受使用欧洲疏螺旋体物种的重组蛋白（长度既定）来增强美国伯氏疏螺旋体菌株的抗原，但不得使用其全部细胞裂解物。对于IgM或IgG抗体，这仅适用于第一级EIA试验，而不适用于蛋白质印迹试验。

临床研究对于确定EIA和蛋白质印迹器械的性能特性极为必要。通常，我们建议在由将试验用于临床实践的个体（例如，训练有素的技术人员）最终使用该器械的试验环境（例如，临床实验室）中对性能进行评估。下面将列举在确定每种器械类型的性能特性方面的预期结果。

*研究方案*

我们建议贵公司制定详细的研究方案，该方案须包括特定的患者纳入和排除标准、所需样本的类型和数量、使用说明以及解决差异以防止数据产生偏差的统计分析计划。贵公司需要提供统计说明来支持研究人群的样本量。我们建议贵公司在上市前申报中纳入该方案和任何其他相关方案信息。

我们鼓励发起人联系微生物学器械部，以要求在研究开始之前对其其拟定研究以及对样本类型的选择进行审查。

*研究中心*

我们建议贵公司至少在三个不同的中心进行研究，其中一个可为内部中心。但须注意，我们认为在非美国临床试验中心获得的数据并不适当，因为其他国家存在不同菌株。对未经审批和未经批准的体外诊断器械（包括用于莱姆病的诊断器械）的临床研究受制于联邦食品、药品和化妆品法案（21 USC 360j）第520（g）节的器械临床研究豁免（IDE）和实施法规。贵公司应该考虑21 CFR第812部分（IDEs）如何适用于贵公司的特定研究，并参考21 CFR第50部分（知情同意）和21 CFR第56部分（机构审查委员会评审）以获得其他适用的要求。

我们建议对适用于护理点（POC）使用的器械进行的性能评估至少包括临床实验室中的一个中心以及代表器械所适用的非实验室环境中的两个或多个中心（例如，急诊科）。

*研究设计*

对于莱姆病EIA器械或莱姆病蛋白质印迹器械，应该进行以下研究并提交510（k）申请。IgM和IgG试验的研究设计类似。

1. 灵敏度研究：由至少100例在临床上良好表征或用培养物确定具有莱姆病的样本组成的研究应该用试验器械进行。这些已归档的样本应包含早期疾病、早期播散性疾病和晚期疾病的样本。应将试验器械对这些样本的灵敏度与一个类似器械进行对比。应纳入提供研究样本的每个特定患者的谱系；该谱系应该包括可用的临床和实验室试验信息。

建议针对灵敏度试验对患者人群做出如下细分：

* + 1. 来自具有记录红斑变性（EM）或培养物呈阳性（症状发作后<1个月，1-2个月， 2-3个月）的患者的初始（急性）样本。
    2. 来自具有记录EM或培养物呈阳性的患者的恢复期样本，并在最初出现症状（3-12个月）后进行抽取时对其进行分层。
    3. 对已患有莱姆病并具有除了EM以外的其他症状（例如神经，关节炎等）的患者进行的测试，其中从感染到症状发作的时间间隔可能未知或超过1年。

建议对来自所有范围的患者的样本进行试验。

1. 预期研究：应该进行一项旨在测试未经筛选、预期从美国境内至少三个地理位置不同的地点采集的连续样本的研究。应使用试验器械和对比器械对这些样本进行试验，其中，试验应在至少3个中心进行，其中一个中心可以是内部中心。
   * + 1. 对于EIA器械：应将结果与使用类似器械获得的结果进行对比。通过试验器械和类似器械获得的所有阳性和不定样本应当通过食品药品监督管理局批准的IgM和/或IgG 蛋白质印迹测定（如适用）进行试验。
       2. 对于蛋白质印迹器械：应首先通过食品药品监督管理局批准的第一步EIA对前瞻性研究样本进行测试。所有EIA阳性和不定样本应通过试验器械和类似蛋白质印迹进行测试。应提供两个器械之间的阳性和阴性％协定。

蛋白质印迹结果的解释：对蛋白质印迹结果进行的解释应遵循疾病控制中心（CDC）所述的推荐标准[参考文件：1]以及关于莱姆病血清学诊断的第二次全国会议的推荐标准 [参考文件：2]。如果以下3种频带中有2种存在，则IgM免疫印迹被视为阳性：23kDa（OspC），39kDa（BmpA）以及41kDa（Fla）。如果以下10种频带中有5种存在，则IgG免疫印迹被视为阳性：18kDa、23kDa（OspC）、28kDa、30kDa、39kDa（BmpA）、41kDa（Fla）、45kDa、58kDa、66kDa和93kDa。

分析特异性试验：为了确定分析特异性，建议对来自地方性和非地方性区域的样本进行试验（每个区域至少100例样本）。这些样本应从无症状人群获得，但不应包括预筛选的献血者。结果以阳性％和阴性％表示，并应分别根据地方性和非地方性受试者呈现。

CDC标准小组试验：应该通过新器械对由CDC提供以用于测试莱姆病检测器械的标准阳性和阴性样本小组进行测试，并且提供实际结果与预期结果，其中，应以％协定表示实际结果。数据应按疾病分期分层：早期、中期、晚期，并与比较器械进行对比。

#### 标签

器械的拟定标签必须符合21 CFR 809.10的要求。作为满足这些要求的一部分，我们建议贵公司的标签应说明质量控制建议，其中应清楚说明与测定一起使用的控制和校准物以及其使用频率。

### CLIA 豁免

如果贵公司正根据1988年临床实验室改进法案（CLIA）2为贵公司的器械寻求豁免，我们建议贵公司就具体研究的设计咨询微生物学器械部的工作人员，以支持贵公司的器械的CLIA豁免申请。“行业和食品药品监督管理局工作人员指南，建议：1988年临床实验室改进法案（CLIA）体外诊断器械制造商豁免申请”可在以下网站获得：http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocument s / ucm079632.htm。

2请参见42 U.S.C. § 263a（d）（3）.

## 参考文件

1. CDC. Recommendations for test performance and interpretation from the Second National Conference on Serologic Diagnosis of Lyme Disease. MMWR 1995；44：590-591.
2. Association of State and Territorial Public Health Laboratory Directors and the Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations. In：*Proceedings of the Second National Conference on Serologic Diagnosis of Lyme Disease （Dearborn， Michigan）*. Washington， DC：Association of State and Territorial Public Health Laboratory Directors 1995； 1-5.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Interference Testing in Clinical Chemistry； Approved Guideline. EP7-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute， Wayne PA.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2004. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods； Approved Guideline. EP5- A2. Clinical and Laboratory Standards Institute， Wayne PA.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2002. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance； Approved Guideline. EP12-A. Clinical and Laboratory Standards Institute， Wayne PA.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. User Verification of Performance for Precision and Trueness； Approved Guideline. EP15-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute， Wayne PA.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. 1990. Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens； Approved Guideline. H18-A. Clinical and Laboratory Standards Institute， Wayne PA.