**使用自动和半自动染色体分析仪评估细a胞遗传学分析的审查标准（仅限文本）**

本指南编写于1997年2月27日实施FDA的良好指导规范（GGP）之前。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。本指南将在下一版本中更新，以纳入GGP的标准部分。

文件草案

致制造商

版本： 原版

日期： 1991年7月15日

使用自动和半自动染色体分析仪评估细胞遗传学分析的审查标准。

这是一个灵活的文件草案，其代表着当前有关用于细胞遗传学分析的体外自动化和半自动染色体分析仪的主要关注问题和建议。其基于（1）当前的基础科学，（2）临床经验，3）当前标准实验室实践，和4）制造商先前递交FDA的提交资料。随着科学和医学的进步，这些审查标准将进行重新评估和修订，以便适应新的知识。

目的：本文件旨在为用于染色体分析的器械许可上市前递交食品药品监督管理局（FDA）的信息提供指南。这些信息使FDA能够根据统一的数据库做出更合理的决定。

定义：这种通用类型器械的预期用于细胞遗传学实验室，帮助实验室人员执行中期/前中期人类染色体核型分析的某些过程，进行体外细胞遗传学分析。

产品代码： LNJ – 88

法规编号： CFR ~ 864.5260 自动细胞定位器械。

面板： 病理学

类别： II类

所需审查： 510（k）

法规问题：

鼓励制造商开发符合实验室监管组织指南的器械。

大多数细胞遗传学实验室和认证机构同意某些能力试验，或由国家监管。美国病理学家学会（CAP）和区域遗传网络理事会（CORN）提供自愿性能力试验。在纽约州，卫生部负责实验室试验和认证；俄勒冈州

则给细胞遗传学实验室签发许可。

在纽约州，使用图像分析计算机系统的细胞遗传学实验室必须开发符合实验室许可证质量控制标准的记录保存和检索系统。

1. 背景
2. 临床实践中的细胞遗传学

细胞遗传学分析是评估细胞染色体的体外临床实验室程序。临床细胞遗传学专门研究染色体及其与表型的相关性（可观察到的临床特性）。某些临床特性始终伴随着特定的染色体异常。这种表型-核型相关性有助于临床医生进行临床基因诊断和预后。

染色体畸变有两种基本类型：数值畸变和结构畸变。染色体数目的常见异常包括非整倍体、嵌合体和多倍体。结构异常包括重复、删除、倒位、易位、脆性位点等。

研究者发现，染色体畸变与许多性发育异常有关，例如特纳氏综合征（XO）和克氏综合征（XXY）；智力迟钝（唐氏综合征中的21-三体综合症和脆性X综合征中的脆性X）；复合畸形综合征（13-三体综合症）；自然流产；以及恶性疾病（慢性骨髓性白血病中染色体9和22之间的染色体易位）。

除用于检测经典染色体异常的研究之外，最新生物技术为传统细胞遗传学分析增加了一个新的维度。细胞遗传学程序可以用于研究细胞周期相关现象、基因扩增（均匀染色区域和双微体）、染色体断裂剂激发、染色体断裂综合征、染色体脆性位点和多态性以监测器官/组织移植。位点特异性的DNA探针用于通过使用染色体特异性DNA探针的原位杂交以识别染色体异常以及进行基因作图。

临床医生要求具有临床发现或指示染色体异常的医学或家族史的个体进行细胞遗传学分析。在过去十年中，由于对产前染色体检测的需求以及染色体分析在癌症诊断和监测中的广泛应用，细胞遗传学研究的需求有所增加。

对于临床医生来说，准确的细胞遗传学分析对于准确的临床基因诊断和预后至关重要，可用于患者管理、妊娠规划和产前诊断。

诊断错误（包括假阳性和假阴性）将具有深远的医疗和法律影响。因此，用于细胞遗传学分析的任何器械必须具有灵敏度、特异性且安全有效，这一点至关重要。

1. 历史背景

人类的正确染色体数目（46）由Tjio和Levan在1956年确定2。在此之前，正常人染色体数目被认为是48。随着这种新知识的出现，研究者开始意识到某些染色体异常可与特定的先天性缺陷相关。

用于处理有丝分裂染色体的技术改进激发了研究者对人类细胞遗传学的兴趣。1959年Lejeune等人描述了首个与临床综合征相关的染色体异常，即唐氏综合征中的21三体综合征。随着染色体显带技术在20世纪70年代的出现，研究者可以识别所有染色体对，并可更准确地表征染色体数目和结构的异常。对于给定的显带技术，每个染色体对均显示出独特模式，即沿染色体长度出现的鉴别染色。

用于分析染色体的传统方法较为耗费劳力。到20世纪60年代初，用于中期染色体的4个自动化分析工具的开发进展顺利。研究者的主要目标是开发自动化系统，且该系统的性能应与细胞遗传学家使用的常规技术一样，更快速且更具成本效益。

由于细胞遗传学实验室的工作负载快速增加以及用于图像处理的计算机能力不断改进，这些器械越来越多地被人们使用，使部分手动过程自动化。5.6现今，各种计算机硬件和软件功能可供使用，其中这些硬件和软件旨在协助II.C中所述程序的一个或多个步骤。

1. 常规细胞遗传学分析中的基本步骤7，8，9
2. 样本类型和细胞制备。（自动染色体分析仪不参与此步骤。）
3. 获得具有大量周期（分裂）细胞的样本

可在未进行培育的情况下采集含有快速分裂的细胞（例如骨髓、实体瘤和绒毛膜绒毛）的样本（直接方法）。其它类型的组织（例如，外周血淋巴细胞、皮肤成纤维细胞和羊水细胞）必须在采集前于营养培养基和受控环境中进行培养。

1. 采集细胞

通过加入可抑制纺锤体纤维形成的秋水仙碱或类似试剂，在细胞周期的中期阶段停止细胞分裂。使用低渗剂处理细胞，使细胞膨胀，并且当其滴在显微镜载玻片上或在盖玻片上生长时使中期染色体更好地扩展。使用固定剂处理细胞并杀死，理清染色体形态，并增强染色体的嗜碱性。

1. 准备载玻片和染色细胞
2. 选择和分析中期染色体的细胞

染色体（自动染色体分析仪可以修改或辅助一个或多个此类程序）

1. 选择预定数量的并具有合适质量的中期染色体涂片，研究染色体并计数，确定模态染色体数目。
2. 选择几个代表性染色体涂片进行详细分析。所选择的细胞数量根据个体实验室实践和试验的临床适应症改变。
3. 为代表性中期染色体涂片拍摄照片，并制作适当数量的相片。
4. 从相片中切割单个染色体。按照人类细胞遗传学命名的国际体制（ISCN），1985指南，将染色体以标准格式配对并排列。10
5. 使用标准命名法编制最终报告，报告需纳入保存的总结和说明以及所计数和分析的细胞数。将报告发送给转诊临床医生。在个别机构或其他监管机构确定的一段时间内保留永久记录（包括有关最终报告的副本、原始中期图像和核型以及显微镜载玻片的记录）。
6. 器械描述
7. 一般原则和功能

对这些器械的审查中，关键问题集中于具体的预期用途声明和要求，用途声明和要求取决于制造的器械类型。

以下功能/性能属于已在美国上市或正在开发以用于临床使用的器械代表性功能/性能。应在51OK提交资料的标签部分中详细说明所声明的这些和任何其他功能。

工作站

硬件/软件

带自动对焦显示器的电子摄像机

显示器（彩色，单色）

文字处理器

特殊决策功能

自动核型分析

中期发现

染色体发现

随体分析

原位杂交分析

姐妹染色单体交换（SCE）分析

自动切割和/或分离染色体

图像处理

定位

旋转

移动

消除工件（匀光）

扩大所选中期，染色体对或单个染色体

增强

对比

电视摄像机的图像捕获过程

解决灰度（灰度级别）

打印机接口

显微镜接口

网络容量

数据存储机制和容量

能够识别和分析前期染色体的能力

可以使用工具的染色方法

染色体识别能力

培训功能

1. 具体功能说明：
2. 中期检测仪/扫描仪可帮助细胞技术学家快速定位适用中期染色体，用于分析。这些工具自动扫描显微镜载玻片，找出可能的中期染色体涂片。工具可以根据质量对中期细胞进行排序，并将其显微镜载片坐标存储在计算机数据库中。中期检测/扫描工具并不总是准确的。在一些情况下，工具的使用限于特定类型的染色，并且可能不适合用于某些类型的异常。
3. 染色体计数器通过自动计数给定中期染色体涂片中的染色体数量来确定染色体数目。
4. 显微照相术和摄影暗室过程减少了核型分析时对显微照相术、摄影暗室工作和切割和粘贴染色体的需要。该过程使用数字图像处理，通过将图像划分为像素网格来数字化中期图像。分辨率和细节由图像中的像素数量和对比度级别（灰度）的范围确定。灰度水平理论上可以在0至256的范围内。有关每个像素的光学信息及其位置可以进行处理并存储在计算机数据库中。对中期染色体进行操作（切割）并成对排列（粘贴）于核型卡上（投影到计算机显示器上）。一些工具用于自动进行“切割和粘贴”（请参见下面的B.4.b.部分） - 其他工具则需要操作者对图像进行操作（请参见下面的B.4.a部分）。
5. 交互式和自动核型分析
6. 交互式系统不具决策能力，并且依赖于操作者从计算机屏幕中分类染色体并将染色体排列在计算机化的核型表上。
7. 自动核型分析系统具有不同的决策能力。应基于染色体尺寸（例如，短臂与长臂的比率）以及显带核型详情对染色体进行分类。
8. 增强、更改和操作功能。一些工具具有可增强或对比中期和/或单个染色体中的染色体图像以改善染色体的显带特性的功能。其他功能可更改或允许操作者更改染色体形态和/或其它细胞特性。这些功能包括：矫直、扩大、修整、“镜像”、“增强”（选择性改变中期染色体涂片内或染色体区内的染色模式），以及匀光/增强细胞质背景。
9. 专业分析（开发中）。一些工具能够执行针对专门研究（如染色体随体、原位杂交和姐妹染色单体交换（SCE））的分析。一些染色体分析仪可自动计算每个中期细胞的随体或SCE的数目或每个间期或中期细胞的杂交探针位点的数目。尽管该功能目前已用于研究目的，但尚未被FDA许可用于临床应用。
10. 硬拷贝打印。大多数系统能够生成接近照相质量的、打印机生成的中期图像和核型的硬拷贝。
11. 生成报告。许多工具具有为转诊临床医生生成（编制和打印）最终总结以及处理计费过程和其他簿记的性能。
12. 计算机化患者数据存储、检索和归档系统。数据库可以包括中期图像和核型、患者识别信息和最终报告。
13. 培训功能（开发中）。该功能允许操作者教系统识别给定实验室的特定染色体制片。其允许操作者“训练”工具以识别不同的染色制片。尽管该功能目前已用于研究目的，但其尚未被FDA许可用于临床应用。
14. 通信功能允许站点与站点进行图像传输。
15. 网络功能提供工作站和本地区域之间的网络连接。
16. 具体性能特性

通过器械生成的数据，支持对工具运行极为重要的特定参数。证明该器械实质等同于合法销售的等同器械。通过将器械的性能与染色体分析的手动参考方法进行对比，进行性能研究，证明该器械安全且有效。有关特定功能所需的性能特性的详细信息，请参见第II.B.节“器械描述”。

处理标签的性能特性部分中第III.C.节所述的性能特性所有方面。提供以下有关工具的复现性/精确性和准确性的具体信息，其中，这些工具的功能可用于进行此类研究。请纳入详细的研究方案、生成的数据和任何提交资料中数据的统计分析，在标签的性能特性部分纳入性能数据的总结

* 1. 分析/实验室/体外研究
  2. 复现性研究

对具有染色体异常或所声明的特性类型（例如，正常、非整倍体、结构重排、脆性位点、姐妹染色质交换等）的足够数量对照样本和供试品进行研究，证明：

* + 1. 样本复现性范围内

器械对给定程序的重复试验（分析）是否给出相同结果？ 例如，是否可在给定载片上定位相同细胞、以相同方式对细胞进行排序、在给定细胞上给予相同染色体计数、对给定细胞生成相同核型等。

* + 1. 工具复现性之间

不同器械对给定程序是否给出相同结果？ 例如，其是否可在给定载片上定位相同细胞、以相同方式对细胞进行排序、在给定细胞上给予相同染色体计数、对给定细胞生成相同核型等。

* 1. 对比研究

对比研究可提供与用于染色体分析的手动方法相比，有关工具准确确定特定结果的能力的数据。（如果非使用手动方法，请说明该方法的选择依据，并包括相关的参考文件。）

对具有染色体畸变和无染色体畸变的足够数量样本进行试验，并计算以下参数：

a. 相对诊断灵敏度：工具通过参考方法正确识别被确定为异常的畸形的概率。

b. 相对诊断特异性：工具通过参考方法正确识别被确定为正常的正常样本的概率。

* 1. 质量标准

说明相对质量：与ISCM（1985）指南10中的参考方法相比，工具是否达到相同的（或更高的）显带分辨率？

* 1. 软件文件

所有计算机软件都应符合FDA的计算机产品法规政策。有关一般信息，请联系FDA小型制造商部门（电话：800-638-2041）。有关具体信息，请联系产品监控部（电话：301-427-8156）。

* 1. II.B.中所述特定功能的特殊注意事项

具有任何决策功能的所有器械还应具有一个允许操作者交互、编辑和覆盖由器械生成的工作的功能。

成像分析计算机系统的几个功能需要给予特别考虑，下面将对这些功能进行讨论。

对于以下每个功能，若无其它规定，请提供复现性和对比研究、质量标准和软件文件。

在标签（例如，预期用途、方法、限制等）中酌情纳入以下注意事项。

1. 中期染色体检测仪
2. 说明可与器械配合使用的染色方法。说明可以分析的制片类型（例如，风干、在盖玻片上生长、初级菌落等）
3. 提供数据，证明该器械在就染色体数目（例如，非整倍体、多倍体）、核内复制、一些恶性细胞中的不良染色体形态、结构染色体异常（例如易位、双着丝粒、断片等）或染色体染色因子选择中期染色体时不会产生偏差。
4. 提供数据，证明中期染色体排序功能的性能。在标签中说明中期染色体检测仪是否会检测某些细胞异常，如微核、核仁组织区（NOR）变更和细胞质或细胞核的其他异常，这些异常将由精密观测仪观察。
5. 因为这些工具并不总是准确地对中期染色体进行定位和排序，所以应在标签的限制部分标明以下或（类似）声明。

“细胞遗传技术专家/细胞遗传学家应在不使用中期染色体扫描仪/检测仪的情况下对载玻片进行审查。”

1. 说明其是否适用于使用中期染色体检测仪进行研究，如药物敏感性、肿瘤硬组织等。在标签的限制部分中说明所有限制。
2. 染色体计数器
3. 说明可与器械配合使用的染色方法。
4. 说明由染色体扩散的程度（例如，染色体重叠、扩散过度、细胞破裂、一个位置中太多的中期染色体等）所造成的限制。
5. 提供数据，证明不会因非整倍体、多倍体、核内复制、放射形成、染色体粉碎、一些恶性细胞中的不良染色体形态、结构染色体异常（例如双着丝粒、断片等）而使染色体计数产生偏差。如果生成了任何不正确的染色体计数结果，应在包装说明书的限制部分中说明。
6. 在标签的限制部分中纳入以下或类似的声明：

“一般来说，确定所研究细胞群体的正确染色体数目时会有一个或多个错误，操作者有责任确定正确的模态染色体数目。

1. 交互式核型分析系统（无决策能力）

因为该功能不具决策能力，所以无需进行复现性和对比研究。

1. 自动核型分析

仅需针对器械的决策特性进行复现性和对比研究。

在标签的限制部分中纳入以下或类似声明：

“一般来说，计算机生成的核型会有一个或多个错误，因此，必须始终由合格的细胞遗传学家或细胞遗传学技术人员对其进行检查和编辑，作为最终的交互式手动操作。

1. 增强、变更和操作功能

以任何方式变更染色体形态（除改善培养和染色技术外）不属于细胞遗传学分析中专业实践的公认标准。

1. 增强、变更和操作功能无需对比数据。
2. 如器械具有以任何方式改变染色体形态的功能，那该器械也应当具有自动和永久标记/指定核型中的这些变更的内置功能。
3. 染色体的数字化拉直通常可人为诱导额外显带生成，因此不可能明确地确定拉直的染色体是否正常。将任何拉直的染色体指定为stat。
4. 确保器械不具有诱发伪像产生的能力。
5. “凸显”细胞背景的功能不应自动开启，并且应具有需要操作者激活的内置功能。除非操作者已经检查了细胞以确保待凸显的材料为真实伪影而不是染色质材料（例如双微体），否则不得使用这种功能。
6. 说明这些功能的用途时，请在标签的限制部分和操作员手册中的其他地方纳入有关各功能滥用可能性的声明。对本节中列出的功能请使用以下或类似声明：

“细胞遗传学技术人员和/或细胞遗传学家有责任按照标准实验室规范和法规准则使用所有功能。

1. 显微照相术和暗室程序
2. 无需提供复现性和对比数据。
3. 将数字化图像的分辨率与ISCN，1985指南10分辨率标准（400，500和850显带）的标准显微分辨率进行比较。
4. 对于不具决策能力的器械，请在标签的预期用途部分纳入以下或类似声明：

“该器械无法定位中期染色体涂片；器械不根据质量对给定细胞进行排序； 不会对染色体进行自动分类；其需要完全依赖操作者来操作数字化显微镜图像。”

1. 硬拷贝相片
2. 无需提供复现性和对比数据。
3. 在标签的“过程原则”部分中说明硬拷贝相片的质量和分辨率。说明计算机生成的相片的质量/分辨率是否等同于（相当于）标准显微镜（灰度级）以及器械是否符合ISCN，1985指南设定的最小分辨率标准。
4. 说明照片图像纸的成分、质量和耐久性，以及对比度是否随着时间推移而变差。
5. 对于含有汞或其他有毒物质的纸张，需要在标签的“预防措施”部分提供预防/警告声明。
6. 说明照片可保留档案质量的时间。这些硬拷贝照片的耐久性极为重要，因为一些专业/许可代理机构需要长期存储中期染色体图像（纽约州，时间长达25年）。
7. 计算机化患者数据存储、检索和归档系统。
8. 无需提供复现性和对比数据。
9. 此特点应符合本文件第III.B节的要求。以下问题特别值得关注，并应在标签的“程序原则”部分对其进行讨论：
10. 充分的安全控制措施，其可能需要几个级别的“密码”安全，以确保患者信息得到保护并保密；
11. 充分的安全措施，以防止因意外或病毒而删除数据
12. 说明数据存储的位置和方式；以及
13. 建议使用多个识别代码（例如，用于患者识别数据、中期染色体、核型、最终报告等），确保来自数据库和档案系统的信息可正确有效存储和检索。
14. 标签注意事项

标签（操作者手册或包装说明书）应包括体外诊断标签法规21 CFR〜809.10（b）（6）以及21 CFR〜809.10（b）其他相关标题中列出的所有信息：

1. 预期用途声明

请简要说明器械的功能/特性。须明确指出，合格的细胞遗传技术专家和/或细胞遗传学家必须编辑和/或确认所有计算机生成的数据/结果，并做出最终判断/决定。

对于不具决策能力的器械，请在本节中纳入以下或类似声明：

“该器械无法定位中期染色体涂片；器械不根据质量对给定细胞进行排序； 不会对染色体进行自动分类；其需要完全依赖操作者来操作数字化显微镜图像。”

1. 器械的限制包括：
2. 声明，即工具的决策能力不能使细胞遗传学家/细胞遗传学技术人员免于审查和编辑由器械产生的所有工作的责任，且必须由合格的细胞遗传学家做出最终决定；
3. 适当在性能特性部分（III-C）中声明为每个功能提出的预防措施。在一些情况下，可纳入有关功能（一个以上）的限制声明；以及
4. 对具有决策能力的所有器械做出的一般性声明：

“一般来说，计算机生成的数据/染色体核型中会有一个或多个错误，因此，必须始终由合格的细胞遗传学人员进行检查和编辑，作为最终的交互式手动操作。”

“最终临床诊断必须由合格的医务人员进行。”

1. 性能特性

按照第III节的要求进行研究时，对所有复现性和对比研究（灵敏度和特异性）进行总结。

还涉及与特定功能相关的其他性能特性（如第III-C节所述）。

1. 参考文件

1. Letter. September 1989 Cytogenetic Proficiency Test,

General Comments. New York State Department of Health.

2. Tjio, JH and Levan, A: The chromosome number in man.

Hereditas, 42:1, 1956.

3. Lejeune, J, Gautier, M, and Turpin, MR: Etude dais

chromosomes somatiques de neut enfants mongoliens.

C.R. Acad. Sci. (Paris) 248, 1721-1722, 1959.

4. Lubs, HA and Ledley, RS: Automated analysis of

differentially stained human chromosomes. Nobel.

23:61-76, 1973.]

5. Lifshitz, MS and DeCresce, RP: Genetiscan Digital

Karyotype System. Lab Med, 18(6):402-403, 1987.

6. Bender MK: Karyotyping System with Special Reference to

the KARYOTEC 100. Presentation: 34th Annual Scientific

Meeting of The Royal College of Pathologists of

Australia. Hong Kong, 1989.

7. Rooney DE and Czepulkowski BH: Human Cytogenetics: A

Practical Approach. Oxford, England: ILR Press; 1986.

8. Verma RS and Buba A. Chromosomes: A manual of Basic

Techniques. New York, NY: Pergamon; 1989.

9. Priest JH: Medical Cytogenetics and Cell Culture. 2nd

ed. Philadelphia, PA: Lea and Fabiger; 1977.

10. Harden DG and Klinger HP: An International System for

Human Cytogenetic Nomenclature (1985). Basel,

Switzerland: S Karger; 1985.