# II类特殊控制指南文件：用于检测艰难梭菌的毒素基因扩增试剂盒

**行业和美国食品药品管理局工作人员指南**

**文件发布日期：2015年8月27日**

有关本文件的疑问，请致电微生物器械部301-796-5461，或微生物器械部Noel Gerald Ph.D301-796-4695或电子邮件[noel.gerald@fda.hhs.gov.](mailto:noel.gerald@fda.hhs.gov)



**美国卫生和人类服务部**

**美国食品药品管理局**

**器械与放射卫生中心**

**体外诊断和放射卫生办公室**

**微生物器械部**

**前言**

**公众意见**

## 您随时可以在http://www.regulations.gov提交电子意见和建议，供本机构审议。书面意见请邮寄至美国食品药品管理局待审问题管理处，地址：5630 Fishers Lane, Room 1061, (HFA-305), Rockville, MD, 20852。所有意见都请标示文件编号FDA-2015-N-2963。在文件被下次修订或者更新之前，意见可能不被监管机构所采用。

**额外副本**

额外副本可以通过互联网获取。您还可将电子邮件请求发送至[CDRH-Guidance@fda.hhs.gov](mailto:CDRH-Guidance@fda.hhs.gov%20) ，以接收指南文件的副本。请使用文档编号1200022来确定索取的文件。

## 目录

[I. 前言 1](#_Toc496789042)

[II. *艰难梭菌* - 背景 1](#_Toc496789043)

[III. 特殊控制 – 背景 2](#_Toc496789044)

[IV. 适用范围 2](#_Toc496789045)

[V. 健康风险 2](#_Toc496789046)

[VI. 具体器械描述要求 3](#_Toc496789047)

[VI(A). 预期用途 4](#_Toc496789048)

[VI(B). 试剂和其他器械组件 4](#_Toc496789049)

[VI(B)(1). 仪器 - 硬件和软件 4](#_Toc496789050)

[VI(B)(2).辅助试剂 7](#_Toc496789051)

[VI(C). 使用您的器械的测试方法 9](#_Toc496789052)

[VI(D).测试结果的解释/报告 9](#_Toc496789053)

[VII. 性能研究 10](#_Toc496789054)

[VII(A).一般研究要求 10](#_Toc496789055)

[VII(B). 对照 10](#_Toc496789056)

[VII(B)(1).阴性对照 11](#_Toc496789057)

[VII(B)(2).阳性对照 11](#_Toc496789058)

[VII(B)(3).内部对照 11](#_Toc496789059)

[VII(C).分析性能研究 12](#_Toc496789060)

[VII(C)(1).分析灵敏度 12](#_Toc496789062)

[VII(C)(2).分析特异性 13](#_Toc496789066)

[VII(C)(3).精密度 16](#_Toc496789067)

[VII(C)(4).残留/交叉污染研究 17](#_Toc496789080)

[VII(C)(5).样本收集、处理、储存和运输条件 17](#_Toc496789081)

[VII(C)(6).核酸提取方法 17](#_Toc496789082)

[VII(C)(7).预期值 18](#_Toc496789083)

[VII(D).临床性能研究 18](#_Toc496789084)

[VII(D)(1).研究方案 19](#_Toc496789085)

[VII(D)(2).研究机构 19](#_Toc496789086)

[VII(D)(3).研究人群 19](#_Toc496789087)

[VII(D)(4).结果说明 20](#_Toc496789088)

[VIII. 标签 20](#_Toc496789093)

[VIII(A).预期用途 20](#_Toc496789095)

[VIII(B).设备描述 20](#_Toc496789097)

[VIII(C).使用说明 20](#_Toc496789099)

[VIII(D).局限性 21](#_Toc496789101)

[VIII(E).预期值 21](#_Toc496789112)

[VIII(F).性能特征 21](#_Toc496789114)

[IX. 参考文献 21](#_Toc496789116)

# II类特殊控制指南文件：用于检测艰难梭菌的毒素基因扩增试剂盒

**行业和美国食品药品管理局工作人员指南**

## 前言

制定本特殊控制指南以支持将艰难梭菌毒素基因扩增试剂盒分类为II类（特殊控制）。

本指南确定了FDA认为可缓解与这些器械相关的健康风险并提供合理的安全性和有效性保证的措施。提交艰难梭菌毒素基因扩增试剂盒510（k）上市前通知的企业需要：（1）遵守本特殊控制指南中规定的特定缓解措施，或（2）使用替代缓解措施，但应向本机构证明该企业采取的替代措施将至少提供同等的安全性和有效性保证。

## *艰难梭菌* - 背景

艰难梭菌（*C. difficile*）是一种革兰氏阳性、形成孢子的厌氧芽孢杆菌，包括产毒和非产毒菌株。当用某些抗生素处理肠内定殖的菌群时，结肠菌群的破坏可能导致结肠内产毒艰难梭菌的繁殖并产生毒素。通常产生两种类型的毒素：毒素A（肠毒素，TcdA）和毒素B（细胞毒素，TcdB）；毒素B是主要的毒性因子。编码毒素A和毒素B的基因是在产毒菌株中发现的致病基因座（PaLoc）的一部分。大多数致病菌株为毒素A和B均阳性（A+B+），但一些致病性变异株可能是毒素A阴性B阳性（A-B+）。一些产毒艰难梭菌菌株也产生称为艰难梭菌转移酶（CDT）或二元毒素的毒素。二元毒素基因座含有两个不属于PaLoc的基因（cdtA和cdtB）。艰难梭菌感染（CDI）的临床表现各异，从轻度自限性腹泻到严重的出血性抗生素相关性腹泻，再发展为假膜性结肠炎和中毒性巨结肠。感染的方式是口腔-粪便途径。感染风险人群主要是接受抗生素治疗的住院患者（如：医院和疗养院的患者）。在过去几年中，已经爆发了属于PCR糖核酸型027、PFGENAP1型和REA B1型的高毒性和氟喹诺酮耐药菌株引起的CDI。CDI也被认为是社区医院中最近没有住院暴露的患者腹泻的原因。

## 特殊控制 – 背景

FDA认为有必要采取特殊控制措施并结合《联邦食品、药品和化妆品法案》（FD＆C法案）的通用管制措施，以对艰难梭菌毒素基因扩增试剂盒的安全性和有效性提供合理保证。因此，拟销售此器械的制造商必须：（1）遵循FD＆C法案的通用管制规定，包括21 CFR 807子部分E中描述的上市前通知要求1；（2）符合本指南中确定的特殊控制要求；（3）在销售该器械前，获得FDA的实质等同性认定。

## 适用范围

本文件的适用范围仅限于21 CFR 866.3130中描述的以下器械：

21 CFR 866.3130，*艰难梭菌毒素*基因扩增试剂盒

*（a）识别*。*艰难梭菌毒素*基因扩增试剂盒是一种器械，由用于扩增和检测疑似艰难梭菌感染（CDI）患者的粪便样本中*艰难梭菌毒素*基因的目标序列的试剂组成。梭菌毒素基因的检测结合其他实验室检测，有助于临床实验室诊断由艰难梭菌引起的CDI。

## 健康风险

FDA已经确定了与使用该器械相关的四种健康风险。这些风险为：假阴性测试结果，假阳性测试结果，无法使用或无法进行正常检测，未能正确解读检测结果。下表列出了降低这些风险的措施。

FDA已经确定了假阴性检测结果和假阳性检测结果的风险，由于与该器械相关的安全性和有效性问题，这两者都可能导致个人和公共健康危害。导致无法得到结果（例如，由于试剂、仪器、数据管理或软件故障）或无法得到有效结果的器械故障可能会延迟诊断并且可能需要收集额外的样本。器械未能按预期检测艰难梭菌毒素基因或未能正确解释结果，可能导致不正确的患者管理决定。对于个别患者管理而言，假阴性报告可能导致延误提供（或无法提供）明确诊断、适当治疗、感染控制和预防措施。假阳性报告可能导致不必要或不适当的治疗或不必要的控制和预防措施。

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

1有关510（k）提交的更多信息，请参阅21 CFR 807.87和器械和放射卫生中心（CDRH）器械建议([http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/default.htm).](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/default.htm))

根据本指南，拟销售这种器械的制造商必须在提交上市前通知前进行风险分析，以识别其器械所特有的任何其他风险。上市前通知必须描述所使用的风险分析方法。如果您选择使用替代方法来降低本指南中确定的特定风险，或者您或他人识别到使用此类器械的其他潜在风险，则您必须提供详细信息，说明用于缓解这些风险的方法以及您所选择方法的依据。

**表1 - 已识别的风险和缓解措施**

|  |  |
| --- | --- |
| **已识别的风险** | **缓解措施** |
| 个人的假阳性检测结果可能导致不当使用抗生素进行治疗 | * 第VI节（具体器械描述要求） * 第VII节（性能研究） * 第VIII节（标签） |
| 个人的假阴性检测结果可能导致抗生素治疗的潜在延误 | * 第VI节（具体器械描述要求） * 第VII节（性能研究） * 第VIII节（标签） |
| 无法使用或无法进行正常检测 | * 第VIII节（标签） |
| 未能正确解读检测结果 | * 第VIII节（标签） |

## 具体器械描述要求

在您的510（k）提交中，您必须提供以下详细讨论的有关该器械的预期用途、试剂和其他器械组件、测试方法、可能产生的测试结果、以及用户如何解读测试结果的详细信息。

### VI(A). 预期用途

您的510（k）必须包含描述产品预期用途的标签。您必须清楚地说明该测试试剂盒的临床适应症、分析物的性质、待检测目标以及该器械是否可能有极限性。预期用途必须包括待测试的患者人群、测试适用的样本类型、测试是否是定性的、以及任何特定的使用条件。您必须具体说明您的器械是否可用作其他实验室测试和临床检查的辅助手段。

**VI(B). 试剂和其他器械组件**

在510（k）中描述试剂和其他器械组件时，您必须详细描述该器械的设计要求，以解决或缓解与用于在毒素基因扩增测试方法中检测艰难梭菌毒素基因的目标序列的试剂和仪器相关的风险。510（k）中的性能数据必须能够支持符合设计要求的结论。例子包括：

* 设计用于封闭式管道测试系统的试剂（例如，预充式管道），以减少由于扩增子或携带污染导致的假阳性。
* 开发用于提取和纯化的方法，以从患者样本中获得合适的质量和数量的核酸，用于在测试系统中使用您的试剂进行分析。
* 优化用于推荐仪器的试剂和测试方法。

您必须提供任何非标准设备或方法的插图或照片（如适用）。

**VI(B)(1). 仪器 - 硬件和软件**

对于测量多个信号的仪器和系统以及以前未被批准的其他多元实验室仪器，请参阅FDA的指南文件“II类特殊控制指南文件：临床多元测试系统仪器”（[http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm077819.htm)u[cm077819.htm ) ，以了解您必须提供以支持审批的](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm077819.htm)仪器相关数据类型的详细信息。

如果您的系统包含软件，则必须根据您的软件相关的关注级别提交详细的软件信息。关注级别必须在没有采取缓解措施的情况下，通过危害分析来确定（即，危害分析必须在没有采取任何缓解措施的情况下进行）。这种类型的体外诊断器械的关注级别预期通常为中度，因为软件缺陷可能使医务人员和患者无法得到准确信息，间接影响患者并可能导致伤害。关注程度是基于与该器械功能相关的软件的操作如何影响患者或操作员，并在下文中解释。

* 重度 -符合以下条件，则关注级别为重度：（1）如果出现故障或潜在缺陷可能直接导致患者或操作员死亡或严重伤害；和/或（2）如果出现故障或潜在缺陷可能通过不正确或延迟的信息或通过护理人员采取的措施而间接导致患者或操作员死亡或严重伤害。
* 中度 -符合以下条件，则关注级别为中度：（1）如果出现故障或潜在设计缺陷可能直接导致对患者或操作员的轻微伤害；和/或（2）如果出现故障或潜在缺陷可能通过不正确或延迟的信息或通过护理人员采取的措施而间接导致患者或操作员的轻度伤害。
* 轻度 -如果出现故障或潜在设计缺陷不太可能对患者或操作员造成任何伤害，则关注级别为轻度。

有关510k提交所需的软件文档，请参阅下表2，具体取决于与目标器械相关的关注级别。

**表2 - 基于关注程度的所需文档**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **软件文件** | **轻度关注** | **中度关注** | **高度关注** |
| [关注级别](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm089543.htm) | 表明关注程度的语句和对该级别理由的描述。 | | |
| [软件描述](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm089543.htm) | 功能和软件操作环境的概述。 | | |
| 器械危害分析 | 表格描述已识别的硬件和软件危害，包括严重性评估和缓解措施。 | | |
| 软件要求规格 [(SRS)](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm089543.htm) | SRS功能要求概述 | 完整的SRS文件。 | |
| 结构设计图 | 不需要提交 | 详细描述功能单元和软件模块。可以包括状态图和流程图。 | |
| 软件设计规范（SDS） | 不需要提交 | 软件设计规范文件。 | |
| 可追溯性分析 | 要求、规格、已识别的危害和缓解措施以及核实和验证（V＆V）测试之间的可追溯性。 | | |
| 软件开发环境描述 | 不需要提交 | 软件生命周期开发计划概述，包括配置管理和维护活动的概述。 | 软件生命周期开发计划概述。在开发过程中产生的控制文件的注释列表。包括配置管理和维护计划文件。 |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 核实和验证文档 | 软件功能测试计划，通过/失败标准和结果。 | 描述在单元、整体和系统级的V＆V活动。系统级测试方案，包括通过/失败标准和测试结果。 | 描述在单元、整体和系统级的V＆V活动。单元、整体和系统级测试方案，包括通过/失败标准、测试报告、总结和测试结果。 |
| 等级修订历史 | 修订记录日志，包括发布版本号和日期。 | | |
| 未解决的异常（错误或缺陷） | 不需要提交 | 列出其余软件异常清单，附上对安全行或有效性影响的说明，包括操作人员使用和人为因素。 | |

您必须清楚地描述原始信号如何转换为结果，包括校正背景信号以进行归一化（如果适用）。您还必须提交有关软件开发和实施的以下信息：

* 系统和软件要求
* 危害分析
* 结构设计图
* 软件设计规范
* 软件开发环境说明
* 核实和验证
* 可追溯性分析
* 未解决的异常

在开始临床研究前，硬件和软件组件的配置必须与该器械的最终版本非常相似或相同。如果在完成临床研究之后以及在该器械批准和分销前对硬件或软件进行了任何重大改变，则必须进行风险评估。

有关FDA如何确定关注级别以及软件文档的其他说明的更多信息，请参阅FDA指南“医疗器械中包含的软件的上市前提交内容”

（[http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocument](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm089543.htm)s/[ucm089543.htm](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm089543.htm)）。

以下是额外的参考，以帮助您在符合FDA规定的良好软件生命周期实践的基础上开发和维护您的器械：

* 标题为“软件验证总则”的指南（[http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDoc](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm085281.htm)u[ments/ucm085281.htm](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm085281.htm)）。
* 标题为“医疗器械中的现成软件使用；行业和FDA工作人员最终指南”的指南（<http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm073779.pdf>）。
* 标题为“医疗器械中包含的软件的上市前提交内容指南”的指南（[http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDoc](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm089543.htm)u[ments/ucm089543.htm](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm089543.htm)）。
* 21 CFR 820.30子部分C - 质量体系管理的设计控制。
* ISO 14971-1；医疗器械 - 风险管理 - 第1部分：风险分析的应用。
* AAMI 62304：2006；医疗设备软件 - 软件生命周期过程。

**VI(B)(2).辅助试剂**

辅助试剂是制造商在器械标签中指定为“需要但未提供”的那些试剂，以便按照其使用说明书中的说明进行测定，并达到在测定标签中宣称的测试性能。仅就本文件而言，所涉及的辅助试剂是按照制造商和目录或产品编号或其他具体名称指定的辅助试剂，以便您的器械能够达到其标示的性能特征。例如，如果您的器械标签指定使用X牌DNA扩增酶，并且使用任何其他DNA扩增酶可能会改变在您的标签中报告的器械性能特征，则X牌DNA扩增酶是本文件所指的辅助试剂。[2](#bookmark1)

相比之下，如果您的器械需要使用95％乙醇，并且任何品牌的95％乙醇都将能够使您的器械达到标签中提供的性能特征，那么95％乙醇不是本文件所指的辅助试剂。

如果使用您的器械的仪器指定了一种或多种辅助试剂，则您必须说明如何确保使用您的器械和这些辅助试剂按照您的说明进行测试的结果与您的上市前提交中确定的性能一致。您的计划可以包括质量体系方法、产品标签和其他措施的应用。

为了解决特殊控制的这一方面，您的510（k）提交必须阐述下述要素。FDA将评价您所提交的信息是否足以证明您的器械与合法销售的器械的实质等同性。

* 您的510（k）中必须包含使用辅助试剂的风险评估，包括与试剂质量和变异性管理相关的风险。此评估必须包括与辅助试剂直接提供的使用说明和您提供的测定的使用说明不一致相关的风险，以及可能导致您的检测结果不正确的任何其他问题。
* 使用您的风险评估作为适用性的基础，您必须在510（k）中特别描述您将如何通过对辅助试剂采取必要的控制措施来降低风险。这些包括：
  + - 用户标签，以确保适当使用辅助试剂。
    - 评估用户遵守辅助试剂的标签说明的计划。
    - 辅助试剂的材料规格。
    - 确认试剂批次以保证您的器械的适当性能。
    - 稳定性试验。
    - 投诉处理。
    - 纠正和预防措施。
    - 提醒用户发生涉及辅助试剂的问题将影响试验性能的计划。

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

2 即使您确定在测定中可以使用一种或多种替代辅助试剂，这些替代试剂仍然可以是涉及的辅助试剂。如果您不确定特殊控制措施的这一方面是否适用于您的器械，请联系体外诊断和放射卫生办公室（OIR）的微生物器械部。

* + - 根据您的器械使用说明必须要解决的任何其他问题，以确保安全有效地使用您的测试并结合指定的辅助试剂。

此外，您还必须提供测试数据，以确定您提供或推荐的质量控制足以检测用辅助试剂的性能或稳定性问题。

如果您对辅助试剂的识别、使用或控制有任何疑问，请咨询体外诊断和放射卫生办公室（OIR）的微生物器械部有关您计划的研究。

**VI(C). 使用您的器械的测试方法**

您必须在510（k）中详细说明您的器械的操作原理，包括检测艰难梭菌毒素基因的目标序列的原理。您必须具体描述测试条件、方法和控制措施，以避免出现可能导致假阳性和假阴性结果的条件。这些包括但不限于：

* 测试方法的总体设计，包括纳入推荐测试方法的控制元素。控制材料必须接近临床相关核酸水平的较低范围，并且必须作为临床样本提取。
* 任何内部控制（例如监测污染、提取效率和扩增抑制的内部控制）的描述或建议。
* 用于监测对扩增和检测具有不利影响的程序错误或因素（如主混合物降解）的功能和附加控制措施。

您还必须描述使用说明中包含的降低与艰难梭菌毒素基因检测相关风险的所有其他步骤、方法和操作（参见第VIII节 - 标签）。

**VI(D).测试结果的解释/报告**

您必须在510（k）中详细描述如何确定阳性、阴性、不明确或无效结果，以及如何由目标用户进行解释。您必须指定所有测定输出的临界值。

您必须提供确定测定阴性结果的具体临界值。如果该测定只有两种可能的输出结果（例如阳性和阴性），则该临界值也定义了测定的阳性结果。

如果测定具有不明确的区域，则您必须提供不明确区域的范围（限值）并建议用户如何跟踪不明确结果。如果您对初始不明确结果的解释是需要重新检测，则您的510（k）必须阐述：

* 重新检测是否应通过相同的测定或不同的方法进行。
* 重新检测是否应使用同一制备样本、新提取样本或新患者样本进行检测。
* 通过与初始测试相同的测定方法，通过结合初始不明确结果和重新测试后的结果来确定最终结果的算法。这些算法必须在评价测定的临床性能的关键临床研究开始之前开发完成。

如果检测结果无效，则您必须描述如何定义无效结果。如果内部控制是确定无效结果的一部分，则必须提供定义无效结果的每个可能的控制结果组合的解释。您必须提供如何跟踪无效结果的建议（即，结果是否应报告为无效或是否推荐重新测试）。如果建议进行重新测试，您必须提供类似于不明确结果重新测试的信息（即重新测试是否应使用相同样本的新等分试样或使用新的患者样本）。

## 性能研究

**VII(A).一般研究要求**

您必须在510（k）中提供详细的描述性信息，介绍您确定以下列出的每个性能特征所进行的研究。一般来说，对于确定精密度的分析研究和临床研究，您必须在该器械的拟销售国家的三个测试机构进行测试（即临床实验室测试机构）。

您必须评价所推荐的每种样本类型的测定性能。

为了在审查期间准确地解释验收标准或数据摘要，您必须提供有关研究方案的适当的具体信息。在提及临床和实验室标准研究所（CLSI）指南或标准时，您必须说明遵循指南或标准的哪些具体方面。如果您有关于您计划的研究和您计划支持的临床宣称的其他问题，请在开始研究之前联系OIR的微生物器械部。

**VII(B). 对照**

在进行下述性能研究时，您必须在分析和临床研究期间每天进行适当的外部对照测试。

这包括您的测定试剂盒提供的任何阳性和阴性对照以及推荐但不一定与测定试剂盒一起提供的适当的外部对照。对于基于基因扩增技术的器械，应包括以下类型的对照：

**VII(B)(1).阴性对照**

*空白或无模板对照*

空白或“无模板”对照包含缓冲液或样本转移介质以及除核酸以外的所有测定组分。这些对照用于排除扩增反应中目标核酸的污染或增加的背景。对于单次测试的一次性试剂盒或管，可能不需要该对照。

*阳性样本对照*

阴性样本对照包含非目标核酸，或者如果用于评价提取方法，则其包含整个生物体。它揭示了非特异性启动或检测，并且指示在不存在目标序列的情况下不能获得的信号。可接受的阴性样本对照材料的实例是来自非艰难梭菌感染个体的患者样本。

**VII(B)(2).阳性对照**

*完整测定的阳性对照*

阳性测定对照包含目标毒素基因序列，用作整个测定过程的对照，包括核酸提取、扩增和检测过程。它旨在模拟患者样本，以实验室质量体系确定的频率同时与患者样本一起运行。可接受的阳性测定对照包括含有通过该器械检测到目标序列的整个生物体。

*用于扩增和检测的阳性对照*

用于扩增和检测的阳性对照包含浓度在定性测定的检测限附近的纯化目标核酸，并且通常不取自核酸提取过程。如果获得阴性结果，则它验证了仪器和反应组分的完整性。它表示如果目标存在于提取的样本中，则可以检测到该目标。这种类型的对照的实例包括含有目标序列的DNA质粒或来自产毒艰难梭菌分离物的纯化的全长双链基因组DNA。

在含有完整测定的阳性对照的一些情况下，将不需要用于扩增和检测的单独的阳性对照。

**VII(B)(3).内部对照**

内部对照是与目标核酸共提取和/或共扩增的非目标核酸序列。它用作试剂的完整性（聚合酶、引物等）、设备功能（热循环仪）和样本中存在的抑制剂的对照。可接受的内部对照材料的实例包括与艰难梭菌共提取的人核酸和扩增人类管家基因的引物（例如，RNaseP，β-肌动蛋白）。是否需要这类对照取决于器械的具体情况。请参考临床和实验室标准研究所（CLSI）文件“MM3-A2，传染性疾病的分子诊断方法”[参考文献1]，以获取更多信息。

### VII(C).分析性能研究

### 您必须在510（k）中确定您的艰难梭菌毒素基因测定试剂盒的以下性能特征：

### VII(C)(1).分析灵敏度

### *检测限*

### 您必须确定您的测定试剂盒的检测限（LoD）。研究必须包括至少两种产毒艰难梭菌的系列稀释液，并分析所测试的阴性粪便基质的每个稀释度的3-5份平行试验。所测试的其中一种菌株必须是NAP1、Ribotype 027、III型毒素（毒素 A+/B+）。您必须将LoD报告为95％检测率的分析物水平。必须通过制备LoD浓度下的另外至少20份平行试验来确认LoD，并证明95％的时间可以检测到菌株。连续稀释的部分可以以CFU/mL为单位进行培养和定量，并用于确定CFU /反应。所有分析研究都必须使用整个生物体进行，并且必须基于以CFU/mL表示的LoD倍数。您必须确定通过该器械进行测试，基质中每个分析物的LoD。设计研究时，请参考CLSI文件EP17-A2 [参考文献2]。表3所示为您的LoD研究中应包含的一些菌株的示例。

### 表3 - 用于分析灵敏度（反应性和LoD）研究的艰难梭菌的产毒菌株

|  |  |
| --- | --- |
| **菌株** | **毒素型和/或毒素** |
| ATCC 43255 (CCUG19126, VPI 10463) | 0， A+B+ |
| ATCC 9689 (90556-M6S) | 0，A+B+ |
| ATCC 700792 (14797-2) | A+B+ |
| ATCC 17858 (1253) | A+B+ |
| ATCC BAA-1805 | III，A+B+ |
| ATCC BAA-1382 (630) | A+B+ |
| ATCC 51695 (BDMS 18 AN) | A+B+ |
| ATCC 43600 (2149) | A+B+ |
| ATCC 43599 (2022) | A+B+ |
| ATCC 43596 (545) | A+B+ |
| ATCC 43594 (W1194) | A+B+ |
| ATCC 17857 (870) | A+B+ |
| ATCC 43598 (1470) | VIII，A-B+ |
| CCUG 8864 | X，A-B+ |

*测定临界值和不明确区域*

在您的提交中，您必须解释如何确定测定临界值以及如何验证临界值（另见第VI(D)节）。临界值必须使用适当的统计方法来确定。例如，在试点研究中，对于不含任何产毒艰难梭菌的临床样本，您可以提供结果分布、95％和99％百分位数、非阴性（阳性或不明确）结果百分比和其他统计数据。可根据临床样本的试点研究的接收者操作曲线（ROC）分析的灵敏度和特异性的相关水平来证明适当临界值选择的合理性。如果测定存在不明确区域，则您必须解释如何确定不明确区域的限值。必须在与该器械确定的预期用途一致的独立人群中验证您的器械使用预先规定的临界值（如果适用）的性能。

*分析反应性（包容性）*

您必须证明该检测还能检测到除LoD研究中使用的菌株外的至少二十种产毒艰难梭菌。这些必须能够良好表征临床相关的不同艰难梭菌分离株以及代表时间和地理多样性的毒素型。必须通过在研究中纳入至少5种不同的毒素型来支持用于测试反应性的菌株的多样性。稀释液必须用合并的艰难梭菌阴性人粪便样本进行制备，浓度为LoD的两倍至三倍。相关菌株反应性研究包括但不限于表3所示的菌株。

**VII(C)(2).分析特异性**

*交叉反应*

您必须测试与医学相关水平的病毒、真菌和细菌的潜在交叉反应性（细菌和真菌通常为106 CFU/mL或更高，病毒为105 PFU/ml或更高）。必须通过实际计数确认细菌和病毒的鉴别和滴度，而不可基于估计推断出的理论计算。用于交叉反应性测试的相关微生物包括但不限于表4中列出的微生物。

**表4 - 用于分析特异性（交叉反应性）研究的微生物。**

|  |  |
| --- | --- |
| **属和种** | **菌株** |
| *营养缺陷型* | ATCC 49176 |
| *鲍曼不动杆菌* | ATCC 19606 |
| *嗜水气单胞菌* | ATCC 7966 |
| *粪产碱杆菌亚种* | ATCC 15554 |
| *蜡状芽孢杆菌* | ATCC 13472 |
| *脆弱拟杆菌* | ATCC 25285 |
| *结肠弯曲杆菌* | ATCC 43479 |
| *空肠弯曲杆菌亚种* | ATCC 33292 |
| *白色念珠菌* | ATCC 10231 |
| *弗氏柠檬酸菌* | ATCC 8090 |
| *双酶梭菌* | ATCC 638 |
| *酪酸梭菌* | CCRI-11128 |
| *溶血梭菌* | ATCC 19398 |
| *诺维氏梭菌* | ATCC 19402 |
| *Clostridium orbiscindens* | ATCC 49531 |
| *产气荚膜梭菌* | ATCC 13124 |
| *Clostridium scindens* | ATCC 35704 |
| *败血梭菌* | ATCC 12464 |
| *索氏梭菌* | ATCC 9714 |
| *艰难梭菌（非产毒型）* | ATCC 43593 |
| *艰难梭菌（非产毒型）* | ATCC 43601 |
| *产孢梭状芽胞杆菌* | ATCC 15579 |
| *迟钝爱德华菌* | ATCC 15947 |
| *产气肠杆菌* | ATCC 13048 |
| *阴沟肠杆菌* | ATCC 13047 |
| *粪肠球菌vanB* | ATCC 51299 |
| *大肠埃希菌* | ATCC 23511 |
| *大肠埃希菌O157:H7* | ATCC 700927 |
| *幽门螺旋杆菌* | ATCC 43504 |
| *奥克西托克雷白杆菌* | ATCC 33497 |
| *嗜酸乳杆菌* | ATCC 4356 |
| *单核细胞增多性李斯特菌* | ATCC BAA-389 |
| *厌氧消化链球菌* | ATCC 27337 |
| *类志贺邻单胞菌* | ATCC 14029 |
| *不解糖卟啉单胞菌* | ATCC 25260 |
| *产黑色普雷沃菌* | ATCC 25845 |
| *奇异变形杆菌* | ATCC 25933 |
| *产碱普罗威登斯菌* | ATCC 9886 |
| *铜绿假单胞菌* | ATCC 35554 |
| *猪霍乱沙门氏菌（鼠伤寒沙门菌）* | ATCC 14028 |
| *肠炎沙门氏菌亚利桑那亚种* | ATCC 13314 |
| *肠炎沙门氏菌肠亚种* | ATCC 7001 |
| *液化沙雷氏菌* | ATCC 27592 |

|  |  |
| --- | --- |
| **属和种** | **菌株** |
| *粘质沙雷氏菌* | ATCC 13880 |
| *鲍氏志贺氏菌* | ATCC 9207 |
| *痢疾志贺氏菌* | ATCC 11835 |
| *索氏志贺氏菌* | ATCC 29930 |
| *金黄色葡萄球菌* | ATCC 43300 |
| *表皮葡萄球菌* | ATCC 14990 |
| *无乳链球菌* | ATCC 12973 |
| *副溶血弧菌* | ATCC 17802 |
| 腺病毒 |
| 轮状病毒 |
| 诺如病毒 |
| 肠道病毒 |
| 埃可病毒 |
| 柯萨奇病毒 |
| 巨细胞病毒 |
| 人DNA |

*干扰*

您必须使用医学相关浓度的干扰物和一种以上产毒艰难梭菌进行全面的干扰研究，以评估血液和粪便样本中遇到的物质的潜在抑制作用。潜在的干扰物质包括但不限于偶尔用于或常发现于肛周、直肠和/或粪便样本、血液和粘液中的生物和化学物质。潜在干扰物质的其他实例如表5所示。您必须在每种艰难梭菌菌株和每种干扰物质确定的测定临界值下测试干扰。您必须在潜在最高浓度下评价每种干扰物质（“最坏情况”）。如果没有观察到显著的临床有效性，则不需要进一步测试。请参见CLSI文件EP7-A2 [参考文献 3]了解更多信息。

**表5 - 干扰研究用的物质**

|  |  |
| --- | --- |
| **物质** | **活性成分** |
| 抗真菌/抗阴道瘙痒 | 制霉菌素 |
| 霜/软膏/栓剂 | 氢化可的松 |
| 抗痔疮霜/软膏 | 去氧肾上腺素 |
| 抗酸剂 | 碳酸钙/氢氧化铝/氢氧化镁 |
| 灌肠剂 | 美沙拉嗪/矿物油 |
| 含杀精润滑剂的避孕套 | 壬苯醇醚-9 |
| 抗腹泻药物 | 盐酸洛哌丁胺/铋/水杨酸 |
| 通便剂 | 番泻甙 |
| 抗生素（口服和外用） | 抗生素 |
| 非甾体抗炎药 | 萘普生钠 |
| 湿纸巾 | 苯扎氯铵，乙醇 |
| 粪便脂肪 | 脂质等 |
| 血液 | 葡萄糖，激素，酶，离子，铁等 |
| 粘液 | 免疫球蛋白、溶菌酶、聚合物等。 |

#### VII(C)(3).精密度

#### *实验室内精密度/再现性*

#### 根据器械的使用方法，可能需要或也可能不需要进行实验室内精密度研究；关于您的器械是否需要进行实验室内精密度研究，请联系微生物器械部。如果需要进行精密度研究，您必须使用预期用于临床研究的仪器和/或自动化组件来进行这些研究。你可以在内部进行这些研究。

#### 您必须测试至少12天（不一定是连续的）的变异性来源（例如，操作员，操作日，测定运行），由两名操作员每天运行两次，每个样本运行两个平行试验。如果校准周期短于两个月，这些测试日必须至少跨越两个校准周期。测试面板必须由3-6个阳性样本组成，除了阴性样本之外，还应有两个浓度水平的微生物，如下所示：

#### 阴性样本：不含分析物的样本，使得该样本的重复测试结果100％时间为阴性。

#### “低阳性”样本（C95浓度）：分析物浓度正好高于临床临界值的样本，使得该样本的重复测试结果约95％时间为阳性。

#### “中度阳性”样本：预期大约100％时间的测试结果为阳性的浓度的样本（例如，临床临界浓度的大约两倍到三倍）。

#### 当使用空白限值（LoB）作为临界值时，则C95浓度与检测限（LoD）相同，而如果LoB是用I型错误率5%3确定的，则零浓度（样本中无分析物）为C5。有关详细信息，请参阅CLSI EP17-A2 [参考文献2]、CLSI文件EP5-A2 [参考文献4]和EP12-A [参考文献5]，其中包含有关精密度研究的设计和运行的进一步信息。

#### *实验室间再现性*

#### 再现性研究的方案可能会因器械形式而略有不同。一般来说，方案必须：

#### 使用与上述再现性研究所述相同的样本面板。

#### 在三个测试机构（例如至少两个外部测试机构和一个内部测试机构）评价测试的再现性。

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

3 I型错误率是真正阴性样本（零浓度）给出指示存在分析物的值的概率。通常，I型错误率设置为5％以下。

#### 使用五天测试方案，包括每天至少两次运行（除非测定设计排除每天多次运行），每次运行3个平行面板，每个设备每天至少由两名操作员进行测试。必须对每个分析物和每个浓度进行至少90次重复测试。

如果您正在考虑申请可能在护理点使用的快速检测器械，您可以联系微生物器械部。

CLSI文件EP15-A2 [参考文献6]含有关于再现性研究设计的其他信息。

**VII(C)(4).残留/交叉污染研究**

*需要使用仪器的多样本测定试剂盒和器械*

对于需要使用仪器的多样本测定试剂盒和器械，您必须证明您的器械不会发生残留和交叉污染（包括核酸提取方法）。在残留研究中，必须根据该器械的操作功能，将高阳性样本与阴性样本串联交替使用。在残留研究期间，您必须交替运行至少五次高阳性和五次阴性样本。残留研究中的高阳性样本的浓度必须足够高，以从预期使用人群中的阳性患者的样本获得95％以上的结果。阴性样本必须是不含分析物的样本，重复测试的结果为100％时间为阴性。然后可以通过比较在残留研究中紧挨高阳性样本的阴性样本的阴性结果百分比与未紧挨高阳性样本的阴性样本的阴性结果百分比，来估计残留和交叉污染的影响。详细信息请参阅Haeckel [参考文献7]。

**VII(C)(5).样本收集、处理、储存和运输条件**

如果您建议样本收集、运输和储存条件，您必须证明使用器械包装说明书中推荐的方法进行样本处理，您的器械可以产生相同的结果。对于样本储存条件，您必须证明，对于在推荐的储存期间内的多个时间点的样本以及在推荐的储存温度范围的两个端点的样本，您的器械可以产生相同的结果。如果推荐在储存或运输期间使用运输介质，则您必须进行适当的研究，以证明当样本保存在运输介质中时，器械仍将按预期运行。

**VII(C)(6).核酸提取方法**

您必须进行分析和临床研究，以证明您所建议的核酸提取方法用于所述的样本类型的有效性和再现性。这些分析研究必须包括确定每个所述的样本类型的检测限（LoD）以及每个所述的样本类型的再现性研究（见第VII(C)(1) 和 VII(C)(3)节）。核酸提取的再现性评价必须在三个不同研究机构（例如两个外部研究机构和一个内部研究机构）、在标签指定的基质中、在临床临界值附近的分析物浓度下进行。

如果您选择获得多种提取方法的批准，则您必须证明每种方法的LoD和再现性。如果提取方法使得整体分析性能的变异性降到最低，则将提取方法变量与每个测试机构的性能变量结合可能是评价每个测试机构的每种提取方法的可接受的替代方法。例如，如果您推荐使用三种不同的提取方法，您可以设计一个再现性研究，在每个测试机构各评价一种提取方法：测试机构1提取方法A，测试机构2提取方法B，测试机构3提取方法C。如果从上述测试板产生的结果没有显示出显著差异，则不需要进行进一步的再现性研究。然而，如果来自三个测试机构的初始提取等效性研究显示测定性能具有统计学显著差异，则必须扩展再现性研究，包括在三个测试机构测试每种提取方法（例如，测试机构1提取方法A、测试机构2提取方法A和测试机构3提取方法A）。

除了分析研究（LoD和再现性）外，在临床试验期间，必须在至少一个临床中心使用每种提取方法（仪器）以产生临床性能数据。如果扩展再现性测试的结果显示提取方法之间的有效性存在显著差异，则认为来自每个临床测试中心的数据（使用不同的NA提取方法）不等同，不得将其合并，而应单独进行分析。因此，可能需要额外的前瞻性临床样本，以便时所提出的每种提取方法都能有统计学显著数量的前瞻性样本。

**VII(C)(7).预期值**

您必须确定您的器械在具有与CDI一致的体征和症状的人群中获得的预期值的范围。您必须测定代表预期用途的统计学相关样本数量，包括指定的样本基质。您必须根据您的新器械性能提供这些结果，并根据样本类型、年龄和地理位置总结人群的分布情况。

**VII(D).临床性能研究**

您必须进行前瞻性临床研究，以确定您的器械对于您标签中声称的所有样本类型的性能。您必须前瞻性收集体征和症状与临床怀疑CDI一致的患者的样本。所有结果都必须包含95％的双侧置信区间。有关置信区间（CI）的计算方法，请参阅CLSI EP12-A2 [参考文献5]。您必须将您的器械与产毒培养进行比较，后者包括培养，然后对培养的分离物进行细胞毒素测定。产毒培养是广泛认可的参考方法，用于评价辅助诊断艰难梭菌感染的器械的性能。

如果您对临床性能研究中使用的替代比较方法有疑问，请联系微生物器械部。

**VII(D)(1).研究方案**

您必须制定详细的研究方案，包括患者入选和排除标准、所需样本的类型和数量、参考方法的描述、使用说明以及考虑差异以防止数据偏倚的统计分析计划。研究纳入和排除标准必须与您的器械的预期使用人群相匹配。至少应记录年龄、性别、体征和症状等人口统计学特征。您必须在510（k）中纳入此信息和任何其他相关的方案信息。

作为提交前审查过程的一部分，请联系微生物器械部请求审查您提出的研究和适当样本类型的选择，特别是如果您计划首次提交上市前通知。有关提交前过程的更多信息，请参阅FDA指南“医疗器械提交反馈请求：提交前计划和与美国食品药品管理局工作人员会议讨论”（[http://www.fda.gov/downloads/medicaldevices/deviceregulationandguidance/guidancedoc](http://www.fda.gov/downloads/medicaldevices/deviceregulationandguidance/guidancedocuments/ucm311176.pdf)u[ments/ucm311176.pdf](http://www.fda.gov/downloads/medicaldevices/deviceregulationandguidance/guidancedocuments/ucm311176.pdf)）。

**VII(D)(2).研究机构**

您必须在代表该器械最终使用的测试环境（例如临床实验室）的至少三个不同地理位置的研究机构（其中一个可能为内部研究机构），由临床实践中可能进行该测试的人员进行研究。其中至少两个研究机构必须在美国。

**VII(D)(3).研究人群**

您必须对符合疑似CDI的纳入和排除标准的个人进行研究。您必须提供所有相关的临床、实验室和人口统计信息，包括年龄、性别、CDI的体征和症状。

您必须从每个年龄组中纳入有意义的样本数量。除了总体数据汇总表外，您必须按年龄分列数据（例如，小于5岁、6-21岁、21-52岁和大于60岁）。

#### VII(D)(4).结果说明

#### 您必须在510（k）中详细描述如何选择样本，以及被排除样本的纳入原因。您必须包括一个数据分析计划，考虑所有招募的受试者和所收集的所有样本。

#### 您必须初步分析并提供每个研究机构的数据，以评价研究机构间的任何变异性，并将分析结构纳入到510（k）中。如果您能够证明不同研究机构间的结果或人群没有显著的统计学或临床差异，则您可以在包装说明书中合并来自不同研究机构的临床研究结果。

#### 如果您的研究计划中包含回顾性或库存样本已补充来自前瞻性招募受试者的样本，请在研究开始前咨询微生物器械部。

#### 您必须以支持独立数据分析的可接受的电子格式形式（例如，Microsoft Excel，分隔文本文件或SAS文件）提供研究数据的行列表，包括所有分析和临床研究中适当的每日外部对照测试数据。

#### VIII. 标签

#### 您的艰难梭菌毒素基因检测器械的标签必须包括以下信息，以帮助确保用户了解器械的适当用途以及如何正确使用该器械。

#### VIII(A).预期用途

#### 预期用途说明必须指明您的测定试剂盒所检测的分析物，该测试的临床适应症以及测试的具体人群。预期用途说明必须指明测试是定性还是定量，并且必须说明它仅作为辅助诊断。

#### VIII(B).设备描述

#### 您必须详细描述您的测定试剂盒所使用的检测方法。

#### VIII(C).使用说明

#### 您必须提供清晰简明的说明，描述具体器械的技术特征以及如何在患者身上使用。您必须总体描述所使用的分析方法，从样本收集到结果报告。使用说明必须鼓励用户熟悉器械的功能，并遵守这些说明以安全有效地使用该器械。您必须包含处理和储存说明。您必须描述在您向用户推荐的开放和封闭的储存条件下的稳定性（即失效日）。

#### VIII(D).局限性

### 您必须清楚地描述任何检测局限性，包括医护人员在预订测试之前需了解的局限性。除了与测定相关的任何警告和预防措施外，还必须包含下列适用的局限性说明：

### 如果样本收集、处理或储存不当、存在抑制剂、出现技术错误、或者由于样本中的微生物数量低于该测试的分析灵敏度，则可能发生假阴性检测结果。

### 不应将阴性结果作为治疗或其他患者管理决定的唯一依据。

### 测试的阳性和阴性预测值可能会因感染程度而有所不同。

### 本测试未区分有活力和无活力的产毒艰难梭菌。

### 引物或探针结合区域的突变或多态性可能会影响新的或未知的艰难梭菌突变体的检测，从而导致测定的假阴性结果。阴性检测结果不能排除产毒艰难梭菌感染。

### 本测试用于液体或软性人体粪便样本。其他样本类型的性能特征尚未确定。

### 本测试不用于确定艰难梭菌对抗微生物剂的敏感性。

### 本试验未区分艰难梭菌027/NAP1/BI菌株与其他产毒基因型。

### 本测试的结果应结合其他临床和实验室结果进行解释。

### VIII(E).预期值

### 您必须说明使用您的器械获得的预期值范围（例如，阳性结果的频率），并对结果进行解释。您还必须总结用于确定期望值范围的研究，包括样本数量、年龄、性别和人群的人口统计学特征。

### VIII(F).性能特征

### 您必须在包装说明书概述第VII部分所述的研究设计和研究结果，这将有助于用户解释测试结果。这包括临床和分析性能特征。

**IX. 参考文献**

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline-Second Edition. MM3-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline - Second Edition. EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.
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 - Second Edition. EP5-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline - Second Edition. EP12-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline - Second Edition. EP15-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.
7. Haeckel R. Proposals for the Description and Measurement of Carry-over Effects in Clinical Chemistry. Pure Appl. Chem. 1991; 63:302-306.