# II类特殊控制指南：用于检测和鉴别人粪便样本中的微生物和毒素基因的胃肠道微生物多元核酸试剂盒

**行业及美国食品药品管理局工作人员指南**

**文件发布日期：2015年11月2日**

有关本文件的疑问，请致电微生物器械部301-796-5461，或Andrew Grove 301-796-6198或电子邮件[Andrew.Grove@fda.hhs.gov](mailto:Andrew.Grove@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档编号FDA-2015-N-3392。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) ，以接收文件的副本。请使用文档编号1500014来确定索取的文件。

## 目录

[I. 前言 5](#_Toc496793897)

[II. 胃肠道微生物 - 背景 5](#_Toc496793898)

[III. 上市前通知 - 背景 6](#_Toc496793899)

[IV. 适用范围 6](#_Toc496793900)

[V. 健康风险 7](#_Toc496793901)

[VI. 具体器械描述要求 8](#_Toc496793903)

[VI(A). 预期用途 9](#_Toc496793904)

[VI(B). 测试方法 9](#_Toc496793905)

[VI(C). 样本储存条件 10](#_Toc496793906)

[VI(D). 辅助试剂 11](#_Toc496793907)

[VI(E). 对照品 12](#_Toc496793908)

[VI(E)(1). 阴性对照 12](#_Toc496793909)

[VI(E)(2). 阳性对照 13](#_Toc496793910)

[VI(E)(3). 内部对照 13](#_Toc496793911)

[VI(E)(4). 测试结果的解释/报告 13](#_Toc496793912)

[VI(E)(5). 仪器和软件 14](#_Toc496793913)

[VII. 性能研究 16](#_Toc496793925)

[VII(A). 一般研究要求 17](#_Toc496793926)

[VII(B). 预分析因素 17](#_Toc496793932)

[VII(B)(1). 样本收集和处理 17](#_Toc496793934)

[VII(B)(2). 新鲜与冷冻样本（稳定性） 18](#_Toc496793936)

[VII(B)(3). 核酸提取 18](#_Toc496793937)

[VII(B)(4). 自动提取系统的孔对孔交叉污染 19](#_Toc496793938)

[VII(B)(5). 临界值确定 19](#_Toc496793939)

[VII(C). 分析性能 19](#_Toc496793940)

[VII(C)(1). 检测限（LoD） 19](#_Toc496793941)

[VII(C)(2). 分析反应性（包容性） 20](#_Toc496793942)

[VII(C)(3). 分析特异性（交叉反应性） 22](#_Toc496793943)

[VII(C)(4). 竞争抑制研究 25](#_Toc496793946)

[VII(C)(5). 干扰测试 25](#_Toc496793947)

[VII(C)(6). 精密度（内部/实验室内重复性） 27](#_Toc496793951)

[VII(C)(7). 多中心再现性研究 27](#_Toc496793960)

[VII(C)(8). 残留研究和交叉污染研究（适用于需要使用仪器的多样本测定法及器械） 28](#_Toc496793966)

[VII(D). 临床性能 28](#_Toc496793967)

[VII(D)(1). 参考测定法 29](#_Toc496793968)

[VII(D)(2). 研究机构 30](#_Toc496793969)

[VII(D)(3). 研究人群 30](#_Toc496793970)

[VII(D)(4). 研究设计 31](#_Toc496793971)

[VII(D)(5). 临床研究结果的说明 31](#_Toc496793972)

[VIII. 器械特定标签 32](#_Toc496793973)

[VIII(A). 预期用途 32](#_Toc496793974)

[VIII(B). 器械描述 32](#_Toc496793975)

[VIII(C). 测试方法 32](#_Toc496793976)

[VIII(D). 使用说明 32](#_Toc496793977)

[VIII(E). 质量控制 33](#_Toc496793978)

[VIII(F). 警告、禁忌症、注意事项和局限性 33](#_Toc496793979)

[VIII(G). 样本收集 34](#_Toc496793980)

[VIII(H). 测定结果的解释和报告 34](#_Toc496793981)

[VIII(I). 性能特征 34](#_Toc496793982)

[IX. 参考文献 34](#_Toc496793983)

# II类特殊控制指南：用于检测和鉴别人粪便样本中的微生物和毒素基因的胃肠道微生物多元核酸试剂盒

**行业及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胃肠道微生物多元核酸试剂盒分类为II类（特殊控制）。

本指南确定了FDA认为将能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。提交胃肠道微生物多元核酸试剂盒的上市前通知的公司需要：（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公司采取的替代措施将至少提供同等的安全性和有效性保证。

## 胃肠道微生物 - 背景

传染性胃肠炎是由某些病毒、细菌或寄生虫引起的胃肠炎。常见症状包括呕吐和腹泻，这些症状在婴儿、老年人和免疫系统受抑制的人群中可能更为严重。胃肠炎很容易通过人与人接触以及被污染的食物、水和表面而传播。

据疾病预防控制中心报告，在1999年至2007年期间，美国胃肠炎相关死亡人数从每年近7000人增加到17,000多人。诺如病毒和艰难梭菌占死亡人数的三分之二。1

## 上市前通知 - 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，以对胃肠道微生物多元核酸试剂盒的安全性和有效性提供合理保证。因此，拟销售此类型器械的制造商必须：（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；2（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。

该特殊控制指南文件确定了胃肠道微生物多元核酸试剂盒的分类规定。此外，本指南的其他部分列出了健康风险，并描述了缓解风险措施，如果制造商遵循这些措施并结合通用管制措施，通常将能解决与该器械相关的风险，并将有助于510（k）的及时审查。

本文件将补充有关胃肠道微生物多元核酸试剂盒的上市前通知提交的具体内容要求的其他FDA文件。您还必须遵循“II类特殊控制指南文件：临床多元测试系统用仪器”（http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/uc m077819.htm）和“II类特殊控制指南文件：诺如病毒血清学试剂“（http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/uc m295088.htm）。

## 适用范围

本文件的适用范围仅限于根据21 CFR 866.3990识别和分类的器械。

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

1. <http://www.cdc.gov/media/releases/2012/p0314_gastroenteritis.html>
2. 有关510(k)提交的其他信息，请参阅21 CFR 807.87、器械和放射卫生中心（CDRH）器械建议（http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/default.htm）、 FDA指南“医疗器械所含软件的上市前提交内容指南”（<http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/.../ucm089593.pdf>）和FDA指南“传统和简易510(k)格式s”（[http://www.fda.gov/ MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm084365.htm](http://www.fda.gov/%20MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/%20GuidanceDocuments/ucm084365.htm)）。

**21 CFR 866.3990**.胃肠道微生物多元核酸试剂盒

* 1. *鉴别。*胃肠道微生物多元核酸试剂盒是一种定性的体外诊断器械，旨在同时检测和鉴别从人粪便样本中提取的多种胃肠微生物核酸。该器械检测用于生物体鉴别的特定核酸序列，以及用于确定毒素基因的存在。检测和鉴别出现胃肠道感染指征和症状的个体的特异性胃肠微生物核酸，有助于结合临床评价和其他实验室检查诊断胃肠道感染。胃肠道微生物多元核酸试剂盒还有助于在病情发作的情况下检测和鉴别急性胃肠炎。

通过这类型器械检测和鉴别的微生物包括以下微生物类型、亚型和毒素基因：

|  |  |
| --- | --- |
| *弯曲杆菌（仅空肠弯曲杆菌、大肠埃希菌和红嘴鸥弯曲杆菌）* | 诺如病毒GI/GII |
| *艰难梭菌（艰难梭状芽胞杆菌）毒素A/B* | 轮状病毒A |
| *隐孢子虫（仅小球隐孢子虫和人隐孢子虫）* | 沙门氏菌 |
| *大肠埃希菌（大肠埃希菌）O157* | 志贺样产毒大肠埃希菌（STEC）stx 1/stx 2 |
| *产肠毒素大肠埃希菌（ETEC）LT/ST* | 志贺氏菌（鲍氏志贺菌，索氏志贺菌，弗氏志贺菌和痢疾志贺菌） |
| *贾第鞭毛虫（仅肠兰伯式鞭毛虫，也称为肠贾第鞭毛虫和十二指肠贾第鞭毛虫）* |  |

本文件不适用于基于非核酸的方法或靶向上表所列以外的微生物、毒素基因或微生物和毒素基因组合的器械。

## 健康风险

FDA已经确定了以下故障引起的风险：（1）该器械未能检出和鉴别样本中存在的目标生物体（即，生物体存在的假阴性检测结果）；（2）检出样本中不存在的目标微生物（即，生物体存在的假阳性检测结果），这二者都可能导致个体和/或公共健康危害；（3）未能正确地将测试结果解释为与该器械相关的需要特殊控制的健康风险。下表概述了缓解这些风险的措施。

该器械未能检出和鉴别样本中存在的目标生物体（即，假阴性检测结果）可能导致延误胃肠道感染真正原因的诊断、延误额外的诊断测试，并导致不必要的治疗或不适当的抗生素治疗。对于该器械所靶向的某些微生物，检测失败可能导致不正确的患者管理以防止感染传播，或延误识别病情爆发。不正确的阳性测试结果（即，假阳性结果）也可能导致不必要的或无效的抗生素治疗，以及延误真正病因的诊断，这对于一些微生物可能导致更严重的感染。另外，在公共卫生的情况下，假阳性检测结果可能导致用于疾病监测和预防的资源分配不当。

未能结合其他临床和实验室检查结果正确解释测试结果可能导致不适当或延误治疗。例如，可能正确检测到胃肠道内定植的微生物，但它不是真正的病因。尽管在这种情况下使用任何微生物测定法都会存在相同的风险，但是在多元测定法中同时检测多种分析物更有可能检测到单一测定法可能不会检测到的非预期的定植微生物。

##### 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** |
| 该器械未能检出和鉴别样本中存在的目标生物体（即，生物体存在的假阴性检测结果） | * 第VI节（具体器械描述要求） * 第VII节（性能研究） * 第VIII节（标签） |
| 检出样本中不存在的目标微生物（即，生物体存在的假阳性检测结果） | * 第VI节（具体器械描述要求） * 第VII节（性能研究） * 第VIII节（标签） |
| 未能正确解释测试结果 | * 第VI节（具体器械描述要求） * 第VIII节（标签） |

## VI. 具体器械描述要求

您必须在510（k）提交中提供以下详细讨论的关于您的器械的预期用途、测试方法、样本储存条件、辅助试剂、对照品、测试结果解释和报告以及仪器和软件的详细信息。

### 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。预期用途必须具体说明样本类型（例如，人粪便样本）、该器械检测和鉴别的微生物、分析物和靶标（例如，RNA、DNA或RNA和DNA）的性质、临床适应症以及测试的具体人群（如果没有足够的数据支持该器械在某个年龄组患者中的使用，则应包括年龄组说明）。预期用途还必须说明测试是定性还是定量、分析物检测是否是推定的、以及任何特定的使用条件（例如，该测试是否旨在与其他实验室测试结合使用）。预期用途必须清楚地说明，该器械仅用作辅助诊断胃肠道感染。基于临床研究的结果，可能还会有额外的要求。

您必须在510（k）中清楚地描述与您的产品的预期用途相关的以下信息：

* 您的器械所检测的微生物的鉴别。
* 该器械的测试结果如何用于帮助实验室鉴别胃肠道微生物。

### VI(B). 测试方法

您必须详细描述您的器械使用的方法。这必须包括描述适用于您的器械的以下要素：

* 测试平台（例如：实时PCR，杂交测定，微球阵列）。
* 所检测的微生物序列的特异性（即，除临床特异性评价外，所使用的方法证明靶序列仅检测到感兴趣的微生物）。
* 有关特定靶序列选择依据以及用于设计检测要素的方法的信息。
* 该测定的限制因素（例如，杂交的饱和水平，最大循环次数）。
* 降低污染或残留引起的假阳性的器械设计。
* 样本类型（如：粪便或防腐介质中的粪便）。
* 样本收集和处理方法，包括样本收集、稳定和浓缩的方法和仪器。
* 所提供或推荐使用的试剂组分及其在体系内的功能（如：缓冲液、酶、荧光染料、化学发光试剂、其他信号传导/扩增试剂）。
* 特异性和非特异性探针交叉杂交的潜力。
* 用于该器械的特定内部对照品和外部对照品的说明。
* 该器械的使用涉及的仪器和软件，包括组件及其在体系中的功能。
* 如果适用，从原始数据到报告结果的计算路径（例如，原始信号如何转换为数值）。这将包括充分的软件控件来识别和处理数据集中的明显问题。还将包括对背景和归一化的调整（如果适用）。
* 非标准设备或方法的插图或照片（如果适用），并提供详细说明。

在适用的情况下，您必须描述用于解决或缓解与基于核酸的多元测试方法以检测生物体核酸所用的引物、探针和对照品相关的风险的设计控制规范，例如：

* 最小化样本污染或残留造成的假阳性。
* 防止在制造过程中处理许多探针的多元测试中的探针交叉污染。
* 正确放置和鉴别检测特征（如：探针）。
* 使用多个探针以能够检测由靶核酸片段突变产生的突变体或指定的病毒、细菌或寄生株（或谱系）产生的突变体。
* 开发或推荐用于制备适于用您的试剂在测试系统中进行检测的适当质量和数量的微生物核酸的核酸提起和纯化的经验证的方法。您必须针对该器械适用的不同样本类型提供适合的经验证的提取方法。
* 针对推荐的仪器优化您的试剂和测试方法。

您必须在510（k）中提供支持符合设计要求的结论的性能信息。您还必须提供信息以验证您的试剂的设计（例如，特定引物/探针的选择依据）。见第VII节 - 性能研究。

### VI(C). 样本储存条件

如果您推荐样本储存条件，您必须证明，对于在推荐的储存期内的多个时间点的样本，您的器械可以产生相同的结果。应对每个推荐的储存温度都进行评价，对于较宽的温度范围，应对温度范围的两个端点进行评价（例如，对于15-30℃的室温要求，测试15℃和30℃）。

### VI(D). 辅助试剂

辅助试剂是在器械标签中被指定为“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。例如，就本文件而言，如果您的器械标签指定使用特定试剂（如：“X牌提取缓冲液”或其他等效缓冲液），并且使用任何其他提取缓冲液可能会改变在您的标签中报告的器械性能特征，则X牌提取缓冲液或其他等效缓冲液即是所指的辅助试剂。即使您确定在测定中可以使用一种或多种替代辅助试剂，这些所谓的替代品仍可能是所指的辅助试剂。如果您不确定本特殊控制措施是否适用于您的器械，您可以咨询FDA体外诊断和放射卫生（OIR）办公室的微生物器械部。

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描述的性能特征，那么95％乙醇不是本文件所指的辅助试剂。

如果您的器械使用说明书中指定了一种或多种辅助试剂，则您必须说明您将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产生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要求，您的510（k）提交必须包括下述信息。FDA将评价所提交的资料是否足以证明您的器械与合法市售的器械至少一样安全有效，即，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、与辅助试剂直接提供的使用说明和您的测定提供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。
* 使用风险评估作为适用性的依据，您必须在510（k）中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。在适用的情况下，这些可能包括：
* 用户标签，以确保适当使用辅助试剂（参见“标签”部分的进一步讨论）。
* 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。
* 根据您的器械使用说明书，为确保您的测试试剂与所确定的辅助试剂联合使用的安全性和有效性，您必须解决的任何其他问题。

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。

如果您有关于辅助试剂的鉴别、使用或对照的疑问，您可以联系OIR的微生物器械部以获取建议。

**VI(E). 对照品**

您必须在上市前提交中特别描述以下关于质量控制和校准的信息：

* 您系统中包含或推荐的各种对照品的性质和功能。这些对照品必须使用户能够确定所有步骤和关键反应是否正常进行，没有污染或交叉杂交。
* 您的数值分配方法（相对或绝对）以及对照和校准物质的验证（如适用）。
* 用于检测仪器故障以满足规格要求的控制参数。

必须提供有关对照品的以下信息：（1）样本质量，（2）核酸质量，（3）工艺质量。在设计您的器械的特定对照品时，您可以联系OIR微生物器械部。一般来说，您必须包括以下类型的对照品：

**VI(E)(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。该对照用于排除扩增反应中目标核酸的污染或增加的背景。它可能不适用于在单次测试、一次性试剂盒或管中进行的测定。

*阴性样本对照*

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，则其包含非本测定法靶向的整个生物体。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信号。必须在分析和临床研究中每天测试这种对照品。可接受的阴性样本对照物质的实例包括：

* 来自非感染个体的患者样本
* 含有非目标微生物的样本（例如，加标非目标微生物的粪便样本）
* 其他阴性对照（例如：提取的DNA或RNA）

#### VI(E)(2). 阳性对照

*完整测定的外部阳性对照*

阳性对照旨在模拟患者样本，含有目标核酸，并用于整个测定过程（包括核酸提取、扩增和检测）的对照。可接受的阳性测定对照物质包括加标该测定靶向的完整微生物体的阴性粪便样本或模拟所测定样本类型的其他合适的样本基质。在分析和临床研究期间，必须每天运行这种阳性对照。适用时，可以通过预先规定的时间表周期性对代表性分析物进行测试。

*用于扩增和检测的阳性对照*

用于扩增/检测的阳性对照可以包含浓度在定性测定的检测限（LoD）附近的纯化目标核酸。如果获得阴性结果，则它验证了仪器和反应组分的完整性，表示样本中存在目标物。

**VI(E)(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（例如，聚合酶、引物）、设备功能（例如，热循环仪）和样本中存在抑制剂的对照。是否需要这类对照取决于本机构对该器械的具体情况的反馈意见。可接受的内部对照的一个实例是与本测定靶向的微生物核酸共提取的人类管家基因核酸。参考临床和实验室标准协会（CLSI）文件MM3-A2“传染病分子诊断方法” [参考文献1]，以获取更多信息。

**VI(E)(4). 测试结果的解释/报告**

您必须在510（k）中描述如何确定阳性、阴性、不明确（如适用）或无效结果，以及如何进行解释。必须明确说明解释性算法。您必须在510（k）提交中说明所有测定输出的临界值。

您必须提供确定该测定的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（如，阴性/阳性），则该临界值也定义了该测定的阳性结果。

如果测定具有不明确的区域，则您必须提供不明确区域的临界值（限值）。如果您对初始不明确结果的解释是需要重新测试，您必须提供

* 建议是否应使用相同的核酸制剂、新提取样本或新患者样本进行重新测试，
* 通过将初始不明确结果与重新测试后的结果相结合来确定最终结果的算法。这个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。

如果报告的检测结果之一可能是不明确的结果，您必须向用户提供如何跟踪面板上每种病原体的不明确结果的解释和建议。

如果测定具有无效结果，则您必须描述如何定义无效结果。如果内部对照品是确定无效结果的一部分，则您必须提供对对照结果的每个可能组合的解释，以定义无效结果。您必须提供如何跟踪任何无效结果的建议（即，结果是否应报告为无效或推荐重新测试）。如果建议进行重新测试，您必须提供类似于重新测试不明确结果的信息（即，是否应使用相同的核酸制剂、新提取样本或新患者样本进行重新测试）。

**VI(E)(5). 仪器和软件**

对于测量和区分多个信号的仪器和系统以及以前未批准的其他多元实验室仪器，请参阅“II类特殊控制指南文件：临床多元测试系统仪器”（<http://www.fda.gov/RegulatoryInformation/Guidances/ucm077819.htm>），了解必须提供的数据类型，以支持仪器批准。

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者，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者死亡或严重伤害；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者死亡或严重伤害。
* 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者的轻微伤害；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者的轻度伤害。
* 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者造成任何伤害，则关注级别为轻度。

有关510（k）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，包括操作员使用和人为因素。 | |

##### 在开始临床研究之前，硬件和软件组件的配置必须非常相似或相同于最终版的器械。如果在完成临床研究后但在该器械得到批准和销售之前对硬件或软件进行了任何重大更改，则必须进行风险评估并将其纳入到510（k）提交中。

##### 有关FDA如何确定关注程度以及软件文档的其他说明的更多信息，请参阅FDA指南“医疗器械所含软件的上市前提交内容”

##### (<http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm089543.htm>)。

##### 以下是根据与FDA规定一致的良好软件生命周期实践开发和维护您的器械时需要考虑的其他参考。

##### “软件验证通用原则”指南，见

##### [http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/UCM085371.pdf](http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/%20GuidanceDocuments/UCM085371.pdf)。

##### “医疗器械中现成软件的使用”，见

##### <http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm073778.htm>。

##### 21 CFR 820.30 - 质量体系规定的设计控制。

##### ISO 14971:2007；医疗器械 - 风险管理在医疗器械中的应用。

##### AAMI SW68:2001；医疗器械软件 - 软件生命周期流程。

##### VII. 性能研究

### VII(A). 一般研究要求

### 您的510（k）提交内容必须包括关于您为确定下面列出的每个性能特征而进行的研究的详细描述。对照品必须近似于样本的组成和核酸浓度，以充分挑战系统，并阐述临界值附近的再现性。您必须在分析和临床研究期间，每天运行适当的对照。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本测定试剂盒不一定提供的适当的外部对照。

### 前瞻性临床研究对于确定您的器械在与预期用途相似的条件下的性能是必要的。一般来说，对于临床研究和再现性研究，您都必须在您的器械拟销售地区的3个测试机构（例如，临床实验室，其中一个可以是内部机构）进行测试。如果您的产品标签要求使用辅助试剂，则您所提交以支持510（k）的上市前性能测试必须使用您的说明书推荐的辅助试剂。

### 您必须在510（k）提交中具体描述您的测定法开发过程中使用的研究方案，以便FDA准确解读您的申请资料中包含的验收标准和数据摘要。当提及CLSI方案或指南时，您必须说明是否遵循指南的所有方面，如果不是，应说明遵循方案或指南的哪些具体方面。

### 对于具有特定FDA指南或指导文件的分析物，您必须说明是否遵循指南或指导文件的所有方面，如果不是，则提供理由。如果您对计划的研究和您打算支持的临床声称有其他疑问，请联系OIR微生物器械部，以在开始研究前获得建议。

### 您必须在510（k）中详细说明您用来评价以下列出的每个性能特征的研究设计。

### VII(B). 预分析因素

### 考虑预分析因素对多元核酸检测至关重要。您必须在510（k）中解决有关预分析因素的以下问题：

### VII(B)(1). 样本收集和处理

### 您必须具体说明您的测定适用的样本类型。适当的样本类型取决于多种因素，包括收集时间和收集样本所用防腐剂（或无）。具体来说，粪便样本必须在疾病发生临床进展、粪便中将存在生物体时，以其天然形式收集或用防腐剂保存。胃肠道微生物核酸测定器械的样本类型可包括天然粪便、收集在运输/防腐介质中的粪便和直肠拭子。

所提取的靶标的质量和数量高度依赖于多种因素，如样本类型、粪便一致性、收集方法或处理（如，运输和储存时间和温度）。您在510（k）中提供的测试结果必须验证（1）您的系统为您的测定靶向的所有分析物（即，不同的病毒、细菌和寄生虫类型和亚型、DNA和RNA）提供足够和适当的核酸；（2）该器械在您标签中推荐的所有各种测试条件下，均维持可接受的性能（例如，准确性，再现性）。

如果您预期要求多种粪便运输介质，您必须证明您的器械能够产生相同的结果。如果您推荐样本储存和/或运输条件，您必须证明您的器械对于在建议的储存期内的多个储存时间点的样本能够产生相同的结果。必须对每个推荐的储存温度都进行评价，对于较宽的温度范围，应对温度范围的两个端点进行评价（例如，对于15-30℃的室温要求，测试15℃和30℃）。您必须说明所有样本稳定性参数的验收标准。

CLSI文件MM13-A“用于分子方法的样本的收集、运输、制备和储存” [参考文献2]、CLSI文件GP44-A4“常规实验室测试的血液样本的处理和加工方法”[参考文献3]和CLSI文件M29-A4“实验室工作人员职业感染的防护”[参考文献4]，包含有关此主题的其他信息。

**VII(B)(2). 新鲜与冷冻样本（稳定性）**

用于检测新鲜和冷冻样本的病毒、细菌和寄生虫的性能可能会有所不同。如果您在研究中使用冷冻样本，或声称您的器械可以使用冷冻样本进行测试，则您必须在测试前评估冻结样本的影响以及多次冻融循环对器械性能的影响。您必须对代表性分析物进行测试，每个分析物至少测试60个样本，其中大部分样本的浓度水平接近LoD，其余样本的浓度应涵盖分析物的整个临床相关浓度范围。该研究必须证明至少95％的阳性一致性，且95％（双侧）置信区间的下限超过90％。您必须评估反复冻融循环对核酸产量的影响及其对分析性能的影响。

**VII(B)(3). 核酸提取**

不同的提取方法可能产生不同数量和质量的核酸，因此提取方法对成功的结果至关重要。因此，您必须使用您推荐的整个预分析过程（包括提取步骤）评价您的测定法对于每种靶向生物体的分析和临床性能特征。这必须包括用您标签中推荐的每种提取方法在3个研究机构证明重现性并确认您的测定的LoD。

如果您推荐多种提取方法，则必须确定您的器械对每种方法的LoD。此外，再现性研究设计必须允许对每种提取方法进行评价。如果不同提取方法的LoD结果一致，则在再现性研究中可以允许不同的测试机构采用不同的方法。

如果LoD和再现性研究结果显示使用不同提取方法的一致的性能，则允许临床研究机构使用不同的提取方法。此外，如果每种提取方法的器械临床性能相当，则可以在最终分析中合并数据。

您必须提供有关您的器械如何控制提取效率的信息（例如，添加到每个测试样本中的内部对照的存在）。

**VII(B)(4). 自动提取系统的孔对孔交叉污染**

如果使用或推荐使用自动化系统进行核酸提取，则您必须检查潜在的孔对孔交叉污染，作为提取仪器性能鉴别的一部分。作为510（k）的一部分，您必须提供自动提取系统的软件危害分析。提取工艺的验证研究可以使用网格设计，使得每个具有最高预期临床浓度的核酸样本都被“无模板对照”或“高阴性”样本所包围。结果必须证明不会发生孔对孔交叉污染。必须在研究设计中测试每种分析物类型的代表性分析物（例如，代表性病毒，代表性细菌和代表性寄生虫）。

**VII(B)(5). 临界值确定**

您必须解释每个靶标或分析物的临界值是如何初步确定的以及如何验证。必须使用适当的统计方法确定临界值。然后，使用一组独立的阳性粪便样本来验证预定临界值下的器械性能。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所选择的临界值的适当性。有关ROC分析的详细信息，请参阅CLSI文件EP24-A2“使用接收者操作特征曲线评估实验室测试的诊断准确性”[参考文献 5]。

**VII(C). 分析性能**

**VII(C)(1). 检测限（LoD）**

LoD定义为在大约95％的时间可以在粪便样本中一致地检测到分析物的最低浓度（例如，细菌的CFU/ml）。必须确定您的器械声称适用的最具挑战性的粪便基质（例如，原始粪便或运输介质中的粪便）中的每个靶向生物体和毒素基因标记物的LoD。所检测到的株数可能会因不同分析物而有所不同，但一般来说，您必须确定您的器械所靶向的每种生物体的至少两个株系以及每个毒素基因的LoD。

可以通过将培养物分离株或临床样本加入到阴性人粪便样本基质中制成连续稀释样本，用于测定LoD。LoD测定的方法包括储备液的再增殖和再滴定。在研究使用前，您必须确认微生物滴定度：组织培养感染剂量50单位（TCID50），菌落形成单位/mL（CFU/mL），基因组当量拷贝/mL（拷贝/mL），噬菌斑形成单位/mL（PFU/mL）或感染细胞/mL。可以通过测试每个稀释水平的少量平行试样来初步估计LoD。然后，必须通过测试最低浓度下的至少20个平行试样，在大于或等于95％的时间产生阳性结果来确认LoD。在评价测定LoD时，您必须应用测试系统的整个过程（从样本制备到扩增子检测）。

设计LoD研究时，可以参考CLSI文件EP17-A2“临床实验室测定方法的检测性能评价”[参考文献6]。

**VII(C)(2). 分析反应性（包容性）**

您必须证明各种胃肠道微生物亚型、菌株、基因型、血清型或该测定法拟检测的各物种的反应性。对于您的器械所靶向的每种微生物，您必须纳入具有临床相关性并代表时间和地理多样性的多个良好表征的菌株。对于您的器械所靶向的每个毒素基因标志物，您必须纳入您的器械所靶向的每种微生物的多个菌株以及已知携带该特异性标志物的菌株。例如，如果您的测定靶向和鉴别沙门氏菌属，您必须测试代表各种沙门氏菌亚种和感染美国人的肠炎沙门氏菌亚种的常见现代血清型以及其他沙门氏菌的多个菌株。

在包容性研究中测试的菌株将因器械的不同靶向分析物而有所变化。所测试微生物的浓度必须不高于相应LoD的2-3倍。必须确认所有鉴别的微生物及其浓度。每个菌株必须一式三份地进行检测。用于LoD和分析反应性研究的菌株的实例示于下表3中。

**表3：用于LoD和反应性研究的菌株示例**

|  |  |
| --- | --- |
| **反应性** | |
| *腺病毒40* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，血清型副伤寒B* |
| *腺病毒41* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，4:i:-* |
| *空肠弯曲杆菌* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，阿贡纳血清型* |
| *空肠弯曲杆菌空肠亚种* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，布灵得卢柏血清型* |
| *红嘴鸥弯曲杆菌* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，勃兰登堡* |
| *红嘴鸥弯曲杆菌红嘴鸥亚种* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，猪霍乱迪凯特变种* |
| *大肠弯曲杆菌* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，猪霍乱昆成多福变种* |

|  |  |
| --- | --- |
| **反应性** | |
| *弯曲杆菌* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，狭义猪霍乱变种* |
| *艰难梭状芽胞杆菌毒素 A/B* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，科瓦利斯* |
| *微小隐孢子虫* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，德比* |
| *人隐孢子虫* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，都柏林* |
| *痢疾内变形虫* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，肠炎* |
| *大肠埃希菌O157* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，哈特* |
| *大肠埃希菌O9（产志贺样毒素 II）* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，海德尔堡* |
| *大肠埃希菌O113（产志贺毒素2）* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，婴儿* |
| *大肠埃希菌O113（产志贺毒素1和2）* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，爪哇那* |
| *大肠埃希菌O111（产志贺毒素1和2）* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，肯塔基* |
| *大肠埃希菌O104（产志贺毒素2）* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，密西西比* |
| *大肠埃希菌O26* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，蒙得维的亚* |
| *大肠埃希菌O78:H11（产LT和ST）* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，慕尼黑* |
| *大肠埃希菌O25:K98:NM（产LT）* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，纽波特* |
| *大肠埃希菌* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，奥拉宁堡* |
| *大肠埃希菌O78:K80: H12（产ST）* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，巴拿马* |
| *肠贾第鞭毛虫* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，甲型副伤寒* |
| *蓝氏贾第鞭毛虫* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，乙型副伤寒* |
| *诺如病毒GI* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，丙型副伤寒* |
| *诺如病毒GII* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，圣保罗* |
| *A组轮状病毒* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，斯坦利* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种猪霍乱血清型* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，田纳西* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种爪哇那血清型* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，汤普森* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种田纳西州血清型* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，鼠伤寒* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种甲型副伤寒血清型* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种，魏尔啸* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种肠炎血清型* | *肠炎沙门氏菌亚利桑那亚种，53:g,z51:-* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种鼠伤寒血清型* | *肠炎沙门氏菌双亚利桑那亚种，17:z10:e,n,z15* |
| *肠炎沙门氏菌亚利桑那亚种* | *肠炎沙门氏菌萨拉姆亚种，11:l,z28:e,n,x* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种丙型副伤寒血清型* | *肠炎沙门氏菌豪顿亚种，6,7:z4,z24:-* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种鼠伤寒血清变型* | *肠炎沙门氏菌印度亚种，11:b:1,7* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种都柏林血清型* | *邦戈沙门菌， 66:z35:-* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种伤寒血清型* | *痢疾志贺菌（A亚组）* |
| *邦戈沙门菌型菌株* | *痢疾志贺菌（A亚组，血清型8）* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种魏尔啸血清型* | *弗氏志贺菌（B亚组，血清型3）* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种哈特血清型* | *弗氏志贺菌（B亚组，血清型4a）* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种阿贡纳血清型* | *弗氏志贺菌（B亚组，血清型6）* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种乙型副伤寒血清型爪哇变种* | *波氏志贺菌（C亚组，血清型8）* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种德比血清型* | *波氏志贺菌（C亚组，血清型10）* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种纽波特血清型* | *波氏志贺菌（C亚组，血清型11）* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种布灵得卢柏血清型* | *痢疾志贺菌（A亚组，血清型9）* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种猪霍乱血清型* | *痢疾志贺菌（型菌株，A亚组，血清型1）* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种斯坦利血清型* | *痢疾志贺菌（A亚组，血清型11）* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种巴拿马血清型* | *痢疾志贺菌（A亚组，血清型1）* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种海德尔堡血清型* | *索氏志贺菌* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种蒙得维的亚血清型* | *索氏志贺菌，D亚组* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种慕尼黑血清型* | *弗氏志贺菌* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种汤普森血清型* | *帕齐尼霍乱弧菌* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种乙型副伤寒血清型L(+)酒石酸盐+变种* | *亚细亚霍乱弧菌（Trevisan） Pfeiffer* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种巴雷利血清型* | *霍乱弧菌* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种奥拉宁堡血清型* | *结肠炎耶尔森杆菌结肠炎亚种，生物型 1 （血清型O:8）* |

|  |  |
| --- | --- |
| **反应性** | |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种肯塔基血清型* | *结肠炎耶尔森杆菌结肠炎亚种，生物型 1 （血清型8）* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种鸭血清型* | *结肠炎耶尔森杆菌结肠炎亚种（血清型O:9）* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种圣保罗血清型* | *结肠炎耶尔森杆菌结肠炎亚种，生物型 4 （血清型3）* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种婴儿血清型* | *结肠炎耶尔森杆菌结肠炎亚种，生物型2 （血清型9）* |
| *肠炎沙门氏菌肠炎亚种* | *结肠炎耶尔森杆菌* |
|  |  |

如果适用，可以使用基于靶序列比对等同性的生物信息学结果来指导应进行“湿测试”的菌株的选择。生物信息学分析必须包括临床相关菌株和每个声称靶标的时间、地理和系统发生多样性的代表性菌株。通过这种方法，随着与目标区域的等同性水平的下降，可以选择越来越多的代表性微生物用于进一步的实验室测试。您必须提供纳入所选菌株的明确依据、用于评估包容性的指标，并明确列出所评价的每种微生物的特定感兴趣区域的序列比对结果。此外，您必须提供有关引物和探针序列的信息以及所测试的每个物种的目标区域的任何序列差异及计算的％同源性。您可以联系OIR的微生物器械部咨询研究设计。

**VII(C)(3). 分析特异性（交叉反应性）**

您必须确定您的胃肠道微生物多元核酸试剂盒用于检测您的器械未靶向的复合细菌、病毒和寄生虫的分析特异性。您必须纳入与您的器械所检测的分析物具有系统发育相关的微生物以及可能存在于人粪便样本中但不是您的测定所靶向的其他微生物。当您的测定法用于检测某种分析物的特定物种时，您必须评价该属中的其他物种的潜在交叉反应性。必须使用高浓度（例如，106 - 109 CFU/mL或病毒颗粒/ mL）的潜在交叉反应微生物进行该测试。

为补充排他性湿法测试，您还可以提交生物信息学证据，以支持您的测定法的核酸靶标特异性，并有助于确定交叉反应性研究中需测试的微生物。您可以联系OIR的微生物器械部咨询研究设计。

下表所示为可能适用于胃肠道微生物多元核酸试剂盒的排他性研究的微生物类型（即，引起肠炎但不是您的测定法所靶向的微生物以及共生菌群）的示例：

##### 表4：病原菌

|  |  |
| --- | --- |
| *鲍氏不动杆菌* | *大肠埃希菌（Migula） Castellani and Chalmers血清型O111:H8 菌株 CDC 1999- 3249（产志贺毒素1和2）* |
| *腺病毒血清型1* | *福氏埃希氏杆菌* |
| *腺病毒血清型3* | *黑氏埃希氏杆菌* |
| *腺病毒血清型4* | *伤口埃希氏杆菌* |
| *腺病毒血清型5* | *阴道加德菌* |
| *腺病毒血清型8* | *猫螺杆菌* |
| *腺病毒血清型14* | *幽门螺杆菌* |
| *腺病毒血清型18* | *甲型肝炎病毒* |
| *腺病毒血清型31* | *奥克西托克雷白杆菌* |
| *嗜水气单胞菌* | *臭鼻克雷白氏杆菌（肺炎克雷白氏杆菌臭鼻亚种）* |
| *爱知病毒* | *格雷李斯特菌* |
| *布氏弓形杆菌* | *单核细胞增多性李斯特菌* |
| *嗜低温弓形杆菌* | *诺如病毒GIV* |
| *1型腺病毒* | *类志贺毗邻单胞菌* |
| *2型腺病毒* | *不解糖毗邻单胞菌* |
| *蜡样芽胞杆菌* | *产碱普罗威登斯菌* |
| *胎儿弯曲杆菌胎儿亚种* | *雷氏普罗威登斯菌* |
| *胎儿弯曲杆菌性病亚种* | *斯氏普罗威登斯菌* |
| *猪肠弯曲杆菌* | *轮状病毒 A（病毒株WA）* |
| *空肠弯曲杆菌空肠亚种* | *B组轮状病毒* |
| *乌普萨拉弯曲杆菌* | *C组轮状病毒* |
| *沙眼衣原体* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种猪霍乱血清变型* |
| *产气荚膜梭状芽胞杆菌* | *肠炎沙门氏菌肠炎亚种鼠伤寒血清变型（以前称猪霍乱沙门氏菌猪霍乱亚种鼠伤寒血清型）* |
| *败血梭状芽胞杆菌* | *札幌病毒GI* |
| *索氏梭状芽胞杆菌* | *札幌病毒GII* |
| *第三梭状芽胞杆菌* | *札幌病毒GIII（猪）* |
| *破伤风梭状芽胞杆菌* | *札幌病毒GIV* |
| *柯沙奇病毒* | *液化沙雷菌* |
| *阪崎肠杆菌* | *粘质沙雷菌粘质亚种* |
| *火鸡隐孢子虫* | *波氏志贺菌* |
| *鼠隐孢子虫* | *痢疾志贺菌血清型1菌株 AMC 43- A-14* |
| *巨细胞病毒* | *索氏志贺菌* |
| *埃可病毒* | *嗜麦芽窄食单胞菌* |
| *迟钝爱德华菌* | *停乳链球菌停乳亚种* |
| *肠道病毒（D型人肠道病毒（肠道病毒型70）），病毒株 J670/71* | *酿脓链球菌* |
| *肠道病毒（脊髓灰质炎3）* | *副溶血弧菌* |
| *蟑螂埃希菌* | *伯氏耶尔森菌* |
| *大肠埃希菌（Migula） Castellani and Chalmers菌株CDC EDL 1284 [929-78]（血清型O124:NM）（肠侵入型）* | *假结核耶尔森菌* |
| *大肠埃希菌（Migula） Castellani and Chalmers菌株CFT073（尿道治病菌株）* | *罗氏耶尔森菌* |
| *大肠埃希菌（Migula） Castellani and Chalmers菌株（血清型O16:K1(L):NM）* |  |

##### 表5：共生菌

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| *软弱贫养菌* | *艰难梭状芽胞杆菌（无毒型）* | *直肠真杆菌* |
| *溶血不动杆菌* | *谲诈梭状芽胞杆菌* | *柔嫩梭菌（旧称普拉梭杆菌）* |
| *鲁氏不动杆菌* | *溶血梭状芽胞杆菌* | *变形梭杆菌* |
| *内氏放线菌* | *溶组织棱状芽胞杆菌* | *麻疹孪生球菌* |
| *嗜粘蛋白阿克曼氏菌* | *无害梭状芽孢杆菌* | *蜂房哈夫尼菌* |
| *粪产碱菌粪亚种* | *甲基戊糖梭状芽胞杆菌* | *芬纳尔螺杆菌* |
| *四联厌氧球菌* | *系结梭状芽胞杆菌* |  |
| *阴道阿托波氏菌* | *诺维氏梭状芽胞杆菌* | *肺炎克雷伯氏菌肺炎亚种* |
| *枯草芽孢杆菌斯氏亚种* | *副腐化梭状芽孢杆菌* | *嗜酸乳杆菌* |
| *枯草芽孢杆菌枯草亚种* | *副腐化梭状芽孢杆菌* | *干酪乳杆菌* |
| *粪拟杆菌* | *闪烁梭状芽胞杆菌* | *罗伊乳杆菌* |
| *脆弱拟杆菌* | *楔样梭状芽胞杆菌* | *乳酸乳球菌乳酸亚种* |
| *粪便拟杆菌* | *产芽胞梭状芽胞杆菌* | *格氏勒米诺菌* |
| *多形拟杆菌* | *共生胞梭状芽胞杆菌* | *无害李斯特菌* |
| *普通拟杆菌* | *生殖器棒状杆菌* | *发酵支原体* |
| *青春双岐杆菌* | *谷氨酸棒状杆菌* | *不解糖嗜胨菌* |
| *两岐双岐杆菌* | *Desulfovibrio piger（一种脱硫弧菌）* | *厌氧消化链球菌* |
| *长双歧杆菌长亚种* | *大肠埃希菌（菌株：(Migula) Castellani and Chalmers）菌株Crooks* | *列夫卟啉单胞菌* |
| *人酵母菌* | *大肠埃希菌（菌株：(Migula) Castellani and Chalmers）血清型O26:K60(B6)* | *产黑色普雷沃菌* |
| *简要弯曲杆菌* | *大肠埃希菌（菌株：(Migula) Castellani and Chalmers）O组26* | *奇异变形杆菌* |
| *曲形弯曲杆菌* | *大肠埃希菌（菌株：(Migula) Castellani and Chalmers）血清型O103:K:H8* | *羽状变形菌* |
| *纤细弯曲杆菌* | *大肠埃希菌（菌株：(Migula) Castellani and Chalmers）血清型O111:NM* | *普通变形杆菌* |
| *瑞士弯曲杆菌* | *大肠埃希菌（菌株：(Migula) Castellani and Chalmers） –粪便，人（健康人粪便），菌株HGH21* | *绿脓假单胞菌* |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| *人弯曲杆菌* | *大肠埃希菌（菌株：(Migula) Castellani and Chalmers） – adult, human NewYork, strain ECOR2* | *恶臭假单胞菌* |
| *直肠弯曲菌* | *大肠埃希菌（菌株：(Migula) Castellani and Chalmers）– 瑞典成年人，ECOR 9（参考菌株）* | *布氏瘤胃球菌* |
| *昭和弯曲菌* | *大肠埃希菌（菌株：(Migula) Castellani and Chalmers） –汤加成年人，ECOR 41（参考菌株）* | *地下沙门氏菌* |
| *痰液弯曲杆菌痰液生物变种* | *迟缓埃格特菌* | *金黄色葡萄球菌金黄色亚种*  *菌株FDA 209* |
| *白念珠菌* | *迪斯帕阿米巴* | *金黄色葡萄球菌金黄色亚种考恩血清型1（含蛋白质A）* |
| *链状念珠菌* | *莫氏内阿米巴* | *表皮葡萄球菌* |
| *牙龈二氧化碳噬纤维菌* | *产气肠杆菌* | *中间链球菌* |
| *戴氏西地西菌* | *阴沟肠杆菌阴沟亚种* | *唾液链球菌* |
| *粘金黄杆菌* | *钻黄肠球菌* | *链球菌属* |
| *无丙二酸柠檬酸杆菌* | *盲肠肠球菌* | *乳房链球菌* |
| *弗氏柠檬酸杆菌* | *殊异肠球菌* | *关岛特布尔西菌* |
| *克氏柠檬酸杆菌* | *粪肠球菌* | *非典型韦永氏球菌* |
| *塞氏柠檬酸杆菌* | *粪肠球菌vanB* | *极小韦永氏球菌* |
| *贝氏梭状芽胞杆* | *粪肠球菌* |  |
| *粪* | *屎肠球菌vanA* |  |
| *鲍氏梭状芽胞杆* | *鹑鸡肠球菌* |  |
| *酪酸梭状芽胞杆菌* | *希氏肠球菌* |  |
| *鸣疽梭状芽胞杆菌* | *棉子糖场球菌* |  |

**VII(C)(4). 竞争抑制研究**

这些研究必须挑战您的检测方法，并结合混合感染您的测定法所靶向的微生物的患者的粪便样本中常见的分析物。在这些分析中，您必须证明某种高浓度的靶向微生物不会抑制浓度在LoD附件的另一种靶向生物体的检测，反之亦然。您可以参考当前已发表的文献来支持这些研究中最适合的微生物组合。

**VII(C)(5). 干扰测试**

*干扰物质*

为了评估人粪便中存在的物质的抑制作用，您必须使用相关浓度的潜在干扰物进行干扰研究。需要测试的潜在干扰物质包括可能在样本中预先存在的物质（如：血液，粘蛋白，甘油三酯，胆固醇，泻药，抗腹泻药物，抗酸剂，抗真菌剂，抗生素，抗炎剂药，以及预期使用患者群体可能使用的其他药物），以及在样本收集和样本制备期间可能引入的物质。下表6所示为潜在干扰物质的示例。您必须测试每种干扰物质对胃肠道微生物多元核酸试剂盒的分析物检测的影响。样本中微生物的量必须为相应的临界浓度。您必须在潜在最高浓度（“最坏情况”）下评估每种干扰物质。如果没有观察到显著的临床影响，则不需要进一步的测试。

##### 您还必须酌情评估其他常见的处方或非处方药物及其代谢物。由于加标试验可能不一定是体内方案的准确模型，所以可能需要考虑其他试验设计，例如，可能需要酌情考虑评估临床研究患者服用的药物的影响。

##### 设计干扰研究时可以参考CLSI文件EP07-A2“临床化学中的干扰测试”[参考文献 7]。

##### 表6：用于交叉反应和干扰研究的非微生物物质

|  |
| --- |
| **非微生物物质** |
| 全血 |
| 粘蛋白 |
| 粪便脂肪 - 甘油三酯 |
| 粪便脂肪 - 胆固醇 |
| 血红蛋白（煤焦油样粪便） |
| 佩托比斯摩（亚硫酸铋） |
| 高岭土（绿坡缕石） |
| 易蒙停（盐酸洛哌丁胺） |
| 制霉菌素（抗真菌药） |
| 氢化可的松 |
| 碳酸钙（抗酸药） |
| 氢氧化镁，氢氧化铝（抗酸药） |
| 矿物油 |
| 番泻苷（泻药） |
| 萘普生钠（非类固醇消炎药） |
| 苯扎氯铵，乙醇（湿毛巾） |
| 氨苄青霉素钠盐（152 μmol/L）（抗生素） |
| 硫酸多粘菌素B，杆菌肽锌（抗生素，外用） |

*微生物干扰*

您必须使用临床相关浓度的潜在干扰微生物（通常细菌为106 CFU/ml或更高，病毒为105 PFU/m或更高）来评价您的测定法未靶向的微生物的干扰。测试需考虑的潜在干扰微生物与交叉反应性研究相同。您必须在每种分析物确定的器械临界值下评价潜在微生物干扰。

#### VII(C)(6). 精密度（内部/实验室内重复性）

#### 是否需要进行内部精密度研究取决于各个器械。请联系OIR的微生物器械部，了解您的器械的具体要求。

#### 如果您的器械被认为有必要进行实验室内精密度研究，您必须测试变异性来源（如：操作者，操作日和测定运行）。测试必须至少进行12天（不一定是连续的），每次运行时都应测试每个血液培养样本的平行试样。

#### 样本必须通过将低浓度的每种靶向微生物和毒素基因加标到合适的合并阴性人粪便样本基质来制备。对于每个靶向的微生物/毒素基因，您必须至少测试两种不同的浓度。此外，面板中还必须包含阴性样本。精密度研究中，每个面板至少应包括以下要素：

#### 阴性样本：不含或仅含不可检测量的目标分析物的样本，使得该样本的重复测试结果为100％的时间为阴性。

#### “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）。

#### 您的精密度研究报告必须包括以下信息：天数和运行次数，操作人数以及适用于您的研究的验收标准。一般来说，对于定性测试，必须对每个变量进行单独及综合评估。对于具有潜在定量输出的定性测试，必须对每个变量进行数值分析（例如：平均值，标准偏差和％变异系数）。

#### 有关重复性研究的设计和执行的更多信息，请参阅CLSI文件EP05-A2“定量测定方法的精密度性能评价”[参考文献8]和EP12-A2“定性测试性能评价的用户方案”[参考文献 9]。

#### VII(C)(7). 多中心再现性研究

#### 尽管样本面板必须以相同的方式制备，并且使用与上述内部精密度研究所述的相同面板组成，但再现性研究的方案仍可能会因测定形式而略有不同。

如果您的器械靶向大量分析物，则再现性研究可以包含代表性靶向生物体的一个子集。请联系OIR的微生物器械部，了解您的器械的具体要求。

#### 一般来说，进行再现性研究时，必须使用以下方法：

#### 在三个测试测试机构评价测试的再现性（其中一个可能为内部机构）。

#### 使用五天测试方案，包括每天至少两次运行（除非分析设计排除每天多次运行），每次运行每个面板组分的3个平行试样，每个测试机构每个测试日都至少有两名操作员。必须测试每个分析物和每个浓度的至少90个平行提取试样。

#### 您必须提供培训，培训的程度与该器械上市后拟对用户进行的培训程度相同。

您的再现性研究报告必须包括以下信息：天数和运行次数，操作人数以及研究采用的验收标准。一般来说，对于定性测试，必须对每个变量进行单独及综合评估。对于具有潜在定量输出的定性测试，必须对每个变量进行数值分析（例如：平均值，标准偏差和％变异系数）。此外，您还必须提供每个研究中心的无效结果的百分比，以及所有研究中心的综合结果。

有关再现性研究设计的更多信息，请参阅CLSI文件EP15-A2“精密度和真实性性能的用户验证”[参考文献10]。

**VII(C)(8). 残留研究和交叉污染研究（适用于需要使用仪器的多样本测定法及器械）**

对于需要使用仪器的多样本测定法和器械，您必须证明使用您的器械时不会发生残留和交叉污染。在残留和交叉污染研究中，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。您必须交替运行至少五次高阳性和五次高阴性样本。研究中的高阳性样本的浓度必须足够高，以从预期使用人群的阳性患者样本中获得95％以上的结果。

**VII(D). 临床性能**

临床研究方案必须在研究开始之前由研究者完成并进行审查。您的510（k）提交文件必须包含原始研究方案、方案修正案和任何其他相关研究资料的副本。

作为提交前审查过程的一部分，您可以联系OIR的微生物器械部，要求对您提出的研究进行审查。您必须进行前瞻性临床研究，以确定您的器械对于特定预期用途的性能。入组患者必须是所有测定分析物的全部预期适用人群的代表性患者（即，一个群体不能过度代表（艰难梭菌感染））。您必须制定详细的研究方案，包括具体的患者入选和排除标准、所需样本的类型和数量、使用说明以及统计分析计划（考虑差异以防止数据偏倚）。您必须描述这些研究如何支持拟定的预期用途。您可以联系OIR的微生物器械部，要求在研究开始之前对您提出的研究进行审查。

在临床试验设计过程中必须解决以下问题：

**VII(D)(1). 参考测定法**

您必须将您的器械的性能与文献确定的参考方法或使用综合对比方法的预定算法进行比较。参考方法的示例包括：

1. 与FDA批准的器械进行比较（如果有）。
2. 两个良好经过表征和验证的核酸扩增试验（NAAT），然后进行双向测序分析。您可以联系OIR的微生物器械部，以获得验证研究设计的指导。
3. 文献或FDA批准的基于EIA的测试方法和一个经过良好表征和验证的NAAT，然后进行双向测序分析。

如果您使用NAAT，然后进行双向测序，作为综合比较方法的一部分，那么您使用的引物必须经过良好表征和验证，包括评价引物检测限和证明分析反应性。NAAT测定必须使用旨在扩增您的胃肠道微生物多元核酸试剂盒未涵盖的基因组序列区域的引物。您可以提交已发表的文献或实验室数据，以支持用于NAAT或测序的引物。您必须对扩增子的两条链进行测序反应（双向测序），并证明所产生的序列（所产生的扩增子的正向和反向序列）都符合以下序列验收标准：

* 双向测序所生成的序列必须具有至少200个可接受的碱基，定义至少90％的碱基的PHRED质量分值为20或更高（相当于1％或更低的误差率）。
* 对于含有不明确核苷酸的序列，使用双向测序产生的可接受质量序列中不明确核苷酸的总数不得超过总碱基的5％（或每200 bp读取到10个碱基）。
* 通过双向测序产生的可接受质量序列的爆破分析，与对照品相比必须具有至少95％的查询覆盖率，并且与对照品具有至少95％的一致性。
* 序列与对照或共有序列匹配，特定目标的预期值（E-值）<10-30（对于GenBank中的BLAST搜索，见http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/）。

有关微生物测序的更多信息，请参阅CLSI文件MM18-A“通过DNA靶序列鉴别细菌和真菌的解释标准”[参考文献11]和MM9-A“诊断实验室医学中的核酸测序方法”[参考文献12]。

**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，由临床实践中可能进行该测试的实验室人员进行测试。至少应有两个个研究机构在美国。测试机构可以独立于样本采集机构。但是，必须选择至少三个地理位置不同的样本采集机构。如果有部分研究在美国以外进行，您必须记录您的研究与美国临床实践和人口统计学特征的相关性。

**VII(D)(3). 研究人群**

您必须使用预期目标人群的样本进行研究。研究的患者招募必须基于体征和症状，并符合研究的任何其他入选标准。为了保持临床研究患者人群中目标分析物的真实患病率，以前入组该临床研究的患者不得重新进入同一临床研究。您必须收集临床研究患者的所有可用的临床和实验室信息。这包括：

* 年龄（儿童，成年人，老年人群）
* 性别
* 患者人群（例如：门诊，ER，住院，免疫功能低下）
* 临床体征和症状的类型
* 入组前症状的持续时间和严重程度
* 传输方式
* 任何既往用药和合并药物（包括：剂量，类型，用药频率和持续时间）
* 任何其他实验室检测结果
* 最终诊断（如有）

适合考虑的临床资料可能与感兴趣的研究组有所不同。您必须在临床研究中纳入您的器械未声明不适用的年龄段的每个年龄组的患者（例如：5岁以下，6-21岁，22-59岁和60岁以上）。

**VII(D)(4). 研究设计**

用于估计敏感性或阳性一致性百分比的前瞻性研究的样本量由临床疾病的估计患病率和每个分析物的预期患病率确定。您必须提交一份详细的摘要，通过参考文献证实您研究中每种分析物的预期患病率。

临床研究必须主要测试从每例患者新鲜前瞻性收集的样本。然而，全部测试样本可以部分包含前瞻性收集并冷冻保存的粪便样本。前瞻性收集的存档样本必须从所有符合研究入选标准并代表测定预期适用人群的患者中依次收集，并且必须在预定确定的两个日期之间收集，因此不存在偏倚，并且保留了分析物的患病率。一般来说，您的测定应收集并分析1500份前瞻性样本，以获得足够高的统计把握度，便于FDA作出实质等同性的认定。

如果前瞻性临床样本测试不能产生某些靶向分析物的足够数量的阳性结果，则可以补充已知对特定分析物呈阳性的回顾性样本。

只要进行研究证明与测试新鲜样本相比，冷冻样本不会改变器械的性能，则可以纳入冷冻（前瞻性或回顾性存档）样本的测试结果以支持测试性能。

此外，纳入人工处理的样本也可能是可接受的富集方法。用于人工处理样本测试的微生物必须能够代表不同的临床分离株，而不是来自同一患者的相同生物体的多个分离株。

回顾性存档和处理的样本必须以盲法和一些阴性样本一起，随机分配到至少三个临床测试机构进行测试。

**VII(D)(5). 临床研究结果的说明**

您必须分别提供您的器械所鉴别的每个靶向微生物和毒素基因的敏感性和特异性（或阳性和阴性一致性）及95％置信区间。此外，您还必须提供（1）包含多种分析物（通过参考方法确定）的样本的测试结果，以及（2）通过参考方法测得的包含多种微生物（通过您的测定法确定）的样本的结果。

您在临床研究中测试的所有样本都必须按照您的器械说明书中所述的方法进行测试。例如，如果初始无效结果的样本要按照测定说明进行重新测试，那么，必须在临床研究中重新测试这些样本，并且必须在您的统计分析中使用这些样本的最终结果。您必须提供由于每个分析物单独以及组合的不明确结果（如果适用）和无效结果而进行重新测试的样本的百分比。

必须在510（k）提交文件中分别提供前瞻性收集样本（新鲜和存档）的性能。此外，必须列出回顾性和处理样本的单独分析结果。

除了整体数据汇总表外，您还必须提供按年龄分组（例如：5岁以下，6-21岁，22-59岁和60岁以上）的证明测定性能的研究数据。

**VIII. 器械特定标签**

您的胃肠道微生物多元核酸试剂盒的器械标签必须包括以下描述的信息，以帮助确保用户了解该器械的适当用途。

## VIII(A). 预期用途

预期用途必须具体说明样本类型（例如，人粪便样本）、该器械检测和识别的微生物、分析物和靶标（例如，RNA、DNA或RNA和DNA组合）的性质、临床适应症、以及该测试的具体适用人群（如果没有足够的数据支持该器械在某个年龄组患者中的使用，则应包括年龄组说明）。预期用途还必须说明测试是定性还是定量、分析物检测是否是推定的、以及任何特定的使用条件（例如，该测试是否旨在与其他实验室测试结合使用）。预期用途必须清楚地说明，该器械仅用作辅助诊断胃肠道感染。基于临床研究的结果，可能还会有额外的要求。

**VIII(B). 器械描述**

器械描述必须清楚地描述该器械使用的测试方法。

**VIII(C). 测试方法**

本部分必须包括从患者抽样到结果报告的整个测试过程的详细说明。

**VIII(D). 使用说明**

使用说明部分必须提供清晰简明的说明，系统描述使用该器械的步骤以及降低不准确结果风险的控制措施的类型。说明必须鼓励使用其他控制措施以及测试对照物质，以确保安全有效地使用。

必须包括详细的器械处理和储存说明，并清楚说明该器械及任何试剂或组件在开封和封闭储存条件下的有效期限。

**VIII(E). 质量控制**

包装说明书中的质量控制建议必须清楚说明该测定应使用什么对照品以及对照物质的预期结果。

如果该器械包含对照品，则510（k）提交必须包含对照物质的质量标准。

**VIII(F). 警告、禁忌症、注意事项和局限性**

与特定器械相关的所有警告、禁忌症、注意事项和局限性都必须包含在器械标签中。在这样做时，您必须至少包括对该器械性能可能会发生变化或该器械尚未进行研究的某些人群的讨论（例如，免疫受损的患者）。此外，还必须包括以下局限性说明：

* 所有检测结果都应在全面临床评价的背景下进行使用和解释，作为诊断胃肠道感染的辅助手段。
* 存在由目标生物体、其核酸或扩增产物的交叉污染引起的假阳性结果的风险。
* 测定中存在非特异性信号引起的假阳性结果的风险。
* 分析物靶（病毒，细菌或寄生虫核酸序列）可能在体内持续存在，与病毒、细菌或寄生虫的生存力无关。检测到分析物靶不能保证存在相应的活生物体，或者相应的生物体是临床症状的致病因子。
* 病毒、细菌或寄生序列的检测取决于适当的样本收集、处理、运输、储存和制备（包括提取）。任何一个步骤未遵循正确的方法都可能导致不正确的结果。
* 引物结合区域的潜在多态性可能会影响被检测目标，并影响随后反馈的检测结果。
* 沙门氏菌：验证研究中未对所有沙门氏菌血清型都进行测试。
* 样本收集、运输或处理不当都会有产生假阴性结果的风险。
* 由于存在测定目标中的菌株/物种序列变异性、程序性错误、样本中的扩增抑制剂或扩增的生物体数量不足等因素，存在假阴性结果的风险。
* 尚未确定本测定法用于监测任何目标微生物感染的治疗的性能。
* 阳性和阴性预测结果高度依赖于患病率。当疾病患病率高时，更有可能出现假阴性检测结果。当患病率低时，更有可能出现假阳性检测结果。
* 仅评价了标签中列出的干扰物质在标示的数量或浓度下的影响。由包装说明书的“干扰”部分所描述的物质以外的其他物质产生的干扰可能会导致错误的结果。
* 与包装说明书的“分析特异性”部分列出的胃肠道生物体以外的其他生物体的交叉反应可能会导致错误的结果。
* 本测试是定性检测，不能提供检测到的生物体的定量值。

**VIII(G). 样本收集**

您必须提供样本收集的说明。如果您建议将原始粪便、保存粪便或经处理的粪便样本储存起来供以后进行测试，则您必须提供经验证的储存条件的信息。

**VIII(H). 测定结果的解释和报告**

您必须描述操作员应如何解释每个可能的器械结果（例如，阳性、不明确和阴性）。您还必须提供重新测试样本或报告不明确结果或样本处理失败（如果这是可能的器械输出结果）的建议（例如，是否需要使用同一样本的另一等分试样或使用新鲜样本）。另见本文件第VI(E)(4)部分“解释测试结果/报告”。如果适用，您必提供照片和/或图表，以说明如何解释定性测试的结果。

**VIII(I). 性能特征**

标签必须包括本文件第VII部分所述的研究设计和研究结果总结，这将有助于用户解释测试结果以及了解器械性能；这必须包括临床和分析研究结果的描述。

## IX. 参考文献

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Disease; Approved Guideline. MM3-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. MM13-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010. Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guideline. GP44-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. M29-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2011. Assessment of the Diagnostic Accuracy of Laboratory Tests Using Receiver Operating Characteristic Curves; Approved Guideline. EP24-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline. EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline. EP07-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2004. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline. EP05-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline. EP12-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.
10. 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.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Interpretive Criteria for Identification of Bacteria and Fungi by DNA Target Sequencing; Approved Guideline. MM18-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2004. Nucleic Acid Sequencing Methods in Diagnostic Laboratory Medicine; Approved Guideline; CLSI document MM9-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.