行业和食品药品监督管理局工作人员指南草案

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

II类特殊控制指导性文件：

芽孢杆菌检测的体外诊断器械

指南草案

本指南发行仅用于评论。

文件发布日期：2011年5月18日

贵公司应在*联邦公报*上公告宣布本指南可用性的90天内提交关于本文件草案的意见和建议。书面意见提交至文档管理部(HFA-305)，食品药品监督管理局，5630 Fishers Lane, rm. 1061, Rockville, MD 20852；电子版意见提交至<http://www.regulations.gov>。所有意见应使用在联邦公报上公布的可用性通知中列出的案卷号加以标识。

有关本文件的任何疑问，请联系微生物学器械部的Beena Puri博士，电话：301-796-6202 或 电子邮件：beena.puri@fda.hhs.gov。



美国卫生与公众服务部

食品药品监督管理局

器械与放射健康中心

体外诊断器械评估和安全办公室

微生物检测器械部

前言

**其他副本**

其他副本可从互联网获得。贵公司还可以发送电子邮件请求本指南的电子副本：dsmica@fda.hhs.gov，或向301-847-8149发送传真请求以接收复印件。在贵公司提出请求时，请使用本指南的文档编号（1667）以供识别。

目录

1. [简介 4](#bookmark8)
2. [芽孢杆菌 – 背景 4](#bookmark9)
3. [上市前通告 – 背景 5](#bookmark11)
4. [范围 5](#bookmark12)
5. [需要特殊控制的安全性和有效性问题 6](#bookmark15)
6. [器械描述 8](#bookmark17)
7. [性能研究 9](#bookmark19)
8. [标签 12](#bookmark27)
9. 使用核酸扩增的芽孢杆菌器械的特殊考虑事项 15
10. [参考文件 21](#bookmark49)

行业和食品药品监督管理局工作人员指南

II类特殊控制指导性文件：

芽孢杆菌检测的体外诊断器械

1. 简介

为支持芽孢杆菌检测的体外诊断器械的建议分类，制定了该特殊控制的指南草案。根据2002年3月7日微生物学器械咨询小组的建议，将医疗器械修正案前未分类的该器械归为II类。

定稿时，将该指南指定为特殊控制意味着，任何公司已销售的、或打算销售的用于芽孢杆菌检测的体外诊断器械，必须解决在特殊控制指南中涵盖的问题。公司需证明其器械解决了指南中确定的安全性和有效性的问题，可通过符合指南建议的方式或其他方式，提交安全性和有效性的等同性保证。

在最终规章生效后，器械必须符合分类规定中作为一种特殊控制规定的分销限制。（见提案21 CFR 866.3045（b）（2）和 本文件第3节和第8节）。

1. 芽孢杆菌 - 背景

芽孢杆菌检测的体外诊断器械用于检测和鉴别芽孢杆菌，推测鉴定来自于培养的分离菌株或临床标本的炭疽芽孢杆菌和其他芽孢杆菌，并作为诊断炭疽和由芽孢杆菌引起的其它疾病的辅助手段。该器械可以包括：与荧光染料(免疫荧光试剂) 偶联的芽孢杆菌抗血清，用于在临床标本中推测鉴定芽孢杆菌样的微生物；或基于炭疽芽孢杆菌对噬菌体的细胞裂解作用敏感，用于从其他芽孢杆菌中鉴别出炭疽芽孢杆菌的噬菌体；或用于鉴别血清中的炭疽芽孢杆菌抗体的抗原。该指南包括了为所有此类型器械满足所提议的特殊控制的要求而给出的建议，既包括了如上所述的修正案前的技术，又包括了基于核酸扩增技术的炭疽芽孢杆菌测定。通过510(k)程序，食品药品监督管理局已经确定了其中的几种实质等同于此类型的其他器械，也将被归为II类器械，且受到所提议分类项下的特殊控制。

炭疽是由炭疽芽孢杆菌引起的人畜共患的疾病。人类的感染在临床表现上的不同，取决于染菌途径。最常见的形式是皮肤炭疽，其通过皮肤上的切口或擦伤进入； 肠炭疽是由于摄入了受污染的肉类或其他食品引起的；肺炭疽是由吸入了孢子引起的，如果未行治疗，则是致命的。蜡样芽孢杆菌是胃肠道疾病(通常为自限性疾病)的致病因子； 在非胃肠道的感染也会发生，通常与创伤或手术、植入物、导管和分流器有关。

1. 上市前通告 - 背景

食品药品监督管理局认为，在与一般控制联合使用时，特殊控制将足以为芽孢杆菌检测的体外诊断器械的安全性和有效性提供合理的保证。该指南指定为特殊控制意味着，计划销售此类器械的生产商应：(1) 符合联邦食品、药品和化妆品法案（FD&C法案）的一般控制，包括在21 CFR 807 E子部分中所述的上市前通告要求，(2) 解决本指南中确定的安全性和有效性的特殊问题，(3) 满足21 CFR 866.3045（b）中规定的其他特殊控制，以及(4) 在该器械上市之前，获得食品药品监督管理局的实质等同性认定。

本指南草案确定了芽孢杆菌检测的体外诊断器械的建议分类规则和相关产品代码。（参见第3节 - 范围）。此外，本指南草案的其他部分列出了安全性和有效性的问题，并描述了应对措施，即，如果生产商遵循并与一般控制的措施相结合，通常可解决与这些器械相关的问题，促使上市前通告[510(k)]及时的审查和许可。本草案文件最终定稿时，将补充其他的食品药品监督管理局关于上市前通告提交的具体内容要求的文件。贵公司还应参考21 CFR 807.87和CDRH的器械建议http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/default.htm

1. 范围

文件的范围仅限于提议的21 CFR 866.3045中描述的器械，其具有以下产品代码：

NVQ [噬菌体和对照品，炭疽芽孢杆菌裂解]

NPO [试剂盒，免疫色谱技术，炭疽芽孢杆菌鉴别抗体]

NRL [酶联免疫吸附测定，抗体，炭疽芽孢杆菌]

NHT [测试，核酸扩增，炭疽芽孢杆菌]

NWZ [气相色谱法，炭疽芽孢杆菌的膜脂肪酸]

本指南并不旨在解决检测环境的样品、或为了收集样品通过粘膜、皮肤或其他表面上孢子的存在/不存在来评估暴露的具体问题。单独用于特异性检测孢子的方法和过程不在本指南的范围之内。

在同时建议的规章中，食品药品监督管理局将这些器械标识如下，并建议将它们分类为II类：

§866.3045芽孢杆菌检测的体外诊断器械。

1. 鉴别。一种芽孢杆菌的体外诊断器械，用于检测和鉴别芽孢杆菌， 以及推测鉴定来自于培养的分离菌株或临床标本的炭疽芽孢杆菌和其他芽孢杆菌，并作为诊断炭疽和由芽孢杆菌引起的其它疾病的辅助手段。该器械可以包括：与荧光染料(免疫荧光试剂)偶联的芽孢杆菌抗血清，用于在临床标本中推测鉴定出芽孢杆菌样的微生物；或噬菌体，因炭疽芽孢杆菌对噬菌体的细胞裂解作用敏感，用于从其他芽孢杆菌中鉴别出炭疽芽孢杆菌；或抗原，用于鉴别血清中的炭疽芽孢杆菌抗体（抗毒素和抗荚膜）。芽孢杆菌感染包括由炭疽芽孢杆菌引起的炭疽（皮肤，吸入或胃肠道），以及由蜡样芽孢杆菌引起的胃肠道疾病和非胃肠道感染。

除本指南外，食品药品监督管理局还建议，该器械的特殊控制措施包括：限制分销给有经验的人员的实验室，这些人员接受过微生物培养鉴定方法的使用和传染病诊断原则的培训，并有适当的生物安全性设备和生物防范。（见提议的21 CFR§866.3045（b）。）

1. 需要特殊控制的安全性和有效性问题

食品药品监督管理局已经确定了假阴性检测结果的风险和假阳性检测结果的风险，这些可能导致个人和公共卫生后果，作为与该器械相关的安全性和有效性问题，需要特殊控制。此外，食品药品监督管理局确定了对实验室工作人员的健康风险(与试样和对照品的处理有关)需要特殊控制。这些问题和解决方法的建议章节总结在下表中。

阐述了芽孢杆菌器械未能按说明执行或者对结果的解释错误，可能会导致误诊和不正确的患者管理，或者错误的流行病学信息，以至于会促成不适当的公共卫生反应。假阳性结果可能导致患者经受不必要或无效治疗的医疗决定，以及社区中存在炭疽病的错误的流行病学信息。假阴性结果可能会导致医生对疾病存在或进展的延迟识别，且错误的流行病学信息会延迟控制和预防额外的感染。假阴性结果还可能会对由炭疽芽孢杆菌或其他芽孢杆菌引起的感染的诊断和治疗延迟。

暴露于检测样本中和对照品中可能存在的生物体的实验室工作人员，具有感染的风险。因此，食品药品监督管理局在所提议的规章中包括作为特殊控制，芽孢杆菌检测器械限于在有经验的人员的实验室使用，这些人员接受过微生物培养鉴定方法的使用和传染病诊断原则的培训，并有适当的生物安全性设备和生物防范。

在下表中，食品药品监督管理局确定了与使用芽孢杆菌检测的体外诊断器械相关的需要特殊控制的常见问题。本指南中提供了缓解这些已确定问题的建议措施，如下表所示，以及拟建议的21 CFR 866.3045(b)(2)中的一项要求。我们建议贵公司在提交上市前通告之前，还要进行风险分析，以识别该器械所特有的任何其他风险。上市前通告应描述风险分析方法。如果选择使用替代方法来解决本指南中识别的特定风险，或已识别出本文件所述以外的风险，则应提供足够的详细信息以支持用于解决该风险的方法。

|  |  |
| --- | --- |
| 确定的问题 | 建议的/要求的缓解措施 |
| 假阴性检测结果可能导致治疗延迟和疾病扩展，以及流行病学无法迅速地识别社区中的疾病 | 第 5- 8节 |
| 假阳性检测结果可能导致不必要的治疗和错误的流行病学信息，导致不必要的预防和对其他人的管理 | 第 5- 8节 |
| 处理试样和对照品的实验室工作人员的生物安全性和风险 | 第 8节；21 CFR 866.3045(b)(2) |

1. 器械描述

510（k）提交的关键要素是预期用途，检测样本的类型和器械的技术特征。此外，还应该确定法规、产品代码和已合法上市的比较器械，申请器械将与之进行比较。为了帮助食品药品监督管理局有效地审查所提交的材料，我们建议加入一个表格以概括比较器械和申请器械之间的异同点。鼓励参考合适的同行评议的文章，以支持申请器械将用于其预期的诊断用途，并将特异性检测原理融入器械设计， 应详细描述每个器械元素。

此外，贵公司应包括以下描述性的信息，以充分说明申请的芽孢杆菌检测器械的特征：

预期用途

在510（k）中，必须包括描述产品预期用途的标签（见21 CFR 807.87（e））。510（k）中应详细说明该项检测测定的是什么，例如，炭疽芽孢杆菌细胞表面蛋白或来自特异性炭疽芽孢杆菌质粒的靶DNA序列（参见21CFR807.87（e）和21CFR808.92（a））。贵公司应当清楚地说明该测定所应用的临床适应症和预期针对的特定人群。应包括临床性能已被证实的患者的临床和人口统计学描述（例如性别，年龄，症状）。预期用途应说明该检测是定性的还是定量的（参见21 CFR 807（e）和21 CFR 807.92（a））。贵公司应确保所有预期用途的元素均已清楚说明，包括具体的使用条件，如待测样本的类型，比如，从疑似炭疽携带者收集的全血(含枸橼酸钠)，阳性血的培养物，或在血琼脂上培养的生物体。

还必须在所申请的预期用途项下，醒目地提供以下声明：“在有经验的人员的实验室使用，这些人员接受过微生物培养鉴定方法的使用和传染病诊断原则的培训，并有适当的生物安全性设备和生物防范。”21 CFR 866.3045（b）（2）

试剂和其他器械组件

必须在510（k）中描述试剂和其他器械组件（参见21 CFR 807.87（e）和809.10），建议遵守其他食品药品监督管理局指南中提供的一般性指导。

使用器械的检测程序

在510（k）中，应详细描述适用于申请器械预期用途的操作原理。我们建议贵公司具体描述检测条件、程序和控制设计，为可能导致假阳性和假阴性结果或存在生物安全危害的情况下提供保护。这些包括但不限于，纳入使用说明书的程序、方法和实践（参见第8节 - 标签），以减轻与检测相关的风险[参考文件 1]。

样本的储存和运输条件

如果建议了样本的储存条件，贵公司应证明在建议的储存条件下的多个时间点、以及所推荐的温度范围的上限与下限处，样本在整个储存期间使用该器械应产生相同的结果。如果在储存或运输时推荐使用转运培养基，应进行适当的研究，以证明当样本保存在转运培养基中时，器械将如所述的完成检测。

解释检测结果/报告

在510（k）中，我们建议贵公司描述如何对推定的阳性、不明确和阴性结果进行确定，以及如何解释（如适用）。贵公司应为如何确定解释算法提供清晰的说明。

1. 性能研究

建议评估以下性能特性，以形成性能的文档，并对器械进行正确的标识，以符合21 CFR 809.10(b)(12)。应在510（k）中描述这些研究，并对结果进行清晰地总结，最好是以适当的表格形式，可以引用发表在文献中的相关结果。用于分子诊断检测方法的器械和用于免疫检测方法的器械，其具体的附加指南，见于CLSI I / LA 18-A2 第11节[参考文件 2]。

为审查研究的数据，我们建议提供用以生成数据的研究方案的具体细节。这些细节也有助于用户解读标签中的性能数据。当涉及临床实验室标准协会（CLSI）的方案或指南时，应指出所遵循的方案或指南的具体方面。

1. 分析/实验室性能研究

分析研究的适宜类型将取决于应用技术、操作原理和可用的科学证据。以下是一些相关的例子，但并不能作为包括一切的清单。根据器械类型，分析数据的其他类型可能是合适的。

（1）检测/试剂特异性的确定

对于用于鉴定来自培养物的炭疽芽孢杆菌的器械，我们建议贵公司使用至少25种不同的炭疽芽孢杆菌菌株（代表地理和时间上的多样性，包括已知的基因型和表型变异）来表示噬菌体和免疫荧光抗体试剂、10株苏云金芽孢杆菌、10株蜡样芽孢杆菌，和其它有代表性的芽孢杆菌、以及非芽孢杆菌属的革兰氏阳性杆菌的检测性能特点。如果申请的器械适用于直接样品检测法，还应包括可能会在采样点发现的生物体（如，正常菌群和其他潜在病原体）。用于表征检测/试剂特异性的菌​​株可以选自有良好表征的档案库或资源库。芽孢杆菌的种属鉴定，可能同时要求表型和基因型的方法（例如，生化的，抗原的，形态学，质粒表征，基因分型）。

我们建议贵公司使用来自自然感染的人的血清和使用炭疽疫苗免疫的人的血清，来评估用于抗炭疽芽孢杆菌抗体检测的抗原。来自至少200份的人血清样品，包括来自具有伴随性疾病和情况的个体的血清，也应进行特异性检测。

（2）精密度/重现性

我们建议贵公司描述日内、日间、实验室内和实验室间的重现性。重现性试样组应包括：临近检测界值的、低阳性浓度、中阳性浓度、高阴性浓度的样品。如果该器械的检测结果为直观性解释，还应对所有推荐用于该器械的仪器进行精密度研究。[参考文件 3]。

（3）干扰/抑制物质

我们建议贵公司提供信息和数据，以证明在特定样本类型中遇到的潜在干扰物质或抑制物质不会影响结果。表1中列出了可能存在于临床样本中的潜在的内源性和外源性干扰物质，如： 血液，痰液，培养物等。如果干扰物或抑制物在文献中已有报道或在研究中显而易见，应提供经过验证的程序或方法，以避免错误结果。

表1. 经评估的潜在干扰物质列表

|  |  |
| --- | --- |
| 内源性物质 | 外源性物质 |
| 血红蛋白 | 对乙酰氨基酚 | 枸橼酸葡萄糖 |
| 白蛋白 | 阿莫西林 |
| 胆红素 | 抗坏血酸 | 枸橼酸 (钠) |
| 甘油三酯 | 阿司匹林 | EDTA |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 胆固醇(总) | 头孢噻肟 | 肝素 |
| 免疫球蛋白 | 氯喹 | 聚茴香脑磺酸钠(SPS) |
| 葡萄糖 | 环丙沙星 | 舒喘宁(沙丁胺醇) |
|  | 强力霉素 | 色甘酸钠氟尼缩松(Flovent®) |
|  | 红霉素 | N-乙酰半胱氨酸 |
|  | 硫酸庆大霉素 | 血液培养基 |
|  | 布洛芬 | 羊血琼脂培养基 |
|  | 萘普生钠 |  |
|  | 利福平 |  |
|  | 链霉素 |  |
|  | 磺胺甲恶唑 |  |
|  | 四环素 |  |
|  | 妥布霉素 |  |
|  | 甲氧苄氨嘧啶 |  |
| 溶剂\* | 技术特异性物质 |
| 丙酮 | 漂白剂 | IT 1-2-3™ kit | QIAGEN Buffer AL |
| DMSO | DNA*Zap* | 缓冲液1 | QIAGEN Buffer |
| 乙醇 | Snap n’ Digest | IT 1-2-3™ kit | AW1 |
| NH4OH |  | 缓冲液1A | QIAGEN Buffer |
|  |  | IT 1-2-3™ kit | AW1 (w/o EtOH) |
|  |  | 缓冲液1B | QIAGEN Buffer |
|  |  | IT 1-2-3™ kit | AW |
|  |  | 缓冲液1C | QIAGEN Buffer |
|  |  | IT 1-2-3™ kit | AW2 (w/o EtOH) |
|  |  | 缓冲液2 |  |

\*这些溶剂用于溶解潜在的干扰物质，为检测做准备。

贵公司的研究应包括培养物年龄和生长培养基对来自培养物（固体或液体）的特异性抗体和核酸试剂检测的影响， 结果应包括在包装说明书的**性能特征**项下，也可以作为限制性声明告知用户，培养物超过特定的天数就可能会导致假阴性结果。

（4）培养物接种密度对使用噬菌体试剂的结果的影响（使用平皿法的噬菌体测定）

我们建议贵公司进行研究以证明在使用噬菌体的特异性测定时，是否存在由于培养物接种量过多而造成假阴性检测结果的风险。一种技术可通过划线培养以分离出不明确的培养物，再将噬菌体加入到平皿上不同接种量的区域。还应评估噬菌体的滴度和噬菌体试剂的稳定性。

B．临床信息

本指南针对从疑似感染的个体中收集的临床样本，用于检测繁殖体和孢子。然而，临床样本中不可能只有孢子存在（可能除了皮肤损伤之外）。

对于该器械所适用的检测，贵公司应该提供信息以证明该器械用于检测每种类型的临床样本中的芽孢杆菌的可靠性。一般来说，当可用于临床检测的人类临床样本数量非常少或不存在时，食品药品监督管理局上市前审查的可用证据可能需要从分析研究而非临床研究中获得；加样法(加入人类样品和/或动物样品)可能是适当的。在这种情况下，设计良好的分析研究尤为关键。动物研究可在适当时作为补充分析研究的选项。性能评估应该是对于已知存在或不存在表征的芽孢杆菌属，或是对于培养物生长的明确鉴定。可能需要多个检测和方法去适当地鉴定/表征通过培养方法从人类样本中回收的芽孢杆菌或直接在人类样本中检测到的芽孢杆菌。

我们建议贵公司还应提供来自预期使用人群（例如，发热性疾病或皮肤损伤的患者）的检测样本的数据。因为在前瞻性评估中并未对炭疽进行预期，所以这些数据不应作为特异性结果，而是与预期的阴性结果一致。

对于用于鉴定培养菌的分离或生长的器械，只要研究中采用的培养菌储液可以合理地代表新鲜菌液和检测条件(如，在5%绵羊血琼脂玻片上生长12-18小时），临床评价就不适用。

8. 标签

用于芽孢杆菌检测的IVD器械与其它器械一样，受制于标签的法定要求（FD&C法案第502（a），201（n）; 21 USC§§352（a），321（n）节）。这些器械的标签必须提供充分的使用说明和充分的警告和注意事项。（第502节（f）; 21 USC§352（f））。在21 CFR 809.10中提出了对于 所有IVD器械的特定标签要求。

上市前通告必须包括足够详细的标签，以满足21 CFR 807.87（e）的要求。体外诊断器械的最终标签在进入州际贸易之前必须符合21 CFR 809.10的要求；然而，通过510（k）时不要求有最终标签。

确保符合FD&C法案第502节和21 C.F.R. 809.10，食品药品监督管理局建议在芽孢杆菌检测的IVD器械标签中说明以下规定的项目。这些标签建议还有助于降低本指南此前确定的风险，从而有助于确保安全有效地使用这些器械。

A. 预期用途

明确的使用说明是至关重要的。我们建议贵公司应在预期用途的陈述中纳入预期的样本类型，进行的是定性、半定量还是定量检测，检测方法以及指定的患者群体和其他使用条件。

* 贵公司还应在预期用途项下提供如下声明：

“在有经验的人员的实验室使用，这些人员需接受过微生物培养鉴定方法的使用和传染病诊断原则的培训，并有适当的生物安全性设备和生物防范。”

B. 使用说明

我们建议贵公司在使用说明中提出以下内容：

* 强调试剂的适当储存条件，并指出对温度、湿度和/或光敏感的试剂。
* 当检测需要芽孢杆菌的培养物时，指定要检测的生长培养基的适当类型、孵育条件和孵育时长（包括最短和最长孵育时间）。
* 对于在产品中提供的对照试剂，以及在产品中未提供但检测时需要的或推荐使用的对照品，应提供说明。受控的检测过程的每个方面均需说明，提供对照试剂检测的可接受值，并给出选择该值的理由。
* 对于样本的处理和检测程序，应提供生物安全性预防措施的指导，详细说明在哪些步骤供试品是没有传染性的。
* 对于在检测过程中依赖于抗原/抗体反应的产品，应包括降低假阴性检测结果风险的建议，该结果由前带或钩状效应所致。

C. 注意事项

我们建议贵公司在包装说明书的注意事项部分包括以下类型的声明：“对检测结果的解释需要使用有经验的临床人员，这些人员需接受过微生物培养鉴定方法的使用和传染病诊断原则的培训，对炭疽芽孢杆菌的鉴定有必要的报告意识，可与地方或州公共卫生主任进行配合。”

D.检测结果的解释和报告

我们建议贵公司应包括以下内容：

* 我们建议贵公司对每个可能的检测结果进行定义：例如，阳性、不明确或不确定、阴性，贵公司还应描述操作者应该如何解释这些检测结果，并给出对照品的可接受/拒绝标准。如果对照品的结果不可接受，还应提供如何继续进行的建议。
* 我们建议贵公司提供清晰准确的标准，以评估检测结果为阳性、阴性、或不明确/不确定。我们推荐使用图图片和/或图表来说明如何解释定性检测的结果。此外，我们建议贵公司应根据从文献或其他来源获得的可靠资料，提供炭疽芽孢杆菌鉴定的可能性（对于培养物鉴定试剂）、感染的可能性（对于检测特异性抗炭疽芽孢杆菌抗体的试剂）或炭疽芽孢杆菌存在的可能性（对于直接在患者的样本中检测炭疽芽孢杆菌的试剂）。
* 对于依赖抗原/抗体相互作用来检测细菌细胞组分或细菌产物的试验，应包括对于减少因初始接种密度欠佳所致的假阴性检测结果风险的建议。
* 检测完整细菌或细菌产物的试验，对于样品中含有孢子或仅含有繁殖体，可能产生不同的结果。标签中应描述结果，并根据需要使用图片和图表，来表明样品中含有孢子时的预期结果。
* 对于检测炭疽芽孢杆菌抗体反应的试验，贵公司应包括一个关于阳性试验的解释以及它如何不能最终确定近期的感染的警告性声明，因为使用炭疽疫苗进行免疫的人，在未经任何自然暴露于炭疽芽孢杆菌的情况下，使用该项检测可能结果为阳性。标签中还应该说明，在炭疽芽孢杆菌自然感染的早期进行的抗生素治疗，可以降低抗体应答，因而可能在该项检测中会出现阴性结果。

标签中应包括一项声明，说明炭疽芽孢杆菌是国家法定的传染病，必须根据州和当地法律向公共卫生当局报告。用户应确认其所在地区的报告要求，如果怀疑有炭疽芽孢杆菌或炭疽病，应通知其所在的州或地方公共卫生实验室、疾病控制和预防中心以及根据认证指南认定的任何其他机构。

E.性能特征

我们建议贵公司在包装说明书中列入第6节中所描述的研究设计和研究结果的总结，以帮助用户解释检测结果。这包括了临床和分析性能的特征。如果未使用来自具有炭疽症状和体征的个体的标本来对测定进行评估，则应当指导用户在可以使用这些前瞻性收集的临床标本时，确定该检测的临床灵敏度。贵公司应列出阴性协定/临床特异性的数据，并向用户明确指出。

9.使用核酸扩增的芽孢杆菌器械的具体考虑

使用核酸扩增的芽孢杆菌检测器械，通过检测芽孢杆菌属特有的、可区分于其他病原微生物的核酸序列或区域，直接在人类样本和/或源自临床标本的血液或菌落培养物中，确定病原性芽孢杆菌的存在。这些器械包括用于扩增的引物、探针、酶和特异性对照品，且设计为用于特定的仪器系统。通过核酸扩增检测系统来检测芽孢杆菌，有助于在受到感染的患者中，结合其它实验室结果和临床表现，对炭疽芽孢杆菌做出明确鉴定。以下是适用于芽孢杆菌检测的此类IVD的具体考虑。

A. 试剂和其他器械组件

对于基于核酸扩增的器械，用于推定检测人类样本、或源自临床标本的血液或菌落培养物或液体培养物中的炭疽芽孢杆菌DNA，我们建议贵公司描述该器械为解决或降低出现假阴性或假阳性结果的风险所做的设计要求，这些结果与核酸检测过程中使用的引物、探针、仪器和对照品（用以检测来自炭疽芽孢杆菌的靶DNA片段）有关，举例如下：

* 设计成冻干套装的试剂或任何其他封闭式试管检测系统（如，自带试剂盒），以尽量减少由于污染或残留物造成的假阳性结果。
* 设计一个或多个测定，以炭疽芽孢杆菌所特有的不同DNA序列为靶标。
* 开发阳性、阴性和抑制性对照品，以确保准确的检测结果。
* 开发提取和纯化方法，用以从人体样本、血液、菌落培养物、或源自临床标本的液体培养物中得到适当质量和数量的DNA，与试剂一起用于检测系统。
* 优化试剂和所推荐仪器的检测程序。
* 任何非标准器械或方法的插图或图片（如适用）。

在510（k）中，贵公司应提供性能信息，以支持满足设计要求的结论。我们建议贵公司提供选择特定DNA靶序列和选择引物及探针的理由（见**第6节 - 性能研究**）

推荐用于每种样品类型的具体提取方法应在器械的包装说明书中按名称和目录号列出（见**第7节 - 标签**）。

B.检测程序

我们建议贵公司在510（k）申请中应包含以下信息：

* 检测程序的整体设计，包括纳入推荐检测程序的控制元素。这些对照品应该接近临床相关的芽孢杆菌DNA水平的较低范围，并且应和临床样品同法提取。
* 对于额外的阳性和阴性的外部对照品和内部对照品(监控污染和提取效率)的开发、描述或建议（例如，一种内部对照品，是作为核酸提取和抑制的对照品）。产品特征和附加的控制，减少了未能识别的程序错误或因素（例如，主混合物的降解），其会对扩增和检测条件产生不利影响。

C. 对照品

在进行下述性能研究时，我们建议贵公司在分析和临床研究期间，每天检测时应使用适当的外部对照品。贵公司可以联系食品药品监督管理局的微生物学器械部OIVD部门了解有关对照品的更多信息。对于基于核酸技术的器械，我们通常建议贵公司应包括以下类型的对照品：

1）阴性对照

空白或无模板对照

空白或无模板对照包括：缓冲液或样品转运培养基和除核酸以外的所有测定组分。该对照品用于排除靶核酸的污染或扩增反应中增强的背景，在一次性试剂盒或试管中进行的单次测定可能不需要使用。

阴性样品对照

阴性样品对照包含非靶标核酸，或者，如果用于评价提取程序，则包含全部微生物（除了炭疽芽孢杆菌外）， 其表现为非特异性引发或检测，并表明在不存在靶序列的情况下不会获得信号。可接受的阴性样品对照品实例包括：

* 来自非炭疽芽孢杆菌感染个体的患者样本
* 含有非靶标生物体的样品

（2）阳性对照

完全测定的阳性对照

阳性对照包含靶核酸，并用于控制整个检测过程，包括DNA提取、扩增和检测；其模仿患者样本设计，根据实验室质量体系（QS）确定的频率，在测定患者样本时，同时进行阳性对照的单独测定。可接受的阳性测定对照品实例包括：

* 来自炭疽芽孢杆菌感染个体或具有活炭疽芽孢杆菌的加标基质的患者样本
* *炭疽芽*孢杆菌培养物分离株

扩增/检测的阳性对照

用于扩增/检测的阳性对照包含纯化的靶核酸(等于或接近定性测定的检测限)。在得到阴性结果时，可控制样品和反应组分的完整性。样品中如果存在靶核酸，即可被测得。

（3）内部对照品

内部对照品是与靶核酸共提取和共扩增的非靶核酸序列， 它控制试剂（聚合酶，引物等）的完整性，设备功能（热循环仪）和样品中扩增抑制剂的存在。可接受的内部对照品实例包括：与炭疽芽孢杆菌DNA共提取的人类核酸和扩增的人类持家基因（例如，RNaseP，P-肌动蛋白）的引物。这种控制的必要性取决于对器械个例的具体分析[参考文件 4]。

D. 性能研究

对于旨在确定基于核酸扩增的器械的性能特征的研究，建议在510（k）申请中包含以下信息。此节对本文件之前所述的性能研究建议进行了补充。

1. 核酸提取

不同的提取方法可能产生不同数量和质量的炭疽芽孢杆菌DNA，因此提取方法对于成功的结果是至关重要的。从临床标本、或液体血液培养物、或菌落培养物样本中，进行炭疽芽孢杆菌DNA的纯化是具有挑战性的，因为生物样本可能在类人基因组DNA的背景中含有低的细菌负荷、高水平的蛋白和其他污染物。

由于这些原因，我们建议贵公司评估所选择的提取方法对检测性能的影响，方法是针对预期使用该测定法的令人满意的炭疽芽孢杆菌DNA数量和质量。此外，贵公司应使用所推荐的整个分析过程（包括提取程序）用于检测，来评估检测的分析性能和临床性能特征。其中应包括每个提取程序的检测限（LoD）和重现性。在“检测限”（见下文第V节 - 分析灵敏度）中提供了进行LoD研究的建议。另外，外部场所研究（包括重现性和临床研究）应包括标签中规定的提取程序。

无论是确实在检测试剂盒中提供了用于提取和制备核酸的试剂，还是对用户就适当的试剂进行简单的指导，我们都建议贵公司进行这些评估。

如果贵公司推荐或纳入了多种提取方法，应该证明每种方法的LoD和重现性。假设提取方法对整体的检测性能引入了最小的变异性，可以将提取方法的变量与每个地点的性能变量相结合。例如，如果贵公司推荐了三种不同的提取方法，可以设计一个重现性研究，在每个检测地点对三种提取方法之一进行评估：在地点1检测时使用提取方法A，在地点2使用方法B，在地点3使用方法C。如果上述检测组产生的结果没有显著性差异，则不需要进一步的重现性研究。然而，如果来自三个地点的初始提取等效性研究表明，在检测性能方面具有统计学的显著性差异，则应该扩大重现性研究，包括在三个研究地点对每种提取方法进行检测（例如，地点1使用提取方法A，B和C，地点2使用提取方法A，B和C，以及地点3使用提取方法A，B和C）。

除了分析研究（LoD和重现性）之外，在临床试验期间，应在至少一个临床地点使用每种提取方法来得到临床性能的数据。如果扩大的重现性检测结果表明，提取方法之间的效能有显著差异，那么，来自每个临床检测地点（使用不同的核酸提取方法）的数据不被认为是等同的，并且不能合并，而应单独分析。因此，可可以包括额外的预期临床样品以支持所要求的提取方法。

**（2）检测界值**

我们建议贵公司应解释如何确定临界值（另见下文第IV节“解释检测结果/报告”）以及如何验证。临界值应使用适当的统计方法确定。在预试验中的临床样品不含炭疽芽孢杆菌DNA，为了支持所确定的临界值，需提供：结果分布、 95%和99%的置信限、非阴性（阳性或不明确）结果的百分比，等等。基于对预试验中临床样品的受试者工作特征曲线（ROC）分析，通过相关的灵敏度水平和特异性，可以证明选择了适当的临界值（关于ROC分析，请详见CLSI文件GP10-A [参考文件 5]）。如果测定存在不明确区域，则应说明如何确定不明确区域的范围。使用预定界值（和不明确区域，如适用）的器械，其性能应在与该器械所确定的预期用途一致的独立群体中进行验证。

（3）检测结果解释/报告

我们建议贵公司描述如何对推定的阳性、阴性、不明确或无效结果进行确定，以及如何解释（如适用），建议对如何确定解释性算法进行清楚的解释。

* 我们建议贵方提供阴性检测结果的临界值。如果测定仅有两个检出结果（阴性/阳性），则该临界值也用于定义阳性结果。
* 如果检测存在不明确区域，建议提供不明确区域的临界值（限值）。
* 如果对初始的不明确结果的解释需要重新检测，建议提供（1）是否应重复对同一核酸制备物、新的提取物或新的患者样本进行复测，以及（ 2）结合初始的不明确结果和复测后的结果来确定最终结果的算法（注意，此算法的开发应在评估该检测的临床性能的关键临床研究之前进行）。
* 如果报告的测定结果之一是一个不明确结果，应为用户提供对该不明确结果的后续操作的解释和建议。
* 如果测定结果无效，应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，应提供每种可能的对照品结果的组合的解释，以定义无效结果。应提供对无效结果的后续操作的建议，即，结果是否应报告为无效或是否建议复测。如果推荐复测，应提供与不明确结果复测类似的信息（即，是否应重复对同一核酸制备物、新的提取物或新的患者样本进行复测）。

（4）分析灵敏度（检测限）

我们建议贵公司使用CLSI EP17-A[参考文件 6]中描述的方法来确定在临床前阶段该测定的检测限（LoD）。贵公司应确定使用该器械在适宜的样本类型中炭疽芽孢杆菌可检出的最低水平。研究应包括测定活的（活）炭疽芽孢杆菌的系列稀释液，重复3-5份。每次稀释应使用炭疽芽孢杆菌阴性的人类样本混合物，例如血液或痰液或等效基质。我们建议将检出率在95%的炭疽芽孢杆菌水平报告为LoD。基于滴度结果，可以通过在LoD浓度下制备至少50份额外的重复样品，证明炭疽芽孢杆菌的检出率为95％，来进一步确认LoD。LoD应与炭疽芽孢杆菌的CFU / ml和炭疽芽孢杆菌中存在的DNA复制数相关。炭疽芽孢杆菌DNA样本的最低水平应接近LoD浓度，并与CFU / mL和DNA复制数相关。

（5）残留物和交叉污染研究（用于多样本测定和需要仪器测定的器械）

贵公司应证明该器械不存在残留物和交叉污染。在残留物和交叉污染研究中，我们建议按照该器械的操作功能将高度阳性样品与高度阴性样品交替使用，且高度阳性样品与高度阴性样品交替使用的次数不应低于5次。研究使用的高度阳性样品应来自于预期使用人群的患者样本，有足够高的检出率(超过95%或更高)；高度阴性样品的检测浓度应低于临界值，且复测的阴性率约95%。然后，可以通过在残留研究中的高阴性样品的阴性结果检出率与95％进行对比，以评估残留物和交叉污染的影响。

（6）干扰/抑制物质

我们建议贵公司应检测血液、人类样本、或来自于临床标本的菌落培养物或液体培养物中可能产生的内源性干扰物质的影响，以及可能在样品纯化或反应过程中引入的外源性干扰物质的影响，这些干扰物质可能会干扰检测性能。对该器械的内源性和外源性干扰物质的评估数据表应包括在提交资料中。每种物质的检测浓度应根据CLSI EP7- A2[参考文件7] 以相关浓度表示。

（7）精密度/重现性/重复性

我们建议贵公司对器械进行实验室内的精密度研究，包括仪器或自动化部件。应说明日内、日间、实验室内和实验室间的精密度。作为通用性指南，我们建议使用以下方案进行核酸扩增检测：

* 应在三个地点（两个外部，一个内部场所）进行重复性研究。
* 应采用五天的检测方案，包括每天至少进行两次(除非该检测的设计不允许每天多次进行)，每次检测由每个小组成员重复三次。
* 每天至少应由两名操作员在每台设备上进行检测。

我们建议贵公司应使用低(近LOD)、中、高浓度的炭疽芽孢杆菌对每种基质（如，血液、或人类样本、或来自临床标本的菌落培养物或液体培养物）加标，以制备重现性样品。每种基质应设阴性样品组(未经加标)。

每组应由6-9个样品组成，包括如下所述的三个浓度的分析物：

* “高度阴性”样品，其分析物浓度低于临床界值，因此该样品的复检阴性率约为95%。
* “低度阳性”样品，其分析物浓度刚好高于临床界值，因此该样品的复检阳性率约为95%。
* “中度阳性”样品，其浓度可以预期的阳性结果率约100%。

贵公司可参考CLSI文件EP15-A2 [参考文件 8]，EP5-A2 [ 3]，EP12-A2 [ 9]的重现性研究设计指南。

10.参考文件

1. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline—Third Edition. CLSI document H18-A3 (ISBN 1-56238-555-0). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087­1898 USA, 2004.
2. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Specifications for Immunological Testing for Infectious Diseases; Approved Guideline - Second Edition. CLSI document I/LA18-A2 (ISBN 1-56238-445-7) CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2001.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Evaluation of Precision Performance of Quantitative Methods; Approved Guideline-Second Edition. CLSI document EP5-A2 (ISBN 1­56238-000-0). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2004.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Molecular Diagnostic Methods for Infectious Disease; Approved Guideline. CLSI document MM3-A2 [ISBN 1-56238-596-8] Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2006.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Assessment of the Clinical Accuracy of Laboratory Tests Using Receiver Operating Characteristics (ROC) Plots; CLSI document GP10- A Approved Guideline: Clinical and Laboratory Standards Institute; Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 1995).
6. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Protocols for Determination of Limits of Detection and limits of Quantitation; Approved guideline - CLSI document EP17-A (ISBN 1­56238-551-8) CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2004.
7. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Interference Testing In Clinical Chemistry Approved Guidelines - Second Edition. CLSI document EP7-A2 (ISBN 1-56238-000-0) CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005.
8. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). User Verification Of Performance For Precision And Trueness Approved Guidelines - Second Edition. CLSI document EP15-A2 (ISBN 1-56238-000-0) CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087­1898 USA, 2005.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline. CLSI document EP12-A (ISBN 1-56238­468-6). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2002.