**使用间接免疫荧光测定（IFA）、间接血凝测定（IHA），放射免疫测定（RIA）和酶联免疫吸附测定（ELISA）评估甲状腺自身抗体的体外诊断器械的审查标准**

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。

使用间接免疫荧光测定（IFA）、间接血凝测定（IHA），放射免疫测定（RIA）和酶联免疫吸附测定（ELISA）评估甲状腺自身抗体的体外诊断器械的审查标准。

这是一个灵活的文件，表明当前有关使用IFA、IHA、RIA和ELISA方法的甲状腺自身抗体体外诊断器械的关注问题和建议。其基于（1）最新的基础科学，（2）临床经验，（3）1990年安全医疗器械法（SMDA）和（4）联邦法规（CFR）中的FDA法规。随着科学和医学的进步，这些审查标准将根据需要重新评估和修订。

本指南草案的目的

本文件旨在针对用于检测、定量和/或半定量临床样本中的甲状腺自身抗体的器械在许可上市之前须送交食品药品监督管理局（FDA）的信息提供指南和说明。

上市前通告510（k）提交资料应提供证据证明器械具有精确性、安全性、有效性并且与在美国合法销售的比较器械实质等同。

定义

这种通用器械类型旨在用于临床实验室或医生的办公室实验室\*，其作为通过IFA、IHA、RIA或ELISA对甲状腺自身抗体进行定性、定量和/或半定量测量的体外诊断测试。

\* 已提交附加数据以证明器械在这些环境中的性能时，器械可经过许可用于医生的办公室实验室。

产品代码： JNL， DDC， DDJ， JZO

法规编号：

21 CFR 866.5870 甲状腺自身抗体免疫测试系统。

识别。 甲状腺自身抗体测试系统是由用于通过免疫化学技术测量甲状腺自身抗体（针对身体自身组织产生的抗体）的试剂组成的器械。甲状腺自身抗体的测量可有助于诊断某些甲状腺疾病，例如桥本氏病（慢性淋巴细胞性甲状腺炎）、无毒性甲状腺肿（甲状腺肿大）和格雷夫斯氏病（伴有眼球突出的甲状腺肿大）。

分类： II类 （性能标准）

面板： 免疫学 （82）

所需审查： 上市前通告 （510（k））

I. 临床适应症/显著性/预期用途

A. 前言

甲状腺的主要作用是储存和合成甲状腺激素。正常甲状腺由许多卵泡组成，每个卵泡由围绕包含胶体的中心腔的单层上皮细胞组成。甲状腺球蛋白是甲状腺卵泡胶体的主要成分。其由甲状腺上皮细胞产生，是一种水溶性糖蛋白，分子量为670，000道尔顿。血清中含有少量甲状腺球蛋白。微粒体抗原是存在于细胞质中和甲状腺细胞顶端膜上的糖蛋白，其分子量为110，000道尔顿。报告表明，甲状腺过氧化物酶（TPO）是甲状腺微粒体抗原的主要成分，也是由针对微粒体糖蛋白的自身抗体识别的抗原成分。1

自身免疫性甲状腺疾病具有器官特异性，并且可由循环抗体是否存在来定义。最常见的抗体是甲状腺上皮细胞内衬的甲状腺球蛋白和微粒体或甲状腺过氧化物酶（TPO）的抗体。

在桥本氏病及其变体—格雷夫斯氏病、粘液水肿、无毒性甲状腺肿和甲状腺癌中可检测到这些甲状腺抗原的自身抗体。抗甲状腺球蛋白和抗微粒体（TPO）抗体最为常见，并且在桥本氏病中具有最高滴度。格雷夫斯氏病患者也可以表现出相对高滴度的甲状腺抗体。在其他甲状腺疾病和没有临床疾病证据的个体中也观察到这些自身抗体，但其滴度较低。2

较不常见的两种其它甲状腺抗体是胶体或CA-2和人甲状腺刺激性免疫球蛋白（TSI）的第二抗原的抗体。CA-2是不同于甲状腺球蛋白的微量胶体蛋白，并且其抗体的显著性不定。在低百分比的甲状腺炎患者中（其中，没有其他抗甲状腺抗体存在）以及在5％至10％的格雷夫斯氏病和甲状腺癌患者中可观察到阳性CA-2反应。2 CA-2抗体可以通过IFA检测。TSI，以前称为长效甲状腺刺激素（LATS），是一种多克隆γ球蛋白，其似乎与甲状腺细胞上的某一受体结合并可刺激甲状腺活动。其存在于约50％的格雷夫斯氏病患者的血清中，但不存在或仅存在于少数患有结节性中毒性甲状腺疾病或其它甲状腺疾病的患者中。TSI可以通过使用125 I标记的TSH和促甲状腺素（TSH）受体的竞争性抑制测定来进行测量。

桥本氏甲状腺炎是一种发生在约1％至2％人群中的炎性病症（主要患者为中年女性），并且其特征是由于明显的淋巴细胞炎性变化导致的腺体增大。后者可以由具有活性生发中心的淋巴卵泡组成，其中大部分抗甲状腺球蛋白抗体似乎属于合成类。正常的甲状腺腺体结构被不利改变，并且在一些较为明显的病例中，进行性疾病可导致甲状腺萎缩和粘液水肿（干燥、蜡状肿胀，且在皮肤和与甲状腺功能减退相关的其它组织中出现的粘蛋白异常沉积）。在甲状腺毒症中，甲状腺可能含有小面积的淋巴浸润以及典型的腺体多动症的迹象。格雷夫斯氏病是一种多系统性疾病，其在年轻至中年女性中特别常见，并由不同程度的（1）甲状腺功能亢进与弥漫性甲状腺增生（扩散性中毒性甲状腺最常见的模式）； （2）肌病；和（3）浸润性眼病，常常导致眼球突出（眼球突出）组成。2

对于与自身抗体生产相关的所有器官疾病，重要的是确定所讨论的抗体何时呈致病性或与由于因非免疫原因引起的组织损伤而被释放的抗原反应。免疫反应性可能不是主要致病事件，但一旦存在，可能会使组织进一步损伤。有关桥本甲状腺炎和格雷夫斯氏病中甲状腺自身抗体的主要致病作用的证据是（1）在个体病例中自身抗体水平与疾病严重性之间缺乏相关性，以及（2）缺乏在因胎盘转移而具有高水平抗甲状腺抗体的婴儿中甲状腺疾病的进展。

B. 说明：

提供简明讨论，酌情包括以下内容。使用关键文献引用支持讨论。

1. 临床适应症、显著性和预期用途。

2.涉及的甲状腺疾病的背景说明，包括受影响人群类型（性别，年龄等）

3. 阳性结果的显著性（疾病适应症和随访试验）。

4. 假阳性和假阴性结果的显著性。

5. 医学界的特别关注，包括可能影响审查过程或可能影响公共政策制定的相关医学问题。

6.用于检测抗体的所有测试方法的简要历史总结。

7.与其他可用方法相比，器械方法的优点/优势和限制/缺点。

8.基质。

II. 器械描述：

实质等同性的测定基于特定的预期用途（检测到何种分析物和适应症）和器械中使用的技术/方法。讨论器械方法的原理，以及其是否已经完整或为新方法且未经验证。

III. 临床与非临床研究： 具体性能特性：

FDA要求体外诊断器械的上市前通告申请中提供不同类型和数量的数据和统计分析。所需数据的数量和类型取决于新器械的预期用途、技术特性、测试是定性，定量还是半定量以及制造商提出的某些声明。可以通过与具有相同预期用途的任何合法销售的医疗器械（比较产品）进行比较来确定器械的性能。

证明对于使用该器械所需的所有有关实质等同性和特定性能特性的声明。明确记录用于体外测试的所有方案。展示测试数据结果、分析和结论。对结果进行总结，并包括有关非预期结果和执行的任何其他测试的解释。适当时，图表（散点图，直方图等）可以用作分析和结论的一部分。要求提交实际的且未经处理的实验室数据。

A. 分析性/实验室/体外研究

1. 确认临界点

说明确定测定界限的基本原理。提供描述性信息和实验室数据，以说明如何通过测定确定临界点（阳性和阴性或医疗诊断点之间的区别）。

a. 定义所用人群，包括以下信息：

i. 正常人群中的样本数（用于确定初始筛选稀释），并根据性别和年龄组归纳样本。4

ii. 每个疾病组（根据性别和年龄组归纳）中含有的样本数。

iii. 人群所来自的地理区域。

iv. 人群特征的图形（例如，散点图，直方图等）表示。

b. 定义用于测定临界点的统计方法。

c. 适当地给出临界点选择的受试者工作曲线（ROC）分析和其他图形表示。

d. 定义未定区域的原则（如果适用）。

2. 试剂特性

a. 给出在测定中使用的抗原和抗体的简介。

b. 如果使用任何重组技术用于制备抗原，则说明所使用的方法。

3. 测定特异性/干扰物质

在特定样本类型或条件下遇到的任何潜在的交叉反应或干扰物质应该使用测定系统进行测试，例如溶血、脂血、微生物污染、存在的其他分析物或其他自身抗体以及储存或冻融。

a. 验证建议储存条件与测定是否相符。说明基于样本储存稳定性研究的最佳条件。应评估假阳性和阴性（如适用）。

b. 如果要求使用血浆，则必须对每种抗凝剂进行研究，以表明每种抗凝血剂均不干扰测定。

i. 对于每种抗凝血剂，测试10个在临界点为阳性的匹配血清和血浆样本。

ii. 对于每种抗凝血剂，测试10匹配阴性血清和血浆样本。

如果预期抗凝血剂无干扰（如高稀释因子），请提供说明

4. 性能特性

请包括以下性能特性：

a. 分析敏感性（如适用）

分析敏感性或检测限的定义为从零区分的最低量（通常使用高于零控制平均值的95％置信区间或2个标准偏差（SD））。4，5在同一运行中运行零标准（零稀释剂）至少20-25次，并计算零标准的平均值和平均值的2 SD（计数，OD等）。如果分析物的水平在临床上不具显著性，则检测限的测定可能不相关。

b. 相对敏感性和特异性

应通过与合法销售的器械或参考方法进行比较来测定相对敏感性和特异性，并在包装说明书的性能特性部分中报告。

c. 线性范围

验证正常和异常样本测定的线性范围，其须覆盖整个可报告的测定范围。6

d. 重现性与可重复性研究 4，5，6，7，8

国家临床实验室标准化委员会（NCCLS）建议对方差实验进行分析，该实验测试分析物（在这种情况下为甲状腺自身抗体）的医疗诊断点（正常或升高）附近的两个临床显著水平。8在同一运行和每天两次不同运行中使用模拟患者样本或实际患者样本之间的对照3次，共20天。这允许单独估计日间、运行间和日内标准偏差（SD）以及运行内和总SD。

i. 定性/定量测试：

计算每组值之间的总，日间和日内以及运行内的平均值及不精确变异系数。

ii. 半定量测试：

在具有滴定形式的器械中，例如免疫荧光测定，证明运行内重现性在通常可接受的加或减一倍两倍稀释的限度内。

iii. 平均值， SD 以及变异系数：

在包装说明书的性能特性部分中根据样本重复次数报告适当的平均值、SD和/或变异系数与置信水平。报告每天的运行次数。

e. 前带或高剂量钩状效应研究

测试具有最高滴度、连续稀释和未稀释的样本。如果遇到前带问题，在包装说明书的性能特性部分中说明检测到前带问题的部位，以及用户用以纠正问题的程序。在适当的情况下，说明主观性测试中前带反应的形式。

f. 替代试验场地

请包括在这些环境中进行的重现性研究。新技术的现场测试应至少包括三个独立的替代试验场地。在这三个场地中的每一个场地，均应对器械的精密度和精确度进行评估。由现场人员和专业实验室人员测试的样本应具有统计上有效的数量，并对结果进行比较，表明器械在训练较少的用户操作时的性能。

5. 对比研究

将新器械与合法销售的器械进行比较。包括合法销售的器械的包装说明书。

建议采用公认的参考方法（如果有的话）进行比较，以使对拟定器械的性能特性进行公正的评估，特别是如果新器械与合法销售的器械之间在方法/技术方面存在较大差异。

a. 定性测试：

应在足够数量的阳性和阴性样本上进行研究，以使其在统计上具有显著性。（统计学家可以建议一个适当的数值。）

b. 定量/半定量测试：

仅有当浓度已知的公认标准物质可用于标准化测定中计算结果的校准物或标准物时，测定才被视为定量。

如果用以证实定量声明的新器械中使用的参比物与比较器械中使用的参比物相同，则应当提交对比数据，表明标准物质用作样本时两种测定之间的相关性。通过新器械和比较器械运行连续稀释的参比物。测定应显示类似结果。

对比使用不含干扰物质的阳性甲状腺自身抗体样本获得的结果，样本覆盖整个测定范围（抗体从低到高水平）的40-100个个人。7，9

进行线性回归分析并报告斜率、截距、相关系数、测定范围以及测试样本的性质和数量。

c. 对比差异：

新器械和比较方法之间的可疑结果或差异应使用另一种方法或临床诊断来解决。

6. 样本采集与处理条件

在包装说明书中说明样本采集、储存和处理条件，并在提交材料中提供数据或适当的参考资料以证明声明。

7. 计算机控制医疗器械

有关计算机辅助临床实验室器械的信息，请参见可从小型制造商服务组（DSMA），1-800-638-2041获得的“有关接受510（k）审查的计算机控制医疗器械的审查指南”。

B. 临床研究

在某些情况下，需要比较临床数据确定实质等同性，例如，在器械类别中引入新型或不常见的方法或技术特征，其中声称临床性能等同于使用“常规” 技术的合法销售器械的临床性能。

对于510（k）提交，请将器械与合法销售的器械进行对比。理想情况下，该研究应在独立的临床实验室场所进行。建议至少使另外两名独立研究者在单独的外部地点进行研究。研究者应根据机构名称和地址确定。

1. 适当的临床研究

a. 证明针对使用器械所有有关实质等同性和特定参数的声明。

b. 说明所有应用于临床研究的方案，并始终遵守这些方案。

c. 在开始研究之前确定样本量，其应在统计上足以确定器械是否安全和有效。

d. 抽样方法：

说明用于选择和排除患者的抽样方法。

i. 患者选择：

需从患有可能导致假阳性或假阴性结果的疾病或病症的个体选择样本。理想情况下，优选进行前瞻性研究。然而，如果选择进行回顾性研究，则需选择符合方案中规定的患者选择标准的所有合格患者。

ii.说明所有患者和样本。确保涵盖每个患者的每个样本的数据点。

2. 确立参考范围

a. 正常个人：

确立正常的参考范围，并按照年龄、性别、地理位置以及将影响所获得值的任何其他因素表征在统计上具有足够数量的样本，其中，样本取自正常人群。3，10

b. 患者组：

i. 确认新器械可检测因各种该器械所针对的疾病而产生的阳性率的百分比。使用在统计上具有足够数量的患者，其按年龄、性别、地理位置、任何疾病症状、临床表现以及将影响所获得值的任何其他因素。3，10

ii. 假性结果：

抗核抗体（ANA）阳性的患者可以在甲状腺自身抗体检测的IFA测定中产生假阳性结果。

出于诊断或治疗目的给患者施用放射性同位素可能干扰一些RIA测定。

如果有的话，酌情提供有关每种疾病的假阳性和假阴性结果报告。

c. 声明的样本类型：

除非其他数据可证明所有样本类型之间没有差异，否则应研究预期使用说明中声明的所有样本类型。

IV. 标签注意事项

以下是法律[502（f）（1）]和法规[21 CFR 809.10（b）]中某些要点的补充细节。

包装说明书

包括新甲状腺自身抗体器械的包装说明书。引用关键文献以支持整个文档中的声明。

A. 预期用途

基于器械中使用的技术/方法简要说明预期用途。包括以下信息：

1. 测定属于定性、定量还是半定量型。为声明提供定量结果，必须按其值已知并已确定的标准物质校准物或标准物。

2. 测试方法。

3. 样本类型。

4. 表明该器械是否用于临床实验室和/或替代性医疗场所。“局限性”部分应包括测试性能所需的任何特定培训。

典型的预期使用声明应为：

“ABC的\*\*\*测试系统是一种器械，其用于通过在人血清中进行间接免疫荧光来半定量测量抗甲状腺球蛋白抗体从而帮助诊断某些甲状腺疾病，例如桥本氏病、无毒性甲状腺肿和格雷夫斯氏病。”

B. 质量控制 （QC）

包装说明书应建议质量控制样本的水平及其数量、基质类型、位置和解释，以确保系统满足其性能要求。请声明，如果控制未按预期进行，则测定结果被视为无效，应该重复测定。

处理控制的方式应与处理患者样本方式相同。例如，如果患者样本被稀释或滴定，则控制物质也应当使用相同的稀释剂稀释或滴定。

C. 结果

适当说明预期值与解释。

1. IFA

a. 针对阳性和阴性结果说明荧光性。

b. 列出可发现的染色模式。可使用照片或图表帮助说明。

c. 给出与特定抗体相关的模式说明和解释。

d. 给出将阳性样本滴定到端点的说明。

2. IHA

a. 详细说明阳性和阴性结果的来源。

b. 定义和说明阳性结果的端点。

c. 说明前带反应的来源（抗体过量）并指导用户前带出现问题的做法。

d. 解释重复测定样本结果高于测定线性关系的程序。

3. RIA

a. 解释用于手动（如适用）计算每个样本百分比边界的程序，并包括样本计算。

b. 给出绘制百分比边界对标准物浓度的说明以显示典型结果的实例（数字和图形）。

c. 简要说明如何执行自动计算，例如，所使用的数据压缩程序的类型。

4. ELISA

a. 解释计算未知值的程序，包括样本计算。

b. 解释重样本测定复高于测定线性关系的程序。说明样本稀释，其中，包括稀释因子和使用的稀释剂类型。

D. 程序的局限性

声明程序的局限性，包括以下内容：

1.应声明测试结果本身并不用于诊断甲状腺疾病，且应结合碘吸收和其他标准甲状腺测试和患者的临床表现来加以考虑。

2. IFA

a. 解释不同类型的荧光显微镜之间的可能变化。

b. 给出有关区分甲状腺特异性细胞质荧光与从原发性胆汁性肝硬化中线粒体抗体获得的细胞质荧光的警告。如果疑似存在线粒体抗体，可以通过对抗核抗体进行更具体的测试来进行区分。

c. 可能存在多种抗体，且其可使染色解释复杂化。连续稀释患者样本通常有助于区分多种模式。

d. 前带反应可表现为可疑式阳性或阴性，因为存在与大量抗体的存在有关的少量抗原。如果疑似存在前带反应，则应连续稀释患者样本。

3. IHA

给出有关嗜异性抗体和可能的前带反应的警告

4. RIA

a. 给出有关因处于诊断或治疗目的给予患者施用放射性同位素而可能引起干扰的警告。

b. 提供适当处置放射性物质的说明。

E. 预期值

1. 正常人群中的预期值呈负性。然而，明显健康、无症状的个体（5-10％）可以测试甲状腺自身抗体阳性。这些抗体的发病率随着年龄的增加而增加，对女性来说，从70岁开始增加，而对男性来说，从80岁开始增加。

2. 甲状腺自身抗体可能存在于非甲状腺疾病中，例如恶性贫血、糖尿病、爱迪生式病和干燥综合征。

3. 针对每种疾病状态提交显示每种类型甲状腺自身抗体的发病率或患病率的信息。

来自： 临床实验室器械部免疫科分部

编制人： Deborah M. Moore， 科学审查员

1994年2月

V. 参考文件

1. Czarnocka B，et al. Purification of the Human Thyroid Peroxidase and its Identification as the Microsomal Antigen involved in Autoimmune Thyroid Disease. FEBS 190：147 （1985）.

2. Henry J， Immunology and Immunopathology. Clinical Diagnosis and

Management by Laboratory Methods， 18th ed 1985； WB Saunders Co.，

Philadelphia， PA.

3. National Committee for Clinical Laboratory Standards. How to define，

determine， and utilize reference intervals in the clinical

laboratory； proposed guideline. Villanova， PA 1991. Order code C28-P.

4. Vadlamudi SK， Stewart WD， Fugate KJ， Tsakeris TM. Performance

characteristics for an immunoassay. Scand J Clin Lab Invest

1991；51：134-138.

5. Peters T， Westgard JO. Evaluation of methods， Chapter 7 in： Tiets

NW， editor. Fundamentals of Clinical Chemistry， 3rd ed， 1987： 225-37

Philadelphia， PA； WB Saunders Co.

6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of

the linearity of quantitative methods； proposed guideline. 1986

Order code EP6-P.

7. Information for authors. Clin Chem 1991； 37：1-3.

8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of

precision performance of clinical chemistry devices - 2nd ed；

tentative guideline. 1991：1-56. Order code EP5-T2.

9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. User

comparison of quantitative clinical laboratory methods using patient

samples； proposed guideline. 1985； 6（1）. Order code EP9-P.

10. Ash KO. Reference Intervals （Normal Ranges）： A Challenge to

Laboratories. Am J. Med Tech 1980； 46：504-11.