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。

备忘录

日期：1992年9月

器械与放射健康中心，器械评估办公室，诊断实验室器械分部，免疫分支部门主任

发件人：

标题： 体外诊断器械免疫球蛋白A、G、M、D和E免疫球蛋白系统 510（k）提交资料的指导性文件草案

收件人： 感兴趣的各方

我们已经撰写了一份文件草案，题目为：《评估体外诊断器械免疫球蛋白A、G、M和D免疫球蛋白系统的审查标准》，包括一份通用模型包装说明书。其目的是协助制造商为即将检验的这些类型的器械的上市做准备。

我们需要贵公司对所附的指导性文件意见、建议及评论。我们会很感激贵公司的评论，这样我们就可以在修订版本中进行改进。该文件的多余份数可以通过小型制造商协助办公室从Geoffrey Clark获得，他的电话为：（301）443-6597。

请将贵公司的评论发送至：

Peter E. Maxim博士

主任，免疫学分部

临床实验室器械部

器械评估办公室

器械与放射健康中心

食品药品监督管理局

1390 Piccard Drive

Rockville, MD 20850

Peter E. Maxim博士

附件

原版： 1992年8月

**评估体外诊断器械免疫球蛋白****A、G、M和D免疫球蛋白系统的审查标准**

这是一个灵活文件，代表对当前体外诊断器械中免疫球蛋白A、G、M和D免疫球蛋白的主要关注问题和建议。本文件基于以下内容：1）当前基础科学；2）临床经验；3）1990年安全医疗器械法案（SMDA）和在美国联邦法规（CFR）中的FDA法规。随着科学和医学的不断进步，这些审查标准将进行重新评估，并在必要时进行修订以适应新的认识。

**目的**

本文件的目的是为能够对临床样本中免疫球蛋白A、G、M和D进行检测和定量的器械销售批准之前，为所需提交给食品药品监督管理局（FDA）的资料提供指南。

上市前通告[510（k）]提交资料必须证明器械的精确、安全、有效，并证明与美国已批准上市器械具有实质等同性。

**定义**

该器械的一般类型是为临床实验室和内科医生办公室的应用而设计的，作为在应用免疫化学和其他不同的方法学的对体外诊断器械中对免疫球蛋白体系A、G、M、D和E的半定量和定量测量的体外诊断测试。

如有提交其他数据以证明这些器械具有相同的性能，则这些器械可许可在医师办公室中使用。

**产品代码：**

IgA 82-CZP

IgG 82-DEW

IgG（Fab） 82-DFK

IgG（FC） 82-DAS

IgG（FD） 82-DAQ

IgG（gamma） 82-DFZ

IgD 82-CZJ

IgE 82-DGC

IgM（mu) 82-DA0

IgM 82-DFT

**法规序号：**

21 CFR 866.5510，866.5520， 866.5530， 866.5540，以及866.5550

1. 鉴别。免疫球蛋白A、G、M、D和E免疫测试系统器械包含采用免疫化学技术测量血清中免

疫球蛋白A，G，M，D和E（抗体）的试剂。测量这些免疫球蛋白有助于诊断异常的蛋白质代谢，分析身体抵抗感染性病原体的能力。

免疫球蛋白G（特异性Fab片段）免疫球蛋白测试系统器械包括采用免疫组织化学技术测定免疫球蛋白抗体分解的Fab抗原结合片段的试剂。测试免疫球蛋白Fab片段有助于诊断淋巴增生性疾病和waldenstrom巨球蛋白血症。

免疫球蛋白G（特异性Fc片段）免疫球蛋白测试系统器械包括采用免疫组织化学技术测定免疫球蛋白抗体的Fc片段的试剂。测试免疫球蛋白Fc片段有助于诊断血浆细胞抗体形成异常。

1. 分类：二级（性能标准）
2. 小组：免疫学

审查要求：

**Ⅰ、免疫球蛋白A、G、M和D免疫分析测试器械的临床适应症/显著性/预期用途**

免疫球蛋白是一组具备某些基本结构特征的球状蛋白，具备抗体的功能。免疫球蛋白存在于在血液循环、各种分泌物、血液外体液和固定的细胞表面上。人们已经描述了五种主要的结构类型和分类：IgG、IgA、IgM、IgD和IgE。免疫球蛋白多样性受免疫球蛋白基因控制。各种免疫球蛋白类的基本分子亚基由四个氨基酸的多肽链、两重链和两轻链组成（1,2）。轻、重链通过链间二硫键（S-S）形成共价键。k和λ轻链由5类组成。单个免疫球蛋白分子将包含两个k或两个λ轻链。五类免疫球蛋白分化的分子基础存在于重链型的常数区。IgG、IgA、IgM、IgD和IgE重肽链分别用γ、α、μ、δ和ε表示。多发性骨髓瘤蛋白的免疫化学和生化研究可用于IgG、IgA和IgM亚类的鉴别。IgG的四个亚型分别为IgG1、IgG2、IgG3和IgG4（7，8)，IgA和IgM的两个亚型分别为IgA1、IgA2和IgM1、IgM2。该亚型的划分基于各自的重肽链某些区域的氨基酸序列变异。生物学相关的知识可以确认IgG实际上包含四个亚型。有兴趣的是可以认为不同的抗体对应不同的亚型。免疫球蛋白G亚型缺陷越来越多地被认识到，特别是与感染相关（4，5）的亚型缺失。

三类免疫球蛋白干扰已经确定：1）特定级别的（单克隆的）免疫球蛋白的增加（单克隆的丙种球蛋白病）；2）免疫球蛋白的减少或者缺失（高免疫球蛋白血症），以及3）免疫球蛋白中非特定分类的（多克隆的）的增加（高免疫球蛋白血症）。

单克隆丙种球蛋白病与某些疾病的关系具有重要的诊断价值，可提供了疾病活动的相关信息。单克隆成分为血浆细胞单一或克隆产生的大量的均一蛋白（完整的免疫球蛋白，重链或轻链）组成。单克隆的成份主要与血浆细胞或淋巴系统疾病有关，如多发性骨髓瘤、巨球蛋白血症。构成要素代表一大笔同类的蛋白（完整的免疫球蛋白，重链或轻链）由一个单线或者血浆细胞克隆创建。单克隆的构成要素已经首先与血浆细胞的疾病或者淋巴组织细胞增生性系统相关联，例如，多发性骨髓瘤以及waldenstrom巨球蛋白血症。单克隆的IgG、碳水化合物片段（Fc）以及免疫球蛋白分子的重肽链组的氨基末端的（抗原-结合）终端已经应用到器械中合成复杂的固态抗体试剂。样品中待测的分析物可与此固定抗体进行反应。

然后，可以使用酶指示剂系统的合适底物来确定样品中存在的免疫球蛋白分析物的量。

免疫缺陷病（高免疫球蛋白血症）的诊断需要免疫球蛋白辅助定量。对于一个以上的免疫球蛋白类和多次的细胞介导免疫产生的联合免疫缺陷，具有血清IgG、IgM、以及IgA缺失的特点。选择性免疫球蛋白缺乏症的特点是只有有一个或两个而非所有的免疫球蛋白类都缺乏。免疫球蛋白缺乏症常产生危及生命的感染。在原发性免疫缺陷的原型，Bruton综合症（l0）中所有的免疫球蛋白类型完全欠缺，并且对携带荚膜细菌而产生的致热感染具有惊人的敏感性。迟发性免疫缺失常常伴随感染，尤其是反复发作的复发性肺炎和鼻窦炎。对于免疫球蛋白的数量进行测量，应在患有慢性的渐进性支气管扩张的病人身上进行。在很多情况下，免疫球蛋白的生产是不稳定的，而且不同的病人或同一病人的不同时段，浓度都可能会不一样。由于临床表现和对感染的易感性并不总是相关的，诊断通常比较困难。因此，不时对免疫球蛋白进行反复定量测定通常是必要的。

具有选择性IgA缺失的患者易复发sinupulmonary感染，但这些感染与联合IgA缺失的患者相比较温和，且很少在肺功能异常换这种出现。某些免疫球蛋白缺乏患者容易出现自身免疫性疾病。类风湿性关节炎和腱鞘炎的发病率比一般人群大30余倍。特别是IgA缺陷的患者易产生自身免疫性疾病的倾向和常见的类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、恶性贫血、甲状腺炎（格雷夫斯病）。

特应性和非特应性个体研究显示血清中IgA、IgG和IgM的浓度无显著性差异。关于血清IgD水平，存在相互矛盾的数据。在变异性疾病中进行的多项研究证明皮肤致敏抗体与IgE有关。各种食品、毒液、吸入剂、寄生虫过敏原可诱导IgE特异性抗体。应该指出的是除特应性状态外有多种因素影响血清IgE定量。入队循环IgE抗体的测定时脱离肥大细胞或嗜碱性粒细胞，可能无法提供所需的灵敏度以满足医生进行初始免疫治疗（脱敏）。确定特异性反应疾病的过敏原可接受的方式是在别人的背部进行皮内注射（皮试）。皮试反应（发红、肿胀）可表明患者特异性反应情况。过敏性哮喘、变应性鼻炎和过敏性鼻炎患者血清IgE水平升高。虽然大多数研究发现有广泛重叠的IgE值，但过敏性疾病发病趋势明显向更高水平发展。

采用工具测定琼脂扩散、浊度、比浊度、电泳、化学发光、辐射和生物荧光测量免疫球蛋白等技术的发展使实验室技术更加成熟。表1列出了免疫球蛋白测量的器械清单以说明这一技术的发展。

表1琼脂扩散、浊度、比浊度，电泳，化学发光，辐射和生物荧光测量免疫球蛋白举例

**浊度法 510（K）号**

雅培实验室-双色分析仪 K771345

德灵诊断公司-激光比浊计 K771603

泰克尼康工具公司-荧光比浊计Ⅲ K822341

海兰德实验室-“PDQ”激光比浊计 K770548

**电泳**

海伦娜实验室 K860645

**放射免疫分析**

Hybritech公司 （Eli Lilly and Cos.) K802913

**化学发光法**

Gen探针 K892216

伦敦诊断-Lumtag K901075

**生物发光**

Vitek 系统 K881925

**琼脂凝胶扩散**

强生生化 K915650

**Ⅲ、特定的性能特点**

FDA要求提供不同类型和数量的数据和统计分析来支持体外诊断器械上市。要求数据的数量和类型取决于新器械的预期用途和技术特性。数据和统计评估应足以确定器械符合上市销售条件，对所有声称的样本类型具有安全性和有效性。额外的数据可能是必要的以证实与患者临床状况相关的分析物水平和器械预期用途之间的关系。对于所有测量免疫球蛋白的免疫测试系统，每个制造商必须对新技术的使用进行验证。

需要确定某些特性的体外免疫球蛋白试验系统的原因有两个方面；评价特定的免疫球蛋白（抗原特异性和总的血浆水平）浓度失衡的患病率的影响，该评估应根据患病患者临床实验室器械的风险和临床检验的程序可能出现的低患病率条件下的体外检测器械的低检测能力。这些评估包括临床灵敏度（CSE）和临床特异性（CSP）。所有的体外检测器械的测试方案和临床患者接受标准应在医生的办公室确定，在研究人群纳入临床患者选择的验收标准；受试者应有兴趣参与研究并签订知情同意书。临床研究的持续时间应该被告知。要求数据的数量和类型取决于新器械的预期用途和技术特性。临床研究的结果应进行总结，包括提供意想外结果的解释、额外测试以及任何其他实验室数据或信息，该信息关系到最终报告的形成。适当时，实验室和临床数据的图形应该以“ROC曲线”形式提供，提供散点图、直方图、频数分布表便于直观判断。提供的数据（临床数据和实验数据）应该是真实的。

提供下列数据以便FDA确定实质等同性。

简要的讨论可能会影响审查程序或公共政策可能发展的医学界突出关注，包括相关的医疗/社会问题。讨论测试方法的原理。包括对空白试剂测试系统测量误差的总和。与采用微处理器控制方案的新器械测试时可能存在的影响。软件元件和微处理器控制的器械往往是集成系统处理样品，计算检测结果并对患者类型进行解释。适当关注“**计算机控制医疗器械审查指南510（K）**”的要求（来源于小型企业协会，电话1-800-638-2041）。方法方差分析可分为两类。为了更加明确，本指导文件将一类命名为“分析性能特性”，后者将被称为“临床性能特征”。对于新技术，免疫球蛋白的检测的申请必须有支持文献参考和其他有效的科学调查报告。

1. **分析实验室研究**

对于新技术，应提供用于检测分析物的先验方法的简短总结，直接中应提供性器械使用的重要参数及测试前在外部实验室采用新器械测试得数据。评价测试应在制造商企业或在指定的测试开发阶段的实验室进行。

1. “临界点”的确认

该器械的预期值来自从使用该器械的临床研究中积累的规范性数据。对于新技术，数据应该表明通过以下测试选择的临界点或操作阈值：

1. 如果该器械用于筛选目的，应采用最低100正常健康的人（制造商必须提供对此类人群的说明）。
2. 对至少100个患者样本进行适当说明，其中必须有免疫球蛋白水平高于或低于预期正常范围的患者，应以类似的方式。该100个患者样本允许假定测试：某个体特定水平的免疫球蛋与疾病或临床条件的关系应确定并对比分析；根据个体患者的年龄、性别和种族背景，对分析物水平的其他因素或临床条件进行评估。
3. **抗血清特性**

抗血清的特异性、来源（多克隆或杂交瘤衍生）、充分的抗血清稀释、过滤和每个免疫球蛋白血清测定的标准曲线，经需向FDA提供进行审查。对可能会造成交叉反应的血浆成分，应使用检测系统进行研究。测试方案应该描述用于测定其他血浆蛋白、抗凝剂，其他药物或化学品或差异测定干扰的量，包括检测温度，测定潜伏时间，反应物清洗，分析物测定运行时间、停止分析程序时添加溶剂时间。器械准备标准曲线的推荐数量应说明。应讨论的参数包括整个试剂设置，稀释液的使用，以及最后用于检测的免疫球蛋白浓度的血清稀释样本。对有活性和非反应性成分（载体）应进行说明。此外，应确定每个免疫球蛋白的参考制剂（校准器）。

1. **检测限**

分析灵敏度（检测限）的检测表明大于分析物检测量时测试系统的背景和“空白”/阈值测量的两个标准偏差。应提供曲线拟合的结果和方法。

1. **干扰研究**

可能遇到的特定疾病患者任何潜在的交叉反应或干扰物质应使用检测系统进行测试，例如药物和/或它们的代谢产物，口服避孕药及通常被患者用于测试特定的免疫球蛋白类型的物质。或者，说明书中的局限性部分应加入说明，表明该测试还没有进行交叉反应或干扰研究。

验证推荐的存储条件是否与分析相适应。表明试样优化的贮存条件是来源于稳定性研究。

1. **复现性和重复性研究**

美国国家临床实验室标准委员会（NCCLS）推荐的方差分析统计，允许估计的范围内运行的总标准差（SD）（14、15、16、17）。参考EP-T2（NCCLS指南）推荐的数据采集格式和计算公式，对运行和总精度测试的每个测试样本分别计算。

对于所有的测试格式，至少两阴性，两个低阳性（含有低于正常水平的免疫球蛋白物）和两个中等（免疫球蛋白水平升高）的血清标本，除了检测套件中对照品，每个样本应该在三个不同的日子里各运行两次并每次运行时测试3次。血清样本可加入含有纯的免疫球蛋白分析物的运输介质或样本稀释液。

重复性研究应在相同的样本进行，并在除制造商的实验室外的两个外部实验室进行比较研究。测试套件中所提供的对照品也应包括在内。

对于单终点分析，提供每个测试中心阴性、边界/可疑或阳性结果百分比。

用于上市的设计要在医生办公室实验室进行，至少有30个不同的样本代表阴性，弱阳性，高阳性标本应能被整除、编码、盲法控制，并在3个不同的医生办公室的位置进行测试。测试应由办公室人员执行，这些测试将在这些设置中进行，并与临床实验室设置的结果进行比较。可能需要额外的数据。

方差分析的方法，确定方差的测定过程中使用的工具；比较数据减少的结果算法和使用者选择的“曲线拟合”的程序应提交。

如果有专用工具用于标本处理，或阅读和解释结果，应在在每个中心使用不同的工具。如果非专用（个别）工具使用，应提供在每个中心使用的工具的说明书。

**B、临床对比研究**

器械性能应与另一个已经合法上市的器械进行比较以证明实质等同。两个不同的人群（种族，性别，年龄的多样性）应在两个不同的和独立的临床中心进行测试。提交资料中应包括测试方法的描述、相关的参考资料和试验方案程序。使用的比较方法应清楚地描述，包括标本收集方法、抗凝血剂的类型、收集和检测之间的过境时间及存储条件。任何其他相关建议也应说明。对构成部件进行说明。试剂的描述应包括放射性材料的处理说明，销售形式（溶液中、冻干、吸收或浸渍于各种固体上）和功能（主要反应物，校准器，对照品，稀释剂，反应促进剂，增强剂和“信号”发生器）。

新器械的评估应进行类似说明，并应该符合产品说明书中规定的程序和建议。

为并行测试或用于解决测试结果差异的任何市售的测试提供说明书。提供主要研究人员的姓名、测试地点及电话号码。对比测试应有足够数量的阳性和阴性临床标本（根据说明书中的采集、储存和测试说明书）和说明书性能特性部分确定的灵敏度和特异性（17）。以下是不同样本类型比较试验的最低推荐样本量：

1. 提供器械测定数据和统计分析以支持器械操作的性能参数的具体和重要性，如复现性。

a. 统计方法的依据

避免只依赖假设检验（如P值的使用），假设检验不能给出重要的定量信息。提供证实合理假设的试验数据和统计方法、检验统计结果和相应的值。使用特定的统计方法必须完全合理（如参数vs非参数）。

1. 抗体灵敏度研究（仅杂交瘤单克隆抗体测试）（3，9，10，12)。

a. 应当证明以免疫球蛋白为基础的检测与常见人遗传免疫球蛋白类型的血液样本呈阳性。对任何未检出的免疫球蛋白病，应在说明书的局限部分说明。

b. 在化疗或肿瘤可视化时使用小鼠源性单克隆抗体的体液抗体可能会阻止分析物的准确测量并导致分析物水平的不准确（12）。

c. 免疫相关蛋白

应证明以下免疫活性/有关物质不干扰测试。

1. 血型特殊物质
2. 免疫球蛋白碎片（轻链：k、λ）免疫球蛋白碎片（Fab/c，Fd衍生物）

3、记录有症状和无症状的患者以及是否疾病形成与传染病药物、植物或动物有关血浆免疫球蛋白的过敏原或遗传特征有关。

要计算的附加参数是在临床效用范围内的诊断有效性。证明所声称的使用该器械具有实质等同性，并提供具体参数。

如果临床上重要的样本将难以获得，例如罕见的疾病、少数非暴露的人，因为该疾病患者的发病率主要暴露在疾病（慢性病），应提供解释。用于计算免疫球蛋白亚型的比例水平或免疫球蛋白比例的免疫球蛋白风险评估因子的测试系统，在选择患者人群时选择标准和排除标准应进行讨论。数学公式、统计程序及其适用性和对疾病或条件的解决能力、区分受影响和不受影响的能力应提供必要的解释。

**Ⅳ、标签注意事项**

如下为法令 [502（f)（l)]和法规[21 CFR§809.10（b)]一些要点的附加说明。

**包装说明书**

**A、预期用途**

基于使用技术/方法描述器械的预期用途，应解决以下问题：

* + - 1. 什么样的患者应进行测试？
      2. 用于检测特异性免疫球蛋白恶液质时，检测器械应具有什么样的条件和局限性？
      3. 测试是否能区分免疫球蛋白亚型？
      4. 是否分析应使用特殊工具？

典型的预期用途可描述为：XXX检测系统是一种使用血清蛋白ABC自动系统，采用免疫化学技术检测检测血浆中免疫球蛋白A、G、M、D和 E，且包含试剂的器械器械。

**B、测试方法的详细原理**

根据以下部分进行完整介绍。

抗原表位检测和/或定量的说明。

包括共轭的固定相物质中非特异性结合酶耦合物和由此产生的高度变异性的影响应进行讨论。这些特征组合会对少假阳性信号受试者信噪比的最大化造成一定的困难。

分析物的最终结果或浓度应以每毫升微克（ug/ml）或国际单位/毫升表示。通常，测定份IgE值应以IU/mL报告，而其他免疫球蛋白则以ug/ml报告。

**C、样本类型**

应列出样本类型、血清或血浆、体液、脑脊髓液（CSF）及任何关于样本采集的特殊考虑。每种类型样本的“预期值”表应表明。

**D、使用条件**

使用该器械的条件应描述任何该器械的具体应用、特定的禁忌症或预期使用声明中没有表明的应用，例如，脑脊液样本只为婴儿诊断传染病或脊髓/脑损伤的辅助工具。不推荐免疫球蛋白试验系统用于关节液、胸腔积液或腹腔冲洗液。

**E、期望结果**

1、参考文献应提供评估免疫球蛋白病的患病率；不同人群中适当样本部位的异常发生率。

2、表明患病率可能会应地理位置、年龄、性别、测试系统类型、标本采集和存储、个别患者的临床和流行病学史和种族背景而有所不同。

**F、测试的局限性**

列出重要的测试局限性和所有已知的禁忌症及引用的参考文献等。酶为基础的双抗体测试系统用于检测个体免疫球蛋白（重链特异性），必须对分析物包括以下的局限性部分（免疫球蛋白IgG分子的一个抗原结合域被描述为抗体结合的抗原表位）。此外，还包括重组脱氧核糖核酸（DNA）技术允许对测试系统的设计进行创新、在特定的细菌细胞（11）产生的免疫球蛋白片段和具有所需的性能特性的纯化的Fab片段。

灵敏度、特异性、诊断有效性和患病率（19）有助于我们评估体外器械的检测正确结果的概率。

特殊免疫球蛋白和免疫球蛋白的同性体的一个阳性“异常”预测值和特殊免疫球蛋白的阴性的“水平”预测值是CSE，CSP流行的二次性能特点，并应基于疾病条件和恶液质（根据年龄、性别、生活方式、地理位置、民族、传染性病原体以及其他因素等）计算理想的免疫球蛋白范围。疾病或疾病的患病率可来自计算或医学文献或出版物的已知数据。如果疾病或疾病的患病率是未知的，由于地理区域和疾病的定义或标准的不同，患病率很难确定。

1. 除了从临床考虑，临床体外器械的解释应基于一个确定的正常免疫球蛋白浓度范围内，该器械的测试结果的概率。
2. 可靠的结果依赖于足够的标本采集。标本充足只能通过表型/基因家族成员史来评价。
3. 对于那些使用特定技术的分析，应表明该测定将不专门区分不同的免疫球蛋白的亚类。

**Ⅰ、性能特点**

总结基于性能特性的数据。如与合法销售的器械进行过比较，也应提交。

1. 阳性和阴性预测值应基于特定人群的每个样本类型（血清、血浆、脑脊液）。表明在每个测试点的患病率。
2. 以表格形式提交交叉反应性研究，指明每个免疫球蛋白类或免疫球蛋白片段的阴性、阳性、边界/可疑/不确定的结果。如下示例。

|  |  |
| --- | --- |
| 灵敏度 | 真阳性 |
| 真阳性+假阴性+可疑 |
| 特异性 | 真阴性 |
| 真阴性+假阳性+可疑 |

数据表举例

测试结果（可接受的方法）

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 测试 |  | 阳性 | 阴性 | 可疑 | 140 |
| （阳性） | 45（真阳性） | 95（假阳性） | 0 | 860 |
| （阴性） | 5（假阴性） | 855（真阴性） | 0 | 6 |
| （可疑） | 3 | 3 | 0 | 1006 |
|  | 53 | 953 |  |  |

1. 所有免疫球蛋白类和子类，免疫球蛋白或重链或轻链标记片段的测量单位和检测限。
2. 总结重复性特点，包括（如精密度、准确度、线性度、分析灵敏度）的参数，测试试剂盒性能的可接受水平。
3. 提供比较研究数据，使用不同类别的不同免疫球蛋白类（18）。所有边界的/可疑的/不确定的结果均应清楚表明。解决测试器械和参考方法之间的差异，并以脚注或在单独的表中呈现。对于需进一步分类的样本（如按过敏严重程度分组的）应说明。

