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。

日期 1991.09.26

发件人 临床实验室器械部（HFZ-440），血液学/病理科，器械评价办公室，器械与放射健康中心主任

主题 淋巴细胞免疫表型单克隆抗体510（k）提交资料的指南草案

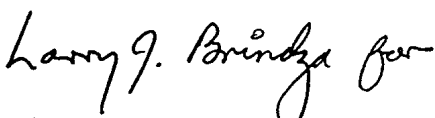
收件人 有意向的制造商

我们已制定标题为“用于淋巴细胞免疫表型单克隆抗体510（k）提交资料的指导性文件”的草案。由于该文件列出我们将审查的项目，其旨在帮助制造商准备这些器械类型的上市提交资料。

由于这一领域的体外诊断在临床实验室中迅速扩大，我们正在征求贵公司对所附指导性文件草案的想法，建议和评论。我们将非常感谢贵公司的评论，以便我们可以在修订中纳入尽可能多的改进。本文件的其他副本可通过Geoffrey Clark，（301）443-6597的小型制造商援助办公室获得。

请将评论发送至：

Willard D. Stewart  
主任，血液学/病理科，  
临床实验室器械部，  
器械评价办公室，  
器械与放射健康中心  
食品药品监督管理局  
1390 Piccard Avenue  
Rockville, MD 20850



Willard D. Stewart

这是一个灵活的文件，代表目前淋巴细胞免疫表型体外诊断器械的主要关注问题和建议，这些器械采用流式细胞术，荧光和光学显微镜应用单克隆抗体方法进行。其基于1）当前的基础科学，2）临床经验和3）以前由制造商提交给FDA的提交资料。随着科学和医学的进步，这些审查标准将进行重新评估和修订，以适应新的知识。

使用流式细胞术，荧光和光学显微镜的单克隆抗体的体外诊断器械中淋巴细胞免疫表型的审查标准

出于本指导文件的目的，淋巴细胞定义为具有分化抗原簇（CD）2，CD3，CD4，CD5，CD8，CD16，CD19，CD20和CD56的淋巴细胞。本文件还包括用于淋巴细胞设门的CD45，CD14和CD13和用于检测活性CD3阳性细胞的HLA-DR。该文件还包括抗同种型对照和用生物素或显色剂标记的二抗（两者都不是显色剂但是成为一体能够显色）。在本文中的显色剂有异硫氰酸荧光素（FITC），藻红蛋白（PE），其他荧光显色剂和辣根过氧化物酶等。

产品代码：GKZ

法规编号：21 CFR S 864.5220

面板：血液学/病理学

分类：Ⅱ

审查要求：510（k）

定义：该通用类型器械旨在用于临床实验室，作为使用单克隆抗体（MAb）通过流式细胞术，光和荧光显微镜对淋巴细胞及其亚群的定量测量的体外测试。

目的：本文件的目的是提供关于用MAb免疫表型淋巴细胞的器械通过许可销售之前向FDA递交信息提供指南。这些信息使FDA能够根据统一的数据库做出更明智的决策。

在适用的情况下，本文件参考国家临床实验室标准委员会（NCCLS）流式细胞术的临床应用：外周血淋巴细胞的质量保证和免疫表型分析的章节(1)。如果没有另外定义，本文件中使用的各种术语的定义取自NCCLS文件。

Ⅰ. 背景

上述MAbs的当前临床使用是使用多参数和多色方法将CD作为单个子集或子集中的组列举（百分比）。具有MAb的免疫表型淋巴细胞可协助确定免疫状态。已经对CD4和CD8值与HIV（人类免疫缺陷病毒）感染和获得性免疫缺陷综合征（AIDS）和其它免疫缺陷疾病进展的关系进行大量工作。在HIV感染个体中CD4阳性和CD8阳性淋巴细胞总数使得医生将这些个体置于不同的分期(2，3)。淋巴细胞免疫表型MAb的临床意义已经在这种情况中得以显示出来。目前，淋巴细胞免疫表型MAb唯一预期用途是淋巴细胞亚群的计数。与白血病和淋巴瘤相关的任何亚群的临床意义尚未被普遍接受。上述引用的MAb的预期用途从人血液中正常淋巴细胞亚群的计数到更具体的各种白血病和淋巴瘤分型用途的改变将需要市场批准申请（PMA）。这将被视为这些器械的新预期用途，并且将需要更严格的批准过程。除上述用途之外的MAb的临床意义尚未显示或尚未被广泛接受。PMA方法还可包括用于活化标记（除CD3 + / HLA-DR之外），血小板，其它白细胞和前体人血细胞的MAb。

以上方法不适用于识别CD45，CD13，CD14及钥孔血蓝蛋白的anti-同种型对照MAbs，虽然，可能对患者的这些CD变化有一些临床相关性，但是其此时的主要用途是质量控制（QC），并且协助流式细胞仪上对样品设门。此时用于计数这些MAb的淋巴细胞的预期用途是不合适的。

Ⅱ. 器械描述

单克隆抗体针对人淋巴细胞上的特异性CD表位。MAb可以单独使用或结合使用，标记或未标记。MAb进行标记（具有显色剂或亲和素连接）或未标记（用于用合适的显色剂标记的二抗）。使用生物素 -亲和素复合物和标记的二抗通常用于扩增弱信号。可以用多种MAb来列举淋巴细胞亚群内的特定组，例如CD8 + / CDllb +，CD8 + / CDllb-，CD8- / CDllb +和CD8- / CDllb-细胞。另外，三种显色剂可用于进一步列举子集，例如CD8 + / CD11 + / CDx +。

1. 检测原理

将特异性MAb加入全血或分离的单核细胞样品中。在适当的孵育期和洗涤后，计数已经用抗体/显色剂复合物标记的淋巴细胞。根据所使用的方法（细胞计数或显微镜检查），用光激发或化学颜色变化检测显色剂。

1. 样品类型

抗凝全血；通过公认的方法如全血裂解或梯度离心从红细胞中分离淋巴细胞。抗凝剂包括用于淋巴细胞免疫表型的全血的样品收集的所有可接受的抗凝剂。NCCLS列出以下抗凝剂；乙二胺四乙酸（EDTA），肝素和酸性柠檬酸盐葡萄糖（ACD）(1)。如果制造商希望对除上述抗凝剂之外的抗凝剂提出要求，则需要具有上述抗凝剂与新抗凝剂的比较数据。淋巴细胞是固定的（悬浮在缓冲的甲醛，pH7.2或低聚甲醛中的标记样品），或者是未固定的并含有叠氮化物。

Ⅲ. 具体性能特征

FDA要求制造商提供诊断器械上市应用中包括不同类型和数量的数据和统计分析。可能需要额外的数据，证实某些具有预期用途或临床意义的声明。如果提交的数据充分表明，使用适当的统计研究，不同样本类型/矩阵之间的测试结果没有显着差异；例如回归研究或配对T检验，则可以用一个选择的样品确定测试性能特征。否则，必须证明所有要求使用或显示统计差异的所有样品类型/基质的性能特征。

除了证明所提交的MAb克隆已经由世界卫生组织的人类白细胞分化抗原国际研讨会分类之外，还需要提交以下数据来确定使用流式细胞术，荧光或光学显微镜观察淋巴细胞的免疫表型的MAb的实质等同性：

1. 分析/实验室/体外研究

对使用MAb重要的特定参数应该由用该MAb克隆确定的数据支持。应证明MAb的性能实质等同于另一个合法销售的器械。列出测试数据与分析和结论。数据和统计评价应当足以确定器械对于所有要求的样品类型/基质是否实质等同于和/或安全的和有效的。

用流式细胞术或荧光/光学显微镜的淋巴细胞免疫表型的提交资料中提出以下性能特征：

1. 性能特征
2. 抗体特异性（用于免疫测定）。

使用测定系统研究任何潜在的干扰物质的交叉反应性和干扰。提交记录抗体与以下细胞群体的任何交叉反应性的数据：

* + - * + 单核细胞
        + 粒细胞
        + 血小板
        + 红细胞

应提交附加数据来证明结合MAb等同于单一的MAbs。

1. 线性范围

使用4个低，正常和异常标本确定测定的线性范围。通过数据点的线性回归和95％置信区间证明范围。

1. 精确度/回收率研究

确定已知量的靶淋巴细胞亚群（CDx）的加标回收率。这可以通过进行亚群的淋巴细胞的有限稀释来实现。

1. 重现性研究
2. 实验室外重现性

使用一个流式细胞仪和新抗体和具有高，正常和低三个水平的CDx阳性淋巴细胞的患者样品确定日内精密度。通过用已知的CDx阴性细胞稀释正常样品可以获得正常范围之外的样品。以十的重复次数运行样品。

1. 实验室内重现性

在三个独立的地点重复实验室研究。

来自实验室内和实验室间重现性研究的结果总结应在包装说明书的性能特性部分中报告。

1. 临床对比研究

比较研究提供与另一个合法上市的器械相比，系统准确测定MAb免疫表型结果的能力的数据。为了比较流式细胞术数据，临床中心应提供用于仪器校准，用于分析的仪器设置和分离目标细胞的方案。进行以下研究的每个站点应使用NCCLS标准，流式细胞术的临床应用：外周血淋巴细胞的质量保证和免疫表型。（1）

1. 标本采集和处理

按照NCCLS标准中概述的静脉穿刺程序收集患者血液样品，即通过静脉穿刺收集诊断血液样品的程序（4）。对于免疫表型，可以使用抗凝剂EDTA，ACD溶液A或肝素。使用唯一的患者标识符，日期，收集时间，性别，年龄和相关用药信息来识别血液标本。将血液样品维持在18-22℃，并在收集后6小时内处理。对于流式细胞术分析，样品可以固定在1％多聚甲醛或pH7.2，1％缓冲甲醛的溶液。在提交资料中说明包装说明书中的样品储存条件并提供数据或适当的参考文件，以证实声明。

1. 正常范围预期

分析来自至少50个来自三个地理位置不同的地点（可能包括制造商的地点）的正常捐赠者的抗血清全血样品。这些捐赠者应包括所有种族群体（白人，亚裔，西班牙裔和黑人，包括美国和加勒比海），以及代表性别和广泛定义的年龄范围。对新MAb和可比较的合法销售MAb测试血液样品进行试验。

在预期使用中声明的每种细胞分离方案测试50个样品；例如Ficoll-hypaque单核细胞分离，白膜层法和全血裂解。

从至少50正常人的样品使用新测试，建立CDx阳性淋巴细胞的正常范围。根据年龄，性别，地理位置和疾病症状表征群体研究。说明包装说明书中的统计方法。应在研究中考虑所有样品类型/基质。

1. 异常范围

支持任何对疾病状态与数据的声称或引用。鉴于疾病的罕见程度，根据方法要求，至少检测10个样品（越多越好）。这些疾病状态的取样应当尽可能多样化。如果异常样品极难获得，则可以使用合适谱系的连续细胞系来增强数据。确定每个具体要求的疾病状态的CDx阳性淋巴细胞的范围。

1. 流式细胞仪

如果预期用途声明不是针对特定制造商的流式细胞仪，则必须使用Coulter和Becton-Dickinson仪器进行比较，因为这些被认为是最常用的仪器。对于比较研究，使用20至30个患者样品，其包含均匀分布的高水平，正常水平和低水平的细胞数。通过用已知的CDx阴性细胞稀释正常样品可以获得正常范围之外的样品。对于所有仪器，比较样品应该相同，并且可以有目的抗原的传代细胞系组成。提交所有使用的流式细胞仪的代表性数量的荧光强度直方图。

1. 数据显示

呈现所有数据作为总淋巴细胞群体的百分比，以表格形式列出并基于提交的器械排序。

为特定器械提供比较数据的线性回归，并且还为每个机器比较提供线性回归。列出通用流式细胞仪比较数据的直方图的平均荧光强度。

包括正常和疾病状态对平均值，SD和百分比变异系数（CV）的计算。

显示疾病状态的数据，并按年龄，种族和性别列出。

提交所有使用的流式细胞仪的代表性数量的荧光强度直方图。

Ⅳ. 标签注意事项

1. 建议预期用途的声明

典型的预期用途声明是：“ABC的Bright Star CDx鼠单克隆抗体用于使用流式细胞术鉴定和计数全血中的CDx阳性淋巴细胞。”

1. 临床应用

MAb的临床应用应包括在预期使用声明中。

1. 局限性

以下限制语句应包含在包装说明书中：

由于测定绝对淋巴细胞计数的不同实验室方法之间存在不可接受的差异，所以有必要对使用方法的准确性进行评估（5）。

V. 参考文件

* 1. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Clinical Applications of Flow Cytometry: Quality Assurance and Immunophenotyping of Peripheral Blood Lymphocytes；proposed guideline. Villanova, PA. 1989；9(13). Order code H42-P.
  2. Redfield RR, Wright DC, Tramont EC. The Walter Reed Staging Classification for HTLV-I11 / LAV Infection. N Engl 3 Med 1986；314(2):131-132.
  3. CDC. Classification System for Human T-Lymphotropic Virus Type I11 / Lymphadenopathy - Associated Virus Infections. MMWR 1986；35(2):334-339.
  4. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture；approved standard. Villanova, PA. 1984；4(5). Order code H3-A2.
  5. Koepke JA, Landay AL. Precision and Accuracy of Absolute Lymphocytes Counts. Clin Immunology and Immunopathology 1989；52:19-27.

