**II类特殊控制指南：检测呼吸道样本内*结核分枝杆菌*复合群及*结核分枝杆菌*复合群抗生素耐药性基因突变的****基于核酸的*体外*诊断器械**

**行业及食品药品监督管理局  
工作人员指南**

**文件发布日期：2014年10月22日**

有关本文件的问题，联系微生物学器械科，电话301-796-5455和Janice Washington，电话301-796-6207或邮箱janice.washington@fda.hhs.gov。

**美国卫生和人类服务署**

**食品药品监督管理局**

**器械和放射卫生中心**

**体外诊断和放射卫生办公室**

**微生物学器械科**

**前言**

**公共评论**

为便于本机构收集评论和建议，电子评论和建议可随时提交至<http://www.regulations.gov>。书面评论可提交至食品药品监督管理局，案卷管理科（5630 Fishers Lane，ROOM 1061（HFA-305），Rockville，MD，20852）。用案卷编号FDA-2014-N-1440注明所有评论。再次进行文件修订或更新之前，本机构可能不会针对评论采取行动。

**其他副本**

其他副本可从互联网获得。您还可以向[CDRH-](mailto:CDRH-Guidance@fda.hhs.gov)Guidance@fda.hhs.gov 发送电子邮件请求以接收本文件的副本。请使用文件编号GUD1400019来注明您所要求获得的文件。

目录

[1. 引言 1](#_Toc496876291)

[2. 背景 2](#_Toc496876292)

[3. 范围 3](#_Toc496876293)

[4. 健康风险 5](#_Toc496876294)

[5. 含特殊控制指南中规定信息的器械说明 7](#_Toc496876295)

[a. 预期用途 8](#_Toc496876296)

[b. 测试方法学 8](#_Toc496876297)

[c. 工具 – 硬件和软件 9](#_Toc496876298)

[d. 对照品 12](#_Toc496876299)

[1) 阴性对照 12](#_Toc496876300)

[2) 阳性对照 12](#_Toc496876301)

[3) 内部对照 13](#_Toc496876302)

[4) 提取对照 13](#_Toc496876303)

[e. 辅助试剂 14](#_Toc496876304)

[f. 使用贵公司器械的测试程序 15](#_Toc496876305)

[g. 解释和报告测试结果 15](#_Toc496876306)

[6. 性能研究 16](#_Toc496876307)

[a. 通用研究建议 16](#_Toc496876308)

[b. 分析性研究 16](#_Toc496876309)

[1) 核酸提取 16](#_Toc496876310)

[2) 分析敏感性](#_Toc496876311)*[（检测限）](#_Toc496876311)* [17](#_Toc496876311)

[3) 分析反应性（包容性） 18](#_Toc496876312)

[4) 分析特异性 18](#_Toc496876313)

[5) 精密度研究 22](#_Toc496876314)

[6) 样本收集、储存和运输研究 23](#_Toc496876315)

[7) 器械运输和器械储存研究 23](#_Toc496876316)

[8) 携带污染和交叉污染研究 （对于需要工具的多样本检测试剂盒和器械） 23](#_Toc496876317)

[c. 临床研究 24](#_Toc496876318)

[1) 参考方法 25](#_Toc496876319)

[2) 研究方案 27](#_Toc496876320)

[3) 研究中心 28](#_Toc496876321)

[4) 研究人群 28](#_Toc496876322)

[5) 数据分析和样本量 28](#_Toc496876323)

[6) 电子数据提交 29](#_Toc496876324)

[7. 标签 29](#_Toc496876325)

[a. 预期用途 30](#_Toc496876326)

[b. 器械说明 30](#_Toc496876327)

[c. 一般程序 30](#_Toc496876328)

[d. 使用说明 30](#_Toc496876329)

[e. 质量控制 31](#_Toc496876330)

[f. 警告、禁忌症、注意事项和限制 31](#_Toc496876331)

[g. 样本收集 32](#_Toc496876332)

[h. 测定结果的解释与报告 32](#_Toc496876333)

[i. 性能特点 32](#_Toc496876334)

[8. 参考文件 32](#_Toc496876335)

**II类特殊控制指南：检测呼吸道样本内*结核分枝杆菌*复合群及*结核分枝杆菌*复合群抗生素耐药性基因突变的基于核酸的  
*体外*诊断器械**

**行业和食品药品监督管理局  
工作人员指南**

1. 引言

本文件支持将检测呼吸道样本内结核分枝杆菌复合群（MTB-复合群）及MTB-复合群抗生素耐药性基因突变的基于核酸的体外诊断器械划分为II类（特殊控制）器械。检测呼吸道样本内MTB-复合群及MTB-复合群抗生素耐药性基因突变的基于核酸的体外诊断器械是检测呼吸道样本内与结核分枝杆菌复合群相关核酸序列的存在的基于核酸的定性器械。这些器械旨在帮助诊断肺结核并与临床结果和其他实验室结果结合使用时，选择初始治疗方案。由于除器械检测到耐药机制外，还可能存在可能与缺少对治疗的临床反应相关的其他耐药机制，因此这些器械不提供抗生素易感性的证明。

本指南指出FDA认为能减轻与这些器械相关健康风险的措施并提供合理的安全性和有效性保证。提交检测呼吸道样本内结核分枝杆菌复合群（MTB-复合群）及MTB-复合群抗生素耐药性基因突变的基于核酸的体外诊断器械510（k） 的公司将需要（1）遵守特殊控制指南中提出的特定缓解措施，或（2）采用替代缓解措施，但需要证明贵公司指出的这些替代措施至少可提供等同的安全性和有效性保证并获得机构认可。

1. 背景

结核病是由MTB-复合群菌种引起的细菌感染。[[1]](#footnote-0)尽管在儿童中肺外疾病相对比较普遍，但肺结核是成人中最常见的结核病临床表现。结核分支杆菌感染是引起肺结核的最常见原因。尽管感染MTB-复合群的任一菌种都会导致肺结核，但在美国不超过的2%受试者中，牛分枝杆菌是引起活动性肺结核的原因（参考文件1），且在美国，除牛分枝杆菌和结核分支杆菌之外的MTB*-*复合群其他菌种的感染是罕见的。通过吸入含患有活动性肺病个体释放的MTB-复合群的大气尘粒后，生物体传播至新宿主，就会引起感染。

大多数感染结核分支杆菌的人都无症状，称为潜伏结核感染；大多数情况下潜伏结核感染永远不会导致临床疾病。在某些人中，感染后相对不久或在通常持续几十年的长时间潜伏后，这种生物体克服免疫系统防御，从潜伏结核感染发展为活动性结核疾病（TB）。总的来说，潜伏感染患者生命中有5-10%的时间存在发展为活动性TB疾病的风险；然而，很多因素会导致风险变化且免疫抑制可能导致风险大幅增加。【参考文件2】

自1953年以来，美国的活动性TB发生率一直稳步下降，仅1989–1992年间出现增长，原因是感染HIV的患者患活动性TB的人数增加。【参考文件3】 2012年，CDC收到9,945例活动性TB报告；美国约63%的活跃性TB病例是外来的，即患者出生在国外，来美国居住前就已感染。【参考文件3】

FDA认为特殊控制与《联邦食品、药品和化妆品法案》（FD&C 法案）的一般控制结合时才能为检测呼吸道样本内MTB-复合群及MTB-复合群抗生素耐药性基因突变的基于核酸的体外诊断器械提供合理的安全性和有效性保证。预计上市该类器械的制造商必须（1）遵守FD&C 法案的一般控制，包括21 CFR 807 子部分E中描述的上市前通知要求，（2）遵守21 CFR 866.3373（b）（2）中确定的特殊控制，（3）解决本指南中确定的安全性和有效性具体问题，和（4）在器械上市前从FDA获得实质等同性测定。

本指南确定检测呼吸道样本内结核分枝杆菌复合群及结核分枝杆菌复合群抗生素耐药性基因突变的基于核酸的体外诊断器械的分类法规（参考3节）。此外，本指南的其他章节列出了健康风险，并描述了缓解措施，当制造商遵守这些措施并与一般控制结合时，通常会解决与这些器械相关的风险并使上市前通知【510（k）】得到及时审查。本文件在检测呼吸道样本内结核分枝杆菌复合群及结核分枝杆菌复合群抗生素耐药性基因突变的基于核酸的体外诊断器械的上市前通知提交资料具体内容要求方面对其他FDA文件进行了补充。有关510（k）提交资料的其他信息，请参考21 CFR 807.87和器械和放射卫生中心（CDRH）器械建议：全面监管援助，网址<http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/default.htm>。

1. 范围

本文件的范围限于根据21 CFR 866.3373中鉴定和分类的器械。

**21 CFR 866.3373**–检测呼吸道样本内*结核分枝杆菌*复合群及*结核分枝杆菌*复合群抗生素耐药性基因突变的基于核酸的体外诊断器械。

1. *鉴定。*检测呼吸道样本内MTB-复合群及MTB-复合群抗生素耐药性基因突变的基于核酸的体外诊断器械是用于检测呼吸道样本内与结核分枝杆菌复合群相关核酸序列的存在的基于核酸的定性器械。与临床发现和其他实验室结果结合使用时，这些器械预期可辅助诊断肺结核和选择初始治疗方案。由于除器械检测到耐药机制外，还可能存在可能与缺少对治疗的临床回应相关的其他耐药机制，因此这些器械未提供抗生素易感性的证据。
2. 分类。II类（特殊控制）。该器械的特殊控制为：
   1. 标题为“II类特殊控制指南：检测呼吸道样本内*结核分枝杆菌*复合群及*结核分枝杆菌*复合群抗生素耐药性基因突变的基于核酸的体外诊断器械”的FDA文件，其说明如何缓解与结核分枝杆菌复合群检测相关的风险。文件的可用性见§866.1（e）。
3. 以下条款说明如何缓解与*结核分枝杆菌*复合群抗生素耐药性基因突变检测相关的风险：
   1. 器械必须适当包含外部阳性检测对照品。可接受的阳性检测对照品包括含一种或多种器械可检测耐药靶序列的*结核分枝杆菌*复合群分离菌株。
   2. 器械必须适当包含内部对照品。可接受的内部对照品可能包括与含耐药核酸序列的*结核分枝杆菌*复合群共同提取的人类核酸和扩增人类管家基因（例如RNaseP、β-肌动蛋白）的引物。
   3. 器械的预期用途中必须包括测定目标的抗生素耐药性范围，即具体药物和/或药物种类的描述。
   4. 器械标签中的具体性能特点部分必须包括检测*结核分枝杆菌*复合群抗生素耐药性突变的测定寡核苷酸的特异性信息和任何表明非特异性结合可能性的信息（例如BLAST搜索）。
   5. 证明器械性能时，贵公司必须实施：
      1. 评价以下内容的预分析研究：
         1. 如果器械性能研究中使用任何冻存样本，或贵公司器械要求使用冻存样本进行测试，测试前冰冻样本和多次冻结/解冻循环对*结核分枝杆菌*复合群的抗生素易感菌株和抗生素耐药性菌株的影响。
         2. 核酸提取方法。提取方法必须与检测*结核分枝杆菌*复合群核酸器械所用方法类似并证实抗生素耐药性基因突变的检测不受影响。
      2. 分析以下内容的分析性研究：
         1. 检测限。必须在声称器械可用于的最有挑战性基质（例如痰）中确定检测限。必须使用*结核分枝杆菌*复合群的抗生素易感菌株和抗生素耐药性菌株确定检测限。抗生素耐药性菌株必须是含特征明显耐药基因突变的菌株。
         2. 分析反应性（包容性）。必须实施测试以评价器械检测各种*结核分枝杆菌*复合群菌株中抗生素耐药性基因突变的能力。测试所用分离菌株必须具有良好的特征。必须采用信誉良好的科学机构认可并适合菌株谱系的标准化参考方法确定分离菌株特征。
         3. 实验室内（重复性）精密度测试。如果适当，实验室内精密度研究必须包含至少一种抗生素耐药性和一种抗生素易感*结核分枝杆菌*复合群菌株。
         4. 实验室间再现性测试。再现性研究方案可能因检测形式不同而有轻微变化；然而，其研究对象必须包含至少一种抗生素耐药性和一种抗生素易感菌株的*结核分枝杆菌*复合群。
      3. 临床研究。必须通过实施前瞻性临床研究证实器械的临床表现，研究应包含经培养证实患有活动性结核病的受试者。研究必须尝试招募具有抗生素耐药性*结核分枝杆菌*复合群风险的受试者；然而，可能需要包括补充抗生素耐药性追溯和人为样本。临床研究必须将器械结果与表型药物敏感性测试和基因型参考方法进行比较。基因型参考方法必须是基于聚合酶链反应的方法，并使用与试验器械不同且经双向测序证实的引物。

必须遵守21 CFR 866.3373（b）（2）中列出的与用该器械检测*结核分枝杆菌*复合群抗生素耐药性基因突变相关的风险缓解措施。

本特殊控制文件不打算用于检测MTB-复合群抗原的器械，评估宿主对MTB-复合群感染的血清或免疫反应的器械，或检测非呼吸道类型样本的器械。此外，本指南不解决用于其他预期用途器械的性能。如想获得关于不属于本特殊控制文件范围的器械的指南，可联系微生物学器械科。

1. 健康风险

FDA已经确定将假阴性和假阳性试验结果的风险（两种结果均可导致个体和公共卫生不良后果）作为需要特殊控制与本器械相关的健康风险。此外，FDA已经确定了卫生保健工作者处理样本和对照品的生物安全风险，并有可能将结核病感染传染给医护人员作为需要特殊控制的风险。下面的表1总结了这些风险及缓解这些风险的要求所在的文件。

如果检测呼吸道样本内MTB-复合群及MTB-复合群抗生素耐药性基因突变的基于核酸的体外诊断器械不能按预期表现，或试验结果解释错误可能导致误诊和患者管理不恰当。此外，器械错误可能导致流行病学信息错误，进而导致公共卫生反应效果不明显。假阳性结果可能导致对个体的可能伴有副作用的错误治疗，不必要的患者隔离，不必要的患者和公众忧虑以及不必要的患者接触者调查。假阴性结果可能导致疾病进展和将抗生素耐药性TB传染给接触者和公众的风险。

依照本指南，预计上市该类器械的制造商必须在提交上市前通知前进行风险分析，以确定针对其器械的任何其他风险。上市前通知必须描述所用的风险分析方法。如果贵公司选择使用一种替代方法缓解本指南中指出的某个特定风险，或如果贵公司或其他人确定了使用该类器械的其他可能风险，必须提供缓解这些风险所用方法的足够细节和采用该方法的理由。

表 1 –确定的风险和缓解措施

|  |  |
| --- | --- |
| **确定的风险** | **缓解措施** |
| 显示存在*结核分枝杆菌*复合群的假阳性试验结果可能导致对个体的可能伴有副作用的错误治疗。患者可能经受不必要的隔离。也可能发生不必要的接触者调查。 | 标题为 “II类特殊控制指南：检测呼吸道样本内*结核分枝杆菌*复合群及抗生素耐药性基因突变的基于核酸的体外诊断器械” 的FDA文件通过以下章节解决了该风险：  第5章节 （含特殊控制指南中规定信息的器械说明）  第6章节 （性能研究）  第7章节 （标签） |
| 结核分枝杆菌复合群的假阴性试验结果可能导致疾病进展并增加传染给他人的风险。 | 标题为 “II类特殊控制指南：检测呼吸道样本内*结核分枝杆菌*复合群及抗生素耐药性基因突变的基于核酸的体外诊断器械” 的FDA文件通过以下章节解决了该风险： |

|  |  |
| --- | --- |
|  | 第5章节 （含特殊控制指南中规定信息的器械说明）  第6章节 （性能研究）  第7章节 （标签） |
| 显示存在*结核分枝杆菌*复合群抗生素耐药性基因突变的假阳性试验结果可能导致对个体的可能伴有副作用的错误治疗。患者可能经受不必要的隔离。也可能发生不必要的接触者调查。 | 21 CFR 866.3373（b）（2） |
| *结核分枝杆菌*复合群抗生素耐药性基因突变的假阴性试验结果可能导致进展并增加将抗生素耐药性TB传染给他人的风险。 | 21 CFR 866.3373（b）（2） |
| 卫生保健工作者处理样本和对照品的生物安全风险，并有可能将结核病感染传染给医护人员 | 标题为 “II类特殊控制指南：检测呼吸道样本内*结核分枝杆菌*复合群及抗生素耐药性基因突变的基于核酸的体外诊断器械” 的FDA文件通过下面的章节解决了该风险：  第7章节 （标签） |

1. 含特殊控制指南中规定信息的器械说明

贵公司必须确保器械说明符合21 CFR 807.87的要求。510（k）提交资料必须包含提议的标签、标签和充分描述器械的广告、器械的预期用途和使用说明（见 21 CFR 807.87（e））。而且，为器械提交的提议标签必须满足21 CFR 809.10（a） 和 （b）中的要求。为满足21 CFR 807.87 （e），必须包含预期用途、可与器械共同使用的样本类型、器械的技术特点、相关法规和适当的产品代码。除满足21 CFR 809.10（a） 和 （b） 和 21 CFR 807.87（e）所需的信息外，该类器械的上市前提交必须包含以下章节中的描述性信息：

1. 预期用途

必须清晰陈述试验将用于的临床适应症，以及样本类型和试验预期用于的特定人群（例如性别、年龄、症状）和有关器械使用的任何限制。贵公司的预期用途声明也必须说明器械是定性的，且应作为其他实验室测试和临床结果的辅助工具使用。此外，预期用途声明后面必须紧接着提供以下声明：

*“只有在遵守CDC/NIH-微生物学和生物医学实验室内生物安全[[2]](#footnote-1)的安全实践和适用的州或地方性法规的实验室内才能实施【写入试验名称】试验*。*【写入试验名称】试验必须与分枝杆菌培养共同实施以解决出现假阴性结果的风险并恢复生物体供进一步的特性描述和药物敏感性测试。”*

1. 测试方法学

贵公司必须包含以下适用于器械的测试方法学要素：

1. 采用的具体测试方法（例如实时聚合酶链反应（PCR）、转录介导的扩增技术、基于核酸信号扩增技术）。
2. 有关测定寡核苷酸的其他信息，包括：
   * 所选寡核苷酸的原理，包括所用特异序列的清单。
   * 区分MTB-复合群的寡核苷酸的特异性和任何表明非特异性结合可能性的信息。
   * 判定生成共有序列，最佳修改或两者对现存序列的一致性（例如，使得几种菌株的同源性最大化）。
   * 有关尺寸、鸟嘌呤-胞嘧啶含量、解链温度、发夹或其他二级结构（如果有）以及测定寡核苷酸基因组图上的核苷酸位置的信息。
3. 检测程序步骤 （例如，移液、培养、洗涤和混合）。
4. 收集和加工每种样本类型的方法。
5. 提供或建议使用的试剂组分，和其在系统内的功能（例如，固相载体、缓冲剂、荧光染料、化学发光试剂、底物、轭合物、其他试剂）。
6. 适当情况下，器械和任何非标准设备或方法的插图或照片。

如果适用，贵公司提交必须描述解决或缓解风险（例如因与检测MTB-复合群的基于核酸的程序相关的样本污染导致的假阳性结果风险）的器械设计控制规范。设计控制规范必须含以下内容：

1. 为确保试验结果准确的阳性对照、阴性对照和抑制对照。
2. 将与检测系统指定试剂一同使用的经确认的核酸提取方法。必须分别描述器械预期用途声明中包含的每种样本类型应采用的提取方法。
3. 优化推荐工具的试剂和试验程序的方法。
4. 使医疗保健人员可接触的风险最小化的设计特征。

贵公司的510（k）提交必须提供支持符合器械设计要求的性能信息。

1. 工具 – 硬件和软件

贵公司的510（k）提交必须提供软件文件，包括：

* + 清晰描述如何将原始信号转变为结果，包括调整背景信号进行标准化。此外，必须描述鉴定和管理预期问题的软件控制措施。
  + 取决于贵公司软件关注程度（轻微、中等或严重）的信息。关注程度必须由无缓解措施情况下的危险分析确定，即必须在假装没有单个危险缓解措施的情况下进行危险分析。提交中必须陈述为软件器械确定的关注程度。该类型器械的关注程度预期通常为中等。软件缺陷，例如如果医疗保健提供者和患者得到错误试验结果信息，可能导致患者损伤。关注程度是由与器械运行相关的软件操作对患者或操作者的影响程度决定的，定义如下。
  + **严重 -** 如果故障或潜在缺陷可直接导致患者或操作者死亡或严重损伤，则关注程度为严重。如果故障或潜在缺陷，通过错误或延迟的信息或通过保健提供者的行为间接导致患者或操作者死亡或严重损伤，关注程度也为严重。
  + **中等 –** 如果故障或潜在设计缺陷可直接导致患者或操作者轻微损伤，则关注程度为中等。如果故障或潜在缺陷通过错误或延迟的信息或通过保健提供者的行为间接导致患者或操作者轻微损伤，关注程度也为中等。
  + **轻微 -** 如果故障或潜在设计缺陷不太可能对患者或操作者造成任何损伤，则关注程度为轻微。

为满足本项目且取决于器械软件类型关注程度的所需软件文件，请参阅下表2。

表 2 - 基于关注程度所要求的文件

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **软件文件** | **轻微关注** | **中等关注** | **严重关注** |
| 关注程度 | 表明关注程度的声明和对判定关注程度的依据的描述。 | | |
| 软件说明 | 对软件特点和操作环境的总结概述。 | | |
| 器械危险分析 | 用表格说明已确定的硬件和软件危险，包括严重性评估和缓解措施。 | | |
| 软件要求规范 （SRS） | 总结SRS中的功能需求。 | 完整的 SRS 文件。 | |
| 设计架构图 | 无需提交任何文件。 | 详细描述功能单元和软件模块。可能包括状态图及流程图。 | |
| 软件设计规范 （SDS） | 无需提交任何文件。 | 软件设计规范文件。 | |
| 可追溯性分析 | 要求、规范、确定的危险和缓解措施以及验证和确认（V&V）测试中的可追溯性。 | | |
| 软件开发环境描述 | 无需提交任何文件。 | 总结软件生命周期开发计划，包括总结配置管理和维修活动。 | 总结软件生命周期开发计划。开发过程中产生的控制文件的带注解清单。包括配置管理和维护计划文件。 |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 验证和确认文件 | 软件功能测试计划，合格 / 不合格标准 和结果。 | 单元、集成和系统层面的V&V活动的描述。系统层面测试方案，包括合格/不合格标准和测试结果。 | 单元、集成和系统层面的V&V活动的描述。单元、集成和系统层面测试方案，包括合格/不合格标准、测试报告、总结和测试结果。 |
| 修订史 | 修订史记录，包括发行版本号和日期。 | | |
| 未解决的异常 （漏洞或缺陷） | 无需提交任何文件。 | 剩余软件异常的清单，并注明其对安全性或有效性的影响，包括操作者使用和人为因素。 | |

* 开始临床研究前，硬件和软件部件配置必须与器械最终版本的预期配置非常相似或完全相同。完成临床研究后，但在器械获得批准并分销前，如果硬件或软件发生任何重大变更，必须实施风险评估并纳入510（k）提交内。

以下是参考文件可能有助于在符合FDA法规的良好软件生命周期实践中开发和维护新器械：

* 标题为“软件确认的通用原则；行业和FDA工作人员最终指南”的指南，网址<http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/uc>[m085281.htm](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm085281.htm)；
* 标题为“医疗器械使用现成软件”的指南，网址<http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm073779.pdf>；
* 标题为“[医疗器械包含软件的](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm089543.htm)[上市前提交资料内容指南](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm089543.htm)” 的指南，网址<http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/uc>[m089543.htm](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm089543.htm)；
* [21 CFR 820.30](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=820.30) 子部分 C – 质量体系法规设计控制；
* ISO 14971-1；医疗器械 – 风险管理- 第 1部分：风险分析应用；以及
* AAMI SW68:2001；医疗器械软件-软件生命周期过程

对于测量多重信号的工具和系统及其他复杂实验室工具，请咨询微生物学器械科。

1. 对照品

如果适用，贵公司器械的510（k）提交中必须包含以下描述的对照品。依据测试方法学的不同，贵公司可能不需要包含本章节推荐的每种类型的对照品。贵公司必须规定对照品的供应商并制定计划为对照品提供持续的可用性。当实施描述的性能研究时（见第6章节），贵公司在分析性研究和临床研究持续期间必须使用适当的样本类型实施外部对照试验。

1. 阴性对照

*空白或无模板对照*

空白或无模板对照，包含缓冲液或样本运输培养基和所有测定组分，靶核酸除外。这种对照用于排除靶核酸污染或扩增反应中背景增加的情况。对于在单项检测，一次性检测盒或检测试管中实施的测定，可能无需进行这种对照。

*阴性对照*

阴性样本对照用于评价完整的测定程序，包括提取。这种对照的阴性结果证实无靶序列时不获得信号（例如由于非特异性引发或检测）。可接受的阴性样本对照材料包括：

* + 来自MTB-复合群核酸阴性个人的混合样本。
  + 含非靶标分枝杆菌生物体的混合样本（例如掺入*戈登分枝杆菌的*MTB-复合群核酸阴性样本）。
  + 替代阴性对照品（例如含非靶标包封核酸的模拟痰液）。

1. 阳性对照

*完整测定的阳性对照*

阳性对照含靶核酸，并用于检验整个测定过程，包括样本溶解、核酸提取、扩增和检测。设计这种对照的目的是模仿患者样本并作为独立的测定实施，与患者样本同时进行，频率由实验室的质量体系决定。可接受的阳性测定对照品包括含器械可检测靶序列的MTB-复合群分离菌株。

*扩增和检测的阳性对照*

扩增和检测的阳性对照含处于或接近定性测定检测限（LoD）的纯化靶核酸且通常不是通过样本溶解或核酸提取过程获得的。获得阴性结果时，其验证反应成分和工具的完整性。也表明如果靶标存在于样本溶解产物或提取的样本中，则可检测到靶标。这种类型对照品包括含靶序列的非传染性DNA质粒，或来自MTB-复合群分离菌株的纯化全长双链基因组DNA。对于以核糖体RNA为靶标的测定，包装的RNA也是一种适当的对照品。

在含有完整测定阳性对照品的情况下，将不需要为扩增和检测提供单独的阳性对照品。

1. 内部对照

内部对照是指与靶核酸共同提取和/或共同扩增的非靶核酸序列。它对照试剂完整性（例如聚合酶、引物等），设备功能（例如热循环仪）和样本中抑制剂的存在。可接受的内部对照品包括：

* + 与MTB-复合群共同提取的人类核酸和扩增人类看家基因（例如RNaseP, β-肌动蛋白）的引物。
  + 含样本溶解和提取之前或之后添加至样本的非靶核酸的非感染性DNA质粒。
  + 样本溶解和提取之前添加至样本的完整的非MTB复合群生物体。
  + 对于以核糖体RNA为靶标的测定，包装的RNA可作为对照品。

需基于每种特定器械的具体情况确定是否需要该类对照。其他信息可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*【参考文件 4】。

1. 提取对照

提取对照是验证MTB-复合群分离菌株溶解和随后的核酸隔离高效进行的外部对照。提取对照品包括含靶序列的MTB-复合群菌株，或已知为MTB-复合群阳性的临床样本。完整测定的阳性对照或内部对照，可作为提取对照。

1. 辅助试剂

辅助试剂是指测定制造商在器械标签中指定的“需要但未提供”的试剂，以便按照说明书中所示的使用说明进行检测。。该类器械关注的辅助试剂是指贵公司指定产品目录或产品编号，或其他特定名称，以便器械达到其标签上性能特点的试剂。例如，如果器械标签指定使用某品牌核酸扩增酶，且使用任何其他核酸扩增酶可能改变器械的性能特点，使其不同于标签中报告的性能特点，则某品牌核酸扩增酶就是一种需关注的辅助试剂。相比之下，如果器械需要使用95%乙醇且任何品牌的95%乙醇都能使器械达到标签中提供的性能特点，则95%乙醇不是本文件所指的需关注辅助试剂。

如果器械的使用说明书指定需关注辅助试剂，贵公司的提交中必须说明贵公司如何确保用器械和这些辅助试剂得到的检测结果与上市前提交中描述的性能一致。应仅推荐使用经决定符合贵公司检测质量标准的辅助试剂且必须尽一切努力将辅助试剂纳入贵公司质量体系。这可能包括应用质量体系方法、产品标签和其他措施。贵公司的510（k）提交必须解决以下描述的要素：

1. 器械风险评估中的辅助试剂使用，包括与试剂质量和可变性管理相关的风险，与辅助试剂直接一同提供的使用说明书与器械提供的使用说明书之间存在不一致的相关风险以及可能导致使用器械获得错误结果的风险的任何其他问题。
2. 作为风险评估的一部分，贵公司的提交必须说明预期如何通过对辅助试剂执行任何必要的控制措施缓解风险。适用情况下可能包括：
   * 保证恰当使用辅助试剂的用户标签（进一步讨论见第**7.d.章节–使用说明**）；
   * 评估用户遵守关于辅助试剂的标签说明的计划；
   * 辅助试剂的材料质量标准；
   * 指出能使贵公司器械适当性能的试剂批次（例如，如果指定的辅助试剂只有某些批次适合使用，标签中必须指出这些批次）；
   * 稳定性测试；
   * 解决用户技术问题和担忧的计划（例如电话求助热线）；
   * 纠正预防措施；
   * 涉及辅助试剂的将影响器械性能的问题发生时，用于警告用户的计划；以及
   * 为保证按照器械的使用说明书，结合指定的辅助试剂，安全并有效运用贵公司的测试，必须解决的任何其他问题。

另外，贵公司必须提供测试数据，证明贵公司提供或推荐的质量控制足以检测辅助试剂的性能或稳定性问题。

1. 使用贵公司器械的测试程序

贵公司必须详细描述适用于器械预期用途的工作原理 。必须详细描述测试条件、程序和设计控制，旨在为可导致假阳性和假阴性结果或存在生物安全风险的条件提供安全保护措施。这些包括（但不限于）并入使用说明中的以减轻与测试相关风险的程序、方法和惯例（见**第7章节**-**标签**）。

1. 解释和报告测试结果

贵公司的510（k）提交必须描述如何确定阳性、阴性、模棱两可（如果适用）或无效结果和如何解释这些结果。必须指出测定过程所有输出结果的cut-off值并包含以下信息：

* + 特别地，贵公司必须提供界定测定阴性结果的cut-off值。如果测定仅有两种输出结果（例如检测到和未检测到），则此cut-off值也界定测定的阳性结果。
  + 如果测定存在模棱两可的区域，必须提供模棱两可区域的cut-off值（范围）。
  + 如果测定结果无效，必须描述如何定义无效结果。

如果器械的正确操作涉及重新检测模棱两可结果，则器械标签中必须提供：（1）关于重新测试是否应从制备相同核酸、重新提取或收集新的患者样本开始的建议，和（2）通过结合初始模棱两可结果和重新测试结果确定最终结果的算法。必须在评价测定临床性能的关键临床研究开始前制定该算法。

器械标签必须提供建议说明出现无效结果后实验室应如何继续操作（即报告结果为无效还是推荐重新测试）。如果推荐重新测试，则器械标签中必须包含与模棱两可结果重新测试信息类似的信息（即重新测试是否应从制备相同核酸、重新提取或收集新的患者样本开始）。

1. 性能研究
2. 通用研究建议

该类器械的510（k）提交必须包含对测定开发期间所用方案的完整描述，以便FDA准确解释贵公司申请内包含的验收标准和数据总结（适用时采用表格形式）。如果参考临床和实验室标准协会（CLSI） 方案或指南，必须说明遵守了方案或指南的哪些具体方面。也可以引用已发表文献中的相关结果。

开始临床研究前，请联系微生物学器械科以获得有关计划研究的反馈并确认这些研究将支持提议的器械预期用途。此外，如果贵公司考虑器械应用于护理点设置并得到批准，请在器械开发早期联系微生物学器械科。

1. 分析性研究

适于该类器械的分析性研究取决于与新器械相关的潜在技术、工作原理和可用科学证据。必须进行以下分析性研究；然而，根据器械具体特征的不同，请注意可能还需要进行其他分析性研究：

1. 核酸提取

不同的提取方法可能产生不同数量和质量的MTB-复合群核酸。因此与器械一同使用的（或作为器械一部分的）提取方法对取得成功的试验性能至关重要。由于样本在人类基因组DNA和非靶标生物体的背景中可能含有低分枝杆菌负荷，以及高水平的蛋白质和其他污染物，因此来自临床样本的MTB-复合群核酸的纯化可具挑战性。

由于这些原因，如果推荐与器械一同使用多种可能的提取方法，贵公司必须评价不同提取方法对测定性能的潜在影响。这必须包括展示采用每种提取程序时测定的LoD和再现性（见第**6（b）（2）章节-分析敏感性（检测限）**）。含外部中心的研究（包括再现性和临床研究）必须采用预期纳入上市产品标签的提取程序。如果将研究不同样本类型并纳入器械预期用途中，则必须采用最有挑战样本类型实施每种提取方法的LoD和再现性研究。

无论贵公司是想在试剂盒中实际提供核酸提取和制备试剂，还是简单地推荐使用适当的试剂，都必须执行这些评价。可在不同临床中心研究不同的提取方法。如果贵公司的研究中预期采用不同提取方法，则必须对每种提取方法进行分析性评价（即通过LoD和再现性测试），以证明采用不同提取方法时器械性能相似。例如，如果正在研究三种不同提取方法，则再现性研究可设计为每个测试中心评价一种提取方法（例如中心1评价A提取方法，中心2评价B提取方法和中心3评价C提取方法）。如果结果显示每个临床测试中心（采用不同核酸提取方法）的提取方法之间不具等同性，则必须在开始临床试验前与微生物学器械科讨论该结果。

如果提议多种可与器械一同使用的提取方法，则临床性能试验期间每种方法必须得到至少一个临床中心的采用。

1. 分析敏感性*（检测限）*

贵公司必须使用*结核分枝杆菌*和*牛分枝杆菌*临床分离菌株的梯度稀释液确定器械LoD。分离菌株必须是来自美国疾病控制与预防中心（CDC）、美国模式培养物保藏中心（ATCC）和德国微生物和细胞培养物保藏中心（DSMZ）等机构的特征明显的菌株。必须为预期用途中包含的每种样本类型实施测试。

贵公司的LoD研究必须测试每种稀释液的三到五份样本并持续3到5天以检查可能的器械变化性。必须估计器械LoD，用检测率为95%的每种MTB-复合群菌株的水平表达。必须准备至少20份处于LoD浓度的稀释液以证实估计的LoD并证明95%次数能检测到MTB-复合群菌株。要求确定LoD的参考方法是铺板计数细菌集落形成单位（CFU）。CFU必须基于实际铺板的菌落计数和细菌计数，而不是从估计的细胞/mL数（即麦氏单位）推断的理论计算。LoD也能以每种稀释液的基因组DNA拷贝数/mL呈现；然而，执行LoD研究时仍需要完整生物体。如果预期使用基因组等同物/mL描述LoD研究结果，请在器械开发早期咨询微生物学器械科。

对于用呼吸道样本进行的研究，我们要求与连续稀释的每种MTB-复合群菌株一同使用的MTB-复合群阴性呼吸道样本或模拟呼吸道样本进行研究。可使用生理盐水、黏蛋白和人类细胞人为制备模拟痰液样本。如果LoD研究选择使用模拟痰液样本，必须实施分析性样本等同性研究，以证明贵公司的测定将使用天然样本和模拟样本产生等同结果。

设计LoD研究时，贵公司可参考CLSI文件EP17-A，*检测限和定量限的确定方案*【参考文件 5】。

1. 分析反应性（包容性）

贵公司必须证明器械可检测出代表MTB-复合群全球基因多样性的MTB-复合群菌株。包容性研究中所用MTB-复合群分离菌株的浓度水平必须等于或接近具体LoD或cut-off值且必须用铺板计数细菌CFU证实。必须使用由信誉良好的科学机构认可的标准化参考方法确定分离菌株特征。贵公司的提交也必须引用证明所有菌株含相关靶标的文献。

贵公司必须证明器械可检测出以下MTB-复合群分离菌株，包括：*结核分枝杆菌、牛分枝杆菌、牛分枝杆菌*BCG*、田鼠分枝杆菌、山羊分枝杆菌。*

此外，必须证明器械可检测出代表*结核分枝杆菌*菌株家族的分离菌株。如果所选菌株可能难以研究，用*in silico*测试替代包容性测试也可接受。关于*in silico*测试是否适用于器械，请在器械开发早期咨询微生物学器械科。

1. 分析特异性
2. **交叉反应性**

以下列出的是用于交叉反应性研究测试的微生物。交叉反应性研究必须包含已知与某些MTB-复合群靶标（例如*隐藏分枝杆菌和熊本分枝杆菌*）有交叉反应的分枝杆菌菌株，其他与MTB-复合群菌株相关的分枝杆菌菌株，常见的口腔和呼吸道共生体和病原体，入选真菌和入选病毒。必须使用浓度至少为106 CFU/mL的分枝杆菌、真菌和细菌；至少有105空斑形成单位（PFU）/mL的病毒；以及至少有106原体（EB） 或包涵体形成单位（IFU）/mL的噬衣体属（衣原体）实施交叉反应性研究。必须证实微生物一致性，且必须基于实际计数计算出所测试的浓度，而不是从估计（例如麦氏单位或吸光度读数）推断的理论计算推断出来。

如果所选微生物可能难以研究，用*in silico*测试替代交叉反应性测试也可接受。关于*in silico*测试是否适用于器械，请在器械开发早期咨询微生物学器械科。

种类 1：分枝杆菌

|  |  |
| --- | --- |
| *脓肿分枝杆菌* | *麻风分枝杆菌* |
| *亚洲分枝杆菌* | *玛尔摩分枝杆菌* |
| *鸟分枝杆菌* | *海分枝杆菌* |
| *隐藏分枝杆菌* | *类龟分枝杆菌* |
| *龟分枝杆菌* | *瘰疬分枝杆菌* |
| *转黄分枝杆菌* | *猿分枝杆菌* |
| *偶然分枝杆菌* | *耻垢分枝杆菌* |
| *胃分枝杆菌* | *苏尔加分枝杆菌* |
| *戈登分枝杆菌* | *土地分枝杆菌复合群* |
| *胞内分枝杆菌* | *抗热分枝杆菌* |
| *堪萨斯分枝杆菌* | *次要分枝杆菌* |
| *熊本分枝杆菌* | *蟾蜍分枝杆菌* |

**种类 2：真菌**

|  |  |
| --- | --- |
| *白色念珠菌* | *烟曲霉* |
| *光滑念珠菌* | *皮炎芽生菌* |
| *克鲁斯氏念珠菌* | *荚膜组织胞浆菌* |
| *新生隐球菌* | *青霉菌属* |
| *近平滑假丝酵母* | *根霉菌* |
| *热带念珠菌* | *丝孢菌属* |

**种类 3：病毒**

|  |  |
| --- | --- |
| 腺病毒 | 鼻病毒 |
| 人类免疫缺陷病毒 | 风疹病毒 |
| 人类流感病毒（A型和B型） | 麻疹病毒 |
| 人偏肺病毒 | 腮腺炎病毒 |
| 人类副流感病毒（类型1、2、3、4） | 水痘-带状疱疹病毒 |
| 呼吸道合胞体病毒 |  |

**种类 4：细菌**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| *衣氏放线菌* | *金格杆菌* | *路邓葡萄球菌* |
| *鲍氏不动杆菌* | *肺炎克雷伯氏菌* | *马链球菌* |
| *乙酸钙不动杆菌* | *产酸克雷伯氏菌* | *肺炎链球菌* |
| *脆弱拟杆菌* | *乳酸杆菌* | *酿脓链球菌* |
| *蜡样芽胞杆菌* | *嗜肺军团菌* | *无乳链球菌* |
| *枯草芽孢杆菌* | *米克戴德军团菌* | *唾液链球菌* |
| *洋葱伯克霍尔德菌* | *明串珠菌属* | *嗜麦芽寡养单胞菌* |
| *肺炎嗜衣原体（衣原体）* | *单核细胞增多性李斯特氏菌* | *环圈链霉菌* |
| *弗氏柠檬酸杆菌* | *卡他莫拉菌* | *韦荣球菌属* |
| *梭菌属* | *肺炎支原体* | *草绿色链球菌（最少有5种）* |
| *白喉棒杆菌* | *干燥奈瑟菌* | *小肠结肠炎耶尔森菌* |
| *杰氏棒杆菌* | *脑膜炎奈瑟氏菌* | *诺卡菌* |
| *假白喉棒杆菌* | *奈瑟氏淋球菌* | *巴西诺卡菌* |
| *啮蚀艾肯菌* | *粘液奈瑟氏球菌* | *豚鼠耳炎诺卡菌* |
| *肠杆菌科（包括ESBL和KPC生产者）* | *乳糖奈瑟球菌* | *马红球菌* |
| *产气肠杆菌* | *乳酸片球菌属* | *束村氏菌属* |
| *阴沟肠杆菌* | *消化链球菌属* |  |
| *粪肠球菌* | *奇异变形杆菌* |  |
| *屎肠球菌* | *普通变形杆菌* |  |
| *大肠杆菌* | *绿脓杆菌* |  |
| *梭杆菌属* | *粘质沙雷氏菌* |  |
| *流感嗜血杆菌* | *金黄色葡萄球菌* |  |
| *副流感嗜血杆菌* | *表皮葡萄球菌* |  |
| *副溶血嗜血菌* | *溶血葡萄球菌* |  |

1. **干扰物质**

必须实施全面的干扰研究。相关干扰物质包括（但不限于）内源性物质（如血液和粘液）和外源性物质（如可能分泌至呼吸道分泌物中的局部鼻、喉用药和口服药）。以下表3呈现了潜在的干扰物质。作为最低限度，贵公司的干扰研究必须包括每种所列物质或级别的一种代表物。

贵公司必须在目标浓度接近测定cut-off值的模拟基质中评价每种处于最高医学相关浓度（最坏情况）的干扰物质；如果未观察到重大影响，则无需对较低浓度的干扰物进行测试。

其他信息可参考CLSI 文件 EP07-A2，*临床化学中的干扰试验*【参考文件6】。

表 3. 干扰试验的物质和级别

|  |  |
| --- | --- |
| **物质和级别** | **活性成分** |
| 麻醉药（气管插管术） | 利多卡因 |
| 抗菌剂，全身性 | 妥布霉素，阿莫西林，左氧氟沙星 |
| 抗生素，鼻用软膏 | 莫匹罗星 |
| 抗结核药 | 异烟肼，利福平，吡嗪酰胺，乙胺丁醇片，链霉素 |
| 抗病毒药 | 扎那米韦 |
| 血液（人类） |  |
| 支气管扩张剂 | 盐酸麻黄碱，肾上腺素，茶碱 |
| 胃酸 |  |
| 顺势疗法过敏缓解药 | 刺荨麻，白毛茛，款冬，茶树油 |
| 人类 DNA |  |
| 吸入支气管扩张剂 | 硫酸沙丁胺醇，福莫特罗，布地奈德 |
| 活体流感病毒疫苗，鼻内（FluMist®） | 活体流感病毒疫苗 |
| 漱口水和漱口液\* | 桉油精，甲基，水杨酸盐，百里香酚，西吡氯铵，变性酒精 |
| 粘蛋白：牛颔下腺，I-S类型 | 纯化粘蛋白 |
| 鼻用皮质类固醇 | 倍氯米松，地塞米松，氟尼缩松，去炎松，布地奈德，莫米松，氟替卡松 |
| 鼻用凝胶（顺势疗法） | 具盖丝瓜，硫磺 |
| 鼻用喷雾或滴鼻剂 | 苯肾上腺素，羟甲唑啉，含防腐剂氯化钠 |
| 雾化液（高渗盐水） | 氯化钠（3-5%） |
| 口服麻醉剂/ 止痛剂 | 苯佐卡因，薄荷醇 |
| 口服祛痰剂 | 愈创甘油醚 |
| 生理盐水 | 氯化钠（0.9%） |
| *耶氏肺孢子虫* 药 | 戊烷脒 |
| 样本加工试剂 | 西吡氯铵（CPC），草酸，中和缓冲液 |
| 尼古丁\* |  |
| 白血细胞（人类） |  |

\*浓度接近商用产品的或参考文献中的浓度。

1. Cut-off值 和模棱两可区域

贵公司提交必须描述如何确定并确认测定cut-off值。必须使用适当的统计方法确定测定cut-off值。例如，可提供结果分布、第95 和第99百分位数、非阴性（阳性或模棱两可）结果百分比和前导性研究中无MTB-复合群临床样本的其他描述性统计。基于临床样本前导性研究的受试者工作特征曲线（ROC）分析获得的敏感性与特异性相关水平，证明选择适当的cut-off值是合理的。有关ROC分析的细节，见CLSI 文件 GP10-A，*利用受试者工作特征曲线（ROC）平面图评估临床实验室检测的正确性。*【参考文件7】如果测定存在模棱两可区域，必须解释如何确定模棱两可区域的范围。必须在符合器械规定预期用途的独立人群中利用预先确定的cut-off值（和模棱两可区域，如果适用）确认器械性能。

1. 精密度研究
   1. **实验室内精密度（重复性）**

根据器械所用方法学确定是否需要进行精密度研究；请咨询微生物学器械科确定器械是否需要进行精密度研究。如果需要，必须利用临床研究中预期使用的工具和/或自动化部件实施这些研究。可在内部（即在贵公司自己的设施内）实施这些研究。

贵公司必须通过测试器械至少12天（不一定要连续），每天进行2次测定，每次测定每种样本至少2份相同样本来评价可变性来源（例如操作者、天数和测定次数）。在某些情况下，可能需要至少两个校准周期的测试天数。试验铺板必须由要掺入样本基质或模拟样本基质（前提是贵公司可证明使用相关样本基质和模拟样本基质时器械产生等同结果）的至少两种结核分枝杆菌菌株组成，分三种浓度水平包括：

* + - 阴性样本：无分析物样本，以致对样本的重复测试结果100%次为阴性。
    - “弱阳性”样本（C 95 浓度）：样本的分析物浓度高于临床cut-off值，以致对该样本的重复测试结果约95%次为阳性。
    - “中等阳性”样本（例如约为临床cut-off浓度的2到3倍）：样本浓度几乎可以使操作者100%次预期到阳性结果。

CLSI 文件 EP05-A2，*定量测量方法的精密度性能评价*【参考文件 8】 和 EP12-A2，*定性检测性能评价的用户协议*【参考文件9】含关于设计和执行重复性研究的进一步信息。

* 1. **实验室间再现性**

再现性研究方案可能因器械检测形式不同而有轻微变化。通常，方案必须：

* + - 在至少三个测试中心评价器械再现性；这可能包括一个内部中心。至少两个中心必须在国内。
    - 使用与上述实验室内精密度研究中描述的样本相同的样本（即阴性、弱阳性和中等阳性样本）。
    - 采用5天测试方案（不一定要连续），包括每天至少2次测试（除非工具工作量不允许每天进行多次测试），每次测试每种试验样本分为相同的3份进行测试。三个中心为每种试验样本提供的观察结果总数必须至少为90个（每个中心为每种试验样本提供至少30个观察结果）。
    - 每天每个中心至少有2名操作者实施测试。

CLSI 文件 EP15-A2，*精密度和真实度性能的用户验证* 【参考文件10】含关于再现性研究设计的其他信息。

1. 样本收集、储存和运输研究

除非所有样本预期在指定时间范围内处理为新鲜样本，否则必须研究不同储存条件下的器械性能。必须证明对于推荐储存期限内各个时间点的储存样本和在推荐温度范围的两个端点，器械产生类似结果。样本储存研究必须包括接近cut-off值的样本。除分析定性结果外，必须提供对原始信号的分析，比如循环阈值（CT）（如果适用）。

CLSI 文件 MM13-A，*分子诊断方法中样本收集、运输、加工和储存* 【参考文件 11】含关于本主题的其他信息。

1. 器械运输和器械储存研究

必须在器械暴露于与产品标签中预期包含的运输和储存条件类似的各种运输和储存条件后评价器械性能。

1. 携带污染和交叉污染研究  
   （对于需要工具的多样本检测试剂盒和器械）

对于需要工具的多样本检测试剂盒和器械，贵公司必须证明使用器械时不会发生携带污染和交叉污染。在携带污染和交叉污染研究中，必须根据器械的操作功能的模式交替测试强阳性样本与阴性样本。必须至少实施5次强阳性和阴性样本交替的测试。强阳性样本的分析物浓度必须足够高，以便从预期使用人群感染患者样本获得的结果中超过95%以上比例的结果为阳性。阴性样本必须为无分析物样本，以便该样本的重复测试结果100%次为阴性。

然后可通过比较携带污染研究中与强阳性样本相邻阴性样本的阴性结果百分比和无邻近强阳性样本时阴性结果百分比，估计携带污染和交叉污染的影响。此外，必须提供以下信息：关于阴性样本原始信号中值，携带污染研究中阴性样本原始信号中值的原始信号分析（如果适用），交叉污染研究和中值差异的95%置信区间。

1. 临床研究

必须通过一个（或多个）包含认为疑似患有活动性肺结核受试者的前瞻性临床研究证明器械的临床性能（即敏感性和特异性）。对于可能利用回顾性或库存样本以补充前瞻性研究中受试者样本的提议研究，请在研究开始前咨询微生物学器械科。

据预计痰液是这些器械测试的最常见呼吸道样本类型；因此贵公司研究必须提供统计数据（见6.c.（5））以证明器械对于痰液样本的性能可接受。分析时结合诱导痰液和咳出痰液样本可接受。如果器械预期也可检测支气管样本，请与微生物学器械科讨论提议的研究。[[3]](#footnote-2)认为气管吸出物与痰液相当，不需要单独研究。

必须在器械开发早期确定器械预期直接检测呼吸道样本还是检测经过样本加工后的[[4]](#footnote-3)（即消解-净化-浓缩）样本并在研究方案中清晰陈述该信息。如果器械预期可测定直接检测样本和经过加工的样本，则临床研究必须包含直接样本和加工后样本。

必须在器械开发早期确定预期适于器械的样本加工方法（例如N-乙酰左旋半胱氨酸-氢氧化钠、草酸、西吡氯铵）并在研究方案中清晰陈述该信息。如果预期多于一种样本加工方法适用于器械，则临床研究中必须评价每一种方法。

对于每例受试者，必须设立参考方法且试验器械必须测试至少两个样本。可等分两个独立的受试者样本或从每例受试者中收集四份独立样本以满足需要。如果同一研究中需同时测试未加工和加工的呼吸道样本，则两个样本必须一个作为直接样本，另一个作为处理样本由器械进行检测。

这些呼吸样本必须通过方法（例如直接或已加工）在受试者内随机化，或遵守固定顺序随机化（例如对于所有受试者先测试直接样本，然后测试加工样本）。

贵公司的临床研究方案也必须清晰描述是否会平分患者样本供器械测试和参考方法测试，或使用多个患者样本。研究允许使用这两种方法，具体采用哪种方法取决于具体样本的体积。

通常，必须遵守以下临床研究原则：

* + 必须从至少三个不同地理位置收集临床样本，其中一个必须在美国。
  + 使用贵公司器械的实验室测试必须在至少三个代表器械预期使用背景的不同中心实施。实验室测试中心可与临床注册中心相同。其中一个实验室测试中心可以是制造商的实验室。
  + 参考方法测试可在中心化实验室实施。
  + 试验用器械即将检测的样本的收集、运输和测试必须由经过培训（所受培训应与销售器械使用者预期接受培训等同）的个人执行。
  + 临床登记中心和实验室测试中心必须由有资格的主要研究者进行监督。

1. 参考方法

贵公司临床研究必须将器械性能与基于培养和鉴定及样本核酸直接扩增结果得出的复合参考方法进行比较。更具体地说，复合参考方法是指用以下方法检测MTB-复合群的方法：

* 1. 分枝杆菌培养和分离菌株鉴定**AND**
  2. 使用一种FDA认可或批准的基于核酸扩增的诊断器械或一种由非FDA机构认可或批准的经确认的直接核酸PCR扩增试验及随后的双向测序进行直接样本测试。

如果贵公司使用由非FDA机构认可或批准的经确认直接核酸PCR扩增试验然后进行双向测序，则必须提供有关试验安全性和有效性的其他信息以支持机构作出试验适合使用的决定。

阳性结果是指用上述的i**或**ii检测呈阳性的样本。阴性结果是指用上述的i**和**ii检测均呈阴性的样本。

表 4：每种样本的复合参考方法结果解释

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **复合参考：** | | **复合参考方法结果解释** |
| **直接样本培养** | **直接样本 PCR** |
| + | - | + |
| - | +\* | + |
| + | + | + |
| - | - | - |

\*如果使用由非FDA机构认可或批准的核酸PCR扩增试验作为直接样本测试复合参考方法的一部分，则必须用双向测序证实阳性PCR结果。

分枝杆菌培养是指用液体培养基、固体培养基或两者分离生物体，然后使用FDA认可的分子探针、高效液相色谱技术、质谱分析法或对来自分离菌株的DNA进行测序鉴定培养出的分离菌株。

如果使用由非FDA机构认可或批准的PCR试验作为参考方法的一部分，必须提供关于所用靶标和引物的信息，任何描述其使用的参考文献并确认所用的PCR方法。PCR方法必须使用与贵公司器械不同的引物，且必须对所有PCR阳性样本进行双向测序。

贵公司可参考CLSI文件MM18-A，*DNA 靶向基因测序鉴定细菌和真菌的解释标准*【参考文件12】，关于MTB-复合群靶向基因测序的指南。

贵公司的研究方案必须包含复合参考方法确定中所用的特定测试的描述。如果复合参考方法测试在多个中心完成，而不是在单个中心实验室，则贵公司研究方案必须描述各测试中心所用方法之间的任何差异。必须描述对器械和复合参考方法中包含试验采取的所有质控措施。

尽管不直接作为参考方法测试的一部分，但贵公司必须对临床研究所含所有呼吸道样本进行荧光染色并得到抗酸涂片。这些数据必须包含在提交的基于抗酸涂片状态的器械性能亚组分析中。

由于结核病的本质，我们承认有可能小部分样本贵公司器械显示为阳性但参考方法显示为阴性。这可能是由于样本加工过程对呼吸道样本的影响造成培养时生物体生长受到抑制，或样本内生物体数量较少，而不是因为结果为实际的假阳性结果。为解决该问题，可通过在研究设计中指定涵盖随访期间对治疗的反应的临床结核病定义。【参考文件13】这项内容可作为试验性能的二级分析，可能会提高试验器械的特异性，尤其是对于高敏感性器械。

1. 研究方案

贵公司必须在研究开始前确定临床研究方案。方案必须包括完整的患者入选和排除标准、研究程序、说明进行试验的地点、详细的统计分析计划包括所用统计分析方法、确定研究样本量的理由和其他适于提供的内容。研究方案必须明确说明器械结果是否将用于患者管理；如果是，美国的研究中心可能需要提供研究器械豁免（IDE）（见下述第6（c）（3）章节）。贵公司必须使用FDA数据标准以获得病例报告表和数据分析集（如果适当）中的临床试验数据；当前CDRH数据标准见研究数据标准资源网址<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/StudyDataStandards/default.htm>。

在方案中，贵公司必须描述临床医生和实验室人员所用的盲法程序，用于确保贵公司器械的操作者对参考测定结果或来自其他诊断性评价的结果（例如抗酸涂片结果）未知且执行参考方法测试的实验室人员对贵公司器械的结果未知。

临床方案和统计分析计划中必须描述任何计划的研究数据期中分析或研究进展检查，并在开始临床研究前提交至微生物学器械科以供审核。此外，基于研究数据检查对研究方案进行的任何变更（例如由于结核病患病率低于预期，因此增加患病率高的研究中心）必须与修改方案一同提交至微生物器械科以供审核。

会公司的510（k）提交中必须包括原始研究方案的复印件，所有方案修改及任何其他相关研究信息。

可在开发阶段请求微生物学器械科审核贵公司提议的临床研究方案，作为预提交审核过程的一部分。关于与临床方案相关指南，也可参考标题为“医疗器械关键临床调查的设计考虑”的指南，网址<http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm373750.htm>。

此外，研究方案也必须指出可接受样本运输方法、储存条件和最长储存时间（如果适用）。研究病例报告表必须记录任何时间敏感性步骤（例如如果未立即测试样本，则样本储存时间多长）。方案也必须描述研究即将测试样本的收集、处理、加工和测试的安全注意事项。

1. 研究中心

贵公司必须从处于不同地理位置的至少三个不同临床研究中心收集呼吸道样本。至少一个研究中心必须在美国。

贵公司的器械必须在至少三个代表器械预期使用环境（例如检验科）的不同测试中心进行测试，并由经过与实验室背景下可能执行试验人员类似培训的检验人员操作。测试中心必须用文件记录所有质量控制结果和为超出质量控制值范围的测试进行的所有重复试验。

FDA未批准和未认可的体外诊断器械的临床调查，包括这些器械，均受FD&C法案的第520（g）章节（21 U.S.C. 360j（g））的IDE条款和实施条例的监管。贵公司必须考虑21 CFR 第812部分 （IDE）如何适用于贵公司的特定研究，并参考21 CFR第50部分（知情同意）和21 CFR 第56部分（机构审查委员会）确定其他适用要求。

1. 研究人群

参与贵公司临床研究的受试者必须为疑似患有活动性结核病且符合研究入选和排除标准的患者。过去六个月内接受结核病治疗少于7天的患者可参与研究。研究入选和排除标准必须与器械预期使用人群匹配。必须获得最小的人口统计特征集，包括年龄、性别、HIV状态（包括CD4计数和病毒载量（如果有））、其他相关医疗状况和/或药物治疗（例如烟草使用）、结核病的体征和症状（记录开始日期）和射线照相结果。也必须记录结核菌素皮试（TST）和干扰素释放实验（IGRAs）结果（如果有）。

由于儿童结核病研究的独特方面（包括可能使用胃吸出物进行诊断），想要器械临床研究中包含儿童的制造商必须在器械开发早期联系微生物学器械科。

1. 数据分析和样本量

数据分析计划必须清晰详细说明主要分析，主要分析必须基于临床试验中收集的样本。测定结果必须基于来自每例患者的至少2个独立样本。参考方法结果必须基于所有样本结果的结合（即如果依照上面的表4样本为阳性，则必须认为该患者的参考测试结果为阳性）。必须对器械结果进行连续分析（即必须确定第一个与总体参考结果不一致样本的敏感性和特异性，然后确定对组合结果与参考方法不一致的连续稀释样本的敏感性和特异性）。

数据分析计划必须包含解释所有入选受试者和所有收集样本的机制。510（k）中必须提供该信息及对未纳入器械性能分析的所有样本和受试者的解释。510（k）也必须包含用适当的表格形式表达的器械性能与复合参考方法的比较以及对预先确定的患者亚群（比如感染HIV的患者）的分析。

研究样本量必须基于提供呼吸道样本的受试者数量，而不是基于从每例患者收集的呼吸道样本数量。研究必须充分评价器械预期用途。

器械敏感性必须用总体结果呈现，且必须分别呈现器械对入选的涂片阳性和涂片阴性患者的敏感性。通常，约30%入选受试者必须为抗酸涂片阴性，且约70%入选受试者必须为抗酸涂片阳性。预期抗酸涂片阳性TB受试者的敏感性点估计值约为99%且抗酸涂片阴性受试者的敏感性点估计值不少于72%。器械对于除痰液外的呼吸道样本类型的性能（即敏感性和特异性）的点估计值必须类似或优于对痰液的结果。所有结果必须包含95%双侧置信区间；关于置信区间的计算方法，见CLSI EP12-A2。【参考文件 9】

如果测试加工和未加工两种类型样本，则必须评价两种类型样本的结果是否与贵公司的分析中可结合的两种类型样本足够相似。

对于器械特异性，95%双侧置信区间的下限必须约为96%。

1. 电子数据提交

必须用可接受的电子格式将所有研究数据包含在510（k）中；这必须包括个体患者层面的数据。数据文件必须包括所有主要变量和衍生变量，如有必要可带有适当注解或单独的码本。数据文件必须包含应用临床参考算法确定MTB*-*复合群存在得到的样本层面和患者层面结果。510（k）中也必须包含分析性研究的独立数据文件。必须充分详细地描述对数据集应用的统计方法，以便机构可复制提交中报告的结果。有关电子数据提交的指南，制造商可参考标题为“提供电子格式监管资料-总则”的指南，网址http://www.fda.gov/downloads/RegulatoryInformation/Guidances/ucm124751.pdf。

1. 标签

所有体外诊断器械，包括这些器械，均受标签的法定要求（FD&C 法案的第201（n）章节 和 第502（a）章节（21 USC § 321（n） 和 352（a）））管制，包括提供充分的使用说明和充分的警告和注意事项（FD&C法案第502（f）章节（21 USC § 352（f）））。对所有IVD器械的具体标签要求见21 CFR 第801 和 809部分。

器械标签必须包含类似以下描述的信息，以帮助缓解本指南第4章节指出的风险，确保该类器械的安全和有效使用。

贵公司器械标签必须包含以下描述的信息：

* 1. 预期用途

预期用途声明必须清晰详细地说明器械的预期用途，试验预期用于的人群和适当的器械使用的其他重要方面（例如试验是否必须与分枝杆菌培养和/或抗酸涂片结合使用）。预期用途必须清晰陈述器械仅用于辅助诊断且可能出现假阴性试验结果。基于临床研究结果得到的其他资格也可能适当。

预期用途声明后面必须紧接着提供以下声明：

*“仅在遵守CDC/NIH-微生物学和生物医学实验室内生物安全[[5]](#footnote-4)的安全实践和适用的州或地方性法规的实验室内才能实施【写入试验名称】试验*。*【写入试验名称】试验必须与分枝杆菌培养共同实施以解决出现假阴性结果的风险并恢复生物体供进一步的特性描述和药物敏感性测试。”*

* 1. 器械说明

器械说明必须简要描述器械所用测试方法学。

* 1. 一般程序

一般程序部分必须说明从获得患者样本至结果报告的整个测试过程。

* 1. 使用说明

使用说明必须清晰地系统性地描述器械使用步骤和使不准确结果风险降至最低的控制措施。标签的这部分必须包含对样本处理和测试程序生物安全注意事项的指导并清晰指出将试验处理为非传染性的程序步骤。

必须包含器械处理和储存说明及器械和任何试剂或其他部件在开放和密闭两种储存条件下的到期日。

对于涉及需关注辅助试剂使用的器械（也见本文件第5（e）章节），必须

* + - 突出强调恰当器械性能包括使用指定的具体辅助试剂。这可能包括如果不能获得具体辅助试剂，则不能使用器械的警告。
    - 确保用户能清楚鉴定适合与器械一同使用辅助试剂。
    - 确保当使用带有由辅助试剂制造商提供的使用说明书或其他警告或限制信息的辅助试剂时，器械用户理解其应遵守的使用说明书。如果辅助试剂制造商提供的说明和警告与贵公司提供的器械使用说明书有冲突，贵公司必须评估并解决用户可能错误地遵守由辅助试剂制造商直接提供的标签并可能使器械获得无效或错误试验结果的风险。我们注意到在某些情况下，器械标签中的声明可能不够充分，不能解决由该类冲突造成的风险。
  1. 质量控制

包装说明书内的质量控制建议必须包括测定时应使用的对照品和对照材料的预期结果的明确说明。如果器械内包含对照品，510（k）提交中必须包含对照品质量标准。

* 1. 警告、禁忌症、注意事项和限制

器械标签内必须含与具体器械相关的所有警告、禁忌症、注意事项和限制。作为最低要求，标签中必须包括用于某些人群时器械性能可能不同或未研究器械对于某些人群的作用的讨论（例如儿科）。如果未研究除呼吸道样本外的样本类型，标签中必须包含有关这些其他样本类型使用的具体注意事项

如果检测到或有报告称任何常用的收集材料或物质（测试前可能通过内源或外源途径引入样本）产生正干扰和负干扰，则必须把假阴性和假阳性结果的可能性作为器械的限制。

此外，必须包含以下声明，作为其中一种限制：

“【写入试验名称】试验的性能取决于操作者熟练度和对程序说明的遵守程度。实验室程序错误可能导致假阳性或假阴性结果。所有器械操作者应经过适当的器械培训。

一名经过培训的卫生保健专业人员应结合患者病史、临床体征和症状和其他诊断性试验结果解释测定结果。”

* 1. 样本收集

标签中必须说明应如何收集、储存和运输样本以及不充分或不适当的样本收集、储存、冻结/解冻循环次数和运输可能得出假阴性试验结果。标签也必须说明症状出现后应尽早收集样本，持续治疗可能会影响器械性能。

* 1. 测定结果的解释与报告

贵公司必须描述操作者必须如何解释每种可能的器械结果（例如阳性，模棱两可和阴性）。也必须描述对模棱两可样本（如果这是一种可能的器械输出）的重新测试或报告建议或对样本加工失败情况的建议（例如是否需要准备一份相同样本或新鲜样本）。也见本文件第5（g）章节 “解释和报告试验结果”。此外，必须包含表明需要立即重新测试或延迟重新测试的临床情况。

如果适用，贵公司必须提供图片和/或表格说明如何解释定性试验的结果。

贵公司标签必须声明结核病是一种必须依照州和地方性法律报告至公共卫生机构的须呈报疾病。此外，必须指出如果检测到MTB-复合群或疑似有结核病，用户应核实其机构的报告要求，并通知由适用的地方性和州法规指定的适当机构（例如州或地方性公共卫生部，美国疾病控制与预防中心）。

* 1. 性能特点

标签必须包含本文件第5和6章节中描述的研究设计和研究结果总结，帮助用户解释试验结果并理解器械性能。这部分必须包含对临床研究结果和分析性研究结果的描述。

1. 参考文件
2. 美国疾病控制与预防中心疾病概述- 人类中的*牛分枝杆菌*（牛结核病） 。消除结核病部。2011年9月9日。<http://www.cdc.gov/tb/publications/factsheets/general/mbovis.htm.>
3. 对使用直接观察法异烟肼-利福喷丁给药方案治疗潜伏性*结核分枝杆菌*感染的建议。MMWR 2011;60:1650–1653和靶向结核菌素测试和潜伏性结核病感染的治疗。MMWR 2000；49（编号RR-6）。
4. CDC MMWR，第62卷，编号11；201-205。*美国结核病报告，2012*。Atlanta, GA：美国卫生和人类服务署，CDC，2013年3月。
5. 临床和实验室标准协会。2006。传染病分子诊断方法；提议指南-第2版。MM3-A2。临床和实验室标准协会，Wayne PA。
6. 临床和实验室标准协会。2004。检测限和定量限的确定方案；已获批指南。EP17-A。临床和实验室标准协会，Wayne PA。
7. 临床和实验室标准协会。2005。临床化学中的干扰试验；已获批指南-第2版。EP07-A2。临床和实验室标准协会，Wayne PA。
8. 临床和实验室标准协会。1995。利用受试者工作特征曲线（ROC）平面图评估临床实验室检测的正确性；已获批指南。GP10-A。临床和实验室标准协会，Wayne PA。
9. 临床和实验室标准协会。2004。定量测量方法的精密度性能评价；已获批指南-第2版。EP05-A2。临床和实验室标准协会，Wayne PA。
10. 临床和实验室标准协会。2008。定性检测性能评价的用户协议；已获批指南-第2版。EP12-A2。临床和实验室标准协会，Wayne PA。
11. 临床和实验室标准协会。2005。精密度和真实度性能的用户验证；已获批指南-第2版。EP15-A2。临床和实验室标准协会，Wayne PA。
12. 临床和实验室标准协会。2005。分子诊断方法中样本收集、运输、加工和储存；已获批指南。MM13-A。临床和实验室标准协会，Wayne PA。
13. 临床和实验室标准协会。2008。DNA 靶向基因测序鉴定细菌和真菌的解释标准；已获批指南。MM18-A。临床和实验室标准协会，Wayne PA。
14. 美国胸腔学会、CDC和美国传染病学会。结核病治疗。美国呼吸和重症监护医学杂志（2003）167:603 – 62。



1. *结核分枝杆菌复合群包括以下菌种：结核分枝杆菌、牛分枝杆菌、非洲分枝杆菌、坎纳分枝杆菌、田鼠分枝杆菌、山羊分枝杆菌、海豹分枝杆菌、mungi分枝杆菌和orygis分枝杆菌。* [↑](#footnote-ref-0)
2. [http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmbl5/index.htm.](http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmbl5/index.htm) [↑](#footnote-ref-1)
3. 在预提交中描述将参与临床研究的提供非痰液样本的患者数量。非痰液样本类型的使用必须获得证明不同基质对器械性能无影响的分析性研究的支持。 [↑](#footnote-ref-2)
4. 在本特殊控制指南中，术语“已加工”或“加工”用于描述对呼吸道样本小球进行的消解、净化和离心分离。 [↑](#footnote-ref-3)
5. [http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmbl5/index.htm.](http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmbl5/index.htm) [↑](#footnote-ref-4)