**行业和食品药品监督管理局**

**工作人员指南**

**确立用于检测或诊断区分**

**人乳头瘤病毒的体外诊断器械**

**性能特征**

**发布时间：2011年11月28日**

**本文件草案发布时间为2009年9月9日**

关于本文件的问题，请联系Kate Simon博士，电话（301）796-6204，电子邮箱kathleen.simon@fda.hhs.gov 或Marina V. Kondratovich博士，电话（301）796-6036，电子邮箱marina.kondratovich@fda.hhs.gov。



**美国卫生及公众服务部**

**食品药品监督管理局**

**医疗器械与放射健康中心**

**体外诊断器械评估和安全办公室**

**微生物器械部**

**前言**

**公众评论**

贵公司可随时将供机构考虑的书面意见提交至美国食品药品监督管理局文档管理部，5630 Fishers Lane，rm. 1061, (HFA-305), Rockville, MD, 20852。电子意见提交至<http://www.regulations.gov>。请使用在《联邦公报》发表的生效通知中所列出的卷宗号标识所有意见。可能直到文件下次修订或更新时，机构才会受理评论。

**其他副本**

其他副本可从网上获取。贵公司也可以向dsmica@fda.hhs.gov发送邮件，获取指南的电子版，或向301-827-8149发送传真请求获取打印件。请使用文件编号1740标识贵公司所需的指南。

**目录**

**[I.](#_Toc479653364)****[简介](#_Toc479653364)** [1](#_Toc479653364)

**[II.](#_Toc479653365)****[背景](#_Toc479653365)** [2](#_Toc479653365)

**[III.](#_Toc479653366)****[范围](#_Toc479653366)** [3](#_Toc479653366)

**[IV.](#_Toc479653367)****[健康风险](#_Toc479653367)** [3](#_Toc479653367)

**[V.](#_Toc479653368)****[确立性能特征](#_Toc479653368)** [4](#_Toc479653368)

**[A.](#_Toc479653369)****[分析研究](#_Toc479653369)** [4](#_Toc479653369)

**[检测限](#_Toc479653370)** [4](#_Toc479653370)

**[实验室内精密度/可重复性](#_Toc479653371)** [5](#_Toc479653371)

**[再现性](#_Toc479653372)** [7](#_Toc479653372)

**[交叉反应性](#_Toc479653373)** [7](#_Toc479653373)

**[干扰](#_Toc479653374)** [9](#_Toc479653374)

**[遗留和交叉污染研究（针对有自动液体处理系统的器械）](#_Toc479653375)** [10](#_Toc479653375)

**[标本储存和运输条件](#_Toc479653376)** [10](#_Toc479653376)

**[试剂储存和运输条件](#_Toc479653377)** [10](#_Toc479653377)

**[B.](#_Toc479653378)****[临床性能研究](#_Toc479653378)** [10](#_Toc479653378)

**[指南注意事项](#_Toc479653379)** [10](#_Toc479653379)

**[预期用途](#_Toc479653380)** [11](#_Toc479653380)

**[ASC-US分类辅助预期用途（和很可能的任何其他预期用途）中常见的通用研究设计注意事项：](#_Toc479653381)** [11](#_Toc479653381)

**[ASC-US分类预期用途 – 高风险HPV测试](#_Toc479653382)** [16](#_Toc479653382)

**[ASC-US人群 – HPV基因分型测试](#_Toc479653383)** [19](#_Toc479653383)

**[辅助预期用途 – 高风险HPV测试](#_Toc479653384)** [20](#_Toc479653384)

**[辅助预期用途 – HPV基因分型测试](#_Toc479653385)** [22](#_Toc479653385)

**[C.](#_Toc479653386)****[对照](#_Toc479653386)** [22](#_Toc479653386)

**[外部对照](#_Toc479653387)** [23](#_Toc479653387)

**[内部对照](#_Toc479653388)** [23](#_Toc479653388)

**[VI.](#_Toc479653389)****[参考文件](#_Toc479653389)** [23](#_Toc479653389)

**[VII.](#_Toc479653390)****[统计分析附录](#_Toc479653390)** [26](#_Toc479653390)

**行业和食品药品监督**

**管理局工作人员指南**

**确立用于检测或检测区分**

**人乳头瘤病毒的体外诊断器械**

**性能特征**

***本指南代表食品药品监督管理局（FDA）当前对本主题的见解。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。如果贵公司希望讨论一种替代方法，请联系负责实施本指南的FDA工作人员。如果贵公司无法确定适当的FDA工作人员，请拨打本指南标题页上列出的合适的电话号码。***

1. **简介**

食品药品监督管理局发布本指南的目的是为行业和机构工作人员提供建议，进行研究以确立预期用于检测或检测区分人乳头瘤病毒的体外诊断器械（IVD）性能特征。这些器械与宫颈细胞学一同使用，以辅助进行宫颈癌筛查。其包括可检测一组人乳头瘤病毒（HPV）基因型的器械，尤其是高风险人乳头瘤病毒，以及检测一种以上HPV基因型并对其做进一步区分以指明存在哪种（哪些）HPV基因型的器械。已识别到100余种HPV基因型，其中约40种可影响生殖道【参考文件1】。HPV的“高风险”类型感染事实上被视为所有宫颈癌的必要病因【参考文件2】。约15种HPV基因型被视为致癌或“高风险”【参考文件3和20】。“高风险HPV测试”指检测但不区分不同类型HPV的HPV IVD器械，而“HPV基因分型测试” 指检测并进一步区分不同类型HPV的HPV IVD器械。本文件中，“HPV”指“高风险 HPV”，除非另有说明。

本指南提供关于食品药品监督管理局（FDA）推荐用以支持这些器械上市前应用（PMA）的研究类型的详细信息。我们建议贵公司在开始贵公司的研究前联系OIVD，以讨论贵公司器械的具体研究提案和性能目标。

本指南限制为预期确立体外诊断HPV器械性能特征的研究，这些器械用于与宫颈细胞学一同使用，进行宫颈癌筛查。其不讨论预期独立于宫颈细胞学结果使用的HPV器械。本指南特别讨论了定性检测宫颈标本中HPV核酸的器械，但很多建议也适用于检测HPV蛋白的器械。关于本指南文件中所包含内容的更多详细信息，请参见第III章范围。

食品药品监督管理局指南文件，包括本指南，均不设立法律上的可执行责任。相反，指南描述了机构当前对某一主题的见解，仅应视作建议，除非引入了具体监管或法定要求。机构指南中词语应指建议或推荐某事，而非要求。

1. **背景**

本文件提供的指南可用于确立检测或检测区分宫颈标本中人乳头瘤的体外诊断器械性能特征。这些建议适用于HPV IVD的PMA。

预期上市一种用于检测或区分人乳头瘤病毒的IVD器械的生产商必须符合联邦食品、药品和化妆品法案（FD&C法案）的通用控制条件，并在器械上市前获得上市前批准（FD&C法案第513和第515章；21 U.S.C. 360C和360e）。由于HPV诊断器械为修正后器械，可自动分类为FD&C法案513（f）（1）节下的III类器械。已分类为第 513（f）（1）节的器械需要按照FD&C法案第515章进行上市前批准。请参见FD&C法案第515（a）（2）节（需要根据第513（f）节分类为III类的器械的上市前批准）；也请参见FD&C法案第513（a）（1）（C）节（定义一种器械，其作为“需按照第515章遵守上市前批准，以提供其安全性和有效性的合理保证”）。

关于器械测试的进一步信息请参见标题为“体外诊断（IVD）器械研究- 常见问题”的指南，网址http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/Guidanc eDocuments/ucm071230.pdf，和标题为“使用不可单独识别的残余人体样本进行体外诊断器械研究知情同意指南”的指南，网址
http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/Guidanc eDocuments/ucm071265.pdf.

1. **范围**

本文件推荐的研究可用于确立检测或区分人乳头瘤的体外诊断器械性能特征。本指南限制为预期确立体外诊断HPV器械性能特征的研究，这些器械与宫颈细胞学一同使用，进行宫颈癌筛查。其不讨论预期独立于宫颈细胞学结果或在其之前使用的HPV器械。其不讨论非宫颈标本的HPV检测，如阴道和阴茎标本，或HPV感染的易感性检测。其不讨论HPV的定量或半定量试验。

作为修正后器械，HPV诊断器械科自动分类为FD&C法案513（f）（1）节下的III类器械。迄今已为HPV DNA检测器械确立了单独产品代码：MAQ，III类。本指南的建议适用于检测HPV核酸（不仅HPV DNA，还包括HPV RNA）的HPV诊断器械。很多建议也适用于利用HPV核酸以外靶标（如HPV蛋白）的HPV检测器械。因此，本指南可包含所列代码以外的后续HPV产品代码。

1. **健康风险**

未能按照预期进行的检测或区分人乳头瘤病毒的器械，或未能正确解释结果，可能导致宫颈癌筛查和治疗中有错误的患者管理决策。假阴性结果可导致宫颈癌的及时诊断和治疗延迟，使未检测到的疾病恶化，并可能增加患病率和死亡率。假阳性结果可导致很多女性接收更多不必要的筛查和可能的侵入性程序，如阴道镜和活检。最高风险HPV类型，如HPV 16和/或18的假阳性结果可导致宫颈病灶的不必要积极治疗，可能损害生育力。由于对几乎所有性活跃女性均推荐进行宫颈癌筛查，这些女性中有相当数量级进行HPV测试，假阴性和假阳性HPV所致公共健康潜在伤害的风险量极为显著。因此，确立这些器械的性能并了解与这些器械使用相关的风险，对其安全和有效使用而言至关重要。

提交给PMA以确立HPV检测器械性能的研究为确定这些器械安全性和有效性的基础。

1. **确立性能特征**
	1. **分析研究**

**检测限**

我们建议贵公司使用HPV基因组DNA或RNA转录本的系列稀释确定检测限（LOD），如适当，在样本采集缓冲液中进行。基因组DNA和/或RNA转录本可为经克隆或人工合成的材料，因为HPV无法培养。我们建议贵公司确定使用器械测试的每种HPV基因型和每种标本采集培养基的LoD。

如果贵公司的试验适用于使用液基细胞学（LBC）标本进行测试，且涉及在处理前离心宫颈细胞和除去LBC采集培养基，无论离心步骤后重悬细胞的矩阵或缓冲液为何，贵公司均应在其中进行LOD研究。如果贵公司在任意分析研究中使用了含HPV感染细胞系的LBC模拟样本（精密度如下文推荐），则贵公司还应使用这些样本类型进行LoD研究。推荐使用人上皮细胞系，如Jurkat，作为使用HPV感染细胞系（如，SiHa和海拉细胞系）设计的LBC样本中非HPV感染细胞的替代品。

我们建议贵公司首先定义信号临界值（空白限（LoB）），从而使患者样本中超出LoB的信号可指示检测到病毒。贵公司还应估计得到95%检测率的病毒水平（LOD）。请注意，临床临界值定义了临床样本中HPV测试的阳性和阴性结果，其可高于LoB，LoB分析性定义了HPV病毒是否存在。C95浓度是仅高于临床临界值的分析物浓度，因此本样本重复测试的结果在95%的时间里为阳性。当LoB用作临界值时，则浓度C95与LOD相同。对于临床临界值高于LoB的HPV试验，浓度C95可能与LoD浓度不同。

我们建议贵公司参考临床和实验室标准研究所（CLSI）文件EP17-A 【参考文件4】获取LoD研究的基本概念、设计和统计分析。贵公司可使用CLSI EP17-A中、以及Linnet和Kondratovich 【参考文件5】所述的方法，使用基底浓度样本的标准差评估LoD。或者，可使用命中率（检测到病毒的百分比）评估LoD，只要确定所测定的命中率覆盖较大部分的检测范围（0%-100%）。LoD研究应包括每种目标HPV基因型、细胞系或标本类型的系列稀释，并可使用概率元分析进行统计分析【参考文件6】。应通过制备至少20份LoD浓度的额外重复，并标明可在95%的时间里检测到病毒，以确认LoD。在两种LoD评估方法中，应在LoD研究中纳入适当的变异性来源，方法为在3-5天中检测贵公司器械2-3个批次的3-5个样本。

**实验室内精密度/可重复性**

我们建议贵公司在外部研究中心需要最小测试天数时，于室内进行以下实验室内精密度/可重复性研究。另一种选择是将实验室内精密度研究和重复性研究结合成一项单独研究，本研究在12天里于内部和贵公司的外部测试中心同时进行。

*精密度研究的标本*

为确立HPV测试的精密度，贵公司应使用已定义的分析物水平和HPV基因型创建10-20种精密度测试组成员。除含中度分析物水平的标本外，贵公司还应使用含可激发医学决策点分析物水平的样本确立性能（如下所述）。考虑以下理由以确定充分体积：1） HPV不能培养，2）临床样本的获取受限，以及3）剩余标本的完全表征可耗尽可用于测试的标本。处理本问题的一个选择是使用HPV感染的细胞系（与非HPV感染的“背景”细胞系相混合，如Jurkat），以创建模拟临床标本的测试组成员。对LBC标本而言，利用细胞系很重要，因为这可有助于解释一些因细胞不均匀混悬物的采样和处理导致的变异性。当贵公司预期声明用于检测的HPV基因型不易获取用作感染细胞系时，贵公司也可使用从HPV DNA质粒或RNA复制获取的人造测试组成员（如适用）。除这些含已定义HPV感染或HPV核酸水平的人造样本外，贵公司还应在研究组中纳入4种或以上所含信号水平可激发贵公司临床临界值的真实临床样本，加上至少一种HPV阴性样本。由于单独的细胞系和质粒不能处理临床样本中存在的所有变异性，因此需要真实临床样本。可汇总临床样本以创建足够体积和达到所需病毒水平浓度。临床标本的病毒载量不能定义，但你应通过纳入仅部分时间（本部分的精确值不关键，5%至95%阳性之间均可接受）测试为阳性和/或阴性的标本激发医学决策点【临床临界值】。通过这种方法，最终用户可观察到哪些输出信号水平有变异性等级，以及其定性结果。来源于细胞系和/或真实临床样本的测试组成员应作为真实LBC标本进行处理，从核酸提取步骤前的LBC培养基混悬液开始处理。如果贵公司希望利用由真实临床标本组成的精密度测试组（无任何模拟标本），请联系食品药品监督管理局体外诊断器械评价和安全办公室（OIVD）讨论关于此类标本额外表征的建议。

我们建议贵公司进行实验室内精密度研究，包括仪器或自动组件。贵公司应纳入变异性来源（如操作者、天数、仪器、试验运行等），包含至少12天（不必须连续），每天进行2次运行，每次运行每份样本有2份重复。这些测试天数应覆盖指示2次仪器校准周期（如适用）。贵公司应在精密度研究中评估这些不同仪器和3种实际批次之间的精密度。

对于模拟精密度测试组成员，测试组应纳入至少3种病毒载量水平的6个样本（2种HPV基因型），如下所述：

* 一种“零浓度”样本，无任何分析物。
* 一种“高阴性”样本，旨在代表低于临床确立临界值的分析物浓度，从而使本样本重复测试在约95%的时间里结果为阴性，约5%的时间里结果为阳性，C5浓度（如，实时PCR试验中，所含分析物浓度比试验临床临界值低不超过10倍）。
* 一种“低阳性”样本（C95浓度）：一种所含分析物浓度恰好高于临床临界值的样本，从而使本样本重复测试的结果在约95%的时间里为阳性。
* 一种“中度阳性”样本：一种此浓度时可预期在约100%时间里均为阳性结果的样本（如，约为临床临界值浓度的2至3倍）。

图表1



临床临界值

信号

低阳性C95

高阴性C5

**阳性结果百分比**

使用LoB作为临床临界值时，浓度C95与检测限（LoD）相同，零浓度（样本中不存在分析物）为C5 【参考文件4】。CLSI文件EP05-A2 【参考文件7】和EP12-A2 【参考文件8】包含关于设计和进行精密度研究的进一步信息。

对于实验室内精密度研究，不必须使用精确到C5或C95的高阴性和低阳性样本。如果精密度研究中高阴性和低阳性样本足够接近临界值，且临界值的标准差（或变异系数百分比（%CV））在临界值周围的范围中近似不变，则可通过本实验室内精密度研究评估C5和C95。[[1]](#footnote-0) 以本方式估计C5和C95浓度的目的是确保贵公司的精密度测试组成员能够充分激发贵公司的医学决策点。

**再现性**

再现性研究的方案可根据试验格式而有轻微变化。需注意，如果类似于上述室内精密度研究的较大型12天研究在除贵公司的室内测试外又纳入了2个外部研究中心，则不必须进行一项单独再现性研究。当贵公司的外部研究中心需要一些测试天数时，我们推荐以下方案：

* 在3个测试中心评估贵公司测试的再现性（例如，2个外部研究中心和1个内部研究中心）。
* 使用5天测试方案，包括每天至少2次运行（除非试验设计排除了每天多次运行）和每次运行每种测试组成员3份重复。
* 每天，每个机构需至少2位操作者进行测试。
* 使用以上实验室内精密度研究中所述的样本测试组（包括根据贵公司再现性研究中实验室内精密度内部研究中评估的C5和C95样本）。对于贵公司的可重复项研究，细胞系测试组成员对每次运行的处理均应从核酸提取步骤开始，每次运行进行独立提取。

对于精密度研究中（实验室内部精密度研究和再现性研究）测试的每种样本，我们建议贵公司展示信号平均值和方差分量（标准差和百分CV）。此外，贵公司应在精密度研究中纳入每种样本临界值以上和以下值的百分比。对于再现性研究，展示每个试验中心分别和合并数据的平均值和方差分量，以及高于和低于临界值值的百分比，

我们建议贵公司咨询CLSI文件，EP05-A2 【参考文件7】和EP15-A2 【参考文件9】，以获取关于再现性研究设计和统计分析的其他信息。

**交叉反应性**

我们建议贵公司使用已知会感染生殖道的其他微生物测试潜在交叉反应性，包括通过性接触传播的人类病原体。我们建议贵公司测试病毒和细菌的医学相关水平（病毒通常为105 pfu/ml或以上，细菌为106 cfu/ml或以上）。我们建议贵公司确认病毒和细菌的识别及滴度。滴度通常由供应商估计，但不保证。推荐用于进行交叉反应性研究的微生物列出如下。具体种属按照患病率和/或相关性推荐，但其他种属可能也根据申办者的判断进行测试。所选的任何其他种属均应已知会感染生殖道。如果有其他理由怀疑可能出现交叉感染性，应检测其他微生物（即，交叉感染的临床证据、所选探针/引物序列的血液学等。

对于目标为一组乳头瘤病毒（HPV）基因型但不对其进行区分的器械，贵公司应测试最密切相关和/或临床显著的非目标HPV基因型，以测试交叉反应性。对于检测一种以上HPV基因型并对其进一步区分的器械，贵公司应测试目标基因型之间的交叉反应性。由于HPV不易培养，可根据贵公司的目标分析物，将HPV基因型作为质粒中经克隆HPV DNA或体外转录本进行测试。

**表1.推荐用于进行分析特异性（交叉反应性）研究的微生物。**

|  |
| --- |
| **微生物** |
| **细菌：** | **人乳头瘤病毒** |
| *嗜酸乳杆菌* | 所有非目标的α-HPV基因型。α-HPV基因型包括：HPV 16、18、26、30、31、33、34、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、67、68，69、70、73、82、85 |
| *表皮葡萄球菌* |
| *金黄色葡萄球菌* |
| *粪链球菌* | HPV 6，11 |
| *酿脓链球菌* | 根据探针-血液学分析（如，blast检索结果），任何可能与贵公司的试验产生交叉反应的非目标生殖器HPV基因型。 |
| *无乳链球菌* |
| *棒状杆菌属* |
| *沙眼衣原体* |  |
| *淋病奈瑟菌* | **其他病毒：** |
| *大肠杆菌* | 腺病毒 |
| *肠球菌属* | 巨细胞病毒 |
| *梭菌属* | EB病毒 |
| *消化链球菌属* | 单纯疱疹病毒1 |
| *克雷伯氏菌属* | 单纯疱疹病毒2 |
| *肠杆菌属* |  |
| *变形杆菌属* |  |
| *假单胞菌属* |  |
| *拟杆菌属* | **其他：** |
| *双歧杆菌属* | 白色念珠菌 |
| *梭杆菌属* | 阴道毛滴虫 |

**干扰**

我们建议贵公司使用医学相关浓度的干扰物和至少一种与临床最相关的HPV基因型（如HPV 16或HPV 18）进行综合干扰研究，以评估宫颈标本中所见物质的潜在抑制作用。

潜在干扰物质包括但不限于以下几种：全血（人）、白细胞、避孕用品和女性卫生用品。所选产品的活性成分和/或商标名以及所检测浓度均应在贵公司的标签中提供。潜在干扰物质的示例列出如下。我们建议贵公司使用含可激发医学决策点（临床临界值周围，如，C95）分析物水平的样本测试干扰性。我们还建议贵公司评估每种潜在最高浓度的干扰物质（“最差情况”）。完成本目的的一种方法是，将一种标本采集器械直接浸入潜在干扰物质中，随后将采集器械置于一种分离测试标本的分装品中。测试无潜在干扰物的另一份分装品，从而比较成对样本之间的信号。本方法中，2份分装品（有和无潜在干扰物）均以相同方式在一次分析运行中作为有充分复制的患者标本（至少4至7份重复）进行测试。计算所观察干扰影响的估计值，作为2份分装品平均值之间差异，并计算了干扰作用的双侧95%置信区间。如果未观察到显著临床影响，不需要进一步测试。我们建议贵公司参见CLSI文件EP07-A2 【参考文件10】获取关于干扰测试的其他信息。

**表2.干扰研究推荐的物质**

|  |
| --- |
| **物质** |
| 全血（人） |
| 白细胞（1×106 细胞/ml） |
| 避孕胶冻 |
| 冲洗器 |
| 抗真菌乳膏 |
| 杀精子剂 |
| 阴道润滑剂 |
| 女性喷雾 |
| 阴道内激素 |
| 粘液 |

**遗留和交叉污染研究（针对有自动液体处理系统的器械）**

我们建议贵公司证明在贵公司推荐的使用说明下，贵公司的器械不会出现遗留和交叉污染。在一项遗留和交叉污染研究中，我们建议根据器械的运行功能，将高阳性样本与阴性样本按顺序交替使用。应使用交替高阳性和阴性样本进行5次运行。我们建议研究中高阳性样本应足够高，在预期用途人群中超过95%或高于患病患者中获得的结果。随后可估算遗留和交叉污染影响，使用与无临近高阳性样本（即，仅在板上运行阴性样本）中阴性结果的百分比相比，在遗留研究中临近高阳性样本的阴性样本的阴性结果百分比进行。详细信息请参见Haeckel 【参考文件11】。对于适用于测试残留细胞学样本的器械，应提供任何上游自动细胞学处理系统的遗留影响分析。

**标本储存和运输条件**

对于贵公司推荐的标本储存条件，贵公司应证明在整个推荐储存持续时间内几个时间点时，贵公司的器械对所储存标本可生成与时间零点等效的结果。评估的储存温度应代表贵公司推荐温度范围的每种极限。贵公司应利用贵公司预期用途中声明的标本类型和可激发贵公司试验中医学决策点的分析物水平，确立贵公司的标本储存和运输条件。

**试剂储存和运输条件**

对于贵公司推荐的试剂储存条件，贵公司应利用所储存试剂证明在整个推荐储存持续时间内几个时间点时，贵公司的器械可生成与时间零点等效的结果。评估的储存温度应代表贵公司推荐温度范围的每种极限。我们建议贵公司参见CLSI文件EP25-A 【参考文件12】获取其他信息。极速稳定性研究适用于估算试剂稳定性，但贵公司提交资料中的数据应显示真实时间性能。贵公司应利用贵公司预期用途中声明的标本类型和可激发贵公司试验中医学决策点的分析物水平，确立贵公司的试剂储存和运输条件。

* 1. **临床性能研究**

**指南注意事项**

专业宫颈癌筛选指南可帮助定义一种HPV器械将在较大患者管理方案中起到的作用，因此有助于评估一种HPV器械的任何预期用途声明及其支持数据。在本指南中将考虑的指南为2006年子宫颈癌筛查异常妇女处理的共识指南（2006共识指南） 【参考文件13】，其为宫颈癌筛查方面可用的最新共识指南。

尽管食品药品监督管理局中考虑了专业指南，给出进行HPV测试的预期用途仍主要受提交供测试批准的数据所支持，且通常受限于所评估的人群和样本类型。研究应针对于在按照HPV测试结局分层的给定人群中，确立女性的宫颈疾病风险。HPV测试的预期用途可进行更通用的书写（如以下“辅助”预期用途），以使临床医师能够按照其认为合适的方式灵活使用本风险信息，尤其是在未来宫颈癌筛查指南的开发中。

**预期用途**

贵公司器械的预期用途应驱使贵公司的临床研究设计以评估性能，因为预期用途将最终确定食品药品监督管理局将如何审查贵公司的数据。以下为一种预期用途声明的示例，可适用于本器械类型：

【商品名】 HPV测试是一种【试验技术或类型】试验，用于定性检测宫颈标本中高风险类型的人乳头瘤病毒（HPV） 【指明目标，如DNA、RNA转录本或蛋白】。试验检测的HPV类型为高风险HPV类型【列出类型 –指明测试是否可识别具体类型】。可使用【商品名】HPV测试进行测试的宫颈样本包括【插入可能使用试验测试的样本名和可能用于采集样本的采集器械类型】。

使用本测试适用于：

* + 1. 为筛查有ASC-US（未测定显著性的非典型鳞状细胞）宫颈细胞学结果的患者以确定转诊进行阴道镜检查的需要。
		2. 30岁及以上女性中，【商品名】测试可与宫颈细胞学一同使用进行辅助性筛查，以评估是否存在高风险HPV类型。本信息与细胞学病史的医师评估、其他风险因素和专家指南一同，可能用于指导患者管理。

**本指南全文中首个预期用途将称为“ASC-US分类”预期用途，第二个预期用途将称为“辅助”预期用途。**具体预期用途的研究设计注意事项描述如下，其后为更多通用研究设计建议。

**ASC-US分类辅助预期用途（和很可能的任何其他预期用途）中常见的通用研究设计注意事项：**

*美国以外研究中心的使用（21 CFR 814.15）*

如果贵公司依赖于国外临床数据支持贵公司的PMA，必须满足食品药品监督管理局要求，即数据科学有效且人类受试者的权利、安全性和福利按照21 CFR 814.15受到保护。为科学有效，贵公司的数据应适用于预期人群和美国医学实践。我们鼓励贵公司在提交前会议中与我们见面，以根据国外数据寻求批准，由此减少国外研究不能支持贵公司预期用途的风险。一些考虑领域为具体高风险HPV株系的患病率、患者筛查间期、开始筛查的平均年龄和性活动、宫颈癌风险、宫颈采样方法和种族。

*组织学审查*

食品药品监督管理局认为阴道镜检查和活检（如必须）的结果为临床研究中受试者疾病评估的临床参考标准（金标准）。贵公司可选择使用贵公司每个临床研究中心生成的组织学结果，但我们建议使用集中的三专家病理学家审查组，其很可能为贵公司的研究生成更一致且精确的疾病评估。这些病理学家应区别宫颈上皮内瘤样病变（CIN）2和3，不得出于报告目的将这2种类别结合在一起（即，不得报告“CIN2/3”的结果）。我们建议审查组确立受试者的临床参考标准（临床真理），并建议3位专家病理学家中的2位以遮掩方式独立审查切片。如果2位病理学家意见一致，应将诊断视为临床参考标准。如果无一致意见，第三位专家病理学家应以遮掩访视独立读取切片。如果3位专家病理学家诊断中有一致意见，应视为受试者的临床参考标准。如果第三位病理学家审查后仍无一致意见，所有3位专家病理学家均应在一台多头显微镜（或等效技术）下一同审查切片，尝试并达到共识诊断（如果不能达到完全共识，根据多数原则，使用3位中的2位的意见）。提交贵公司的数据是，贵公司应提供关于如何解决不一致组织学结果的信息。

*细胞学报告术语*

采集中心应利用可翻译为2001年报告宫颈细胞学Bethesda系统（2001年Bethesda系统）的细胞学报告术语，或更新的Bethesda如同（如可用，或可用时）【参考文件14】。细胞学结果应在向食品药品监督管理局报告数据前转换为2001（或更新）Bethesda系统。

*HPV基因型*

对于可检测“高风险”HPV的试验，应以下列按照世界卫生组织国际癌症研究机构（IARC）分类为“致癌”的基因型作为目标：16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58和59 【参考文件15】。如果贵公司的试验不以这些推荐高风险基因型的任何一种作为目标，贵公司应解释原因。其他基因型，如IARC视为“很可能致癌”或“可能致癌”（即，第66、68和73型）的基因型可能也被考虑入选，但这应在开始贵公司的研究前与食品药品监督管理局进行讨论。

*样本采集培养基*

我们建议贵公司对预期用途中声明的每种标本采集培养基类型（即，液基细胞学采集液的具体商标）均进行所述分析和临床研究。应分别展示每种采集培养基的临床性能。

*样本采集器械*

可能用于采集标本供贵公司器械测试的采集器械列表应在预期用途声明中进行描述，且应获批通过贵公司所指的细胞学方法进行使用。贵公司的分析研究中不需要评估每种声明的采集器械（即，采集毛刷/刮刀相比于采集刷）。然而，贵公司的临床研究中应评估每种指明的采集器械。应分别展示每种采集器械的临床性能。

*活检方法*

每项研究中对所有患者和所有研究中心利用的活检方法应一致。如果对不同适应症（即，ASC-US分类和辅助）进行了独立研究，则每项研究可能使用不同的活检方法。如果给定适应症的数据集中活检方法不同，可能导致贵公司研究中出现偏差，可能影响对贵公司在该适应症方面性能特征的正确确立。标准活检方法可有与其相关的不同变量，但这些变量应与阴道镜检查期间可视化时宫颈的表现有关，如存在或不存在可见病灶、或鳞柱状上皮交界处（SCJ）的可视性。如果需要其他变量，贵公司应在开始贵公司的研究前就其与OIVD进行讨论。请注意，有病灶和无病灶区进行的活检应在贵公司的病例报告表上区别表示。

*细胞学样本分装*

追求细胞学样本中HPV测试预期用途的申办者在设计其研究时应考虑他们应为从分装前细胞学样本（切片处理前采集的分装品）进行测试，还是从残留细胞学样本（切片处理后采集的分装品）进行工作。细胞学样本的预分装仅可在细胞学采集得到细胞学切片处理前分装品移除的批准时，方可能进行。这可确保患者细胞学测试结果不受其细胞学标本的标示外处理所影响。

或者，进行残留细胞学样本工作的申办者将需要分析性评估细胞学切片处理期间遗留的影响（参见分析研究章节的遗留和交叉污染研究）。进行放大试验且已考虑到污染的申办者可能需要使用替代标本采集系统或批准用于预分装的系统进行巩固走，以解决其污染问题。

*HPV基因分型试验的报告结果*

结果应由临床医师以可容易解释的方式进行报告。有相似风险的HPV基因型组可分组报告，而非单独报告（如适用）。

*HPV疫苗接种和研究人群*

由于在将来几年里，美国HPV疫苗接种的个体数有增长的可能，临床最相关的HPV基因型预期会随时间转变。针对此原因，除任何当前食品药品监督管理局许可的疫苗所靶向的HPV基因型外，贵公司还应考虑在贵公司的分析评估中（精密度、遗留、稳定性等）纳入临床最相关的非疫苗目标HPV基因型之一（如HPV 45或31）。

确定样本量估算值时，贵公司应考虑HPV疫苗接种个体数增加将减少美国宫颈疾病的总体患病率。估算研究样本量时，应将疫苗率和疾病患病率的当前估值考虑在内。纳入非疫苗接种个体高于平均水平的研究中心最终可能较为明智，因为全美的疫苗接种个体数可增加。请注意，本情境下，有平均水平疫苗接种个体的研究中心也需要进行评估。考虑本设计类型的申办者应在开始其研究前与食品药品监督管理局的讨论本选择。

*临床数据集中HPV检测的评估*

我们建议贵公司提供在贵公司的临床数据集中贵公司的器械检测目标HPV基因型能力的评估。进行评估的一个方法是，进行一项检测基因型与贵公司的测试相同经食品药品监督管理局批准HPV测试，或贵公司可在对贵公司的临床标本进行RCR后对扩增产物测序（PCR/测序），并将这些结果与贵公司器械的结果进行比较。使用结合了经食品药品监督管理局批准HPV测试和/或PCR/测序的复合HPV比较器也是一种选择。对于PCR/测序，我们建议贵公司对扩增产物的2个条带均进行测序（双向测序），生成的序列应符合以下所有验收标准：

* 序列包含至少100个连续碱基，
* 使用PHRED、美国应用生物系统公司KBBasecaller或类似软件测量，碱基的质量价值均为20或以上（这代表误差可能性为1%或以下）。
* 序列匹配参考或共有序列，具体目标的预期（E值）< 10-30（GenBank中的BLAST检索，http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/）。

对于进行HPV基因分型试验以确定贵公司的器械已识别到正确的HPV基因型，与RCR后扩增产物测序的比较尤其重要。请注意，不一致标本的任何其他测试均不必须，且不能用于改变协议估算值。然而，可将对不一致标本的额外测试结果作为性能表的脚注。

请注意，在2种情形下，当临床临界值设置高于LoB时，HPV测试发现样本为阴性：a）HPV测试检测到一些量的分析物（分析物水平高于LoB），但该量低于用作定义阳性和阴性结果的临床临界值（下表中的“检测到” = “LoB<信号<临床临界值”），或b）HPV测试未检测到关注的分析物。

（下表中“未检测到”=信号≤LoB）。对于HPV测试和PCR/测序（或其他有效比较器，如上讨论）的比较，请展示以上定义的HPV测试中为阴性的样本中是否检测到分析物。贵公司应在表格中分别展示ASC-US和NILM（上皮内病变或恶性肿瘤阴性）≥30人群的比较。在一份行业请求中有人询问我们如何提供本信息。表3为贵公司可用作辅助工具的格式。

**表3.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | PCR/测序 | 合计 |
| 高风险阳性 | 高风险阴性 | 未测定 |
| HPV阳性 |  |  |  |  |
| HPV阴性 | 检测到 |  |  |  |  |
| 未检测到 |  |  |  |  |
| 其他（无效/未测定） |  |  |  |  |
| 合计 |  |  |  |  |

应分别展示每个测试中心，以及分别展示每种采集培养基类型的HPV检测评估。对于HPV基因分型测试的区分，贵公司应在表格中分别展示ASC-US和NILM ≥30人群中，比较PCR/测序与所有HPV测试输出物的数据。详细信息请参见CLSI MM17-A第9章【参考文件16】。

在一份行业请求中有人询问我们如何为有5种可能结局的HPV基因分型测试提供本信息：HPV16阳性、HPV18阳性、HPV16和HPV18阳性、阴性和无效（不确定）：表4为贵公司可用作辅助工具的格式。

**表4**

|  |  |
| --- | --- |
|  | PCR/测序 |
| 高风险类型数 | 1种高风险类型 | 2种高风险类型 | 多种高风险类型 |
| 16 | 18 | 其他 | 16和18 | 16和其他 | 18和其他 | 其他 |  |
| 阳性：HPV16 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 阳性：HPV18 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 阳性：HPV16和18 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 阴性 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 其他无效/未测定 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 合计 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

**ASC-US分类预期用途 – 高风险HPV测试**

贵公司应使用代表预期用途人群（即，有ASC-US细胞学结果的患者）的标本进行预期研究，已确定所有标本类型中贵公司器械的临床性能，和贵公司在标签中声明的标本采集器械。定性测试（使用双结局，阳性或阴性的测试）的临床性能通过其灵敏度和特异性进行描述。贵公司器械的临床灵敏度为有癌前和癌症【大于或等于宫颈上皮内瘤样病变2（≥CIN2）】、贵公司的测试为阳性的个体比例。贵公司器械的临床特异性为无癌前或癌症（<CIN2）、贵公司的测试为阴性的个体比例。这些性能特征应在作为美国临床研究中心代表的最少3个研究中心进行的前瞻性临床研究中确立。

*样本采集和处理*

正确的标本采集和处理对确立HPV测试的性能特征而言至关重要。对于ASC-US分类预期用途，所研究的女性人群应从妇产科门诊进行招募。请注意，阴道镜门诊不是进行ASC-US分类评估患者的良好来源，因为前往阴道镜门诊的女性已确定需要阴道镜检查（即，已通过其他测试确定为HPV阳性，或通过细胞学重复ASC-US）。由于已知需要腹腔镜检查的女性不是HPV分类适应症的目标人群，本人群不得用于贵公司的研究，因为所衍生的性能估算值不准确。出现在腹腔镜门诊的女性人群HPV感染和宫颈疾病的患病率均较高，日期由于验证的偏差，会对器械灵敏度进行夸大。

对于应直接使用液基细胞学（LBC）标本进行的测试，也应对生成细胞学结果所用相同的LBC样本进行所有研究型HPV测试。这将使贵公司能够避免贵公司研究中的任何偏差（即，在初始细胞学样本和研究型样本采集时间之间可能消失的感染，在首份样本中除去大部分HPV感染细胞等）。尽管采集额外样本时，一种减轻采样变差的方法是将对2中样本进行的测试程序进行随机化（即，细胞学和HPV测试），对于在患者中产的细胞学结果而言，此方法不可接受。从患者中采集的首份细胞学样本应始终为用于生成细胞学结果的样本，因此本结果（以及后续的患者健康情况）不会受到损害。因此，对2份细胞学标本的随机测试不会减轻HPV研究的采样偏差。

从妇产科门诊入组患者与阴道镜门诊是一种截然相反的挑战，其可导致大量女性不属于预期使用人群的一部分。如果贵公司正在进行一项大型研究以支持多种HPV测试预期用途，明智做法是在贵公司的研究中入组所有女性，不考虑细胞学状态。另一个选择，如果ASC-US的预期用途是在单独的研究中进行的，则只将ASC-US细胞学检查结果的患者登记到您的前瞻性临床研究中。当采用后一方法时，重要的是确立一种方法用于获取最初用于生成入组ASC-US结果的初始细胞学样本，从而避免上述采样偏差。

*临床参考（“金”）标准*

贵公司的研究应设计为，来自妇产科门诊且有ASC-US细胞学的所有女性将继续进行应到经检查，不考虑HPV状态或其他因素。患者的HPV状态应对研究者、患者和临床医师（包括进行阴道镜检查和组织学检查的医师）设盲，直至完成阴道镜检查/组织学检查，以避免研究中的偏差。

筛选宫颈细胞学标本的采集和后续细胞学程序之间的经过时间不得超过12周。这些程序中经过过长时间可能导致HPV感染及其相关宫颈病灶的自发消退率高于正常值，将对贵公司估算临床灵敏度和特异性产生不良影响。

贵公司应描述临床研究中所用阴道镜检查程序的详细信息，且阴道镜检查程序的结果应分类为（阴道镜检查阴性/无活检）、活检阴性、CIN1、CIN2、CIN3和癌症。

*临床性能评估*

用于检测HPV的测试（定性测试）临床新能使用其临床灵敏度和特异性，其阳性和阴性预测值，以及预期用途人群中目标疾病的患病率进行描述。用于检测和区分HPV基因型的测试（有多种结局的测试）临床性能使用每种测试结局的目标疾病可能性，以及有每种测试结局的研究受试者百分比进行描述。

在一份行业请求中有人询问我们如何提供本信息。对于2种结局的定性测试（阳性和阴性），表5为贵公司可用作辅助工具的格式：

表5

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | 阴性阴道镜 | 中枢组织学 |  |
|  | 阴性 | CIN1 | CIN2 | ≥CIN3 |  |
| HPV阳性 | A1 | A2 | A3 | A4 | A5 | A1+A2+A3+A4+A5 |
| HPV阴性 | B1 | B2 | B3 | B4 | B5 | B1+B2+B3+B4+B5 |
| 合计 | A1+B1 | A2+B2 | A3+B3 | A4+B4 | A5+B5 | N |

贵公司的器械对于目标疾病“CIN2和以上”（≥CIN2）的临床性能应评估如下：

灵敏度=（A4+A5）/（A4+A5+B4+B5）；

特异性=（B1+B2+B3）/（A1+A2+A3+B1+B2+B3）

PPV=（A4+A5）/（A1+A2+A3+A4+A5）

NPV=（B1+B2+B3）/（B1+B2+B3+B4+B5）

≥CIN2的患病率=（A4+A5+B4+B5）/N

由于与CIN2相比，CIN3病灶最可能进展为宫颈癌【参考文件17】，贵公司的器械对目标疾病“CIN3和以上”（≥CIN3）的临床性能应表示为：

灵敏度= A5/（A5+B5）；

特异性=（B1+B2+B3+B4）/（A1+A2+A3+A4+B1+B2+B3+B4）

PPV=A5/（A1+A2+A3+A4+A5）

NPV=（B1+B2+B3+B4）/（B1+B2+B3+B4+B5）

≥CIN3的患病率=（A5+B5）/N

灵敏度和特异性的估算值、阳性和阴性预测值用于95%双侧置信区间一同提供。对于灵敏度和特异性的95%置信区间，推荐使用一种评分方法（关于评分置信区间的更多详细信息请参见统计分析附录和CLSI EP12-A2 【参考文件8】）。预测值的置信区间可根据（如果患病率为常数）相应似然比的置信区间计算（似然比的估算值为2个独立比例的比值；因此，可以使用2个独立比例比值的置信区间，参见统计分析附录）。

目标疾病≥CIN2的临床性能应按照年龄进行分层。对于 <21、21-30、30-39和39+的年龄组，患病率展示为≥CIN2、灵敏度、特异性、PPV和NPV，以及95% CI。

*样本量*

当考虑到用于ASC-US分类预期用途的样本量时，人们应考虑到ASC-US患者中所需用于确立临床灵敏度和特异性点估算值的样本数，以及95%双侧置信区间下限。宫颈疾病的临床灵敏度（≥CIN2）为HPV测试的最关键性能参数，因为假阴性HPV测试结果可导致宫颈癌检测和治疗延迟【参考文件13】。

如果贵公司器械的估算临床灵敏度和后续阴性预测值达不到HPV测试的当前预期值【参考文件13】，可能必须进行对贵公司性能数据的小组审查以对贵公司的测试进行临床有效性评估。

*临床临界值的选择*

根据使用临床样本的试点研究的接受者操作曲线（ROC）分析，可通过敏感度和特异性的相关水平进行调整，选择适当的临床临界值。所选临床临界值时HPV测试的临床性能可使用一项试点临床研究进行理想估算。一些情况下，临床临界值可使用无偏倚的程序和适当样本量，在关键临床研究期间确定。如果临床可接受的敏感度水平为预先设定（例如，敏感度水平93%-95%为预期用途人群的临床可接受水平），则可使用关键研究确立对应于预先设定灵敏度水平的临床临界值，并使用本所选临界值获取HPV测试的无偏差临床性能估算值【参考文件18，19】。

**ASC-US人群 – HPV基因分型测试**

检测和区分HPV基因型的测试通常有多种结局。例如：HPV16+、HPV18+、HPV16/18+等。前一章节（ASC-US分类预期用途 – 高风险HPV测试）描述了研究原则，以确立有ASC-US细胞学的女性中，≥CIN2的临床灵敏度和特异性，适用于双结局的高风险HPV测试（高风险HPV阳性或阴性）以及多结局的HPV基因分型测试。除了确立HPV基因分型测试的ASC-US人群中≥CIN2的临床灵敏度和特异性，每种测试结局的似然比和有每种测试结局的受试者百分比也应按如下所述确立。

在一份行业请求中有人询问我们如何提供ASC-US人群中HPV基因分型临床研究的数据。表6为贵公司可用作辅助工具的格式（所示范例有以下结局：HPV16+、HPV18+、HPV16/18+等）：

表6

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | 阴性阴道镜 | 中枢组织学 |  |
|  | 阴性 | CIN1 | CIN2 | ≥CIN3 |  |
| 阳性：HPV16 | A11 | A12 | A13 | A14 | A15 | A11+A12+A13+A14+A15 |
| 阳性：HPV18 | A21 | A22 | A23 | A24 | A25 | A21+A22+A23+A24+A25 |
| 阳性：HPV16和18 | A31 | A32 | A33 | A34 | A35 | A31+A32+A33+A34+A35 |
| …… | …… | …… | …… | …… | …… | …… |
| 合计 |  |  |  |  |  | N |

此类测试对目标疾病≥CIN2的临床性能可通过每种测试结局的似然比X和有每种测试结局的受试者百分比进行评估。测试结局的似然比X汇总了有此疾病（≥CIN2）的受试者与无此疾病的受试者相比，有特定结果X的可能性高（或低）多少倍：LR（T=X）= Pr（T=X|D+）/Pr（T=X|D-）。

* 应计算每种结局的似然比以及95%置信区间。
* 除似然比外，还应计算每种测试结局患者有≥CIN2的可能性以及95%置信区间。每种结局K的可能性计算方法：每种K的可能性（）≥CIN2|结局K）=（）AK4+AK5）/（AK1+AK2+AK3+AK4+AK5）。
* 临床数据集中每种结局的百分比也应展示如下：每种K的可能性（≥CIN2|结局K）=（AK4+AK5）/（AK1+AK2+AK3+AK4+AK5）。

此外，合并结局 HPV16/18+的≥CIN2可能性（如果HPV16+或HPV18+或二者均由，则HPV16/18定义为阳性）应计算如下：可能性（≥CIN2|HPV16/18+）=（A14+A15+A24+A25+A34+A35）/（A11+A12+A13+A14+A15+A21+A22+A23+A24+A25+A31+A32+A33+A34+A35）和有HPV16/18+结果的受试者百分比。

≥CIN2可能性的置信区间可根据相应似然比的置信区间进行计算。

通过相似访视，对于目标疾病≥CIN3，应对HPV测试的临床性能进行估算。

**辅助预期用途 – 高风险HPV测试**

*通用研究设计选择*

按照2006年共识指南，30岁及以上女性中，建议在细胞学正常的女性中主要将HPV测试作为细胞学的辅助方法。在细胞学正常的女性人群中确立贵公司器械的临床灵敏度和特异性会更复杂，因为这些女性在进行HPV测试时由于宫颈癌现有风险较低，通常不会被送往进行阴道镜检查。然而，细胞学正常的女性子集可能有未检测到的宫颈异常（≥CIN2）【参考文件20】。HPV测试可能有助于识别细胞学正常、有较高宫颈癌风险的30岁和以上女性受试者。为证明贵公司的器械能够识别本较高风险的女性子集，贵公司应如上所述，使用贵公司的试验估算本人群中阳性与阴性个体相比的≥CIN2绝对风险和相对风险。估算本预期用途人群中的绝对风险和相对风险可使用以下2中前瞻性临床研究设计中的至少一种来完成：

* + - 1. 使用贵公司的研究型器械将一个30岁和以上细胞学正常的人群表征为阳性或阴性，并确立含有效比较器HPV检测器械的协议，如食品药品监督管理局批准的HPV检测器械，或基线时PCR/测序；随后以每年一次为间期对这些女性进行至少3年的随访。参见上文标题为“临床数据集中HPV检测的评估”的章节，获取在HPV检测方面与前瞻性临床数据集基线分析相关的更多详细信息。随访期间所有出现异常细胞学（≥ASC-US）的女性均应被送往进行阴道镜检查，无论其HPV状态如何。与下列选择2不同, 本研究设计中不将细胞学正常的女性送往进行腹腔镜检查，尤其是如果送往进行腹腔镜检查的决定基于基线访视时或随访期间的研究型或已批准HPV测试结果[[2]](#footnote-1)时（这对避免偏差而言很重要）。请注意，如果女性在研究期间任何时间出现≥CIN2的阴道镜检查结果，则随访结束，这些女性被视为“疾病阳性”。进行腹腔镜检查但<CIN2的女性应在剩余研究持续时间里继续接受随访。数据应表明，入组时贵公司的器械测为阳性或阴性的女性中，在≥CIN2的相对风险方面，有统计学和临床显著差异。此外，如果基线时贵公司的测试为阴性的女性在3年时绝对风险≥CIN2，应进行评估，并计算95% CI。数据应证明本绝对风险足够低，以确保贵公司的测试可安全用于30及以上女性的辅助筛查。此外，展示 ≥CIN2的总体风险（不考虑基线时的HPV状态）。数据分析应按照年龄组分层（30-39岁和40岁以上）。本研究的纵向随风部分可能在批准后进行（更多详细信息请参见下文“纵向随访”）。
			2. 基线时使用贵公司的研究型器械将一个30岁和以上细胞学正常的人群表征为阳性或阴性，随后将这些女性子集进行阴道镜检查。贵公司还应使用此第二种研究设计选择，确立含比较器HPV检测仪器的协议，但由于贵公司有更多关于基线时≥CIN2风险的信息，也可对相似的样本子集进行评估。建议贵公司将所有HPV阳性女性（通过研究型和/或已批准测试）和HPV阴性女性的随机子集送往进行阴道镜检查。数据应表明，入组时贵公司的器械测为阳性或阴性的女性中，在≥CIN2的相对风险方面，有统计学和临床显著差异。应使用多重插补法计算贵公司的器械所测阳性和阴性受试者中≥CIN2的绝对风险。用于检测和区分的HPV测试中，数据也应证明，基线时一些阳性结局的≥CIN2绝对风险足够高，足以证明预期用途人群中测试的有效性。由于仅HPV阴性女性的随机样本将送往进行阴道镜检查，属于有验证偏差，因此，应使用适当的统计方法，如多重插补法【参考文件21】，进行绝对和相对风险的计算。

*纵向随访：*

考虑到细胞学正常的女性人群中确立临床灵敏度和特异性会涉及极大样本量和/或长期患者随访，食品药品监督管理局考虑了以下选择：在确保安全性和疗效的同时，允许更快获得这些重要器械。食品药品监督管理局认为，在正接受或已接受HPV测试的情况下，在测试显示有高等级宫颈学癌前/癌症（≥CIN2）灵敏度时，对于ASC-US分类预期用途的批准，在与HPV测试当前预期一致的水平时进行测试有较高的置信性 【参考文件2】。此类病例中，为接受相同HPV测试的辅助预期用途，食品药品监督管理局可能提供上文选择1中所述辅助研究的纵向随访部分，只要其显示在前瞻性采集的30及以上NILM（NILM ≥30）数据集中，研究型测试的HPV检测与ASC-US人群中的HPV检测相似。本情景种，对于已确立HPV测试特征的前瞻性采集NILM ≥30数据集，其中的相同患者将接受纵向随访，作为批准后研究的一部分，以在使用本人群中研究型HPV测试测得阳性或阴性的人群中，确立癌前/癌症的累积三年风险。当前临床实践指南支持用于 NILM ≥30人群并检测HPV类型的测试中将考虑本方法【参考文件13】。请注意，CDRH的监测和生物识别办公室已发布了一份批准后研究指南，“行业和食品药品监督管理局工作人员指南 - PMA法令强制实施的处理批准后研究的程序”[[3]](#footnote-2) 3。有新型HPV目标的申办者应联系FDA，讨论起完成上市后纵向评估的合格性。

**辅助预期用途 – HPV基因分型测试**

细胞学正常的30及以上女性中，前一章节（辅助预期用途 – 高风险HPV测试）中所述用于确立≥CIN2相对风险的研究选择可适用于双结局高风险HPV测试（阳性或印象高风险HPV）和多结局HPV基因分型测试（不仅检测还区分不同高风险HPV类型的测试）。HPV基因分型测试的结局越多，其表明每种结局相对风险有统计学差异的挑战越大。

按照2006年共识指南的推荐，对于HPV基因分型试验，公司希望追求的其他选择（更多通用辅助筛查预期用途除外）为最高风险HPV基因型的特异性NILM ≥30阴道镜分类预期用途，如HPV 16和18。本类型研究设计和评估的原则与ASC-US分类极为相似，除了贵公司需处理不同研究人群和测试结局。如果贵公司希望追求此类预期用途，请联系OIVD获取进一步辅助。

*ASC-US细胞学>30及以上女性中的HPV测试*

为了能够进行平行细胞学和HPV测试，辅助预期用途需不对细胞学正常的女性设限（即，无需等待细胞学结果以预定HPV测试）。对于所有辅助预期用途的HPV器械，标签均应表明，>ASC-US细胞学的30岁和以上女性的阴性HPV结果

不会妨碍女性进行阴道镜检查。

* 1. **对照**

当进行上述性能研究时，我们建议贵公司在分析和临床研究的持续时间中，每天对测试运行适当的外部对照。由于HPV不易培养，适当的外部对照包括质粒内包含的HPV基因组DNA或合成的HPV RNA转录物（取决于贵公司的测试目标是HPV DNA或RNA）在尽可能接近临床样品的基质中。贵公司对照中选择使用的HPV基因型应属于临床最相关的HPV基因型（如，HPV 16）。由于疫苗接种项目，HPV株系的临床显著性有变化，因此可能需要适当的对照序列进行再次评估。

我们建议贵公司在设计器械对照时咨询OIVD。如果贵公司的器械基于核酸技术进行，我们通常推荐贵公司纳入以下类型的对照：

**外部对照**

*阴性对照*

阴性外部对照含适当缓冲液或样本运送培养基，且通过与临床标本相同的方式在整个试验过程中运行。本对照用于排除目标核酸的污染物，或扩增和/或检测反应。

*阳性对照*

阳性内部对照包含目标核酸，水平约比试验的C95浓度高2倍，溶于适当缓冲液或样本运送培养基中，且通过与临床标本相同的方式在整个试验过程中运行。对于靶向于HPV DNA的测试，可将在载体质粒DNA中的克隆HPV 16基因组溶于样本运送培养基中作为一种合适对照。HPV 16的完整靶向保守区，如L1区，也可用作全长基因组克隆的替代物。对于靶向HPV RNA转录本的测试，可将悬浮在样本运送培养基中的靶基因合成全长转录本作为一种合适对照。对于不能充分激发医学决策点的分析物水平对照，作为确保与21 CFR 809.10（b）（8）（vi）依从性的一部分，应在标签中纳入以下警告：

“阳性和阴性对照预期用于监测实质性试剂失败。阳性对照不得用作临界值精密度的指示剂，仅可保证试剂功能。必须按照当地、国家和/或州条例或认证要求以及贵公司实验室的标准质量控制程序，进行质量控制要求。”

**内部对照**

内部对照为非目标核酸序列，与目标核酸序列一同处理（即，提取和扩增）。其可对照试剂的完整性（聚合酶、引物等）、设备功能（热循环仪）和样本中存在的抑制物。可接受的内部对照材料举例包括与人乳头瘤病毒共同处理的人类核酸，以及扩增人体管家基因的引物（如，RNaseP，β-actin）。人体“管家”基因的内部对照也可帮助确定分装样本的足够细胞采样应在器械个例分析的基础上确定是否需要本对照【参考文件22】。

1. **参考文件**
2. De Villiers EM.Taxonomic classification of papillomaviruses.Virology.2004; 324(1):17-27.
3. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, et al.Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide.Journal of Pathology.1999; 189:12-19.
4. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ.Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer.2003.New England Journal of Medicine 348:518–527
5. Clinical and Laboratory Standards Institute.2004.Protocol for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline.EP17-A.
6. Linnet, K. and Kondratovich, M. (2004).A partly nonparametric approach for determination of the limit of detection.Clinical Chemistry; 50, 732-740.
7. Weusten J.J.A.M (2008).A statistical approach to assess analytical sensitivity of diagnostic assays in the presence of false-positive results.Journal of Virological Methods (2008), doi:10.1016/j.jviromet.2008.05.013
8. Clinical and Laboratory Standards Institute.2004. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline.EP05-A2.Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute.2002. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline.EP12-A2.Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute.2006.User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline.EP15-A2.Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute.2005. Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline.EP07-A2.Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.
12. Haeckel R. Proposals for the description and measurement of carry-over effects in clinical chemistry.Pure Applied Chemistry 1991; 63:302-306.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute.2009. Evaluation of Stability of In Vitro Diagnostic method products; Approved Guideline.EP25-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.
14. Wright T, Massad L, Dunton C, Dunton J, Spitzer M, Wilkinson E, et al.2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical cancer screening tests.American Journal of Obstetrics and Gynecology.2007; 197(4):346-55. 访问网址：
http://download.journals.elsevierhealth.com/pdfs/journals/0002- 9378/PIIS0002937807009301.pdf
15. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al.Forum Group Members; Bethesda 2001 Workshop.The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology.JAMA.2002; 287:2114-9.
16. Schiffman M, Clifford G, Buonaguro F. Classification of weakly carcinogenic human papillomavirus types; addressing the limits of epidemiology at the borderline.Infectious Agents and Cancer.2009; 4:1-8.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute.2008.Verification and Validation of Multiplex Nucleic Acid Assays:Approved Guideline.MM17-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA
18. Schiffman M, Rodriguez AC.Heterogeneity in CIN3 diagnosis.Lancet Oncology. 2008; 9:404-6.
19. Linnet K., Brandt E. Assessing diagnostic tests once an optimal cutoff point has been selected.Clinical Chemistry.1986; 32: p.1341-6.
20. Kondratovich M, Yousef WA.Evaluation of accuracy and ‘optimal’ cutoff of diagnostic devices in the same study.Joint Statistical Meeting.2005.ASA Section on Statistics in Epidemiology, p.2547-2551.
21. Khan MJ, Castle PE, Lorincz AT, Wacholder S, Sherman M, Scott DR, Rush BB, Glass, AG, Schiffman M. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice.Journal of the National Cancer Institute.2005; 97(14):1072-79.
22. Kondratovich M. Comparing two medical tests when results of reference standard are unavailable for those negative via both tests.Journal of Biopharmaceutical Statistics.2008; 18:145-66.
23. Clinical and Laboratory Standards Institute.2006 Molecular Diagnostic Methods for Infectious Disease; Proposed Guideline.MM3-A2.Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.
24. **统计分析附录**

**百分比和比例的计算评分置信区间**

以下为进行百分比或比例统计学分析的其他建议。有一些不同方法可供选择。我们推荐使用Altman，et al.（Altman D.A.，Machin D.，Bryant T.N.，Gardner M.J. eds. *Statistics with Confidence*. 2nd ed. British Medical Journal; 2000）所述的评分方法或Clopper-Pearson方法（Clopper CJ，Pearson E. The use of confidence or fiducial limits illustrated in the case of binomial. *Biometrika* 1934; 26:404-413）。本评分方法的优点是其统计特性较好且可直接进行计算。评分置信限值趋向于产生与Clopper-Pearson置信区间相比较窄的置信区间，导致较大的置信下限。因此当n=70例样本时，65/70=92.9%，双侧95%置信区间的评分下限为84.3%。相反，Clopper-Pearson置信下限为84.1%。本文件中，我们已使用评分方法举例说明了置信区间的报告。方便起见，我们提供了百分比的评分置信区间公式。

A/B比例的双侧95%评分置信区间计算方法：

，其中数量Q1、Q2和Q3使用以下公式根据数据计算。对于A/B的比例：



在以上公式中，1.96是标准正太分布的分位数，对应于95%置信。

例如比例，如果为（65/70），Q1=133.84，Q2=9.28，且Q3=147.68，则双侧95%评分置信区间为84.3%至96.9%。

**基于似然比置信区间（患病率为常数）的阳性预测值（PPV）和阴性预测值（NPV）置信区间计算**

PPV为（1+PLR-1\*（1-π）/π）-1，其中PLR为阳性似然比（PLR=se/（1-sp））；NPV为（1+NLR\*π/（1-π））-1 ，其中NLR为阴性似然比（NLR=（1-se）/sp））。π为患病率。对于似然比的95%置信区间计算，使用置信区间计算值计算2种独立比例的比值（Se的估算值和（1-Sp）的估算值计算PLR，（1-Se）的估算值和Sp的估算值计算NLR）。对于似然比的置信区间计算，有一些不同方法可用（参见Altman D.A.，Machin D.，Bryant T.N.，Gardner M.J. eds. *Statistics with Confidence.* 2nd ed. British Medical Journal; 2000, pages 18-110）。我们建议，使用Nam（Nam J. Confidence limits for the ratio of two binomial proportions based on likelihood scores: non-iterative method.Biom J 1995; 37:375-9）的文章中描述的评分方法。使用相应似然比的95%置信区间，可轻易计算相应预测值的95% CI，其中π（患病率）为常数。

注：

假设【L，U】为b的1-r水平置信区间，假设G为参数空间上定义的函数。

如果G升高，则【G（L），G（U）】为G（b）的1-r水平置信区间。如果G降低，则【G（U），G（L）】为G（b）的1-r水平置信区间。

（当π为常数时，函数（1+x-1\*（1-π）/π）-1和（1+x\*π/（1-π））-1为单调函数。）



1. 如果截止值周围浓度精密度研究的标准差（SD）几乎不变，则：C95 = C50 +1.645 × SD，C5 = C50 - 1.645 × SD。如果截止值周围浓度精密度研究的变异系数（CV）几乎不变，则C95 = C50 + 1.645 × CV × C95，C5 = C50 – 1.645 × CV × C5。由此，C95 = C50 / (1 – 1.645 × CV)，C5 = C50 / (1 + 1.645 × CV)。 [↑](#footnote-ref-0)
2. 一种例外是，如果一例女性出现2次细胞学检查阴性和HPV阳性（连续2年的访视时） – 本情景下，应按照2006年共识指南，将其送往进行阴道镜检查[参考文件13]。本情况下出现的偏差不可避免，因为患者健康最重要。 [↑](#footnote-ref-1)
3. http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm070974.htm [↑](#footnote-ref-2)