**行业和FDA工作人员指南草案**

**高性能多重微生物/医疗对抗体外核酸基诊断器械**

***指南草案***

**本指导性文件发布仅供评论。**

**文件发布日期：2012年11月9日**

贵公司应该在联邦公报上公布指南草案的通知后90天内提交关于该指南草案的意见和建议。提交书面意见至食品药品监督管理局文档管理部（HFA-305），5630 Fishers Lane，rm。1061，Rockville，MD 20852。将电子意见提交至http://www.regulations.gov。请使用在联邦公报上公布的可用性通知中列出的案卷号标识所有意见。

针对本文件如有疑问，请联系John Hobson，微生物器械部，电话：301-796-5892（John.Hobson@fda.hhs.gov）。

**美国卫生与公众服务部
食品药品监督管理局
器械与辐射健康中心
体外诊断器械评估和安全办公室
微生物器械部**

**前言**

**其他副本**

其他副本可从以下网址获得：http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ default.htm。贵公司还可以向dsmica@fda.hhs.gov发送电子邮件，以获得指南的电子副本，或向301-847-8149发送传真以接收硬拷贝。 请使用文档编号（1803）来标识贵公司要求的指南。

**目录**

**[1.](#_Toc345668097)****[简介](#_Toc345668097)** [1](#_Toc345668097)

**[2.](#_Toc345668098)****[背景](#_Toc345668098)** [2](#_Toc345668098)

**[3.](#_Toc345668099)****[范围](#_Toc345668099)** [2](#_Toc345668099)

**[4.](#_Toc345668100)****[健康风险](#_Toc345668100)** [3](#_Toc345668100)

**[5.](#_Toc345668101)****[器械描述](#_Toc345668101)** [3](#_Toc345668101)

[A. 预期用途 4](#_Toc345668102)

[B. 检测方法学 4](#_Toc345668103)

[C. 辅助试剂 5](#_Toc345668104)

[D. 对照 7](#_Toc345668105)

[E. 解释检测结果/报告 9](#_Toc345668106)

**[6.](#_Toc345668107)****[性能特征](#_Toc345668107)** [9](#_Toc345668107)

[A. 预分析因素 10](#_Toc345668108)

[B. 分析性能 13](#_Toc345668109)

[C. 仪器和软件 20](#_Toc345668110)

[D. 临床表现研究 21](#_Toc345668111)

**[7.](#_Toc345668112)****[上市后分析](#_Toc345668112)** [27](#_Toc345668112)

**[8.](#_Toc345668113)****[器械改进](#_Toc345668113)** [28](#_Toc345668113)

[A. 检测限 28](#_Toc345668114)

[B. 分析反应性 28](#_Toc345668115)

[C. 交叉反应性 28](#_Toc345668116)

[D. 通过分析物的竞争干扰/其他微生物的干扰 29](#_Toc345668117)

[E. 精度（重复性/重现性） 29](#_Toc345668118)

[F. 有限临床评价 29](#_Toc345668119)

**行业和FDA工作人员指南草案**

**高性能多重微生物/医疗对抗体外核酸基诊断器械**

|  |
| --- |
| ***本指南草案代表食品药品监督管理局（FDA）目前对这一主题的思考。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**

FDA发布本指南草案，旨在为行业和工作人员提供建议，以明确高性能多重微生物/医疗对抗体外核酸基诊断器械（以下简称HMMDs）的分析和临床表现，同时检测和识别从单一适当的人体样本或培养物中提取的多种病原体核酸。为了本指南草案，用多重水平定义HMMDs在单一反应中采用基于核酸的技术检测大于 20种不同微生物/靶标的能力，并且涉及通过共同的样本构建过程，扩增和/或检测以及结果的解释。HMMDs用于协助诊断感染。

FDA的指导文件，包括本指南草案，不具有法律执行效力。然而，指导文件描述了FDA目前对某一主题的看法，除非引用具体的监管或法定要求，否则应仅视为建议。在FDA指导文件中使用词语“应该”表示建议或推荐，但不是必需的。

1. **背景**

本文件建议研究明确立HMMDs的性能特征。FDA认为这些推荐的研究与上市前通告（例如，510（k）或更新）相关，上市前通告是特定器械可能需要申请的。

计划销售该通用类型器械的制造商，除了任何其他适用要求之外还应：

* 遵守联邦食品药品和化妆品法案（FD＆C法案）的一般控制，包括21 CFR 807子部分E中所述的上市前通告要求，
* 在销售器械之前获得上市前许可或更新分类（FD＆C法案510（k），513，515；21 U.S.C. 360（k），360c，360e。

本文件旨在补充21 CFR 807.87（上市前通告中需要的信息）和其他FDA资源，如“上市前通告510（k）”[[1]](#footnote-0)。

关于简化和常规510（k）的内容和格式的指导可以在题为“传统和简化510（k）的格式”[[2]](#footnote-1)指南中获取。

在FD＆C法案（21 USC 360d（c））的第514（c）节以及FDA指南 “确定实质等同性使用标准”[[3]](#footnote-2)中可以获取有关标准使用的信息。FDA建议HMMDs研发人员使用本指南草案了解有关FDA当前针对这些器械的监管。

1. **范围**

本指南草案的范围包括基于核酸的器械，利用诸如聚合酶链式反应（PCR），逆转录酶聚合酶链式反应（RT-PCR），珠基液体阵列，微阵列，重排序方法以及单个靶的测量（分别检测同时报告）。该文件不适用于旨在筛选血液和血液成分供体以及用于传染病的人体细胞，组织，细胞和组织产品（HCT / Ps）供体的器械。

本指南草案涉及与患者的临床表现和其他实验室检测结合使用HMMDs，以协助诊断来自病毒、细菌、寄生虫或真菌的感染，并识别耐药性的遗传标记。对于本指南草案描述的检测，阳性结果不排除与其他病原体的潜在共感染，阴性结果不应作为诊断、治疗或患者管理相关决定的唯一依据。

本指南草案提供了有关FDA建议提交的支持II类上市前器械的数据类型的详细信息。包含某些分析物的器械可能分类提升至III类，我们鼓励申办方与FDA联系以获得更多指导[[4]](#footnote-3)。此外，如果贵公司计划寻求检测少于20种微生物/靶标的多重微生物器械的放行或批准，请在进行临床或分析验证研究之前与机构联系，以讨论本指南草案中的建议是否适用。

1. **健康风险**

HMMDs与患者的临床表现和其他实验室检测结合使用以协助诊断感染。与HMMDs相关的潜在健康风险包括：器械未能按预期运作，导致不准确的结果或缺少结果，以及结果的错误解释。这些潜在风险可能导致错误的患者管理决策。

假阳性结果可能导致对错误识别疾病的不必要或不适当的治疗，以及延迟治疗实际感染，这可能引起更严重的感染。此外，在公共卫生紧急情况下的假阳性结果可能导致监测和预防的资源分配不当。假阴性结果或缺少结果可能无法提供诊断和正确的治疗，进行不必要的治疗，或者采取错误的患者管理防止感染传播。

1. **器械描述**

在510（k）提交中，贵公司应该识别器械的法规、产品代码和合法上市的实质等同对比的器械。我们建议贵公司列表概述实质等同对比的器械和申请器械之间的相似点和差异。

贵公司应该提供以下描述性信息，以充分表征贵公司的高性能多重微生物/医疗对抗器械。

1. **预期用途**

预期用途应指定检测检测并鉴别的病原体和（如果适用）药物抗性标记，分析物（例如，RNA，DNA或两者都有）的性质，检测表明的样本类型，检测的临床适应症，以及检测所针对的特定人群。预期用途应说明检测是定性的还是定量的，是否假定检测分析物，以及任何特定的使用条件。

在提交的510（k）资料中，贵公司应清楚地涵盖与产品的预期用途相关的以下内容：

* 鉴别病原体的关系，或器械旨在检测的病原体的其他公认的表征
* 器械结果如何用于诊断算法。
* 实验室识别和诊断感染可能需要的其他措施。
* 如果根据当前的临床和流行病学筛选标准，怀疑感染了新型或新出现的病原体，则应采取的其他措施。
1. **检测方法学**

贵公司应该详细描述器械使用的方法。应至少描述以下元素（如果适用于贵公司的器械）：

* 检测平台（例如，多重RT-PCR，珠阵列，重排序阵列，与核酸扩增试验（NAATs）结合使用的质谱）。
* 选择特异性靶序列的信息和理由，以及用于设计检测元件的方法。
* 样本收集（例如，药签，病毒培养基，阳性血液培养等）和处理方法。
* 样本矩阵（例如，血液，痰，粪便等）。
* 所有预分析方法和仪器，用于样本的收集、稳定和浓缩。
* 被检测的病原体序列的特异性（即，除了评价临床特异性之外的证明靶序列的方法仅用于目标病原体）。
* 检测的限制因素（例如饱和水平，最大循环数等）。
* 提供或推荐使用的试剂组分及其在系统内的功能（例如，缓冲液，酶，荧光染料，化学发光试剂，寡核苷酸，其他信号/扩增试剂等）。
* 试剂或器械材料对特异性和非特异性干扰影响的可能性。
* 内部对照及其在系统中的具体功能的描述。
* 贵公司推荐或提供给用户的外部控制。
* 使用器械所固有的仪器，包括系统中的组件及其功能。
* 从原始数据到报告结果的计算路径（例如，原始信号如何被处理并转换成可用的结果）。这包括软件控制，识别和处理数据集里的明显问题。它还可能包括背景调整和正常化（如果适用）。
* 非标准器械或方法的插图、照片和详细说明（如果可获得）。
* 包含风险分析和可追溯性矩阵的设计输入和输出。

如果适用，应描述器械的设计控制质量标准，以消除或降低与高性能多重器械相关的风险，示例如下：

* 防止多重检测的交叉污染，在制造过程中许多探针处理。
* 正确放置和识别检测特征（例如，探针，捕获寡核苷酸阵列）。
* 最小化由于样本的污染或携带引起的假阳性结果。
* 如何检测由于靶标微生物的突变而出现的变体。
* 过程控制，用于检测和/或纠正由于抗原漂移而造成的器械性能的长期漂移。
1. **辅助试剂**

辅助试剂是HMMDs的制造商在器械标签中规定为“需要但未提供”，以便进行使用说明书中所示的检测，实现标签中要求的检测性能。对于本文件，特异性辅助试剂是指由贵公司指定目录或产品编号，或其他特定的贵公司器械所需的试剂，以实现其标识的性能特征。例如，如果贵公司的器械标签规定使用X品牌或其他已经由FDA批准用于此特定器械的扩增酶，并且使用任何其他DNA扩增酶可能会改变标签中说明的器械性能特征，则依据本文X品牌DNA扩增酶属于特异性辅助试剂[[5]](#footnote-4)。

相比之下，如果贵公司的器械需要使用95%乙醇，而任何类型的95%乙醇都可以使贵公司的器械达到标签所说明的性能特征，那么依据本文95%乙醇是一种通用的辅助试剂。

如果器械的使用说明书指定一种或多种特异性辅助试剂，则应说明如何确保贵公司器械的检测结果和这些特异性辅助试剂，依据说明书，与上市前提交确定的性能相一致 。贵公司的计划中可以应用质量管理体系、产品标签和其他措施。

制造商应详细描述以下因素。 FDA将评价贵公司的计划是否有助于降低器械所带来的风险，为器械的安全性和有效性提供合理的保证，并明确其实质等同性。

1. 贵公司应在510（k）中包括针对使用特异性辅助试剂的风险评价，包括与试剂质量和变化的管理相关的风险，随特异性辅助试剂直接提供的使用说明书与随贵公司器械提供的使用说明书之间不一致的风险 ，以及其他任何可能会导致贵公司器械产生不正确结果的风险。
2. 应用风险评价作为适用性的基础，贵公司应该在510（k）中描述计划通过对辅助试剂实施必要控制来降低风险。这可能包括（如果适用）：
* 通过标签确保适当使用辅助试剂。
* 计划评价用户是否遵守特异性辅助试剂的标签说明。
* 计划在涉及特异性辅助试剂将影响HMMDs的性能的问题时警告用户。
* 特异性辅助试剂的材料规格。
* 识别试剂批次，保证贵公司器械的性能。
* 稳定性检测。
* 投诉处理。
* 纠正和预防措施。
* 任何其他必须解决的问题，以确保根据贵公司器械的使用说明，可以安全有效地使用指定的辅助试剂进行检测。

此外，贵公司应提供检测数据，以确定提供或推荐的质量控制足以检测特异性辅助试剂的性能或稳定性问题。

如果贵公司对特异性辅助试剂的识别、使用或控制有任何疑问，请联系FDA咨询。

1. **对照**

对照应该接近临床样本的组成和质量，以充分挑战系统。

贵公司应该描述关于质量控制和校准的以下内容：

* 贵公司的系统随附或推荐的各种对照的性质和功能。这些对照应使用户确定所有步骤和关键反应是否已正确进行，没有污染或非特异性干扰。
* 用于值分配（相对或绝对）的方法以及对照和校准材料的验证（如果适用）。
* 可用于检测仪器故障以满足所需质量标准的对照参数。

一般来说，应在分析和临床研究期间运行外部阳性和阴性对照，因为这是监测整个检测过程的持续性所必需的。理想情况下，贵公司应该为器械所覆盖的每个分析物提供外部控制。由于这些器械检测的分析物数量较多，可以考虑轮流控制方案，在整个评价过程中设计并使用一组代表性对照微生物（反映检测菜单中的微生物）。

我们建议贵公司在为器械设计特异性对照时咨询FDA，包括对照组组件的选择/设计。对照应提供关于（1）样本质量，（2）核酸质量和（3）过程质量的信息。通常，我们建议添加以下类型的对照：

**i.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除核酸以外的所有检测组分。该对照用于排除靶核酸的污染或扩增反应中增加的背景。阴性对照应按照实验室确定的合理频率（每班，每天，每周一次）运行，以符合州和地方对对照污染的建议。

*阴性样本对照*

阴性样本对照包含非靶核酸。它揭示了非特异性检测并且表明在不存在靶序列的情况下不获得信号。可接受的阴性样本对照材料例如包括：

* 来自未感染个体的患者样本，经过检测排除HMMD检测到的任何病原体
* 含有非靶标微生物的样本
* 替代阴性对照（例如，包装RNA）

**ii.阳性对照**

*用于完整检测的阳性对照*

阳性对照被设计为模拟患者样本，包含靶核酸，并且用于对照整个检测过程，包括核酸提取、扩增和检测。阳性对照作为单独的检测，与患者样本同时进行。对于临床和分析研究，在评价期间每天应至少运行一个阳性和一个阴性外部对照。阳性对照可以是较大检测菜单的子集，并且可以通过预定义的时间表轮流。在与内部对照单次使用/检测的情况下，可能需要对每个新批次进行周期性外部对照检测，同时考虑到州和当地的建议。

可接受的外部阳性检测对照例如包括：

* 适当病毒或细菌的疫苗或原型疫苗株
* 低致病性病毒或细菌
* 灭活的病毒或细菌
* 包装RNA / DNA靶序列

*阳性对照扩增/检测*

扩增/检测的阳性对照可以包含纯化靶核酸，接近定性分析的检测限。当获得阴性结果时，控制器械和反应组分的完整性。

**iii.内部对照**

内部对照是与靶核酸共提取和共扩增的非靶核酸序列。它控制试剂的完整性，器械的功能性和样本中抑制剂的存在。可接受的内部对照材料例如包括：与样本共提取的人体核酸和扩增人体管家基因（例如，RNaseP，B-肌动蛋白）的引物。或者，内部对照可以是包装的非靶序列，它在任何预分析步骤之前添加到每个临床样本中，并与临床靶同时分析。该对照的适当性取决于检测的设计，并且应当根据FDA的设计输入来确定。

1. **解释检测结果/报告**

在510（k）递交资料中，贵公司应该描述如何确定阳性、阴性或者无效结果以及如何解释。研发人员应该指明检测的所有输出的临界值。

* 特别需要指出的是，贵公司应该提供用于定义检测阴性结果的临界值。如果检测只有两个输出结果（阴性/阳性），则该临界值也定义了检测的阳性结果。
* 如果贵公司的解释结果涉及重新检测，则应提供（1）关于下述内容的建议：是否应从相同的核酸构建重新进行检测、新提取、或是否应获取、检测新的患者样本，以及（ 2）通过组合初始结果和重新检测后的结果来定义最终结果的算法（注意，该算法应关键临床研究之前开发，关键临床研究评价检测的临床表现）。
* 如果检测结果无效，贵公司应描述如何定义无效结果。如果内部对照是确定无效结果的一部分，则应提供对每种可能的对照结果组合的解释，以定义无效结果。贵公司应提供有关如何跟踪无效结果的建议（即结果是否应报告为无效或者是否建议重新检测）。如果建议重新检测，那么贵公司应该提供类似于重新检测不确定结果的信息（即是否应该从相同的核酸构建、新提取或新的患者样本重新进行检测）。
1. **性能特征**

在510（k）递交资料中，贵公司应详细说明用于评价以下所列的每一性能特征的研究设计。

如果贵公司的产品标签要求使用特异性辅助试剂，那么在510（k）递交资料中的性能检测应使用贵公司的使用说明参考中的特异性辅助试剂。贵公司通过上市前检测确定的性能声明应体现在21 CFR 809.10（b）中的标签中，并应基于贵公司在标签中描述的特定检测配置，包括所有的预分析步骤。

此外，如果贵公司的产品标签中指明使用多种器械（即PCR机）和/或提取方法，那么在510（k）递交资料中的性能检测应使用说明书中定的所有器械或提取方法。贵公司通过上市前检测确定的性能声明应包含在标签中，并应基于贵公司在标签中描述的特定检测配置，包括所有的预分析步骤。

检测性能的评价应包括对分析和临床研究持续时间的适当控制。这包括所有的内部检测控制以及制造商推荐的适当的外部控制，但不一定提供检测以及如何在分析和临床研究中进行检测。

* 1. **预分析因素**

考虑预分析因素对HMMDs至关重要。在510（k）递交资料中，贵公司应该清楚地解决有关预分析因素的以下问题。

**i. 样本收集和处理**

贵公司应该指定预期用于检测的样本类型。合适的样本类型取决于多种因素，包括感染地点和待检测的病原体核酸。具体来说，应在疾病的临床过程中的适当时间从适当的解剖部位或来源收集临床样本。样本类型将根据试验组而变化。我们建议申办方咨询FDA，以确定哪些样本被认为适合于预期的试验组，并且一些样本类型可被认为是实质等同的，因此可以组合。

提取的靶标的质量和数量受到诸如样本源、收集方法、处理（例如，运输、存储时间、温度）等多个因素的影响。贵公司在510（k）递交资料中提供的检测结果应验证以下内容：

1. 系统为检测检测到的所有分析物（即，来自细菌、病毒、真菌、寄生虫或检测中包括的所有组合的DNA / RNA）提供足够和适当的核酸。
2. 器械在产品标签中声明的所有各种样本处理条件下保持可接受的性能。

所有样本稳定性参数的验收标准应清楚地说明和证明。

收集和处理病原体识别的样本应适用于各州和联邦的微生物安全指南。有关处理样本的标准预防措施，请参阅相关的最新版本的临床和实验室标准协会（CLSI）文件[[6]](#footnote-5)。

**ii. 新鲜与冷冻样本**

与新鲜样本相比，冷冻样本的检测灵敏度可以改变。在研发检测时，我们建议贵公司考虑和评价是否这对于特殊多重组检测所有病原体是一个关注点（即，它们不应该被冻结、解冻）。贵公司应该评价储存温度和反复冻融循环对核酸产量的影响及其对检测性能的影响。新鲜与冷冻样本的评价可以在检测限（LoD）的判定过程中考虑，检测限提供与相比新鲜样本已被冻结样本的检测性能的早期指示。所检测的冻融条件应当符合临床环境的实际条件以及明确可用于前瞻性分析的冷冻储存样本的入选标准的条件。

如果观察到检出限的显著差异，那么不需要额外的研究，并且产品标签仅指明使用新鲜的未冻结样本。如果研发人员仍希望继续使用冷冻样本，那么应该进行一项包括总共60个新鲜和冷冻检测的阳性临床样本的研究来确定冷冻样本的性能。在某些情况下，也可以考虑精心设计的模拟样本，将培养的微生物掺入单个阴性样本。但是，在进行研究之前，建议获取FDA对此方法的反馈意见。阳性样本应该代表试验组的组成。如果是新鲜和冷冻样本不等同的情况，则研发人员应确保所有的研究使用的都是已经正确处理的样本。

**iii. 核酸提取**

不同的提取方法可以产生不同数量和质量的核酸，因此提取方法对于结果是至关重要的。纯化可能具有挑战性，因为微生物样本可能是在人类基因组DNA，正常菌群以及高水平的蛋白质和其他污染物的背景中含有低病原体特征序列。另外，裂解条件根据由器械检测的微生物的理化性质而不同。

基于以上原因，贵公司应该评价所选择的提取方法对于检测的性能的影响，包括针对该检测的预期用途的令人满意的核酸数量和质量。此外，贵公司应该通过推荐与检测一同应用的整个预分析过程（包括提取程序）来评价检测的临床表现特征。如果推荐多种提取方法与检测一同应用，贵公司应该证明提取的质量和效率，并进行每种提取方法的检测分析和临床表现评价。具体来说，贵公司应该证明器械的每种预分析方法的检出限和可重复性。贵公司可将提取方法的变量与每个地点性能的变量组合。例如，如果贵公司推荐三种不同的提取方法，贵公司可通过在三个检测地点评价三种提取方法中的一种来设计重现性研究：地点1的检测提取方法A，地点2的检测提取方法B和地点3的检测提取方法C。

然而，如果来自三个地点的研究表明在检测性能方面具有统计学或临床上的显著差异，则应该扩大重现性研究以包括在三个研究地点检测每种提取方法（例如，地点1提取方法A，B和C，地点2提取方法A，B和C，以及地点3提取方法A，B和C）。

除了检测的分析限和重现性之外，在临床研究期间应当在至少一个临床地点处利用每种提取方法以产生临床表现数据。如果扩增的重现性检测的结果表明提取方法之间的效率有显著差异，那么来自每个临床检测地点（使用不同的核酸提取方法）的数据不能被认为是等同的，也不能组合，而应分别进行分析。因此，可能需要额外的预期临床样本以支持声明的提取方法。

贵公司应该提供相关建议，确保样本的充分性，样品包括检测所指明的不同类型。例如，可以通过确定核酸的存在，质量或存在和质量两者的内部对照来评价核酸的质量。

**iv. 文库构建**

对于使用文库构建步骤的器械，贵公司应该解决所有声明的构建方法和使用的试剂在检测性能方面的变化。不同的文库构建方法可以产生不同数量和质量的核酸，因此提取方法对于结果至关重要。贵公司应该考虑在样本文库的构建和标准化时涉及的步骤，这可能会影响所产生的序列（例如，引物、扩增效率、试剂批次、杂交等）的重现性和可靠性。这些因素可能会影响检测性能。

**v. 自动提取系统样本与样本的交叉污染**

如果使用或推荐使用自动系统进行核酸的提取，则应包括对潜在的井间交叉污染的检查，作为提取仪器性能识别的一部分。贵公司应该为自动提取系统提供软件危害分析，包含在510（k）递交资料中。以一种模式设计提取过程的验证研究，使得最高预期临床水平浓度下的含核酸样本整体被阴性包围。结果应该证明不发生井间交叉污染。

**vi.性能研究质量控制**

检测性能的评价应包括对分析和临床研究持续时间的适当控制。结果还应包括随检测提供的所有阳性和阴性对照以及推荐但不一定与检测一起提供的适当的外部对照。如果在整个评价过程中使用轮流控制方案，则应为每个控制组组分提供结果。

* 1. **分析性能**

贵公司应该在510（k）递交资料中证明以下分析性能特征：

**i.检测限**

检出限测量了针对特定靶标的检测分析灵敏度，被定义为在95%的样本重复中一致地检测到与阴性样本可区分的靶标的最低浓度。适当检测检出限很关键，因为许多分析验证研究以及包含在重现性分析中的水平是基于该靶标浓度。

需要为包括在检验菜单和每一种样本类型每一靶标确定检出限。通过将校准的靶材料的稀释液限制到阴性（未感染的）临床矩阵中来实现。靶材料应该由分离的培养材料制成，使用可接受的分子方法校准并表示为菌落数/噬斑形成单位（CFU / PFU）和基因组当量/ mL。可以单独进行检出限的初步评价，然后使用多个靶标池多次重复进行证实。一种方法是使用适当的合并的阴性样本矩阵作为稀释剂来构建连续稀释液，每个稀释度三至五次重复，以明确初步的范围。

在明确初步检出限范围之后，通过使用至少20个独立样本显示95%的检测率来确认初步检出限。或者，申办方可能希望合并靶标，完成检出限的初步估计和最终确认。该方法可以理解为，研发人员对包括在评价池中的靶标数量给出了理由。需要注意的是，多个靶标的合并可能对检出限产生负面影响; 因此，研发人员应该提供理由说明采取了哪些措施来确保研究中获得的检出限是准确的。如果设计研究适当，也可以使用概率分析来明确检出限。此外，还应提供至少使用50个阴性个体临床样本确定空白限（LoB）的分析。

**ii.分析反应性（包容性）**

贵公司应该证明分析反应性，以解释多重分析组中包括的病原体之间的潜在遗传变异。贵公司应收集数据，评价临床相关微生物，表示每一声明的靶标在特定检出限或临界值或其附近的表达时间、地理和系统发生多样性。要明确包容性的方法，应该使用所有预分析步骤的完整培养的微生物，以及预提取和定义的核酸，以显著增加传统的实验室检测。预提取的核酸靶物质应当由分离的培养物材料构建，使用可接受的分子方法校准，并表达为CFU / PFU和基因组当量/ mL。

评价应使用设计成包括不同菌株、实验室分离物、血清型和它紧密相关亚种的组，与样本类型相关。需要注意的是，包容性的组设计应该包括多样化和临床相关的样本组。为了确保在该分析中使用最高质量的材料，应当确认原始样本的身份和滴度。例如，如果检测和识别肠道沙门氏菌，我们建议贵公司证明可以在特

当难以表示足够的多样性，并且由于难以获得足够的病原体样本而无法证明检测时，我们建议贵公司联系FDA讨论研究。当菌株可用性有限时，可以通过对靶序列的计算机模拟分析来增强实验室检测。计算机模拟分析应包括临床相关微生物，每一声明的靶标的表达时间、地理和系统发生多样性。在这些情况下，使用计算机方法来指导用于传统和计算机模拟分析的病原体的内含。例如，使用计算机模拟分析来指导实验室检测的方法可以基于比对等同性。使用该方法选择与目标区域具有下降身份水平的代表性微生物用于进一步的实验室检测。我们建议申办方给出明确的理由，包括选定的菌株，用于评价包容性的度量，以及在评价每种病原体的特定目标区域中清楚呈现比对。

**iii.分析特异性**

贵公司应该确定HMMD对所有检测到的病原体的分析特异性。 应该使用与提取前的核酸组组合的方法，以及从核酸提取到扩增和检测的完整系统的分析来进行评价。 一般来说，贵公司应该评价样本中发现的物质干扰以及样本中存在的其他微生物干扰的可能性。

*干扰*

贵公司应该证明检测可以在相关干扰物的存在下特异性检测靶标微生物。 这些研究应包括其他微生物，同源序列和具有高背景水平的人类DNA的设计样本。以下部分描述了需要进行的特定类型的干扰研究，以评价高性能多重器械的潜在干扰。 临床和实验室标准研究所（CLSI）文件EP7-A2，*临床化学干扰检测； 批准指南*; 2005，提供了有关如何设计干扰研究的其他信息。

a）干扰物质

我们建议贵公司使用与医疗相关浓度的干扰物质进行全面的干扰研究，以评价影响检测结果的潜在抑制作用。待检测的潜在干扰物质可能预先存在于样本中，以及可能在样本收集和样本构建期间引入。干扰物质的类型是样本特异性的。我们建议贵公司在检出限或临界值以及对阴性样本的影响下检测每种干扰物对小代表组微生物的影响。例如，代表组可以由预定数量的每种微生物类型（革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、真菌、酵母、寄生虫、RNA和DNA病毒等）组成。除了对具有内源水平的潜在干扰物质的加标样本进行分析之外，纯化的干扰物也将掺入个别阴性样本中以评价当存在提升潜在干扰物质水平时对器械的影响。最终的浓度应接近最差情况水平，并且应通过文献分析或FDA反馈来证明。

代表性微生物应在检测临界值处与被检测的潜在干扰物质一起掺入个别阴性临床样本中。 该分析应采用预分析步骤来评价矩阵变化和抑制物质对性能的影响。器械具有独特的预分析处理步骤，独立的或并入单位消耗品中，可涉及更深入的分析，并且可能包括额外的研究，以确保移除潜在的干扰物。我们鼓励申办方在这些方面获取FDA的反馈。

需评价的潜在干扰物是在临床样本中提升水平下引入的内源性物质，以及通常是处方或非处方药物及其代谢物，如果在指明的样本类型中适用。 在样本收集之前或期间可能引入样本的外源物质，包括用于治疗的与特定感染相关症状的药物、治疗或局部施用，也应包括在本研究中。 由于稀释实验不一定是体内情况的准确模型，可能需要考虑替代的实验设计，例如评价包括在临床研究中患者接收的药物的效果。

b）其他微生物的干扰

贵公司应该评价器械预期使用的指定样本类型中引入的微生物对检测的干扰。 我们建议贵公司在检出限或临界值处评价干扰微生物的代表性试验组，使用预期出现在检测的解剖部位上的干扰微生物，或者检验试剂中的试验组上已知通常导致类似症状的微生物。潜在干扰微生物应当在临床相关范围的高端加标，以说明允许检测可以容忍的非靶标微生物的最大量，这样不会在靶标微生物处于检出限时引起干扰或不利地影响检测结果或临界值。

c）分析物的竞争干扰

贵公司应该评价所有临床相关的共感染的影响。贵公司选择用于这些研究应基于已知发生或广泛发生的共感染的组合。包括在本研究中的靶标的选择应通过文献监测，已知发生的病原体组合或FDA反馈来证明。

如果靶/分析物预期以高水平存在，则以低水平存在的另一个靶标的检测可能潜在受到影响。为了评价是否存在这种情况，我们建议贵公司评价在检出限或截止浓度的靶标和在非常高浓度的靶标以及在检出限或临界值的两个靶标的竞争干扰。这可以在检出限或截止评价期间进行，或者作为可重现性或干扰研究的一部分。

d）物理相互作用的计算机模拟分析

贵公司应通过计算机模拟评价证明由于多重检测中包括的各种寡核苷酸（包括所有引物、探针、接头和扩增的靶标）之间的二级结构/结合，缺乏内部竞争。 贵公司应该提供数据证明没有不利的结合相互作用对性能以及用于分析的所有评价参数有负面影响。 任何潜在的负面作用应该有将其包括在检测菜单上的理由以及相关的随访验证数据。

*交叉反应*

以下内容描述了交叉反应性研究的特定类型，用来评价在不存在靶微生物的情况下的潜在交叉反应性。应当设计全面的微生物组，包括以下内容：

* 菌株表征（谱系信息）
* 核酸提取前的滴度信息
* 提取的核酸的质量评价参数（即回收的核酸（NA）的量，光密度（OD）260/280比率等）
* 确定提取的核酸从滴度到基因组等同物或拷贝数的转换。

a）与样品组中的其他微生物的交叉反应性

上述6B.ii节讨论了检测由多重组探针的每一靶标的表征样本以确定该特异性病原体的检测反应性（包含性）。贵公司还应该利用相似类型的样本来评价（和排除）高性能多重检测中代表的分析物之间的交叉反应性。 在分析中使用的交叉反应物水平应当处于最高的预期临床水平，并且使用预提取和定量的核酸。

b）不属于检测一部分的病原体或靶标的交叉反应性

为了确定HMMD是否与除了其设计测量的病原体之外的分析物交叉反应，我们建议全面评价一组微生物，包括所有密切相关的微生物以及类似样本中可能发现的其他病原体和微生物，它们通常已知引起与检测菜单中包括的类似症状。需要考虑的是，对于每种样本类型，分析物都合理可能存在于样本收集地点。

对于这项分析，我们建议贵公司检测临床上引入的最高水平的病毒和细菌（细菌为106cfu / ml或更高，病毒为105pfu / ml或更高）。通常，使用传统方法培养和滴定细菌和病毒原种；然而，为了高性能多重器械和要扩大使用的组的尺寸，使用分子方法校准的培养原种是合适的方法。从这些校准的储液中，可以构建高度纯化和合格的核酸的制剂，并用于评价上述检测水平的交叉反应性。

可以采用评价交叉反应性的合并靶标方法，研发人员提供了包括在评价池中靶标数目的原因。 需要注意的是，多个靶标的合并可以掩盖由于核酸过载而引起的交叉反应；因此，研发人员应表明采取了哪些措施来消除这一潜在问题。 如果采用合理的合并方法，则应当进一步分析所有交叉反应池都作为单独反应，以确定交叉反应微生物。

**iv. 临界值**

贵公司应该清晰地定义如何最初确定以及如何验证每一靶标/分析物的临界值。 临界值应使用适当的统计方法确定。例如，为了所确定临界值，申办方可以提供临床样本的结果分布，第95和第99百分位数，阳性结果的百分比等。根据临床样本试点研究的接收者操作特性曲线（ROC）分析，可以通过敏感性和特异性的相关水平证明合理选择适当的临界值（关于ROC分析的细节，参见CLSI文献EP24-A2*评价使用接收者操作特性曲线（ROC）的实验室检测的诊断精度*，*第二版*；2012）。 使用预定临界值的候选多重器械的性能应该在与定义的器械预期用途一致的独立研究中验证。

**v.精度（重复性/重现性）**

贵公司应提供证明系统精度（即重复性和重现性）的数据。CLSI文件，EP05-A2，*定量测量方法的精确性能评价; 批准指南 - 第二版*; 2004和EP12-A2，*用于评价定性检测性能的用户方案; 批准指南 - 第二版*，2008年，包括可能有助于研发实验设计、计算和建立性能声明的格式等内容的指南。

我们建议贵公司使用由预定数量的每种微生物类型（革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、真菌、RNA和DNA病毒等）组成的代表性样本来确定器械的精度，跨越检测范围。 应该确定精度研究中的所有变异来源。虽然可以在内部精度研究中评价一些变异来源，但是地点到地点的重复性研究应包括对每种病原体的下述变异性主要来源的评价。

在510（k）递交资料的研究设计描述中，贵公司应该确定哪些因素（例如仪器校准、试剂批号和操作人员）保持不变，哪些因素在评价期间发生变化，并描述用于评价的计算和统计分析数据。

对于定性检测，应使用适当的统计方法估计精度研究中考虑的所有因素的总方差和方差。对于具有基础数值输出的定性检测，通常使用方差分析来测量每个变异来源的精度分量。对于精度研究中的每个样本，贵公司应该为每个地点单独、所有地点合并提供方差分量（标准差和百分比变异系数（CV））的平均值。

对于非微生物威胁病原体，使用多地点方法评价重现性。 预期用户在预期使用环境中执行分析中的所有预分析步骤。由于这些类型的器械靶标数目的增加，不是所有的病原体都包括在重现性研究中。通过病原体的代表组减少研究规模，同时收集足够的信息以确定器械的重现性。组应由选自多重菜单的代表微生物组成，并且应当在开始评价前获取FDA反馈。

代表组应该按照以下定义的浓度进行检测，并且可以合并。完整培养的微生物应当掺入阴性临床样本矩阵中，并包括所有预分析步骤，评价器械的重现性。

* 阴性临床矩阵 - 如果阴性矩阵不可用，申办方应就人工矩阵的使用咨询FDA。注意：可以通过矩阵等同性研究来支持使用人工矩阵，但是可能不适合所有情况。
* 检出限（或C95，阳性（高于临界值）约95%） - 培养的微生物应在确定的检出限水平上掺入阴性矩阵。
* 两倍到三倍的检出限（C100，阳性100%） - 培养的微生物应该掺入阴性矩阵，为检出限水平的两倍到三倍。 需要说明的是，超过检出限两到三倍的检测水平不适用于这部分的可重现性评价。

应该清楚地标识保持不变的因素，并且指明所有的计算和统计分析。 评价以下变量并包括在研究设计中：

* 提取-提取精度：用于精确检测的样本在试验现场从临床样本（例如鼻咽药签）使用贵公司计划在检测标签中推荐的程序处理。
* 仪器间的精度。
* 地点-地点和操作者-操作者的精度：包括三个或更多地点（至少两个外部地点和一个内部地点），每个地点有多名操作者。 操作者在教育和经验方面能够反映出检测的潜在用户。 贵公司应该提供与检测上市后用户相同程度的培训。
* 至少五个不连续的天数，以涵盖器械上精密试验组的日常变化。
* 每天至少进行两次运行（除非检测设计排除每天的多次运行），并建议两次重复运行每个组组分，以评价运行间组分以及运行中和运动当日重现性研究的不精确度。
* 批间精度：包括多个产品批次的评价（例如，多批检验试剂和辅助试剂，用于RT-PCR的多批引物和探针，多批珠或阵列）和多台仪器。
* 对于每个分析物水平（不考虑池），应收集总共90个数据点。（即1个分析物检测水平x两名操作人员乘以三次重复/操作人员乘以五天检测时间乘以三个检测点= 90个数据点/分析物检测水平）。

对于生物威胁的病原体，由于处理限制，应当使用单个地点评价实验室内的精确度。安排具有适当研究能力的合格机构验证重现性。应使用上述相同的检测水平对所有生物威胁靶标进行评价。检测应在具有多名操作人员和仪器的单一场所进行，以评价操作人员、运行和天数之间的重现性。

**vi.剩余研究和交叉污染研究（用于需要仪器的多样本检验和器械）**

对于需要仪器的分析和器械，贵公司应证明器械不会发生剩余和交叉污染。在剩余和交叉污染研究中，我们建议高阳性样本与阴性样本串联使用，类型取决于器械的操作功能。此外，至少运行五次交替的高正和负样本。还建议研究中的高阳性样本能够反映从预期使用人群患者的样本获得的结果。阴性样本在使用前确认为阴性，可以从阴性样本矩阵池中构建。剩余和交叉污染效应可以通过在剩余研究中阴性样本被正确称为阴性结果的百分比与正确识别的阳性样本相比较来估计。

**vii.稳定性研究**

贵公司应对研究设计进行描述，确定试剂和仪器的实时稳定性，如果适用，还应描述压力检测条件和结果。贵公司应该确定每一项研究的接受标准值以及选择方法。

* 1. **仪器和软件**

临床多重检测系统的仪器受21 CFR 862.2570法规管制。有关这种仪器的指南请参阅 “II类特殊控制指导文件：临床多重检测系统的仪器”[[7]](#footnote-6)。如果多重检测法使用临床多重检测系统的仪器并获得了FDA的批准，那么这类仪器可被放行包括在器械中参与检测。检测和仪器的同时放行可以通过（1）该检测的申办方在一个510（k）文件资料中提交了临床多重系统的检测和仪器的信息，或（2）仪器制造商自己主动提交了单独的510（k）文件资料，关于临床多路复用系统的仪器。放行仪器所需的信息取决于仪器以前是否为类似的预期用途而放行，以及是否升级了软件以适应新的检测方法。

如果贵公司的系统包含软件，则应根据关注的级别提交详细的软件信息。更多信息可参照“医疗器械中包含软件的上市前提交的内容指南”[[8]](#footnote-7)文件。贵公司应该在降低风险之前确定关注水平。 这种类型的体外诊断试剂通常被认为是中等程度的关注水平，因为软件缺陷可能间接地影响患者并且可能由于不准确的信息而导致受伤。

对于使用专有数据库定义其器械生成信号结果的器械，我们建议制定明确参考数据库准确性的质量标准以及组织、维护和更新数据库的方法都包括在贵公司的递交资料中。

以下附加参考可协助贵公司根据符合FDA法规的软件生命周期规范研发和维护器械。

* 软件验证的一般原则；行业和FDA工作人员的最终指南[[9]](#footnote-8)
* 医疗器械中现有软件使用指南；行业和FDA工作人员的最终指南[[10]](#footnote-9)
* 医疗器械中包含软件的上市前提交内容指南[[11]](#footnote-10)
* 21 CFR 820.30 C子部分 - 质量体系规章的设计控制。
* ISO 14971-1；医疗器械 - 风险管理 - 第1部分：风险分析的应用。
* AAMI SW68：2001；医疗器械软件 - 软件生命周期过程。
	1. **临床表现研究**

**i.临床研究设计**

高性能多重器械的临床验证应分为两部分研究。临床评价将通过对入组的器械指明有感染体征和症状的患者进行有限前瞻性研究，使用具有特定数目的比较方法（CM）测量来随机评价每种分析物以确定特异性（或阴性一致性百分比），见6.D.iii研究规模。可以使用明确定义的回顾性存档样这项评价每种分析物的灵敏度（或阳性一致性百分比）。研发人员应详细描述收集和策划回顾性样本的方法。这些信息应该包括样本如何被识别，样本表征（包括用于确定阳性的方法）以及样本的储存条件。应讨论回顾性样本中的所有可能的偏差。关键是选择最高质量的存档样本用于该部分研究。第6.D.iii节讨论了研究中每部分的样本数量。

贵公司器械的临床评价应使用来自预期用途患者群体的样本。特别地，来自器械指明有感染体征和症状的患者的样本应当用于评价包括在多重检测菜单上的声明的样本类型和微生物的性能。 临床样本，无论是前瞻性还是存档，都应该从代表美国（U.S.）人口统计学的不同地理位置的临床地点收集。 如果在美国没有阳性临床样本，那么有必要使用美国以外的样本。在局部爆发的特殊情况下，还将考虑单个地理收集点。

应至少使用三个检测地点（一个地点可以是内部的）对主体器械（包括前瞻性收集的和归档的标本）进行临床标本的评估，至少有两个地点位于美国。检测地点可以独立于收集地点。

前瞻性样本以及存档的阳性样本应随机分布到检测地点。控制方法检测可以在单个参考地点进行。应该用FDA放行或批准的器械实现比较方法（如果适用），并且建议使用适当的放行或批准的多重器械。当FDA放行或批准的器械不可用时，可以使用复合参考方法，两种经过验证的基于扩增的检测，然后进行双向测序。有关基于PCR的检测和测序标准的最小验证步骤的内容请参阅第6.D.ii节，也可以联系FDA获取。

对于临床评价中使用的所有样本（前瞻性和回顾性），应收集所有相关的临床和实验室信息。包括年龄（儿童、成人、老年人群），症状发生后的天数，性别，患者人群（即门诊，急诊，住院，免疫损害），收集和检测日期/时间，体征和症状及检测的适应症，以及服用的任何药物。适当的临床信息可能会随着目标研究组而变化。

在贵公司的上市前申请中，研发人员应提交每个临床研究方案的副本（包括纳入和排除标准，预期的敏感性水平（阳性一致性百分比）和特异性（阴性一致性百分比，接受标准）我们建议贵公司在临床研究中包括每个年龄组的样本，并提供数据证明贵公司的检测性能按年龄分层（例如，<5，6-21，22-此外，应提供关于存档样本的信息，包括用于选择适当的存档样本的方法和关于为识别和减少研究组选择偏差所采取的措施等。我们建议贵公司与FDA联系，请求对研究进行审查。

器械申办方应确保通过对研究的现场/临床监测进行高质量的临床研究。 这应包括对个别病例历史进行“现场”监测，评价其是否遵守协议，确保持续实施适当的数据录入和质量控制程序，以及一般评价是否遵守临床试验规范。

有关临床评价\人类受试者保护和使用剩余样本的更多信息，请参阅以下FDA指导文件：

* 使用不能单独识别的其他人类样本进行体外诊断试剂研究的知情同意指南[[12]](#footnote-11)
* 体外诊断试剂（IVD）研究常见问题[[13]](#footnote-12)

**ii.比较方法**

贵公司应该将产品的检测性能与FDA放行或批准的器械进行比较。对于没有FDA放行/批准的可供比较的器械的病原体，可以使用复合（多检测）参考方法（使用组合多个检测的结果的预定算法）作为比较方法。该方法应包括单独表征的核酸扩增方法（例如，PCR），然后是双向测序。在复合参考方法中使用的核酸扩增方法应当靶向于由本器械检测的特定区域的不同基因组区域（即，掺入不同靶标）。贵公司应该在递交资料中提供公开的文献或实验室数据，支持扩增方法。我们建议贵公司对扩增子的两条链进行测序反应（双向测序），并且证明所产生的序列是至少200个碱基对，具有可接受的质量（例如，通过PHRED或类似的软件包测量的质量得分为20或更高），此外与参考或共有序列匹配。

有关基于PCR的检测和测序标准的验证步骤的信息可以联系FDA获取。简而言之，通过进行分析灵敏度（LoD）和反应性研究，明确先前经过验证的基于PCR的检测用于比较的分析性能，然后进行测序分析参考检测。应在临床检测之前评价明确和描述核酸扩增试验（NAAT）的性能，以及测序分析比较方法的文献和/或其他验证数据。贵公司应该向FDA提交验证数据的文献，说明选择用于NAAT的引物，然后进行测序分析参考检测。该信息对于证明参考检测靶向目标病原体基因组的保守区域，并且广泛反应以捕获菌株多样性很重要。作为上市前应用的一部分，引物序列、基因组的靶区域、BLAST结果和序列比对也应提交FDA审查。应将合适的对照，包括具有低病原体基因组拷贝数的阳性对照、阴性对照和独立的抑制对照测量结合到每个NAAT中，然后进行测序分析参考检测。

**iii.临床评价 - 研究规模和数据分析**

**阴性一致性百分比的评价**

应通过前瞻性收集的样本和至少三个临床试验地点的分析来进行阴性一致性百分比的评价，其中两个临床试验地点应在美国。研究中患者应基于体征和症状登记，并符合额外的纳入标准研究。一般来说，不能接受使用健康的供体;然而，在某些情况下可以接受，我们鼓励研发人员联系FDA讨论这些类型的样本在何时是可接受的。对于本研究，一般应通过器械收集和分析1500个前瞻性样本，以便获得足够的统计效率供FDA进行实质等同检测。根据与多重器械一起使用的微生物和样本类型的数量，应考虑用以下方法进行比较方法的评价。

如果试样体积的变化无法进行所有比较试验，则应该采取明确的随机化方法，以便分析每一分析物的每种比较方法最少100个样本。此外，应该指定法规，为分析管制物质提供充足的样本，以满足特异性性能标准。以20重器械为例，其中每种比较方法需要相等的检测体积并允许5种比较方法检测，可以使用比较方法（CM1，CM2，CM3，CM4，CM5）检测第一个样本， （CM6，CM7，CM8，CM9，CM10）检测第二个样本，等等。在检测四个样本之后，每种比较方法被应用了一次。检测了前面四个样本，可以随机生成从1到20整数的新数组，并且根据这个新数组通过比较方法来检测接下来的四个样本。研发人员应该强化研究来明确临床特异性，点估计和95%CI的下限超过FDA反馈的水平。对于管制物质[[14]](#footnote-13)，临床特异性被证明达到99.9%点估计，95％CI的下限大于99％。

还应注意的是，对于来自前瞻性研究的每个样本，病原体的目标多重器械具有阳性结果，也需要由相应的对比方法检测该样本。关于由HMMD的阳性结果驱动的对比方法结果不会直接用于灵敏度和特异性的计算，原因是会在多重器械性能的估计中引入偏差。然而，这有助于理解HMMD的整体性能，特别是在共同检测方面，并且应当列在单独的表格中。 HMMD特异性的比较性能应当使用FDA放行或批准的器械（如果可获得的话）来确定。建议使用放行的多重器械（如果适用）。

当FDA放行或批准的器械不可用或不合适时，可以使用两个基于PCR检测法随后进行双向测序的复合参考方法。请参见第6.D.ii节获取更多信息。

**阳性一致性百分比的评价**

此项分析包括每种声明的微生物的至少50个阳性样本（由比较方法确定）。每种病原体的阳性样本的数量由阳性一致性百分比的点估计和95%双侧置信区间的下限驱动。 这些值可以根据器械的预期用途而变化，并且需要与FDA讨论以确定多重器械的每种病原体的临床敏感性水平。

例如，具有由上呼吸道微生物组成的检测菜单的多重器械将包括充足的每种分析物的存档/回顾性样本，产生与双侧的下限具有至少90%阳性一致性百分比的结果，95%置信区间（CI）大于80%。假设实现了90.2%的点估计；需要包括至少61个阳性样本（55/61），大于80%的超过95%CI的指定下限。实际上，对于61个样本，其中55个产生90.2%的点估计，95%CI：80.2%至95.4%。然而，使用60个样本的实施例，其中的54个样本，其性能得到90.0%的点估计，CI不满足95%CI为79.9%至95.3%的最小性能条。

所有阳性存档/回顾性样本（通过在存放样本之前的方法确定）将用相应的比较方法和主体器械进行分析。 验证比较方法时，必须确保正确存档样本，储存期间样本不会发生降解，并且样本被正确识别;因此，未被比较方法确认为阳性的样本不应包括在性能检测中。然而，来自主体器械检测未确认样本的结果应该单独列表。此外，HMMD对其他病原体的阳性检测也应该由比较方法验证，因为这提供了关于多重器械性能的额外信息，尤其是在潜在共感染的情况下。可以考虑确认阳性样本的替代方法;然而，我们鼓励贵公司在研究前与FDA讨论。回顾性阳性样本应与器械预期使用所列的相同样本类型，并从适当的预期使用人群收集。选择包括在本研究中的样本应代表特定病原体的临床相关的浓度范围。来自阳性临床样本提取的核酸已经存档时，如果选择适当的预期使用人群，那么可以考虑将其包括在分析中，采用指明的预分析步骤收集和处理样本类型，进行相应的比较方法的确认。

我们认识到，实际的临床人类样本，存档或其他，可能不容易获得微生物威胁病原体。可以通过将培养的病原体掺入个体阴性临床样本构建模拟临床样本。对于这项分析，50%的加标样本将在检出限浓度下构建，而剩余的50%将跨越病原体浓度的预期临床范围。对于具有极低流行率的非微生物性病原体，模拟样本应反映相关临床范围。通过同行评审的文献参考或来自相关专家的反馈，研发人员应为每个标记类型提供预期临床范围的证明。考虑到处理许多微生物性病原体的限制，应该安排具备适当研究能力的合格机构验证临床表现。对于微生物威胁病原体，由于阳性一致性百分比验证的物流问题，可以在单个地点进行分析。或者，如果微生物威胁病原体不涉及特殊设施，可以使用多个检测地点方法来评价阳性一致性百分比，并且存档样本（阳性和阴性）应当在三个检测地点之间均匀随机分布进行分析。

在使用模拟样本进行任何研究之前，贵公司应咨询FDA获取反馈。 贵公司的方案中应包括详细的检测计划和理由。

**iv. 数据呈现**

对于由HMMD识别的每种病原体，应当分别呈现阳性一致性百分比（PPA）和阴性一致性百分比（NPA）（具有95%CI）。此外，贵公司应该提交：

* 通过参考方法获得的具有共感染的样本的检测结果。注意：由于禁止样本体积，此信息可能不适用于某些预期样本。
* 由HMMD获得的具有共感染的样本的比较方法结果。
* 由目标多重器械的阳性结果驱动的比较方法结果。

临床研究中的所有样本应按照器械使用说明中所述的HMMD进行检测。 例如，如果根据用于HMMD的说明重新检测具有初始不确定或无效结果的样本，则在这些样本的指示检测程序中获得的最终结果应该用于统计分析。 对于临床研究中的样本，由于初始无效结果（如果适用）和初始不确定结果（如果适用），应提供重新检测样本的百分比。此外，贵公司应该提供最终无效和最终不确定结果（如果适用）的百分比。

贵公司应该为所有前瞻性收集的新鲜、存档和预先选择的样本提供HMMD的数值结果分布，单独显示每种病原体和显示所有病原体的组合。

**v.研究样本/样本类型**

贵公司应该使用所有样本类型和矩阵的临床样本，证明从临床材料获得正确的结果。对于在临床研究中使用的样本，应该提供数据，证明任何库存样本的储存和运输都不会影响检测结果以及用于将样本存储为阳性特定分析物的方法。如果贵公司对选择合适的样本类型以及可以合并的样本类型有疑问，请联系FDA咨询。

1. **上市后分析**

对于某些病原体，特别是已知具有相对高的突变率的那些病毒，其性能随时间的侵蚀的潜在性是HMMD的重要关注点。HMMD遵循21 CFR第820部分所述的质量管理体系法规。作为质量体系的一部分，研发人员应在预期使用环境中并通过纠正和预防措施计划监测器械的性能。如果发生突变，损害上市前评价放行HMMD的器械性能特征，我们强烈建议研发人员联系FDA获得进一步的指导，改进现有器械。改进的器械的验证研究和性能将根据改变的类型而变化。

1. **器械改进**

以下内容旨在清楚地定义一种路径，以响应公共卫生需要或紧急情况将新靶标并入现有器械，并确保已放行器械的性能特征随时间保持一致。向多重组添加新的分析物将产生新的预期用途，因此将需要根据21CFR子集E提交传统510（k）。由于已经进行了许多研究确定之前放行的器械，并且我们假定该检测的性能没有改变，仅需要重复一部分评价。

如果需要包括额外的靶标以满足公共卫生需求或紧急情况，那么证实性能的研究将主要集中在额外的分析物上。应强调，当添加新的分析物或改进器械时，可能不需要考虑某些类型的评价，包括稳定性研究以及剩余污染和交叉污染的评价。 此外，重现性研究和临床评价的范围将集中在新的/改进的分析物和用于性能确认的代表组上。

* 1. **检测限**

对于新的分析物，应该遵循本指南草案第6.B.i节中的建议进行检出限研究。简而言之，使用最少20次重复，包括所有预分析步骤，确认95%的阳性。此外，确认以前放行的分析物的性能在新检测形式（即，使用新的分析物）中没有改变。对于确认研究，每个浓度检测只有一个先前放行的分析物的代表性子集，检测限浓度的稀释系列，每次浓度为3到5次。这些标本应该运行改进的检测和放行的检测。开发人员应说明构象研究中使用代表性分析物的选择。

* 1. **分析反应性**

应该评价新的分析物的反应性。 这项评价应以6.B.ii节中提出的建议为依据；然而，研究重点应只放在新的分析物上

* 1. **交叉反应性**

应该评价新的分析物的交叉反应性。这项评价应根据6.B.iii节提供的建议，但重点应放在新的分析物上。

* 1. **通过分析物的竞争干扰/其他微生物的干扰**

应该评价新的分析物进行竞争性干扰和来自其他微生物的干扰。这项评价应基于6.B.iii.b和6.B.iiic.c.节中提供的建议。竞争性抑制的评价应该只包括新的分析物的相关共感染。

* 1. **精度（重复性/重现性）**

重复性/重复性的评价应该使用单个地点进行，也可以使用三种不同的仪器在内部进行。评价应包括新的分析物和以前放行的分析物的子集。研发人员应提供理由说明评价选择的代表组，并在设计试验组时应考虑检出限和靶标类型。适当的检测水平见第6.B.v.节。

* 1. **有限临床评价**

有限临床评价应该证明新的分析物的性能，并重申以前放行的分析物的临床表现。使用临床样本对器械性能的评价在单个检测地点或者内部进行。阳性临床样本可以前瞻性收集或者存档临床样本，如第6.D.iii节所述。新的分析物的比较检测应按第6.D.ii节所述操作。对于其余分析物，贵公司可使用代表性的分析物组对已经放行的器械（即没有新的分析物的器械）和改进后的版本进行比较。试验组应证明合理，并包括足够的样本，以达到第6.B.iii节所述的性能标准的灵敏度和特异性。如果以放行器械评价（即，在用新的分析物改进之前）存档剩余样本或提取的核酸，那么推荐将其用于评价。如果没有足够数量的样本，额外的回顾性样本也可以用于比较评价。



1. http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/HowtoMarketYourDevice/PremarketSubmissions/PremarketNotification510k/default.htm [↑](#footnote-ref-0)
2. http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm084396.pdf [↑](#footnote-ref-1)
3. http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm073756.pdf [↑](#footnote-ref-2)
4. 某些分析物本身就具有高风险，其中一些分析物的风险尚不明确，因此属于III类。 检测多种分析物的器械，以最高分类分析物进行分类。 [↑](#footnote-ref-3)
5. 即使贵司确定在检测中可以使用一种或多种替代辅助试剂，这种命名为替代的试剂仍可能是辅助试剂。 [↑](#footnote-ref-4)
6. 在微生物和微生物医学实验室的微生物安全。1999. Richmond, J.Y. 和McKinney，R.W. eds。 HHS出版号（CDC）93-8395; 和CLSI。 保护实验室工作人员免受血液、体液和组织传播的传染病。 CLSI文件M29-A。 [↑](#footnote-ref-5)
7. http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/UCM071061.pdf [↑](#footnote-ref-6)
8. http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm089543.htm [↑](#footnote-ref-7)
9. http://www.fda.gov/medicaldevices/deviceregulationandguidance/guidancedocuments/ucm085281.htm [↑](#footnote-ref-8)
10. http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm

073779. pdf [↑](#footnote-ref-9)
11. http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm089543.htm [↑](#footnote-ref-10)
12. http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/UCM071230.pdf [↑](#footnote-ref-11)
13. http://www.fda.gov/downloads/RegulatoryInformation/Guidances/ucm127033.pdf [↑](#footnote-ref-12)
14. 为了说明被认为是管制物质的病原体，请参阅国家管制物质注册登记处，http://www.selectagents.gov/select%20agents%20and%20Toxins%20list.html [↑](#footnote-ref-13)