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年8月12日

发件人： 副主任，免疫科，血液科及微生物科- 临床实验室器械部（HFZ-440），器械评估办公室，器械与放射健康中心

主题 血培养系统的审查标准

收件人 相关制造商

我们制定了一份标题为“体外血培养系统诊断器械评估的审查标准”的草案文档。本文档列出了我们将审查的项目，旨在帮助制造商准备这些器械类型的上市提交资料。

由于体外诊断领域在临床实验室中迅速发展，我们征求贵公司关于所附评查标准的想法、建议和评论。我们将非常感谢贵公司提供评论，以便我们可以在修订中纳入尽可能多的改进。

请将评论发送至：

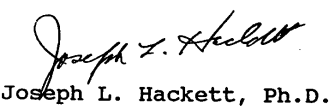
Joseph L. Hackett， Ph.D.

副主任，免疫科，血液科和微生物科

临床实验室器械分部（HFZ-440）

食品药品监督管理局

1390 Piccard Drive Rockville，MD 20850



附件

日期：1991年8月

版本：原始版本

草案： DCLD血培养系统指导性文档

这是一个灵活的文档，代表当前关于体外血培养系统诊断器械的主要关注问题和建议。其基于1）当前的基础科学，2）临床经验和3）先前由制造商提交给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，适应新的知识。

体外血培养系统诊断器械的审查标准

产品代码：MDB

法规编号：21 CFR §866.2560

小组：83 微生物学

类别：Ⅰ 类

所需审查：510（k）

定义：这种通用类型器械用于临床实验室，旨在检测人血或其它正常无菌体液是否存在微生物的体外试验。

目的：

本文档的目的是为血培养器械许可上市之前向食品药品监督管理局（FDA）的提交信息提供指导。这些信息可使FDA能够根据统一的数据库制定更合理的决定。

1. **背景**

术语—菌血症、真菌血症和败血症有时可互换，但这些术语确实具有不同含义。在本文档中，菌血症的定义为血液含有细菌或真菌，而败血症的定义则为血液含有细菌或真菌且具有感染的临床症状，如发烧、寒战、心动过速、低血压、休克或白细胞增多等。

根据美国国家出院调查，1979年至1987年间257万例出院患者诊断出败血症。在此期间，每年病例数增加了139％。败血症的增加对所有年龄组均具有影响，但对65岁的患者影响最大，并且在15-44岁年龄组中也具有一定影响。这些变化被认为至少反映了四个因素：1）医疗技术的改进，其可能增加有败血症风险的免疫受损患者的存活率；2）医院内外创伤性器械的使用增加；3）诊断败血症的能力增强；和4）患有社区获得性败血症风险增加的免疫受损患者数量。菌血症和真菌血症是危及生命的感染，其需要适当的医学干预以进行治疗，包括施用抗微生物治疗。败血病是美国第十三大死亡原因1。菌血症或真菌血症的检测具有极大的临床意义，特别是在以下方面：1）确定某些高风险患者人群的初步诊断；2）确定或确认局灶性感染的细菌学原因；3）提供预后信息并警告医生潜在的并发症—局灶性感染（例如，骨髓炎或脑膜炎）；4）提供排除严重疾病（在感染性心内膜炎中）的方法；5）监测抗微生物治疗。若血培养出现阳性结果，其可直接确定诊断（例如感染性心内膜炎）。在其他情况下，引起感染的微生物难以从感染的原发部位分离时，阳性血培养物可提供间接证据（例如骨髓炎）。

1. **器械描述**
2. 历史背景。

自最早将viridans组链球菌诊断为“恶性心内膜炎”的成因以来，每当医生怀疑是否为临床上显著的菌血症时，其将使用血培养方案。虽然几种其他体外试验和临床发现可用于检测败血症是否存在，但血培养仍然是定义这种病症的“黄金标准”试验2。

血培养方法通常涉及多目的使用、营养丰富的肉汤或琼脂培养基。将血液直接接种到液体培养基或双相培养基中，或者在接种培养基之前对血液样本进行预处理。传统上，血培养物的监测包括目视检查、革兰氏染色和肉汤培养基的盲目传代培养。通过在瓶口空间进行取样以监测肉汤培养基中的微生物是否产生CO2的工具在1976年之前已可商购。原始方法是在肉汤培养基中使用14C标记的培养料，检测由活性细菌代谢产生的14CO2。从那时起就已经引入用于检测CO2产生的其它方法。

1. 试验原理

器械是本指导性文档的主题，包括所有增长依赖性血培养基系统，无论是1）通过传统的手动或工具辅助方法对其进行监测；2）使用非增长依赖性方法直接评估血液中微生物是否存在的所有器械；3）被视为用以培养之前或期间增强从血液或其它体液中的微生物回收的辅助物的任何器械（实例是用于除去抗菌剂的树脂，或溶解血细胞和/或浓缩物的器械，例如隔离器）。

1. 样本类型。

传统上，血液或其他正常无菌体液（除尿液外）是这些器械可容纳的样本类型。

1. 比较器械。

需氧和厌氧肉汤培养基瓶（Difco，BBL，Becton Dickinson）；组合肉汤、琼脂系统（Roche Septi-Chek）；血液溶解/离心浓缩（Walpole Isolator）； CO2监测系统（辐射测量和红外线Bactecs；BacT / Alert Organon）；ARD（抗菌素去除器械）。

1. **具体性能特性**

FDA要求在制造商的体外诊断器械上市申请中纳入不同类型和数量的数据和统计分析。数据和统计分析也因试验为定量试验还是定性试验而变化。为证实某些对预期用途或临床意义的声明，可能必要提交其他数据。如果提交中的数据可充分证明在使用合适的统计研究（例如，McNemar卡方检验或成对T检验）时，不同样本类型（血液、腹膜透析液、滑液）之间的试验结果没有差异，则可以用选择的一个样本测定试验性能特性。否则，必须证明用于使用或证明统计差异的所有样本类型/基质的性能特性。

需要提交以下数据，确定使用培养或非培养方法的血培养系统的相对安全性和有效性：

1. 分析/实验室 /体外研究。

对于器械操作较为重要的特定参数应该由器械确定的数据支持。应当证明，该器械的性能实质等同于用作参考方法的现用商业产品。应该明确说明所有体外试验方案。试验数据应提供分析和结论。数据和统计评估（包括置信区间）应当足以确定，对于所有声明的样本类型/基质，器械是否具有实质等同性和/或相对的安全性和有效性。

在检测血液或其他正常无菌体液中微生物是否存在的器械提交中应当涉及以下性能特性。

* 1. 内部研究背景信息

血培养器械的510（k）审查中的关键问题是：1）适于试验的患者人群；2）使用该器械可回收的微生物种类。和3）该方法使用的技术。510（k）提交需要包括以下描述性信息，充分表征新型体外器械。提交资料必须纳入经过同行审查的适当参考文件以及等同器械的产品说明书。

1. 试验原理

对于工具辅助系统，请提供以下完整简明的信息：

1.检测方法的原理

2.检测方法

3.确定阳性阈值（系统的所有培养基组分）的临界值。

4.工具操作员手册的副本

5.计算机软件文档（请参见CDRH草案2/1/91“计算机控制医疗器械的审查员指南”）。

对于非工具辅助系统，请提供以下信息：

1.检测方法的原理

2.检测方法

3.阳性标准

1. 准确性/回收率研究。

对于需要接种、培养和增长的系统3，4：

1.应该确定接种到培养基（支持其增长）中的稀释液和血液中各种微生物（其浓度已知）的峰值回收率，即CFU / mL <10，<100，<1000和阳性报警时间（在有无血液的情况下）。微生物应该代表培养基旨在支持其增长的微生物。

2.应为可从每种培养基类型回收的代表性微生物的阈值阳性确定检测限。

3.确定血液：肉汤培养基比对微生物回收的影响。提供数据以证实所建议的血液：肉汤培养基比。

4.确定添加任何补充剂对来自血液或其他体液的特定微生物增长的影响。提供数据以证实所建议的补充剂。

5.为系统中使用的所有培养基类型提供完整的培养基配方。提供与培养基应用患者人群有关的文档。

6. 应在标签中明确记录系统回收布鲁杆菌、分枝杆菌、丝状真菌、支原体和病毒的能力或不足。

* 1. 干扰研究。

解释说明可能发生假阳性或假阴性结果的条件。如果出现此类情况，用户应如何避免获得这些结果？

* 1. 样本收集和可接受性

a）提供推荐用于器械中的所有临床材料的概要，即血液、滑液、胸膜液、腹膜液、脑脊髓液。

b）提供器械对所有患者人群具有实用性的概要，即成人、小儿、免疫受损、抗微生物治疗的患者。

c）应当说明与获得临床材料的方法有关的建议，即注射器和针头、特殊收集装置、真空管。

d）提供有关体积要求（最小，最大）的文档。如果添加到瓶中的体积小于最小或大于最大体积，可预期出现什么效果？

1. 临床研究

对比研究可提供与合法上市的另一商业系统或普遍接受的参考方法相比，与该系统准确检测阳性和阴性血培养结果的能力有关的数据。

应当提交数据，证明当与已经在美国手术的另一类同器械相比时，新系统在定性使用时的性能具有实质等同性。必须纳入选择对比方法的理由，包括对比方法的相关参考文件和包装说明书。

试验应在一些阳性和阴性临床样本上进行，这些样本应足以建立相对的诊断敏感性和特异性，其中，诊断敏感性和特异性应在包装说明书的性能特性部分中声明。

临床研究应包括对测定性能进行的评估。应该证明所有对器械操作较为重要的诊断声明和特定参数。应提供所有临床试验的试验方案。试验方案应由至少三个独立的研究者在不同的地点进行。试验数据应提供分析和结论。数据和统计评估应当足以确定器械是否实质等同于类同器械并较其相对安全且有效。

参考方法可以为可商购的工具辅助系统和/或使用市售血培养基的常规手动方法。然而，如果使用这两种方法，则必须单独提交数据分析。

应至少在三个部位使用大量样本进行平行研究，其中，在每个部位上，每种瓶/介质类型应至少有2000个血液样本。

1. 临床方案
2. 应根据试验部位提交以下信息

1. 试验部位名称

2.主要研究者姓名

3.清晰说明每个试验部位的对比研究方案。请包括以下信息：

a）研究的目标

b）要分析的样本数量

c）方法

1. 收集血培养物—谁将进行收集以及从什么患者人群中收集。如何获得血液？需获得多少血液？

指定部位，即外周静脉穿刺，留置动脉或静脉导管。

2.接种瓶— 每个瓶子/培养基中多少血液（b / m）、b / m接种顺序、每组多少瓶；如果所获得的体积小于最小体积，则应如何分配血液。收集时间。接种到参考和试验系统b / m中的血液体积必须相同；血培养的定义为在单次抽取时获得的体积和从该抽取接种的总b / m。当抽入四瓶所需的血液体积超过30ml时，应将研究分为两个部分，一个为需氧对比研究（作为参考方法），另一个为厌氧对比研究。

3. 登记各b/m—必须确定每个瓶子的填充充分度。填充不足或过度填充的瓶子必须从研究中排除，但仍然需要对其处理，以最大限度地从每种培养物中回收微生物。说明每个部位的登记方案。

4.检查和测试接种瓶- 提供测试频率的时间表，检查参考和试验系统的各b / m。

5. 处理疑似阳性b/m—参考和测试系统中确定疑似阳性b / m的标准。在某一组中，对各阳性b / m进行的处理应该独立于对其他b / m进行的处理。当该组中的另一个b / m被标记为疑似阳性（除了如下所述的末端再培养基之外）时，不应检查或测试阴性b / m。在被标记为疑似阳性之前或在七天培育期期间，瓶子应保留在其各自的系统中。任何标准标记为阳性的B / m应进行革兰氏染色和再培养。革兰氏阴性培养物应该返回到各自的系统并进行培养，直到再培养物上出现增长、B / m被重新标记为疑似阳性或者初始7天培育期已结束。被确认为真阳性的B / m的定义为：通过任何标准，基于革兰氏染色，疑似含有增长微生物的B / m，或发现再培养物含有微生物。该定义不对分离物的意义作出判断（见7.g）。应根据每个实验室的程序处理阳性。假阳性b / m的定义为：通过任一系统中的任何标准，由系统标记为阳性的b / m，并且革兰氏染色未发现编号，且再培养物呈阴性。应记录假阳性b / m的发生率。应对假阳性的发生率进行说明。

6.末端再培养 - 当一组中有一个或多个b / m中检测到出现增长并确认，但是在该组中，其它瓶子在7天培育期结束时未被标记为疑似阳性，应在CO2中需氧培养的巧克力琼脂平板上对“阴性”需氧瓶进行再培养。也应在需氧培养的巧克力板上以及在厌氧培养的血琼脂（或其他适用培养基）上对“阴性”厌氧瓶进行再培养。应在所有工具监测的需氧瓶以及10％的厌氧阴性组上队一组的所有b / m进行末端再培养。

7.数据收集 - 应该为每个适用且纳入研究中的培养基收集以下数据：

a）在实验室收到血培养物的时间和日期（如果已知，应记录获得的时间和日期）。

b）每个瓶子的填充量是否足够。

c）如何以及何时在每个瓶中检测到微生物的增长（检测时间应以最接近小时的数值给出）。

d）从给定培养物中分离的所有具有临床意义的微生物的属和种类。

e）哪些瓶子被发现是假阳性以及评定标准是什么。

f）哪些瓶被发现是假阴性以及评定标准是什么。

g）确定微生物是否在临床上被视为污染菌—即菌血症或真菌血症的成因，或者其是否无法确定以及未知。确定分离物临床意义的标准应当是Weinstein等人使用的标准5，其包括i）首次阳性血培养物出现的日期，ii）当收取阳性培养物时的体温，iii）外周白细胞计数和差异，iv）临床病程 ，v）其他身体部位的培养物的结果，vi）初级护理医师的评估。

8.阳性血培养物和患者事件的最小数量- 至少600例具有临床意义的阳性血培养物代表至少370例患者事件。当从同一患者获得一种或多种血培养物并且从每组（血培养 ）中的一个或多个瓶中分离出相同微生物时，患者事件应当被定义为一个给定的时间段，即48小时，3天；在分离不同微生物的不同时间段期间，同一患者中可发生不同事件。

如果器械的预期用途包括除血液以外的体液，则必须为每种流体类型纳入至少20例阳性患者事件。

9.数据分析

应遵循用于比较试验和参考方法的统计方法（如Ilstrup6、Arkin和wachel7所述）。方法的分析应针对患者事件以及类似培养基中既定微生物的增长和回收的检测3。

帮助审查提交材料数据提交的建议格式见附件和表1-3。

1. **标签注意事项（CFR 809.10）**

样本收集和处理

a）说明待收集的样本类型，例如全血、滑液、胸膜液。

b）说明患者准备的条件，例如禁食、收集时间、收集间隔等。

c）适当收集程序的参考，例如NCCLS指南、参考书、期刊等。

d）说明所需的样本量（最佳样本量和最小样本量）

e）识别干扰物质或条件，即抗生素疗法

质量控制

质量控制部分提供的信息应包括以下信息：

1. 如果器械未配备材料，说明应使用何种样本或可商购产品进行阳性或阴性质量控制。
2. 质量控制频率的建议。
3. 应提供对质量控制样本结果的解释说明。
4. 质量控制部分应以类似于以下内容的语句结束：“如果控制措施不符合预期，结果无效”。
5. 适当时请参考工具程序手册。
6. **参考文件.**
   1. 疾病控制中心增加国家败血症出院调查率-美国，1979-1987。MMWR。1990；39：31-34。
   2. Aronson MD, Bor DH. 血液培养。内科学年鉴。1987; 10：246-253。
   3. Bryan CS. 阳性血培养的临床意义。临床微生物学杂志 1989； 2：329-353。
   4. Washington JA II, Ilstrup DM. 血培养：问题和争议. 感染性疾病修订版1986；8：792-802。
   5. Weinstein MP, Murphy JR, Reller LB, Lichenstein KA. 阳性培养的临床意义：成人500例菌血症和真菌血症的综合分析。I.实验室和流行病学观察。感染性疾病修订版1983; 5： 35-53。
   6. Ilstrup DM. 用于血培养基研究的统计方法。在：Washington JA II. ed. 检测败血症。West Palm Beac： CRC Press 1978; 31-39。
   7. Arkin CF, Wachtel MS. 有多少病人需要评估试验表现？JAMA 1990, 263：275-278。

**表1 (a-h）a**

部位 需氧/厌氧培养基

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 试验器械 | | 参考器械 | |
|  | #/总瓶数 | % | #/总瓶数 | % |
| 阳性 | 280/2010 | 13.9 | 276/2010 | 13.7 |
| 单微生物 | 250 | 89.3 | 248 | 89.9 |
| 多微生物 | 30 | 10.7 | 28 | 11.1 |
| 阴性 | 1730/2010 | 86.1 | 1734/2010 | 86.3 |
| 假阳性b | 44/1730 | 2.5 | 80/1734 | 4.6 |
| 假阴性c | 12/1730 | 0.7 | 9/1734 | 0.5 |

a 使用需氧和厌氧配对培养基结果为每个试验部位提供单独表格，并使用需氧和厌氧培养基为所有部位提供一张汇总表。

b 提供试验和参考方法中假阳性标准的定义。

c 提供试验和参考方法中假阴性标准的定义。

**表 2：假阴性结果a**

部位

**需氧**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 试验器械 | | | |  | 参考器械 | | | |
|  | 标记b | 天数 | 分离微生物 |  |  | 标记 | 天数 | 分离微生物 |
| 1 | FN | 7 | 白色念珠菌 |  | 1 | P | 3 | 白色念珠菌 |
| 2 | P | 4 | 近平滑念珠菌 |  | 2 | FN | 7 | 近平滑念珠菌 |
| 3 | FN | 8 | 表皮葡萄球菌 |  | 3 | FN | 8 | 表皮葡萄球菌 |
| 4 | N | 7 | 无增长 |  | 4 | FN | 7 | 麻疹孪生球菌 |

**厌氧**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 试验器械 | | | |  | 参考器械 | | | |
|  | 标记 | 天数 | 分离微生物 |  |  | 标记 | 天数 | 分离微生物 |
| 1 | FN | 2 | 消化链球菌属 |  | 1 | FN | 7 | 消化链球菌属 |
| 2 | P | 3 | 表皮葡萄球菌 |  | 2 | FN | 7 | 表皮葡萄球菌 |
| 3 | FN | 7 | 无增长 |  | 3 | FN | 8 | 产气荚膜梭菌 |
| 4 | FN | 5 | 痤疮丙酸杆菌/表皮葡萄球菌 |  | 4 | N | 7 | 无增长 |

1. 在末端再培养时分离的微生物； 所列结果源于需氧和厌氧培养基的配对组（部位和整体）。
2. 定义标记的标准

FN - 假阴性的定义为..........

P – 阳性的定义为.........

N – 阴性的定义为.........

**表3a-f**

部位/整体：

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **回收微生物** | **试验和参考** | **仅试验** | **仅参考** | **统计显著性\*** |
| *需氧革兰氏阴性* |  |  |  |  |
| 大肠杆菌 |  |  |  |  |
| 肺炎克雷伯氏菌炎 |  |  |  |  |
| 阴沟肠杆菌 |  |  |  |  |
| 产气肠杆菌 |  |  |  |  |
| 粘质沙雷氏菌 |  |  |  |  |
| 变形杆菌 |  |  |  |  |
| 铜绿假单胞菌 |  |  |  |  |
| 嗜麦芽黄单胞菌 |  |  |  |  |
| 不动杆菌属 |  |  |  |  |
| 淋病奈瑟氏球菌 |  |  |  |  |
| 嗜血杆菌流感 |  |  |  |  |
| *需氧革兰氏阳性* |  |  |  |  |
| 金黄色葡萄球菌 |  |  |  |  |
| 表皮葡萄球菌 |  |  |  |  |
| 溶血葡萄球菌 |  |  |  |  |
| 微球菌 |  |  |  |  |
| 片球菌属 |  |  |  |  |
| 肺炎链球菌 |  |  |  |  |
| A组链球菌 |  |  |  |  |
| B组链球菌 |  |  |  |  |
| 粪肠球菌 |  |  |  |  |
| 屎肠球菌 |  |  |  |  |
| 链球菌属 |  |  |  |  |
| 单核细胞增生李斯特菌 |  |  |  |  |
| 棒杆菌属 |  |  |  |  |
| 芽孢杆菌。 |  |  |  |  |
| *厌氧* |  |  |  |  |
| 痤疮丙酸杆菌 |  |  |  |  |
| 产气荚膜梭菌 |  |  |  |  |
| 消化链球菌 |  |  |  |  |
| 脆弱拟杆菌 |  |  |  |  |
| 拟杆菌 |  |  |  |  |
| 棒杆菌属 |  |  |  |  |
| 芽孢杆菌。 |  |  |  |  |
| *真菌* |  |  |  |  |
| 白色念珠菌 |  |  |  |  |
| 假丝酵母近平滑假丝酵母 |  |  |  |  |
| 新型隐球菌 |  |  |  |  |
| 组织胞浆菌 |  |  |  |  |
| *其它* |  |  |  |  |
| 鸟分枝杆菌 |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |

对于以下数据展示，应遵循此格式（使用突出显示的标题）：

1. 通过部位和整体从配对需氧培养物中分离出来的所有单微生物的微生物。
2. 通过部位和整体从配对厌氧培养物中分离出来的所有单微生物的微生物。
3. 通过部位和整体从配对需氧培养物中分离出来的并具有临床意义的单微生物的微生物。
4. 通过部位和整体从配对厌氧培养物中分离出来的并具有临床意义的单微生物的微生物。
5. 通过部位和整体检测的所有单微生物引起的并具有临床意义的患者事件。
6. 通过部位和整体检测的所有多微生物引起的并具有临床意义的患者事件。

\* 提供显著P值； 表示“不显著”（NS）。提供对所用统计方法的解释。

