# II类特殊控制指南：登革热病毒血清学试剂

**行业和美国食品药品管理局工作人员指南**

**文件发布日期：2014年5月30日**

有关本文件的疑问，请致电微生物器械部301-796-5461，或Beena Puri 301-796-6202或电子邮件beena.puri@fda.hhs.gov。

|  |  |
| --- | --- |
|  | **美国卫生和人类服务部**  **美国食品药品管理局**  **器械与放射卫生中心**  **体外诊断和放射健康办公室**  **微生物器械部** |

**前言**

**公众意见**

## 您随时可以在http://www.regulations.gov提交电子意见和建议，供本机构审议。书面意见请邮寄至美国食品药品管理局待审问题管理处，地址：5630 Fishers Lane, Room 1061, (HFA-305), Rockville, MD, 20852。所有意见都请标示文档编号FDA-2014-N-0429。在文件被下次修订或者更新之前，意见可能不被监管机构所采用。

**额外副本**

额外副本可以通过互联网获取。您还可将电子邮件请求发送至[CDRH-Guidance@fda.hhs.gov](mailto:CDRH-Guidance@fda.hhs.gov%20) ，以接收文件的副本。请使用文档编号100496来确定索取的文件。

**目录**

[1. 前言 4](#_Toc496790159)

[2. 登革热病毒背景 4](#_Toc496790160)

[3. 上市前通知 - 背景 5](#_Toc496790161)

[4. 适用范围 5](#_Toc496790162)

[5. 健康风险 6](#_Toc496790163)

[6. 器械描述（包含特殊控制指南中指定的信息） 7](#_Toc496790164)

[a. 预期使用 7](#_Toc496790165)

[b. 测试方法 8](#_Toc496790166)

[c. 辅助试剂 9](#_Toc496790167)

[d. 测试方法 10](#_Toc496790168)

[e. 样本储存和运输条件 11](#_Toc496790169)

[f. 测试结果的解释/报告 11](#_Toc496790170)

[7. 性能特征 12](#_Toc496790171)

[a. 一般研究建议 12](#_Toc496790172)

[b. 分析研究 12](#_Toc496790173)

[c. 对照品 16](#_Toc496790177)

[d. 样本收集和处理 17](#_Toc496790181)

[e. 测定临界值 17](#_Toc496790182)

[f. 临床研究 18](#_Toc496790183)

[8. 标签 20](#_Toc496790192)

[a. 预期用途 21](#_Toc496790193)

[b. 器械描述 21](#_Toc496790194)

[c. 使用步骤 21](#_Toc496790195)

[d. 使用说明 21](#_Toc496790196)

[e. 警告、注意事项和局限性 21](#_Toc496790197)

[f. 样本收集 22](#_Toc496790199)

[g. 测试结果的解释 22](#_Toc496790200)

[9. 上市后措施 23](#_Toc496790201)

[10. 参考文献 23](#_Toc496790202)

# II类特殊控制指南：登革热病毒血清学试剂

**行业和美国食品药品管理局工作人员指南**

1. **前言**

制定本特殊控制指南以支持将登革热（DEN）病毒（DENV）血清学试剂分类为II类（特殊控制）。DENV血清学试剂是由抗原和抗体组成的一种器械，用于检测具有登革热（DF）或出血性登革热（DHF）的指征和症状的个体中的DENV和DEN抗体。该检测辅助临床实验室诊断DENV感染引起的DF或DHF。

本文件不涉及DENV核酸扩增试验试剂。

本指南确定了FDA认为将能缓解与这些器械相关的健康风险并提供合理的安全性和有效性保证的措施。提交DENV血清学试剂510（k）的企业将需要：（1）遵循本特殊控制指南中规定的特定缓解措施，或（2）使用替代缓解措施，但必须向本机构证明，该企业确定的替代措施至少将提供安全性和有效性的同等保证。

1. **登革热病毒背景**

DENV是全球热带和亚热带地区发热性疾病的重要病因。该疾病由四种抗原相关的单链RNA病毒或血清型（DENV-1、DENV-2、DENV-3和DENV-4）引起。DENV是黄病毒科病毒。黄病毒科的其它病毒包括黄热病、日本脑炎和西尼罗河病毒。DENV由被感染*Aedes*的蚊子通过叮咬传播给人类。蚊虫叮咬后的潜伏期，在出现症状前3〜8天。原发性或典型性登革热的特征在于高烧和以下两种或更多种症状：严重头痛，眼眶后眼痛，肌痛，斑丘疹，关节痛，淋巴结肿大和白细胞减少症，其通常在五天内自发痊愈。一种更为严重的DENV疾病称为DHF，其中一部分患者发展为登革热休克综合征（DSS）。虽然DHF可能发生于原发性DENV感染，但通常发现于由不同DENV血清型引起的继发性DENV感染个体。患有DHF的个体显示出显著的血小板减少症，其可导致严重的出血和休克表现（DHF/DSS）。药物治疗的病死率低于1.0％；然而，不住院和治疗的死亡率可达50％[参考文献1]。

1. **上市前通知 - 背景**

FDA得出结论，有必要采取特殊控制结合“联邦食品、药品和化妆品法案”（FD＆C法案）的通用管制，以为DENV血清学试剂的安全性和有效性提供合理保证。拟销售该类型器械的制造商必须：（1）遵循FD＆C法案的通用管制要求，包括21 CFR 807子部分E所述的上市前通知要求；（2）解决本指南中确定的特定安全性和有效性问题；（3）在销售该器械前获得FDA的实质等同性判定。

本指南确定了DENV血清学试剂的分类规定。此外，本特殊控制指南的其它部分列出了健康风险，并描述了缓解措施，如果制造商遵循这些措施并结合通用管制措施，通常将能解决与该器械相关的风险，并将有助于上市前通知（510（k））的及时审查。本文件补充有关DENV血清学试剂上市前通知申请的具体内容要求的其它FDA文件。有关510（k）提交的其它信息，请参阅21 CFR 807.87和器械和放射健康中心（CDRH）器械建议：综合监管援助。1

1. **适用范围**

本文件的适用范围仅限于按照21 CFR 866.3945鉴别和分类的器械。

**21 CFR 866.3945**—登革热病毒血清学试剂

1. 鉴别。登革热病血清学试剂是由抗原和抗体组成的一种器械，用于检测具有登革热或出血性登革热的指征和症状的个体中的登革热病毒和登革热抗体。该检测辅助临床实验室诊断登革热病毒感染引起的登革热或出血性登革热。
2. 分类。II类（特殊控制）。特殊控制文件是FDA指南“II类特殊控制指南：登革热病毒血清学试剂”。有关本指南文件的可用性，请参阅§866.1（e）。

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

1. http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/default.htm.
2. **健康风险**

FDA已经确定了假阴性检测结果和假阳性检测结果的风险，这两者都可能导致个人和/或公共健康后果，因此，与该器械相关的健康风险需要特殊控制。

DENV血清学试剂按照指示检测失败或结果解释错误都可能导致误诊，对患者管理有重大影响。

个人的假阳性检测结果可能会导致不必要的治疗，也可能导致疏于对真正病因的实验室评价；在疫情调查的情况下，假阳性结果可能导致不必要的启动带菌蚊子控制措施。

假阴性结果可能导致不适当地使用抗生素或未能接受适当的静脉注射液或血小板输注治疗，假阴性结果也可能导致延误疫情爆发原因的确认，并延误启动适当的带菌蚊子控制措施。

登革热感染的症状（即：发烧，头痛，关节痛，眼眶痛，皮疹，淋巴结肿大和白细胞减少症）与急性发热性疾病的其它病因重叠。在没有能够明确区分DENV感染与其它发热性疾病的症状或体征的情况下，DENV诊断测试的结果很可能会有很强的影响，将发热性疾病归因于DENV感染。

下表中，FDA已经确定了通常与使用需要特殊控制的用于DENV检测的体外诊断器械相关的风险。如下表所示，本指南与拟议的21 CFR 866.3945小节相结合，提出了缓解这些已识别问题的措施。根据本指南，拟销售这种器械的制造商必须在提交上市前通知前进行风险分析，以识别其器械所特有的任何其它风险。上市前通知必须描述所使用的风险分析方法。如果您选择使用替代方法来降低本指南中确定的特定风险，或者您或他人识别到使用此类器械的其它潜在风险，则您必须提供详细信息，说明用于缓解这些风险的方法以及您所选择方法的依据。

**表1—已识别的健康风险和缓解措施**

|  |  |
| --- | --- |
| **已识别的健康风险** | **缓解措施** |
| 个人的假阳性检测结果可能会导致不必要的治疗，也可能导致疏于对真正病因的实验室评价；假阳性结果可能导致不必要的启动带菌蚊子控制措施。 | 器械描述  包含信息  特别指定  控制指南（第6节）  性能特征（第7节）  标签（第8节）  上市后措施（第9节） |
| 假阴性检测结果可能导致不正当地使用抗生素或延误治疗以防止因出血性登革热或登革热休克综合征引起的死亡，假阴性检测结果也可能导致延误启动带菌蚊子控制措施。 | 器械描述  包含信息  特别指定  控制指南（第6节）  性能特征（第7节）  标签（第8节）  上市后措施（第9节） |
| 解释结果错误 | 标签（第8节） |

1. **器械描述（包含特殊控制指南中指定的信息）**

您必须在510（k）中提交符合21 CFR 807.87（a）和（f）要求的器械描述，并且您必须根据21 CFR 807.92(a)(3)的要求确定已合法销售的谓词器械。此外，您还必须确定您的器械的适用法规和产品编码；您必须列表比较谓词器械（或相同预期用途的另一个合法销售的器械）与您的器械之间的相似点和差异。您在器械设计中可以参考支持您的器械的预期诊断用途的适当的同行评议文章以及特定的测试原则。您必须详细描述每个器械组件。

此外，您还必须包括以下描述性信息，以充分表征您的器械用于检测人血清样本中的DENV抗原或抗体。

## 预期使用

预期用途必须说明分析物和靶标（例如，通过该器械检测的DEN IgM抗体或DEN NS-1抗原）的性质、本测试适用的样本类型（即血清）、本测试适用的临床指征、以及本测试适用的具体人群。预期用途必须说明本测试是定性测试以及任何具体的使用条件。预期用途还必须具体说明，作为临床指征的一部分，该测试是否可用于诊断个别患者（例如从DEN流行地区返回的症状个体）和/或在疫情调查期间诊断患病个体。

您必须在510（k）中清楚地描述与您的产品的预期用途有关的以下信息：

* 您的器械检测的不同DEN血清型和毒株的鉴别（即毒株反应性）。
* 该器械的检测结果如何用于辅助实验室鉴别症状患者的临床样本中的DENV抗原或抗体。

## 测试方法

您必须详细描述您的器械的使用方法。这必须包括描述适用于您的器械的以下要素：

* 所使用的具体测试方法，例如，免疫测定或免疫色谱法。
* DEN血清型或感兴趣的黄病毒的单克隆抗体的特异性。
* 关于选择特定抗原靶标（如，NS-1或E糖蛋白）的依据的信息。
* 测定的最佳参数，例如，移液、孵育、洗涤和混合。
* 样本类型（如，血清样本），收集和处理方法。
* 所提供或推荐使用的试剂组分及其在体系内的功能（例如，固体支持物、缓冲液、荧光染料、化学发光试剂、底物、缀合物、其它试剂）。
* 您的器械所需的仪器（包括组件）及其在体系中的功能。
* 如果适用，从原始数据到报告结果的计算路径（例如，原始信号如何转换为数值）。这将包括充分的软件控件来识别和处理数据集中的明显问题。还将包括对背景和归一化的调整（如果适用）。
* 非标准设备或方法的插图或照片（如果适用）。

在适用的情况下，您必须描述您的器械解决或缓解与检测DEN抗原或抗体的免疫测定程序相关的风险的设计控制规范，例如：

* 由于与其它黄病毒抗体或抗原的交叉反应而导致的假阳性的最小化。
* 优化您的试剂和测试方法用于推荐的仪器。

您必须在510（k）中提供支持符合设计要求的结论的性能信息。您还必须提供有关验证您的试剂的设计的信息（例如，特定抗体或抗原的选择依据）。参见第7节—性能特征。

## 辅助试剂

辅助试剂是在器械标签中被指定为“需要但未提供”的那些试剂，以便按照其使用说明书中的说明进行测定，并达到在测定标签中宣称的测试性能。仅就本文件而言，所涉及的辅助试剂是必须按照具体名称指定的试剂，以便您的器械能够达到其标示的性能特征。例如，如果您的器械标签指定使用特定试剂（如：X牌提取缓冲液或其它等效缓冲液），并且使用任何其它提取缓冲液可能会改变在您的标签中报告的器械性能特征，则X牌提取缓冲液或其它等效缓冲液即是本文件所指的辅助试剂。2

相比之下，如果您的器械需要使用95％乙醇，并且任何品牌的95％乙醇都将能够使您的器械达到标签中提供的性能特征，那么95％乙醇不是本文件所指的辅助试剂。

如果您的器械使用说明书中指定了一种或多种辅助试剂，则您必须说明您将如何确保使用您的器械和这些辅助试剂按照您的说明进行测试产生的结果与您的上市前提交中确定的性能一致。您的计划可以包括质量体系方法、产品标签和其它措施的应用。

为了解决特殊控制的这一方面，您的510（k）提交必须包括下述信息。FDA将评价您的计划是否有助于缓解该器械存在的风险，以为该器械的安全性和有效性提供合理保证，并确定其实质等同性。

1. 您的510（k）中必须包含使用辅助试剂的风险评估，包括与试剂质量和变异性管理相关的风险、与辅助试剂直接提供的使用说明和您的测定提供的使用说明不一致相关的风险、以及可能导致您的检测结果不正确的任何其它问题。

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

2 即使您确定在测定中可以使用一种或多种替代辅助试剂，这些替代试剂仍然可以是所述的辅助试剂。如果您不确定特殊控制措施的这一方面是否适用于您的器械，我们建议您咨询FDA。

2. 使用风险评估作为适用性的依据，您必须在510（k）中描述您将如何通过对辅助试剂采取必要的控制措施来降低风险。在适用的情况下，这些可能包括：

* 用户标签，以确保适当使用辅助试剂（参见“标签”部分的进一步讨论）。
* 评估用户遵守辅助试剂的标签说明的计划。
* 辅助试剂的材料规格。
* 确认试剂批次以保证您的器械的适当性能。
* 稳定性试验。
* 投诉处理。
* 纠正和预防措施。
* 提醒用户发生涉及辅助试剂的问题将影响试验性能的计划。
* 根据您的器械使用说明书，为确保您的测试试剂与所确定的辅助试剂联合使用的安全性和有效性，您必须解决的任何其它问题。

此外，您还必须提供测试数据，以确定您提供或推荐的质量控制足以检测用辅助试剂的性能或稳定性问题。

如果您有关于辅助试剂的确定、使用或控制的疑问，您可以联系FDA寻求建议。

## 测试方法

您必须在510（k）提交中提供有关器械操作原理的详细说明。您必须具体描述测试条件、方法和对照，以避免出现可能导致假阳性和假阴性结果或产生生物安全危害的条件。这些包括但不限于：

* 任何外部对照和/或内部对照（例如，监测测定性能的样本阴性对照和/或内部对照）的描述或建议。
* 测试方法的总体设计，包括纳入推荐测试方法的控制元素。
* 用于监测对测定性能和检测具有不利影响的程序错误或因素（如，试剂降解）的特征和附加对照。

您还必须描述使用说明中包含的降低与DEN检测相关风险的所有其它步骤、方法和操作（参见第8节—标签）。

## 样本储存和运输条件

如果您推荐样本储存和/或运输条件，您必须证明，对于在推荐的储存期间内的多个时间点的样本以及在推荐的储存温度范围的两个端点的样本，您的器械可以产生相同的结果。您可以使用临床和实验室标准研究所（CLSI）文件H18-A4“血液样本的处理和加工方法” [参考文献2]中描述的方法。

## 测试结果的解释/报告

您必须在510（k）中描述如何确定阳性、阴性、不明确（如适用）或无效结果，以及如何进行解释。您必须在510（k）提交说明测定所有输出的临界值。

您必须提供确定该测定的阴性结果的具体临界值。如果该测定只有两种可能的输出结果（如，阴性和阳性），则该临界值也定义了该测定的阳性结果。

如果该测定含有不明确区域，则您必须提供不明确区域的范围（限值）并提供关于用户如何跟踪不明确结果的建议。如果您对初始不明确结果的解释是需要重新检测，则您的510（k）必须说明：

* 重新测试是否应采用同一测定法或不同的方法。
* 重新测试是否应采用同一制备样本或采用新的患者样本。
* 通过结合初始不明确结果和采用与初始检测相同的测定法重新测试后得到的结果来确定最终结果的算法。（这种算法必须在评价本测定法的临床性能的关键临床研究开始之前开发完成）。

如果检测结果无效，则必须描述如何定义无效结果。如果内部控制是确定无效结果的一部分，则必须提供关于解释无效结果的每个可能的对照结果组合的建议。您必须提供如何跟踪无效结果的建议（即，结果是否应报告为无效或是否推荐重新测试）。如果建议进行重新测试，您必须提供类似于重新测试不明确结果的信息（即，重新测试是否应采用相同样本的新等分试样或新的患者样本进行）。

此外，您必须描述如何监控性能结果随时间的变化，以确定由于DENV的抗原性变化、新DENV毒株的出现或由于相对于产品评价时的患病率的变化而引起的性能变化。

## 性能特征

1. **一般研究建议**

您提交的510（k）必须详细描述关于您为确定下面列出的每个性能特征而进行的研究。

必须进行前瞻性临床研究，以确定在与预期用途相似的条件下的器械性能。一般来说，对于临床研究和再现性研究，您都必须在代表预期用户的3个检测机构进行测试（例如，临床实验室检测机构）。

尽管预期血清或血浆是唯一适合DEN血清学检测的样本，但如果推荐使用除血清以外的其它样本基质（例如，尿液或唾液），则您必须评价拟使用的每种可能的样本类型的测定性能。

您必须在510（k）提交中提供适当的具体信息，描述您在测定开发期间使用的方案，以便FDA在审查期间准确地解读您的申请中包含的验收标准和数据摘要。此信息对于帮助用户了解标签中的信息也很重要。当提及CLSI（临床和实验室标准协会）方案或标准时，您必须说明遵循方案或指南的哪些具体方面。

我们建议您在开始您的临床研究计划之前联系FDA，以获得有关您计划纳入510（k）提交中的研究和预期用途的反馈意见。

1. **分析研究**

您必须在510（k）中确定您的DEN免疫测定的以下性能特征：

## 分析灵敏度

* + 1. 检测限

目前还没有已知的DEN抗体或抗原的国际标准或制备方法。建议申办方联系FDA，探讨确定您的测定的LoD的潜在方法。

* + 1. 分析反应性

您必须通过您的免疫测定（如果有的话）测试一组良好表征的参考样本。例如，WHO-CDC参考样本面板是由联合国国际儿童紧急救援基金会/联合国开发计划署/世界银行/世界卫生组织热带病和儿童登革热疫苗倡议研究与培训特别计划共同努力创建的，并可用于建立您的免疫测定的分析反应性[参考文献3]。

* + 1. 毒株反应性

必须通过您的免疫测定法来测试一组表征良好的DEN样本，以建立与DENV的不同毒株的反应性。还必须通过您的测定法检测4种DEN血清型抗体和抗原。

您可以引用您的研究中未包含的DEN毒株的文献和/或其它证据；基于该器械开发时的临床和流行病学趋势，可以适当的纳入其它DEN毒株。

毒株反应性测试的结果（即，通过该测定法检测到和未检测到的毒株）必须在产品标签中列出。

## 分析特异性

* + 1. 交叉反应性：

您必须测试表2中列出的可能引起发热性疾病的病原体的潜在交叉反应性。特别是必须进行研究以表征在其它黄病毒（例如，圣路易斯脑炎、西尼罗河、黄热病、日本脑炎）、甲病毒（例如，东方马脑炎）和引起发烧和皮疹症状的其它病毒和细菌（如肠道病毒，单纯疱疹）的抗体存在下的性能。对于抗原交叉反应性，必须在医学相关的病毒和细菌水平（细菌通常为106 cfu/ml或更高，病毒为105pfu/ml或更高）下测试相同的微生物。用于交叉反应性研究的病毒和细菌分离株的特征和滴度必须在测试前进行确认。

**表2. 用于交叉反应性研究的微生物**

|  |
| --- |
| **测试微生物** |
| 西尼罗病毒 |
| 日本脑炎病毒 |
| 圣路易脑炎病毒 |
| 黄热病毒 |
| 甲型肝炎病毒 |
| 乙型肝炎病毒 |
| 丙型肝炎病毒 |
| 爱泼斯坦巴尔病毒 |
| 博氏疏螺旋体 |
| 钩端螺旋体病 |
| 巨细胞病毒 |
| 类风湿因子 |
| 抗核抗体 |
| 东方马脑炎病毒 |
| 基孔肯雅病毒 |
| 甲型和乙型流感病毒 |
| 麻疹病毒 |

* + 1. 干扰

## 您必须对您的器械进行全面的干预研究。潜在的干扰物质包括但不限于所选择的样本的其它组分（例如，白细胞、蛋白质、全血、血红蛋白）以及加标到样本中用于对照的对照品或试剂。您必须在本测定的临界值附近检测干扰。您必须在潜在最高浓度（“最坏情况”）下评价每种干扰物。如果没有观察到显著的临床影响，则不需要进一步测试。我们建议您参考CLSI文件“临床化学中的干扰测试”EP7-A2 [参考文献4]了解更多信息。其它潜在的干扰物质包括但不限于以下：

**表3. 用于干扰研究的物质**

|  |
| --- |
| **物质** |
| 胆红素 |
| 胆固醇 |
| 脂质 |
| 肝素 |
| 柠檬酸钠 |
| EDTA |
| 白蛋白 |
| 血红蛋白 |

* 1. **精密度**
     1. 实验室内精密度/重复性

您必须进行测定内、测定间和批次间的精密度研究。您必须测试至少12天（不一定是连续的）的变异性来源（例如，操作员、操作日、测定运行），每次运行每个样本的3个平行试样，每天由两名操作员运行两次。测试面板必须由至少四个样本组成，涵盖整个医学相关分析物浓度范围。对于您的批次间评价，您必须至少包含3个批次（如适用）。您的重复性研究报告必须包括以下信息：运行天数和运行次数，批次数，操作员数量和本研究使用的验收标准。您可以在内部进行这些研究，即在您自己的公司机构内进行。

对于不需要使用仪器的定性测试（例如，免疫色谱测试或侧向流动装置），通常不需要进行重复性研究。

* + 1. 实验室间精密度/再现性

再现性研究方案可能会因测定形式而略有不同，尽管样本面板必须与下文重复性研究所述相同。一般来说，您必须使用以下方法进行再现性研究：

* 在三个测试机构评价您的测试的再现性（可以包括两个外部测试机构和一个内部测试机构或三个外部测试机构）。
* 使用五天测试方案，每天至少运行两次（除非测定设计排除每天多次运行），每次运行每个面板​​样本的3个平行试样。
* 每个测试机构每天至少由两名操作员进行测试。您必须对操作员进行培训，培训的程度与该测试试剂盒上市后拟对用户进行的培训程度相同。

对于您的测试，您必须至少包含2至3种DEN血清型抗体或抗原，包括接近测定临界值的至少4个分析物或输出浓度水平，即：

* “阴性”样本：分析物浓度低于临床临界值，使得该样本的重复测试结果在100％的时间为阴性的样本。
* “高阴性”样本：分析物浓度低于临床临界值，使得该样本的重复测试结果在约95%的时间为阴性的样本（即，在5%的时间的结果为阳性）。

#### “低阳性”样本：分析物浓度正好高于临床临界值，使得该样本的重复测试结果在约95％的时间为阳性的样本。

* “中度阳性”样本：理想反映临床相关浓度的样本。在该浓度下，预期大约100％时间可以得到阳性结果，例如临床临界浓度的约2至3倍。

关于再现性研究设计的指导，您可以参考CLSI文件EP15-A2 [参考文献5]、EP05-A2 [参考文献6]和EP12-A2 [参考文献7]。

## 对照品

您在每次进行分析和临床研究时，都必须运行适当的对照品。您可以联系FDA了解有关适当对照品的更多信息。一般来说，您必须包括以下类型的对照品：

## 阴性对照

可以以阴性样本作为阴性对照；阴性对照用于排除测试反应中的污染或增加的背景。

## 阳性对照

阳性对照必须包含接近测定临界浓度的DEN抗原或抗体，并且必须用作整个测定过程（包括提取过程，如果适用）的对照。阳性对照必须设计为模拟患者样本，应作为测定的一部分运行，或以实验室质量体系（QS）确定的频率同时与患者样本一起单独运行。可接受的阳性测定对照材料的实例包括：

* 来自DEN感染或康复者的样本。
* 经过处理和校准的市售DEN抗体或抗原。

## 内部对照

内部对照监测试剂的完整性、是否正确遵循检测方法、以及样本中是否存在抑制剂。可接受的内部对照材料的实例包括：抗小鼠IgG抗体，生物素，链霉亲和素和抗过氧化物酶。只有在一次性试剂盒或管中进行单次测定时才需要使用内部对照。

## 样本收集和处理

您必须具体说明您的测定适用的样本类型。应在疾病过程中可能从样本中分离出DENV抗原或抗体的时候，从适当的解剖部位或来源收集样本。

目标分析物的质量和数量可以高度依赖于诸如样本来源、收集方法、处理（例如运输和储存时间和温度）等因素。您在510（k）中提供的测试结果必须验证器械在标签中建议的所有条件下都能保持可接受的性能（例如，准确性、再现性）。例如，您必须使用在推荐的时间和温度条件下储存和/或运输的样本的等分试样来评价推荐的储存时间和温度（包括冻融循环）对样本稳定性的影响。您必须说明所有样本收集和处理条件和稳定性参数的验收标准。

应遵循关于用于鉴定病原体的样本的收集和处置的所有适用的州和联邦生物安全指南。有关样本处理的标准预防措施，请参阅相关临床和实验室标准协会（CLSI）文件的最新版本[参考文献8]。

## 测定临界值

您的510（k）提交必须解释如何确定测定临界值（亦可见第8.g节 - 测试结果）。可根据临床样本的试点研究的接收者操作曲线（ROC）分析的灵敏度和特异性的相关水平来证明所选择的临界值的适当性；关于ROC分析的详细信息请参阅CLSI文件GP-10A [参考文献9]。必须在与您的器械规定的预期用途一致的独立人群中验证您的器械使用预先确定的临界值（和不明确区域，如果适用）的性能（亦可见第7.f节—临床研究）。

## 临床研究

您必须进行临床研究以确定您的器械用于具体预期用途的测定性能。样本收集方法可能会有所不同，取决于预期用途是用于辅助诊断特定个体或辅助调查疑似DENV疫情。对于个体患者的诊断，必须前瞻性地从预期使用人群（即，具有与DF或DHF一致的指征和症状的患者）收集样本并进行测试。新鲜样本是这些研究的首选，尽管可能用前瞻性收集的存档样本来补充新鲜样本。2为使用前瞻性收集的存档样本来评价您的器械，您必须证明样本冷冻或其它保存技术不会影响分析物的稳定性，并且选择了适当的样本存档方法，并采取适当措施来识别和消除或缓解研究间的任何偏倚。如果您使用存档样本来评价该测定法，则您必须确保没有选择性地使用样本（即，对所有样本都进行测试）。测试过程中必须对样本设盲，以避免可能的偏倚。如果同时对新鲜和存档/冷冻样本进行测试，那么您必须分别分析这两个样本组的数据。

每项临床研究的方案都必须列入510（k）提交中。强烈鼓励申办方在开展临床研究前与FDA讨论研究方案。

在您的临床研究设计过程中，还必须解决以下问题：

## 研究方案

## 临床研究方案必须在研究开始之前由主要研究者完成并进行审查。研究方案至少必须包括完整的患者入选和排除标准、所需样本的类型和数量、研究方法和详细的统计分析计划。您的510（k）提交文件必须包含原始研究方案、方案修正案和任何其它相关研究信息的副本。

## 作为提交前审查过程的一部分，我们鼓励申办方联系FDA，请求审查他们提出的研究方案和样本类型的选择。对于可能研究不同的测试预期用途，或者申办方计划首次提交510（k）的情况，特别建议您联系FDA。

## 样本类型

血清和血浆样本是该器械的适当样本基质。如果要研究其它样本类型，建议您联系FDA。必须从每个研究机构的符合特定研究纳入标准的所有患者中顺序收集样本。您在研究中必须包括的样本总量将取决于预期的测定性能和研究人群中DENV感染的患病率。

## 研究机构

对于单个患者诊断的预期用途，您必须在代表该器械最终使用的测试环境（例如临床实验室）的至少三个不同地理位置的研究机构，由临床实践中可能进行该测试的实验室人员进行测试。至少应有一个研究机构位于美国。建议申办方在开始研究之前，与FDA探讨疫情爆发调查预期用途的适当研究机构，因为这些研究更可能需要使用前瞻性存档的样本。3

## 研究人群

DEN血清学检测必须用于出现或最近出现DF或DHF指征的个体。DF症状包括：突发性发烧，严重头痛，眼后疼痛，身体和肌肉疼痛以及关节疼痛，恶心和呕吐。有时可能在发烧3-5天后发生称为DHF或DSS的严重形式的疾病。DHF的特征在于血管通透性增加、血容量过低和异常凝血机制。DHF是一种潜在的更致命的病症，类似于DF，但数天后，患者会变得易怒、不安和冒汗，并且病情可能发展为血浆外漏和大出血。

## 参考方法

您必须评估并比较您的器械的性能与适当的参考方法或基于复合参考方法预先确定的算法（即，将多个测定结果（例如，DEN IgM酶联免疫吸附测定（ELISA）和/或血细胞凝集抑制（HAI））作为参考方法的一部分，RT-PCR可能是最合适的参考方法）的性能。

必须对参考或复合方法进行良好表征和验证。您必须提供已发表的文献或实验室数据，以支持DEN血清型的鉴别的验证。验证必须包括LoD和分析反应性数据。参考测定法的LoD必须与所提交的器械的分析灵敏度相似。

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

3 本文件中，我们将前瞻性收集的存档样本定义为从符合研究入选标准的所有患者顺序收集的样本；不可根据已知的结果选择性地选取样本，并且所有测试都必须由对以前的结果或患者特征完全不了解的研究者进行。样本必须尽可能新鲜或适当储存。

如果您将您的器械与RT-PCR测定进行比较，则您必须遵循DEN血清型鉴定的靶向扩增子的双向测序。必须对扩增子的两条链都进行测序（即，双向测序），必须证明所生成的序列至少含有可接受的200个碱基对（例如，通过PHRED或类似的软件包测量的质量评分为40或更高），并且必须证明它与参考或共享序列匹配[参考文献 10&11]。

建议您联系FDA了解有关使用核酸扩增测试（NAAT）参考测定法的更多信息，并建立使用复合参考方法的预定算法。

## 临床研究结果的呈现

分析必须基于预期用途（即，分析单位必须是单个样本或通过测试患病个体的急性和恢复期样本）。

研究分析必须考虑收集的所有样本。器械性能与参考标准的比较必须表示为2行2列的表格。必须包括器械性能与患者特征（例如：受试者年龄，相对于发病时间的样本收集时间，研究机构等）的相关性的附加分析。在结合新鲜样本和存档样本的研究中，分析必须比较每种样本类型各自的性能，然后再进行组合分析。

510（k）提交中的所有研究数据都必须以Microsoft Excel、分隔文本或SAS传输文件的形式提供。数据文件必须包括适当的注释或单独的码本，并且必须包括所有主要和派生的变量，例如用于确定DEN诊断的临床参考算法的结果。应用于数据集的统计方法的描述必须足够详细，以便解释可能是可接受的阳性一致性的较低估计值，并可以在开始临床研究之前与FDA探讨。

## 标签

DENV NAAT试剂与其它器械一样，受法定的标签要求（包括FD＆C法案第201(n) 和502(a)节；21 USC § 321(n)和352(a)）的约束。这些IVD器械必须提供详细的使用说明和适当的警告和注意事项（FD＆C法案第502(f)节；21 USC § 352(f)）。所有IVD器械的具体标签要求见21 CFR 809.10；亦可见21 CFR 801.119，其中指出根据21 CFR 809.10标记的IVD被认为符合第502(f)(1)节和21 CFR第801部分。

您的符合21 CFR 809.10（b）标准的DENV血清学试剂标签还必须包括以下信息。此标签信息有助于缓解本指南前面确定的风险，以确保安全有效地使用这些器械。器械标签必须符合21 CFR 809.10的所有要求，即使下面没有提及。

## 预期用途

预期用途必须指明该器械是诊断DENV感染的辅助手段。您还必须指明您的测定所能检测到的DENV血清型，以及如果您的测试是推定的，需要采取哪些附加的具体确认措施来确认您的测试结果。预期用途必须说明该测试适用的样本类型和具体人群。

## 器械描述

您必须在器械描述中简要介绍此类型器械使用的测定方法和原理。

## 使用步骤

本节必须包括整个分析过程的总体描述，从患者样本的收集到结果报告。

## 使用说明

您必须提供清晰简明的说明，描述使用该器械的步骤，以及将不准确结果风险将至最低的对照类型。说明必须鼓励使用额外的对照措施和测试对照材料，以确保安全有效地使用。

## 警告、注意事项和局限性

## 除了与您的特定测定相关的任何其它局限性和警告外，您还必须在局限性中包括以下声明（如适用）：

* 该器械不能区分不同的黄病毒抗体或抗原。
* 血清学检测结果是推定的，需要通过斑块减少中和试验或目前的CDC指南中推荐的诊断这种疾病的其它方法进行确认。
* 只能对临床症状与登革热或出血性登革热一致的患者进行检测。
* 该检测不适用于产前检查，也不适用于无登革热症状的一般人群的筛查。该检测不是FDA批准的用于筛选血液或血浆供体的方法。
* 尚未确定该测试用于监测登革热治疗的性能。
* 阳性预测值取决于病毒存在的可能性。
* 免疫抑制患者的结果必须谨慎解释。
* 常见黄病毒组内（即，西尼罗、圣路易斯脑炎、墨累山谷脑炎、日本脑炎和黄热病毒之间）的血清学交叉反应。
* 感染痊愈后抗登革热的IgM抗体可能持续数月。
* 阳性结果的解释应结合临床和其它实验室检查结果，并且可能不指示活跃的登革热病毒诱导的疾病。
* 测定结果的解释应结合其它实验室检查结果和患者的总体临床状况。

## 样本收集

您必须提供关于应使用什么类型的样本以及样本（抗原或抗体）收集的最佳时间或窗口期的指导。您必须说明在本测定中是否有不适用的样本。您还必须提供样本储存、冻融循环次数以及您的器械的最佳/可接受运输条件的建议。对于病毒或抗原检测，还必须在标签中注明样本应在症状发作后尽快收集。用于抗体检测的样本通常在发生发烧后的第3-5天收集。

## 测试结果的解释

包装说明书中测试结果部分的解释必须列出所有可能的测定输出，以及存在或不存在DENV抗原或抗体的确定和测定对照的预期结果。如果内部对照是确定有效的阳性和阴性结果的一部分，则您必须提供每个可能的对照结果的解释以及如何跟踪任何无效或不确定结果的建议。

如果您的测定具有不明确的区域，您必须提供解释并建议如何跟踪不明确的结果。（例如，是否应该报告不明确的结果，还是应重复测试）。如果您将无效或不明确的结果解释为需要重新测试，则必须提供是否应重新测试以及应如何进行重新测试的建议（例如，采用同一患者的相同或不同的样本）。

最终测定结果必须报告为阳性、阴性或不明确（适用时）。根据测试性能或其它器械特定因素，可能需要额外的要求。

## 上市后措施

作为遵循21 CFR第820部分的质量体系法规的药物生产质量管理规范的一部分，您必须每年获取并分析上市后数据，以确保您的器械用于检测可能随时间发生进化的不同DENV毒株和血清型的持续可靠性。如果出现新的DENV毒株，或者如果在该器械批准时较不常见的DENV变得更加普遍时，这一点尤其重要。上市后数据必须阐述您的器械对于新DENV毒株的临床性能。

为证明您将如何解决特殊控制的这一方面，您必须提供510（k）的计划，描述您打算如何确保您的器械的性能特性不会随时间发生变化。该计划可能包括在您的器械规定的时间间隔内定期测试高度流行的DENV毒株。FDA将评价此计划是否有助于缓解器械所带来的风险，从而有助于对该器械的安全性和有效性提供合理保证。

## 参考文献

1. Hunter’s Tropical Medicine, Viral Febrile Illnesses, Thomas P. Monath , Edition 7, pg. 202, 1988.
2. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline, CLSI Document H18-A4 (ISBN 1-56238-555-0) CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2004.
3. Emerging Infectious Diseases, Evaluation of Commercially Available Anti–dengue Virus Immunoglobulin M Test, Hunsperger EA, Yoksan S, Buchy P, Nguyen VC, Sekaran SD, Enria DA, et al., 15:436-440, 2009.
4. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline, CLSI document EP07-A2 (ISBN 1-56238-584-4) CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005.
5. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline, CLSI document EP15-A2 (ISBN 1-56238- 574-7) CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005.
6. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline, CLSI document EP05-A2 (ISBN 1-56238-542-9) CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2004.
7. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline, CLSI document EP15-A2 (ISBN 1-56238- 574-7) CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue. CLSI document M29-A. CLSI, Wayne Pennsylvania 1997.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).. Assessment of the Clinical Accuracy of Laboratory Tests Using Receiver Operating Characteristics (ROC) Plots; Approved Guideline CLSI document GP10-A. CLSI, Wayne Pennsylvania 1997.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2004. Nucleic Acid Sequencing Methods in diagnostic Laboratory Medicine; Approved Guideline. CLSI document MM9-A [ISBN 1- 56238-558-5] CLSI, Wayne Pennsylvania 2004.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Disease; Approved Guideline. CLSI document MM3-A2 [ISBN 1-56238-596-8] CLSI, Wayne Pennsylvania 2006.

# 2