行业和食品药品监督管理局工作人员指南

II类特殊控制指导性文件：使用多重检测进行甲型流感病毒亚型的检测和分型测定

发布日期：2009年10月9日

有关本文件的任何疑问，请联系Claudia Gaffey，电话：301-796-6196 或电子邮件：Claudia.Gaffey@fda.hhs.gov

|  |  |
| --- | --- |
| CDRH Logo  | **美国卫生与公众服务部****食品药品监督管理局****器械与放射健康中心体外诊断器械评估和安全办公室****微生物检测器械部** |

**前言**

**公众评论**

书面评论和建议可随时向文档管理部（HFA-305）, FDA，9200 630 Fishers Lane, rm. 1061, Rockville, MD 20852提交，供部门审议；或者，电子版评论可提交至[http://www.regulations.gov](http://www.regulations.gov/).。所有评论都应该使用在联邦公报上公布的可用性通知的文档编号来标识。可能直到文件下次修订或更新时，评论才会被机构受理。

**其他副本**

其他副本可从互联网获得。贵公司还可以发送电子邮件请求本指南的电子副本： dsmica@fda.hhs.gov，或向301-847-8149发送传真请求以接收复印件。在贵公司提出请求时，请使用本指南的文档编号（1672）以供识别。

**目录**

1. 简介
2. 背景- 上市前通告
3. [本文件和相关文件的范围](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm180306.htm%22%20%5Cl%20%223)
4. [健康风险](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm180306.htm%22%20%5Cl%20%224)
5. [器械描述](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm180306.htm%22%20%5Cl%20%225)
	1. 预期用途
	2. 检测方法学
	3. 辅助试剂
	4. 对照
	5. 检测结果的解释/报告
6. [性能特征](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm180306.htm%22%20%5Cl%20%226)
	1. 预分析因素
	2. 分析性能
	3. 临床性能研究
7. [标签](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm180306.htm%22%20%5Cl%20%227)

行业和食品药品监督管理局工作人员指南

II类特殊控制指导性文件：

使用多重检测进行甲型流感病毒亚型的检测和分型测定

**1. 简介**

该文件作为一种特殊控制而制定，以支持分类为II类（特殊控制）的呼吸道病毒板的多重1核酸检测，包括甲型流感病毒亚型的检测和分型。该指南仅针对使用呼吸道病毒板的多重甲型流感病毒核酸检测和分型的测定。呼吸道病毒多重核酸检测是定性的体外诊断器械，旨在同时检测和鉴定从人的呼吸样本或病毒培养物中提取的多种病毒核酸。用于甲型流感病毒亚型检测和分型的多重核酸检测，旨在检测从人的呼吸样本或病毒培养物中提取的甲流RNA和特异的甲流亚型RNA，并区分这些亚型。对表现出呼吸道感染体征和症状的个体的特定病毒核酸进行检测和鉴定，并与其他临床和实验室结果相结合，有助于呼吸道病毒感染的诊断。此外，特异亚型RNA的分型有助于实验室对甲型流感病毒亚型进行推测鉴别，以提供关于流感的诊断和流行病学信息。该诊断器械预期用于检测和鉴别至少包括下列病毒的所有组合：

1. 甲型流感
2. 甲型流感H1亚型
3. 甲型流感H3亚型

该指南为制造商提供了有关准备呼吸道病毒板多重核酸检测上市前通告的建议，包括甲型流感病毒亚型的检测和分型。本文件中的建议适用于采用诸如聚合酶链反应（PCR），逆转录酶聚合酶链反应（RT-PCR）和珠基液态阵列和微阵列等技术的检测。

本指南涉及的诊断器械，用于与其他临床表现和实验室结果（例如，免疫荧光检测，细菌培养，胸部X射线/放射照相）相结合，以助于对甲型流感病毒感染的诊断。本指南不是用于诊断的唯一性检测，也不是用于区别病毒与非病毒感染的诊断性检测。对于本指南所述的检测，阳性结果并不能排除细菌感染，或其他病毒的合并感染。

本指南与联邦公报公告共同发布了呼吸病毒检测板多重核酸检测的分类。将该指南指定为特殊控制意味着，任何提交510（k）申请甲流亚型的检测和分型的呼吸道病毒板多重核酸检测试剂的公司，必须解决本特殊控制指南中涵盖的问题，以及在分类法规中的另一项特殊控制指南**“II类特殊控制指导性文件：呼吸道病毒板多重核酸检测”**中涉及的问题。除了这些指导性文件，对于包括人类偏肺病毒（hMPV）的检测和鉴定的呼吸道病毒板，另有一项特殊控制指南**“II类特殊控制指导性文件：使用核酸检测进行人类偏肺病毒（hMPV）测定”**，参见21 CFR 866.3980（b）。公司必须表明所申请的诊断器械解决了本指南（以及适用的其他特别控制指南）中确定的安全性和有效性问题，可通过满足本指南的建议或其他方法，提供安全性和有效性的等同性保证。

本指导性文件的第3部分制定了使用多重核酸检测进行甲型流感病毒亚型分型的分类规则和产品代码。本指导性文件的其他部分确定了与此器械类型相关的风险，并提供了解决这些风险的建议。

如果贵公司想讨论满足该器械特殊控制要求的替代方法，可以联系负责实施本指南的食品药品监督管理局工作人员。如果无法确定适当的食品药品监督管理局工作人员，请拨打本指南标题页上列出的适用号码。

**负担最小方法**

本指导性文件中确定的问题代表了我们认为在所申请的器械上市之前应解决的问题。在制定指南时，我们仔细考虑了相关的法定标准以供当局决策，还考虑了贵公司在尝试遵守指南并解决我们确定的问题时可能产生的负担。我们认为，我们已经考虑了采用最小负担方法来解决指导性文件中提出的问题。但是，如果贵公司认为有更简便的解决这些问题的方式，可根据**“解决最小负担的问题的建议方法”**文件中所概述的程序进行，参见本中心网页： [http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/ GuidanceDocuments/ucm085994.htm](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm085994.htm)

**2. 背景 - 上市前通告**

预期销售此类通用型器械的制造商必须

* 符合联邦食品、药品和化妆品法案（该法案）中的一般控制，包括21 CFR 807 E子部分中所述的上市前通告要求，
* 通过解决本指南中确定的特定健康风险，以符合特殊控制（见下文第4部分）。
* 满足21 CFR 866.3980中规定的其他适用的特殊控制及这种类型器械的分类规定，并且
* 在销售器械之前，获得食品药品监督管理局的实质等同性认定。（参见21CFR807.81和807.87）。

食品药品监督管理局认为，在与一般控制联合使用时，特殊控制将足以对用于hMPV测定的核酸检测的安全性和有效性提供合理的保证。

食品药品监督管理局认为，在与一般控制联合使用时，特殊控制将足以对用于甲流亚型检测和分型的多重核酸检测的安全性和有效性提供合理的保证。

本文件补充了其他食品药品监督管理局关于上市前通告提交的具体内容要求的文件。贵公司还应参考21 CFR 807.87，指南，**传统和简化510（k）s格式**[2](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm180306.htm%22%20%5Cl%20%22ft2)和CDRH的器械建议网页，**上市前通告510（k）**[3](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm180306.htm%22%20%5Cl%20%22ft3)的部分。

如**新版510（k）范例 - 在上市前通告中证明实质等同性的替代方法；最终指南**[4](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm180306.htm%22%20%5Cl%20%22ft4) 中所述，制造商可以提交传统的510（k），简化的510（k）或特殊的510（k）。制造商可以选择提交简化的510（k）的情况为，存在指南性文件时、特殊控制已经制定时、或当食品药品监督管理局已经认可相关的共识标准时。制造商在考虑对他们已通过审评的器械进行某些修改时，可以提交特殊的510（k）来减轻合规性的负担。更多关于提交给食品药品监督管理局的上市前通告510（k）类型的信息，可参见CDRH的器械建议网页，**上市前通告510（k）**。

**3. 本文件范围内的器械**

本文件的范围仅限于21 CFR 866.3980中所述的以下器械：

**21 CFR 866.3980呼吸道病毒板多重核酸检测。**呼吸道病毒板多重核酸检测是定性的体外诊断器械，其旨在同时检测和鉴定从人的呼吸样本或病毒培养物中提取的多种病毒核酸。对表现出呼吸道感染体征和症状的个体的特定病毒核酸进行检测和鉴定，并与其他临床和实验室结果相结合，有助于呼吸道病毒感染的诊断。该器械用于检测和鉴别下列病毒的组合：

1. 甲型和乙型流感

2. 甲型流感H1和H3亚型

3. 呼吸道合胞病毒亚型A和呼吸道合胞病毒亚型B

4. 副流感病毒1，副流感病毒2和副流感病毒3

5. 人类偏肺病毒

6. 鼻病毒

7. 腺病毒

根据21 CFR 866.3980，本指南中描述的器械所适用的产品代码：

OCC - 呼吸道病毒板核酸检测系统
OEP- 甲型流感病毒亚型分型的核酸检测

如前所述，受控于这一特殊控制指南性文件的器械也受控于特殊控制指南**“II类特殊控制指导性文件：呼吸道病毒板多重核酸检测”**，如果器械中包括对hMPV的检测，亦需受控于特殊控制指南“**II类特殊控制指导性文件：使用核酸检测进行人类偏肺病毒（hMPV）测定**”，参见21 CFR 866.3980（b）。这些特殊控制指南中包含了与这些特殊器械上市前通告提交相关的附加信息。

此外，特殊的新型甲流病毒检测试剂的制造商要建立所申请的器械与归类在21 CFR 866.3332的器械的实质等同性，应参考此分类所指定的特殊控制指导性文件“II类特殊控制指导性文件：特殊的新型甲流病毒检测试剂” （http://www.fda.gov /MedicalDevices/ DeviceRegulationandGuidance/ GuidanceDocuments/ucm078583.htm），为上市前的申请提交了解相关信息，并为满足该分类中确定的额外的特殊控制做准备。

最后，食品药品监督管理局还提供了以下指南性文件，其并非特殊控制文件，而是针对流感的IVDs：“检测甲型流感病毒的体外诊断器械：标签和法规途径”， [（http://www.fda.gov/ MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/ GuidanceDocuments/ucm078538.htm](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm078538.htm)）（“标签指南”）和指导性文件草案“建立用于流感病毒的检测或检测和分型的体外诊断器械的性能特征”（[http://www.fda.gov/ MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/ GuidanceDocuments/ucm079171.htm](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm079171.htm)）.。这些文件的建议与本项特殊控制是一致的，食品药品监督管理局建议，建立性能特征的指南草案在定稿时，标签指南可作为食品药品监督管理局关于流感诊断试剂的当前监管思考的额外信息参考。

**4. 健康风险**

人类流感是一种具有高度传染性的急性呼吸道疾病。人类流感病毒有三类：甲型、乙型和丙型。感染甲型流感病毒是最严重的，在上个世纪有几次著名的大流行。甲流病毒根据病毒包膜上的血凝素（HA）和神经氨酸酶（NA）糖蛋白的抗原性不同，可分为不同亚型。

目前，通常只有一些甲流亚型（即H1N1，H1N2和H3N2）在人类中传播，其他亚型最常见于其他动物物种。禽流感病毒是非常值得关注的，因为一些亚型可能是高度致病性的，会引起偶发性人类感染，并可能引起大流行。目前，涉及人类疾病的禽流感病毒包括高致病性禽流感（HPAI）H5N1和H7N7毒株和低致病性禽流感（LPAI）H9N2，H7N2和H7N3毒株。

由常见的甲型流感病毒引起的流感可能具有高发病率和死亡率，特别是在特殊群体如老年人和婴幼儿中。对季节性流感病毒的获得性免疫是有限的，因为流感病毒在年度间会发生微小的但是重要的变异（该过程称为抗原漂移）。新型流感病毒5的发病率和死亡率可能更高，并可能会引起广泛的疾病和/或极其严重的疾病，因为极少人（或根本没有人）此前对这些病毒的表面糖蛋白有过免疫暴露。此外，其他的致病因素可能会增加病毒的毒力。

用于检测甲流亚型的器械可用于区分目前流行的季节性流感亚型（甲型/H1和甲型/H3）。但是，有流感样症状患者的样本，若检测结果为甲流阳性、A/H1和A/H3阴性，则认为是疑似新型流感病毒阳性，并应当进一步检测。（参见CDC / MMWR 说明（[http://www.cdc.gov/ mmwr/preview/mmwrhtml/ mm5613a4.htm](http://www.cdc.gov/%20mmwr/preview/mmwrhtml/%20mm5613a4.htm)  和 [http://www.cste.org/ps/ 2007pdfs/ novelfluanndssjan10final23.pdf](http://www.cste.org/ps/%202007pdfs/%20novelfluanndssjan10final23.pdf)）.[6](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm180306.htm%22%20%5Cl%20%22ft6)  这些器械可区分季节性流感病毒与大患病率流感病毒的潜在能力，除了帮助患者管理的临床作用之外，还会对公共健康产生很大的影响。因此，FDA已经确定了下述有关此类型器械的潜在的健康风险，即，可能影响甲流亚型检测和分型的呼吸道病毒板多重核酸检测的安全性或有效性的问题，包括：器械未按说明进行操作导致不准确的结果或结果缺失，以及对结果的不正确解释；这两种潜在风险都可能导致不正确的患者管理决策。

***器械未按说明进行操作：***

当患者感染这些病毒时，甲型流感病毒核酸序列未能检出（假阴性结果）可能导致临床误诊，停止适当的治疗，并且不启动预防/控制工作。当患者未感染时却检出了特异性甲型流感核酸（假阳性结果），可能导致使用有潜在毒性的药物进行不必要的治疗或未能对流感进行适当的诊断和治疗。假阳性结果可能会导致不必要的隔离程序或接触者追踪，而器械未能产生检测结果则可能导致患者的诊断和治疗延迟。

***未能对结果进行正确解释：***

检测和区分甲型流感病毒亚型的呼吸道病毒板多重核酸检测，预期用于与其他临床和实验室结果相结合，以帮助甲型流感感染的诊断。因此，在有了其他实验室结果和临床表现的情况下，检测结果解释失误可能会导致不适当的或延迟的治疗。例如，阳性检测结果无法排除细菌合并感染或其他病毒的合并感染，而且检出的甲流亚型可能不一定是临床症状或疾病的原因。此外，核酸检测不一定表明有活动性病毒的感染，因为甲流病毒的RNA序列可以在体内保持独立于病毒的活力。通过细胞培养可以区分无法存活的病毒与具有感染性的病毒颗粒。当病毒可能已经被杀灭时，错误地认为其存在活动性感染或持续性感染，可能会导致不必要的治疗或治疗延长。因此，需要额外的检测 （例如，细菌培养，免疫荧光和胸部x射线/放射照相）以得到甲流感染的最终诊断，包括对特定病毒亚型的鉴定。

该特殊控制指南通过解决以下特定的错误来源，为减少与此类检测相关的风险提出建议：

不准确的结果（即假阳性或假阴性结果）或结果缺失可能由以下原因引起：

* 该检测所涉及的试剂、仪器、数据管理或软件的故障或不当使用。
* 辅助试剂的失效或不当使用，或辅助试剂的质量问题。
* 在分子检测方面缺乏专业知识的实验室人员进行了不正确的检测。

假阳性结果可能由以下原因引起：

* 检测引物和探针与来自非流感病毒的核酸序列可能会发生交叉反应，也会被该诊断器械检出（如有）；该核酸序列来自可能存在于患者样本中的其他病原体或其它内源性的核酸序列。
* 在开放性检测系统的情况下，如果不采取适当的控制措施，则可能存在交叉污染和扩增子的污染。

假阴性结果可能由以下原因引起：

* 由于对样品和所提取核酸的不当储存或转运，或核酸物质的提取不充分，而导致的RNA降解。
* 流感病毒突变的倾向或新亚型的出现。引物和探针的选择通常基于其与病毒RNA片段的高度保守区的同源性。引物和探针可能无法与新分离的遗传亚型或新出现的遗传突变体发生反应，降低了检测性能。
* 在样品处理/处置期间，存在于患者样本中的、或引入分析系统的其他物质的竞争性抑制或干扰。

未能正确解释检测结果，原因如下：

* 细菌合并感染的可能性。
* 缺乏病毒诊断专业知识的实验室人员对检测结果的不准确解释和报告。
* 由于与甲型流感病毒患病率和特定患者人群相关的性能变异而造成的曲解。
* 在提交上市前通告之前，贵公司应进行风险分析并识别器械特有的任何其他风险。风险可能会因核酸检测的类型、检测的具体预期用途、样本类型以及结果如何使用而变化。上市前通告中应描述用于进行风险分析的方法。

在下表中，FDA已经确定了通常与使用该器械相关的健康风险。本指导性文件中描述了建议规避已识别风险的措施，如下表所示。如果选择使用替代方法来解决本文件中指出的风险，或已发现本文件以外的风险，应提供足够的详细信息以支持用于解决该风险的方法。

|  |  |
| --- | --- |
| **已识别的风险** | **建议的缓解措施** |
| 器械未按说明进行操作：不准确的结果（即，假阳性或假阴性结果），或结果缺失 | 标签（第7部分）性能特征（第6部分）器械描述（第5部分） |
| 未能正确解释检测结果 | 标签（第7部分） |

**5. 器械描述**

在提交510（k）时，应该确定法规、产品代码和已经合法上市的比较器械，建议加入一个表格以概括比较器械和申请器械之间的异同点。

贵公司应该包括以下描述性信息，以充分说明申请的呼吸道病毒板多重核酸检测的特征，其预期用于甲型流感病毒的检测和分型。

**5. A预期用途**

预期用途应指明该器械检测和鉴别的甲流病毒的类型和亚型、待测物（例如RNA）的性质、检测平台，说明用于检测的样本类型，该检测适用的临床适应症，以及该检测所针对的特定群体。预期用途应说明在该检测是定性的情况下，待测物测定是否为推定性检测，以及任何特定的使用条件。

在510（k）中，贵公司应清楚地描述与产品预期用途相关的以下信息：

* 该器械旨在检测的流感病毒的认定、系统发育关系或其他公认的特征
* 该器械的结果如何用于诊断性算法，以及实验室鉴定甲型流感病毒和特定的甲流病毒亚型可能需要的其他措施。
* 与患者病例诊断相关的临床和流行病学参数（如适用）。世界卫生组织（WHO）和其他公共卫生机构提供了标准，可用作定义患者病例的指南。

**5.B 检测方法学**

贵公司应该详细描述该器械使用的方法。例如，应描述适用于该器械的以下元素：

* 检测平台（例如，RT-PCR，珠阵列）
* 相关流感序列的探针特异性。
* 选择特定靶序列的资料和原理，以及用于设计引物和探针的方法。
* 测定的限制因素（例如杂交的饱和度、最大循环次数）
* 样本类型（例如拭子、呼吸道抽吸液和病毒培养基），收集和处理方法
* 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、其他信号/扩增试剂）。
* 特异性和非特异性探针交叉杂交的可能性。
* 内部控制及其在系统中的具体功能的描述。
* 推荐或提供给用户的外部控制。
* 器械所需的仪器，包括系统中的组件及其功能。
* 仪器和系统参数生成的结果类型（例如，测量范围）。
* 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信号），包括足够的软件控制，用于识别和处理数据集内的明显问题。应说明归一化的背景信号调整（如适用）。
* 非标准设备或方法的图示或照片，如有。

如适用，应描述该器械的设计控制标准，以解决或减少与用于检测病毒RNA片段的引物、探针和控制相关的风险，举例以下：

* 防止多重检测中的探针交叉污染，其中许多探针在制造过程中进行了处理。
* 检测特征物（例如，探针）正确的放置和身份。
* 将源于样品的污染或残留物所导致的假阳性最小化。
* 将多个探针用于单个待测物，可以检出病毒变异体，其源于靶RNA片段内的突变或指定的流感病毒株（或谱系）中的变异。
* 开发的或推荐的用于核酸提取和纯化的经过验证的方法，可以产生适当质量和数量的病毒核酸，与该检测试剂一起用于检测系统。针对该器械预期用途中所载明的不同样品类型，应提供适当的经过验证的提取方法。

在510（k）中，贵公司应提供性能信息，以支持满足设计要求的结论。还应提供资料以证明该检测试剂的设计，例如选择特定的保守靶序列的理由，以及用于设计引物和探针的方法（参见第6部分 - 性能特征）。

**5.C 辅助试剂**

辅助试剂是该检测产品制造商在器械的标签中说明为“必需但未提供的”试剂，用以按照使用说明书进行检测，并达到该检测试剂盒的标签中所要求的测定性能。出于本文件的目的，相关的辅助试剂是必须根据制造商和目录号或产品编号或其他特定名称所规定的、使器械能达到其标签所示的性能特征的试剂。例如，如果器械标签中规定使用Brand X DNA扩增酶，且使用任何其他的DNA扩增酶可能会改变标签中报告的器械性能特征，那么Brand X DNA扩增酶就是一种与本文件相关的辅助试剂[7](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm180306.htm%22%20%5Cl%20%22ft7)。

相比之下，如果该器械需要使用95%乙醇，而任何品牌的95%乙醇均可使器械达到标签中所提供的性能特征，那么95%乙醇就不是与本文件目的相关的辅助试剂。

如果该器械的使用说明书中，指定了一个或多个相关的辅助试剂，应该说明如何确保使用该器械和这些辅助试剂的检测结果与说明书一致，并与所提交的上市前申请文件中所建立的性能一致。贵公司的计划可能包括质量系统方法的应用、产品标签和其他措施。

为了解决特殊控制的这一方面，510（k）申请应涉及下述要素，FDA将评估所提交的计划是否有助于减少器械所带来的风险，为器械的安全性和有效性提供合理的保证，并确立 其实质等效性。

1. 应在510（k）中纳入针对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，器械制造商所提供的说明书与辅助试剂直接提供的使用说明书之间不一致的风险，以及使用该器械可能存在得到不正确结果的风险。

2. 使用风险评估作为适用性的基础，贵公司应在510（k）中说明，怎样通过对辅助试剂实施必要的控制来规避风险，这些措施可能包括，如适用：

* 用户标签，以确保辅助试剂的合理使用（进一步的讨论请参见“标签”）。
* 评估用户是否遵守辅助试剂标签说明书的计划。
* 辅助试剂的材料标准。
* 对试剂进行多批次鉴定，以使器械具有适宜的性能。
* 稳定性试验。
* 投诉处理。
* 纠正和预防措施。
* 在发生涉及辅助试剂的问题时对用户的提醒计划，该问题会影响器械的性能。
* 任何其他必须解决的问题，以确保根据器械的使用说明，安全有效地使用该检测产品和所指定的辅助试剂。

此外，应提供试验数据，以确认所提供或推荐的控制（控制）和辅助试剂足以满足检测性能或稳定性。

如果贵公司对辅助试剂的认定、使用或控制有疑问，请联系食品药品监督管理局寻求建议。

**5.D对照**

对照应提供的材料：（1）样品质量，（2）核酸质量，和（3）过程质量。我们通常建议包括以下类型的对照：

**5.D.i 阴性对照**

***空白或无模板对照***

空白或无模板对照包括：缓冲液或样品转运培养基和除核酸以外的所有测定组分。该对照用于排除靶核酸的污染或扩增反应中增强的背景，在一次性试剂盒或试管中进行的单次测定可能不需要使用。

***阴性样品对照***

阴性样品对照包含非靶标核酸，或者，如果用于评价提取程序，其包含全部微生物（除了该检测的靶标外）。其显示了非特异性的引发或检测，并表明在不存在靶序列的情况下不会获得信号。可接受的阴性样品对照包括（举例）：

* 来自非呼吸道病毒感染的个体的患者样本
* 含有非靶标生物体的样品（例如，感染非呼吸道病毒的细胞系）
* 替代的阴性对照，例如，包装的RNA

**5.D.ii阳性对照**

***用于完全测定的阳性对照***

阳性对照模拟患者样本设计，包含靶核酸，用于对照整个检测过程，包括核酸提取、扩增和检测。可接受的阳性检测对照包括非病原性病毒株感染的细胞系，其可在适当的基质模拟的检测样本类型中被检出。

***用于扩增/检测的阳性对照***

用于扩增/检测的阳性对照包含纯化的靶核酸，浓度等于或接近定性测定的检测限。在获得阴性结果时，可对照样品和反应组分的完整性，其表明，样品中如果存在靶核酸，即可被测得。

**5.D.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。它对照试剂（如：聚合酶，引物等）的完整性，设备功能（如：热循环仪）和样品中扩增抑制剂的存在。可接受的内部对照包括（举例）：与流感病毒共提取的人类核酸和扩增的人类持家基因（如：RNaseP，β-肌动蛋白）的引物。这种对照的必要性取决于对器械个例的具体分析。

对照应接近所推荐样本的成份和核酸浓度，以充分挑战系统，并解决界值附近的再现性。

在510（k）中，我们建议贵公司说明以下有关质量控制和校准的项目：

* 该器械中包括的或推荐使用的各种控制的性质和功能，这些控制应该使用户能够确定所有步骤和关键反应是否已经适当地进行，没有出现污染或交叉杂交。
* 用于赋值（相对或绝对）的方法，以及控制和校准品的验证（如适用）。
* 该控制参数可用于检测仪器故障，以满足所要求的标准。

在为器械设计特殊的控制时，建议咨询食品药品监督管理局。

**5.E检测结果的解释/报告**

在510（k）中，贵公司应描述如何对阳性、阴性、可疑（如适用）或无效结果进行确定，以及如何解释。在510（k）的提交资料中，我们建议贵公司指出该检测所有结果的临界值。

* 具体来说，贵公司应该提供用于定义该检测的阴性结果的临界值。如果该检测仅有两个检出结果（阴性/阳性），则该临界值也用于定义阳性结果。
* 如果该检测存在不明确区域，建议提供不明确区域的临界值（限值）。
* 如果对初始的可疑结果的解释需要重新检测，我们建议提供（1）是否应重复对同一核酸制备物、新的提取物或新的患者样本进行复测，以及（2）结合初始的可疑结果和复测后的结果来确定最终结果的算法（注意，此算法的开发应在评估该检测临床性能的关键临床研究之前进行）。
* 如果报告的测定结果之一可能是一个可疑结果，应针对检测板上每个病原体的可疑结果，为用户提供后续操作的解释和建议。
* 如果测定结果无效，贵公司应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，应提供对每种可能的控制结果的组合的解释，以定义无效结果。提供对无效结果的后续操作的建议，即，建议将结果报告为无效还是重新检测。如果推荐重新检测，应提供与可疑结果复测类似的信息（即，是否应重复对同一核酸制备物、新的提取物或新的患者样本进行复测）。

**6. 性能特性**

在510（k）中，我们建议贵公司详细介绍用于评估下述每个性能特征的研究设计。

如果该产品的标签中要求使用辅助试剂，所提交的用于支持510（k）的上市前性能测试中，应使用在说明书中提及的辅助试剂。基于标签中描述的特殊检测配置，根据21 CFR 809.10（b），通过上市前的测试所确定的性能将在标签中反映。

**6.A 分析前的因素**

对于高质量的呼吸道病毒板核酸检测，考虑分析前的因素是至关重要的。在510（k）中，我们建议贵公司解决以下与分析前的因素相关的问题。

**6.A.i样本的收集和处理**

贵公司应明确用于检测的样本类型，可以使用不同类型的呼吸道样本；但是，鼻部洗液和鼻咽部抽吸液比口咽拭子更敏感。样本采集的时间非常重要，因为在流感样症状发作的四天内获得的呼吸道样本中，病毒量是最高的。

提取的靶标物的质量和数量，高度依赖于多个因素，例如样本源，收集方法和处理（例如，转运和储存的时间和温度）。在510（k）中提供的检测资料，应验证（1）系统为该检测可检出的所有待测物（即不同的病毒类型和亚型）提供了充足而适当的核酸；以及（2）该器械在标签中推荐的所有不同条件下维持可接受的性能（例如，准确度、再现性）。

例如，应该使用在推荐的时间和温度条件下储存和/或转运的样品的等分试样进行分析，来评估所推荐的储存时间和温度对样品稳定性和回收率的影响，应说明所有样本的稳定性参数的可接受标准。

用于病原体鉴定的样本的收集和处理，应采用所有适用的州和联邦生物安全性指南，有关处理样品的标准预防措施，请参阅相关的CLSI文件[8](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm180306.htm%22%20%5Cl%20%22ft8)的最新版本。

**6.A.ii 新鲜样品 vs. 冷冻样品（稳定性）**

一些病毒的检测灵敏度取决于样品是新鲜的和还是冷冻的，在开发检测产品时，我们建议贵公司对该器械是否需关注该问题进行充分的评估。我们建议贵公司评估反复冻/融循环对病毒核酸产量的影响及其对检测性能的影响。

**6.A.iii 核酸提取**

不同的提取方法会产生不同数量和质量的核酸，因此提取方法对于成功的结果是至关重要的。应该评估所选择的提取方法对于检测性能的影响，核酸数量和质量可满足该检测的预期用途。建议使用推荐的用于检测的整个预分析过程（包括提取程序），来评估每种病毒类型和亚型的检测分析和临床性能特征。具体来说，应该使用推荐的提取程序来证明该检测的再现性和检测限（LoD）。此外，外部场所研究（包括再现性和临床研究）应包括标签中规定的提取程序。贵公司应在510（k）中描述这些评估的设计和结果。

我们建议贵公司进行这些评估，无论是确实在检测试剂盒中提供了用于提取和制备核酸的试剂，还是对用户就适当的试剂进行简单的指导。

如果检测中包括或推荐了多种提取方法，应证明提取的质量和有效性，以及使用每种提取方法和每种病毒类型或亚型时，该检测的分析和临床性能，特别应证明每种方法的LoD和再现性。可以将提取方法的变量与每个中心的性能变量相结合，例如，如果推荐了三种不同的提取方法，可以设计一个再现性研究，在每个检测中心对三种提取方法之一进行评估：中心1检测时使用提取方法A，中心2为方法B，中心3为方法C。但是，如果来自三个检测中心的结果具有统计学显著性差异，则应该扩大再现性研究，包括在三个研究中心对每种提取方法进行检测（例如，中心1提取方法A，B和C，中心2提取方法A，B和C，以及中心3提取方法A，B和C）。

如果包括或推荐多种提取方法用于贵公司的测定，贵公司应该证明提取质量和效率，以及贵公司的测定的分析和临床性能与每种提取方法和每种病毒类型或亚型。具体来说，贵公司应该证明每种方法的LoD和可重复性。贵公司可以将提取方法变量与每个站点性能变量组合。例如，如果贵公司推荐三种不同的提取方法，贵公司可以通过在每个测试位置评估三种提取方法之一来设计再现性研究：位点1处的测试提取方法A，位点2处的方法B和位点3处的方法C然而，如果来自三个位点的研究表明在测定性能方面具有统计学显着性差异，则应该扩展再现性研究以包括在所有三个研究位点测试每种提取方法（例如，位点1提取方法A，B和C， 2提取方法A，B和C，以及位点3提取方法A，B和C）。

除了分析研究（LoD和外部场所的再现性）之外，在临床试验期间，应在至少一个临床中心使用每种提取方法来得到临床性能的数据。如果扩大的再现性检测结果表明，提取方法之间的效能有显著差异，那么，来自每个临床检测中心（使用不同的核酸提取方法）的数据不被认为是等同的，并且不能合并，而应单独分析。因此，可能需要纳入额外的预期临床样品以支持所申请的提取方法。

贵公司应对该检测说明书中的不同样本类型提供建议，以确保样本的充足性。例如，核酸的质量可以使用内部控制来评估，其可以确定核酸的存在和/或质量。当使用设计样品进行分析验证时，应确保用于加标的样本来自多个患者，以说明生物变异性。

**6.A.iv 使用自动提取系统的孔-孔间交叉污染**

如果使用或推荐使用自动化系统进行核酸提取，则应评估孔ꟷ孔间交叉污染的可能性，作为提取设备性能确认的一部分。贵公司应提交自动提取系统的软件危害分析，作为510（k）的一部分。提取过程的验证试验可以采用网格设计，使具有临床预期的最高浓度的含核酸样品，周围均为“无模板控制”，结果应能证明不会发生孔ꟷ孔间交叉污染。

**6.A.v性能研究的质量控制**

测定性能的评估应包括对分析和临床研究持续时间的适当控制。这包括您的测定提供的任何阳性和阴性对照，以及推荐使用适当的外部对照，但不一定在测定中提供。

外部阳性控制包含靶核酸，并用于控制整个测定过程，包括核酸提取、扩增和检测；其模仿患者样本设计，根据实验室质量体系（QS）确定的频率，在测定患者样本时，同时进行阳性控制的单独测定。可接受的阳性测定控制材料包括（举例）：

* 通过测定法检出的感染了非病原性病毒株的细胞系
* 疫苗或疫苗原型株
* 低致病性病毒
* 灭活的病毒
* 包装的病毒RNA

如果该检测需要使用辅助试剂，贵公司应提供检测数据，以确定所提供或推荐的控制在辅助试剂使用时，对于检测性能或稳定性是足够的。

**6.B分析性能**

贵公司应为该检测产品建立的分析性能特征如下。

**6.B.i检测限（LoD）**

LoD定义为在一种确定类型的样品中可以始终被检出的待测物的最低浓度（通常在常规的临床实验室条件下有95%的样品检出率³）。该浓度的检测值应可区别于不含待测物的样品的检测值，并具有再现性。

多重测定的LoD的确定与单一待测物测定遵循相同的原理（见于CLSI文件EP17-A，确定检测限和定量限的方案；已批准的指南。临床和实验室标准研究所；Wayne，PA：2004）。在检测系统的验证期间，对于将在呼吸道病毒板多重测定中进行检测的每种样品类型和每种待测物，贵公司都应确定LoD。可以通过对再培养后恢复滴度的病毒原液的有限稀释来完成。在用于研究之前，测定病毒滴度的参考方法建议为半数组织培养感染量（TCID50）或空斑测定（以空斑形成单位（PFU）的形式表示）。应使用合适的阴性样品混合物作为稀释剂来制备梯度稀释液，每个稀释度重复3-5份，将具有95%阳性检出率的病毒水平作为LoD。根据测定，可能不需要对每种样本类型在整个浓度范围内进行单独的LoD确定；而至少应确定最常见和最易出现问题的样本的LoD。LoD的确认，可以通过在所提出的LoD浓度下，制备不少于20份的额外样本进行重复检测，证明病毒的阳性检出率为95%。在评估检测LoD时，应该使用从样品制备到扩增子测定的整个检测系统。

**6.B.ii分析反应性（包容性）**

贵公司应证明该检测产品可在LoD或接近LoD的病毒浓度、对每种待测流感病毒亚型的具有时间和区域差异性的至少10个病毒株进行检测。对于难以获得足够的亚型样品来对10个病毒株进行证明性检测时，建议与食品药品监督管理局联系，对研究进行讨论。应该确认所有病毒的特性和滴度。

LoD和分析反应性研究的建议菌株和毒株请见表1。如果包括疫苗株，它们应代表最近的流感季节。有关当前的疫苗株信息可从疾病控制和预防中心（CDC）获得，网址为[www.cdc.gov/flu/ professionals/vaccination/ composition0607.htm](http://www.cdc.gov/flu/professionals/vaccination/composition0607.htm)。疫苗株可以随不同流感季节而变化。

**表1. 建议用于分析灵敏度（LoD）研究的流感病毒株。**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **类型** | **亚型** | **流感病毒株** |
| A | 类似H1N1 | A/New Caledonia/20/1999 |
| A | 类似H3N2 | A2/Wisconsin/67/2005 or Ag equiv A/Hiroshima/522005 |
| B |   | B/Malaysia/2506/2004 or Ag equiv B/Ohio/1/2005 |
| A | H1N1 | A/PR/8/34 |
| A | H1N1 | A/FM/1/47 |
| A | H1N1 | A/NWS/33 |
| A | H1N1 | A1/Denver/1/57 |
| A | H1N1 | A/New Jersey/8/76 |
| A | H3N2 | A/Port Chalmers/1/73 |
| A | H3N2 | A/Hong Kong/8/68 |
| A | H3N2 | A2/Aichi2/68 |
| A | H3N2 | A/Victoria/3/75 |
| A | H1 | A/NY/55/2004 |
| A | H3 | A/Hawaii/15/2001 |
| B |   | B/Lee/40 |
| B |   | B/Allen/45 |
| B |   | B/GL/1739/54 |
| B |   | B/Taiwan/2/62 |
| B |   | B/Hong Kong/5/72 |
| B |   | B/Maryland/1/59 |
| B |   | B/Florida/2006 |
| A | H5N1 | 人类和/或禽类 |
| A | H5N2 | 禽类 |
| A | H7N2 | 人类和/或禽类 |
| A | H7N7 | 人类和/或禽类 |
| A | 其他亚型 | 人类和/或动物 |

**6.B.iii分析特异性**

***交叉反应***

我们建议贵公司对该检测产品与非流感的呼吸道病原体和大多数人群可能感染的其他微生物（如：爱泼斯坦巴尔病毒（EBV）和巨细胞病毒（CMV））的潜在交叉反应性进行测定。我们建议贵公司在病毒和细菌感染的医学相关水平进行检测（细菌通常为10 6 cfu / ml或更高，病毒通常为105 pfu / ml或更高），应重新确认病毒和细菌的型别和滴度。推荐用于交叉反应研究的微生物列于表2。

**表2. 建议用于分析特异性（交叉反应）研究的微生物。**

|  |  |
| --- | --- |
| **微生物** | **类型** |
| 腺病毒 | 1型 |
| 腺病毒 | 7型 |
| 人冠状病毒 |   |
| 巨细胞病毒 |   |
| 肠道病毒 |   |
| EB病毒 |   |
| 人副流感病毒 | 1型 |
| 人副流感病毒 | 2型 |
| 人副流感病毒 | 3型 |
| 麻疹病毒 |   |
| 人偏肺病毒 |   |
| 患病率腮腺炎病毒 |   |
| 呼吸道合胞病毒 | B型 |
| 鼻病毒 | 1A型 |
| 百日咳杆菌 |   |
| 肺炎衣原体 |   |
| 棒状杆菌 |   |
| 大肠杆菌 |   |
| 流感嗜血杆菌 |   |
| 乳杆菌 |   |
| 军团杆菌 |   |
| 卡他莫拉菌 |   |
| 无毒结核分枝杆菌 |   |
| 肺炎支原体 |   |
| 脑膜炎奈瑟菌 |   |
| 淋球菌 |   |
| 铜绿假单胞菌 |   |
| 金黄色葡萄球菌 | 产生蛋白A  |
| 表皮葡萄球菌 |   |
| 肺炎链球菌 |   |
| 化脓链球菌 |   |
| 唾液链球菌 |   |

\* 我们建议贵公司在交叉反应研究中纳入人冠状病毒的OC43和229E株。

此外，我们建议贵公司研究该检测与疫苗，如活的减毒流感病毒疫苗（流感疫苗鼻喷雾剂）的交叉反应性时，考虑可能有来自使用过疫苗的个例患者，可能出现反应性的检测结果。

***干扰物质***

贵公司应使用医疗相关浓度的干扰物质和每种流感类型的至少两种毒株进行全面的干扰研究，以评估呼吸道样本中所含物质的潜在抑制作用。

潜在的干扰物质包括但不限于：血液，鼻分泌物或粘液、用于缓解鼻塞和咽部充血、鼻腔干燥、刺激、哮喘和过敏症状的药物。潜在的干扰物质如表3所示。建议在每种流感病毒的检测临界值水平对每种干扰物质的干扰影响进行测定。我们还建议在每种干扰物质的潜在最大浓度（“最差条件”）下进行评价。如果没有观察到显著的临床有效性，则不需要进一步的检测。更多相关信息，请参阅CLSI文件EP7-A2。

**表3. 建议用于干扰研究的物质**

|  |  |
| --- | --- |
| **物质** | **活性成分** |
| 粘蛋白：牛颌下腺，I-S型 | 纯化粘蛋白 |
| 血液（人类） |   |
| 鼻腔喷雾剂或滴鼻剂 | 肾上腺素、羟甲唑啉、含防腐剂的氯化钠溶液 |
| 鼻腔糖皮质激素 | 倍氯米松、地塞米松、氟尼缩松、曲安西龙、布地奈德、莫美他松、氟替卡松 |
| 鼻用凝胶 | 具盖丝瓜，硫磺 |
| 过敏性症状缓解药物 | 金英，盐酸组胺 |
| FluMist© | 鼻内流感病毒的活疫苗 |
| 润喉片、口服麻醉剂和镇痛剂 | 苯唑卡因、薄荷脑 |
| 抗病毒药物 | 扎那米韦 |
| 抗生素、鼻用软膏 | 莫匹罗星 |
| 全身抗菌药妥布霉素 |  妥布霉素 |

**6.B.iv临界值**

在提交的资料中，贵公司应解释如何确定该检测的临界值（见第5.E部分）以及如何验证该临界值，需使用适当的统计学方法来确定临界值。例如，在预试验中对于不含任何呼吸道病毒的临床样品，贵公司应提供结果分布、95%和99%的置信区间，非阴性（阳性或不明确）结果的百分比等。适宜临界值的选择，可以通过基于预试验中临床样品的受试者工作特征曲线（ROC）分析的相关灵敏度水平和特异性来确认（关于ROC分析的细节，参见CLSI文献GP10-A使用受试者工作特征曲线（ROC）图的实验室检测的临床准确度评估；批准的指南，Wayne，PA，研究和实验室标准研究所; 1995）。如果该检测存在不明确区域，应说明如何确定不明确区域的限值。该申报器械使用的已确定的临界值（和不明确区域，如适用）的性能应该在符合器械所规定的预期用途（关键临床研究）的独立人群中进行验证。

**6.B.v精密度（重复性/再现性）**

我们建议贵公司提供证明系统精密度（即重复性和再现性）的数据。CLSI文件EP5-A2（定量测量方法精密度性能的评估；批准的指南 - 第二版，Wayne，PA。临床和实验室标准研究所；2004）和EP12-A2（用于评价定性测试性能的用户方案；批准的指南。Wayne，PA。临床和实验室标准研究所；2008年），包括了可能有助于开发实验设计、计算，以及用于建立性能要求的格式指南。

我们建议贵公司确立每种流感病毒类型和亚型的精密度。理想情况下，应在精密度研究中确定所有检测可变性的来源。一般来说，应考察任何日变量或周变量对测定精密度的影响。尽管一些可变性来源可以在室内精密度研究中评估，但是对于每种病毒，不同中心的重复性研究应该包括对下述可变性的主要来源的评估：

* *提取 - 提取的再现性*：用于再现性检测的样品，来自于检测中心的临床样本（例如鼻咽拭子），提取程序应使用该检测产品标签中的建议。
* *仪器间的再现性*
* *不同中心间和不同操作者间的再现性*：包括三个或更多中心（至少两个外部中心和一个内部中心），每个中心有多名操作者。操作者应该在教育和经验方面反映了该检测的潜在用户。提供的培训应仅为该检测产品上市后用以培训用户的程度。
* 至少为不连续的3～5天，涵盖由呼吸道病毒板检测的每种待测物的日间变异性（如适用，跨越仪器的两个校准周期）。
* 每天至少运行两次（除非该检测的设计排除了每天多次运行），并建议每次运行由每名小组成员进行两次重复，以评估在再现性研究的两次运行间，各组分在运行中的和日内的不精确性。
* *批间再现性*：评估多个产品批次（例如，多批检测试剂和辅助试剂，用于RT-PCR的多批引物和探针，多批珠或阵列）和多个仪器。
* 供试品应能代表该检测可以测定的甲流类型和每种亚型。对于由该器械检测的每种待测物（靶标），建议包括至少三个水平的病毒载量，包括接近检测临界值的待测物浓度或产物的浓度。
1. “高阴性”样品（C 5浓度）：样品的待测物浓度低于临床界值，该样品的重复检测结果阴性率约为95%（且结果的阳性率约为5 %）。
2. “低阳性”样品（C 95浓度）：样品的待测物浓度略高于临床界值，该样品的重复检测结果的阳性率约为95%。
3. “中阳性”样品：理想地反映临床相关浓度的样品。在该浓度下，可以预期阳性检出率约100%（例如，临床界值浓度的约2-3倍）。

当空白限（LoB）用作临界值时，则浓度C95与检测限（LoD）相同，如果LoB 确立的I型误差为5%[10](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm180306.htm%22%20%5Cl%20%22ft10)，则零浓度（样品中不存在待测物）为C5。

在510（k）的研究设计描述中，应该明确哪些因素（例如仪器校准、试剂批号和操作者）保持不变，哪些在评估期间有变化，并对用于评估数据的算法和统计分析进行描述。一般来说，对于定性检验，应使用适当的统计方法来评估精密度研究中考虑的每个因素的方差分量以及总变异。特别是对于有基本定量结果的定性测试，通常使用方差分析来测量精密度分量的每个变量源以及总变异。对于精密度研究中的每个样品，提供方差分量（标准偏差和CV%）的平均值。此外，对于每个样品，分别提供在每个中心的高于和低于临界值的百分比和无效结果的百分比，以及所有中心的合并结果（如适用，在精密度研究中对每个样品提供分别在每个中心的不确定结果百分比，以及所有中心的合并结果）。

**6.B.vi残留物研究和交叉污染研究（用于多样品测定和需要仪器测定的器械）**

对于需要使用仪器的多样品检测试剂和器械，需证明该器械不会发生残留物和交叉污染。在残留物和交叉污染研究中，建议按照该器械的操作功能将强阳性样品与强阴性样品交替使用，且强阳性样品与强阴性样品交替使用的次数不应低于5次。研究使用的强阳性样品应来自于预期使用人群的患者样本，有足够高的检出率（超过95%或更高）；强阴性样品中待测物的浓度应低于临界值，且复测的阴性率约95%。然后，可以通过在残留物研究中的强阴性样品的阴性结果检出率与95％进行对比，以评估残留物和交叉污染的影响。

**6.C临床性能研究**

我们建议贵公司进行预期临床研究，以确定该器械对于所有流感亚型以及在标签中载明的所有样本类型的性能。

**6.C.i研究方案**

贵公司应制定详细的研究方案，包括患者纳入和排除标准，证明该器械的性能所需的样本类型和数量，使用说明和统计分析计划，需考虑变异并防止数据偏差。我们建议贵公司在上市前申请资料中包括此项和任何其他相关的方案信息。

贵公司应鼓励申办者联系FDA的微生物器械部，请求对他们提出的研究和样本类型的选择进行审查。我们特别鼓励制造商在样品难以获得时寻求这种类型的讨论。

**6.C.ii研究人群**

贵公司应选择具有流感样症状 （例如：咳嗽、鼻塞、鼻漏、咽喉疼痛、发烧、头疼、肌痛）的人群作为研究对象。患者流感症状出现后，流感病毒在鼻腔或气管分泌物中的浓度在24～48小时内将保持较高水平，且在儿童体内的持续时间更长。如果该器械用于流感感染的个体筛查，还应该在研究人群中纳入无症状的个体。

我们建议贵公司在临床研究中纳入每个年龄组的样本，并且提供按年龄段分层的数据（例如，小于5岁，6-21岁，22-59岁和大于60岁）以及总体数据汇总表。

**6.C.iii参考方法**

我们建议贵公司将该检测的性能与已确立的病毒培养参考方法或食品药品监督管理局批准的直接样本荧光抗体（DSFA）检测的性能进行比较。病毒培养应在新鲜采集的样本上进行。对于亚型的区分，在使用病毒培养物确定了甲型流感感染后，可以使用DFA或有良好表征的亚型特异性核酸扩增方法（例如，PCR），然后进行双向测序。用于分型的核酸扩增方法，其靶标应该是该检测中的一个探针的不同基因组区域（即，结合不同引物）。我们建议贵公司在申请资料中提供已发表的文献或实验室数据，以支持用于扩增的引物。建议对扩增子的两条链进行测序反应（双向测序），并证明所产生的序列至少为200个碱基对，质量合格（例如，通过PHRED或类似的软件包测量的质量得分为40或更高），并且其与参考序列或共有序列匹配。

使用病毒培养时，贵公司除了细胞病变有效性（CPE）外，还应对病毒进行鉴定，例如用病毒特异性单克隆抗体染色，或PCR，然后对扩增子测序作为病毒鉴定的替代方法，仅CPE可能无法对病毒进行准确鉴定。在申请资料中应说明病毒分离的实验室程序，以及详细的数据或文献，以表明用于分离特定病毒的特定细胞系经过了验证。不应使用预先冷冻的样本进行培养，因为冻融会导致病毒丧失传染性。我们建议在研究中使用的病毒培养方法遵循CLSI文件M41-A（病毒培养；批准的指南Wayne，PA。临床和实验室标准研究所; 2006）和世界卫生组织（WHO）的手册：动物流感诊断和监测[11](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm180306.htm%22%20%5Cl%20%22ft11)。对于DFA检测，应提供过程描述和数据或文献，以显示特定抗体/荧光模式和检测过程适用于特定病毒。如果用于培养细胞中病毒检测的DFA抗体是食品药品监督管理局批准的，则在申请中不需要提交验证信息，只要实施检测的实验室遵循包装说明书即可。如果在DFA中使用的抗体是在修正案前上市的器械12，我们建议贵公司在上市前的申请中提供公开的文献或实验室数据，以支持用于流感病毒检测的抗体验证。如果公共卫生当局建议不要进行新型病毒培养，则应使用核酸扩增，然后对扩增子测序，以确认新型病毒的特性。在比较方法中使用的核酸扩增方法，其靶标应该是该检测中的一个探针的不同基因组区域（即，结合不同的病毒靶标）。

**6.C.iv样本类型**

我们建议检测所申报的预期用途中每种样本类型的临床样品（例如鼻拭子，鼻咽拭子，鼻腔抽吸物），以证明从临床材料中可以得到正确的结果。对于预先收集的样品，其对每种病毒类型或亚型的性能可以通过灵敏度和特异性进行描述。对于流感类型或亚型的灵敏度，是用于该流感病毒类型或亚型的该检测对于样品中该病毒的阳性检出能力，参比方法（参考方法或综合参考方法）的检测结果亦为阳性。流感类型或亚型的特异性，是用于该流感病毒类型或亚型的该检测对于样品中该病毒的阴性检出能力，参比方法的检测结果亦为阴性。对于检测板中的每种流感病毒类型或亚型，灵敏度通过将真阳性结果的数量除以真阳性结果和假阴性结果的总和来计算；特异性通过将真阴性结果的数量除以真阴性和假阳性结果的总和来计算（有关其他细节可参见CLSI：多重核酸检验的确认和验证; 批准的指南。CLSI文件MM17-A。Wayne，PA：临床和实验室标准研究所; 2008年）。灵敏度和特异性的评估应该与95%的双侧置信区间一起提供（有关置信区间的更多细节参见CLSI：用于评价定性检测性能的用户方案;批准的指南CLSI文件EP12-A2 Wayne，PA：临床和实验室标准研究所; 2008）。

我们建议贵公司在疑似流感患者的新鲜样本中评估该器械对于流感病毒进行检测和分型的能力。冻存的样本可用于临床前数据的开发，但通常不推荐用于计算临床的灵敏度或特异性，因为与新鲜样本相比，冻融可能会影响测定性能。然而，如果可以证明与新鲜样本的测定相比，冷冻或其他保存技术不会改变器械的性能，对于用于流感病毒检测和分型的多重核酸测定，如果选择适当的保存方式，并采取适当的措施来确定和消除或减轻所研究的试剂盒的任何偏差，则可以接受对预先收集的留存样本13进行分析。如果使用在新鲜样本上进行病毒培养后留存的样本来评估测定，则应确保样本未经选择性使用（即，仍应以预期方式检测所有样本）。此外，样品应该设盲以避免检测偏差。如果对新鲜和留存/冷冻样品均进行检测，应对这两组的数据分别进行分析。鼓励申请者与食品药品监督管理局联系，请求对所提出的研究进行审查。

一般来说，当可用于临床检测的样本数量很少时（例如新出现的毒株），食品药品监督管理局上市前审查的可用证据可能需要从分析研究而非临床研究中获得。在这种情况下，设计良好的分析研究尤为关键。动物研究可在适当时作为补充分析研究的选项。

研究中用于证实可以检测甲流或甲流H / N亚型的样品总数，取决于病毒的患病率和检测的性能。对于甲型流感病毒的检测器械，建议每种样本类型应包括足够数量的预先收集的样本，以证明对于无论何种流感病毒类型，灵敏度的双侧95%CI的下限至少为90%，大于80%。所有的流感检测器械，均应证明特异性的95%（双侧）置信区间的下限超过90%。

如果对选择合适的样本类型和数量有疑问，请联系FDA的微生物器械部。

**6.C.v研究中心**

建议至少在三个单独的设施内进行研究，其中一个可以是内部的。临床数据集应由从不同地理位置的、至少在三个不同临床中心收集的临床样品组成。最好是使用从美国人群获得的样本进行研究。如果研究在美国境外进行，应记录该研究与美国的临床实践和人口统计学的相关性。

在罕见的情况下，当特定的流感病毒亚型出现在当下的流感季节中，在预期使用人群中显示出具有低患病率时，可以适当地使用已知含有特定流感病毒亚型的库存样本对预先收集的样本进行补充（即，预先选择的库存样本）14。在这种情况下，库存样本的结果应与预先收集的样本结果分别表示，并且以阳性率与阴性率计算的性能一致。

**6.C.vi数据表示**

贵公司应单独列出该器械所鉴定的每种病毒和亚型的灵敏度和特异性（95%CI）分析的结果。注意，临床研究中的样品应按照器械使用说明中的描述进行检测。例如，有初始可疑或无效结果的样品应根据使用说明进行重新检测，则这些样品在临床研究中应进行重新检测，且这些样品的最终结果应用于统计分析。对于临床研究中的样品，应分别提供每种流感病毒类型和亚型以及总体的进行了重新检测的可疑或无效样品的百分比，如适用。此外，请分别列出每种呼吸道病毒和总体的最终无效结果和最终可疑结果（如适用）的百分比。

临床研究中的样品，对于每种病毒类型和亚型以及总体的待测物，应分别提供使用该检测对于预先收集的样品和留存样品的信号（结果）分布（信号的频率）。此外，对于每种病毒类型和亚型以及总体的待测物，应分别提供使用参比方法检测的预先收集的样品和留存样品阳性结果的信号分布。同样，应提供临床研究中不含有该检测可检出的病毒类型或亚型的样品测定结果的信号分布。

如果该检测存在一个不明确区域，应对每种呼吸道病毒预先收集和留存的样本提供以下对于不明确区域的支持性验证：

1. 初始值在不明确区域的样本总数;
2. 初始值在不明确区域且通过参考方法测得阳性结果的样本数; 以及
3. 初始值在不明确区域且通过参考方法测得阴性结果的样本数。

如果不明确区域的检测值需要重新检测，需提供样品复测后上述数字如何更改的信息。

**7. 标签**

用于甲型流感病毒亚型检测和分型的多重核酸检测，与其它诊断器械一样，受制于对标签的法定要求（FD&C法案第502（a）部分，第201（n）部分；21 USC§352（a），321（n））。这些IVD器械的标签必须提供充分的使用说明和充分的警告和注意事项。（第502（f）部分; 21 USC§352（f））。在21 CFR 809.10中提出了对于所有IVD器械的特定标签要求，亦见于21 CFR § 801.119（标签内容符合21 CFR 809.10的IVDs，被视为可满足第502（f）（1） 部分的要求）。

虽然通过510（k）时不要求有最终标签，但体外诊断器械的最终标签在产品进入州际贸易之前必须符合21 CFR 809.10的要求。

为了确保符合FD&C法案第502部分和21 C.F.R. 809.10，FDA建议在这些诊断器械的标签中说明以下规定的项目。这些标签建议还有助于降低本指南中已事先确定的风险，从而有助于确保安全有效地使用这些器械，特别是在可能有新型甲型流感病毒出现时。

标签应清楚地描述该器械设计用于检测的甲流病毒和特定甲流病毒亚型的特性、系统发育关系或其他公认的特征，以及人类感染的相关临床情况。

**预期用途**

除了描述被检测的待测物的特定元素，预期用途中应明确适应症，用于检测来自具有呼吸道疾病症状和可能有暴露风险的患者样本，且该检测应该与其他实验室检测和临床观察相结合。食品药品监督管理局还建议通过一个警告声明以澄清预期用途，例如：

*阴性结果不排除流感病毒感染，也不应该作为治疗或做出其他患者管理决定的唯一基础。*

*当流行的主要甲型流感病毒为流感A/H3和A/H1时，确立了用于甲型流感检测的性能特征。当其他甲型流感病毒出现时，性能特征可能不同。*

*根据目前由公共卫生当局推荐的临床和流行病学筛选标准，如果怀疑感染了新型甲型流感病毒，应在适当的传染病防控措施下对新型强毒流感病毒进行采样，并送往州或地方卫生部门进行检测。在这种情况下不应进行病毒培养，除非有BSL 3+的设施可用于接受和培养样本。*

**使用说明**

贵公司应该提供清晰简洁的说明，描述特定器械的技术特征、使用试剂的程序和控制类型，以尽量减少产生不准确结果的风险。说明书应鼓励使用额外的控制措施和控制的检测，以确保以安全有效的方式使用。

检测系统的使用说明书中应提供所有必要的说明，以允许该检测产品可以达到其申报的性能，并提出安全使用该检测产品所需的所有局限性和警告。

对于需要相关辅助试剂的检测系统（见第5.C部分），应：

* 通过醒目的标签强调，正确的产品性能需要使用指定的特殊辅助试剂。如果无法使用指定的辅助试剂，在标签中应包括该器械无法使用的警告。
* 确保用户可以清楚地识别哪些辅助试剂适合与该检测产品共同使用。例如，如果只有某些批次的指定辅助试剂适合使用，则该检测产品的标签中应明确那些批次的编号。（见21 CFR 809.10（b）（8）（ii））
* 如果标签中要求有辅助试剂，该辅助试剂的制造商提供了使用说明书或其他警告或限制，则应确保该检测产品的用户了解，其在检测系统中使用辅助试剂时应遵循的说明。如果辅助试剂制造商提供的说明和警告与该检测产品提供的使用说明之间存在冲突，则应评估并解决用户可能错误地直接遵循辅助试剂的标签内容而在检测中获得无效结果的风险。我们注意到，在某些情况下，标签中的声明可能不足以解决这种冲突所造成的风险。

**质量控制**

质量控制的建议应包括可用作额外质量控制措施的程序和材料的类型，以及控制测试可接受的预期结果。

**注意事项，警告和局限性**

贵公司应在标签中清楚地描述任何的检测局限性，包括医生在订购该检测产品之前需要了解的所有适当的局限性和警告。我们建议在“结果”部分加入报告结果的说明，包括向州或地方公共卫生部门报告结果的提醒（如适用）。

**注意事项**

我们建议贵公司对处理、储存和处置样本的程序进行规定，包括对疑似感染了新型流感毒株的样本进行重复和扩大操作的程序。

**局限性**

除了与该特定检测相关的任何局限性和警告，建议提供声明，例如以下局限性（如适用）：

* *经过培训的医疗保健专业人员应该结合患者的病史、临床体征和症状以及其他诊断测试的结果来对检测结果进行解释。*
* *待测物靶标（病毒序列）可以在体内持续存在，而与病毒的活力无关。对待测物靶标的检测并不意味着相应的病毒具有传染性，也并非临床症状的致病因素。*
* *病毒序列的检测取决于适当的样本收集，处理，转运，储存和制备（包括提取）。任何一个步骤不按正确的程序操作，都可能导致不正确的结果。由于不正确地收集、转运或处理样本，会存在假阴性结果的风险。*
* *检测存在的假阳性结果的风险，是由于靶生物体、其核酸或扩增产物，或非特异性信号的交叉污染所引起。*
* *由于测定的病毒靶标中存在序列变异，检测时会有假阴性结果的风险。*
* *使用本器械检测后结果为阴性的样本，我们建议通过替代方法（例如细胞培养）进行确认。（取决于对特定待测物的检测性能）。可能需要对甲型流感，其他甲流亚型或其他呼吸道传染病进行额外检测。*
* *阴性结果（例如，没有检测到甲流病毒RNA、且没有检测到特异性甲流病毒亚型的病毒RNA）不排除其他甲流病毒的流感感染。*
* *在接受鼻内给予甲流疫苗的个体中尚未确立该检测产品的性能。*
* *在免疫功能不全的患者中尚未确立该检测产品的性能。*
* *阳性和阴性的预测值高度依赖于患病率。在[例如，2006/2007流行季]期间建立了该检测产品的性能。对于某些病毒的性能可能会随患病率和检测的人群而变化。假阳性检测结果可能是由于甲流病毒或特定甲流病毒亚型在社区中的疾病患病率低或不存在。*
* *需要额外的检测来区分甲型和乙型流感病毒。*[如果该器械可以检测到甲型和乙型两种流感病毒，但无法区分二者。]
* *可与州或地方公共卫生部门协商，进行额外的检测以区分任何特定的甲流亚型或毒株。*[如果该器械可检测甲流病毒，并与乙流病毒进行区分。]
* *如果一个样本检出了甲流阳性，但是，对于所有特定的甲流亚型（即H1或H3）均为阴性检测结果，则此结果需要通知相应的地方、州或联邦公共卫生当局，根据MMWR通知（[http://www.cdc.gov/ mmwr/preview/mmwrhtml/ mm5613a4.htm](http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5613a4.htm) 和[http://www.cste.org/ ps/2007pdfs/ novelfluanndssjan10final23.pdf](http://www.cste.org/ps/2007pdfs/novelfluanndssjan10final23.pdf)）, 确定必要的措施，以确认该样品是否代表了甲型流感的新毒株。*

如果预先选择了库存样本用于评估该检测产品在任何病毒或亚型中的性能，则应对此进行局限性说明，因为在特定病毒或亚型中建立的既定性能不能反映在预期使用人群中的性能或患病率。

如果常用的收集材料、或可能在检测前通过内源性或外源性引入样本的物质，会导致阳性或阴性干扰，应告知用户由于这种干扰导致假阴性或假阳性结果的可能性。

**样本收集**

贵公司应说明不充分或不适当的样本收集、储存和转运可能会产生假阴性检测结果；还应说明，因为样品质量的重要性，我们强烈建议贵公司应对样品收集的操作人员进行培训。

**性能特点**

我们建议在标签中描述，其样本经检测以支持产品性能特征的人群（即地理位置，样本类型和年龄组），对来自该器械预期检测的特定甲流亚型（经实验室确认）的病例样本的检测应单独说明。

贵公司应在包装说明书中列出研究设计和研究结果的总结（在第6部分描述），这将有助于用户对检测结果的解释。该部分中应包括临床（即医疗）和分析（即技术）性能特征的描述。临床性能特征通常为预期临床研究结果，通过该检测产品对于鉴定每种病毒类型和亚型的检测性能（灵敏度、特异性或阳性和阴性的百分比符合性，95%置信区间）进行总结。在某些也使用了回顾性临床样品的情况下，这些结果应该与预期临床研究结果分别列明，可作为该器械用于每种病毒类型和亚型检测的阳性和阴性结果的符合性。分析性能特征包含第6部分中概括的研究结果和方法的描述。此外，该部分应描述分析的灵敏度水平（检测限）。

我们建议贵公司在性能特征部分描述用于确立该器械的性能特征的人群（即地理位置，样本类型和年龄组），并提供进行评价时的季节（例如，流感季节的日历年），以及在该时期内观察到的主要病毒亚型。

我们建议贵公司根据样本来源和年龄对所提交的临床研究的阳性和阴性结果进行分层，还应对5岁以下儿童、年龄较大的儿童和成人单独进行结果分析。如果此信息不可用，应增加一个警示说明，例如“该检测产品用于成年人与儿童的样本会有预期的性能差异，但具体差异尚不清楚。”

如果贵公司使用标准化病毒定量方法（如WHO和CLSI）对标签中的各种病毒亚型进行结果表示，还应对信息进行条件符合性说明：“注：虽然该检测产品可检出经培养的禽流感病毒，包括禽甲流亚型H5N1病毒，但该产品在感染了H5N1或其他禽流感病毒的人类的样本中的性能特征是未知的。”这样的说明有助于避免误导用户将对于特定病毒培养物的分析信息应用于在人类临床样本中，对这些病毒进行检测。

**结果的解释**

贵公司应在包装说明书中结果的解释部分应列出所有可能的检测结果，并确定每种病原体和检测控制的存在或不存在。

如果贵公司内部控制是确定有效的阳性和阴性结果的一部分，应提供每种可能的控制结果解释和对于任何无效（即，无可用）结果如何进行后续操作的建议。

如果该检测存在不明确区域，贵公司应提供解释和建议，对于检测板中每种病原体的可疑结果如何进行后续操作（例如，不确定的结果是否应该报告，或者是否应该重复检测）。

如果对结果的解释认为，无效或可疑结果需要重复检测，应提供是否应重复对同一核酸制备物、新的提取物或新的患者样本进行复测。

如果对检测结果的解释涉及几种病毒和病毒靶标的组合结果以获得检测结果，如呼吸道病毒检测板用于甲流和甲流亚型检测和分型的情况，应当有明确的对于有效和无效结果的组合的解释，以及在某些检测的情况下（例如，检测甲流，但不区分亚型），对需要后续操作或重新检测的建议。

如果对于特定待测物的检测性能（即灵敏度）显示为双侧95%CI的下限小于90%，则该待测物的阴性结果可能需要被解释为推定结果，应提示通过替代方法（例如细胞培养）进行确认。

由于该检测产品可检测甲型流感，并可区分甲型流感亚型，对于结果的解释中应告知用户，如果一个样本检出了甲流阳性，但是，对于所有特定的甲流亚型（即H1或H3）均为阴性检测结果，则此结果需要告知适当的地方、州或联邦公共卫生当局，根据MMWR通知（ http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5613a4.htm/和 [http://www.cste.org/ps/ 2007pdfs/novelfluanndssjan10final23.pdf](http://www.cste.org/ps/2007pdfs/novelfluanndssjan10final23.pdf)），确定必要的措施，以确认该样品是否代表了甲型流感的新毒株。

我们建议贵公司在报告结果的“结果”部分中，加入以下语句（如适用）：

*阴性检测结果报告为“未检测到甲型流感病毒，该结果不排除流感病毒感染。”*

*阳性检测结果报告为“甲型流感病毒阳性。该结果不排除与其他病原体的合并感染或鉴定了任何特定的甲型流感病毒亚型。”*

**预期值**

该部分应包括使用该检测产品的预期值和对于结果的解释，还应包括用于确定预期值的人群的样本数、年龄、性别和人口统计学资料。

1在本指南中，多重检测定义为，通过样品制备、扩增和/或检测的通用流程，检测两个或多个靶标并进行结果解释的那些检测。

2 [http://www.fda.gov /MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/ GuidanceDocuments/ucm084365.htm](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm084365.htm)

3[http://www.fda.gov/ MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/ HowtoMarketYourDevice/PremarketSubmissions/ PremarketNotification510k/default.htm](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/HowtoMarketYourDevice/PremarketSubmissions/PremarketNotification510k/default.htm)

4 [http://www.fda.gov/ MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/ GuidanceDocuments/ucm080187.htm](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm080187.htm)

5 与新型流感病毒检测试剂相关的特殊健康风险，在特殊控制指导性文件中已确定，适用于21 CFR 866.3332“II类特殊控制指导性文件：检测特定新型流感病毒的试剂”中的器械分类。

6疾病控制和预防中心。2006-07流感疫苗组成，“MMWR建议和报告：流感的预防和控制：免疫实施咨询委员会的建议”（ACIP）。7月28日；55（RR10）：1-42。[www.cdc.gov /flu/professionals/ vaccination/composition0607.htm](http://www.cdc.gov/flu/professionals/vaccination/composition0607.htm)

7即使确定了在该检测产品中可以使用一种或多种替代的辅助试剂，这些指定的替代品仍然只是一个辅助试剂。如果不确定特殊控制的这一方面是否适用于该器械，建议咨询食品药品监督管理局。

8微生物和生物医学实验室中的生物安全性1999. Richmond，J.Y 和McKinney，R.W.eds HHS出版号（CDC）93-8395; 和，CLSI（以前的NCCLS）文件M29-A，实验室工作人员免受由血液、体液和组织传播的传染病的防护，Wayne，PA。临床和实验室标准研究所; 1997年。

9 在预期使用人群中被感染的受试者的典型浓度的样品（例如，来自被感染的受试者样品的浓度中值）。

10 I型误差是真阴性样品（待测物浓度为0的样品）检出待测物存在的值的概率。通常，I型误差设置为5%或更小。

11 WHO手册：动物流感的诊断和监测。2002年，日内瓦（世界卫生组织）。（完整文件WHO / CDS / CSR / NCS / 2002.5，可查阅： [http://www.who.int/csr /resources/publications/influenza/ en/whocdscsrncs20025rev.pdf](http://www.who.int/csr/resources/publications/influenza/en/whocdscsrncs20025rev.pdf)）

12修正案前上市的器械是指，在1976年5月28日（1976年“医疗器械修正案”颁布日）之前进入州际商业流通贸易的器械。

13在本指南中，我们将*预先收集的留存样本*定义为，从满足研究入组标准的所有患者中顺序收集的样本，并代表了预期使用人群（即未根据已知结果进行预先选择的样本），其在两个预先确定的检测日期之间（例如，从一个流感季节的开始到结束）进入一个临床检测机构，

因此不存在偏差，且保存了患病率。这些样本应适当储存（例如，在-70℃冷冻），如文中所述，申办者应该说明，器械的性能不会因样本的储存/冻结/储存而发生变化。

14在本指南中，*预选的库存样本*是指，由申办者选择用于检测的库存或留存样本，因其已知含有某种流感类型或亚型。由于这些样本未在两个预先确定的检测日期之间进行顺序收集，无法充分地代表预期使用人群中待测物的患病率，所以它们的使用可能会导致检测性能结果的偏差。

