

登革病毒血清試劑技術基準

106.07.12

【說明】

1. 本基準係「體外診斷醫療器材查驗登記須知」之補充規定，提供醫療器材廠商辦理產品查驗登記，臨床前測試應檢附資料及所須進行項目之建議。本基準未包含臨床評估等其他資料之要求，醫療器材查驗登記申請案仍應符合相關法規之規定。廠商亦應依個案產品結構、材質及宣稱效能提出完整驗證評估（含臨床前測試及/或臨床評估等）之資料。
2. 本基準依據現行之參考資料制定，惟科技發展日新月異，致法規更新恐有未逮處，為確保國人健康安全，審查人員將視產品宣稱之效能、作用原理與設計之安全性及功能性，要求廠商提供本基準所列項目外之驗證評估（含臨床前測試及/或臨床評估）資料；另本基準將不定期更新。
3. 臨床前測試資料應包括檢驗規格（含各測試項目之合格範圍及其制定依據）、方法、原始檢驗紀錄及檢驗成績書。
4. 如製造廠未進行表列測試項目，應檢附相關文獻或科學性評估報告，以證實產品仍具有相等之安全及功能。
5. 各項測試如本基準或表列之參考方法未訂有規格者，由各製造廠自行制定規格；如本基準或表列參考方法已訂有規格，惟製造廠另訂不同規格者，應檢附相關文獻或科學性評估報告以說明訂定該規格之依據。
6. 製造廠使用之測試方法如與本基準所列參考方法不同，但(1)具等同性者，應檢附製造廠測試方法供審核；(2)如不具等同性，應檢附製造廠測試方法及相關文獻或科學性評估報告以說明該測試方法制定之依據。
7. 如表列參考資料有修訂、廢止或被其它標準取代，製造廠得參照新版標準進行測試。

一、本基準適用之醫療器材範圍：

本基準適用於登革病毒（dengue virus）血清學分析。登革病毒血清學檢驗試劑的器材中含有抗原及抗體，用以檢測出現登革熱(dengue fever)或登革出血熱(dengue hemorrhagic fever)病徵或症狀之個人體內的登革病毒或登革病毒抗體。本基準不適用於登革病毒的核酸擴增檢驗。

二、本基準適用醫療器材之衛生福利部公告分類分級品項及其鑑別

公告品項：C.0002 登革病毒血清試劑（Dengue virus serological reagents）

鑑別：登革病毒（dengue virus）血清試劑含抗原及/或抗體，用於檢測對血清中登革病毒的抗原或抗體，以分析個體感染登革熱或登革出血熱之情形。有助於診斷此病毒引起的疾病並提供此病的流行病學資料。此病毒主要是人類經斑蚊叮咬而傳染，且會造發燒與其他非專一性症狀，如：頭痛、後眼窩痛、肌肉痠痛、關節痛、疲勞、皮疹與噁心、腹瀉、淋巴結病、白血球減少症等；其嚴重者會造成登革出血熱（Dengue hemorrhagic fever）或登革休克症候群（Dengue shock syndrome）。

風險等級：第二等級。

三、產品之結構、材料、規格、性能、用途、圖樣

1. 預期用途，其內容得包含：檢測標的（如：用以檢測登革病毒IgM抗體或非結構蛋白1 [NS1] 抗原），器材是否為自動化，定性測試，用於特定疾病、狀況或風險因子的檢測、定義或判別，檢體種類（如：血清、血漿），受檢族群等。
2. 預期的使用者（如：專業使用者）。
3. 器材的功能（如：篩檢、診斷或協助診斷）。
4. 試驗方法（如：免疫分析法或免疫層析法）之原理。
5. 單株抗體對待測登革病毒四種血清型或黃病毒屬病毒（如：日本腦炎、黃熱病等）之專一性。
6. 選擇特定抗原標的（如：非結構蛋白1 [NS1] 抗原或外套膜E糖蛋白）之理論依據。
7. 器材所有組成及主成分（如：抗原、抗體、受質）之濃度或含量百分比。
8. 檢體（如：血清或血漿）採集與運送的材料與方法。
9. 自動化試驗所使用的儀器及其特徵。
10. 所使用軟體之敘述。（若器材包含儀器）
11. 器材的組件，包含各種組合或包裝的完整清單。
12. 配件及使用上所需之相關產品（如：萃取用緩衝液、校正液、品管液）。
13. 防止可能造成偽陽性或偽陰性結果的檢驗條件、程序及品管措施。

14. 檢驗結果判讀之說明，必須說明判定陽性、陰性、不明確(若適用)或無效結果的方式，以及這些結果應該如何解釋，及其注意事項。

四、臨床前測試

項目	規格、需求及/或應進行測試	參考指引或採認標準
1. 分析靈敏度 (Analytical Sensitivity)	以經確認型別的四種登革病毒血清型檢體組 (panel) 進行測試，以確定器材與不同型別登革病毒株的反應性。此外，根據案件送審時的臨床及流行病學趨勢，可能還有其他登革病毒株也需納入測試，並提供偵測極限值及其建立資料。	US FDA Guidance (2014) ² 第7章
2. 分析特異性- 交叉反應 (Analytical Specificity-Cross-Reactivity)	針對可能引發熱病的病原體評估可能的交叉反應，建議包含：其他黃病毒屬 Flaviviruses (如：黃熱病毒 Yellow fever virus、日本腦炎病毒 Japanese encephalitis virus)、假病毒屬 Alphaviruses (如：屈公病毒 Chikungunya virus) 及其他引起發燒與發疹症狀之細菌或病毒 (如：麻疹病毒 Measles virus、腸病毒 Enteroviruses、單純疱疹病毒 Herpes simplex viruses) 等，釐清產品在前述病原體的抗原或抗體存在時的性能特性。 對於抗原的交叉反應，應以具有醫學意義的濃度 (通常病毒為 10^5 pfu/mL，細菌為 10^6 cfu/mL 或更高) 測試。 此外，也應評估當類風濕因子、抗核抗體及人類抗小鼠抗體存在時會不會有交叉反應。	US FDA Guidance (2014) ² 第7章
3. 分析特異性- 干擾 (Analytical Specificity-Interference)	針對分析方法的特性進行干擾物質研究。可能造成干擾的物質包括、但不限於：三酸甘油脂、血紅素、	US FDA Guidance (2014) ² 第7章

Interference)	膽紅素和白蛋白，以及採血管之抗凝劑等。 在鄰近分析法臨床閾值（cut-off）的濃度進行干擾測試，並以各干擾物質可能的最高濃度進行評估。	CLSI EP07-A2 (2005) ³
4. 精密度 (Precision)	(1) 實驗室內精密度 (Within-Laboratory Precision) 進行分析內（intra-assay）、分析間（inter-assay）及批次間（inter-lot）的精密度研究。 針對變異的來源進行測試，例如：不同操作者、不同天及不同次操作（run）。應測試至少12天（不需為連續），每天以2名操作者進行2次操作，每次操作每件檢體重複檢驗3次。 測試至少4個檢體，其分析物濃度範圍應具有臨床意義（如：鄰近臨床閾值（cut-off））。應使用至少3批試劑進行批次間評估。 若為定性檢驗法（如：免疫層析試紙分析法或側流式裝置），可不需進行此項研究。 (2) 實驗室間精密度 (Between-Laboratory Precision) 在可代表預期使用者（如：臨床實驗室）的3個地點進行測試至少5天，包括每天至少進行2次操作，以及每次操作每件檢體重複檢驗3次。每天至少由2名操作者進行檢驗。 進行測試時，納入至少2種登革病毒血清型的抗體或抗原，且濃度應至少包括以下4類：	US FDA Guidance (2014)² 第7章 CLSI EP15-A2 (2006)⁴ CLSI EP05-A2 (2006)⁵ CLSI EP12-A2 (2008)⁶

	● 「陰性」檢體：檢體的分析物濃度低於臨床閾值（cut-off），且該檢體重複檢驗的結果100%皆為陰性。 ● 「高陰性（high negative）」檢體：檢體的分析物濃度略低於臨床閾值（cut-off），且該檢體重複檢驗的結果約有95%的機率為陰性，5%的機率為陽性。 ● 「低陽性（low positive）」檢體：檢體的分析物濃度略高於臨床閾值，且該檢體重複檢驗的結果約有95%的機率為陽性，5%的機率為陰性。 ● 「陽性」檢體：檢體的分析物濃度約為臨床閾值濃度的2至3倍，且100%的機率均為陽性。	
5. 閾值 (Cut-off)	說明決定閾值（cut-off）的方法。可以臨床檢體先導研究（pilot study）的Receiver Operating Curve（ROC）分析所得到之相關靈敏度及相關特異性判斷，並以預期受檢族群加以確認。	US FDA Guidance (2014) ² 第7章 CLSI EP24-A2 (2011) ⁷
6. 檢體採集及處理 (Specimen Collection and Handling)	(1) 檢體採集 說明產品使用的檢體類型。若可使用血清以外的檢體類型（如：含EDTA或肝素鈉血漿），則應提供資訊證明這些抗凝劑對檢驗沒有顯著影響。 (2) 檢體保存 提供文件或參考依據以證明仿單所宣稱的檢體保存條件（如：保存溫度、可接受的冷凍/解凍循環次數	US FDA Guidance (2014) ² 第7章 CLSI EP09-A3 (2013) ⁸

	等)與保存期間。	
7. 方法比較 (Method Comparison)	在足以代表產品最終檢驗環境的地點(如:臨床實驗室)進行方法比較研究。 選擇已合法上市器材,或是直接與適當的參考方法,來進行此項研究。參考方法可為一項方法(如:RT-PCR),或由一項以上檢驗的結果組合而成(如:登革病毒的IgM的酵素連結免疫吸附分析法(enzyme-linked immunosorbent assay,簡稱ELISA)及血球凝集抑制法(hemagglutination inhibition,簡稱HAI)。 使用曾出現登革熱或登革出血熱症狀的患者檢體。所有的檢體均應以參考方法進行檢測,以確認結果的正確性。參考方法應經過充分分析與確認。若以RT-PCR檢驗法為參考方法,則應利用目標擴增子(amplicons)的雙向定序完成登革病毒血清型的鑑定,而且必須證明所得序列至少有200個鹼基對的品質合格。 研究結果應依預期用途加以分析,以及納入受試者年齡、檢體採集相對於發病的時間、研究地點等與患者特徵有關之分析。	US FDA Guidance (2014)² 第7章 CLSI EP09-A2 (2002)⁸ CLSI EP12-A2 (2008)⁶
8. 安定性 (Stability)	提供器材於宣稱之儲存條件下的開封前、後的安定性評估資料。	CLSI EP25-A (2009)⁹ ISO 23640 (2011)¹⁰
9. 標示 (Labeling)	參照本署「體外診斷醫療器材中文仿單編寫原則」。 考量器材特性,建議加註相關警語,例如:	體外診斷醫療器材中文仿單編寫原則 ¹¹

	● 黃病毒屬之間的血清學交叉反應相當常見，本器材無法辨別不同的黃病毒屬的抗體或抗原。 ● 血清學檢驗結果屬於間接證據，需利用其他方法確認。 ● 本器材只可針對臨床症狀符合登革熱或登革出血熱的患者進行檢驗。 ● 本器材不可用於產前篩檢，也不可用於未出現符合登革熱症狀的一般群體進行篩檢。這項檢驗試劑尚未獲得食品暨藥物管理局批准應用於血液或血漿捐贈者的篩檢。 ● 判讀檢驗結果時，應參考其他實驗室檢查結果及患者整體臨床症狀。 ● 這項檢驗試劑應用於觀察登革病毒治療的效能表現尚未獲得確認。 ● 感染消退後，登革病毒的IgM抗體仍可能持續存在數個月。 ● 判讀陽性結果時，應以臨床及其他實驗室檢查結果做為參考，而且不見得表示登革病毒引發的疾病處於活動狀態。	
10. 品管 (Controls)	(1) 陰性品管：陰性檢體可當作陰性品管使用；陰性品管係用於排除檢驗反應的污染或偏高背景。 (2) 陽性品管：必須含有濃度接近臨界值的登革病毒抗原或抗體，而	

	且必須用於作為整個檢驗過程(必要時包括萃取步驟)的對照組。陽性品管的設計必須模擬患者檢體，並依照實驗室品管系統(Quality System，簡稱QS)訂定的執行頻率，以檢驗一部分或單獨檢驗的形式與患者檢體一起操作。 (3) 內部品管：或許只有在單一檢驗用拋棄式卡匣或試管中進行的檢驗才需要此種品管。	
--	--	--

五、參考文獻

1. 體外診斷醫療器材查驗登記須知 (2013)
2. US FDA Guidance for Industry and FDA Staff Class II Special Controls Guideline: Dengue Virus Serological Reagents. (2014)
3. CLSI EP07-A2 “Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline.”(2005)
4. CLSI EP15-A2 “User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline - Second Edition.” (2006)
5. CLSI EP05-A2 “Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline-Second Edition.” (2006)
6. CLSI EP12-A2 “User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline - Second Edition.” (2008)
7. CLSI EP24-A2 “Assessment of the Diagnostic Accuracy of Laboratory Tests Using Receiver Operating Characteristic Curves; Approved Guideline - Second Edition.” (2011)
8. CLSI EP09-A3 “Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Third Edition.” (2013)
9. CLSI EP25-A Evaluation of Stability of In Vitro Diagnostic Reagents. (2009)
10. ISO 23640:2011, In vitro diagnostic medical devices -- Evaluation of stability of in vitro diagnostic reagents.
11. 體外診斷醫療器材中文仿單編寫原則(2015)