

定性檢測體外診斷醫療器材分析性能評估技術基準

Guidance for Analytical Performance Evaluation of Qualitative In Vitro Diagnostic Reagents

114.05

【說明】

1. 本基準係「體外診斷醫療器材查驗登記須知」之補充說明，提供醫療器材業者辦理產品查驗登記，定性檢測體外診斷醫療器材分析性能評估應檢附資料及所須進行項目之建議，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. 如製造業者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。
4. 各項測試如本基準或表列之參考標準未訂有規格者，由各製造業者自行制定規格；如基準或所列參考標準已訂有規格，惟製造業者另訂不同規格者，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。
5. 製造業者使用之測試方法如與本基準所列參考標準不同，但（1）具等同性者，應檢附製造業者測試方法供審核；（2）如不具等同性，應檢附製造業者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。
6. 如所列參考資料有修訂、廢止或被其他標準取代，製造業者得參照新版標準進行測試。

一、 本基準適用之醫療器材範圍

本基準所述之定性檢測體外診斷醫療器材係指僅提供兩種檢測結果（如：陽性/陰性、存在/不存在特定狀態（例如疾病）、有反應/無反應）的體外診斷試劑，包括無量測值結果的檢測試劑和依據閾值判斷量測值結果的檢測試劑。本

基準不適用於半定量檢測試劑或定量檢測試劑。

二、 名詞定義

1. 一致性 (Agreement)：檢體於擬申請器材及比對品所獲得結果之一致性程度。亦適用於使用相同受試者群體但涵蓋兩種不同因素（如：操作者、地點、儀器或試劑批次）的量測。
2. 準確度 (Accuracy)：指單一測量所得的量測值與被測量真值之間一致的程度。
3. 閾值 (Cut-off)：用於鑑別檢體，作為判斷特定疾病、狀態、待測物存在與否的界限數值，於開發過程建立後才能評估臨床性能。對於定性試驗，高於該閾值的結果報告為陽性，低於該閾值的結果報告為陰性，方法原理為競爭型的測試，結果詮釋與上述相反。
4. 精密度 (Precision)：指定條件下，對檢體進行重複測量所得的結果或數值一致的程度。
5. 偵測極限 (Limit of Detection, LoD)：以指定檢測方法所能測得分析物之最低量或濃度。
6. 分析反應性 (Analytical Reactivity)：指檢測試劑對預期範圍內的標的物質（如：基因型、位點等）及其狀態之檢出能力。
7. 干擾 (Interference)：指檢體的另一種成分或特性而導致被測量結果出現醫學上顯著差異的原因。
8. 交叉反應 (Cross-reactivity)：指非分析物的物質與試劑反應的程度。
9. 鉤狀效應 (Hook effect)：指免疫測量方法中，相對抗原濃度過量或相對抗體濃度過量時，抗原-抗體免疫複合物減少而產生負偏差。

三、 定性分析性能評估之基本要求

1. 應採用由檢體前處理試劑、檢測試劑、校正品、品管物質、檢測設備或裝置等所構成完整的檢測系統，進行分析性能評估。
2. 操作者須依照產品說明書所載之操作步驟進行校正及品管程序，符合要求後方可進行分析性能評估。

3. 若產品適用不同的機型，須在不同機型上分別進行定性分析性能評估。若不同機型間之工作原理、檢測方法、反應條件控制方式、訊號處理方式等基本相同，基於風險分析可針對已建立之分析性能內容進行合理查證。所有適用機型驗證的分析性能應基本一致，若某一分析性能因不同機型而有所差異，應針對該差異建立不同機型的分析性能評估。
4. 應盡量使用符合效能宣稱的臨床檢體作為分析性能評估的檢體，並按照說明書描述的方式進行檢體採集、處理、運輸和保存。若特定濃度的檢體難以取得，可採用不同濃度的檢體與陰性檢體進行混合；若特定條件檢體不易取得（如：特定型別的病毒株），經評估適用性後，可採用模擬檢體（如：標準菌株或病毒株、臨床分離培養物、第三方品管物質等）。

四、 評估項目

一般而言，定性體外診斷醫療器材之分析性能評估包含但不限於以下項目，製造業者應設計合理的試驗方法，對各項分析性能進行充分評估：

1. 準確度（Accuracy）：此研究的建立可透過評估擬申請器材將預期使用群體之檢體或受試者正確分類的能力來達成。
 - (1) 與同類產品比對：採用相同臨床檢體與已核准上市之同類產品進行比對測試。以合理的方法決定測試檢體數量，納入一定數量的陽性及陰性檢體，並包含接近閾值濃度之檢體。與同類產品進行比對，測試結果以陽性一致性及陰性一致性表示，適當時，可用 Kappa 分析，以呈現申請產品與比對產品的一致性。
 - (2) 與臨床診斷標準比對：該診斷標準可能結合其他檢驗項目之分析結果，並依據臨床醫療準則綜整判定。當擬申請器材之測試結果與臨床診斷標準進行比對時，比對結果以靈敏度及特異性表示，靈敏度代表器材偵測受試者實際屬於特定狀態（例如有疾病）之能力，特異性代表器材偵測受試者不屬於特定狀態（例如沒有疾病）之能力。
 - (3) 檢體選擇：應使用涵蓋器材宣稱適用之臨床檢體進行評估，例如納入不同來源、不同疾病程度的臨床檢體，以確保各種細菌或病毒之常見型別/流行株、檢測位點及濃度的覆蓋情形。對於臨床罕見檢體可採用細胞株或人工製備的檢體作為參考物質的組成，但應注意檢體基質與臨床檢體的一致性。

2. 精密度 (Precision)：精密度由隨機測量誤差決定，通常由標準差或變異係數表示。影響精密度的因素包括：操作者、儀器、產品批次、校正、操作 (run)、時間、地點等。精密度包括重複性 (Repeatability) 與再現性 (Reproducibility) 應選擇包括高陰性檢體、低陽性檢體及中高度陽性檢體，至少三個分析物濃度檢體進行精密度研究。

(1) 重複性 (Repeatability)：指在相同操作者、相同測量系統、相同操作條件及相同地點等固定條件下，短時間內對同一檢體進行重複測量所得的精密度。

(2) 再現性 (Reproducibility)：指在不同操作者、不同測量系統、不同地點等條件改變下，對同一檢體進行重複測量所得的精密度。再現性研究可能涉及多天、多地點檢測，為確保檢體的安定性和一致性，必要時可將檢體分裝保存。

建議選擇典型或臨床常見型別檢體進行精密度研究。對於多重檢測試劑產品，尤其是核酸和染色體檢測試劑，一般可根據產品設計原理，選擇變異點或代表性病患群體進行研究。應闡述研究位點選擇依據，及檢體的來源、濃度和該變異（或位點）出現頻率等完整檢體資訊。

3. 偵測極限 (Limit of Detection, LoD)：指檢測出檢體濃度下限的能力。偵測極限的研究，應考量不同測試條件可能造成之影響，並依據產品特性選擇適當的分析方法。

(1) LoD 的建立

採用已知分析物濃度的檢體進行序列稀釋，重複測量以確認產品的 LoD。應記錄重複測量過程中不同稀釋濃度檢體所產生的測試結果。採用適當的分析模型（如：Probit 分析）和分析方法，計算產品在設定機率下的 LoD，一般在該檢測濃度時應具有 95% 的陽性率。

在分子檢測的研究中，由於不同基因型別具有不同反應性，應納入所有基因型別的代表檢體各別評估其 LoD，並以其中最大值做為產品 LoD 宣稱或分別宣稱不同基因型別之 LoD。對於較不常見的基因型別，可在後續 LoD 的驗證試驗中進行確認。

(2) LoD 的驗證

擬申請器材應在建立的 LoD 濃度下，對常見分析物/型別進行驗證，一般對 LoD 濃度檢體執行至少 20 次的重複測量以進行驗證。應明確載明各個檢體的來源、分析物/型別及濃度確認的方法資訊。

4. 分析特異性 (Analytical specificity)

(1) 干擾 (Interference)：

干擾試驗一般採用配對比較的方式，比較添加與未添加高濃度干擾物質的檢體檢測結果的差異。比較結果之差異若超出可接受範圍或對臨床有顯著性影響，表示該物質對檢測會產生干擾，應評估該干擾物不同濃度的干擾程度；若差異在可接受範圍內或對臨床無顯著性影響，可認為該濃度的物質不產生干擾。應確認各干擾物質不產生干擾的最高濃度。

以添加干擾物質的檢體進行研究，比較有添加及未添加干擾物質的檢體檢測結果的差異。若干擾物質的基質 (matrix) 與適用檢體不同，添加的體積不宜超過總體積的 5%。建議採用涵蓋接近閾值之至少兩個分析物濃度的檢體進行至少 3-5 重複評估。

干擾物質包含內生性或外源性，常見的內生性干擾物質包括血紅素、三酸甘油酯、膽紅素、白血球裂解物 (white cell lysis)、自體抗體、嗜異性抗體等；常見的外源性干擾物質包括檢體添加劑 (抗凝劑或防腐劑)、常用藥物及其代謝物、患者群體使用的藥物及其代謝物、膳食物質、檢體收集或處理過程中接觸到的物質及檢體污染等。潛在干擾物質的選擇應根據樣本類型 (如：全血、血漿、血清、尿液、呼吸道檢體、糞便、生殖道拭子)、預期使用群體和待測的分析物而定。此外，亦應考慮類似產品已知的干擾物質，並根據產品特性選擇潛在的干擾物質進行評估。

(2) 交叉反應 (Cross-reactivity)：對潛在或已知的交叉反應物質，建議以具有醫學意義的濃度來進行評估。若檢測結果在可接受範圍內，可認為該物質不產生交叉反應；若檢測結果超出可接受範圍，應加以評估該物質濃度的交叉反應程度。

常見交叉反應物質包括分析物的結構類似物、具同源性序列的核酸片段、檢測範圍以外的型別、易共存的其他類似物、易引起相似臨床症狀的其他病原體、採檢部位正常寄生或易併發的其他微生物、已知對類似產品造成交叉反應的物質等。此外，還應考量產品原料設計中可能引入的交叉反應物質，例如病原體抗體檢測試劑採用基因重組抗原，應評估用以表達抗原之宿主的特異性抗體對擬申請器材造成的交叉反應影響。

5. 鉤狀效應 (Hook effect)：此效應常見於免疫反應原理的產品，當檢測檢體含有極高濃度的抗體或抗原時，抗原-抗體複合體可能達到飽和反

應，而使檢測濃度值低於實際濃度或出現偽陰性結果。高濃度檢體可經由序列稀釋，對每一序列濃度進行檢測，以確認不產生鉤狀效應的最高分析物濃度。

6. 適用檢體類型：若擬申請器材適用於多種檢體類型（含不同抗凝劑），應採用合理的方法評估每種檢體的適用性。若檢體基質（matrix）相似（如：血清和血漿），可以具統計意義的檢體數進行比對測試；若檢體基質不具可比性（如：血清和全血），則應對每種檢體類型進行分析性能評估。此外，檢體的採集、處理方式若有差異，例如適用不同檢體採集容器、不同檢體保存液、不同核酸萃取與純化方法等，應分析這些差異的潛在影響，並針對該差異進行分析性能評估。

五、 參考文獻

1. 食品藥物管理署。體外診斷醫療器材查驗登記須知 (2021)
2. 食品藥物管理署。體外診斷醫療器材中文說明書編寫原則 (2021)
3. 食品藥物管理署。體外診斷醫療器材方法比較評估技術基準 (2023)
4. CLSI EP05-A3, Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures, 3rd Edition (2014)
5. CLSI EP07, Interference Testing in Clinical Chemistry, 3rd Edition (2018)
6. CLSI EP09c, Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples, 3rd Edition (2018)
7. CLSI EP12, Evaluation of Qualitative, Binary Output Examination Performance, 3rd Edition (2023)
8. CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures, 2nd Edition (2012)
9. CLSI EP24-A2, Assessment of the Diagnostic Accuracy of Laboratory Tests Using Receiver Operating Characteristic Curves, 2nd Edition (2011)
10. CLSI EP34, Establishing and Verifying an Extended Measuring Interval Through Specimen Dilution and Spiking, 1st Edition (2018)
11. CLSI EP37, Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical

Chemistry, 1st Edition (2018)

12. CLSI MM03, Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases, 3rd Edition (2015)
13. CLSI MM17, Validation and Verification of Multiplex Nucleic Acid Assays, 2nd Edition (2018)
14. ISO 17822, In vitro diagnostic test systems- Nucleic acid amplification-based examination procedures for detection and identification of microbial pathogens (2020)
15. 中國國家藥品監督管理局。定性檢測體外診斷試劑分析性能評估註冊審查指導原則（2022）