

定量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 Quantitative In Vitro Diagnostic Reagents

113.09

【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，定量檢測體外診斷試劑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訂定，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/或臨床評估等)資料；另本基準將不定期更新。
3. 各項測試如本基準未訂有規格者，由各製造業者自行訂定規格；如基準或表列參考方法已訂有規格，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。
4. 製造業者使用之測試方法如與本基準所述方法不同，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訂定之依據。
5. 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

本基準所述之定量檢測體外診斷試劑係指可測量檢體中分析物 (Analyte) 的濃度或含量，並以適當單位的數值表達結果的檢驗試劑。本基準不適用於定性檢測試劑或半定量檢測試劑。

二、 名詞定義

1. 分析物 (Analyte): 檢體中具有可測量特性的成分，包括任何元素、離子、化合物、物質、病原體/致病原、細胞，以及濃度、活性、強度等可測量

的特性。

2. 準確度 (Accuracy): 指單一測量所得的測量值與被測量真值之間的一致程度。
3. 真實度 (Trueness): 指無限次重複測量的平均值，與參考值之間相近的程度。
4. 精密度 (Precision): 指定條件下，對檢體進行重複測量所得的測量數值間相近程度。
5. 空白極限 (Limit of Blank): 指測量不含分析物之檢體時，觀察到的最高測量結果。
6. 偵測極限 (Limit of Detection): 以指定檢測方法所能測得分析物之最低量或濃度。
7. 定量極限 (Limit of Quantitation): 指達到預期準確度要求時的最低分析物濃度。
8. 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。
9. 交叉反應 (Cross-reactivity): 指非分析物的物質與試劑反應的程度。
10. 鉤狀效應 (hook effect): 指免疫測量方法中，當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。
11. 線性 (Linearity): 測試結果與檢體中分析物濃度成正比的能力。

三、 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. 如果產品適用不同的機型，須在不同機型上分別進行定量分析性能評估。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，定量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. 真實度 (Trueness)：真實度由系統測量誤差決定，通常用偏差 (bias) 表示。可使用方法比較、參考物質或回收試驗等方法評估真實度。
 - (1) 方法比較：採用相同臨床檢體與已核准上市的器材進行比較測試，臨床檢體的測試濃度應盡量涵蓋測量區間，透過兩者的比對研究、偏差估計、迴歸分析評估申請產品與已上市產品是否具有實質相等性。方法比較之相關測試方式及結果分析請參見本署「體外診斷醫療器材方法比較評估技術基準」。
 - (2) 使用參考物質：以申請產品重複量測參考物質所得平均值評估真實度。建議採用公認的標準品作為參考物質，不可採用申請產品之校正液或品管液做為參考物質。建議採用 2~3 個濃度的參考物質，須包含臨床決策值或生物參考區間上、下限。
 - (3) 回收試驗：將標準溶液、標準物質或分析物純品加入臨床檢體中配製成回收檢體進行重複量測，以檢測結果平均值計算回收率。為了避免產生基質 (matrix) 的變化，一般加入之標準物質或標準溶液等不超過總體積的 10%。此外，應至少配製試劑測量區間內的高、中、低等 3 個濃度檢體，包含鄰近臨床決策值或生物參考區間上、下限的濃度。
2. 精密度 (Precision)：精密度由隨機測量誤差決定，通常用標準差或變異係數表示。影響精密度的因素包含：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)。應在參考區間範圍內濃度進行精密度評估，至少包含鄰近臨床決策值或臨床參考區間上、下限等高、中、低等 3 至 5 個濃度。

- (1) 重複性：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：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。
3. 分析靈敏度 (Analytical Sensitivity)：指檢測出檢體濃度下限的能力，包括空白極限 (limit of blank, LoB)、偵測極限 (limit of Detection, LoD) 及定量極限 (limit of Quantitation, LoQ)，若以其他方法評估分析靈敏度，應提供參考依據之相關說明。一般來說，LoB 低於 LoD，而 LoD 則低於或等於 LoQ。
- (1) 估算 LoB 之最低實驗要求為以 2 批次試劑，每批次 4 個空白檢體 (無分析物) 搭配一台機台進行 3 天、2 重複測定，應視產品量測步驟特性，增加實驗參數，使每一批次試劑至少獲得 60 個檢測結果。LoB 即在一定機率 (通常為 95%) 下，空白檢體可能測得的最高結果。
 - (2) 估算 LoD 之最低實驗要求為以 2 批次試劑，每批次 4 個低濃度檢體搭配一台機台進行 3 天、2 重複測定，應視產品量測步驟特性，增加實驗參數，使每一批次試劑至少獲得 60 個檢測結果，LoD 應合併 LoB 評估。
 - (3) 估算 LoQ 之最低實驗要求為以 2 批次試劑，每批次 4 個已知濃度之低濃度檢體搭配一台機台進行 3 天、3 重複測定，每一批次試劑至少需獲得 36 個檢測結果。LoQ 需符合真實度及精密度的要求。若無法在合適的低濃度分析物濃度下評估偏差，可採用其他方法評估 LoQ，例如：符合特定精密度要求的最低分析物濃度。
4. 分析特異性 (Analytical specificity)
- (1) 干擾 (Interference)：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%，且建議採用至少 2 個分析物濃度的檢體進行評估，其分析物濃度應接近鄰近臨床決策值或生物參考區間上、下限。

干擾物質包含內生性與外源性，常見的內生性干擾物質包括血紅素、

三酸甘油脂、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)、常用藥品及其代謝物、患者群體使用的藥品及其代謝物、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；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驗證。

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，表示該物質在檢測會產生干擾，應評估該干擾物濃度與干擾程度的關係；如果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為不產生干擾。應確認各干擾物質不產生干擾的最高濃度。

- (2) 交叉反應(Cross-reactivity): 對潛在或已知的交叉反應物進行評估，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。

常見的交叉反應物質包括分析物的結構類似物、具有同源性序列的核酸片段、檢測範圍外的型別、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申請產品造成的交叉反應影響。

5. 鈎狀效應(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。高濃度檢體可經由序列稀釋，對每一序列濃度進行檢測，以確認不產生鈎狀效應的最高分析物濃度。
6. 線性區間(Linearity interval): 一般應以高濃度和零濃度/低濃度檢體配製至少 9 個不同濃度的檢體(不包含零濃度檢體)，該濃度應涵蓋所宣稱的測量區間，每個濃度進行多次重覆測試，將重覆測試所得平均值與預期值進行線性迴歸分析，提供線性迴歸方程式、線性相關係數(r)及線性偏差等分析數據，判斷結果是否符合允收標準及線性宣稱。
7. 測量區間(Measuring interval 或 Analytical Measuring interval): 臨床檢體在未經前處理(如：稀釋或濃縮)改變分析物濃度的情況下，其測試結果的線性偏差(deviation of linearity)、不精密度(imprecision)、偏差(bias)需在可接受範圍內的濃度範圍。
8. 擴展測量區間(Extended measuring interval)和可報告區間(Reportable Interval): 若對高於測量區間濃度的檢體可進行稀釋後檢測，應評估適

合之稀釋液和稀釋倍數，進而確定產品的擴展測量區間和可報告區間。兩區間上限皆為測量區間上限乘以稀釋倍數，擴展測量區間的下限為測量區間上限，可報告區間下限為偵測極限。

9. 適用的檢體類型：若試劑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。假設檢體基質（matrix）相似，例如：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，例如：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等處理方法，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. CLSI EP05-A3, Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures (2014)
4. CLSI EP06, Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures, 2nd Edition (2020)
5. CLSI EP07, Interference Testing in Clinical Chemistry, 3rd Edition (2018)
6. CLSI EP37, Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry, 1st Edition (2018)
7. CLSI EP09c, Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples, 3rd Edition (2018)
8. CLSI EP15-A3, User Verification of Precision and Estimation of Bias; Approved Guideline (2014)
9. CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline, 2nd Edition (2012)
10. CLSI EP34, Establishing and Verifying an Extended Measuring Interval Through Specimen Dilution and Spiking, 1st Edition (2018)

11. 中國國家藥品監督管理局。定量檢測體外診斷試劑分析性能評估註冊審查指導原則 (2022)