

正本

檔 號：
保存年限：

衛生福利部食品藥物管理署 函

地址：115021 臺北市南港區研究院路一段130巷
109號

聯絡人：劉方穎

聯絡電話：02-27878000 分機：7536

傳真：02-27877588

電子郵件：fanyin@fda.gov.tw

241



新北市三重區重新路五段609巷6號3樓之3

受文者：台灣醫療暨生技器材工業同業公
會

發文日期：中華民國112年11月1日

發文字號：FDA器字第1121609177A號

速別：普通件

密等及解密條件或保密期限：

附件：



主旨：有關本署公告修正「人類乳突瘤病毒體外診斷醫療器材技術
基準」等2份醫療器材技術基準，惠請轉知所屬會員，請查
照。

說明：

- 一、為加強體外診斷醫療器材之安全及效能，公告修正「人類乳突瘤病毒體外診斷醫療器材技術基準」及「流感病毒核酸體外診斷醫療器材技術基準」2項醫療器材技術基準，提供廠商作為產品研發及申請查驗登記資料準備參考。
- 二、相關公告載於本署全球資訊網站（www.fda.gov.tw）之醫療器材法規專區。

正本：台灣醫療暨生技器材工業同業公會、中華民國醫療器材商業同業公會全國聯合會、台北市醫療器材商業同業公會、新北市醫療器材商業同業公會、桃園市醫療器材商業同業公會、台中市醫療器材商業同業公會、彰化縣醫療器材商業同業公會

會、嘉義市醫療器材商業同業公會、台南市直轄市醫療器材商業同業公會、台南市醫療器材商業同業公會、高雄市醫療器材商業同業公會、台灣省醫療器材商業同業公會、屏東縣醫療器材商業同業公會、高雄市直轄市醫療器材商業同業公會、台灣口腔生物科技暨醫療器材產業發展促進協會、台北市生物技術服務商業同業公會、中華民國儀器商業同業公會全國聯合會、台北市儀器商業同業公會、桃園市儀器商業同業公會、台中市儀器商業同業公會、臺南市儀器商業同業公會、高雄市儀器商業同業公會、新竹市儀器商業同業公會、台灣橡膠暨彈性體工業同業公會、台灣省橡膠製品商業同業公會聯合會、台灣醫療器材門市發展協會、台灣生物產業發展協會、中華民國全國商業總會、中華民國全國工業總會、台灣先進醫療科技發展協會、臺灣美國商會、歐洲在臺商務協會、台北市日本工商會、台灣研發型生技新藥發展協會、台灣醫藥品法規學會、經濟部工業局、南港軟體工業園區二期管理委員會、國家科學及技術委員會新竹科學園區管理局、台灣科學工業園區科學工業同業公會、國家科學及技術委員會南部科學園區管理局、國家科學及技術委員會中部科學園區管理局、財團法人金屬工業研究發展中心(高雄)、財團法人塑膠工業技術發展中心、財團法人台灣商品檢測驗證中心、財團法人醫藥品查驗中心、財團法人醫藥工業技術發展中心、財團法人工業技術研究院量測技術發展中心、社團法人中華無菌製劑協會、財團法人生物技術開發中心、台灣省進出口商業同業公會聯合會、台北市進出口商業同業公會、新北市進出口商業同業公會、桃園市進出口商業同業公會、台中市進出口商業同業公會、台中縣進出口商業同業公會、台南市進出口商業同業公會、台南縣進出口商業同業公會、高雄縣進出口商業同業公會、高雄市進出口商業同業公會、台灣區電機電子工業同業公會、台灣臨床檢驗標準協會、台灣藥物臨床研究協會、台北市西藥商業同業公會、台灣製藥工業同業公會、中華民國西藥代理商商業同業公會、中華民國西藥商業同業公會全國聯合會、台灣省西藥商業同業公會聯合會、中華民國開發性製藥研究協會、中華民國製藥發展協會、台北市西藥代理商商業同業公會、台灣藥品行銷暨管理協會、中華生物醫學工程協進會、中華民國金屬家具商業同業公會全國聯合會、中華民國生物醫學工程學會、台灣顯示器產業聯合總會、新北市生技產業發展聯盟、台灣健康資訊產業整合協會、台北市電腦商業同業公會、中華民國資訊軟體協會、財團法人資訊工業策進會、台灣健康資訊交換標準第七層協定協會、台灣數位安全聯盟、財團法人中華民國國家資訊基本建設產業發展協進會、社團法人台灣生技產業聯盟

副本：

署長吳秀梅

人類乳突瘤病毒體外診斷醫療器材技術基準

104.07.17公告

112.10.30修正

【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時，臨床前測試及臨床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. 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. 臨床評估資料應包含試驗計畫書、試驗數據、結果分析及結論。
5. 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。
6. 各項測試如本基準或表列之參考方法未訂有規格者，由各製造業者自行制定規格；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。
7. 製造業者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。
8. 如表列參考資料有修訂、廢止或被其它標準取代，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：

本基準適用於偵測人類乳突瘤病毒或是偵測且辨別人類乳突瘤病毒之定性體外診斷醫療器材。此器材需與子宮頸細胞學搭配使用於篩檢子宮頸癌，或為子宮頸癌第一線初步篩檢工具。

本基準僅適用於從子宮頸檢體中偵測人類乳突瘤病毒核酸之體外診斷醫療器材，不適用於使用非子宮頸檢體之醫療器材，例如：來自口咽、陰道、陰莖或肛門的檢體，或是檢測人類乳突瘤病毒感染的易受性。本基準亦不適用於

定量或半定量的人類乳突瘤病毒檢測。

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.0004 人類乳突瘤病毒血清試劑（Human papillomavirus serological reagents）

鑑別：人類乳突瘤病毒（Human papillomavirus）血清試劑含抗原及抗血清，用於血清試驗中鑑定對血清中人類乳突瘤病毒的抗體。此鑑定有助於診斷子宮頸癌或確定患者的免疫狀態，並提供有子宮頸癌的流行病學資料。

風險等級：第三等級。

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、功能敘述、適用的儀器系統、定性檢測、檢體的種類。
2. 檢驗方法之原理。
3. 器材之所有組成，以及主成分之濃度或含量百分比。
4. 可用的檢體類型及其採集方式。
5. 器材的性能規格。
6. 檢驗可能的干擾物質。
7. 器材的組件，包含各種組合或包裝的完整清單。
8. 配件及使用上所需之相關產品。

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. 偵測極限 (Limit of Detection)	建議使用經序列稀釋之HPV基因體DNA或RNA轉錄物（transcript）定出產品之偵測極限，如適用，以樣本收集緩衝液進行序列稀釋。基因體DNA及/或RNA轉錄物可來自轉殖或合成物質。應包含每一種宣稱的HPV基因型別、細胞株、檢體類型及檢體採集液之序列稀釋，可使用概率單位（Probit）做為統計分析方法。 若產品宣稱適用液相細胞學	US FDA guidance (2017) ² 第VII.A節 CLSI EP17-A2 (2012) ³

	<p>(Liquid-Based Cytology, 以下簡稱 LBC) 檢體, 並且操作步驟包括離心及丟棄 LBC 收集液, 則應使用與回溶 (re-suspend) 細胞沉澱物 (pellet) 相同的液體來評估偵測極限。</p> <p>若使用 LBC 泡製的仿檢體 (內含 HPV 感染的細胞株進行分析研究 (如『2. 實驗室內部精密度/重覆性』所述), 則也需要以此樣本評估偵測極限。</p> <p>建議參考 CLSI EP17-A2, 或是藉由檢出率 (hit rate), 即能被偵測到的病毒百分比, 來推估偵測極限。以檢出率進行檢測之檢體濃度, 應涵蓋大部分檢出率 (0~100%) 偵測範圍。上述二種推估偵測極限的實驗方法, 均應使用 2 至 3 個不同批號的產品, 在 3 至 5 天中檢測 3 至 5 個檢體。</p> <p>推估的偵測極限應藉由下列方法進行確認: 準備至少 20 個偵測極限濃度的重覆檢體, 以證實是否在此濃度時有 95% 的結果為陽性。</p>	
<p>2. 實驗室內部精密度/重覆性 (Within-Laboratory Precision/ Repeatability)</p>	<p>此項研究應評估變異性的來源 (如操作者、工作日、儀器、檢測批次等), 至少監測 12 個工作天 (無需為連續日), 每天執行 2 次檢測, 每次每個檢體需進行 2 重覆之檢測, 執行三批試劑測試。應於報告呈現各檢體所得檢測訊號之平均值、標準差與變異係數, 以及各檢體所測得之高於與低於閾值之比例。</p> <p>應使用下述檢體以建立產品的精密度:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ 應建立 10 至 20 個檢體之精密度測試檢體組 (panel), 此檢體組中, 各檢體含有一定量的待測物及特定的 HPV 基因型, 且須包含含量較低的待測物 (接近臨床決策值 (medical decision points) 的待測物濃度) 及含量中等 (詳 	<p>US FDA guidance (2017)² 第 VII.A 節 CLSI EP05-A3 (2014)⁴ CLSI EP12-A2 (2008)⁵</p>

	<p>見本段最末點之說明) 的檢體。</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ 為取得足夠量的檢體可以使用模擬的臨床檢體〔將HPV感染的細胞株與無HPV感染的「背景」細胞株混合配製而得〕。 ✓ 若產品宣稱可偵測的某個HPV基因型別尚未有細胞株可使用，可用HPV DNA質體(plasmid)或RNA轉錄物來製造此測試用的檢體。 ✓ 除了上述的人為製造檢體，尚需至少一例陰性的臨床檢體及至少四例陽性的臨床檢體。這些陽性臨床檢體應含有適當量的待測物，以便測試臨床閾值。臨床檢體可製備成混合檢體(sample pool)，以便取得足夠量的檢體及配成想要的濃度。 ✓ 若產品使用LBC檢體，則由細胞株及/或真實的臨床檢體所製備的測試檢體組，應使用實際操作上使用液相細胞學處理之檢體。 ✓ 從細胞株及/或真實臨床檢體衍生而來的測試檢體組，應當作真實的LBC檢體處理，從懸浮於LBC培養基(LBC media)及核酸萃取開始。 ✓ 模擬的測試檢體組須包含至少7種檢體，由2種HPV基因型，各配製成3種不同的病毒量所組成。所謂3種不同的病毒量之說明如下： <ul style="list-style-type: none"> • 1個高陰性(high negative)檢體，即所含待測物含量低於臨床閾值，因而在重覆測試中，有95%結果為陰性，5%結果為陽性，也就是所謂的C₅濃度(如：在即時PCR檢測中，檢體所含待測物濃度不低於臨床閾值的十分之一)。 • 1個低陽性(low positive)檢體，即所含待測物濃度僅略 	
--	--	--

	<p>高於臨床閾值，因而在重覆測試中，有95%結果為陽性，也就是所謂的C₉₅濃度。</p> <ul style="list-style-type: none"> • 1個中等陽性（moderate positive）檢體，即在重覆測試中幾乎100%結果為陽性（如：待測物濃度約為臨床閾值的2至3倍）。 • 除上述檢體，亦應包含1個0濃度（zero concentration）檢體，即不含待測物的檢體。 	
<p>3. 再現性 (Reproducibility)</p>	<p>宜參考以下實驗設計：</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ 在3個不同測試地點（如：2個外部測試地點，及1個內部測試地點）進行再現性研究。 ✓ 進行5天的研究，每天至少執行2次檢測（除非在設計實驗時不允許一天作多次檢測），每次每個檢體執行3重覆之檢測。 ✓ 每天在每個測試地點至少有兩名操作者在執行檢測。 ✓ 使用『2. 實驗室內部精密度/重覆性』所述的測試檢體組來進行再現性研究。若採用細胞株及臨床檢體，應從核酸萃取步驟開始處理。每次測試（each run）都須單獨進行一次萃取。 <p>報告應呈現個別測試地點及結合所有測試地點之結果，計算平均值、標準差與變異係數，以及高於與低於閾值之比例。</p>	<p>US FDA guidance (2017)² 第VII.A節 CLSI EP05-A3 (2014)⁴ CLSI EP15-A3 (2014)⁶</p>
<p>4. 交叉反應 (Cross-Reactivity)</p>	<p>應測試除HPV外可在生殖道群聚之微生物（包含經由性行為而傳染的病原體），來評估可能的交叉反應。應使用臨床相關濃度（通常病毒使用量為$\geq 10^5$ pfu/ml，細菌則為$\geq 10^6$ cfu/ml）來進行評估且要確定病原體的種類及效價（titers）。如有其他可能造成交叉反應的病原體也應予以納入研究，例如：有臨床證據顯示會造成交叉反應，或是與所設計的探針（probe）/引子（primer）的序</p>	<p>US FDA guidance (2017)² 第VII.A節</p>

列相似等情形。

若產品宣稱可偵測（但不可辨別）多種HPV基因型別，應測試那些不能偵測出、但與其檢測標的最為相近或是臨床上重要的基因型別，是否會產生交叉反應；對於宣稱可偵測及辨別不只一種HPV基因型別的檢驗試劑，應測試這些宣稱可偵測的型別之間，是否會產生交叉反應。

建議用於評估交叉反應的微生物如下：

人類乳突瘤病毒：

產品不能偵測出的alpha-HPV基因型別，包括：HPV 16, 18, 26, 30, 31, 33, 34, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 69, 70, 73, 82, 85

HPV 6, 11

產品不能偵測出卻可能有交叉反應〔依據探針相似度(probe-homology)分析，如：blast資料庫搜尋配對結果〕的生殖道HPV基因型別。

其他病毒類：

腺病毒 (Adenovirus)	單純皰疹病毒第一型 (Herpes simplex virus 1)
巨細胞病毒 (Cytomegalovirus)	單純皰疹病毒第二型 (Herpes simplex virus 2)
人類皰疹病毒第四型 (Epstein Barr virus)	

細菌類：

類桿菌 (<i>Bacteroides</i> spp.)	嗜酸乳桿菌 (<i>Lactobacillus acidophilus</i>)
比菲德氏菌屬 (<i>Bifidobacterium</i> spp.)	淋病雙球菌 (<i>Neisseria gonorrhoeae</i>)

	砂眼披衣菌 (<i>Chlamydia trachomatis</i>)	消化鏈球菌屬 (<i>Peptostreptococcus</i> spp.)	
	梭狀桿菌屬 (<i>Clostridium</i> spp.)	變形桿菌屬 (<i>Proteus</i> spp.)	
	棒狀桿菌屬 (<i>Corynebacterium</i> spp.)	假單胞菌屬 (<i>Pseudomonas</i> spp.)	
	大腸桿菌 (<i>Escherichia coli</i>)	表皮葡萄球菌 (<i>Staphylococcus epidermidis</i>)	
	腸桿菌屬 (<i>Enterobacter</i> spp.)	金黃色葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>)	
	腸球菌屬 (<i>Enterococcus</i> spp.)	糞鏈球菌 (<i>Streptococcus faecalis</i>)	
	梭桿菌屬 (<i>Fusobacterium</i> spp.)	化膿性鏈球菌 (<i>Streptococcus pyogenes</i>)	
	克雷伯氏菌屬 (<i>Klebsiella</i> spp.)	無乳鏈球菌 (<i>Streptococcus agalactiae</i>)	
	梅毒螺旋體 (<i>Treponema pallidum</i>)		
	其他：		
	白色念珠菌 (<i>Candida albicans</i>)	陰道鞭毛滴蟲 (<i>Trichomonas vaginalis</i>)	
5. 干擾 (Interference)	<p>應使用具臨床相關性之干擾物濃度，且需使用至少一種最具臨床意義的HPV基因型（如：HPV16與HPV18），以執行干擾評估研究。</p> <p>建議使用待測物含量接近臨床決測值（即低陽性C₉₅濃度）的檢體來進行干擾評估，並評估各干擾物於其可能的最高濃度（即最差的情況）。</p> <p>測試可依下述方法進行：將檢體採集器材浸泡在干擾物內，然後將它</p>		US FDA guidance (2017) ² 第VII.A節 CLSI EP07 (2018) ⁷

	<p>放入事先分裝 (aliquot) 的測試檢體中，相同測試檢體的另一個分裝則不加干擾物。有或沒有干擾物的分裝檢體均進行重覆檢測至少4至7次，以兩個檢體的平均值差異及呈現其雙側的95%信賴區間，來評估干擾物之影響程度。若發生顯著的臨床影響，則需進一步測試以確認發生干擾的最低濃度。</p> <p>建議用於干擾評估的物質包括：人類全血、白血球 (1×10^6 cells/mL)、避孕凝膠、陰道沖洗液、抗黴菌藥膏、殺精蟲劑、陰道潤滑劑、女性私處噴霧劑、陰道內使用之荷爾蒙、黏液等。</p>	
<p>6. 沾染及交叉污染研究 (用於自動化液體處理系統之醫材)</p> <p>(Carry-Over and Cross- Contamination Studies)</p>	<p>此項研究應視產品之操作方式將高陽性檢體與陰性檢體進行交替系列測試至少5次。此項研究中所使用的高陽性檢體濃度須超過於預期使用族群中95%病患檢體所得到的結果。</p> <p>沾染及交叉污染的效應可藉由比較兩組結果，一組是鄰接陽性檢體的陰性檢體所得結果為陰性之比例，另一組是未鄰接陽性檢體的陰性檢體所得結果為陰性之比例加以估算。若產品是使用細胞學的剩餘檢體，則應針對檢體處理流程上游的自動細胞學處理系統進行此項研究。</p>	<p>US FDA guidance (2017)² 第VII.A節 Haeckel (1991)⁸</p>
<p>7. 檢體保存及運送條件</p> <p>(Specimen Storage and Shipping Conditions)</p>	<p>有關說明書檢體保存條件的宣稱，應提供文件證明在所宣稱的檢體保存期間內，產品在不同時間點的檢測結果與檢體剛採集時所測得結果相同。測試的溫度應為所宣稱保存溫度之最高及最低溫。檢體的待測物濃度應接近臨床決策值。</p>	<p>US FDA guidance (2017)² 第VII.A節</p>
<p>8. 試劑儲存及運送條件</p> <p>(Reagent Storage and Shipping)</p>	<p>三批產品於宣稱之儲存條件下的開封前、後的安定性評估資料。建議以產品宣稱適用的檢體類型，且檢體內含待測物濃度接近臨床決策值，來建立試劑儲存及運送條件。</p>	<p>US FDA guidance (2017)² 第VII.A節 CLSI EP25-A (2009)⁹ ISO 23640 (2011)¹⁰</p>

Conditions)	本測試的儲存溫度應能代表建議儲存溫度範圍的各種極端狀況。	
9. 由臨床數據庫評估 HPV 偵測 (Evaluation of HPV Detection in the Clinical Dataset)	<p>應提供資料說明產品具有偵測其宣稱可標的之HPV基因型的能力。方法一是使用已核准的HPV檢驗試劑，且此試劑可偵測產品宣稱可偵測的基因型別；方法二是以聚合酶連鎖反應（Polymerase Chain Reaction）續以DNA定序，來比對臨床檢體之檢測結果。上述兩種方法也可一起使用。若使用方法二，則PCR產物的雙股都要定序，且其產生的序列須符合下列所有的允收基準：</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ 序列至少包含100個連續的鹼基。 ✓ 藉由 PHRED 、 Applied Biosystems KB Basecaller 或其他類似的軟體得到的定序品質分數必須大於等於 20（這代表錯誤率是 1%或更低）。 ✓ 序列經 GenBank 資料庫之 BLAST 配對分析（http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/），與參考序列或共同序列配對所得期望值（Expected Value, E-Value）需小於 10^{-30}。 <p>針對不一致的檢體所進行額外測試的結果不可用於改變估算出的一致性，但可呈現在性能評估資料中，做為註腳說明。</p> <p>建議可用 X^2 卡方檢定或 kappa 檢驗，以評估兩種方法檢測結果的一致性。</p> <p>當比較產品的HPV檢驗與PCR/定序時或是上述的其他比較方法，請說明當 HPV檢驗為陰性時，究竟待測物有無被偵測到，舉例來說，當器材設定之臨床閾值高於空白極限（Limit of Blank, LoB）時，陰性的</p>	<p>US FDA guidance (2017)² 第VII.A節 中國NMPA指導原則 (2015)¹¹ CLSI MM17 (2018)¹²</p>

	<p>檢驗結果代表2種情況：器材可偵測到待測物（待測物濃度高於LoB），但此含量仍低於臨床閾值；或器材真的沒有偵測到待測物。應以表格方式個別呈現 ASC-US 及≥30 歲NILM（Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy）族群之比對結果。對於僅適用於年滿25歲女性群體初步篩檢的器材，則應分別列出NILM與≥ASC-US的數據，以及所有參與者的合併數據，內容包括NILM、≥ASC-US及UNSAT（Unsatisfactory cytology results）。表1為結果呈現範例：</p> <p>評估HPV檢測表現時，應分別列出各測試地點的結果，以及各種檢體採集液的結果。若產品為可辨別HPV基因型別的檢驗試劑，則應以表格方式說明PCR/定序結果與您的檢驗結果之比較，並且分別呈現ASC-US及≥30歲NILM族群之比對結果。建議可參考CLSI MM17以獲取更多資訊。</p> <p>以可辨別5種分型結果（HPV16 陽性、HPV18 陽性、HPV16 及HPV18 陽性、陰性、無效/不確定）之HPV檢驗試劑為例，可使用表2的方式說明與PCR/定序結果之比較。</p>	
<p>10. 品管 (Controls)</p>	<p>產品性能研究的整個過程中，每日應以適當的品管檢體來測試。</p> <p>『適當的品管檢體』是指：將內含有HPV基因體DNA之質體或合成的HPV RNA轉錄物（視檢測標的為DNA或RNA而定）加入與臨床檢體相近的基質內配製而成。品管檢體應比照臨床檢體的操作方法來進行測試。</p> <p>品管所選用的人類乳突病毒基因型應為最具臨床意義的人類乳突病基因型（如HPV16）。當HPV型別的臨床重要性因疫苗接種計畫而改變</p>	<p>US FDA guidance (2017)² 第VII.C節 CLSI MM03 (2015)¹³</p>

	<p>時，應重新評估適合的序列。</p> <p>一般而言，品管應包含：</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ 品管檢體 <ul style="list-style-type: none"> • 陰性品管檢體：內含適當的緩衝液或是運送檢體的媒介物質。 • 陽性品管檢體：在適當的緩衝液或是運送檢體的媒介物質中，加入約 2 倍 C₉₅ 濃度的標的核酸所配製而成。 ✓ 內部品管：內含與標的物不同的核酸序列。在實驗進行過程中，與標的核酸用同樣的方式被萃取及擴增。 	
--	--	--

表 1

		PCR/定序			總計
		高風險 陽性	高風險 陰性	不確定	
HPV 陽性					
HPV 陰 性	有偵測到 訊號				
	未偵測到 訊號				
其他 (無效/不確定)					
總計					

表 2

	PCR/定序								
	無高風險基因型別	一個高風險型別			二個高風險型別				更多
		16	18	其他	16及18	16及其他	18及其他	其他	
HPV16 陽性									
HPV18 陽性									
HPV16 及 18 陽性									
陰性									
其他 (無效/不確定)									
總計									

五、臨床評估

(一) 需要列入考量的其他參考指引

在設計臨床評估計畫時，應同時參考最新的子宮頸癌篩檢共識指引，例如：美國 2012 updated Consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors、updated cervical cancer screening guideline-ACOG2021，執行審查時也會將這些專業參考指引的建議予以適時納入。

(二) 預期用途

HPV 檢驗器材宣稱之預期用途，主要仍需要靠製造業者所提供之數據佐證，因此臨床性能研究應著重於：藉由 HPV 器材檢測之結果，將特定的病人族群分級，進而建立女性罹患子宮頸疾病之風險。HPV 檢驗器材之預期用途可用較為概括的敘述方式（如下述之「附屬檢驗」預期用途），讓臨床醫師在使用產品時保有適度的彈性。以下為此類產品預期用途宣稱的範例：

[商品名] HPV 檢驗試劑是一種[技術或分析種類]為基礎的檢測，它是用來定性偵測子宮頸檢體中之高風險人類乳突瘤病毒的[DNA 或 RNA 轉錄物]。此方法可檢驗出高風險的人類乳突瘤病毒型別[請指出所能鑑定出特定的基因型別]。適用於此檢驗試劑的子宮頸檢體包括[指出檢體種類及檢體採集器材的種類]。

本檢驗試劑的適應症（Indication for Use）為：

1. 篩檢年滿 21 歲且子宮頸細胞學檢查結果為 ASC-US（不確定意義之非典型鱗狀細胞）（Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance，以下簡稱 ASC-US）之婦女，以決定是否需要進一步作陰道鏡檢查。

2. 對於 30 歲以上之婦女，[商品名]檢驗試劑可與子宮頸細胞學搭配使用，用於輔助篩檢以評估是否有高風險的人類乳突瘤病毒型別存在。此資訊搭配醫師對細胞學病史的判斷、其他風險因子及專業指引，可作為病人處置的方向。
3. 對於年滿25歲的女性，[商品名]檢驗試劑可作為第一線初步子宮頸癌篩檢，檢測高風險的HPV型別（如HPV 16及18）。[商品名]檢驗結果為HPV高風險型別為陰性的女性，應依照醫師對篩檢結果及病史、其他風險因子與專業指引的評估接受追蹤。[商品名]檢驗結果為HPV16及/或18基因型為陽性的女性，應進一步接受陰道鏡檢查。[商品名]檢驗結果為HPV高風險型別為陽性、16/18基因型為陰性的女性，應接受子宮頸細胞學檢查評估，判斷有無進一步接受陰道鏡檢查的需要。

上述第 1 點指的是「ASC-US 分流」的預期用途，第 2 點為「附屬檢驗」之預期用途，第 3 點即為「初步篩檢」之預期用途。不同的預期用途所應考量之研究設計將分述於後。

(三) 「ASC-US 分流」、「附屬檢驗」、「初步篩檢」或其他預期用途之研究設計的共通性考量事項

- 試驗地點

試驗地點的選擇應考量是否符合所宣稱的適用族群，以及是否為國內可接受的醫療行為加以判定，並以符合倫理及科學有效性為主要根據。若提供國外臨床資料，考量重點包括：特定高風險人類乳突瘤病毒基因型別的盛行率、病人篩檢的間隔時間、首次篩檢及性行為的平均年齡、子宮頸癌風險、子宮頸檢體採樣方法及種族等。

- 組織學檢查

陰道鏡檢查及切片（必要時）是臨床研究中疾病診斷的黃金標準。所有參與臨床研究的醫院之病理切片報告可予以納入，但建議應集中由三位病理專家進行複閱，以得到更一致且正確的疾病診斷。報告應區分子宮頸上皮內贅瘤（cervical intraepithelial neoplasia，以下簡稱CIN）之CIN2與3，不宜將兩者混在一起報告為CIN2/3。

若採取LAST系統報告子宮頸組織學檢查的結果（分為LSIL及HSIL），並利用生物標記p16的免疫組織化學染色釐清原先判定為CIN2的結果屬於LSIL或HSIL，則所有患者根據H&E染色玻片複查所得到的三階結果（即CIN1、CIN2或CIN3），應與根據H&E與p16染色玻片複查所得到的二階結果一起表示。

- 細胞學報告用語

細胞學的報告用語應依照The 2014 Bethesda System for Reporting Cervical Cytology（2014 Bethesda 系統）¹⁴或新版的Bethesda 系統（如有新版）。

- 盲性

為避免研究出現偏差，完成陰道鏡檢查/組織學檢查前不應讓試驗主持人、

患者及臨床醫師（包括執行陰道鏡檢查及組織學檢查者）知道患者的HPV感染狀態。

計畫應明確說明最終將告知醫師及患者哪些檢驗結果，以及細胞學檢查及HPV檢驗結果在哪些狀況下將會解盲，因為這可能會在無意間造成後續研究的偏差。

- HPV基因型別

產品如宣稱可偵測高風險之HPV，應能偵測下列被World Health Organization International Agency for Research on Cancer（IARC）分類為「具致癌性的（carcinogenic）」之基因型別：16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 與59。若產品未能偵測上述任一高風險之基因型別，應解釋其原因。其他基因型別，例如：台灣地區本土流行的基因型別（如：53及70型^{15, 16, 17, 18, 19}）及被IARC列為「大概具致癌性的（probably carcinogenic）」及「可能具致癌性的（possibly carcinogenic）」之66、68及73型別也可考慮列入。

- 檢體採集液

建議使用所有說明書宣稱適用之檢體採集液，例如：特定品牌的液相細胞學（liquid-based-cytology）採集液，進行本基準所述之臨床前測試及臨床性能研究，並個別呈現以不同的檢體採集液所得之結果。

- 檢體採集器材

應於說明書載明所有適用於檢體採集的器材（如：刷子、壓板（spatula）、掃毛（broom）），且該項器材需經確認可適用於說明書宣稱的細胞學方法。臨床前測試無需納入每一項宣稱的檢體採集器材，臨床性能研究則均應納入。報告應個別呈現以不同的檢體採集器材所得之結果。

- 切片方法

所有收案的病人的切片原則須一致。同一標準化的切片方法可伴隨一些變化，但這些變項應視陰道鏡檢查中子宮頸的外觀而定，例如：有無肉眼可見的病變或是鱗狀柱狀交接處（squamocolumnar junction）的可見度如何。如需增加其他的變項，在送交的報告中應分別標示來自病變區與非病變區的切片。

- 細胞學檢體分裝

產品如宣稱可用於細胞學檢體，則需在設計其臨床性能研究前確定，所測試的樣本是分裝前的細胞檢體（即在玻片製作前所分裝的檢體）或剩餘的細胞學檢體（即在玻片製作後所分裝的檢體）。只有當細胞學採集系統被核准用在細胞學玻片前之分裝，細胞檢體才能事先分裝。

另一方面，若使用剩餘的細胞學檢體，則需評估在製備細胞學玻片時所造成的沾染（carryover）（詳見本基準第四節之『6. 沾染及交叉污染研究』）。若檢驗試劑的原理是核酸擴增法，則需同時以其他的檢體採集系統或其他被核准用於分裝前之採集系統來採集檢體，並比對結果以說明是否有污染問題。

- HPV疫苗接種及研究族群

由於越來越多民眾接種HPV疫苗，因此數年之後，臨床上常見之HPV基因型

別可能會改變。有鑑於此，第四節臨床前測試除了用已核准疫苗的基因型別外，應再納入非疫苗標的之基因型別。

在估算樣本數時，應考量疫苗接種率與疾病盛行率。建議把未接種疫苗之比例較高的試驗地點納入臨床研究，而疫苗接種率在平均值左右的試驗地點也應納入評估。

(四) ASC-US 分流預期用途：高風險 HPV 檢驗

應執行前瞻性臨床研究，使用的檢體必須符合預定使用的族群（即細胞學檢查為 ASC-US 的病人），以確定說明書上所宣稱適用的所有檢體及檢體採集器材之臨床性能。定性檢驗試劑的臨床性能是以臨床靈敏度、臨床特異性、陽性預測值、陰性預測值及盛行率來表示。這些臨床性能特徵須經前瞻性臨床研究而得，且須在至少三個有代表性的試驗地點執行。兩種以上 HPV 基因型別結果的檢驗，描述其臨床性能的依據為概似比（likelihood ratios）、各種 HPV 基因型別結果的受試者百分比與盛行率。

- 檢體採集與處理

若產品是直接取用液相細胞學（LBC）檢體，則臨床研究中所有使用的檢體應與用於細胞學檢查的檢體相同。招募條件訂為所有門診婦女而不論其細胞學檢查結果為何是比較合適的作法，只招募細胞學檢查結果為 ASC-US 的病人較難避免採樣偏差，因為感染情況可能在細胞學檢查與研究取樣這兩個時間點間消失，或是第一次採樣時已移除了大部分的 HPV 感染細胞等。若只招募細胞學檢查結果為 ASC-US 的病人，則細胞學檢查與研究取樣時間間隔應愈短愈好。

- 臨床參考（黃金）標準

研究設計應讓所有婦產科門診中有 ASC-US 的婦女都接受陰道鏡檢查，無論其 HPV 的狀況或其他因素。研究者、病人及臨床醫師（包括執行陰道鏡檢查及組織學的人）應須對病人的 HPV 狀況一無所知，直到陰道鏡或組織學檢查完畢為止，以避免研究之偏差。

從子宮頸細胞學採樣到後續的陰道鏡檢查不得超過 12 個星期。若時間拖得太久，有可能導致偏高的自行緩解率及其相關的子宮頸病變。

應將陰道鏡檢查結果分類為：[陰道鏡檢查陰性/未組織採檢]、組織採檢陰性、CIN1、CIN2、CIN3、原位腺癌及癌症。若使用 LAST 系統，則陰道鏡檢查結果應表示為：[陰道鏡檢查陰性/未組織採檢]、組織採檢陰性、LSIL、HSIL 及癌症。

- 臨床性能評估

用於定性分析的 HPV 檢驗，其臨床性能包括：臨床靈敏度、臨床特異性、陽性預測值、陰性預測值，以及預期使用族群中特定情況之盛行率。用於偵測及辨別 HPV 基因型別之檢驗，其臨床性能則是以每一 HPV 基因型別檢驗結果得到此特定狀況的機率，以及研究族群每一種 HPV 基因型別檢驗結果的百分比來表示。

對於定性（陽性或陰性）之HPV檢驗試劑，建議以下表格式呈現數據：

表 3

	陰道鏡檢查	組織學結果				
	陰性	陰性	CIN1	CIN2	≥ CIN3	
HPV 陽性	A1	A2	A3	A4	A5	A1+A2+A3+A4+A5
HPV 陰性	B1	B2	B3	B4	B5	B1+B2+B3+B4+B5
總計	A1+B1	A2+B2	A3+B3	A4+B4	A5+B5	N

1. 對於≥CIN2 的狀況，產品的臨床性能以下列方法表示：

$$\text{臨床靈敏度} = (A_4 + A_5) / (A_4 + A_5 + B_4 + B_5)$$

$$\text{臨床特異性} = (B_1 + B_2 + B_3) / (A_1 + A_2 + A_3 + B_1 + B_2 + B_3)$$

$$\text{陽性預測值} = (A_4 + A_5) / (A_1 + A_2 + A_3 + A_4 + A_5)$$

$$\text{陰性預測值} = (B_1 + B_2 + B_3) / (B_1 + B_2 + B_3 + B_4 + B_5)$$

$$\geq \text{CIN2 的盛行率} = (A_4 + A_5 + B_4 + B_5) / N$$

2. 對於≥CIN3 的狀況，產品的臨床性能以下列方法示：

$$\text{臨床靈敏度} = A_5 / (A_5 + B_5)$$

$$\text{臨床特異性} = (B_1 + B_2 + B_3 + B_4) / (A_1 + A_2 + A_3 + A_4 + B_1 + B_2 + B_3 + B_4)$$

$$\text{陽性預測值} = A_5 / (A_1 + A_2 + A_3 + A_4 + A_5)$$

$$\text{陰性預測值} = (B_1 + B_2 + B_3 + B_4) / (B_1 + B_2 + B_3 + B_4 + B_5)$$

$$\geq \text{CIN3 的盛行率} = (A_5 + B_5) / N$$

計算臨床靈敏度、臨床特異性、陽性預測值及陰性預測值時，須提供 95% 的雙側信賴區間。當盛行率為常數時，預測值的 95% 信賴區間可用相對的概似比（likelihood ratio）來計算。

≥CIN2 狀況之臨床性能應以年齡分層為 21 歲以下，21-30 歲，31-39 歲及 39 歲以上等族群。各族群都要計算其 ≥CIN2 之盛行率、臨床靈敏度、臨床特異性、陽性預測值及陰性預測值，並呈現各數值的 95% 信賴區間。

- 樣本數

預期用途為 ASC-US 分流所需的樣本數，應考量需多少 ASC-US 病人的檢體，才可建立產品的臨床靈敏度、臨床特異性，以及雙側 95% 信賴區間的下限。

- 臨床閾值的選擇

藉由臨床檢體先導研究之 ROC 分析（receiver operating characteristic analysis）可找出不同臨床閾值的靈敏度與特異性數值，再從中挑出適合的臨床閾值。

(五) ASC-US 族群：HPV 基因型檢驗

用於偵測及辨別 HPV 基因型的檢驗常有多種檢測結果，例如：HPV16+、HPV18+、

HPV16/18+等。『(四) ASC-US 分流預期用途：高風險HPV檢驗』所述對於細胞學為ASC-US的婦女建立 \geq CIN2臨床靈敏度及臨床特異性的原則，同時適用於有多種檢測結果的HPV基因型檢驗。此外，每一種檢測結果的概似比及受試者於每一種檢測結果的比例也應建立。

以有多種檢測結果（HPV16+, HPV18+, HPV16/18+等）的檢驗試劑為例，建議以下表格式呈現數據：

表 4

	陰道鏡檢查陰性	組織學結果				
		陰性	CIN1	CIN2	\geq CIN3	
HPV16 陽性	A11	A12	A13	A14	A15	A11+A12+A13+A14+A15
HPV18 陽性	A21	A22	A23	A24	A25	A21+A22+A23+A24+A25
HPV16 及 18 陽性	A31	A32	A33	A34	A35	A31+A32+A33+A34+A35
.....
總計						N

在組織學檢測結果 \geq CIN2的狀況下，檢測結果的臨床性能應以每一檢測結果(X)的概似比乘以每一種檢測結果佔受試者的比例來評估。檢驗結果X的概似比可總結一項訊息，即有病（ \geq CIN2）的個案比起沒病的個案，有高（或低）幾倍的機率出現檢驗結果X：

$$LR(T=X) = \Pr(T=X|D+)/\Pr(T=X|D-)$$

- ✓ 每一檢驗結果的概似比都要計算出，連同其95%信賴區間。
- ✓ 除了概似比，對每一種檢驗結果且組織學結果 \geq CIN2的機率也要連同其95%信賴區間一起計算。因此，對於每一種檢驗結果K而言，其機率計算方式為：
Probability (\geq CIN2|Outcome_K) = (A_{K4}+A_{K5})/(A_{K1}+A_{K2}+A_{K3}+A_{K4}+A_{K5}) for each K
- ✓ 也須呈現每一種檢驗結果在整個臨床資料組之中的機率：
Probability (Outcome_K) = (A_{K1}+A_{K2}+A_{K3}+A_{K4}+A_{K5})/N for each K
- ✓ 此外，還應計算出 \geq CIN2為HPV 16/18陽性合併結果的機率（即HPV16或18中有一或兩者皆為陽性）：
Probability (\geq CIN2 | HPV 16/18+) = (A14 + A15 + A24 + A25 + A34 + A35)/(A11 + A12 + A13 + A14 + A15 + A21 + A22 + A23 + A24 + A25 + A31 + A32 + A33 + A34 + A35)，以及受試者為HPV 16/18陽性結果的百分比。

- ✓ 還應計算 \geq CIN2的疾病盛行率。

同樣地，對於 \geq CIN3狀況（若採取LAST系統，則為HSIL或更高等級），HPV檢驗的臨床性能也須估算。

(六) 附屬檢驗預期用途：高風險HPV檢驗

- 共通的研究設計方案

根據子宮頸癌篩檢共識指引，30歲以上的婦女，當細胞學檢查為正常時，建議將HPV檢驗當做是細胞學的附屬檢驗。因為有一小群細胞學正常的婦女帶有未被偵測的子宮頸病變（ \geq CIN2），透過HPV檢驗可協助找出這些細胞學正常但屬於子宮頸癌高危險群之30歲以上的婦女。為了證明產品有能力辨識出這群婦女，應估算這群人以產品檢測區分為陽性或陰性後，分別得到 \geq CIN2的絕對與相對風險為何。建議可選用下列至少一種前瞻性臨床研究設計：

1. 從一群30歲以上且細胞學正常的婦女中以產品區分為陽性或陰性，並且與一個有效的比對產品比較，兩者所得結果必須一致；然後每年追蹤，至少要連續三年。研究期間陰道鏡檢查結果為 \geq CIN2的女性，將會在判定為病變陽性時結束追蹤。數據應顯示以產品分為陽性與陰性的婦女，在為期至少3年的追蹤中，其在 \geq CIN2的相對風險上有統計學與臨床上的顯著差異。此外，產品檢測結果為陰性的婦女在追蹤3年後，其絕對風險須連同95%信賴區間一起計算呈現。這個數據須證明絕對風險相當低，以確保產品可安全地使用在輔助篩檢30歲以上的婦女。再者，無論初次檢查時的HPV檢測結果為何，所有 \geq CIN2的風險均須呈現。應以年齡分層為30-39歲及40歲以上等來呈現數據。此研究的垂直追蹤可在產品核准上市後再進行（見下面的「垂直追蹤」章節）。
2. 以送審產品檢驗30歲以上且細胞學正常的婦女，並記錄其HPV陽性及陰性檢驗結果做為基礎值，並評估與已核准上市產品之一致性。建議對所有HPV陽性的婦女（不論是用送審產品或是已核准上市的其他產品檢測）及隨機選取之HPV陰性婦女進行陰道鏡檢查。數據應顯示以送審產品分為陽性與陰性的婦女，在 \geq CIN2的相對風險上有統計學與臨床上的顯著差異，而其 \geq CIN2的絕對風險應使用多重插補法（multiple imputation）計算。對於用來偵測及辨別HPV基因型別的檢驗方法，數據亦須證實有些陽性結果在初次檢查時其 \geq CIN2的絕對風險是相當高的，以證實產品在預期使用族群之有效性。

- 所有參與者

為評估主張附屬檢驗宣稱的效能，應募集年滿30歲的女性族群接受篩檢。女性在接受細胞學檢查的同時接受HPV檢驗。根據附屬檢驗宣稱將會納入細胞學檢查異常程度較高的女性。

附屬檢驗研究族群「所有參與者」中細胞學檢查結果為 \geq ASC-US的女性，應立即轉介其接受陰道鏡檢查。附屬檢驗研究族群中接受陰道鏡檢查但為 $<$ CIN2的患者，應邀請其參與為期三年的垂直研究。

- 垂直追蹤

對於被核准做ASC-US分流的HPV檢驗試劑，其水準應可達目前對 HPV 檢驗的期望。因此，對於 HPV 檢驗的附屬檢驗用途，只要能證明產品在前瞻性收集的NILM \geq 30數據庫的檢驗結果，與在ASC-US族群中的檢驗結果相當，則此研究的垂直追蹤部分可於上市後完成。在這種情況下，來自於前瞻性收集NILM \geq 30數據庫且HPV偵測已建立的病人將會被垂直追蹤，建立其對癌症或癌前期累積3年的風險，以做為產品上市後研究的一部份。

(七) 附屬檢驗預期用途：HPV基因型檢驗

『(六) 附屬檢驗預期用途：高風險HPV檢驗』所述，對於細胞學正常之30歲以上的婦女建立 \geq CIN2 相對風險的試驗原則，亦適用於有多種結果（可以偵測及辨別 HPV 基因型別）的 HPV 基因型檢驗。

為了平行測試細胞學與HPV檢驗，附屬檢驗用途不限於使用在正常細胞學的婦女（即無需等到細胞學結果才作HPV檢驗）。應用於附屬檢驗用途之HPV檢驗，說明書應載明對於細胞學檢查為 $>$ ASC-US 的30歲以上之婦女，陰性的HPV檢驗並不能免除陰道鏡檢查。

(八) 初步篩檢預期用途

將年滿25歲接受常規篩檢的女性族群的HPV結果作為初次檢查結果，然後轉介其中部分女性接受陰道鏡檢查，例如所有HPV陽性、細胞學檢查陽性，以及隨機挑選部分HPV陰性且細胞學檢查正常的女性接受陰道鏡檢查。細胞學檢查結果為UNSAT的女性也應轉介接受陰道鏡檢查。

臨床試驗結果應顯示與已核准的子宮頸癌篩檢方法相比，擬申請試劑進行HPV初步篩檢在 \geq CIN2及 \geq CIN3時具有合適的臨床靈敏度、臨床特異性、陽性預測值、陰性預測值、絕對風險及概似比等。至於偵測及辨別用檢驗試劑，臨床試驗結果還應顯示初次檢查得到陽性結果及陰性結果時出現 \geq CIN2的絕對風險，分別高或低到足以證明檢驗在預期使用族群的有效性。

- 垂直追蹤

初步篩檢研究族群中接受陰道鏡檢查且組織學檢查結果為 $<$ CIN2的所有患者，應邀請其參與為期三年的垂直研究。追蹤研究的受試者應每年回診一次，接受子宮頸採檢以進行細胞學檢查，結果為 \geq ASC-US的受試者均應接受陰道鏡檢查。

所有子宮頸組織採檢檢體均應集中由三位病理專家來複閱。若結果為 \geq CIN2的受試者應結束追蹤，而 $<$ CIN2的受試者則繼續進行下一年的追蹤回診。建議讓所有追蹤的受試者在第三年時接受子宮頸管搔刮術（endocervical curettage, ECC）檢查。

在平行的垂直研究中，應隨機挑選細胞學檢查及HPV陰性，且初次檢查無需接受陰道鏡檢查的部分女性，並在三年篩檢期後轉介這些女性接受陰道鏡檢查。

(九) 涵蓋三種HPV預期用途的研究設計 (ASC-US分流、附屬檢驗及初步篩檢)

評估HPV初步篩檢用途的研究設計也可用於評估ASC-US分流及附屬檢驗用途，其中須額外募集一些細胞學檢查結果為ASC-US的21–24歲女性。這些檢查結果為ASC-US的年輕女性可在其得到細胞學檢查結果後邀請其參與研究。關於以細胞學結果募集的女性族群評估ASC-US分流時的注意事項，請參考「ASC-US分流預期用途」的建議事項。

六、參考文獻

1. 體外診斷醫療器材查驗登記須知 (2021)
2. US FDA guidance: Establishing the Performance Characteristics of In Vitro Diagnostic Devices for the Detection or Detection and Differentiation of Human Papillomaviruses — Guidance for Industry and Food and Drug Administration Staff (2017)
3. CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline — Second Edition (2012)
4. CLSI EP05-A3, Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline — Third Edition (2014)
5. CLSI EP12-A2, User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline — Second Edition (2008)
6. CLSI EP15-A3, User Verification of Precision and Estimation of Bias; Approved Guideline — Third Edition (2014)
7. CLSI EP07, Interference Testing in Clinical Chemistry (2018)
8. Haeckel R. Proposals for the description and measurement of carry-over effects in clinical chemistry. *Pure Applied Chemistry* 1991; 63:302-306.
9. CLSI EP25-A, Evaluation of Stability of In Vitro Diagnostic Reagents; Approved Guideline (2009)
10. ISO 23640, In vitro diagnostic medical devices — Evaluation of stability of in vitro diagnostic reagents (2011)
11. 中國國家藥品監督管理局。人乳頭瘤病毒（HPV）核酸檢測及基因分型、試劑技術審查指導原則（2015）
12. CLSI MM17, Validation and Verification of Multiplex Nucleic Acid Assays, Second Edition (2018)
13. CLSI MM03, Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases, 3rd Edition (2015)
14. Nayar R, Wilbur DC, eds. *The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. Definitions, Criteria, and Explanatory Notes.* 3rd ed. Springer (2015)
15. Chao A, Jao MS, Huang CC, Huang HJ, Cheng HH, Yang JE, Hsueh S, Chen TC, Qiu JT, Lin CT, Fu CJ, Chou HH, Lai CH. Human papillomavirus genotype in cervical intraepithelial neoplasia grades 2 and 3 of Taiwanese women. *Int J Cancer.* 2011 Feb 1;128(3):653-9.
16. Lai CH, Huang HJ, Hsueh S, Chao A, Lin CT, Huang SL, Chao FY, Qiu JT, Hong JH, Chou HH, Chang TC, Chang CJ. Human papillomavirus genotype in cervical cancer: a population-based study. *Int J Cancer.* 2007 May 1;120(9):1999-2006

17. Chao A, Hsu KH, Lai CH, Huang HJ, Hsueh S, Lin SR, Jung SM, Chao FY, Huang SL, Huang CC, Yang JE, Chang TC. Cervical cancer screening program integrating Pap smear and HPV DNA testing: a population-based study. *Int J Cancer*. 2008 Jun 15;122(12):2835-41.
18. 行政院衛生署國民健康局10年以上未做抹片婦女HPV基因型別檢驗計畫案成果報告
19. Lai CH, Chao A, Chang CJ, Huang CC, Wang LC, Hsueh S, Lin CT, Wu TI, Jao MS, Chou HH. Age factor and implication of human papillomavirus type-specific prevalence in women with normal cervical cytology. *Epidemiol Infect*. 2012 Mar;140(3):466-73.

流感病毒核酸體外診斷醫療器材技術基準

106.07.12 公告

112.10.30 修正

【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，臨床前測試及臨床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. 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. 臨床評估資料應包含試驗計畫書、試驗數據、結果分析及結論。
5. 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。
6. 各項測試如本基準或表列之參考方法未訂有規格者，由各製造業者自行制定規格；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。
7. 製造業者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。
8. 如表列參考資料有修訂、廢止或被其它標準取代，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：

本基準適用於利用聚合酶連鎖反應或其他分子生物學方法，以特定的流感病毒基因序列為檢測目標，對鼻咽拭子、呼吸道沖洗液、抽取液或其他呼吸道分泌物檢體進行流感病毒核酸檢驗之體外診斷醫療器材。本基準不適用於流感病毒血清學體外診斷醫療器材。

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.3980 呼吸道病毒多標的核酸檢驗試劑 (Respiratory viral panel multiplex nucleic acid assay)

鑑別：呼吸道病毒多標的核酸檢驗試劑為定性體外診斷醫療器材，用以同時檢測和識別自人類呼吸道取樣或病毒培養之多種病毒核酸。此器材配合使用其他臨床和實驗室研究結果，用以檢測與識別特定病毒核酸。此器材適用於檢測和鑑定以下病毒：(1) A型及B型流感 (Influenza A and Influenza B)；(2) A型流感H1亞型、和A型流感H3亞型 (Influenza A subtype H1 and Influenza A subtype H3)；(3) 呼吸道融合病毒 (RSV) A亞型、和呼吸道融合病毒(RSV)B亞型 (Respiratory syncytial virus subtype A and Respiratory syncytial virus subtype B)；(4) 副流感1型，副流感2型、和副流感3型病毒 (Parainfluenza 1, Parainfluenza 2 and Parainfluenza 3 virus)；(5) 人類間質肺炎病毒 (Human metapneumovirus)；(6) 鼻病毒 (Rhinovirus)；(7) 腺病毒 (Adenovirus)。

風險等級：第二等級。

公告品項：C.3332 特定新型A型流感病毒檢驗試劑 (Reagents for detection of specific novel influenza A viruses)

鑑別：特定新型A型流感病毒檢驗試劑，是利用核酸增幅法檢測人類呼吸道檢體，或病毒培養物中之特定病毒核糖核酸的器材。特定病毒的核糖核酸檢測，可用於輔助診斷臨床上易受新型A型流感病毒感染的患者，是否因這些病毒而罹患流行性感冒，也可用於輔助實驗室鑑定特定的新型A型流感病毒，以提供流行性感冒的流行病學資訊。這些試劑包括引子、探針、及特定A型流感病毒對照試劑。

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：鑑定流感病毒型別，檢體種類，特定疾病、狀況或風險因子的檢測，受檢族群，預期的使用者（專業使用者）等。
2. 測試原理及方法、平台、手工或需搭配儀器使用、待測標的及序列特徵。
3. 檢體採集部位、類型與其運送、處理及保存的材料、方法與保存時間。
4. 器材所有組成（如：引子、探針、品管物）及主成分濃度或含量百分比。

5. 搭配使用之檢驗系統儀器、型號及其特徵。
6. 所使用軟體之敘述。
7. 器材的組件，各種組合或包裝的完整清單。
8. 配件及其他配合使用之相關產品（如：緩衝液、酵素、螢光染料）。
9. 檢驗結果判讀之說明及其注意事項。
10. 檢驗方法的侷限性，防止可能造成偽陽性或偽陰性結果的檢驗條件、程序、品管措施及物質（如：常見口、鼻咽治療藥物、食物、清潔用品）。

四、性能測試

項目	規格、需求及/或應進行測試	參考指引或採認標準
1. 核酸萃取/純化 (Nucleic Acid Extraction/Purification)	<p>針對選擇的萃取/純化方法對於宣稱流感病毒核酸的偵測極限及再現性進行評估。</p> <p>若檢驗試劑中，不包含核酸萃取/純化的組成，應針對所配合使用核酸萃取/純化試劑組共同進行評估。</p>	US FDA Guidance (2011) ²
2. 品管 (Quality Control)	<p>為確認產品性能過程，應適當執行品管包含：空白品管物 (Blank control)、陰性品管物 (Negative control)、陽性品管物 (Positive control)、內部品管物 (Internal control)。</p>	US FDA Guidance (2011) ²
3. 分析反應性 (Analytical Reactivity)	<p>至少可偵測10株A型流感病毒株、5株B型流感病毒株，其A型應包括H1、H3、H5、H7等亞型，B型應包括 Victoria、Yamagata 基因群 (lineage)，病毒株來源可為疫苗株或臨床分離株。如A型H5、H7等亞型病毒株因取得困難而未檢測時，應於產品說明書敘明未曾測試是否適用於A型H5、H7亞型之鑑定。</p> <p>此外，根據案件送審時的臨床及流行</p>	US FDA Guidance (2011) ²

	<p>病學趨勢，可能還有其他流感病毒株也需納入測試。</p>	
<p>4. 偵測極限 (Limit of Detection, LoD)</p>	<p>以產品宣稱可檢測之流感病毒型別及亞型別進行測試，如欲以代表性病毒株進行，應敘明選擇依據，且不同型別應至少包含2株病毒株。以20個偵測極限濃度的檢體檢驗，證實於此濃度時有95%的陽性結果。</p> <p>病毒應以最常使用或最具挑戰之基質進行稀釋。基質可以病毒檢測陰性之人類同一類型之呼吸道檢體之集合檢體 (pooled specimens) 製備。若選用病毒運送培養基或其他模擬基質，需證實其分析性能等同於臨床檢體。</p>	<p>US FDA Guidance (2011)²</p> <p>CLSI EP17-A2 (2012)⁷</p>
<p>5. 分析特異性-交叉反應 (Analytical Specificity-Cross-Reactivity)</p>	<p>針對核酸序列具同源性、易引起相似臨床症狀的病原體評估可能的交叉反應，例如：Adenovirus type 1、7，Cytomegalovirus，Enterovirus，Epstein Barr Virus，Human parainfluenza type 1、2、3，Measles，Human metapneumovirus，Mumps Virus，Respiratory syncytial virus type B，Rhinovirus，<i>Bordetella pertussis</i>，<i>Chlamydia pneumoniae</i>，<i>Corynebacterium sp.</i>，<i>Escherichia coli</i>，<i>Hemophilus influenzae</i>，<i>Lactobacillus sp.</i>，<i>Legionella spp</i>，<i>Moraxella catarrhalis</i>，<i>Mycobacterium tuberculosis (avirulent)</i>，<i>Mycoplasma pneumoniae</i>，<i>Neisseria meningitidis</i>，<i>Neisseria sp.</i>，<i>Pseudomonas aeruginosa</i>，<i>Staphylococcus aureus (Protein A producer)</i>，<i>Staphylococcus epidermidis</i>，<i>Streptococcus pneumoniae</i>，<i>Streptococcus pyogenes</i>，<i>Streptococcus salivarius</i>。</p> <p>以具有醫學意義的病毒濃度(通常為10⁵ pfu/mL或更高)、細菌濃度(10⁶</p>	<p>US FDA Guidance (2011)²</p>

	<p>cfu/mL或更高)進行測試。</p> <p>若宣稱可檢測多重分析物(如:A型及B型流感病毒,以及不同亞型的A型流感病毒),應提供交叉反應測試結果,以確認所宣稱可檢測之分析物之間無交叉反應性。</p>	
<p>6. 分析特異性-干擾 (Analytical Specificity-Interference)</p>	<p>針對潛在干擾物質研究。物質包括但不限於:純化粘蛋白、人類血液、鼻腔噴霧劑或滴劑、鼻腔醣皮質激素、鼻用凝膠、緩解過敏性症狀藥物、潤喉片、口服麻醉劑和鎮痛劑、抗病毒藥物、抗生素、鼻用軟膏、全身抗菌藥等。</p> <p>各型別病毒應使用至少2株病毒株,使用濃度近臨床閾值的檢體來進行干擾評估,並評估各干擾物質於其不受明顯干擾可能的最高濃度。</p>	<p>US FDA Guidance (2011)²</p> <p>CLSI EP07 (2018)⁴</p>
<p>7. 閾值 (Cut-off)</p>	<p>詳述如何決定閾值及如何被驗證。適當的閾值決定可利用臨床檢體為先導研究配合 Receiver Operating Curve (ROC)分析其敏感性及特異性數值。器材若有不確定區段(Equivocal Zone)應加以說明定義。</p>	<p>US FDA Guidance (2011)²</p>
<p>8. 精密度/再現性 (Precision/Reproducibility)</p>	<p>(1) 實驗室間精密度 (Site-to-Site Reproducibility)</p> <p>在可代表預期使用者的3處地點(如:2個外部測試地點,及1個內部測試地點)進行測試,至少5天(無需為連續),每天至少進行2次操作,每次操作每件檢體重複檢驗3次,及每天至少由2名操作者進行重複檢驗。</p> <p>應以產品宣稱可檢測之不同型別病毒株進行測試,至少包括以下3種濃度(高濃度、低濃度及接近分析的閾值):</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 「高陰性(high negative)」檢體: 檢體的分析物濃度略低於臨床 	<p>US FDA Guidance (2011)²</p> <p>CLSI EP15-A3 (2014)⁶</p> <p>CLSI EP05-A3 (2014)⁶</p>

	<p>閾值，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。例如：不低於臨床判別點往下10倍的濃度。</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 「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。 ● 「中等陽性(moderate positive)」檢體：檢體的分析物濃度約為臨床判別點，且該檢體重複檢驗的結果100%的機率均為陽性。例如：大約為臨床閾值濃度的2至3倍。 <p>(2) 實驗室內部精密度/再現性 (Within-Laboratory Precision/Reproducibility)</p> <p>進行分析內 (intra-assay)、分析間 (inter-assay) 及批次間 (inter-lot) 的精密度研究。</p> <p>針對不同變異，例如：不同操作者、不同天及不同次操作 (runs) 進行測試。測試至少12天 (無需為連續)，每天以2名操作者進行兩次操作，每次操作每件檢體重複檢驗2次。</p>	
<p>9. 殘留汙染及交叉汙染 (Carry-Over and Cross-Contamination)</p>	<p>視產品之操作方式將高陽性檢體與陰性檢體進行交替測試至少5次。</p>	<p>US FDA Guidance (2011)²</p>
<p>10. 檢體保存及運送 (Specimen Storage and Shipping)</p>	<p>(1) 檢體保存</p> <p>提供評估文件或參考依據以證明所宣稱檢體保存條件。</p> <p>(2) 檢體運送</p> <p>如建議使用檢體運送培養基，應針對</p>	<p>US FDA Guidance (2011)²</p>

	該培養基進行評估。	
11. 方法比較 (Method Comparison)	<p>在代表預期使用者的至少3處地點(其中1處可為內部測試地點)進行測試。</p> <p>選擇與已核准上市之同類器材，或是適當的聚合酶連鎖反應(polymerase chain reaction, PCR)檢驗法，來進行此項研究。若以PCR檢驗法為參考方法，應利用hemagglutinin(HA)之目標擴增子(amplicons)完成雙向定序，並提供偵測極限(LoD)及分析反應性相關驗證資料。</p> <p>應使用產品宣稱之適用受檢族群或出現類流感症狀3天內採集的患者檢體並包含所有宣稱適用之檢體採集器材。若使用冷凍檢體，應評估可重複冷凍解凍之次數。</p>	US FDA Guidance (2011) ²
12. 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) ⁸ ISO 23640 (2011) ⁹
13. 軟體驗證文件 (Software Validation Documentation)	參照本署「醫療器材軟體確效指引」。依搭配系統軟體影響等級 (Level of Concern)，檢附其軟體驗證文件。	US FDA Guidance (2005) ³ 醫療器材軟體確效指引 (2017) ¹⁰ IEC 62304 (2015) ¹¹
14. 標示 (Labeling)	參照本署「體外診斷醫療器材中文說明書編寫原則」。	體外診斷醫療器材中文說明書編寫原則 (2021) ¹²

五、參考文獻

1. 體外診斷醫療器材查驗登記須知 (2021)
2. US FDA. Establishing the Performance Characteristics of In Vitro Diagnostic Devices for the Detection or Detection and Differentiation of Influenza Viruses - Guidance for Industry and FDA Staff (2011)
3. US FDA. Guidance for the Content of Premarket Submissions for Software Contained in Medical Devices - Guidance for Industry and FDA Staff (2005)
4. CLSI EP07, Interference Testing in Clinical Chemistry (2018)
5. CLSI EP15-A3, User Verification of Precision and Estimation of Bias; Approved Guideline — Third Edition (2014)
6. CLSI EP05-A3, Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline — Third Edition (2014)
7. CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline — Second Edition (2012)
8. CLSI EP25-A, Evaluation of Stability of In Vitro Diagnostic Reagents; Approved Guideline (2009)
9. ISO 23640, In vitro diagnostic medical devices — Evaluation of stability of in vitro diagnostic reagents (2011)
10. 醫療器材軟體確效指引 (2017)
11. IEC 62304:2006/AMD 1:2015, Medical device software — Software life cycle processes (2006)
12. 體外診斷醫療器材中文說明書編寫原則 (2021)