

出國報告（出國類別：研習）

## 赴英國參加「2017年血液病原基因擴 增技術標準化研習」

服務機關：衛生福利部食品藥物管理署

姓名職稱：廖婉婷技士、巫博智技士

派赴國家：英國

出國期間：中華民國 106 年 6 月 25 日至 6 月 30 日

報告日期：中華民國 106 年 9 月 15 日

## 摘要

本次奉派赴英國倫敦參與 2017 年血液病毒基因擴增技術標準化研習 (Standardization of Genomic Amplification Techniques, SoGAT)，該研習由英國國家生物標準品暨管制研究所 (National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC) 主辦，本次研習為期三天，研習內容針對核酸擴增技術 (Nucleic acid amplification technology, NAT) 及血清學部分各別進行討論，內容包括國際標準品製備情形及發展趨勢、體外診斷試劑發展趨勢、分子診斷技術及次世代定序技術等新興技術之應用，及血清學試驗面臨之挑戰。藉由參與本次研習獲取國際間血液病毒核酸擴增技術檢測新知及相關標準品製備情形，使我國即時掌握國際間最新技術與相關規範之演進。並藉機順道邀請英國、德國、及日本官方實驗室共同參與本署第二代 HCV genotype 1 候選標準品共同標定，以提升我國生物性標準品之公信力。

# 目錄

壹、	前言與目的.....	4
貳、	行程及工作紀要.....	6
參、	內容.....	7
	A. 次世代定序技術於血液病原診斷之應用.....	7
	B. 標準品與體外診斷試劑發展現況.....	12
	C. 血清學試驗及未來挑戰.....	20
	D. 細菌標準品製備之挑戰-輸血相關細菌參考菌株.....	22
	E. 分子診斷技術之應用.....	27
肆、	心得與建議.....	37
伍、	附件.....	39

## 壹、 前言與目的

血液製劑之原料係由人體血漿製備而來，如未能於製造前檢測出血漿中潛藏之傳染病原，將造成國人用藥健康之風險。為確保血液製劑等相關生物藥品品質安全，在現行醫療衛生法規要求下，捐血者的血液檢體均需要進行 HBsAg、Anti-HCV 及 Anti-HIV 等項目篩檢，利用 mini-pool 的方式來篩檢血漿中是否含有 HBV、HCV 及 HIV 病毒核酸之風險，並在產品製程中進行病毒去除及不活化方法確效等步驟，而製造廠必須符合現行藥品優良製造規範，來確保血液製劑相關產品之安全性。然而，傳統血液病原偵測之血清學技術受病原量而影響，當病原量低於最低檢測極限時，將無法被檢測出。利用核酸擴增技術(NAT)先將病原量進行擴增後再行檢測，提升血液病原污染偵測之靈敏度，確保血液製劑相關產品不含傳染病病原，以降低使用者感染之風險。因此各國紛紛運用核酸擴增技術於血液篩檢或血漿原料檢驗項目中。但因為檢測各種病原的技術標準不同，造成檢測標準、方法靈敏性及特異性皆不相同，為了縮小各國檢驗方法之差異性，世界衛生組織(WHO)委託英國國家生物標準品暨管制研究所(NIBSC)製備各種生物性標準品及工作試劑(working reagents)，以提供各國血清學、核酸診斷試劑研究或檢測體系之標準化使用。

血液病原基因擴增技術標準化研習(SoGAT)之目的為報告目前國際標準品製備現況及未來規劃、血液病原檢測技術面臨的挑戰及新技術開發與應用，及國際間體外診斷試劑最新規範及邁向趨勢，藉由研習中來自各國衛生主管機關及相關領域專家聚集討論，以提升國際間血液病原之檢測水準及統一各國檢測方法之標準，降低檢測方法差異性。本署基於血液製劑及第三等級體外診斷試劑之品質檢驗管理，多年來派員參與該研習，以獲取國際間血液病原檢測技術之現況及新知，並瞭解國際間標準品製備情形，有助於我國即時掌握國際間最新技術及相關規範，以作為我國血液製劑或體外診斷試劑等相關產品品質檢驗之參考依據，提升相關產品品質管制水準，保障國人用藥安全。同時亦藉由研習與各國相關領域

專家建立溝通管道，促進國際交流，以便日後合作關係之建立。

本次藉機邀請各國官方實驗室(包括英、德、美、日等國家)參與本署 HCV genotype 1 國家病毒核酸標準品共同標定研究，以提升我國國際標準品之公信力，所建立之核酸國家標準品除可提供本署作為血液製劑相關產品品質安全評估之用，亦可提供國內捐血中心、臨床檢驗單位與體外診斷試劑製造廠研發及檢測之標準化使用，有助於我國相關生技產業之發展，並與國際接軌。

## 貳、 行程及工作紀要

日期	工作紀要
6月25日	啟程與抵達英國 (台北-泰國曼谷轉機-英國倫敦)
6月26日	<p>報到/參加 2017 年血液病毒基因擴增技術標準化研討會</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 開場介紹 (Speaker: NIBSC 之 Christian Schneider 及 Clare Morris)</li> <li>● 次世代定序法應用於血液病原診斷 (Speaker: Justin O' Grady 等 3 位; 主持人: Neil Berry)</li> <li>● 標準品製備現況之更新 (Speaker: Dr. Julia Kreß 等 4 位; 主持人: Micha Neubling 及 Clare Morris)</li> </ul>
6月27日	<p>參加 2017 年血液病毒基因擴增技術標準化研討會</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 細菌標準品之現況發展 (Speaker: Roberta Madej 等 6 位; 主持人: Bill Carmen 及 Rob Anderson)</li> <li>● 分子診斷技術面臨之挑戰 (Speaker: Denise O' Sullivan 等 5 位; 主持人: Shiaolan Ho 等 3 位)</li> <li>● 新興傳染病之血清層面之新挑戰 (Speaker: Micha Neubling 等 6 位; 主持人: Beena Puri 及 Neil Almond)</li> </ul>
6月28日	<p>參加 2017 年血液病毒基因擴增技術標準化研討會</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 寄生蟲疾病之診斷 (Speaker: Lynne Harris 等 5 位; 主持人: Paul Bowyer)</li> <li>● 血清學試驗標準化之挑戰 (Speaker: Alison Watt 等 3 位; 主持人: Joe Vincini 及 Sarah Kempster)</li> </ul>
6月29日	返程 (英國倫敦-泰國曼谷轉機)
6月30日	抵曼谷轉機返台

## 參、 研討會內容

會議第一天由 NIBSC 之 Director，Dr. Christian Schneider 開場介紹，並由 NIBSC 之 Clare Morris 介紹會議主軸及每一主題演講後將進行討論及討論進行之方式。為期三天之會議內容摘要如下：

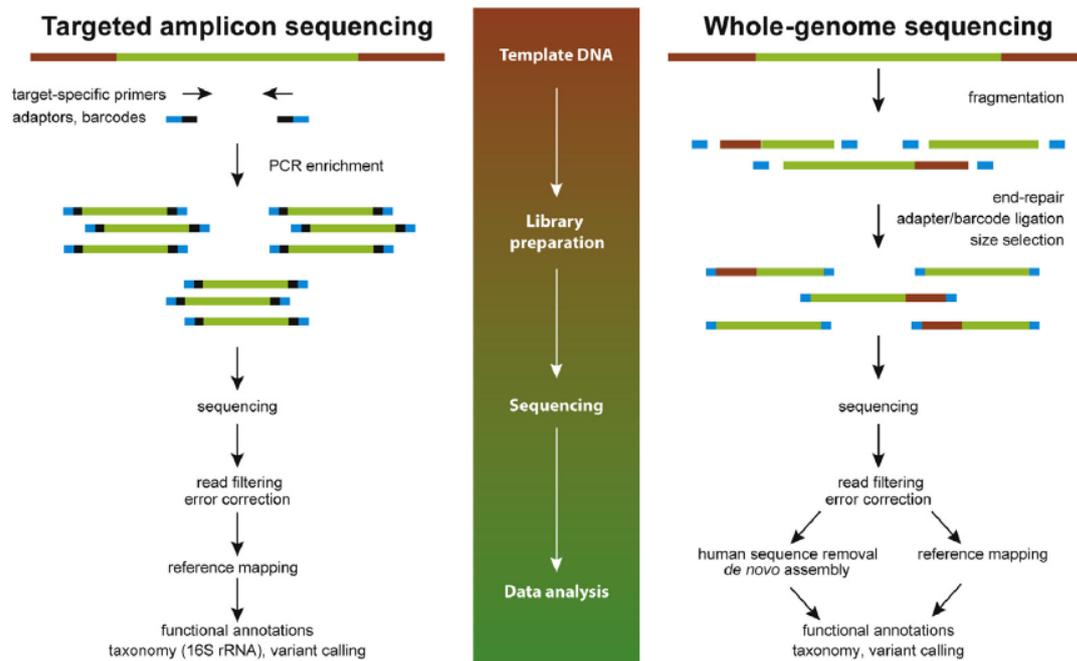
### 一、 次世代定序技術於血液病原診斷之應用

#### (一) 次世代定序技術

自 2003 年完成人類基因體定序後，正式地邁入後基因體世代 (Post-genome era)。然而，利用傳統的 Sanger 定序方法來定序，不僅僅耗費大量的時間，也提高了不少成本。為因應後基因體世代的來臨，必須仰賴更快速、更具有經濟效益且能容納大筆資料量的定序方式，因此次世代定序檢驗技術繼而蓬勃發展。

次世代定序技術亦可稱為大量平行定序(Massively parallel sequencing, MPS)或高通量基因定序(High throughput sequencing)，該方法係建構在傳統的定序方式，在同一時間對大量的短列片段進行快速定序，且樣品不需經質體複製就能進行定序，減少複製過程可能出現的錯誤率。與傳統定序方法相較，次世代定序法檢測較為靈敏，且更能快速及更精確地定序。

次世代定序檢測方法可分為兩種，分別為特定擴增子定序法(Target amplicon sequencing)以及全基因體定序法(Whole genome sequencing)。特定擴增子定序法是利用已知序列的片段當作擴增子，以 PCR 方式對特定區域進行放大，並進一步進行定序分析，此種方法適用於分析已知的序列區域，常被用來找尋病原體是否含抗藥基因;而全基因體定序法則是利用已建立好的基因庫來進行搜尋比對，找尋未知核酸片段是來自於哪個病原菌，此方法可直接進行定序，省去先將檢體進行培養的繁雜步驟，定序之結果再與資料庫進行搜尋比對，找出其致病的病原體。特定擴增子定序法及全基因體定序法實驗流程示意圖如圖一所示：

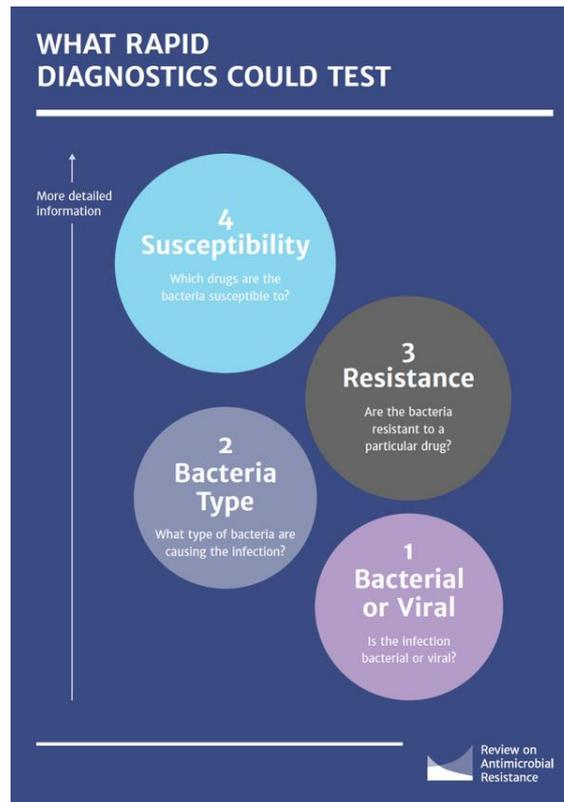


圖一、特定擴增子定序法及全基因體定序法實驗流程

(資料來源: Lefterova MI et al. J Mol Diagn, 2015)

然而，於臨床上因有些病原體不易分離及培養，因此傳統的培養鑑定方式並不適用，而必須仰賴定序方法來鑑定其病原體。由於定序的方法可以直接從標本中進行擴增後檢測，且不受非致病菌的影響，可以快速地檢測病原體。然而，能正確且快速地診斷出病人致病原而投予適當抗生素為臨床努力方向。因此，快速診斷試驗(rapid diagnostic tests, RDC)開始發展，達到快速診斷之目的。快速診斷試驗可以檢測出：

1. 病原體為細菌還是病毒
2. 細菌的類型
3. 病原體中是否帶有抗藥性基因
4. 病原體對於藥物的易感受性



圖二、快速診斷試驗檢測項目

(參考資料:研習資料)

次世代定序法雖然可以大量且快速地進行定序，然而卻受讀取片段長短所限制，每次約只能定序出幾百個鹼基對。而小片段的定序結果造成基因體重組比對上困難，降低找出致病原可能性。Dr. Justin O’Grady 提及奈米孔定序法(nanopore sequencing)。奈米孔定序法可以一次處理長串鹼基對，也能夠精確地定序出重覆鹼基對。而第一台市售機器是由英國 Oxford Nanopore Technologies 於 2014 年推出，稱 MinION。使用者只需將少量的樣本滴於 MinION 晶片上，樣本藉由晶片上毛細孔薄膜滲於作用區。經特定酵素將樣品 DNA 雙股打開，並讓其中一股插入只有幾奈米寬的毛孔中。裝置上電極會製造一束離子流，並使它流過毛孔。當鹼基通過毛孔，會阻擋離子而中斷離子流，離子流被中斷的過程會被紀錄下來。接著透過電腦預先安裝之軟體，分析紀錄的電子訊號。因為不同鹼基阻擋離子時會形成不同的電子訊號。

當 DNA 如長長一串繩子慢慢通過毛孔時，上面的鹼基順序就會辨識出來。由於 MinION 使用上相當簡易且可利用 USB 接上電腦，就可以進行 DNA 定序。因機型小且易攜帶，使定序更為方便，目前臨床上已普及的運用，期快速的檢測效率可為病人爭取更多治療時間。

## (二) 次世代定序技術應用於 C 型肝炎病毒檢測

根據世界衛生組織 WHO 的估計全球每年約有 300 至 400 萬人口感染 C 型肝炎，目前約有 1.3 至 1.7 億人口患有 C 型肝炎，慢性 C 型肝炎患者有 5 至 15 % 的機會在 20 年內發展成肝硬化；而肝癌的發生率為 2 至 5 %。據統計每年至少有 35 萬人死於 C 型肝炎相關肝病，至少有 100 萬人死於病毒性肝炎感染。然而，至今仍未開發出有效預防的疫苗，因此，C 型肝炎的健康危害將是各國家衛生單位關注的議題。

C 型肝炎病毒為單股 RNA 病毒並具有脂質外套膜，因為中性演化 (neutral evolution)、適應性突變 (adaptive mutations)、病毒複製缺失及病毒重組等因素造成其基因多變性，目前已知 C 型肝炎病毒有 7 種基因型及 67 種基因亞型，不同基因型具有高地域性差異，對於抗病毒藥物的感受性也不盡相同，而 C 型肝炎病毒在感染人體後，其病毒裡核酸分子 RNA 很容易發生轉錄錯誤而產生突變，使 C 型肝炎病毒有高達 80% 的比例發展成慢性感染。因此，了解 HCV 基因型在 C 型肝炎的診斷、治療上，甚至是疫苗的開發是相當重要的。

臨床上一般會先分析病人的基因型後再決定其治療方式，因此，能正確的診斷出病人患有哪一型的 C 型肝炎病毒，才能給予適當的治療方式。目前常用來診斷 C 型肝炎的基因型方式是以探針為基礎的檢測方法，以各型別特異的探針 (genotype-specific probes) 和來自病人血清中 HCV 核酸的 PCR 產物進行雜交。HCV 基因分型試劑所使用的探針即是針對高度保留的 5' 端

未轉譯(5'UTR)區域進行雜交，然而基因型 1 和基因型 6 之 5'UTR 區域核酸序列極為相似難以區分，基因亞型 6c-6i 和基因亞型 1a/1b 容易誤判，要確實區分出基因型 1 與基因型 6 的各個亞型，必須合併運用其他區域(如: core, E1, NS5b)作為標的。因此，此方法容易受到 C 型肝炎病毒的基因型變異而影響，降低其診斷可靠性，且無法偵測到 C 型肝炎病毒的抗藥性差異及多種基因型混合感染。

Dr. David Bibby 提及以次世代定序檢測方式，來補足傳統上易受基因變異性而影響的方法。透過對 C 型肝炎病毒進行全基因定序，將可得知 C 型肝炎病毒的基因型，克服基因多型性的問題，且有潛力找出其抗藥性基因的位置及變異性區域，以方便檢測出其抗藥性突變株的型別，而給予最適當的治療方式。

### (三) 次世代定序法未來挑戰

次世代定序法與現行的檢測方式差異甚大，目前大多數的體外診斷試劑僅能偵測少數血液中病原，而次世代定序技術經臨床實驗及驗證，能一次找出多個疾病病原或變異基因，以達精準治療之目的。然而，次世代定序法仍有許多須克服的地方。例如無法有效偵測大片段基因缺失或者複製等情況，且隨著序列片段越長，其發生錯誤的機率也相對提高。除此之外，受限於方法未經確效或無適當之標準品及參考物質，方法未統一標準，造成各國檢驗方法差異大。而次代定序所帶來大量的資訊及複雜性，建立新的評估方法來確保產品的精確性、可靠性和臨床有效性也將是未來的挑戰。

## 二、標準品與體外診斷試劑發展現況

疫苗、血液製劑、重組蛋白製劑、細胞治療產品及體外診斷試劑等生物性產品近年來佔據大部分的藥品市場，這類藥品比傳統化學合成藥品更加複雜。為確保產品品質之監控，若僅單純對生物性產品進行物化特性分析是不夠的，必須進一步進行生物測定，比對生物性標準品，以確保其產品的品質。因此，生物性對照標準品的建立及訂定成為全球關注的課題。

### (一) 參考物質的互通性(commutability)

專家們強調參考物質的互通性(commutability)，「互通性」指的是參考物質的測量結果具有移植性(portability)，亦即利用不同的檢測方法來測量參考物質及具代表性的臨床檢體，而所得知的結果具有相同比率。由於生物性對照標準品複雜，再加上檢測方法多樣化，「互通性」的目的是使各實驗室檢測結果具有協和性。

確定參考物質具有互通性的評估議題源自於臨床分析，在臨床檢驗中利用不同的檢驗方法來檢測檢體中特定目標測定物，而不同的檢測方法或檢體基質對於參考物質造成不同程度的干擾，例如核酸萃取方法、目標片段的多型性(polymorphism)、分析方法設計因子及核酸片斷化等因素將影響其參考物質的互通性，降低各實驗室檢測結果協和性。例如在巨細胞病毒(cytomegalovirus, CMV)國際標準品曾被回報缺乏互通性，利用不同的檢驗方法來評估巨細胞病毒國際標準品，結果受巨細胞病毒 DNA 核酸片斷化影響其標準品互通性。

為了探討參考物質是否具有良好的互通性，會於製備完的參考物質連同大量臨床檢體一同進行替換性評估，替換性評估方法可分為預定區間法(prediction intervals)及對應分析法(correspondence analysis)。預定區間法是以數學線性回歸(linear regression)方式將多個分析方法進行配對比較，亦是每

以兩兩分析方法對檢測臨床檢體進行量測，將得到量測值畫出 XY 散佈，計算該散佈之迴歸方程式，並以 95% 信賴區間分布呈現檢體測定結果比率分布，再看參考物質各濃度檢測值是否落入該 95% 信賴區間分布，來得知參考物質是否具有可替換性。對應分析法則是評估參考物質替換性的新方法，利用二維圖形呈現檢體和參考物質兩者間的關聯性強度之統計方法，可同時將所有分析方法一起進行比對比較，將分析方法與臨床檢體測得數據畫成二維圖，並計算此二維圖所有點分布的 95% 信賴區間分布，最後再納入多點稀釋參考物質於上述的二維圖中，觀察各稀釋點是否落入分布的 95% 信賴區間分布內來得知參考物質是否具有替換性。

由於目前許多臨床病毒學領域相關之國際標準品並非來自臨床檢體，多以細胞培養的方式來增殖病毒株，與病人之臨床檢體有所差異，可能潛藏著影響標準品替換性的因素。因此，互通性的研究及相關指引建立將是標準品製備時關切的議題。

## (二) WHO 國際標準品發展現況及製備計畫

本議題由英國 NIBSC 之 Dr. Clare Morris 及 WHO 之 Dr. Micha Neubling 主持，分別由德國 Paul Ehrlich Institute(PEI)之 Dr. Julia Kreß 及 NIBSC 之 Dr. Sheila Govind 專家進行簡報介紹目前 PEI 與 NIBSC 著手進行的標準品製備計畫，之後再開放討論現況面臨的挑戰及可解決的方法。

### 1. 德國國家血清及疫苗研究所(PEI)之標準品製備現況

Dr. Julia Kreß 報告目前 PEI 著手的 Chikungunya virus (CHIKV) RNA 第一代標準品製備。2010 年 WHO 生物學標準化專家委員會 (Expert Committee on Biological Standardization; ECBS)於大會中提出製備 Chikungunya virus (CHIKV) RNA 第一代標準品，而於 2016 年 PEI 接手製備計畫。

Chikungunya virus 於 1952 年被發現，此病毒與登革熱病毒的傳播媒介

一樣，皆藉由病媒蚊而傳播。人類若被帶有屈公病病毒的蚊子叮咬後，屈公病病毒會在人體內大量複製病毒，使患者會持續發高燒、脫水、甚至有嚴重出疹的現象。病人於患病後關節有腫大現象，因痛不得不彎腰行走，所以才命名為「Chikungunya」(非洲斯瓦希里語，意指「彎腰」)。大多數患者是可以完全痊癒，關節痛持續數天至數周後就會消失，但有些人的關節痛會持續更長時間。目前仍未有治療的藥物及預防性疫苗，亦未有快速篩檢的方法。因此，WHO 生物學標準化專家委員會(ECBS)於 2010 年提議建立 CHIKV RNA 第一代標準品，以作為 CHIKV 檢測方法之參考標準，加速相關檢測技術及方法開發。

CHIKV RNA 第一代標準品來源來自 CHIKV strain (R91064)，CHIKV 於 Vero E6 細胞增殖 8 至 10 天後，收取上清液，對病毒進行熱失活，再進行核酸萃取，以陰性人類血漿作稀釋，製備成標準品。本次共有 25 個實驗室共同參與標定(7 個來自美國、4 個來自亞洲、13 個來自歐洲及 1 個來自澳洲)，包含了法規主管機關、製造廠、研究單位或臨床部門等實驗室。參與共同標定的實驗室得到的共標結果非常一致性，成果相當良好，其 CHIKV RNA 第一代候選標準品之平均值為  $10^{6.39}$  IU/ML。目前將進一步進行標準品之安定性評估研究，預計於今年七月至八月完成報告後提交 WHO 生物學標準化專家委員會(ECBS)審查。

目前 PEI 製備供應之核酸標準品如下表：

PEI code	Product	Year
5086/08	Hepatitis B virus genotype panel for NAT-based assays, 1 <sup>st</sup> IRP	2009
6329/10	Hepatitis E virus RNA for NAT-based assays, 1 <sup>st</sup> IS	2011
7657/12	Hepatitis D virus RNA for NAT-based assays, 1 <sup>st</sup> IS	2013

8293/13	Mycoplasma DNA for NAT-based assays, 1 <sup>st</sup> IS	2013
8578/13	Hepatitis E virus RNA genotype panel for NAT-based assays, 1 <sup>st</sup> IRP	2015
11468/16	Zika virus RNA for NAT-based assays, 1 <sup>st</sup> IS	2016
11785/16	Chikungunya virus RNA for NAT-based assays, (proposed) 1 <sup>st</sup> IS	(2017)

## 2. 英國國家生物標準品暨管制研究所(NIBSC)之標準品製備現況

Dr. Sheila Govind 報告 NIBSC 目前進行三種標準品製備情形，分別為 HHV-6B DNA 第一代候選標準品、HIV-1 RNA 第四代候選標準品及 HAV RNA 第三代候選標準品。

HHV-6B DNA 第一代候選標準品(NIBSC code:15/266)由來自 12 個國家的 26 個實驗室共同參與標定，將參與共同標定的實驗室得到的定量數據進行分析，在定量的檢測方法中，HHV-6B DNA 第一代候選標準品之平均值為  $10^{7.75}$  IU/ML，且通過安定性的評估試驗，目前已經送審至 WHO 生物學標準化專家委員會進行審核。

HIV-1 RNA 第四代候選標準品的製備來源與先前幾代標準品一樣(來源為 HIV-1 基因 B 型)，以陰性人類血漿作稀釋，稀釋比例比照 HIV-1 RNA 第三代標準品，HIV-1 RNA 第四代候選標準品由來自 11 個國家的 21 個實驗室共同參與標定，在定量的檢測方法中，HIV-1 RNA 第四代候選標準品共標結果之平均值為  $10^{5.10}$  IU/ML，且通過安定性的評估試驗。

HAV RNA 第三代標準品材料來源來自於 HAV 陽性病人的血漿(HAV 基因 1B 型)，從血漿中進行 RNA 核酸萃取，並以陰性人類血漿作稀釋成 54,000 IU/mL，再將製備後的核酸凍晶乾燥。HAV RNA 第三代候選標準品由來自 10 個國家的 11 個實驗室共同參與標定，在定量的檢測方法中，HAV RNA 第三代候選標準品共標結果之平均值為  $10^{4.42}$  IU/ML，將著手進行溫度加速

安全性試驗。

最後，專家特別告知使用國際標準品的正確方法。雖然國際標準品係供官方實驗室、臨床實驗室及相關製造廠追溯校正之第二參考物質使用，假若將國際標準品用來方法分析確效及品管對照品之所用，將會快速消耗國際標準品，造成供不應求的情況。NIBSC 於網頁上提供建議使用國際標準品之相關資訊，提供使用單位正確使用國際標準品之概念，降低不當使用國際標準品之情況，以減緩國際標準品的消耗。

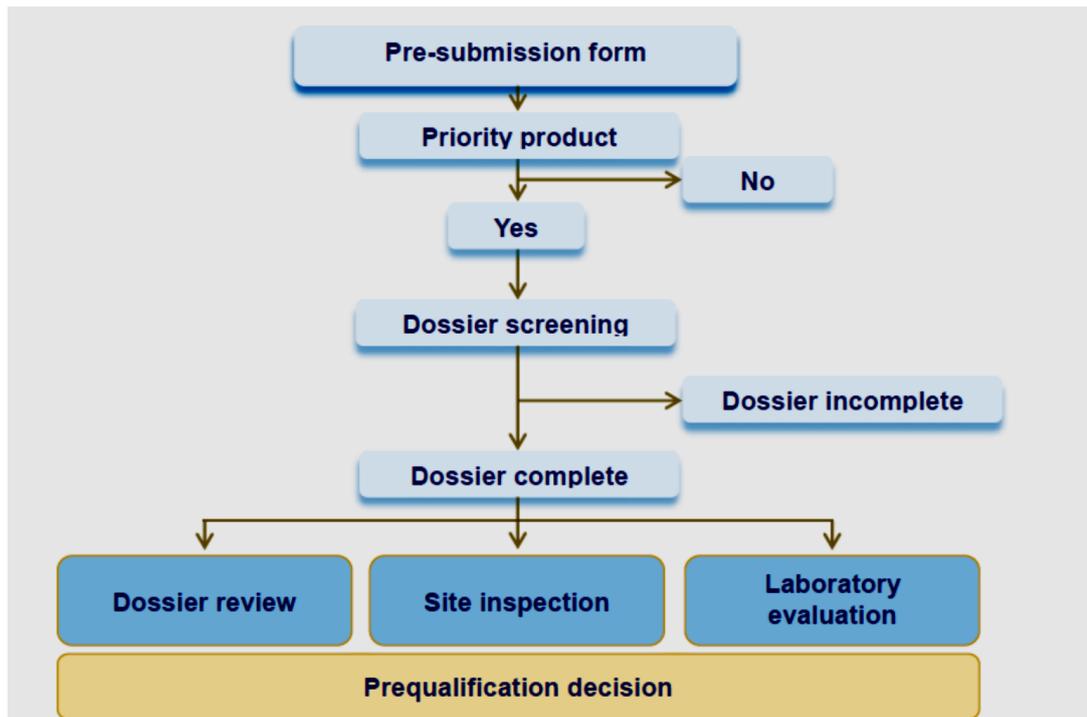
### (三)體外診斷試劑

體外診斷試劑係指蒐集、準備及檢查取自於人體之檢體，作為診斷疾病或其他狀況而使用之診斷試劑、校正物質或對照物質。為了加強體外診斷試劑之管理，確保市售體外診斷試劑之安全性及功效性，WHO 自 1988 年陸續針對高風險體外診斷試劑制定相關品質管理指引。2008 年 WHO 制定出「Prequalification of In vitro Diagnostics」，針對需求性及適用性高的體外診斷試劑預先進行審查(Prequalification, PQ)。目的是要評估這些體外診斷試劑產品之安全、品質及功效性，提供聯合國機構或會員國採購決策上參考依據。

本議題討論內容包括體外診斷試劑預先審查(PQ)的流程及定點照護檢驗裝置(point of care, POC)。

#### 1. 體外診斷試劑預先審查(PQ)流程

申請廠商需將欲審查之文件送至 WHO 預審，而 WHO 針對送審文件判斷此產品是否列為 priority product，若該產品被列為 priority product，才繼續進行預先審查(PQ)，體外診斷試劑預先審查(PQ)流程簡圖如圖三所示，



圖三、體外診斷試劑預先審查流程簡圖

(資料來源:研習資料)

#### (1) 檔案審查(Dossier Review)

預先審查(PQ)的第一部分是針對產品檔案進行審查，目的包括以下三者：

- a. 評估產品安全及功效的證明文件符合性
- b. 評估產品設計及製造的文件符合性
- c. 決定製造廠品質管理系統是否達實地查廠之標準

送審之文件皆由該領域專家進行審查，專家依照 WHO 擬之審查標準作業程序進行審查，若任何送審之文件有不足或需修正，製造廠可進行修正，並於時效內完成修正，並重新送審。最後，經專家審查評定後，再將審查結果呈現於預先審查(PQ)報告裡。

#### (2) 實驗室評估(Laboratory evaluation)

當產品經檔案審查後，才會進行實驗室評估。進行實驗室評估

目的是要評估產品效能等特性。在實驗室評估前，製造商依照 WHO 訂定之標準作業程序進行。製造商須將進行實驗室評估的產品(至少需兩批次)、參考物質或檢驗套件等實驗材料送至 WHO 委託之實驗室進行評估，試驗結束後，實驗室將評估結果送回 WHO，並將結果紀錄於預先審查(PQ)報告裡。

### (3) 實地查廠(Manufacture site inspection)

實地查廠的目的是評估製造廠品質管理系統 (quality management system, QMS)及其運作模式是否符合 ISO 13485:2006 之國際標準。而實地查廠可以分成兩個階段，第一階段主要針對品質管理系統相關文件進行評估，所謂品質管理系統係指製造廠的一般資訊，說明產品、人員、設備、廢棄物與空氣流動之通路以及空調範圍與相連區域之間的氣壓差等資訊。當完成這些品質管理系統文件評估後，進行第二階段的實地查廠。透過實地查廠來評估實施品質管理系統的有效性。

## 2. Point of care 品質確效試驗

近年來，體外診斷試劑發展訴求運用於定點照護檢驗裝置(point of care, POC)。定點照護檢驗裝置為目前病人照護的流行趨勢，係指在任何地點(如救護車、居家、社區門診或辦公室等地方)及任何時間皆可執行，且操作方式淺顯易懂，以提供病患及時診斷檢驗。發展定點照護檢驗裝置可帶來以下幾點好處：

- (1) 患者可不一定要到大醫院才能進行檢驗診斷
- (2) 落實初級健康照護(primary health care)的重要性
- (3) 操作簡單且產出報告時間短

定點照護檢驗裝置基本訴求包含精確性、易攜帶性及易操作性。因此，

市售定點照護檢驗裝置大都體積小、容易攜帶、低耗電性且可與系統網路即時連線。

為確保 POC 裝置之品質，製造廠研發 POC 裝置時應考慮確效及驗證的研究問題，而研究問題需包含以下項目：

- (1) 樣品種類:樣品的適用性、儲存及運送
- (2) 精密度:裝置可以重複性的測量，且數值再現性高
- (3) 特異性:量測的準確度，需考量交叉作用或干擾作用
- (4) 靈敏度:測量可達最低極限
- (5) 安定性試驗:包含產品的效期、開封後產品的安定性、包裝安定性及運輸安定性等
- (6) 追溯性:對於校正物質、參考物質可追溯至國際標準品
- (7) 檢測範圍:需注意虎克效應(hook effect)
- (8) 確效:包括試驗、數值(臨界值)等確效
- (9) 穩健性:確保產品的產出品質，為研究問題中最重要的一項，因為有許多因子(人為、環境、試劑正確性、校正和品管液安定性等因素)皆會影響產品穩健性

除考量研究問題外，需考量該產品的安全性、有效性及品質管理系統，而品質管理系統中於 ISO 15189 第 5.5 節提及品質管理系統的責任，包含以下，

- (1) 檢測步驟是否適當性，僅能用經確效過的方法
- (2) 確效後的結果應紀錄下來
- (3) 步驟需經由實驗室主持人或指派者審視，了解其初始目的及定義
- (4) 確效試驗應盡可能的應用於該領域的最大範圍
- (5) 檢測確效方法需經過嚴謹評估及統計分析

### 三、血清學試驗及未來挑戰

血清學方式是運用抗體與抗原間的特異性來診斷血液是否受病毒感染。一般實驗室會運用參考病毒株或病毒株抗原標準品，與病人血清中做反應，以檢查病人血清中是否有無相對應的抗體。當病人恢復期血清的抗體效價必須比急性期者增高四倍以上，才具有診斷意義。

目前血清學的診斷方式有中和試驗、補體結合試驗，血液凝集試驗及免疫螢光法等方式，然而這些方式皆需要透過抗體與抗原間的作用來進行。試驗方法有以下幾種，

#### (一) 中和試驗

病毒在活體內或在細胞培養被特異性的抗體中和而失去感染性。利用不同稀釋梯度的血清與定量的病毒混和，放置一段時間後，將細胞接種於細胞管並觀察細胞病變的情形，以能保持半數細胞管不發生細胞病變的血清稀釋度為終點效價。

#### (二) 補體結合試驗

運用實驗室病毒抗原標準品與病人血漿中抗體做反應，再加入定量的補體，若抗原與抗體形成免疫複合物，則補體會被消耗掉。因為補體結合抗體的時間較早，所以該試驗適用於早期診斷，但其靈敏度及準確度較不高。

#### (三) 血液凝集抑制試驗

由於許多病毒表面的凝集素能結合於紅血球細胞，形成血凝現象。當血凝現象因被相對應抗體競爭結合於紅血球細胞，造成血液凝集現象被抑制，稱為血液凝集抑制試驗。此試驗簡單方便，特異性高，多應用於具有血凝特性的病毒性感染，如流感病毒等。

#### (四) 免疫螢光法

利用螢光物質作為標記物，標記在已知的抗體或抗原上，在特定的

條件下，藉由抗體與抗原的作用來得知未知抗原或抗體的免疫學方式。檢測病毒抗體利用間接免疫螢光法，將已知病毒的培養細胞或其抽取液製成塗片，加入病人的血清，使血清中的特異性抗體與抗原結合，再利用螢光標記的抗球蛋白抗體檢測特異性抗體，此方法具有訊號大的效果，提高檢測靈敏性。

然而，上述的血清學檢測方法因抗體抗原的反應影響，使檢測方法的發展面臨挑戰，包括抗體的親和力、抗體種類、個體免疫反應差異等差異而影響血清學檢測方法的準確度。面臨這些困難，建立血清學試驗相關標準品，以作為良好的參考物質是必要的。講者建議在建立血清試驗相關標準品時應考慮以下幾點，

- (1) 當製備好的標準品，要給定其數值時應考慮量測不確定度，建議標準品製備前需要明確定義其目的及檢驗方法
- (2) 分析物質明確
- (3) 基質盡量與臨床檢體相似，以降低基質所造成的干擾作用

除此之外，病毒共同感染(co-infection)的問題也是血清學檢測方式面臨的挑戰，如 HBV、HCV 及 HIV 常會造成共同感染，造成病毒間互相干擾，使得病人病情更具嚴重性。因此，共同感染對於血清學試驗或相關診斷試劑發展可能是一大挑戰。

## 四、細菌標準品製備之挑戰-輸血相關細菌參考菌株

### (一) 細菌性輸血污染之風險

由於各國之病毒性輸血感染事件已大幅下降，故細菌性輸血感染於許多開發國家中成為最重要之感染風險，尤其是血小板濃縮液。文獻指出血小板濃縮液細菌污染之盛行率有很高的變異性且難以評估，原因在於監控方式、檢驗方法及病歷定義存在著差異。而每 20,000 至 100,000 個捐血者中有 1 個捐血者之血品會導致血小板相關之敗血症死亡；血小板濃縮液之污染率約為 0.16~0.6% ( M. Störmer, 2012)。

病毒及細菌污染於根本上之差異為，細菌在血小板一般儲存溫度 (22 - 24°C) 下可繼續複製生長，甚至於血小板儲存期間，血小板內含污染之細菌從極微量複製到具有臨床危險性之極大量，此外，除了細菌本身，依菌種或菌株之不同，可能有內毒素或外毒素存在於血小板濃縮液中，這將使得危險性更加提升，因此高度污染之血品輸血將導致急性敗血性休克甚至致死。

降低細菌性污染之作法包含以下三種方法：

1. 從第一道防線開始做起，針對捐血者進行積極之挑選(如健康管制等)、採血時有效之皮膚消毒、每一捐血者最開始抽血之少量血液與後續抽血之血液作區隔以及血品製造過程之監控。
2. 藉由血液培養監測或快速檢測法篩檢出受污染之血袋。
3. 病原菌滅活技術(Pathogen reduction)。

而細菌篩檢與病原菌滅活技術之一致性需要驗證及評估，而此驗證及評估需要可於血液中生長增殖之菌株，因此輸血性相關細菌參考菌株之需求性不容忽視。

(二) 輸血相關細菌參考菌株 (Transfusion-Relevant Bacteria

Reference Strains , TRBRS) 之發展概況

自 2006 年起針對血液細菌參考品之預驗證研究進行討論，進展至 2010 年 WHO 輸血相關細菌參考菌株之採用，並於 2015 年針對紅血球之輸血相關細菌株資料庫進行擴充，詳如下表。

時間	會議名稱	會議主軸
2006	ISBT Meeting	International Society of Blood Transfusion Working Party on Transfusion-Transmitted Infectious Disease (ISBT WP-TTID) 針對血液細菌參考品之預驗證研究進行討論，並決定建立驗證研究
2007	WHO CC Meeting	針對血液細菌參考品之驗證研究進行提案
2009	WHO ECBS	認可驗證研究是一項計畫，並且針對套組之放大進行討論
2010	AABB Annual Meeting	針對套組之放大進行最終討論
2010	WHO ECBS	採用 WHO 輸血相關細菌參考菌株並認可套組之放大是一項計畫
2015	WHO ECBS	紅血球之輸血相關細菌株資料庫應進行擴充

### (三) 輸血相關細菌參考菌株之製備

#### 1. 參考菌株之篩選及製備

建立參考菌株前須篩選出候選參考菌株，而候選參考菌株之獲得有其困難性，主要之挑戰為多數與輸血事件相關之菌株太快被實驗室丟棄而無法獲得；部分運送來的檢體無法分離培養出純菌種且運送來的菌株生長狀況都不甚滿意；成為候選參考菌株最重要的是菌株之鑑別。

參考菌株之冷凍懸浮菌液製備流程主要有 4 大階段，如下表：

	品管項目
一、分離單一菌株：進行培養及鑑別	1.革蘭氏染色 2.菌落型態 3.16s DNA 之定序
二、Master Bacteria Bank (MBB)：利用菌種培養冷凍系統(Bacterial Culture Freezing System)製備，儲存於-80°C	1.革蘭氏染色 2.菌落型態 3.16s DNA 之定序 4.溶血性反應
三、Mastersuspension (MBB+1)：回溶後進行右列之前 4 項品管項目及預試驗研究	1.革蘭氏染色 2.菌落型態 3.16s DNA 之定序 4.溶血性反應 5.冷凍後進行菌落計數
四、新批次之產生	1. 冷凍前與後進行菌落計數 2. 革蘭氏染色 3. 菌落型態 4. 16s DNA 之定序

	5. 溶血性反應 6. 批次一致性試驗 7. 安定性試驗
--	------------------------------------

目前德國 PEI 已建立參考菌株套組，針對血小板濃縮液之參考菌株套組有二種，第一種套組之參考菌株包含 *S.epidermidis*、*S.pyogenes*、*E. coli*、*K. pneumoniae*；第二種套組包含 *B. cereus*、*B.thuringiensis*、*E. cloacae*、*M. morgani*、*P. mirabilis*、*P. fluorescens*、*S. marcescens*、*S. aureus*、*S. bovis*、*S. dysgalactiae*。而紅血球濃縮液之參考菌株套組尚在製備中，候選參考菌株包含 *B. cereus*、*L. monocytogenes*、*S. marcescens*、*S. liquefaciens*、*P. fluorescens*、*Y. enterocolitica*。

## 2. 參考菌株之特性及建立之優點

參考菌株是一急凍(deep frozen)之細菌懸浮液，經回溶後便可直接使用，且經測試確認具安定性、可被運輸性，此外，經過菌種鑑定及定量計數(CFU/mL)之參考菌株能於血中正常生長存活，且其生長狀況不因不同捐血者來源而有差異。而參考菌株之特性尚有一項正在進行中，即為參考菌株於血小板濃縮液及紅血球濃縮液之生長特性須被定義。

參考菌株建立之優點在於，若將輸血相關細菌參考菌株應用於血袋之細菌檢測及病原菌滅活系統中，可顯著性增加血品之安全性。且由於細菌參考菌株可於血液中進行適當生長，將使得檢測方法能進行比較性且重複性驗證，因此輸血相關細菌參考菌株將能致力於細菌篩檢檢測及病原菌滅活系統之驗證與評估。

### 3. 輸血相關細菌參考菌株之品管

以下四點為參考菌株品管規範，

- (1) 驗證各參考菌株於血小板從低菌量生長至高菌量之特性，且血小板須從世界不同區域收集。
- (2) 急凍之參考菌株需可運送至全世界各地。
- (3) 批次間之一致性。
- (4) 參考菌株應用於血液中之添加分析需有品質性、安定性、適用性評估。

## 五、分子診斷技術之應用

### (一) 病原菌臨床診斷之進展

為了能夠準確偵測病原菌、決定適當治療方針、監控治療結果以及監控整個疾病過程，病原菌診斷於臨床治療中扮演著不可或缺的角色。病原菌診斷方法隨著生物化學、免疫學及分子生物學等生物科技發展而有與時俱進的演化，如下表所示。

**Table 1. Historical Evolution of Diagnostic Methods and the Associated Time Required for Pathogen Identification**

Diagnostic Method	Time for Pathogen Identification
Microscopy	Morphology in minutes
Gram stain	General category in minutes
Culture and phenotypic biochemistry on/in artificial media (bacterial, mycobacterial, fungal)	Days to weeks
In vitro antimicrobial susceptibility	Days to weeks
Acute and convalescent antibody	Weeks
Monoclonal antibodies	Hours
Antigen detection	Minutes to hours
Real-time polymerase chain reaction for microorganisms and drug resistance genes	One to several hours
Mass spectrometry	Seconds to minutes, after growth on/in media

傳統診斷方式除了透過染色以顯微鏡直接觀察檢體中之病原菌外，亦可從臨床檢體分離培養出病原菌，利用病原菌之特有代謝產物，以生化試劑進行病原菌之鑑別；以及利用抗生素感受性試驗鑑定病原菌抗藥性，以應用於臨床治療之參考依據，但此傳統診斷方式需花費數日。另一種傳統診斷是透過抗原抗體專一性之血清免疫學原理從臨床檢體診斷出病原菌，此種檢驗方法雖不需要花費數日以培養病原菌，但其靈敏度並不比培養法高，且並無法得知病原菌之抗藥性。

近幾十年所發展之聚合酶連鎖反應(Polymerase chain reaction)以及其他核苷酸擴增技術(Nucleic acid-based amplification technologies, NAATs)，不僅可偵測病原菌之基因序列，且偵測能力有較高的敏感性及特異性。核苷酸擴增技術除了常應用於偵測病原菌之外，亦可針對不斷增加之病原菌進行定量，例如：HIV、HBV、HCV、CMV 等病毒；由於病原菌定量上之應用，使得用於治療病毒感染之抗病毒藥物有革命性之發展。

數種不同應用方式之核苷酸擴增技術中，其中一種方式為 High-throughput real-time PCR，此方法之基本原理與即時聚合酶連鎖反應(Real-time polymerase chain reaction， Real-time PCR)相同。Real-time PCR 又稱定量即時聚合酶連鎖反應(Quantitative real time polymerase chain reaction， Q-PCR)。Real-time PCR 原理為利用引子探針(Primer probe)在 PCR 過程中產生螢光，再利用螢光偵測系統偵測每個循環(cycle)所釋放出之螢光量，進而推算出每個循環所產生之 PCR 產物量，達到即時定量目的。常用之引子探針(Primer probe)主要有兩大類，簡述如下(圖四)：

1. 非專一性化學物質(SYBR Green)：

SYBR Green I之特性為僅可與雙股DNA的 minor groove 結合，並不會與單股 DNA 結合。PCR 過程之每一循環步驟為：

- (1) Denaturation：因受熱而解旋的單股 DNA 不會被 SYBR Green I 結合。
- (2) Annealing：專一性引子(primer)與其特定序列互補並鍵結形成雙股 DNA 後，使得 SYBR Green I 與之結合並產生螢光而被偵測。
- (3) Extension：當 Extension 完產生雙股 DNA 之 PCR 產物亦可被 SYBR Green I 結合並產生螢光而被偵測。

因此螢光訊號於每一 annealing 或 extension 階段被偵測；藉由

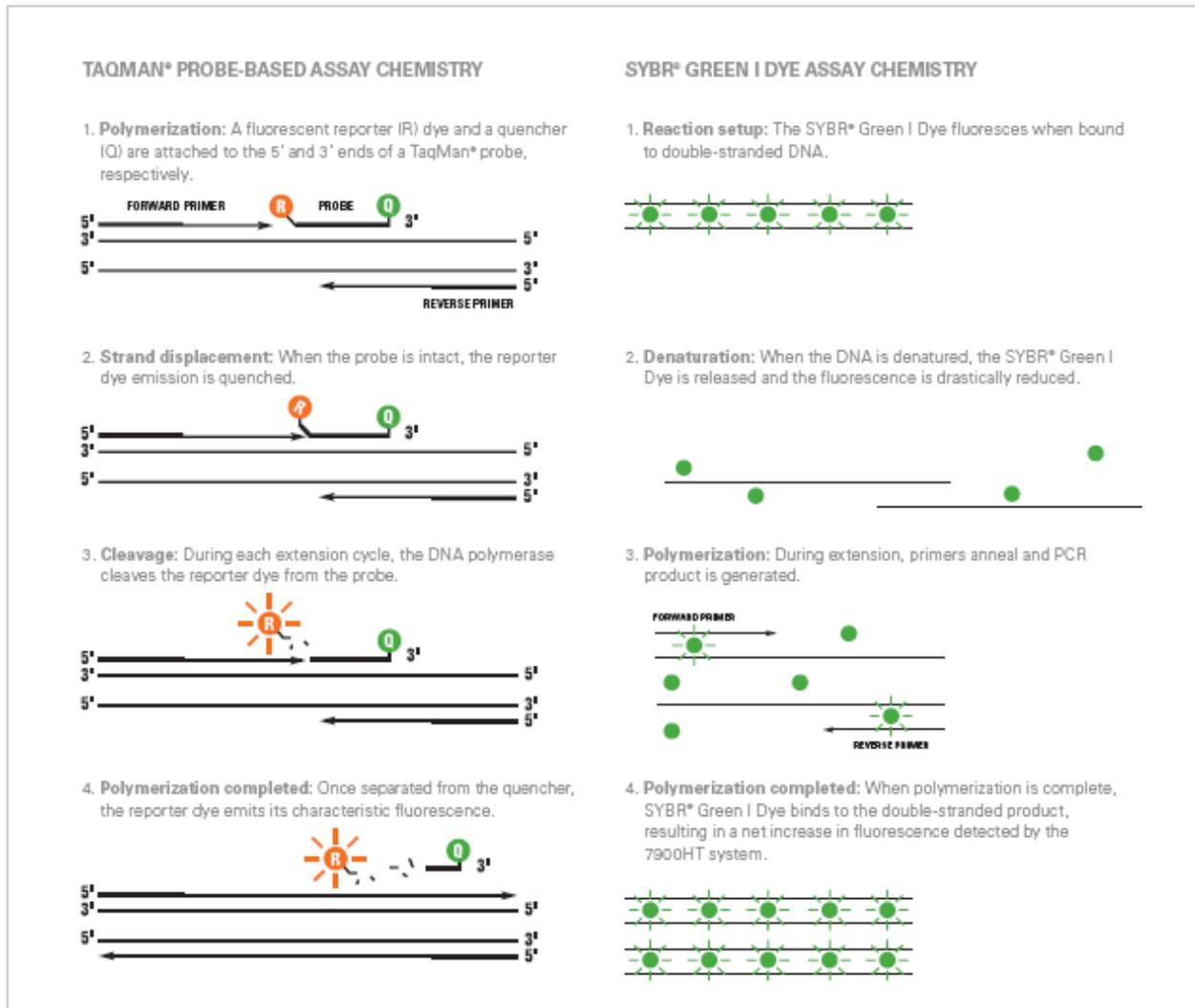
偵測之螢光強度回推樣本含量。但由於 SYBR Green I 會跟所有的雙股 DNA 結合，所以無法區分特異性產物與非特異性產物，此為 SYBR Green I 之缺點。

## 2. 專一性化學物質(TaqMan probe)：

TaqMan probe 是一條人工合成之寡核苷酸(oligonucleotide)，在寡核苷酸 5'端標記螢光物質 reporter(R)；而 3'端標記螢光物質 quencher(Q)。

當 probe 處於游離狀態時，reporter 及 quencher 產生之交互作用會遮蔽螢光，而具專一性序列之 probe 會與特定之序列鍵結，當 DNA 複製時 probe 被水解後，螢光物質 reporter 因此與 quencher 分開，而 quencher 失去遮蔽功能，使 reporter 發出螢光訊號而被偵測。而具序列專一性之 probe 可區分特異性產物與非特異性產物，此為 TaqMan probe 之優點。

而 High-throughput real-time PCR 為可以同時處理大量樣品且亦可針對每一樣品進行不同反應，且目前已發展出 nanoliter 等級之 PCR 平台，如 Taqman®、OpenArray®、Dynamic Array™ 及 SmartChip 等平台，其優點在於可減少試劑及樣品之需求量，且可在幾小時內執行上完千個反應。High-throughput real-time PCR 之應用範圍廣泛，其中之一為臨床醫學上可應用於病原菌、抗藥性基因及致病性基因之偵測。



圖四、Real-time PCR 之原理示意圖

(參考資料: bioSYNTHESIS 官網)

## (二) 分子診斷之品質管制

### 1. 品質管制之相關組織

分子診斷品質監控協會(Quality Control for Molecular Diagnostics, QCMD)是一個獨立且非營利之機構，主要致力於外部品質評核(External Quality Assessment, EQA)及能力測試 (Proficiency Testing, PT)以提升分子診斷品質。

### 2. QCMD 所執行之 EQA 計畫

#### (1) 計畫內容

外部品質評核計畫(External Quality Assessment programmes, EQA 計畫)之執行，主要為 QCMD 提供一系列臨床上具有意義之檢體給予受評估實驗室，而該實驗室需利用其常規試驗及標準程序針對檢體進行檢驗並完成技術問卷，問卷內容包含實驗室設置、試驗方法及程序，檢驗完畢後將檢驗結果及技術問卷提供給 QCMD，試驗結束期間將提供參加者 EQA 預期結果，而之後將提供完整 EQA 報告及各實驗室之執行報告，並且提供所有參加實驗室之技術類型及方法資料。

## (2) 計畫目的

- a. 針對大部分能以分子技術檢測之臨床相關疾病提供 EQA 計畫
- b. 於臨床領域中提供一般實驗室所能執行之量測方式
- c. 與其他 EQA 機構發展試驗性之 EQA 相關研究，並和其他科學專家開發分子檢驗之目標及技術等；

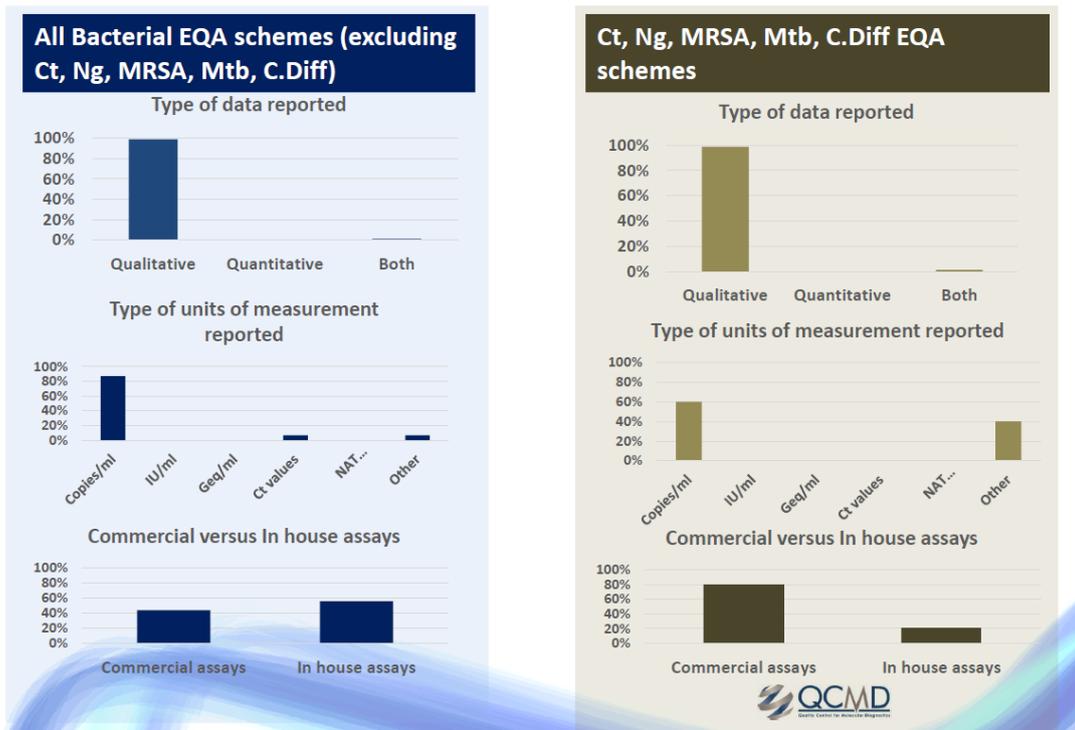
EQA 計畫整體主要目的為評估實驗室於臨床設備環境下之分子診斷技術能力。

## (3) 計畫目前執行結果

### a. 細菌

結果顯示，參與此計畫之各實驗室之檢測方法主要為定性方法，只有 1% 是定量方法，而定量檢測方法之單位主要為「C<sub>T</sub> 值」及「copies/mL」，且除了 *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Clostridium difficile* 及 *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)* 以外，其他細菌病原菌之檢測方法屬於實驗室自行開發之方法(in house) (如圖五)，而細菌病原菌目前尚未有 WHO 國際標準品。

## Bacterial molecular Detection EQA schemes



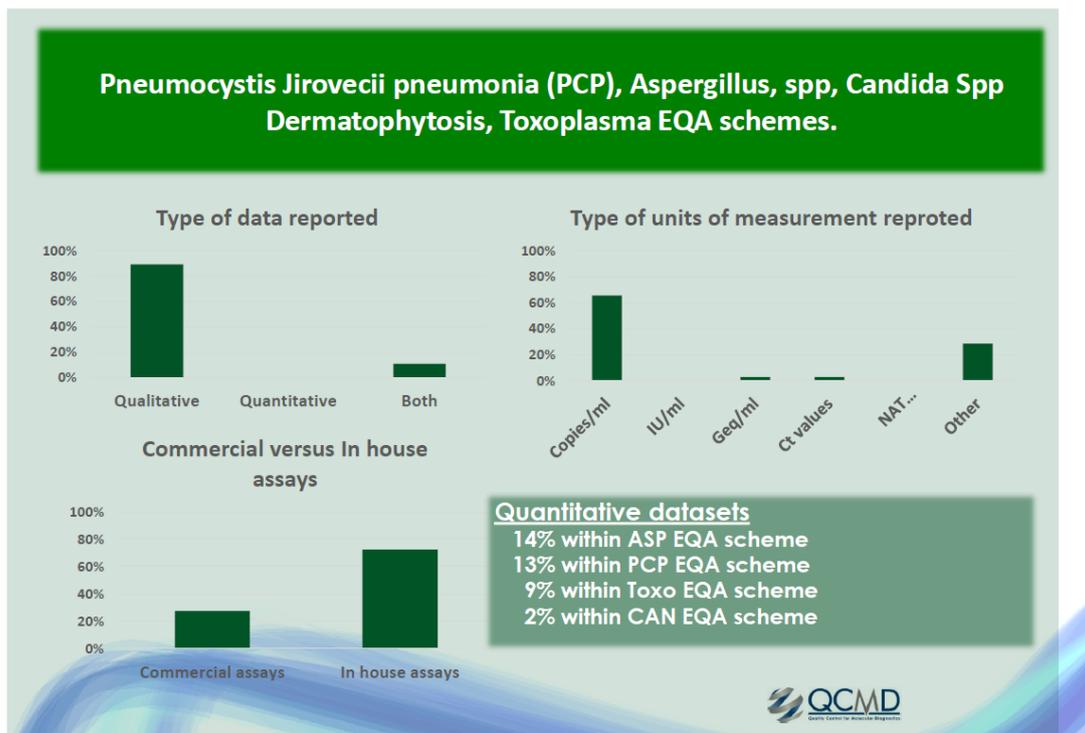
圖五、細菌 EQA 計畫之結果示意圖

(參考資料:研習資料)

### b. 真菌及寄生蟲

結果顯示，參與此計畫之各實驗室之檢測方法主要為定性方法，只有 10%是定量方法(包含 *Aspergillus*, *Pneumocystis* 及 *Toxoplasma*)，而定量檢測方法之單位主要為"CT 值"、"copies/mL"及特定病原菌之特有單位(如 *Toxoplasma* 之 "Tgg/mL")，真菌及寄生蟲病原菌之檢測方法主要為實驗室自行開發之方法(in house) (如圖六)，目前有 WHO 國際標準品的病原菌為 *Toxoplasma gondii* (弓蟲)。

## Fungal & Parasitic molecular EQA schemes



圖六、真菌及寄生蟲 EQA 計畫之結果示意圖

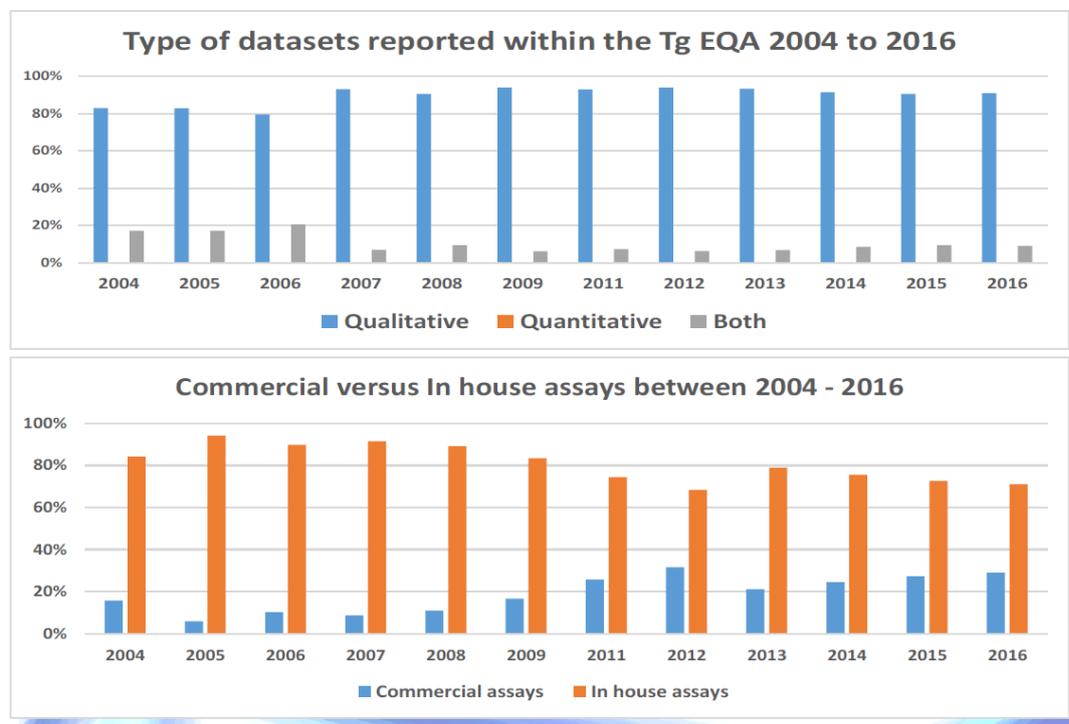
(參考資料:研習資料)

### (4) EQA 計畫結果之探討-弓蟲為例

弓蟲為一寄生於細胞內之原蟲，可感染大部分溫血動物及冷血動物，但以貓科動物為最終宿主。可透過貓糞便排出之卵囊傳染，感染所引起之弓形蟲感染症對於免疫功能正常之成人及孩童，少部分會出現明顯症狀，但對於胎兒或免疫缺陷者將造成較嚴重且致命症狀，懷孕婦女若於懷孕期間初次感染弓形蟲，亦即孕婦血中並未有保護性抗體，則弓形蟲可經由胎盤傳染給胎兒（感染率約 40%），若在懷孕一開始就感染弓形蟲，會造成流產或死胎，若在懷孕 12 週之內感染弓形蟲，有 20~30% 的新生兒會有明顯先天性弓形蟲感染症，但有 70%~80% 的新生兒沒有任何症狀，不過經過幾個月或數年後，可能會出現視力不良、學習障礙和心智發育遲緩等現象。

弓蟲之分子診斷方法主要為 Real-time PCR，此方法與血清學診斷方法比較，分子診斷 Real-time PCR 之靈敏度較高。弓蟲之分子診斷方法主要為定性方法，且主要為實驗室自行開發之方法(in house) (圖七)。由於各分子診斷方法之間有靈敏度之差異、檢驗目標基因之差異以及使用不同之參考試劑進行校正無法標準化等原因，故需要有國際標準品來解決相關問題。

## Toxoplasma EQA scheme 2004 - 2016



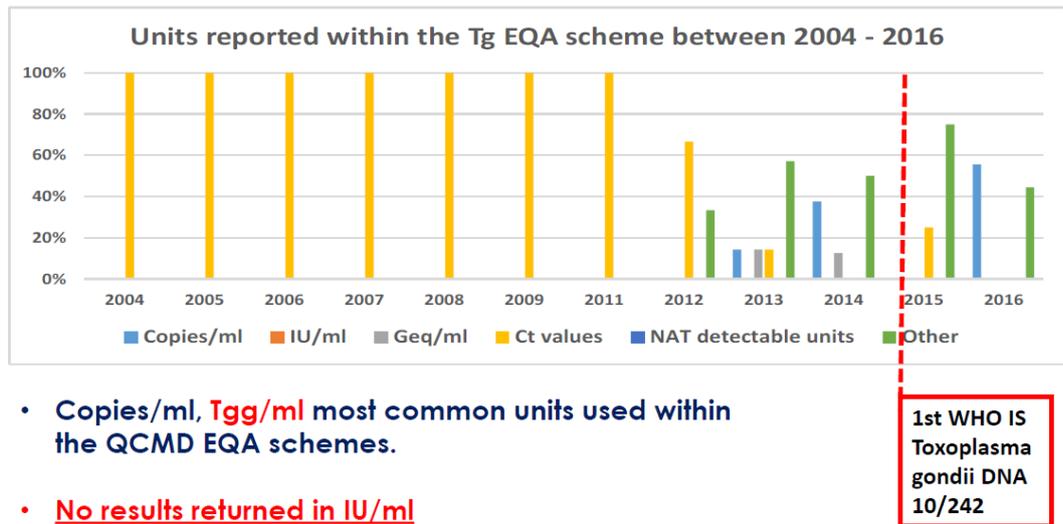
圖七、弓蟲 2004~2016 年之 EQA 計畫結果

(參考資料:研習資料)

NIBSC 於 2014 年針對弓蟲 DNA 核苷酸擴增技術建立了第一代標準品(NIBSC code:10/242)，該標準品之濃度為  $1 \times 10^6$  IU/mL，透過歷年 EQA 計畫結果可得知第一代弓蟲 DNA 標準品之建立並沒有改變定量檢測方法實際之單位使用，單位仍然主要是

「copies/mL」及「Tgg/mL」(圖八)。需要進一步探討是否因為缺乏相關教育或國際標準品不符合各檢驗單位之實際需求等原因。

## Does this impact on the take up of the WHO International Standard?



- Copies/ml, Tgg/ml most common units used within the QCMD EQA schemes.
- No results returned in IU/ml



圖八、弓蟲檢驗之單位使用情況

(參考資料:研習資料)

### (三) 國際標準品

#### 1. 國際標準品之現況

目前現況顯示，細菌、真菌及寄生蟲之 WHO 國際標準品尚未準備好，作為 EQA 之提供者，QCMD 認為他們需要一個具有追溯性且經品質一致性驗證之參考標準品，此參考標準品之追溯性需追溯至國際標準品。即使國際標準品尚未建立，EQA 提供者仍需要找到一個適合之參考標準品。

## 2. 內部參考標準品(Internal Reference Material, IRM)之發展

QCMD 認為 EQA 提供者沒有其他選擇，應該當仁不讓的發展並建立內部參考標準品，以供細菌、真菌及寄生蟲分子檢驗之校正。內部參考標準品可透過 EQA 計畫持續監控並且於上百間實驗室之間提供一個具共識之動態參考，且 digital PCR 或 NGS 等新技術亦可協助針對候選參考標準品之分子特性加以鑑別並描述。

發展 WHO 國際標準品是如此刻不容緩之事，但目前現況卻無法立即滿足 EQA 提供者之需求，而利用內部參考標準品執行 EQA 計畫之數據可協助 WHO 國際標準品之建立，故應該建立一個經過認可之機制，使 EQA 提供者之數據可提供給 SoGAT 或 WHO，以協助未來 WHO 國際標準品或過渡期之參考標準品可以以較快之速度篩選及發展。

## 肆、心得與建議

- 一、過去國際標準品曾被報導缺乏互通性，推測可能原因為標準品製備來源，為確保標準品的適用性及互通性，NIBSC 針對以基因工程或細胞培養的方式製備(非由人體血漿製備)之標準品，進一步以臨床檢體(包含病毒基因型、亞型及檢體種類)來進行互通性評估。本署製備之生物性標準品皆以血漿製備而成，未來若以基因工程或細胞培養方式製備標準品則需進一步考慮標準品互通性之議題，建議本署持續關注相關資訊發展，以確保標準品之適用性及互通性。
- 二、參加本次研習讓本署能更順利邀請各國官方實驗室(如:英國 NIBSC、德國 PEI 及日本 NIID 等)參與我國第二代 HCV 核酸標準品之國際共同標定研究，以提升我國國家標準品之公信力，並持續與各國相關領域專家建立溝通管道，促進國際交流，提升本署國際能見度。
- 三、此次研習中多次提及次世代定序(NGS)技術運用於核酸標準品的製備，因該技術可提供更多的核酸資訊，找出標準品間基因多型性(如: single nucleotide polymorphism, SNP)的差異，且目前運用於次世代定序檢測平台之診斷試劑已取得歐洲合格認證(CE marking)，未來次世代定序檢測技術將成為趨勢，我國仍須持續關注相關發展。
- 四、分子診斷方法種類很多，但彼此間存在著靈敏度、目標序列之差異，故急需發展國際標準品以解決現況，但目前細菌、真菌及寄生蟲之標準品尚在建立籌備中，因此英國分子診斷品質監控協會(QCMD)建議在過渡時期發展內部參考標準品，提供相關檢驗機構作為校正之用，且建議將相關數據提供給 WHO，以協助國際標準品之建立，建議本署持續關注相關標準品

之發展，即時掌握 WHO 生物性標品製備重點，供本署標準品製備規劃之參考。

五、 血液病原基因擴增技術標準化(SoGAT)近年來定期舉辦，建議本署持續派員參與，不僅能即時瞭解血液病原檢測新知及標準品製備現況與未來發展，並與各國相關領域專家建立溝通管道，以爭取我國參與 WHO 國際標準品共同標定之機會，有助於國際合作與交流。

## 伍、 附件



與英國 NIBSC Dr. Clare Morris 合影



與 WHO Micha Nübling (前任職於德國 PEI)合影



與日本 NIID 百瀨暖佳博士合影