

100年度B型肝炎表面抗原診斷試劑效能評估調查研究

林佳蓓 方怡雅 陳凱偉 王德原 施養志

食品藥物管理局研究檢驗組

摘要

台灣地區為世界上B型肝炎帶原率高的流行區之一，政府自民國70年代起陸續投入大量人力與物力進行「加強肝炎防治計畫」，以改善國人肝炎防治的效果。由於B型肝炎表面抗原試劑常作為血製品製造前端捐贈者之篩選，其產品品質對於國人用血安全有密切的相關性。前藥檢局曾於97年進行該品項之後市場調查，並發現分別在輸入及國產之中，各有一產品無法符合當時衛生署所公告之B型肝炎表面抗原試劑檢測靈敏度規定(≤ 0.5 ng/mL)。為因應我國99年公告體外診斷醫療器材查驗登記審查準則下修該產品靈敏度至 ≤ 0.13 IU/mL，並繼續加強其品質把關，於100年進行第二次的後市場效能評估。由於人工操作產品之品質不佳風險較大，因此本計畫將以該類型產品為優先調查對象，以前藥檢局所製備的「B型肝炎表面抗原 *ad* 亞型國家標準品」與WHO國際標準品，針對目前市售之B型肝炎病毒表面抗原診斷試劑進行效能品質監測，以作為後續產品品質控管及製造廠品質管理之依據，並保障民眾健康與用血安全。

本計畫以源頭與隨機抽樣方式，商請各地衛生局協同本計畫研究人員直接向轄區內之許可證持有廠商、代理商及產品使用單位(各縣市醫學中心、地區醫院及檢驗所)抽樣產品進行試驗分析。源頭抽得3件人工操作品項(2張許可證)，市售隨機抽樣抽得19件人工操作及自動化操作品項(8張許可證)。研究結果顯示，外觀標示部分，有2件產品(2張許可證)之外盒未有中文標示及衛署醫器字號。於本次抽得產品中，其中1件國產人工操作產品已於去年8月停產，其檢驗靈敏度不僅未符合目前國內公告之查驗登記審查準則(≤ 0.13 IU/mL)，亦未符合過去 ≤ 0.5 ng/mL之靈敏度標準。上述不合格產品之檢驗結果皆已交轄區衛生局及本局醫粧組進行後續行政作業。系統性針對第三等級輸捐血篩檢用體外診斷試劑，進行全面性效能評估，除有效篩選出不良產品，並透過行政程序確保市售試劑品質外，更建立本局製備生物性國家標準品之最佳運用範例，作為日後進行其他市售診斷試劑效能評估之模式。

關鍵詞：後市場調查、靈敏度、B型肝炎表面抗原診斷試劑

前言

B型肝炎病毒是造成人類肝臟疾病的重要致病原，全世界約有3.5億人為慢性帶原者，帶原者除本身肝臟將受到病毒破壞之外，其體內帶有之病毒，也可能造成他人的感染，傳染途徑主要為輸血及母子垂直感染⁽¹⁻³⁾。台灣地區B型肝炎帶原率約15-20%，為世界上B型肝炎帶原率高的流行

區之一，且80%以上肝硬化與肝癌與B型肝炎病毒感染有關，影響國人健康甚巨⁽⁴⁻⁶⁾。目前已知B型肝炎病毒共有8種基因型(A-H)及4種主要的血清亞型(*adw*、*ayw*、*adr*及*ayr*)⁽⁷⁻¹⁰⁾，台灣地區主要以B、C兩種基因型及*adw*、*adr*兩種血清亞型為主^(11,12)。

有鑑於推動國內B型肝炎防治之重要性與迫切性，政府投入大量人力與物力，自70年8

月至86年6月陸續核定「加強肝炎防治計劃」第一、二及三期計畫，另衛生署於84年依「肝炎防治委員會」之建議，由本局製備B型肝炎表面抗原(HBsAg)等國家標準血清組(National Serum Panel)，並於87至91年度「加強肝炎防治第四期計劃」中，建議擴大國家標準血清組製備範圍。

本局近年來業已完成HBV, HCV, B19V核酸標準品、Anti-HCV標準血清組、HBsAg靈敏度標準血清組等國家標準品以供業界作研發及品質控管使用。故自97年開始陸續執行「B型肝炎表面抗原」、「C型肝炎抗體」等第三等級體外診斷試劑之效能評估調查研究，針對效能不佳之批次產品，經檢驗確認，均依藥物不良品通報程序通報並進行產品回收、製造廠稽查等即時行政控管措施，有甚者廢止該產品許可證，以維護國人健康。在風險評估部分，基於97年調查結果，配合衛生署公告新靈敏度標準，人工操作ELISA產品具較大之品質不佳風險，因此以該類型產品為優先調查對象。

目前B型肝炎的診斷標誌有：表面抗原(HBsAg)、核心抗原(HBcAg)、e抗原(HBeAg)、表面抗原抗體(anti-HBs)、核心抗原抗體(anti-HBc)、e抗原抗體(anti-HBe)、及病毒DNA或RNA^(14,15)。其中，B型肝炎表面抗原為感染後最早出現的病毒抗原標誌，在急性感染和慢性帶原者均可檢測到，是診斷之重要指標。本局曾於82及90年執行市售B型肝炎表面抗原體外診斷試劑效能調查，以直線迴歸方式評估試劑靈敏度，研究結果顯示各廠牌試劑效能尚合乎當時法規要求^(13,16)。隨著研發技術日益純熟發展，陸續新增多張B型肝炎表面抗原診斷試劑許可證品項，國內雖有製造廠GMP評鑑及上市前查驗登記審查檢驗，但缺乏上市後實際產品之品質監控，因此本研究以陰性血清將國家標準品及WHO標準品進行序列稀釋，針對市售B型肝炎表面抗原體外診斷試劑，評估其檢驗效能並調查其是否符合衛生署99.04.23署授食字第0991602811號公告，對B型肝炎表面抗原體外診斷試劑其檢驗靈敏度需達到「EIA、RIA及其他任何方法之產品其檢驗靈敏度應 ≤ 0.130 IU/mL」之要求，結果將作為製造廠品

質管理之參考依據。

材料與方法

一、抽樣方法

本計劃以源頭與隨機抽樣方式，擬商請各地衛生局協同本計畫研究人員直接向轄區內之許可証持有廠商、代理商及產品使用單位(各縣市醫學中心、地區醫院及檢驗所)抽樣產品進行試驗分析，抽得之試劑套組由本計畫研究人員以備有冰寶之抽樣箱(2-8°C)運送回本局。人工操作試劑套組為首要抽樣目標產品，若該轄區內無人工操作試劑套組之使用單位，則隨機抽取自動化操作試劑套組。

(一)源頭抽樣：不分區域，依製造廠或代理商所在地，請當地衛生局協同本計畫研究人員逕至源頭抽樣，各品項抽樣地點涵蓋各製造廠、代理商等。

(二)隨機抽樣：分兩區抽樣

1. 第一區包含基隆市、台北市、新北市、桃園縣、新竹縣、新竹市、苗栗縣、台中市及南投縣等9個縣市。
2. 第二區包含彰化縣、雲林縣、嘉義縣、嘉義市、宜蘭縣、花蓮縣、台東縣、屏東縣、台南市及高雄市等10縣市。將依第一區抽樣狀況行文各單位並指定抽樣品項。
3. 抽樣件數：各縣市1件。
4. 抽樣地點：涵蓋各級醫療院所及檢驗所等。

二、材料與設備

(一)材料

1. B型肝炎表面抗原診斷試劑

國產2個及輸入6個市售B型肝炎表面抗原診斷試劑產品，總計8品項(8張許可證)，共22件。其中自動化機台檢驗有5品項，共12件(套組D-H)，人工操作檢驗有3品項，共10件(套組A-C)(表一)。

2. 標準品

(1)1st National STD Hepatitis B Surface Antigen (subtype *ad*)(NLFD lot 89-06)，

表一、市售B型肝炎表面抗原診斷試劑及衛署許可證字號

操作方式	進口	英文品名	許可證字號	批號	抽樣方式	來源	代號
人工操作	國產	SURASE B-96 (TMB)	衛署醫器製字第001228號	Lot1	源頭	製造廠	A
				Lot2	源頭	製造廠	
				Lot3	市售	嘉義縣	
				Lot1	市售	基隆市	
				Lot1	市售	大台南	
國產	TFS ELISA-HBSAG TMB	衛署醫器製字第001266號	Lot1	市售	桃園縣	B	
			Lot1	市售	大台中		
輸入	Murex HBsAg Version 3	衛署醫器輸字第011740號	Lot1	源頭	代理商	C	
			Lot2	市售	台北市		
			Lot3	市售	高雄市		
輸入	AxSYM HBsAG (V2)	衛署醫器輸字第017605號	Lot1	市售	苗栗縣	D	
			Lot2	市售	南投縣		
			Lot3	市售	雲林縣		
			Lot4	市售	台東縣		
輸入	Abbott Architect HBsAg	衛署醫器輸字第012070號	Lot1	市售	新竹市	E	
			Lot2	市售	新竹縣		
			Lot3	市售	屏東縣		
輸入	ELECSYS HBSAG II	衛署醫器輸字第010985號	Lot1	市售	彰化縣	F	
			Lot2	市售	嘉義市		
			Lot3	市售	宜蘭縣		
輸入	Vitros Immunodiagnostic Products HBsAg	衛署醫器輸字第011245號	Lot1	市售	花蓮縣	G	
輸入	"Enzygnost" HBsAg 5.0	衛署醫器輸字第016162號	Lot1	市售	新北市	H	

為前藥物食品檢驗局於89年製備完成之「B型肝炎表面抗原 ad 亞型國家標準品」，經國內外單位共同標定，訂定濃度為106 IU/mL。

(2)WHO International Standard, Second International Standard for HBsAg, subtype adw2, genotype A (NIBSC code: 00/588)，經WHO訂定濃度為33 IU/mL。

註：1 IU約等於1 ng。

3. 陰性血清

外購之陰性血清(普生公司)，經核酸擴增技術檢測HAV、HBV、HCV及parvoB19等病毒，其結果皆為陰性。又以EIA檢驗anti-HBs、anti-HCV及anti-HIV，其結果亦皆為陰性。

(二)儀器設備

1. Architect i2000全自動免疫分析儀(Abbott)
2. AxSYM全自動免疫分析儀(Abbott)
3. Elecsys 2010全自動免疫分析儀(Roche)
4. Vitros ECi全自動免疫分析儀(Johnson & Johnson)
5. ELISA分光光度計判讀機(Bio-Tek, Synergy HT)
6. 96孔盤微量洗滌機(Thermo, Wellwash AC/Bio-Tek, ELx50)
7. 恆溫箱(FinePCR, Thermo Micromixer Mxi4t)
8. 恆溫水槽(TKS, WB211-B1)
9. 電動八爪微量分注器(Gilson)
10. 微量分注器(Gilson)

100年度B型肝炎表面抗原診斷試劑效能評估調查研究

表三-1、檢驗人員A初驗試劑套組A批次1 (基隆市)之品質控管步驟

Parameter	Result	Calculation of results	Release Limit	Verdict
Blank-1	0.004	NA	Blank < 0.100	Pass
Blank-2	0.004			Pass
Negative control-1	0.151	NC (mean absorbance of negative control) = 0.260	NC \leq 0.1	Fail
Negative control-2	0.085			
Negative control-3	0.545			
Positive control-1	3.589	PC (mean absorbance of positive control) = 3.715 PC-NC = 3.455	PC \geq 0.6 PC-NC \geq 0.5	Pass
Positive control-2	3.841			

表三-2、檢驗人員B再驗試劑套組A批次1 (基隆市)之品質控管步驟

Parameter	Result	Calculation of results	Release Limit	Verdict
Blank-1	0.006	NA	Blank < 0.100	Pass
Blank-2	0.006			Pass
Negative control-1	0.156	NC (mean absorbance of negative control) = 0.170	NC \leq 0.1	Fail
Negative control-2	0.159			
Negative control-3	0.196			
Positive control-1	\geq 4.0	PC (mean absorbance of positive control) \geq 4.0 PC-NC \geq 3.830	PC \geq 0.6 PC-NC \geq 0.5	Pass
Positive control-2	\geq 4.0			

表三-3、檢驗人員C複驗試劑套組A批次1 (基隆市)之品質控管步驟

Parameter	Result	Calculation of results	Release Limit	Verdict
Blank-1	0.009	NA	Blank < 0.100	Pass
Blank-2	0.005			Pass
Negative control-1	0.083	NC (mean absorbance of negative control) = 0.074	NC \leq 0.1	Pass
Negative control-2	0.061			
Negative control-3	0.070			
Negative control-4	0.082			
Positive control-1	\geq 4.0	PC (mean absorbance of positive control) \geq 4.0 PC-NC \geq 3.926	PC \geq 0.6 PC-NC \geq 0.5	Pass
Positive control-2	\geq 4.0			

二、於桃園縣抽得之試劑套組B經檢驗後結果顯示，其產品效能無法符合目前查驗登記審查準則，由於於桃園縣檢驗所抽得之試劑套

組為檢驗所驗餘，故剩餘量不足以複驗。然而，於台中市抽得之國產試劑套組B經初驗及複驗兩次的檢驗結果顯示，其靈敏度不

僅無法因應目前查驗登記標準(檢驗靈敏度 ≤ 0.130 IU/mL)，亦無法符合其查驗登記時所應依循之法規(檢驗靈敏度 ≤ 0.50 ng/mL)，其產品目前的品質及其適用性尚待考量。上述產品已交本局醫粧組及轄區衛生局進行後續行政處理。

- 三、於台中市之診所抽得國產試劑套組B，該診所貯存試劑之冰箱為雙層家用冰箱，且冰箱內並未放有溫度紀錄器，也未有任何溫度紀錄，因此推測該試劑之保存狀況不良亦可能為產品靈敏度不佳的因素之一。
- 四、計畫人員於100年7月4日前往台富製藥股份有限公司進行源頭抽樣，但由於該公司未留有同批號之備存產品，因此未能抽得檢體以進行複驗。
- 五、於基隆市抽得之試劑套組A批次1由檢驗人員A及檢驗人員B分別進行兩次檢驗，兩次檢驗之品質控管步驟(Quality Control)結果顯示，其陰性控制組之平均吸光值皆大於0.10，未符合原廠仿單規定有效試驗中陰性控制組平均吸光值 ≤ 0.10 之標準。然而，該批次產品經檢驗人員C進行複驗，其陰性控制組之平均值尚能符合原廠仿單之有效試驗標準，故判定該件產品之品質控管未有問題。由於檢驗人員C在檢驗過程中的清洗步驟是採用人工清洗的方式，而檢驗人員A及B則是使用自動試盤清洗機以同一排8孔分注吸取器的模式一排排清洗，因此檢驗結果的不同推測可能與試盤清洗方式不同有關。
- 六、依現行醫療器材管理法規，肝炎診斷試劑之檢驗靈敏度等技術資料僅於查驗登記時審查並加以檢驗，並未於新公告法規施行或於許可證展延時納入進行後續審查，以致上市產品之檢驗靈敏度可能遵循不同年代之規定。由於產品效能攸關檢驗品質，為因應試劑研發技術、製造品質、儀器設備等條件的發展日益成熟，對此類試劑之品質控管更須與時進步，此部分有賴進一步研議相關配套措施，以為民眾用血安全把關。

參考文獻

1. Chen, D. S. 1993. From hepatitis to hepatoma: lessons from type B viral hepatitis. *Science* 262: 369-370.
2. Lee, W. M. 1997. Hepatitis B virus infection. *N. Engl. J. Med.* 337: 1733-1745.
3. Kao, J. H. and Chen, D. S. 2002. Global control of hepatitis B virus infection. *Lancet Infect. Dis.* 2: 395-403.
4. Chen, D. S. and Sung, J. L. 1978. Hepatitis B virus infection and chronic liver disease in Taiwan. *Acta Hepatogastroenterol.* 25: 423-430.
5. Beasley, R. P., Hwang, L. Y., Lin, C. C. and Chien, C. S. 1981. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus. A prospective study of 22707 men in Taiwan. *Lancet* 2(8256): 1129-1133.
6. Edmunds, W. J., Medley, G. F., Nokes, D. J., O'Callaghan, C. J., Whittle, H. C. and Hall, A. J. 1996. Epidemiological patterns of hepatitis B virus (HBV) in highly endemic areas. *Epidemiol. Infect.* 117: 313-325.
7. Okamoto, H., Tsuda, F., Sakugawa, H., Sastrosoewignjo, R. I., Imai, M., Miyakawa, Y. and Mayumi, M. 1988. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. *J. Gen. Virol.* 69: 2575-2583.
8. Magnus, L. O. and Norder, H. 1995. Subtypes, genotypes and molecular epidemiology of the hepatitis B virus as reflected by sequence variability of the S-gene. *Intervirology* 38: 24-34.
9. Stuyver, L., De Gendt, S., Van Geyt, C., Zoulim, F., Fried, M., Schinazi, R. F. and Rossau, R. 2000. A new genotype of hepatitis B virus: complete genome and phylogenetic relatedness. *J. Gen. Virol.* 81: 67-74.
10. Arauz-Ruiz, P., Norder, H., Robertson, B. H. and Magnus, L. O. 2002. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in

- Central America. *J. Gen. Virol.* 83: 2059-2073.
11. Liu, C. J., Kao, J. H., Chen, P. J., Lai, M. Y. and Chen, D. S. 2002. Molecular epidemiology of hepatitis B viral serotypes and genotypes in Taiwan. *J. Biomed. Sci.* 9: 166-170.
 12. Kao, J. H. 2003. Hepatitis B virus genotypes and hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Intervirology* 46: 400-407.
 13. 邱秀蘭、葉昇炎、杜慧珍、陳惠芳、林嘉伯、孫慈悌。2001。肝炎診斷試劑國家標準血清組安定性評估與靈敏度調查。行政院衛生署九十年自行研究計畫。
 14. Hoofnagle, J. H. 1981. Serologic markers of hepatitis B virus infection. *Ann. Rev. Med.* 32: 1-11.
 15. Custer, B., Sullivan, S. D., Hazlet, T. K., Iloeje, U., Veenstra, D. L. and Kowdley, K. V. 2004. Global epidemiology of hepatitis B virus. *J. Clin. Gastroenterol.* 38: S158-168.
 16. 柳逸照。1993。B型肝炎表面抗原與B型肝炎表面抗體診斷試劑之評估。藥物食品檢驗局調查研究年報，11: 216-225。
 17. Principles in the evaluation of HBsAg test kits: appropriate use of 2nd WHO International Standard (IS) and reference panel for HBsAg Report of 55th meeting of the ECBS, Geneva, November 2004.

Post-Market Performance Study of HBsAg Test Kits

CHIA-PEI LIN, YI-YA FANG, KAI-WEI CHEN, DER-YUAN WANG AND
DANIEL YANG-CHIH SHIH

Division of Research and Analysis, FDA

ABSTRACT

Chronic HBV infection is endemic in Taiwan, where the carrier rate of hepatitis B surface antigen (HBsAg) in the general population is high. The public vaccination program of hepatitis B virus (HBV) was launched by Department of Health in Taiwan in 1984. Since HBsAg test kits are used as sensitive screening and accurate diagnostic assays, the analytical quality of such kits thus plays an important role in monitoring of the infection status and interpreting the long-term success of vaccination. Bureau of Food and Drug Analysis in Taiwan conducted a post-market performance survey of HBsAg kits in 2008, and found that two certain products failed to fulfill the criteria for the analytical sensitivity of ≤ 0.50 ng/mL required by Department of Health, Executive Yuan, Taiwan. This criterion was further revised from 0.50 ng/mL to 0.130 IU/mL in Taiwan in 2010, so this post-market performance survey of HBsAg kits was carried out again this year. Because the analytical quality of manually-operated HBsAg test kits has been found less precise than that of automated test kits according to the survey in 2008, the manually-operated HBsAg test kits were chosen to be targets in this study. Using both the National Standards (Taiwan Food and Drug Administration, TFDA) and the International Reference Standards (WHO) for HBsAg, the HBsAg test kits have been evaluated.

Three manual kits from manufacturers or their authorized representatives and 19 randomly selected automated or manual kits from market have been collected with the assistance of local health personnel. We found that the labels and packaging of two certain products are not printed in Chinese language, and no registration numbers on the packages. The analytical sensitivity of a domestic-manufactured manually-operated kit, which has been out of production since last August, failed to fulfill either the criteria for the analytical sensitivity of ≤ 0.130 IU/mL or ≤ 0.50 ng/mL. The results of the products which failed to fulfill the criteria for labels, packaging, and analytical sensitivity have been reported to the local Departments of Health and the Division of Medical Devices & Cosmetics in TFDA for further handling. In conclusion, the post-market performance survey by Division of Research and Analysis in TFDA, not only assessed the effectiveness of the marked class III medical devices for HBsAg detection, but also reported the malfunction or failure of a device using the National Standards set by TFDA successfully.

Key words: post-market performance survey, analytical sensitivity, HBsAg test kits