



美國 FDA 於 2018 年 4 月發表「用於輔助診斷疑似生殖系疾病之次世代定序(NGS)檢測，其設計、開發與分析確效之考量」指引

發表單位：美國 FDA
發表時間：2018/04/13
類 別：指引

摘要整理：范文佳
內容歸類：醫療器材
關 鍵 字：Next generation sequencing (NGS)、Germline disease

資料來源：[Considerations for Design, Development, and Analytical Validation of Next Generation Sequencing \(NGS\) - Based In Vitro Diagnostics \(IVDs\) Intended to Aid in the Diagnosis of Suspected Germline Diseases - Guidance for Stakeholders and Food and Drug Administration Staff](#)

- 重點內容：
1. 本篇指引對於運用次世代定序(NGS)方法來診斷生殖系疾病(Germline disease)的檢測，其法規途徑、開發要素、效能評估、品質標準、變異註解等須考量的重點，提供建議。
 2. 所謂的生殖系疾病(Germline disease)係指個體所產生的基因與生理上缺陷，是由於前代生殖細胞變異或遺傳的基因缺陷所衍生而來。
 3. FDA 認為此類檢測可透過結合一般管制(General control)與特殊管制(Special control)之管理模式，來降低產品上市風險。此類產品如經申請者評估為中低風險，並明確說明產品符合上述 2 項管制要求，以及足夠確保產品安全性及有效性，則可向 FDA 提出 De Novo 法規途徑請求；FDA 建議申請者可妥善利用送件前(pre-submission)程序來共同討論產品上市之法規途徑。
 4. 此類檢測之組成元件(Elements)主要為試劑、耗材、設備與軟體等。由於每個 NGS 檢測產品使用的目的與功能不同，因此可能有不同的試驗設計與工作流程。一般而言，操作步驟包含下列：1)檢體收集、處理與儲存；2)DNA 萃取；3)DNA 處理與實驗室準備；4)定序與鹼基



識別；5)序列排列與基因定位圖譜產生；6)識別變異；7)變異註解與篩選(Variant annotation and filtering)；8)變異評估與斷定；及9)產生測試報告。

5. 一般而言，在產品設計時即應依據臨床需求，先行訂立產品之效能用途(Indication for use)、使用者需求、檢體型式、效能需求、基因組檢視區域(Interrogated regions)、試驗步驟與方法，並設計出適合的效能驗證、決定研究型式並訂出可接受允收標準與閾值(Threshold)，而後持續執行效能確效(Validation)直到產品符合預先定義的性能規格為止；並且，相關改善措施、決策、結果等都須被記錄與文件化。
6. 在試運行時期，有關測試的各項品質標準應已被建立完成，並訂出最低可接受閾值，如：檢體的品質、DNA 的品質、定序設備的品質、生物資料庫的複雜度、生物資訊來源之根據、基因覆蓋率(Coverage)、鹼基(Base)品質、基因定位/組裝的品質及序列片段(Reads)可標誌基因圖譜的數量等。如果試運行時未達品質要求，檢測出的變異基因不可做為結果報告。
7. 每個參與 NGS 檢測的元件都應經過分析確效，確效通過後，應對於每個檢視區域的變異進行效能指標(Performance metrics)評估，如：檢測準確度(包括陽性與陰性一致性、陽性預測值)、精確度、偵測極限(LoD)、分析特異性(包括干擾性、交叉反應、交叉污染)等。
8. 在基因變異註解與篩選部分，應選擇適合的演算法進行，並將篩選方法與閾值訂定(如：去除掉低對偶基因頻率可能產生變異以及困難定序之區域)等過程文件化。如果使用資料庫來進行變異註解與篩選時，應確認資料庫的數據資料是否可涵蓋待檢測族群的測試範圍。演算法係基於某些族群發生的頻率、表現型數據(Phenotypic data)、基因的功能性、基因的影響性、家族基因共享片段等特徵進行辨識，並排出候選變異(Candidate variants)的優先順序。
9. 仿單或標籤之產品效能用途描述應包含：可檢測變異的型式(如：單核酸變異、多核酸變異、插入、刪除、複製、重覆表現等)、測試限制(如：無法被偵測的某些基因檢視區域或類型、僅能偵測某特定疾病之多種



基因變異的其中某一小部分等)。仿單標籤刊載之變異名稱應使用廣泛可接受之命名法。此外，基因體可定義區域、目標 NGS 群組(target NGS panel)、效能資訊摘要、測試失敗可能之原因分析、測試方法以及測試操作者所應具有之熟練度要求等，亦應明確刊載於仿單或標籤中。

10. 最後，測試結果報告應呈現之內容應包含：變異與臨床徵狀之間的關聯性(須提供資訊來源)、所偵測的標的基因或染色體區域、效能測試的摘要報告、適當的區隔出有/未知臨床意義的變異點、使用之資料庫及其版本、本檢測的限制(如某些區域無法被定序)以及說明如何減少檢測程序中產生失誤的風險。