

艾斯伯特結核分枝桿菌複合群高敏檢測試劑組 Xpert MTB/RIF Ultra

衛部醫器輸字第 034178 號

限由醫師或醫檢師使用
本產品僅供體外診斷使用
使用前請務必詳閱原廠之使用說明書並遵照指示使用。

型號
GXMTB/RIF-ULTRA-10
GXMTB/RIF-ULTRA-50

1.效能

本產品以全自動GeneXpert儀器系統執行半定量巢式聚合酶鏈鎖反應體外診斷試劑，用於檢測未經處理的痰液檢體或經誘發或咳出痰得到的濃縮沉積物中的結核分枝桿菌（MTB）複合DNA。在檢測到結核分枝桿菌複合群的檢體中，本產品還可以檢測和利福平抗性相關突變的rpoB基因。
本產品適用於來自臨床上懷疑有結核病（TB）且未接受抗結核治療或在最近6個月內少於3天治療的患者的檢體。與臨床和其他實驗室檢查結果結合使用時，該測試旨在幫助診斷肺結核。

2.概要說明

在2016年全球約有20億人被MTB感染，1,040萬人患上了開放性疾病，170萬人死於這種疾病。肺結核的傳播途徑是通過空氣傳播，這使肺結核成為一種高傳染性疾病。鑑於肺結核的傳染性，快速準確的診斷是結核病治療和控制的重要元素。治療涉及長期服用多種藥物，通常非常有效。但是，結核分枝桿菌複合群菌株可能對一種或多種藥物產生抗藥性，使治療更加困難。在抗結核治療中使用的四種常見的一線藥物是異煙肼（INH），利福平（也稱為利福平（Rifampicin，RIF）），乙胺丁醇（EMB）和吡嗪酰胺（PZA）。正如世界衛生組織所記錄的那樣，RIF抗藥性本身很少見，通常表明對多種其他抗結核藥物具有抗藥性。在多重抗藥性（MDR-TB）菌株（定義為對RIF和INH都有抗藥性）中最常見，據報告在此類菌株中其發生率大於95％。對RIF或其他一線藥物的抗性通常表明需要進行全面的藥敏測試，包括針對二線藥物的測試。TB和與RIF抗性相關的rpoB基因突變的分子檢測，大大減少了診斷藥物感受性和MDR結核病的時間。使用本產品可以在不到80分鐘的時間內完成未處理的痰液檢體和配製好的沉渣。對MTB和RIF抗藥性的快速檢測使醫生可以在單次就診期間就治療做出重要的病患管理決策。

3.程序原理

GeneXpert 設備系統使用即時PCR溶解峰檢測功能自動化執行並整合檢體處理、核酸萃取和擴增、單一或複合檢體的目標序列測定。該系統由一台儀器、個人電腦及對所採集的檢體進行測試和檢查結果的軟體組成。該系統使用單次使用的可拋棄式檢測匣來盛放PCR試劑及控制PCR過程。由於檢測匣是獨立的，因此可消除檢體間的交叉污染。該系統的完整說明請參閱GeneXpert Dx系統操作手冊。

本產品包括用於檢測MTB和RIF抗藥性的試劑以及檢體處理品管（SPC），以確認目標細菌的適當處理並監測PCR反應和後續熔融峰檢測中是否有抑制物的存在。採針檢查品管（PCC）驗證試劑的復水，PCR試管在試劑盒中的填充，採針的完整性和染料的不穩定性。本產品中的引子可擴增含有81個鹼基對的rpoB基因的“核心”區域的一部分，以及多拷貝 IS1081和IS6110插入元素靶序列的一部分。使用四個rpoB探針進行的熔點分析能夠區分保守的野生型序列和與RIF抗性相關的核心區域突變。由於在大多數結核菌菌株中的多拷貝插入元素靶序列，兩個插入元素探針增強了結核分枝桿菌複合群的檢測。

4.試劑和設備

4.1提供的材料

本產品試劑組包括足夠處理十位或五十位患者檢體的試劑，本試劑組包括以下材料：
本產品試劑匣含有完整反應管
Bead 1和 Bead 2 (冷凍乾燥)
Bead 3 (冷凍乾燥)
試劑1
試劑2
檢體試劑瓶
檢體試劑
移液吸管
10支/試劑組
光碟
檢測定義檔（ADF）
ADF匯入GX執行檔使用說明
使用說明（產品仿單）

註：檢體試劑（SR）可以是無色至黃色至琥珀色。顏色可能會隨著時間而增強，但顏色不會影響性能。
註：安全資料表（SDS），可向Cepheid技術支援索取和登錄www.cepheid.com獲得。
註：此產品內珠子中的牛血清白蛋白（BSA）僅由美國產的牛血漿生產和製造。沒有反芻動物蛋白或其他動物蛋白被餵養給動物；這些動物通過了事前和事後測試。在處理過程中，未與其他動物的材料混合在一起。
註：移液吸管上有一個標記，代表轉移到試劑盒所需的最小處理檢體量。僅用於此目的。所有其他移液吸管必須由實驗室提供。

4.2儲存和操作

- 本產品檢測匣貯存在2–28 °C。
- 直到準備好開始檢測時才打開檢測匣蓋。
- 請勿使用已過期的試劑或檢測匣。

5. 其他材料需求但未提供

- GeneXpert Dx系統（型號取決於使用的設備模型）：GeneXpert儀器、電腦、條碼掃描器和操作手冊。
 - 對於GeneXpert Dx系統：4.7b或更高版本的軟體
- 印表機：如果需要印表機，請聯繫Cepheid銷售代表以安排購買推薦的印表機。
- 防漏，無菌螺旋蓋收集容器。
- 一次性手套。
- 標籤和/或不褪色的標記。
- 用於檢體處理的無菌移液吸管。

6. 警告，注意事項和化學危害

6.1.警告及注意事項

- 處理的所有生物性檢體包含使用過的檢測匣，因為在檢測前無法得知其感染性與否，因此所有的人類檢體必須依照注意事項進行操作。依美國疾病防治管制局和臨床和實驗室標準委員會提供的操作檢體的標準程序。
- 處理檢體和試劑時，請戴防護一次性手套，實驗室外套和護目鏡。處理檢體和測試試劑後，請徹底洗手。
- 按照您所在機構的安全程序處理化學藥品和處理生物檢體。
- 請勿用其他試劑代替本產品。
- 除添加已處理的檢體外，請勿打開本產品試劑匣的蓋子。
- 開封取出的檢測匣，若經掉落請勿使用。
- 添加處理過的檢體後，請勿使用掉落，晃動或溢出的試劑盒。打開蓋子後搖動或跌落試劑匣可能會產生錯誤或不確定的結果。
- 請勿將檢體識別標籤貼於試劑匣上蓋或條碼標籤上。
- 如果試劑匣受潮或蓋子密封似乎已損壞，請不要使用。
- 請勿使用反應管損壞的試劑匣。

- 一次處理多個檢體時，僅打開一個試劑盒；在處理下一個檢體之前，添加檢體試劑處理過的檢體並關閉試劑匣蓋。在檢體之間換手套。
- 本產品僅供單次使用，請勿重複使用。
- 在工作區或設備若被檢體或品管液污染的情況下，請先以1:10稀釋的家用氯漂白水，再以70％乙醇徹底清潔污染區域。擦拭工作檯面待完全乾燥再繼續。
- 生物檢體、轉移設備和使用過的檢測匣應被視為具感染需要標準預防措施的傳染性物質。根據所在機構的環境廢棄程序，妥善處理使用過的檢測匣和未使用的試劑。這些材料可能表現出需要特殊處理的化學危險廢物的特性。如果國家或地區性法規沒有明確規定妥善的處置方法，則應按照WHO[世界衛生組織]的醫療廢物處理和處置指南處置生物檢體和使用過的檢測匣。

6.2生物危害

檢體試劑:

- 包含異丙醇
- 包含氫氧化鈉
- 信號詞：危險
- 聯合國全球統一制度危險象形圖：
- 聯合國GHS危險聲明
 - 易燃液體和蒸氣。
 - 導致嚴重的皮膚灼傷和眼睛傷害。
 - 造成嚴重的眼睛傷害。
 - 可能會導致遺傳缺陷。
 - 可能破壞生育力或未出生的孩子。
 - 長期或反復接觸可能對器官造成損害。
- 聯合國GHS防範說明

- 預防
 - 使用前請獲得特別說明。
 - 在閱讀並理解所有安全預防措施之前，請勿進行操作。
 - 遠離熱源、火花，明火和/或熱表面。禁止抽煙。
 - 保持容器密閉。
 - 請勿吸入薄霧，蒸氣和/或噴霧。
 - 處理後徹底清洗。
 - 戴防護手套，/穿防護服/戴防護眼罩/戴防護面具。
 - 根據需要使用個人防護設備

• 反應

- 著火時：使用適當的媒介物滅火。
- 如誤吸入：將患者轉移到新鮮空氣處，並保持呼吸舒適的姿勢。
- 立即致電解毒中心或醫生。
- 如皮膚（或頭髮）沾染：立即脫掉所有被污染的衣服。用水沖洗皮膚/淋浴。
- 再次使用之前，請清洗受污染的衣物。
- 具體治療方法，請參閱補充急救訊息。
- 如果眼睛接觸：用水小心沖洗幾分鐘。如戴隱形眼鏡並可方便地取出，取出隱形眼鏡。繼續沖洗。
- 如果誤吞：漱口。不要催吐。
- 如接觸到或有疑慮，就醫/就診。
- 如果感覺不適，請就醫。

• 儲存/處置

- 根據當地，地區，國家和/或國際法規處置內裝物和/或容器。

7. 檢體採集，運送和儲存

請按照您所在機構的規範進行檢體採集。
檢體採集，運輸和儲存
採集
按照您所在機構的標準程序收集痰液或氣霧劑誘發性的痰液。測試未處理的痰液或濃縮/去污的痰液沉積物。請參閱表1確定足夠的檢體量。

檢體類別	測試一次的最小體積	檢體最多體積	檢體跟檢體試劑(SR)比例
痰液沉積物	0.5 mL	2.5 mL	1:3*
未處理的痰液	1 mL	4.0 mL	1:2

a.使用1：2的檢體與SR的比例測試，檢體體積應為0.7 mL或更多。

運送和儲存

痰液沉積物：將再懸浮的沉積物在2-8°C下保存最多7天。
未處理的痰液：在可能的情況下，在處理前將痰液運輸並儲存在2-8°C下。如有必要，未經處理的痰液檢體可以在最高35°C的溫度下保存最多三天，然後在2-8 °C的溫度下再保存7天。

8. 分析步驟

8.1去污濃縮痰沉積物的步驟

註：退回帶有明顯食物顆粒或其他固體顆粒的檢體。

體積要求：根據Kent和Kubica11方法製備並再懸浮在67 mM磷酸鹽/水緩衝液中的痰沉澱物可以使用本產品。再懸浮後，保留至少0.5 mL再懸浮的沉澱物用於本產品。對於所有小於0.7 mL的體積，請執行步驟1-6。這些步驟需要3份檢體試劑（SR）對1份沉澱物，以產生足夠的體積（~2 mL），以實現最佳檢測性能。

如果檢體體積等於或大於0.7 mL，則可通過將2份SR加到1份沉澱物中來產生足夠的測試體積。在此示例中，將1.4 mL SR添加到0.7 mL沉澱物中。這些體積按2份SR與1份沉積物的比例縮放。

- 將試劑匣於室溫回溫。在每個Xpert MTB / RIF Ultra試劑匣上貼上檢體ID。參見圖1。



注意:在試劑匣側面寫上或黏貼ID標籤。請勿將標籤貼在試劑匣蓋上或現有的二維條形碼上。

- 已充足的時間渦旋或使用移液吸取管混合沉積物，並排出物質，以確保所有有機體都處於懸浮狀態。
- 使用本產品的移液吸管將0.5 mL全部再懸浮的沉積物轉移到錐形螺旋蓋管中。
- 注意:如果未立即處理，則將再懸浮的沉積物存儲在2至8° C下。請勿對已冷藏超過7天的再懸浮沉澱物進行本產品測試。
- 使用移液吸管將1.5 mL 本產品檢體試劑（SR）轉移至0.5 mL再懸浮的沉積物中。牢牢擰緊蓋子。
- 劇烈搖動10至20次或渦旋至少10秒鐘。

注意:來回移動只是一次搖動。

- 在室溫下靜置10分鐘，然後將檢體劇烈搖動10至20次或渦旋至少10秒鐘。
- 將檢體在室溫下再靜育5分鐘。

8.2未處理痰的步驟

體積要求：需要≥1 mL未處理的痰液。

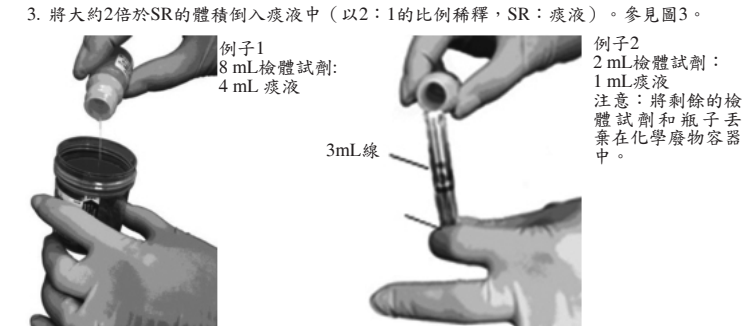
- 將試劑匣於室溫回溫。在每個Xpert MTB / RIF Ultra試劑匣上貼上檢體ID。參見圖1。
- 注意:在試劑匣側面寫上或黏貼ID標籤。請勿將標籤貼在試劑匣蓋上或現有的二維條形碼上。

將檢體放入防漏的痰液收集容器中後，請小心地打開痰液收集容器的蓋子並檢查內容物，以確保沒有食物顆粒或其他固體顆粒。參見圖2。

注意:退回帶有明顯食物顆粒或其他固體顆粒的檢體。



3. 將大約2倍於SR的體積倒入痰液中（以2：1的比例稀釋，SR：痰液）。參見圖3。



- 回蓋並固定蓋子。劇烈搖動10至20次或渦旋至少10秒鐘。
註:來回移動只是一次搖動。
- 在室溫下靜置10分鐘
- 劇烈搖動檢體10至20次或渦旋至少10秒鐘。將檢體在室溫下再靜置5分鐘。

注意:確保檢體完全液化。如果檢體未液化，請重複步驟6。

8.3準備試劑匣

注意:如果使用GeneXpert Dx儀器，則應在將檢體試劑處理過的檢體添加到試劑匣後的四個小時內盡快開始測試。一旦將檢體添加到試劑匣中，在開始測試前的四個小時內，試劑匣應保持在室溫下。

- 打開試劑匣蓋，然後打開檢體容器。
- 使用提供的移液吸管，將液化的檢體吸到移液吸管上管線的正上方。請參見圖4。如果體積不足，請勿進一步處理檢體。
- 將檢體轉移到本產品試劑匣的檢體室中。緩慢分注檢體，以最大程度降低氣膠形成的風險。

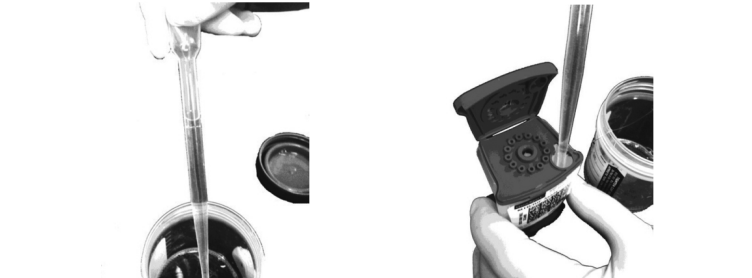


圖5.將經過去污化處理的液化檢體分注到試劑匣的檢體室中

- 用力關閉試劑匣蓋。如果需要重新測試，可將剩餘的液化檢體在2至8°C下保存4小時。

9. 檢測開始

重要：如果執行的是GeneXpert Dx系統，則在開始測試之前，請確保系統執行的是GeneXpert Dx軟件4.7b或更高版本，並且本產品檢測定義檔已滲入到軟體中

執行檢測程序的基本步驟列於本節。其他詳細說明，依使用設備參閱GeneXpert Dx System操作手冊。

注意:若系統管理者變更預設權限的系統工作流程，步驟可能不同

- 打開GeneXpert 設備電源：
 - 如果使用GeneXpert Dx設備，先啟動機器再啟動電腦。GeneXpert軟體會自動執行。
 - 若未自動執行，請按2下window桌面的GeneXpert Dx軟體圖示快捷徑。
- 以您的使用者名稱和密碼登入GeneXpert設備系統軟體。
- 在GeneXpert系統視窗，按下Create test(GeneXpert Dx)進入新增檢測視窗。
- 掃描病人編號（選配），如果鍵入病人編號，確保正確鍵入病人編號。病人編號有關的測試結果會顯示在“查看結果(View result)”的視窗中。
- 掃描或輸入檢體編號。如果鍵入檢體編號，確保正確鍵入檢體編號。檢體編號有關的測試結果會顯示在“查看結果(View result)”的視窗中。
- 掃描本產品檢測匣的條碼。會出現Create Test(產生測試)視窗，使用條碼信息，該軟體會自動在下列對話框內填入內容：選擇分析檢測，試劑批號顯示，檢測匣序號，和有效日期。
- 按下“Start Test”(GeneXpert Dx)。如有需要，輸入您的密碼。
- 以GeneXpert Dx設備：
 - 綠燈閃爍時打開儀器模組的門，並裝上檢測匣。
 - 關閉模組的門。測試開始且綠色指示燈停止閃爍。當測試完成，指示燈熄滅。

- 直到設備打開門鎖，才可打開模組門並取出檢測匣。
- 根據您所在機構的檢體廢棄物標準做法，丟棄使用過的檢測匣。

10.查看和列印結果

查看及列印結果基本步驟列於本節，其他詳細說明，依使用設備參閱GeneXpert Dx System操作手冊。

注意: 如果使用LIS發報告，請確認LIS結果與患者ID字段的系統結果相匹配；如果結果衝突，則僅報告系統結果。

- 按“View Results”查看結果
- 測試完成時，按“View Results”內的Report，可查看報告或產生PDF報告檔。

11.品管

每個測試包含檢體處理品管（SPC）和採針檢查品管（PCC）。SPC－確保檢體正確處理。SPC含有乾燥孢子狀的非或感性孢子在每個試劑匣中，以驗證MTB的適當處理。如果生物體存在，SPC會驗證是否已發生MTB裂解，並驗證了檢體處理是否適當。另外，此品管檢測即時PCR分析的檢體相關抑制。SPC在陰性檢體中應為陽性，在陽性檢體中可以為陰性或陽性。如果SPC符合驗證的接受標準，則通過。如果在陰性測試中未檢測到SPC，則測試結果將為“無效”。採針檢查品管（PCC）－在PCR反應開始之前，GeneXpert Dx系統從採針的螢光信號測量來監測 bead復水、反應管充填、採針完整和染料穩定。如果符合驗證的標準，那麼採針檢查品管為合格。

12.結果判讀

GeneXpert儀器系統藉由量測的螢光信號和內建軟體的計算公式產生結果。結果可以在View Results視窗中看到。具體示例請參見圖6，圖7和圖8，所有可能結果的列表表參見表2。

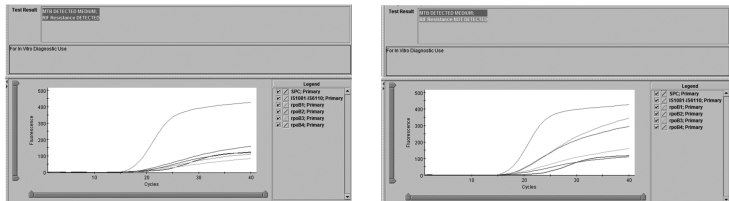


圖7.檢測到中量的MTB；未檢測到RIF抗性（GeneXpert Dx詳細用戶視窗）

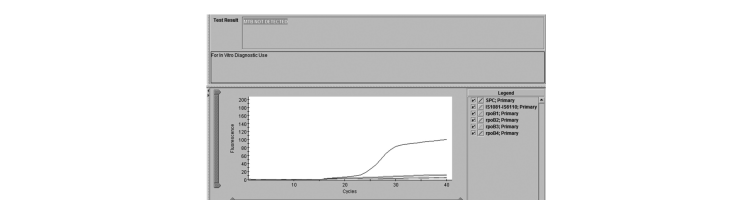


表2.本產品測定結果和判讀

結果	判讀
檢測到高量的MTB；偵測到RIF抗性	檢體中存在MTB目標： <ul style="list-style-type: none">檢測到<i>rpoB</i>基因目標序列的突變。
檢測到中量的MTB；偵測到RIF抗性	<ul style="list-style-type: none">SPC：NA（不適用）。不需要SPC信號，因為MTB擴增可以與該品管競爭 採針檢查 - PASS; 所有採針檢查結果通過
檢測到低量的MTB；偵測到RIF抗性	
檢測到非常低量的MTB；偵測到RIF抗性	檢體中存在MTB目標： <ul style="list-style-type: none">未檢測到<i>rpoB</i>基因目標序列的突變。
檢測到高量的MTB；未偵測到RIF抗性	<ul style="list-style-type: none">SPC：NA（不適用）。不需要SPC信號，因為MTB擴增可以與該品管競爭 採針檢查 - PASS; 所有採針檢查結果通過
檢測到中量的MTB；未偵測到RIF抗性	
檢測到低量的MTB；未偵測到RIF抗性	
檢測到非常低量的MTB；未偵測到RIF抗性	檢體中存在MTB目標： <ul style="list-style-type: none">由於信號檢測不足，無法確定RIF抗藥性。 SPC：NA（不適用）。不需要SPC信號，因為MTB擴增可以與該品管競爭 採針檢查 - PASS; 所有採針檢查結果通過
檢測到高量的MTB；不確定RIF的抗性	
檢測到中量的MTB；不確定RIF的抗性	檢體中存在MTB目標： <ul style="list-style-type: none">由於信號檢測不足，無法確定RIF抗藥性。 SPC：NA（不適用）。不需要SPC信號，因為MTB擴增可以與該品管競爭 採針檢查 - PASS; 所有採針檢查結果通過
檢測到低量的MTB；不確定RIF的抗性	
檢測到非常低量的MTB；不確定RIF的抗性	
檢測到微量的MTB；不確定RIF的抗藥性	
未檢測到MTB	檢體中未存在MTB目標： <ul style="list-style-type: none">SPC：通過。SPC溶解達到了接受標準。 採針檢查 - PASS; 所有採針檢查結果通過
無效	無法確定是否存在MTB。SPC不符合驗收標準，檢體未正確處理或PCR被抑制。重複測試。請參閱本文件的“重新測試步驟”部分。 <ul style="list-style-type: none">MTB無效：無法確定是否存在MTB DNA。 SPC：失敗。MTB目標結果為陰性，並且SPC Ct不在有效範圍內。 採針檢查 - 通過; 所有採針檢查結果通過。
錯誤	無法確定是否存在MTB。重複測試。請參閱本文件的“重新測試步驟”部分。沒有結果表明收集的數據不足。例如，操作員停止了正在進行的測試。 <ul style="list-style-type: none">MTB：無結果 SPC：無結果 採針檢查* - 失敗; 所有或一個採針檢查結果失敗。 *如果採針檢查通過，則錯誤是由系統組件故障。
沒結果	無法確定是否存在MTB。重複測試。請參閱本文件的“重新測試步驟”部分。沒有結果表明收集的數據不足。例如，操作員停止了正在進行的測試。 <ul style="list-style-type: none">MTB：無結果 SPC：無結果 PCC：NA（不適用）

表3. Xpert MTB / RIF Ultra檢測：所有可能的結果

TB結果	RIF結果
檢測到高量的MTB	偵測到RIF抗性
檢測到高量的MTB	未偵測到RIF抗性
檢測到高量的MTB	不確定RIF的抗性
檢測到中量的MTB	偵測到RIF抗性
檢測到中量的MTB	未偵測到RIF抗性
檢測到中量的MTB	不確定RIF的抗性
檢測到低量的MTB	偵測到RIF抗性
檢測到低量的MTB	未偵測到RIF抗性
檢測到低量的MTB	不確定RIF的抗性
檢測到非常低量的MTB	偵測到RIF抗性
檢測到非常低量的MTB	未偵測到RIF抗性
檢測到非常低量的MTB	不確定RIF的抗性
檢測到微量的MTB ^a	不確定RIF的抗性
未檢測到MTB	
無效	
錯誤	
沒結果	

a.微量結果表示檢測到低量的MTB，但未檢測到RIF抗性結果。這是由於與使用單拷貝*tpoB*基因進行RIF耐藥性檢測相比，使用多拷貝目標*IS6110*和*IS1081*進行TB檢測的靈敏度提高了。因此，無法在微量檢體中決定RIF為抗性或敏感性結果。微量檢體RIF抗性是不確定的。

12.1重複測定的原因

如果出現以下測試結果之一，請使用新的試劑匣重複測試。

- 無效結果指示SPC失敗。檢體未正確處理或PCR被抑制。
- 錯誤結果指示PCC失敗，並且可能由於反應管未正確填充而導致測定中止，檢測到試劑探針完整性問題，因為超出了最大壓力極限，或者GeneXpert模組發生了故障。
- 無結果表示收集的數據不足。例如，操作員停止了正在進行的測試。

12.2重新測試步驟

如果有剩餘的新鮮的痰液或沉澱物，在執行測定之前，請使用新的SR對痰液或沉澱物進行淨化和液化。參見第8節“測定步驟”或第8.2節“未處理痰的步驟”。如果您有足夠的剩餘SR處理過的檢體，並且在將SR首次添加到檢體中的4小時內，則可以使用剩餘的檢體來準備和處理新的試劑匣。重新測試時，請始終使用新試劑匣並立即開始測試。請參閱第8.3節，準備試劑匣。

13.限制

由於MTB的檢測取決於檢體中存在的生物數量，因此結果正確性取決於檢體的正確收集，處理和存儲。錯誤的測試結果可能是由於檢體採集，處理或儲存不當，技術錯誤，檢體混合或起始原料濃度不足而引起的。為避免錯誤結果，必須仔細遵守本仿單說明中的說明。

陽性測試結果不一定表明存在活生物體。但是，它推測對MTB和Rifampin的抗藥性存在。

引子或探針結合區的突變或多能性可能會影響新的或未知的MDR-MTB或利福平抗性菌株的檢測，從而導致錯誤的利福平敏感性結果。

未對18歲以下的患者進行本產品性能的評估。

本產品無法提供對利福平敏感性的確認，因為可能存在除本裝置檢測到的以外的利福平耐藥機制，這可能與缺乏對臨床治療的反應有關。本產品檢測到的具有MTB複雜DNA和*rpoB*基因的利福平抗性相關突變的檢體應考慮用於其他藥物敏感性測試。

本產品的測試性能取決於操作員的熟練程度以及對測定步驟的遵守程度。分析方法錯誤可能導致偽陽性或偽陰性結果。所有設備操作員均應接受適當的設備培訓。

14.性能特徵

本節列出了本產品的性能特徵。

14.1臨床研究設計

評估本產品的性能特徵，以檢測MTB複雜DNA以及檢測痰檢體相對於培養皿（固體和/或液體介質）和藥物敏感性的RIF抗藥相關突變測試（DST）。這項多中心研究使用了從18歲以上受試者收集的前瞻性和直接保存（原始）的痰或濃縮沉積物檢體。受試者（結核病疑似患者）包括在研究開始後的6個月內未進行任何結核治療或至少3天治療的肺結核疑似患者，以及先前曾接受過結核病治療的懷疑多重抗藥性結核病的受試者（多重抗藥性結核病疑似患者）。該研究在全球範圍內進行（白俄羅斯，巴西，中國，喬治亞州，德國，印度，意大利，肯尼亚，秘魯，南非，烏干達，越南和美國）。僅使用結核病疑似患者的數據評估了本產品MTB的靈敏度和特异性。而多重抗藥性結核病疑似患者的數據被結合起來以評估RIF抗藥性的表現。檢體來自研究對象，男性61％（n = 1111），女性35％（n = 648）；4％（n = 76）的性別未知。他們來自不同地區：12％（n = 217）來自美國（加利福尼亞，紐約和佛羅里達），而88％（n = 1618）來自美國以外的國家（德國，白俄羅斯，巴西，中國，喬治亞州，印度，意大利，南非，肯尼亞，秘魯，越南和烏干達）。在1835個檢體中，前瞻性收集了1228個檢體，其中607個檢體來自凍結的保存庫。

14.2本產品跟MTB培養比較

從每個研究對像中收集三份痰檢體用於臨床研究。對於前瞻性的檢體，第一個痰檢體通過本產品檢測，後兩個檢體用於TB培養。對於保存的檢體，可從標準的管理法中獲得培養結果。本產品是使用第一個具有足夠體積的檢體進行分析。如果測定結果無法確定（錯誤，無效或無結果），則重新測試檢體如果有足夠的體積。總體而言，來自合格受試者測試檢體中的1.0％（19/1854； 95％CI：0.7、1.6）無法確定的。受試者的抗酸桿菌（AFB）抹片狀態通過檢體中的Auramine-O（AO）螢光或Ziehl-Neelsen（ZN）抹片染色確定，並具有與本產品相對應的結果。根據受試者在7天之內收集的所有檢體的MTB培養結果，定義所有受試者的MTB培養狀態。

表4顯示了本產品相對於MTB培養檢測MTB的效能，按AFB抹片狀態分類。在抹片陽性和抹片陰性檢體中，靈敏度為99.5％（426/428），95％CI：98.3、99.9和73.3％（200/273），95％CI：67.7、78.2。無論AFB抹片如何，本產品的總體特异性為95.5％（1222/1280），95％CI：94.2，96.5。

		抹片I培養				
		陽性		陰性		
		AFB抹片+	AFB抹片-	整體培養+	整體培養-	
Xpert MTB/RIF Ultra	檢測到MTB	426	200	630a	58	688
	未檢測到MTB	2	73	75	1222	1297
	全部	428	273	705	1280	1985
抹片陽性效能:						
靈敏度: 99.5% (426/428), 95% CI: 98.3, 99.9						
抹片陰性效能:						
靈敏度: 73.3% (200/273), 95% CI: 67.7, 78.2						
整體效能:						
靈敏度: 89.4% (630/705), 95% CI: 86.9, 91.4						
特异性: 95.5% (1222/1280), 95% CI: 94.2, 96.5						

a.4個培養陽性檢體的抹片結果不可用。

表5顯示了本產品相對於MTB培養檢測MTB的性能，按非美國地區對美國地區分類。在1985年的檢體中，有1768個來自美國以外地區的檢體，有217個來自美國地區的檢體。網

	非美國		美國	
	數量	百分比(95% CI)	數量	百分比(95% CI)
抹片陽性靈敏度	380/382	99.5% (98.1,99.9)	46/46	100.0% (92.3, 100)
抹片陰性靈敏度	180/245	73.5% (67.6, 78.6)	20/28	71.4% (52.9, 84.7)
整體靈敏度	564/631 ^a	89.4% (86.7, 91.6)	66/74	89.2% (80.1, 94.4)
整體特异性	1080/1137	95.0% (93.6, 96.1)	142/143	99.3% (96.1, 99.9)

a.4個培養陽性檢體抹片結果不可用。

14.3本產品與抹片的培養性能比較

本產品檢測MTB的性能相對於由AO和ZN進行的AFB抹片MTB培養的檢體。結果列於表6。在1985個檢體中，1810個檢體為AO塗片，有175個檢體為ZN塗片。

	Auramine O方法		Ziehl-Neelsen 方法	
	數量	百分比(95% CI)	數量	百分比(95% CI)
抹片陽性靈敏度	386/388	99.5% (98.1,99.9)	40/40	100% (91.2, 100)
抹片陰性靈敏度	153/219	69.9% (63.5, 75.6)	47/54	87.0% (75.6, 93.6)
整體靈敏度	543/611 ^a	88.9% (86.1, 91.1)	87/94	92.6% (85.4, 96.3)
整體特异性	1145/1199	95.5% (94.2, 96.5)	77/81	95.1% (88.0, 98.1)

a.4個培養陽性檢體抹片結果不可用。

14.4本產品與不同檢體培養的性能比較

本產品檢測MTB的性能相對於未經處理的痰液和濃縮痰液沉積物檢體的MTB培養。結果列於表7。在1895個檢體中，有1543個未處理的痰液檢體和442個濃縮的痰液沉積物檢體。

	未經處理痰液		痰液沉積物	
	數量	% (95% CI)	數量	% (95% CI)
抹片陽性靈敏度	323/324	99.7% (98.3, 99.9)	103/104	99.0% (94.8, 99.8)
抹片陰性靈敏度	168/229	73.4% (67.3, 78.7)	32/44	72.7% (58.2, 83.7)
整體靈敏度	495/557 ^a	88.9% (86.0, 91.2)	135/148	91.2% (85.6, 94.8)
整體特异性	937/986	95.0% (93.5, 96.2)	285/294	96.9% (94.3, 98.4)

a.4個培養陽性檢體抹片結果不可用。

14.5本產品與RIF藥物敏感性測試的性能比較

使用瓊脂比例法，Middlebrook或Lowenstein-Jensen培養基，Thermo Scientific Sensititre™結核分枝桿菌複合群MIC盤或BD BACTECTM MGITTM 960 SIRE分析，對MTB陽性培養分離物對利福平的靈敏性（DST）進行了測試。本產品檢測RIF抗藥相關突變的性能相對於MTB培養物分離物的DST結果。

僅當設備檢測到MTB複合物的*rpob*基因序列時，本產品才會報告RIF抗性相關突變的檢測結果。RIF敏感性抗藥性的效能報告在表8中。未完成DST，未檢測到MTB和檢測到MTB；不確定RIF抗性的檢體會從分析中排除。RIF結果不確定的67個檢體中有63個檢測到微量MTB；不確定RIF抗性。

藥物靈敏度測試				
Xpert MTB/ RIF Ultra	檢測到MTB; 偵測到RIF抗性	RIF抗性	RIF敏感性	全部
	檢測到MTB; 未偵測到RIF抗性	5b	314	319
	全部	133	326	459
		靈敏度: 96.2% (128/133), 95% CI: 91.5, 98.4		

a.不一致的测序結果：12個中11個有RIF抗藥性，12中1個不可用。

b.不一致的测序結果：5個中5個有RIF敏感性，5中1個不可用。

14.6本產品與Xpert MTB/RIF Assay的性能比較

本產品和Xpert MTB / RIF分析法測試了1594個檢體。分析之間的總體一致性百分比為96.5％[（1538/1594）95％CI：95.5，97.3]。陽性一致性和陰性一致性分別為99.2％[（491/495）95％CI：97.9，99.7]和95.3％[（1047/1099）95％CI：93.8，96.4]。

15.分析效能

15.1干擾物質

本產品在人工痰基質中進行了一項研究，以評估潛在干擾物質的影響。總共評估了32種潛在干擾物質。潛在的內源性干擾物質可能包括但不限於血液，膿液（白細胞），來自呼吸道的細胞，黏蛋白，人類DNA和來自胃的胃酸。其他潛在的干擾物質可能包括麻醉藥，抗生素，抗菌藥，抗結核藥，抗毒藥，支氣管擴張藥，吸入性支氣管擴張藥，鼻內流感病毒疫苗，殺菌漱口水，檢體處理試劑，肺炎支原體肺炎藥，順勢療法抗過敏藥，皮質類固醇鼻藥，鼻凝膠，鼻噴霧劑，口服麻醉劑，口服化痰劑，中和緩衝液和煙草。這些物質在表9中列出，並顯示了活性成分和測試濃度。陽性和陰性檢體均包括在本研究中。陽性檢體使用BCG細胞在接近3倍分析偵測極限重複測試8次。陰性檢體，由不含MTB菌株的物質組成進行了8次重複測試，以確定對檢體處理品管（SPC）性能的影響。對於測試的32種潛在干擾物質中的任何一種均未觀察到抑制作用（表9）。

物質	說明/有效成分	測試濃度
Blood	Blood (human)	5% (v/v)
Germicidal Mouthwash	Chlorhexidine gluconate (0.12%), 20% solution	20% (v/v)
Specimen Processing Reagents	Cetylpyridinium chloride, 1% in 2% NaCl	0.5% (v/v) in 1% NaCl
Specimen Processing Reagents	Cetylpyridinium chloride, 1% in 2% NALC	0.5% (v/v) in 1% NALC
Specimen Processing Reagents	Cetylpyridinium chloride, 1% in 2% NALC plus 25 mM Citrate	0.5% (v/v) in 1% NALC plus 12.5 mM Citrate
Gastric Acid	pH 3 to 4 solution in water, neutralized with sodium bicarbonate	100% (v/v)
Human DNA/Cells	HELA 229	10 ⁸ cells/mL
Antimycotic; Antibiotic	Nystatin oral suspension, 20%	20% (v/v)
White Blood Cells (human)	WBC/Pus matrix (30% buffy coat; 30% plasma; 40% PBS)	100% (v/v)
Anesthetics (endotracheal intubation)	Lidocaine HCl 4%	30% (v/v)
Nebulizing solutions	NaCl 5% (w/v)	5% (w/v)
Mucin	Mucin 5% (w/v)	5% (w/v)
Antibacterial, systemic	Levofloxacin 25 mg/mL	5 mg/mL
Nasal corticosteroids	Fluticasone 500 mcg/spray	5 µg/mL
Inhaled bronchodilators	Albuterol Sulfate 2.5 mg/3mL	100 µg/mL
Oral anesthetics	Orajel (20% Benzocaine)	5% (w/v)
Anti-viral drugs	Acyclovir, IV 50 mg/mL	50 µg/mL
Antibiotic, nasal ointment	Neosporin (400U Bacitracin, 3.5 mg Neomycin, 5000U Polymyxin B)	5% (w/v)
Tobacco	Nicogel (40% tobacco extract)	0.5% (w/v)
Anti-tuberculosis drugs	Streptomycin 1mg/mL	25 µg/mL
Anti-tuberculosis drugs	Ethambutol 1 mg/mL	50 µg/mL
Anti-tuberculosis drugs	Isoniazid 1 mg/mL	50 µg/mL
Oral expectorants	Guaifenesin (400mg/tablet)	5 mg/mL
Anti-tuberculosis drugs	Pyrazinamide 10 mg/mL	10 µg/mL
Nasal gel (Homeopathic)	Zicam gel	50% (w/v)
Nasal spray	Phenylephrine 0.5%	1% (v/v)
Anti-tuberculosis drugs	Rifampicin 1mg/mL	25 µg/mL
Allergy relief medicine (Homeopathic)	Tea tree oil (<5% Cineole, >35% Terpinen- 4-01)	0.5% (v/v)
Live intranasal influenza virus vaccine	Live influenza virus vaccine FluiMist	5% (v/v)
Pneumocystis jiroveci medication	Pentamidine	300 ng/mL (v/v)
Bronchodilator	Epinephrine (injectable formulation)	1 mg/mL
Anti-tuberculosis drugs	Amoxicillin	25 µL

15.2分析靈敏度

進行了進一步的研究以確定該測定的分析偵測極限（LoD）的95％信賴區間。偵測極限定義為每個檢體的菌落形成單位（CFU）的最低數量，可以以95％的信賴度與陰性檢體進行可重複區分。通過重複測試20次摻入陰性臨床痰液的不同濃度結核分枝桿菌（H37Rv）細胞檢體，確定分析性LoD。

在研究條件下，結果表明結核分枝桿菌複合群的LoD數值估計為11.8 CFU / mL，95％信賴區間為8.6 CFU至15 CFU。使用概率分析來確定估計值和置信度，並採用不同濃度的數據（每個級別的每項測試的陽性數）。

15.3分析特异性(排除)

本產品測試了30種非結核分枝桿菌（NTM）菌株的培養物。將每種分離物的檢體加樣到緩衝液中3份，並以≥10⁶CFU / mL的濃度進行測試。參見表10。

<i>Mycobacterium avium subsp. avium</i>	<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>
<i>Mycobacterium celatum</i>	<i>Mycobacterium simiae</i>
<i>Mycobacterium chelonae</i>	<i>Mycobacterium szulgai</i>
<i>Mycobacterium goodii</i>	<i>Mycobacterium thermoresistibile</i>
<i>Mycobacterium haemophilum</i>	<i>Mycobacterium triviale</i>
<i>Mycobacterium abscessus</i>	<i>Mycobacterium vaccae</i>
<i>Mycobacterium asiaticum</i>	<i>Mycobacterium xenopi</i>
<i>Mycobacterium flavescens</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
<i>Mycobacterium fortuitum subsp. fortuitum</i>	<i>Mycobacterium interjectum</i>
<i>Mycobacterium gastri</i>	<i>Mycobacterium peregrinum</i>
<i>Mycobacterium genavense</i>	<i>Mycobacterium mucogenicum</i>
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Mycobacterium goodii</i>
<i>Mycobacterium kansasii</i>	<i>Mycobacterium shimodei</i>
<i>Mycobacterium malmhoense</i>	<i>Mycobacterium phlei</i>
<i>Mycobacterium marinum</i>	<i>Mycobacterium terrae</i>

在研究條件下，所有NTM分離株均報告為未檢測到MTB。陽性和陰性品管都包括在研究中。特异性為100％。

另外，為了確定高濃度的NTM是否會干擾低水平TB的檢測，將表10中列出的六種菌株與痰中的TB菌株H37Rv混合，最終濃度為10⁶ CFU / mL NTM和36 CFU / mL H37Rv。測試對TB（H37Rv）干擾能力的NTM菌株包括：

- M. abscessus, ATCC 19977
- M. avium National Jewish Hospital clinical isolates
- M. celatum, National Jewish Hospital clinical isolates
- M. kansasii, ATCC 12478
- M. goodnae, ATCC 14470
- M. intracellulare, National Jewish Hospital clinical isolates

測試的NTM菌株不會干擾36 CFU / mL的結核分枝桿菌複合群檢測；如此，訊息與單獨測試H37Rv時相同。

15.4物種/菌株特异性測試

本產品以下的微生物做偽陽性測試，包括革蘭氏陰性細菌，革蘭氏陽性細菌，真菌生物，

病毒和酵母菌的。將每個分離株檢體重複檢體摻入緩衝液中，並以≥10⁷CFU / mL（細菌和真菌菌株）或≥10⁶拷貝/ mL（細菌和真菌的基因組DNA）和≥10⁷TCID₅₀ / mL（病毒菌株）的濃度進行測試。

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Respiratory Syncytial Virus Type B</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Rhinovirus</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Chlamydoiphila pneumoniae</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Nocardia asteroides</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Parainfluenza Virus Type 1</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Coronavirus</i>	<i>Parainfluenza Virus Type 2</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Parainfluenza Virus Type 3</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Respiratory Syncytial Virus Type A</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Human metapneumovirus (hMPV) 16 Type A1</i>		

在研究條件下，所有測試的微生物均報告為未檢測到MTB。陽性和陰性品管都包括在研究中。特异性為100％。

15.5包容性分析

使用本產品檢測了37個MTB複合群菌株，其中包括16個具有野生型*rpob*核心區域的利福平敏感性菌株和21個對利福平抗藥菌株。使用針對DNA測試的本產品修改流程，在GeneXpert上測試了來自總共37個MTB菌株的DNA檢體。從設計用於患者檢體測試的流程中最終反應成分和PCR循環條件未改變。其中十二個菌株來自WHO / TDR收集品，六個來自羅格斯大學實驗室收集。這些菌株共同代表了來自8個國家的分離株，並包含21個RIF抗藥分離株，其中包括單個，雙和三個*rpob*核心區域突變。通過將100 µL DNA檢體添加到試劑匣的裂解液室中來測試檢體。陰性反應應用緩衝液作為檢體。該測定法正確鑑定了所有16種野生型菌株，並正確確定了21株對利福平抗藥的菌株中有18株具有*rpob*核心區突變的利福平抗藥性。其3個突變菌株為不確定的利福平結果。

15.6痰液檢體中分枝桿菌的存活性分析

本產品檢體試劑的消毒能力是使用標準定量的殺結核培養方法確定的。向痰液檢體中摻入高濃度的活牛分枝桿菌，與檢體試劑以2：1的比例混合，並靜置15分鐘。靜置後，通過稀釋和過濾中和檢體試劑/痰混合物，然後進行培養。相對於未處理的對照組，處理過的痰液牛分枝桿菌生物的生存力降低了至少6個對數。每個實驗室必須使用自己的標準化方法確定檢體試劑消毒特性的有效性，並且必須遵守建議的生物安全法規。

16.參考文獻

- WHO report 2008. http://www.who.int/tb/publications/global_report/2008.
- WHO report 2017. http://www.who.int/tb/publications/global_report/gtr2017_executive_summary.pdf?ua=1.
- Anti-tuberculosis resistance in the world: fourth global report. WHO/HTM/TB/2008.394.
- Morris SL, Bai GH, Suffys P, Portillo-Gomez L, Fairchok M, Rouse D. Molecular mechanisms of multidrug resistance in clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis. J Infect Dis. 1995; 171:954-60.
- Rattan A, Kalia A, Ahmad N. 1998. Multidrug-Resistant Mycobacterium tuberculosis: Molecular Perspectives, Emerging Infectious Diseases, Vol.4 No.2, http://www.cdc.gov/nceod/EID/vol4no2/rattan.htm.
- Francis J. Curry National Tuberculosis Center and California Department of Public Health, 2008: Drug-Resistant Tuberculosis. A Survival Guide for Clinicians, Second Edition.
- Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 1993. Richmond JY and McKinney RW (eds). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
- REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification, labelling and packaging of substances and mixtures amending and repealing the List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
- Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazardous Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpart Z).
- Kent PT, Kubica GP. 1985. Public Health Mycobacteriology—A Guide for Level III Laboratory, Centers of Disease Control, Atlanta, Publication no. PB 86-16546.
- Helb, D. et al. Rapid Detection of Mycobacterium tuberculosis and Rifampin Resistance by Use of On-Demand, Near-Patient Technology. Journal of Clinical Microbiology. 2010. 48:1. 229-237.
- Banada, P. et al. Containment of Bioaerosol Infection Risk by the Xpert MTB/RIF Assay and Its Applicability to Point-of-Care Settings. Journal of Clinical Microbiology. 2010. 48:10. 3551-3557.

17.技術支援

在聯繫Cepheid技術支持之前，請收集以下信息：