

艾斯柏特人類免疫缺陷病毒擴增檢測試劑組

Xpert HIV-1 Viral Load XC

使用前請務必詳閱原廠之使用說明書並遵照指示使用

衛部醫器輸字第 037591 號

本產品限專業人員使用

1. 型號

GXHIV-VL-XC-CE-10

2. 品名

Xpert HIV-1 Viral Load XC

3. 效能

本產品（擴增檢測）是一種體外反轉錄聚合酶鏈反應（RT-PCR）檢測，用於定量人體 EDTA 血漿中的人類免疫缺陷病毒 1 型（HIV-1）RNA，使用自動化 GeneXpert 系統進行檢測。

該檢測旨在輔助臨床管理 HIV-1 感染患者。

本產品設計用於結合臨床表現和其他實驗室指標來預測疾病進程，並作為輔助工具來評估反轉錄病毒治療對 HIV-1 感染者的病毒反應，通過測量血漿中 HIV-1 RNA 水平的變化來進行評估。

本產品預定由受專業培訓的專業人員在實驗室或患者附近的檢測環境中操作。

本產品不適用於捐血者 HIV-1 感染的篩查檢測。

4. 概要說明

人類免疫缺乏病毒（HIV）是引起後天免疫缺乏症候群（AIDS）的病原體。HIV 可透過性接觸、接觸受感染的血液、體液或血液製品、胎兒期的感染、或新生兒的週產期或產後感染傳播。

未經治療的 HIV-1 感染的特徵是高度的病毒產生和 CD4 T 細胞的破壞，儘管通常有較長的臨床潛伏期，但最終會導致顯著的 CD4 T 細胞淨損失和 AIDS。

HIV 診斷在管理 HIV 感染患者的治療和護理方面仍然至關重要。利用核酸為基礎的分子診斷技術測量血漿中 HIV-1 RNA 病毒載量，已成為評估 HIV 陽性患者預後及抗反轉錄病毒治療反應的標準方法。病毒載量水平的評估是預測疾病進展速度的有力指標，無論是單獨使用還是與 CD4 T 細胞計數結合使用，都具有極高的預後價值。

本產品利用即時反轉錄聚合酶鏈反應（RT-PCR）技術，在 HIV-1 感染者的血漿中定量檢測 HIV-1 RNA，達到高度靈敏性。

5. 程序原理

GeneXpert 儀器系統自動化並整合樣品準備、核酸萃取、擴增和目標序列的檢測，適用於簡單或複雜樣品，並使用即時 RT-PCR 進行檢測。系統包括一台儀器、個人電腦，以及預裝軟體用於運行測試和查看結果。系統需要使用一次性 GeneXpert 抛棄式試劑夾，這些試劑夾包含 RT-PCR 試劑，並進行樣品提取和 RT-PCR 過程。由於試劑夾是獨立包裝的，可最大限度減少樣品間的交叉污染。有關系統的完整說明，請參閱相應的 GeneXpert Dx 系統操作手冊。

本產品包含檢測樣品中 HIV-1 RNA 的試劑，以及兩個內部對照，用於定量 HIV-1 RNA。這些內部對照也用來監測 RT 和 PCR 反應中的抑制劑是否存在。HIV-1 RNA 的擴增和檢測是通過標靶 HIV-1 基因組中的高度保守的 LTR 區域和聚合酶基因（雙靶）的引子和探針來實現的。探針檢查控制（PCC）用於確認試劑的再填充、盒內 PCR 管裝填、探針完整性和染料穩定性。

本產品已根據第 4 版世界衛生組織 (WHO) 國際標準 (NIBSC 代碼 16/194) 進行標準化。

6. 試劑和設備

6.1 提供的材料

本產品試劑組包括足夠處理 10 個檢體或品管樣本的試劑，本試劑組包括以下材料：

本產品試劑匣含有完整反應管	10 個
Bead 1, Bead 2, and Bead 3 (冷凍乾燥)	各 1 個/試劑匣
裂解試劑 (硫氰酸胍)	2.0 mL/試劑匣
洗滌試劑	0.5 mL/試劑匣
溶析試劑	1.5 mL/試劑匣
結合試劑	2.4 mL/試劑匣
蛋白酶K試劑	0.48 mL/試劑匣
拋棄式移液吸管	每盒 10 個
光碟	每盒 1 個
檢測定義文件	
將 ADF 導入 GeneXpert 軟體的指示	
使用說明	

註：安全資料表 (SDS)，可向登錄 www.cepheid.com 的 SUPPORT 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。

7. 儲存和操作

- 將本試劑儲存於 2–28°C。
- 如果試劑盒曾經冷藏，使用前需將其恢復至 15–30°C。
- 請勿打開試劑盒蓋直到準備進行測試。
- 試劑盒打開並加入樣品後，需在 4 小時內使用完畢。
- 請勿使用有洩漏的試劑盒。
- 請勿使用曾經冷凍過的試劑盒。
- 請勿使用超過保存期限的試劑盒。

8. 其他材料需求但未提供

- GeneXpert Dx 系統：GeneXpert 儀器、配備專有 GeneXpert 軟體版本 4.7b 或更高版本 (GeneXpert Dx 系統)、條碼掃描器和適當的 GeneXpert 系統操作手冊。
- 印表機：如需印表機，請聯繫 Cepheid 技術支持以安排購買推薦的印表機。
- 漂白劑或次氯酸鈉。
- 乙醇或變性乙醇。

9. 警告及預防措施

- 僅供體外診斷使用
- 具感染性的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。

- 依照實驗室安全規定操作化學試劑和生物性檢體。
- 如果使用漂白水和設施可能發生飛濺，應採取適當的安全措施
- 建議充分清洗眼睛或沖洗皮膚以預防此類事件。
- 所有的生物性廢棄物、生物性污染物質及可能危害物質需依據實驗場所的標準指示進行丟棄，並且符合所處國家、地區或地方法規，以安全且合乎規定的方法處理
- 勿以其他試劑取代 本產品。
- 開封取出的檢測匣，若經掉落請勿使用。
- 請勿震盪檢測匣。震盪或掉落在上蓋已打開的檢測匣可能產生無效結果。
- 請勿將檢體識別標籤貼於檢測匣上蓋或條碼標籤上。
- 每個檢測匣僅供單次使用，請勿重複使用。
- 若檢測匣的反應管損壞，請勿使用。
- 扱棄式移液吸管或精密移液器的移液管吸頭僅供單次使用，請勿重複使用。
- 操作檢體時請著乾淨的實驗衣和手套。操作不同檢體請更換手套。
- 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。
- 有關儀器系統清潔消毒說明，請參閱相應的 GeneXpert Dx 系統操作手冊。

10. 化學危害

- 信號詞：警告(Warning)
- **聯合國 GHS 危害聲明**
 - 吞嚥下去有害
 - 接觸皮膚可能有害
 - 引起眼睛刺激
- **聯合國 GHS 防範聲明**
- **預防**
 - 處理後徹底洗手。
- **回應**
 - 如果感覺不適，呼叫毒物中心或醫生。
 - 如果發生皮膚刺激：求醫/就診。
 - 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。
 - 如果眼睛刺激持續：尋求醫療諮詢。

11. 檢體採集，運送和儲存

全血的採集應使用用於分子診斷測試方法的 BD Vacutainer PPT 血漿製備試管或使用 K2 EDTA 作為抗凝劑的無菌收集管中。全血應根據製造商的說明離心分離血漿和紅血球。

本產品最少需要 1 mL 血漿。如果使用試劑盒中的移液管，請將血清吸取至球形下方，以轉移所需體積。或者，使用精準的定量吸管，最少檢體量為 1mL 血漿。(請參閱下面第 12.2 節，步驟 6 中的說明)。

製備成血漿之前，全血的採集使用用於分子診斷測試方法的 BD Vacutainer PPT 血漿製備試管或 使用 K2 EDTA 作為抗凝劑的無菌收集管中在 2-30°C 下穩定 24 小時。

血漿從全血分離後可在 2-35°C 下穩定 24 小時，在 2-8°C 下穩定達 7 天或冷凍（≤-18°C 和 -70°C）可穩定六個星期。離心後的血漿應從主採集管中取出儲存。血漿檢體重複五次冷凍/解凍仍可維持穩定，回溶檢體維持在 15-30 °C。全血或血漿樣本的運輸必須遵守病原體的運送的規範。

12. 步驟

12.1 檢體的準備

1. 在全血樣本離心後，可以將 1mL 血漿直接移液到檢測匣中。足夠的檢體量對於獲得有效的測試結果相當重要（請參閱下面的第 12.2 節，檢測匣的準備）。
2. 測試前先將冷凍檢體回溶至 15-30°C
3. 2-8°C 儲存的血漿檢體檢測前應自冰箱取出至室溫(15-30°C) 回溫
4. 2-8°C 儲存或冷凍血漿檢體在使用前檢體需震盪混合 15 秒。如果檢體呈混濁樣，請快速離心(10 秒)使檢體澄清。

12.2 檢體的準備

重要：使用 GeneXpert Dx System 添加檢體到檢測匣(cartridge)需在 4 小時內進行檢測。

注意：檢測匣檢體加樣少於 1 mL 血將會啟動不足量錯誤偵測(ERROR2096 與 2097)，預防儀器進行檢體檢測。

1. 使用拋棄式手套。
2. 加入檢體以前，請將試劑與檢體回溫至 15-30 °C。低於 15°C 的檢體請勿加入試劑夾。
3. 檢查檢測匣。如有損壞，請勿使用。
4. 將檢體標籤標示於試劑夾。
5. 打開檢測匣的蓋子。
6. 加入檢體於試劑夾中。
 - 如果使用試劑組中的移液吸管(圖 1)，取介於球形下緣及刻線上緣的檢體量，加入至少 1 mL 血漿到檢測匣的樣品槽中，避免移液管中有氣泡(圖 1)。將移液管中的檢體全數加入試劑夾中(圖 2)。
 - 如果使用精準的定量吸管，請預先潤濕移液器吸頭一次，方法是用血漿填充移液器吸頭並將其清空到管子。然後，使用預先濕潤的移液器吸頭，從管中向移液器填充至少 1 ml 血漿。清空內容將移液管吸頭插入試劑夾的樣品槽中。

注意：請勿移除此試劑匣上的塑料薄膜。

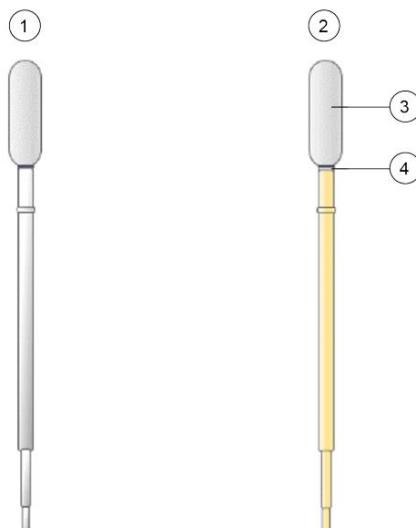


圖 1：移液管

編號	說明	
1	空的移液管	
2	已填充檢體的移液管	
3	球形部分	
4	將血清充滿至球形下方	



圖 2：試劑夾(俯視圖)

7. 關閉檢測匣蓋子，確認檢測匣的蓋子有蓋好。

13. 執行檢測

13.1 GeneXpert Dx System

13.1.1 開始檢測

在開始測試之前，請確保：

重要：

- 系統正在運行正確的 GeneXpert Dx 軟體版本，如章節-需要但未提供的材料所示。
- 將正確的測定定義檔匯入軟體中。

本節列出了查看和列印結果的基本步驟。有關如何查看和列印結果的更詳細說明，請參閱 GeneXpert Dx 系統操作手冊。

注意：如果系統管理員更改了系統的自訂工作流程，則您所遵循的步驟可能會有所不同。

1. 開啟 GeneXpert Dx 系統，然後開啟電腦並登入。GeneXpert 軟體將自動啟動。如果沒有自動啟動，雙擊 Windows 桌面上的 GeneXpert Dx 軟體快捷圖示。
2. 使用您的用戶名和密碼登入。
3. 在 GeneXpert 系統視窗中，點擊「Create Test」(建立測試)。「Create Test」視窗會顯示，並彈出「Scan Patient ID barcode」對話框。
4. 掃描或手動輸入病患 ID。如果手動輸入，請確保病患 ID 正確無誤。病患 ID 與測試結果相關聯，並顯示在「View Results」(查看結果) 視窗及所有報告中。隨後會彈出「Scan Sample ID barcode」對話框。
5. 掃描或手動輸入樣本 ID。如果手動輸入，請確保樣本 ID 正確無誤。樣本 ID 與測試結果相關聯，並顯示在「View Results」(查看結果) 視窗及所有報告中。隨後會彈出「Scan Cartridge Barcode」對話框。
6. 掃描試劑匣上的條碼。透過條碼訊息，軟體會自動填入以下欄位：選擇分析項目 (Select Assay)、試劑

批號 ID (Reagent Lot ID)、試劑匣序號 (Cartridge SN) 和保存期限 (Expiration Date)。

注意：如果試劑盒上的條碼無法掃描，請使用新的試劑盒重複測試。如果您已在軟體中掃描試劑盒條碼，但無法找到分析定義檔案，系統會顯示一個提示畫面，指示分析定義檔案未加載。如果出現此畫面，請聯繫 Cepheid 技術支援。

7. 點擊「Start Test」(開始測試)。如果彈出對話框要求，請輸入您的密碼。
8. 打開閃爍綠燈的儀器模組門，並放入試劑匣。
9. 關上門。測試開始後，綠燈停止閃爍。測試完成時，燈會熄滅。
10. 等待系統解除門鎖後，再打開模組門，然後取出試劑盒。
11. 根據您機構的標準規範，將使用過的試劑匣丟棄在適當的樣本廢棄物容器中。

13.1.2 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 系統操作手冊

1. 按"View Results" 查看結果。
2. 按" View Results" 內的Report，可查看報告或產生 PDF 報告檔。

14. 品管

每項測試包含樣本體積充足性 (SVA) 控制、內部定量標準高和低 (IQS-H 和 IQS-L)、批號特定參數 (LSP)，以及探針檢查控制 (PCC)。

- **樣本體積充足性 (Sample Volume Adequacy, SVA)**：確保樣本已正確加入到試劑盒中。SVA 驗證樣本槽中是否加入了正確體積的樣本。若符合接受標準，SVA 通過；若未通過，系統會顯示錯誤 2096 (無樣本) 或錯誤 2097 (樣本不足)，並阻止測試進行。
- **內部定量標準高和低 (Internal Quantitative Standard High and Low, IQS-H 和 IQS-L)**：IQS-H 和 IQS-L 是每個試劑盒中包含的兩個與 HIV 無關的 Armored RNA 品管，會參與整個測試過程。它們使用批號特定的參數來計算樣本中 HIV-1 RNA 的濃度。此外，IQS-H 和 IQS-L 用於檢測樣本相關的 RT-PCR 反應抑制，並作為樣本處理品管。若循環閾值 (Cts) 在有效範圍內，IQS-H 和 IQS-L 通過。
- **定量用批號特定參數 (Lot Specific Parameters, LSP)**：每批試劑盒的 LSP 都是基於 HIV-1 校正組產生，並可追溯至第四代 WHO HIV-1 國際標準 (NIBSC 編碼 16/194) 及 IQS-H 和 IQS-L。每批試劑盒的 LSP 都是唯一的，用於確保正確的定量。
- **探針檢查控制 (Probe Check Control, PCC)**：在 PCR 反應開始前，GeneXpert 儀器系統測量探針的螢光信號，以監測珠子水合、反應管填充、探針完整性及染料穩定性。若螢光信號符合指定的接受標準，PCC 通過。

15. 結果判讀

結果由 GeneXpert 儀器系統根據測量之螢光訊號強度和內嵌的運算公式自動解釋，並由「查看結果」框內中顯示檢驗結果 (圖 3 至圖 11)。可能的結果列於表格 1 中。

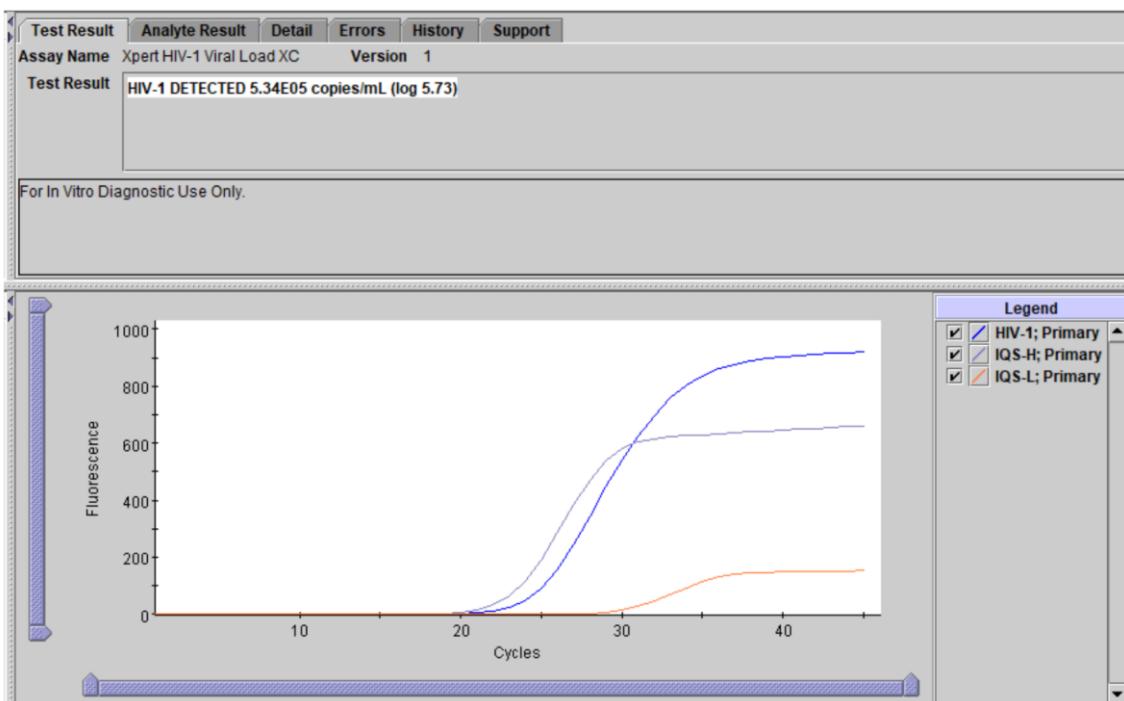
表格 1. 結果判讀

結果顯示	判讀
HIV-1 DETECTED XX copies/mL (logX.XX) 見圖片3及圖片9	檢測到HIV-1目標RNA，病毒量為XX copies/mL (log X.XX) • 目標核酸在定量範圍內($40\text{--}1\times 10^7$ copies/mL) • IQS-H and IQS-L: 通過 • 探針檢查 - 通過; 所有探針檢查結果通過。
HIV-1 DETECTED $> 1 \times 10^7$ copies/mL 見圖片4	HIV-1目標核酸超過分析測量範圍 • IQS-H and IQS-L: 通過 • 探針檢查 - 通過; 所有探針檢查結果通過。
HIV-1 DETECTED < 40 copies/mL 見圖片5	HIV-1目標核酸低於分析測量範圍 • IQS-H and IQS-L: 通過 • 探針檢查 - 通過; 所有探針檢查結果通過。
HIV-1 NOT DETECTED 見圖片6及圖片10	未檢測到HIV-1目標核酸。該結果並未表示患者已清除病毒 • IQS-H and IQS-L: 通過 • 探針檢查 - 通過; 所有探針檢查結果通過。
INVALID 見圖片7	無法確定是否存在HIV-1目標核酸。根據第16.2節中的說明重複測試 • IQS-H/ IQS-L: 失敗, Ct值非在有效範圍內 • 探針檢查 - 通過; 所有探針檢查結果通過。
ERROR 見圖片8	無法確定是否存在HIV-1目標核酸。 根據第16.2節中的說明重複測試 • 探針檢查 - 失敗; 單/多個探針檢查結果失敗。
NO RESULT 見圖片11	無法確定是否存在HIV-1目標核酸。根據第16.2節中的說明重複測試 沒有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。

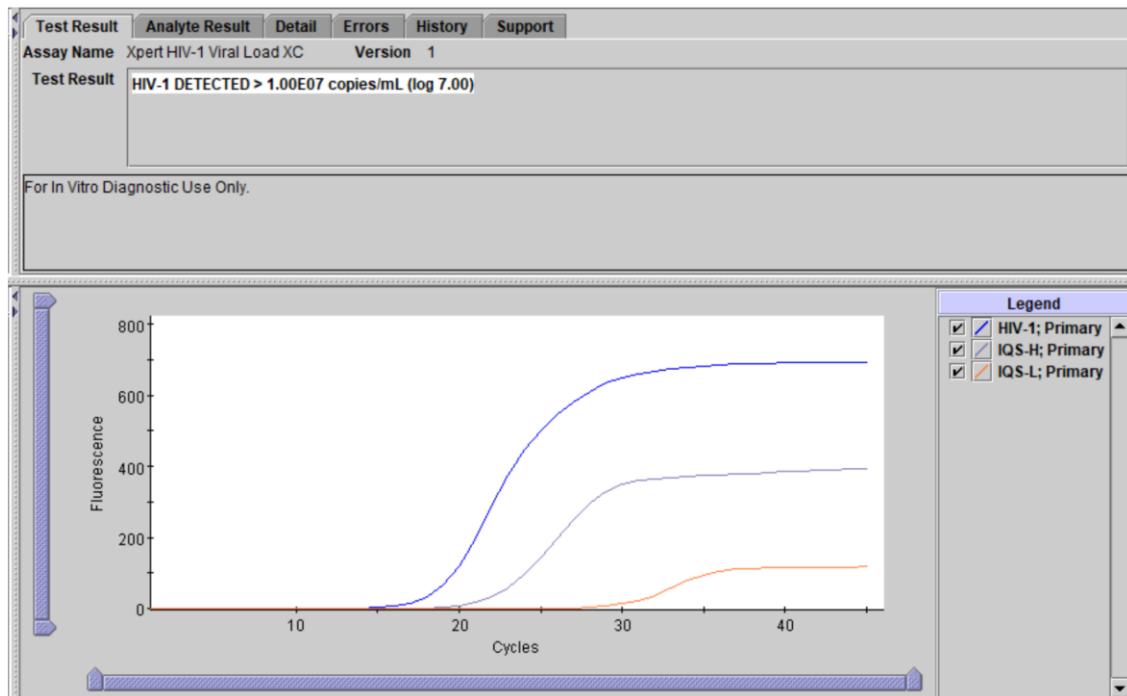
檢驗結果單位可在軟體內將拷貝數/mL 轉換為 IU/mL。變更設定說明請參閱 GeneXpert Dx 系統操作手冊。

本產品換算係數為 1 個拷貝數 = 2.06 國際單位 (IU)

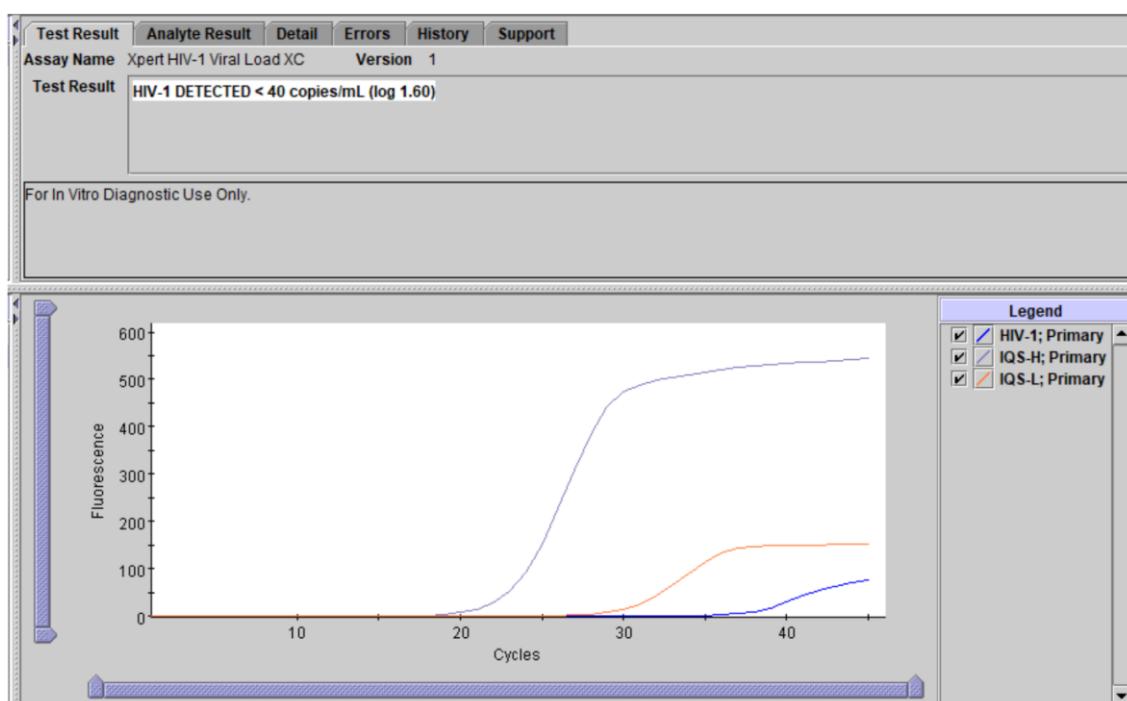
螢幕截圖僅供舉例參考。版本可能與此試劑說明書中顯示有所差異。



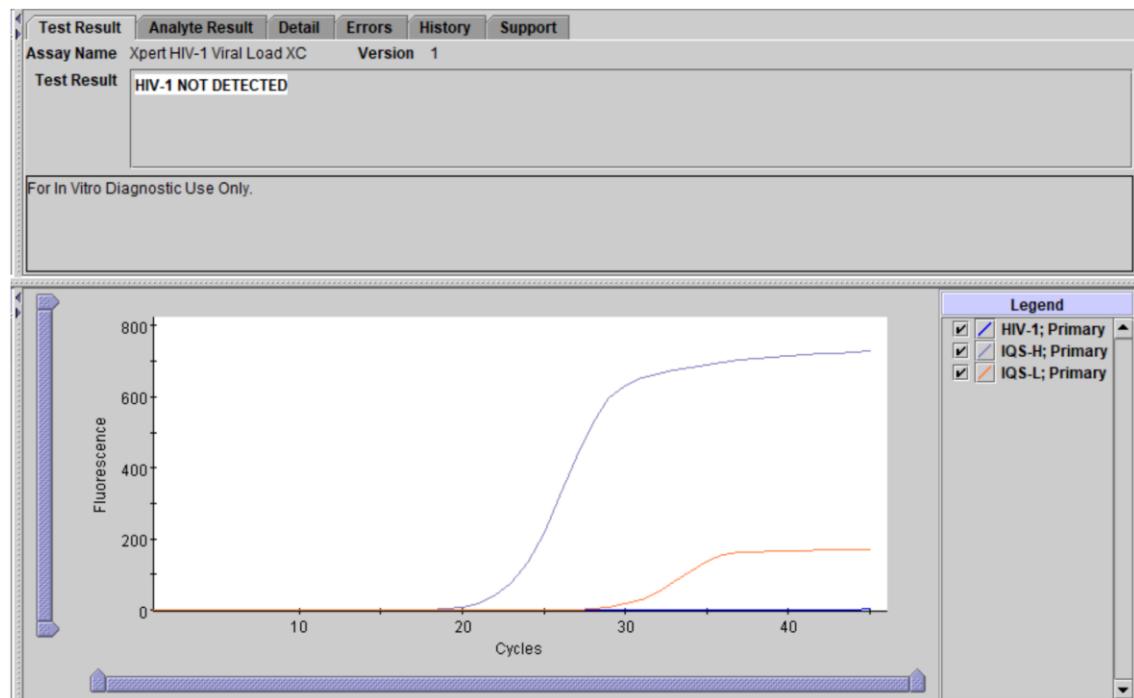
圖片 3. 檢測結果：檢測到 HIV-1 及定量(GeneXpert Dx System)



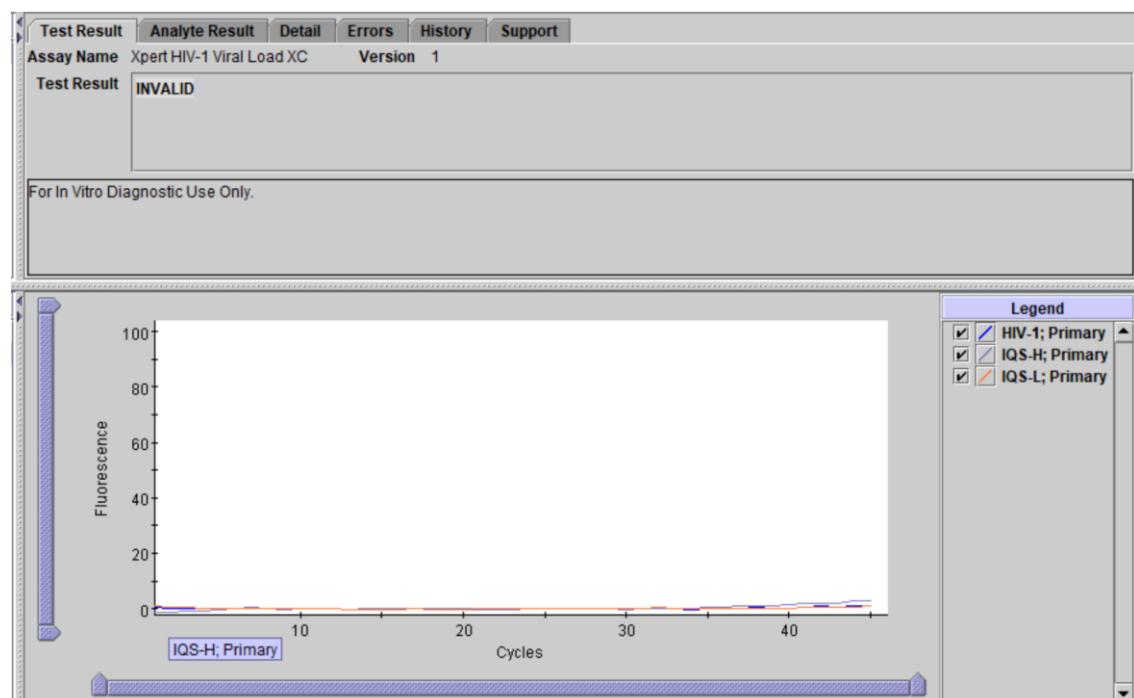
圖片 4.檢測結果：檢測到 HIV-1，但病毒量高於定量測試範圍(GeneXpert Dx System)



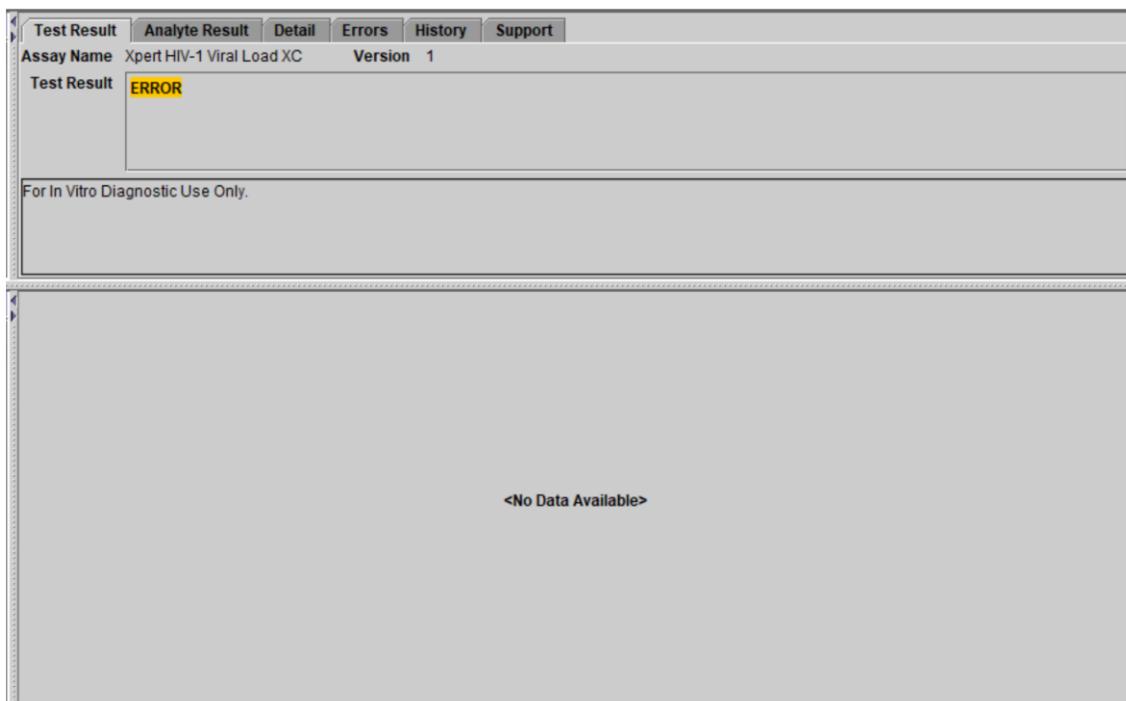
圖片 5.檢測結果：檢測到 HIV-1，但病毒量低於定量測試範圍(GeneXpert Dx System)



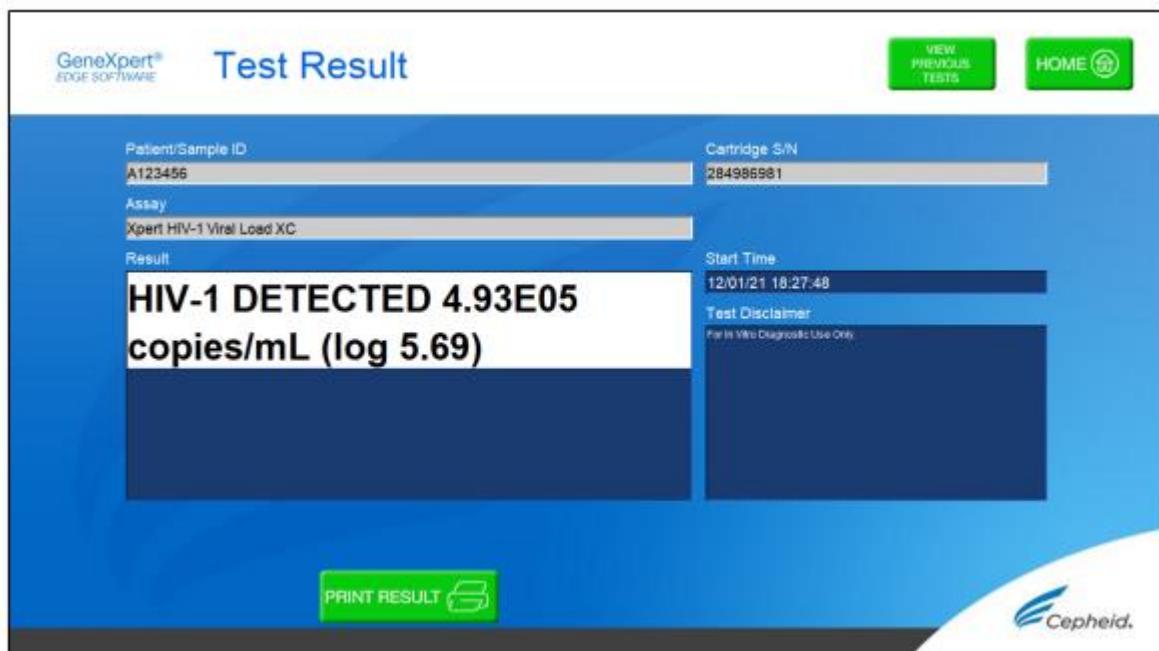
圖片 6.檢測結果：未檢測到 HIV-1 (GeneXpert Dx System)



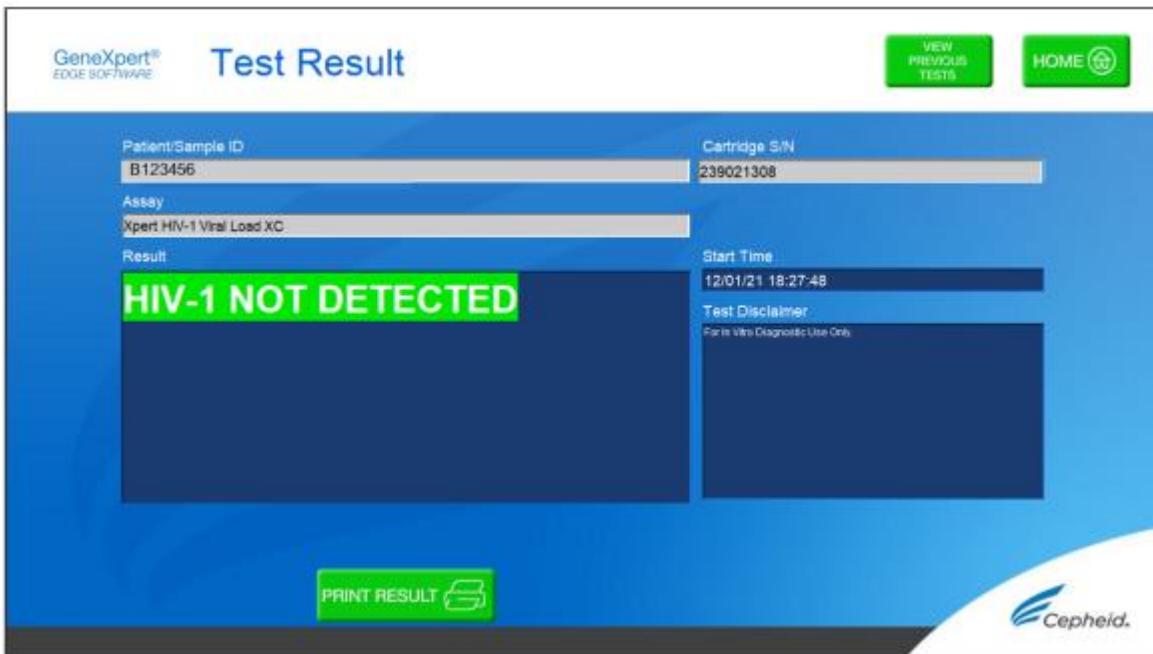
圖片 7.檢測結果：無效結果 (GeneXpert Dx System)



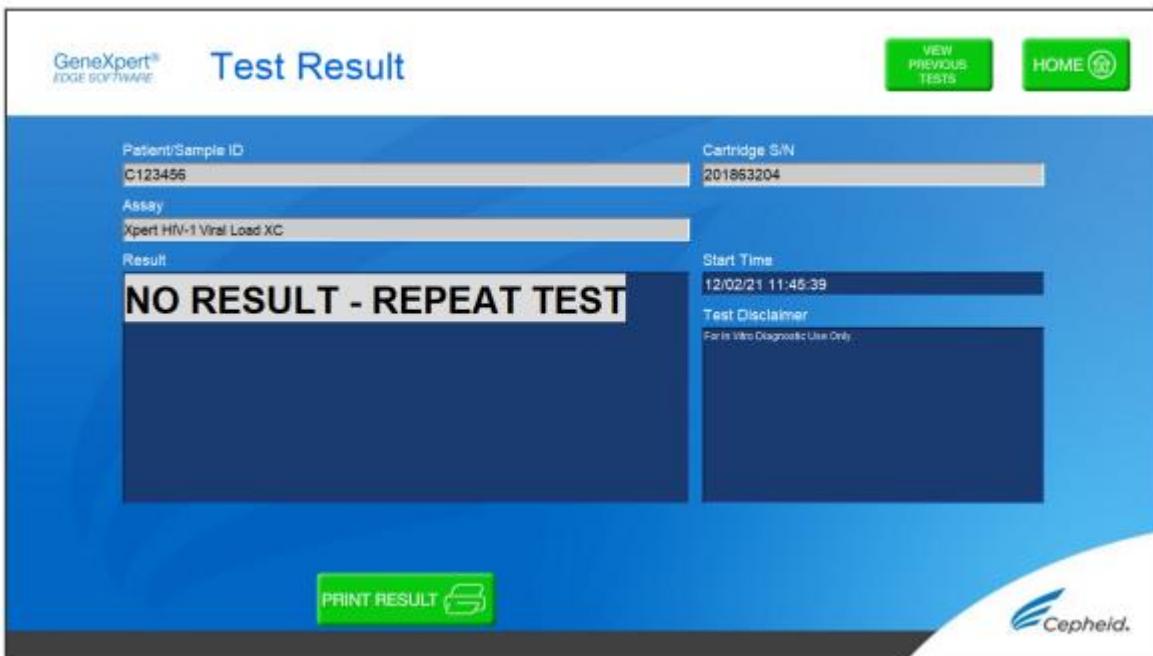
圖片 8.檢測結果：結果錯誤 (GeneXpert Dx System)



圖片 9.檢測結果：檢測到 HIV-1(GeneXpert Edge System)



圖片 10. 檢測結果：未檢測到 HIV-1 (GeneXpert Edge System)



圖片 11. 無結果-重複測試 (GeneXpert Edge System)

16. 重新檢測

16.1 重新檢測的原因

如果出現下列檢測結果，請依照說明書 16.2 重新檢測。

- INVALID 可能原因包含下列一至多項。
- IQS-H/ IQS-L: Ct 值非在有效範圍內。
- 檢體處理不當或 PCR 反應被抑製。
- ERROR 表示測試已中止。可能的原因包括：添加的樣品量不足、反應管填充不當、檢測到試劑探針完整性問題或超出最大壓力限制。
- NO RESULT 為資料不足。如：操作者中途停止檢測或電力發生中斷。

16.2 重新檢測步驟

要重新測試不確定的結果(INVALID, NO RESULT, 或 ERROR)，請使用新試劑匣。(請勿重複使用試劑匣)。

1. 取出新試劑匣。
2. 參閱第 12 章 “程序”，包括第 12.2 “準備試劑匣” 和第 12.3 “開始測試”。

17. 限制

- 建議採取良好的實驗室習慣並在處理樣品之間更換手套，以避免污染樣品或試劑
- 本產品目標區域內的罕見突變、缺失或插入可能會影響引子和/或探針結合導致無法定量或無法檢測病毒。
- 由於 CAR-T 產品中存在 LTR 標靶的結果，因此接受 CAR-T 療法的患者可能會在 Xpert 呈現陽性結果 (HIV-1 Qual XC、HIV-1 VL 等等)。故接受過 CAR-T 治療的病患需額外進行確認試驗，以確定患者的 HIV 感染狀況。
- 本產品驗證僅使用 K2 EDTA 和 PPT-EDTA 所收集之血漿。其他類型樣品的測試可能將導致結果不準確。
- 陰性檢測結果並不能排除 HIV-1 感染。本產品的結果應同時參考臨床表現和其他實驗室生物標記。
- 在切換到不同技術/平台之前，Cepheid 建議使用者需進行方法相關性驗證以確定技術差異。
- 可靠的結果取決於充分的樣本採集、運輸、儲存和處理
- HIV-1 RNA 的定量取決於樣本中病毒顆粒的數量，並可能受到以下因素的影響：樣本採集方法、患者因素 (即年齡、是否出現症狀) 及/或感染階段。
- 產生兩次無效結果的樣本可能含有抑制劑；不建議重新測試。

18. 性能特徵

18.1 分析靈敏度 (偵測極限 (LoD) 和包容性)

以 HIV-1 陰性 K2 EDTA 血漿與 WHO 4th International Standard HIV-1 (NIBSC code: 16/194) 進行檢體製備。以序列稀釋 M 組 B 亞型 HIV-1 檢測本產品偵測極限 (LoD)。使用三種批號試劑，檢測 6 種不同濃度 WHO International Standard 及陰性檢體。每個濃度檢測至少進行 3 天，每批號試劑進行 24 重複，因此每個濃度進行 72 重複測試。

檢測結果如表 2 所示。結果顯示，本產品 K2 EDTA 血漿中濃度為 13.6 copies/mL WHO International Standard，透過 PROBIT 回歸，其檢測陽性率為 95%。

表 2. 本產品使用 WHO 4th International Standard 測試 HIV-1 之偵測極限

群組/亞型	標稱 HIV-1 濃度 (拷貝數/mL)	有效複本數	陽性複本數	陽性率 (%)	Probit 法估計的 95% 機率的 LoD (95% 信賴區間)
群組 M/ 亞型 B	0	72	0	0	13.6 拷貝數 /mL mL (11.7- 15.6)
	1	72	13	18	
	2.5	72	31	43	
	5	72	45	63	
	10	72	60	83	
	20	72	70	97	
	40	72	72	100	

透過 HIV-1 陰性 K2 EDTA 血漿與培養液或臨床標本製備的連續稀釋液，確認 HIV-1 group M subtypes A、C、D、F、G、H、J、K、CRF-A/B、CRF-A/E、CRF-A/G、CRF-B/C、CRF-06、group N、group

O 及 group P 的偵測極限。HIV-1 group 及亞型各測試 6 濃度，每個濃度使用一個批號執行 3 天，24 重複。

利用 CE 認證的 HIV-1 病毒量檢測方式確認經由細胞培養病毒原液和臨床樣本的宣稱濃度。

透過 PROBIT 回歸模式確認可檢測到的 HIV-1 RNA 濃度其陽性率為 95%。HIV-1 group M subtypes A、C、D、F、G、H、J、K、CRF-A/B、CRF-A/E、CRF-A/G、CRF-B/C、CRF-06、group N、group O 及 group P 檢測結果見表 3。

表 3. 陰性 K2 EDTA 血漿中 HIV-1 group M 亞型 A、C、D、F、G、H、J、K、CRF-A/B、CRF-A/E、CRF-A/G、CRF-B/C、CRF-06、group N、group O 及 group P 偵測極限。

群組	亞型	PROBIT法 LoD (拷貝數/mL)	95% 信賴區間 (拷貝數/mL)
群組 M	A	15.9	12.1-19.7
	C	13.2	10.2-16.3
	D	17.7	13.5-21.8
	F	18.1	14.5-21.6
	G	18.0	13.7-22.3
	H	7.9	6.2-9.5
	J	14.2	10.6-17.7
	K	16.9	12.7-21.0
	CRF A/B	13.1	9.9-16.3
	CRF A/E	14.2	10.7-17.6
	CRF A/G	17.4	13.2-21.6
	CRF B/C	17.0	13.3-20.8
	CRF 06	10.8	8.4-13.2
群組 N	N/A	16.5	12.2-20.8
群組 O	N/A	9.0	6.8-11.1
群組 P	N/A	4.9	3.9-5.9

18.2 定量極限 (LOQ)

定量下限 (LLoQ) 定義為，進行 HIV-1 RNA 最低濃度的定量，並使用總分析誤差 (TAE) 和基於兩次測量之間差異的方法，確定可接受的精密度和真實度。本產品的 TAE 的計算，是經由分析 LoD 的研究（世界衛生組織國際標準）數據和 K2 EDTA 血漿中的三個 HIV-1 B 亞型臨床樣本進行的，測試濃度為 40 HIV-1 RNA copies/mL (數值是以 CE -標記的 HIV-1 病毒量)，使用兩個批號試劑盒，每個試劑盒批號 16 個重複，測試確定估計值。

根據 CLSI 標準，使用 Westgard 模型估算 TAE，標準為 $[(\text{絕對偏差}) + 2 \text{ SD}] \leq 1 \log_{10} \text{copies/ mL}]$ 。

兩次測量結果的差異評估標準為： $[(2 \times \text{SQRT}(2) \times \text{SD}) \leq 1 \log_{10} \text{copies/ mL}]$ 。

每個樣本的 LLoQ 分析如表 4 所示。結果顯示，本產品可以測定 40 copies /mL HIV-1 RNA，具有可接受的真實度和精密度。

表 4. 測試確認本產品的 LLoQ

HIV-1 B 亞型樣 本	試劑批號	數量	宣稱 HIV-1 濃度 (\log_{10} copies/ mL)	觀察 HIV-1 濃度 (\log_{10} copies/ mL)	差異	總 SD	總分析 誤差 ^a	兩種測量 方法 ^b
WHO	1	24	1.60	1.51	-0.09	0.14	0.37	0.39
	2	24	1.60	1.48	-0.12	0.17	0.47	0.49
	3	24	1.60	1.56	-0.04	0.31	0.65	0.87
臨床檢體 1	1	16	1.60	1.65	0.05	0.10	0.25	0.29
	2	16	1.60	1.63	0.03	0.11	0.25	0.32
臨床檢體 2	1	16	1.60	1.80	0.20	0.12	0.44	0.35
	2	16	1.60	1.73	0.13	0.12	0.37	0.34
臨床檢體 3	1	16	1.60	1.45	-0.15	0.29	0.72	0.81
	2	16	1.60	1.62	0.02	0.16	0.33	0.45

a. 根據 Westgard 模型計算的 TAE，其中 $[TAE = | \text{偏差} | + (2 \times SD) \leq 1 \log_{10} \text{copies/mL}]$ 確保測量值與真實值相比有 95% 的機率小於 $1 \log_{10} \text{copies/mL}$ 。

b. 兩種測量方法 $[2 \times (\text{SQRT}(2) \times SD) \leq 1 \log_{10} \text{copies/mL}]$ 顯示差異小於 $1 \log_{10} \text{copies/mL}$ ，可以用隨機測量誤差來解釋。

18.3 精密度和再現性

本產品的精密度和再現性的建立，該研究使用了每組包含七個樣本，於三個研究地點進行雙盲法測試確定的。將一組 HIV-1 參考物添加到 HIV-1 陰性 EDTA 血漿中，其 RNA 濃度跨越本產品測試定量範圍。三個研究地點各有兩位操作員，在六個測試工作天內，每天對一組七個樣本進行兩次測試。兩個研究點使用 GeneXpert Dx 儀器，一個研究點使用 Infinity-80 儀器。

研究中使用了三個本產品試劑批號。精密度/再現性研究評估，符合 CLSI 規範。

本產品的再現性透過嵌套變異數分析(nested ANOVA)使用「研究點/儀器」、「批號」、「操作者」、「天」、「運行」和「批次運行」進行評估。轉化濃度成 \log_{10} HIV-1 並計算每個成分的標準偏差和變異百分比(參見表 5)。

表 5. 本產品檢測之總變異數和總精密度建立

預期 HIV-1 RNA濃度 (copies/mL)	數量	平均 ^a	變異來源													
			地點		批號		操作者		天		運行		批次運行			
			SD ^b	(%)	SD	(%)	SD	(%)	SD	(%)	SD	(%)	SD	(%) ^c		
40 cp/mL	143 ^d	1.59	0.01	0.55	0.03	2.15	0.04	5.97	0.05	7.80	0.00	0.00	0.16	83.53	0.17	10.69
200 cp/mL	144	2.28	0.02	5.52	0.03	9.27	0.01	2.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	83.14	0.10	4.39
1×10^3 cp/mL	144	2.99	0.00	0.00	0.02	9.75	0.00	0.00	0.02	13.86	0.00	0.00	0.06	76.38	0.06	2.01

1×10^4 cp/mL	144	3.98	0.01	4.72	0.02	15.66	0.00	0.00	0.00	1.00	0.01	6.19	0.04	72.43	0.05	1.26
1×10^6 cp/mL	143 ^e	6.01	0.01	3.40	0.03	15.35	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	81.25	0.07	1.16
1×10^7 cp/mL	144	6.96	0.00	0.00	0.04	17.70	0.00	0.00	0.03	10.97	0.00	0.00	0.09	71.32	0.10	1.44

a HIV-1 RNA cp/mL \log_{10} 平均

b SD 於 \log_{10}

c CV = (總 SD/平均值) *100

d 排除 1 個結果為「HIV-1 未測得」的樣本

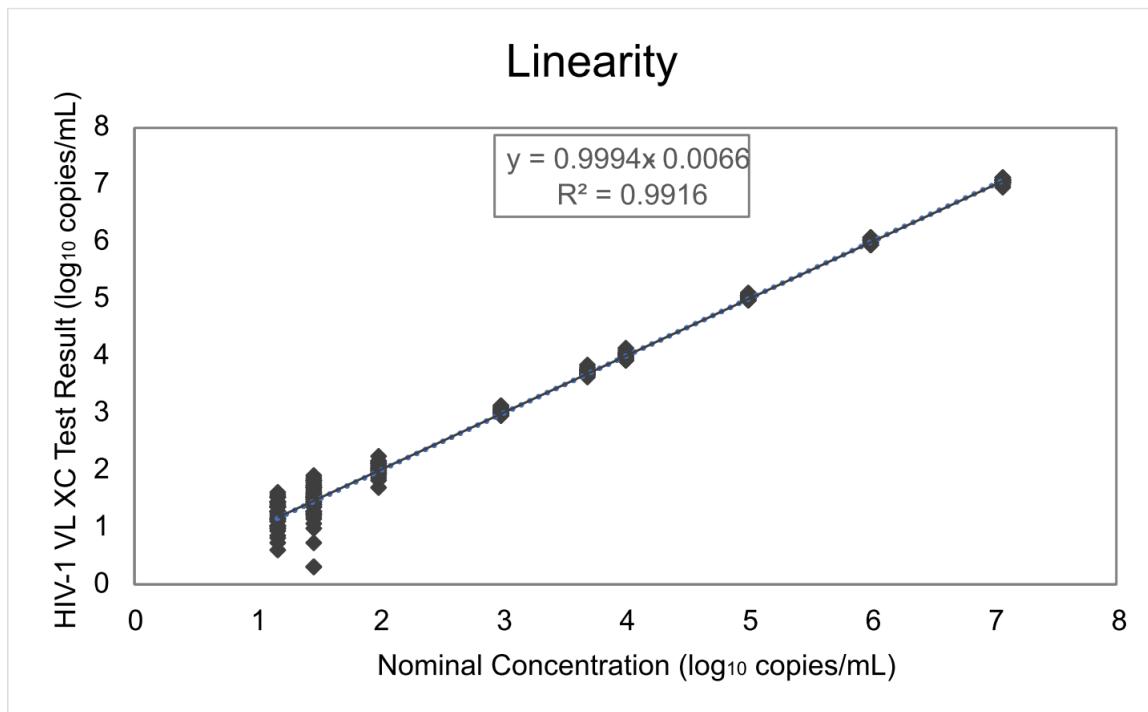
e 排除 1 個結果為「錯誤」的樣本

18.4 線性範圍

本產品的線性範圍是透過九個濃度的套組分析確定的，範圍從 15 copies /mL 到 1.2×10^7 copies /mL，由 HIV-1 參考物 (HIV-1 亞型 B) 加入陰性 K2 EDTA 血漿中稀釋製備。使用的參考物根據 WHO 第四代 HIV-1 國際標準 (NIBSC 代碼：16/194) 進行校準。該套組使用本產品兩個批號分析試劑盒進行測試，每個套組總共進行 24 或 48 次重複測試。

根據 CLSI 規範進行線性分析。結果如圖 12 所示。

本產品從 20 copies /mL 到 1×10^7 copies /mL 呈線性， $R^2 > 99$ 。



圖片 12. 本產品檢測的線性

18.5 分析反應性 (包容性)

本產品的分析反應性 (包容性) 經由測試 HIV-1 M 組、亞型 A、B、C、D、F、G、H、J、K、CRF-A/B、CRF-A/E、CRF-A/G、CRF-B/C、CRF-06、N 組、O 組和 P 組在多個濃度水平，橫跨檢測的定量範圍 $40\text{--}1 \times 10^7$ copies /mL。使用兩批號本產品檢測試劑盒對每個濃度等級進行至少八次重複測試。每個亞型/組別所測得的平均 \log_{10} 濃度和濃度水平，定量濃度落入 $\pm 0.5 \log_{10}$ 範圍內，並且每個線性迴歸的 $R^2 > 0.98$ (請參閱表 6、表 7 和表 8)。

表 6. 本產品測試的分析反應性 (包容性)，HIV-1 M 群亞型

HIV-1 M 亞型組	宣稱濃度 (\log_{10} copies/mL)	本產品結果 (\log_{10} copies/mL)	Delta (\log_{10} copies/mL)	R^2
A	6.0	5.91	0.09	0.996
	4.0	3.99	0.01	
	2.0	2.02	-0.02	
	1.3	1.37	-0.07	
B	7.0	7.02	-0.02	0.998
	5.0	5.12	-0.12	
	3.0	3.14	-0.14	
	1.3	1.34	-0.04	
C	6.0	5.89	0.11	0.994
	4.0	3.99	0.01	
	2.0	2.03	-0.03	
	1.3	1.33	-0.03	
D	6.0	5.83	0.17	0.995
	4.0	3.93	0.07	
	2.0	2.00	0.00	
	1.3	1.39	-0.09	
F	6.0	5.74	0.26	0.988
	4.0	3.83	0.17	
	2.0	1.79	0.21	
	1.3	1.12	0.18	
G	6.0	5.89	0.11	0.994
	4.0	3.92	0.08	
	2.0	1.95	0.05	
	1.3	1.16	0.14	
H	5.0	4.92	0.08	0.988
	4.0	3.94	0.06	
	2.0	1.99	0.01	
	1.3	1.52	0.08	
J	2.3	2.36	-0.05	NA ^a
	2.0	2.05	-0.05	
	1.3	1.42	-0.12	
K	4.0	3.86	0.14	0.980
	3.0	2.84	0.16	

	2.0	1.90	0.10	
	1.3	1.11	0.19	

a 由於缺乏跨越較大的濃度範圍樣本，未對 HIV-1 M 組 J 亞型和 CRF-A/B 進行線性迴歸分析。

表 7. 本產品、HIV-1 CRF 的分析反應性（包容性）

HIV-1 CRF	宣稱濃度 (\log_{10} copies/mL)	本產品結果 (\log_{10} copies/mL)	Delta (\log_{10} copies/mL)	R ²
CRF-A/B	2.3	2.39	-0.09	NA ^a
	2.0	1.97	0.03	
	1.3	1.32	-0.02	
CRF-A/E	6.0	5.95	0.05	0.992
	4.0	3.97	0.03	
	2.0	1.96	0.04	
	1.3	1.11	0.19	
CRF-A/G	6.0	5.87	0.13	0.991
	4.0	3.90	0.10	
	2.0	1.86	0.14	
	1.3	1.13	0.17	
CRF-B/C	6.0	5.70	0.30	0.995
	4.0	3.74	0.26	
	2.0	1.81	0.19	
	1.3	1.11	0.19	
CRF-06	7.0	6.94	0.06	0.997
	5.0	5.04	-0.04	
	3.0	3.05	-0.05	
	1.3	1.24	0.06	

a 由於缺乏跨越較大的濃度範圍樣本，未對 HIV-1 M 組 J 亞型和 CRF-A/B 進行線性迴歸分析。

表 8. 本產品、HIV-1 N 組、O 組和 P 組的分析反應性（包容性）

HIV-1 組	宣稱濃度 (\log_{10} copies/mL)	本產品結果 (\log_{10} copies/mL)	Delta (\log_{10} copies/mL)	R ²
N	7.0	6.78	0.22	0.994
	5.0	4.84	0.16	
	3.0	2.88	0.12	
	1.3	1.26	0.04	

O	6.0	5.96	0.04	0.995
	4.0	4.07	-0.07	
	2.0	2.12	-0.12	
	1.3	1.54	-0.24	
P	5.0	5.17	-0.17	0.996
	4.0	4.21	-0.21	
	2.0	2.21	-0.21	
	1.3	1.51	-0.21	

此外，本產品的分析反應性（包容性）是通過測試 HIV-1 樣本來證明的，如表 9 所示，代表 HIV-1 M 群，亞型 A、B、C、D、F、G、H、J、K、CRF-A/E、CRF-A/G、CRF-B/C、N 群和 O 群。每個樣本在 K2 EDTA 血漿中稀釋至 3xLLoQ，並使用本產品一個批號試劑進行測試。所有在 3xLLoQ 稀釋下測試的樣本均報告為檢測到 HIV-1（表 9）。

表 9. 在 3xLLoQ 下測試的 HIV-1 樣本

HIV-1 組	亞型/CRF	測試樣本數量	報告檢測到 HIV-1 的樣本數量
M	A	10	10
	B	10	10
	C	10	10
	D	10	10
	F	10	10
	G	10	10
	H	10	10
	J	4	4
	K	8	8
	CRF-A/E	10	10
	CRF-A/G	11	11
N	CRF-B/C	5	5
	NA	1	1
O	NA	10	10

18.6 分析特異性（排他性）

本產品的分析特異性是通過在 HIV-1 陰性 K2 EDTA 血漿和含有約 3xLLoQ 濃度的 HIV-1 參考物的 K2 EDTA 血漿中，添加潛在的交叉反應或干擾生物體來評估的，這些生物體的濃度為 1×10^6 CFU/mL (微生物) 或 $\geq 1 \times 10^5$ copies/mL 或 TCID₅₀ (病毒)。所使用的 HIV-1 參考物已根據世界衛生組織第四版國際標準 (NIBSC 編碼：16/194) 進行了標定。測試的生物體如表 10 所示。所測試的生物體均未表現出交叉反應性或干擾本產品定量的檢測。

表 10. 分析特異性生物體

病毒	細菌	真菌/酵母菌	寄生蟲
Chikungunya virus	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Candida Albicans</i>	<i>Leishmania Major</i>
Cytomegalovirus	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Candida Glabrata</i>	<i>Plasmodium Falciparum</i>
Epstein-Barr virus	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida Tropicalis</i>	<i>Trypanosoma brucei</i>
Hepatitis A virus	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Pneumocystis jirovecii</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>
Hepatitis B virus	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>		
Hepatitis C virus			
Herpes simplex virus 1			
Herpes simplex virus 2			
Human Herpesvirus 6			
Human Immunodeficiency virus 2			
Human T-cell lymphotropic virus type 1			
Human T-cell lymphotropic virus type 2			
Influenza virus A			

18.7 潛在的干擾物質

評估了本產品對內源性物質水平升高、給 HIV-1 感染患者或可能患有合併感染或其他合併症的患者開出的藥物以及自身免疫性疾病標誌物干擾的敏感性。並在濃度約 3 倍 LLoQ 的 HIV-1 參考物質存在和不存在的情況下評估抑制效果。使用的 HIV-1 標準物質已根據 WHO 第 4 版國際標準進行校準 (NIBSC 代碼：16/194)。

無論在有和沒有 HIV-1 RNA 的情況下進行測試時，表 11 中所示的內源性物質水平升高不會干擾本產品測試的定量或影響測試的特異性。在存在 HIV-1 RNA 和內源性物質的情況下測試的所有樣本均在 HIV-1 陽性參考樣本的 $\pm 0.5 \log_{10}$ copies/mL 範圍內進行定量。所有在缺乏 HIV-1 RNA 的情況下測試的樣本均報告為“未檢測到 HIV-1”，這表明對本產品的特異性沒有影響。

表 11. 內源性物質和濃度測試

物質	測試濃度
Albumin	9 g/dL
Bilirubin	40 mg/dL
Hemoglobin	1000 mg/dL
Human DNA	0.4 mg/dL
Triglycerides	3000 mg/dL

當在有和沒有 HIV-1 RNA 的情況下以三倍峰值水平濃度(Cmax)進行測試時，表 12 中所示的藥物成分

顯示不會干擾本產品的定量或影響特異性。

表 12. 藥物混和測試

混和	藥物
1	Zidovudine, Clarithromycin, Interferon alfa-2b, Maraviroc, Rilpivirine, Ganciclovir
2	Abacavir sulfate, Peginterferon 2a, Ribavirin, Emtricitabine, Adefovir dipivoxil, Entecavir,
3	Tenofovir disoproxil fumarate, Lamivudine, 3TC, Raltegravir, Etravirine
4	Stavudine, d4T, Efavirenz, Lopinavir, Ciprofloxacin, Indinavir sulfate, Acyclovir
5	Nevirapine, Azithromycin, Telbivudine, Foscarnet ^a , Cidofovir
6	Fosamprenavir calcium, Elvitegravir, Darunavir, Cobicistat, Atazanavir
7	Paritaprevir, Simeprevir
8	Daclatasvir, Elbasvir, Ledipasvir, Ombitasvir, Glecaprevir, Velpatasvir, Dasabuvir
9	Dolutegravir, Bictegravir, Doravirine, Maraviroc
10	Acetaminophen, Acetylsalicylic acid, Atorvastatin, Loratadine
11	Nadolol, Ascorbic acid, Phenylephrine, Ibuprofen
12	Artemether, Desethylamodiaquine, Mefloquine, Quinine
13	Primaquine, Chloroquine, Doxycycline
14	Rifampin, INH, Ethambutol, Pyrazinamide
15	Moxifloxacin, Levofloxacin, Amikacin, Bedaquiline ^a
16	Trimethoprim/Sulfamethoxazole, Gentamicin, Metronidazole, Ceftriaxone

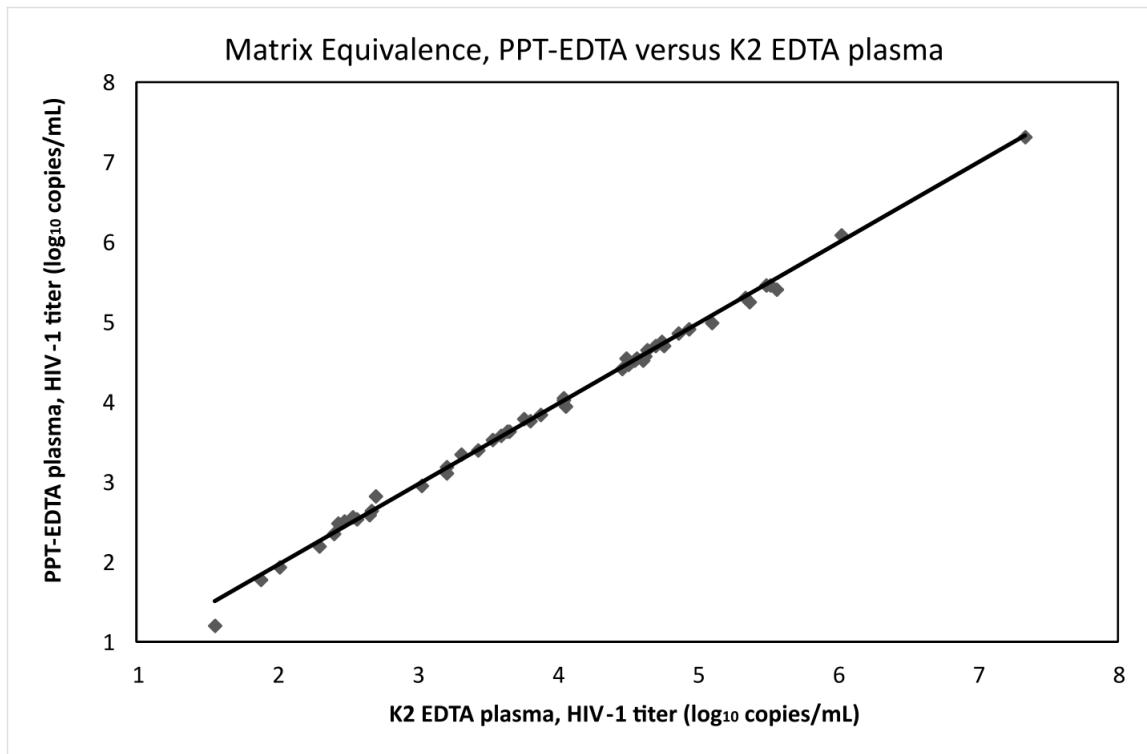
a 單獨測試，而不是與其他藥物成分組合測試

對 5 位個別具有自體免疫疾病標記物呈陽性的 K2 EDTA 血漿樣本進行檢測；包含系統性紅斑狼瘡 (SLE)、抗核抗體(ANA)或類風濕因子(RF)，在有或沒有 HIV-1 RNA 的情況下進行測試時，不會干擾本產品的定量或影響測試的特異性。

18.8 基質等效測試 (K2 EDTA 及 PPT-EDTA)

基質等效測試以本產品匹配 50 位 HIV-1 陽性個案及 25 位 HIV-1 陰性個案，以不同抗凝管 K2-EDTA 及 PPT-EDTA 採檢。HIV-1 陽性個案的配對樣本 (K2 EDTA 和 PPT-EDTA) 的 HIV-1 效價涵蓋了檢測的定量範圍，即 $40\text{-}1 \times 10^7$ copies/mL。

本產品的基質等效性如圖 13 所示。當使用本產品進行測試時，在 PPT-EDTA 基質中收集的所有 HIV-1 陽性樣本產生的 HIV-1 RNA 濃度與在 K2 EDTA 基質中收集的 HIV-1 陽性樣本差異在 $\pm 0.5 \log_{10}$ copies/mL 之內。所有 25 個匹配的 HIV-1 陰性樣本報告皆為未檢測到 HIV-1。



圖片 13. HIV-1 效價線性回歸 (\log_{10} copies/mL), PPT-EDTA 血漿 對比 K2 EDTA 血漿

18.9 整體系統失敗率

本產品的整體系統失敗率是透過對摻有 HIV-1 B 亞型樣本的 K2 EDTA 血漿進行 100 次重複測試來確定的，該樣本根據 WHO 第四版 HIV-1 國際標準 (NIBSC 代碼 16/194)。將 K2 EDTA 血漿定標於 60 copies/mL 的目標濃度，並使用本產品一個批號試劑盒進行測試。

此研究的結果表明所有 100 個重複都是有效的，且報告均為 HIV-1 陽性，整體系統的故障率為 0%。

18.10 殘留汙染

以 GeneXpert 儀器上同一個模組將一個高價數 HIV-1 陽性檢體($>1 \times 10^7$ copies/mL)進行檢測後，立即以一個 HIV-1 陰性檢體進行檢測。本流程以兩個不同模組重複 20 次。本產品殘留汙染率為 0%。

19. 性能特徵—臨床表現

19.1 特異性

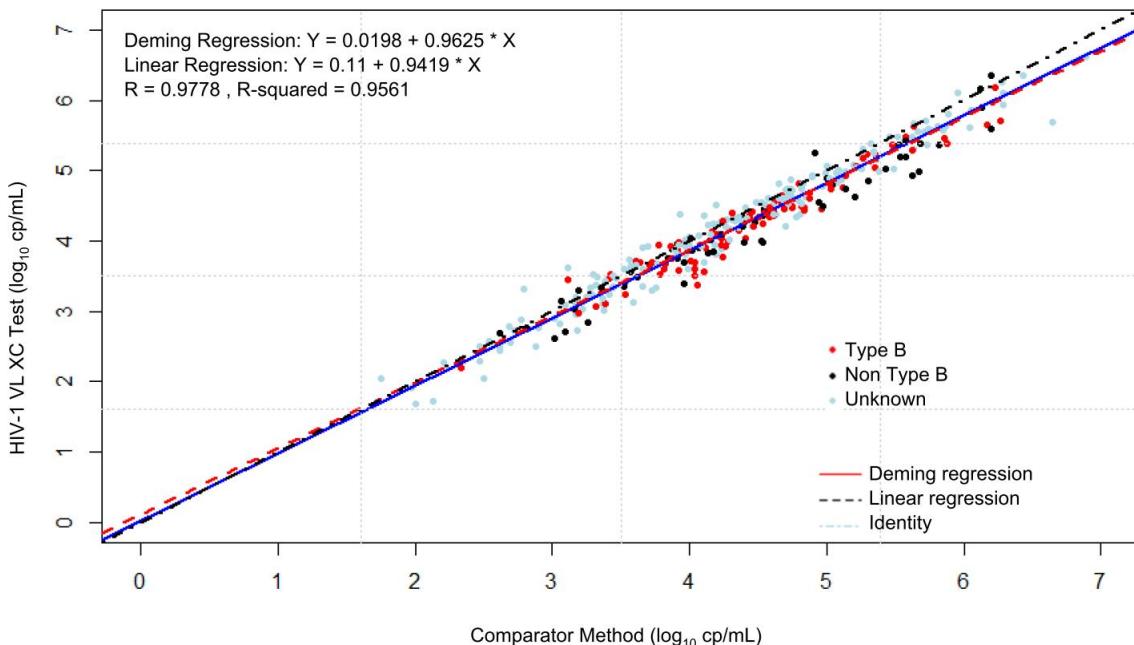
使用來自 HIV-1 陰性捐血者的 500 份 EDTA 血漿樣本評估本產品的特異性。本產品於 500 個樣本中均未檢出，相當於特異性 100% (95% CI = 99.2-100.0)。

19.2 方法學相關性

進行了一項多中心研究，以評估本產品相對於核酸擴增測試 (NAAT) 比較方法的性能，使用從已知 HIV-1 感染者採集的新鮮和冷凍人血漿樣本。在 362 個樣本中，每個樣本都來自獨特的個體，其中 206 個 (56.9%) 是從男性受試者身上採集的。大多數人 (94.5% ; 342/362) 的年齡範圍為 22 至 59 歲。本研究族群中依照 HIV-1 M 群組亞型分類，樣本顯示 25.1% 為 B 亞型，16.1% 為非 B 亞型，58.8% 為未知亞型。

共有 21 個不確定結果，其中 14 個在重新測試後得到解決。最終不確定率為 1.93% (7/362)。

在 362 個樣本中，328 個樣本在本產品和比較測試的量化範圍內。Deming 迴歸顯示本產品與比較方法之間具有高度相關性，斜率為 0.9625，截距為 0.0198。R² 為 0.9561。



圖片 14. 本產品與比較方法學之相關性

20. 參考資料

1. Mellors JW, Rinaldo CR, Jr., Gupta P, White RM, Todd JA, Kingsley LA. Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science* 1996; 272:1167–1170.
2. World Health Organization. What's new in Treatment Monitoring: Viral Load and CD4 Testing. Geneva. WHO. 2017
3. WHO International Standard; 4th HIV-1 International Standard (NIBSC code: 16/1094). National Institute for Biological Standards and Control; 2017.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
6. World Health Organization. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd Edition. WHO, 2014. Accessed July 24, 2020 at http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/
7. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006.
8. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012)(29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA, 2012.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline—Third Edition. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA, 2014.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach. Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Wayne, PA, 2003.

製造業者名稱: Cepheid AB

製造業者地址: Röntgenvägen 5 SE-171 54 Solna, Sweden

醫療器材商名稱: 佑康股份有限公司

醫療器材商地址: 台北市信義區忠孝東路五段 550 號 14 樓