

“賽沛”結核分枝桿菌檢測試劑組  
“Cepheid” Xpert MTB/RIF Assay

衛署醫器輸字第 024317 號

限由醫師或醫檢師使用  
警語：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。

**型號規格：**  
Xpert MTB/RIF

**敘述/效能**

搭配Cepheid Xpert系統使用，為一種半定量巢式即時性的PCR體外診斷試劑。用於：(1) 檢測痰液樣本或從誘發咳出痰液製備的濃縮沉澱物樣本中的結核分枝桿菌複合DNA，其檢體抗酸性桿菌塗片為陽性或陰性。(2)可能為利福平(RIF)抗藥性患者樣本中，檢測與利福平抗藥性有關的rpoB基因突變。

本產品用於檢測存在或懷疑有臨床肺結核(TB)的未治療患者樣本。可用來檢測結核分枝桿菌(MTB)或接受治療肺結核患者是否為利福平(RIF)感受性。

**總結和說明·**

全球約20億人感染結核分枝桿菌。每年近900萬人發展為活動性疾病，200萬人因此病而死亡。活動性結核主要是肺結核。肺結核的傳播途徑為空氣傳播，這使得其成為高度傳染性疾病。鑒於肺結核的傳染性，快速準確的診斷是結核病治療和控制的一個重要因素。

肺結核的治療包括多種藥物的長期給藥，這通常非常有效，然而，結核桿菌可能開始對一種或更多的藥物產生抗藥性，使治療更加困難。四種常見的用於治療結核病的藥物是異煙肼(INH)、利福平(RIF)、乙胺丁醇(EMB)和吡嗪醯胺(PZA)。正如世界衛生組織(WHO)的記錄，單獨只對利福平(RIF)抗藥的情況很少見，大多是合併其他抗結核藥的抗藥性較為常見。據報導分離菌株有超過95%的抗藥性為多重抗藥菌株(多重抗藥性結核)。多重抗藥性結核病是指至少對異煙肼(INH)和利福平(RIF)抗藥的細菌所引起的結核性疾。對利福平或其他第一線藥物具有耐受性，通常表示需要進行完全的抗生素敏感性測試，包括對二線藥物測試。

對結核病及與利福平抗藥性有關的rpoB基因突變的分子檢測大大加快了藥物敏感性和多重抗藥性結核病的診斷。用本試劑盒檢測，這些診斷可以在新鮮痰樣本和沉澱物中以不到2.5小時內完成。在相同的醫療狀況下，對結核分枝桿菌和利福平抗藥性的快速診斷將有助於醫生做出對於重症患者治療的處理決定。

**方法原理**

GeneXpert Dx系統使用即時PCR和逆轉錄PCR進行樣本處理、核酸擴增、單一或複合樣品的目標序列測定，且整合並自動化執行。該系統包括一台儀器、個人電腦、條碼掃描器以及對所採集的樣本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的GenXpert檢測匣來盛放PCR試劑及控制PCR過程。由於檢測匣是獨立的，因此可消除樣品間的交叉污染。該系統的完整說明，請參閱GeneXpert Dx系統操作手冊。

本試劑盒包括肺結核和利福平抗藥性檢測以及樣品處理控制(SPC)，為充分控制目標細菌的處理和監控PCR反應抑制劑的存在。探針檢查控制(PCC)確認試劑再水合、PCR管(PCR tube)放入樣品管中、探針完整性和染料穩定性。

Xpert MTB/RIF試劑盒中用於擴增的rpoB基因的引子為含有81個鹼基對的“核心”區基因的一部分。該探針能夠區分原始野生型基因序列和與利福平抗藥性相關的核心突變基因序列。

## 試劑和儀器



提供的材料

本試劑盒(GXMTB/RIF-10) 包括足夠處理十位患者或品質控制樣品的試劑

本試劑盒包括以下材料：

**帶有完整反應管的檢測匣**

10

**Bead 1(冷凍乾燥)**

2 個/ 檢測匣

- 引子(primer)
- 探針 (probe)
- KCl
- MgCl<sub>2</sub>
- HEPES, pH 8.0
- BSA (牛血清白蛋白)

**Bead 2(冷凍乾燥)**

2個/檢測匣

- 聚合酶
- 探針 (probe)
- KCl
- MgCl<sub>2</sub>
- dNTPs
- HEPES, pH 7.2
- BSA (牛血清白蛋白)

**Bead 3(冷凍乾燥)**

1個/檢測匣

樣品處理控制(SPC) ~2000非傳染性樣品 (製備控制組孢子)

**試劑 1 (氨基丁三醇、EDTA和表面活性劑)**

4 mL/檢測匣

**試劑 2 (氨基丁三醇、EDTA和表面活性劑)**

4 mL/檢測匣

**樣品試劑 (氫氧化鈉，異丙醇)**

10 x 8 mL 瓶

**一次性無菌移液管**

12

**CD1**

1片

### 注意：

- 樣品試劑溶液應澄清、無色至金黃色 (外觀)。
- 該檢測提供所有檢測試劑的材料安全資料表 (簡稱MSDS)，可向Cepheid技術支援索取和登錄 [www.Cepheid.com](http://www.Cepheid.com)獲得
- 本產品的牛血清白蛋白 (BSA) 的製備完全來自美國牛血漿。BSA的生產也在美國進行。沒有反芻動物蛋白質或任何其他動物蛋白餵養給動物，動物通過了犧牲前犧牲後檢驗。在處理過程中，未與其他動物的材料混合在一起。
- 無菌移液管有一個標記，標示了檢測匣的最低樣品量。且僅用於該目的。所有其他無菌移液管必須由實驗室提供。

### 儲藏與處理

- 檢測匣和試劑貯存在2-28 °C。
- 不要使用過期的試劑或檢測匣。
- 直到開始檢測時才打開檢測匣。
- 打開檢測匣蓋子後，需在30分鐘內使用此檢測匣

### 沒有提供但需要的物品

- 配備了GX2.1軟體的GeneXpert Dx系統 (目錄號因配置而不同): GeneXpert儀器、電腦、條碼閱讀器和操作手冊
- 印表機 (見GeneXpert Dx 系統操作手冊或相容性指南)
- 無菌螺旋封頂標本採集容器
- 一次性手套
- 標籤和/或永久記號筆
- 樣品處理的無菌移液管

### 警告和預防措施

- 對所有的生物標本進行處理應小心，包括已用過的檢測匣，因為其可能含有傳染物。因無法確認哪些可能具有傳染物，因此所有的生物標本應小心處理。
- 樣本處理的指導原則可以從美國疾病控制防禦中心和實驗室標準研究所獲得 (前臨床實驗室標準國家委員會)。
- 在處理標本和試劑時，戴防護手套、穿實驗室外套和戴眼罩。處理樣品和檢測試劑後充分洗手。遵循實驗室有關化學品和處理生物樣品的安全程式。
- 尚未證明本試劑盒可從血液、腦脊液、糞便或尿液的非呼吸道樣本中檢測結核分枝桿菌複合物的性能。尚未進行本試劑盒對通過本說明書以外的方法處理的樣品評估。
- 除非加入檢體，不要打開檢測匣的蓋子。
- 不要使用掉落的，或已經添加了測試樣品後搖晃過的檢測匣。
- 不要使用潮濕的或蓋子密封已破損的檢測匣。
- 不要使用反應管(reaction tube)破損的檢測匣。
- 每個檢測匣只可單次使用。不要重複使用已用過的檢測匣。
- 根據你所在的實驗室和國家有關危險品的安全指南，處理使用後的檢測匣。
- 樣品試劑含氫氧化鈉 (PH>12.5) ; (R34 歐盟風險)，對眼和皮膚有腐蝕性，要求對眼和皮膚進行保護。

### 樣品採集和運送

為了獲得足夠的樣本，請仔細依照本節中的說明：

**注意：**收集最少1毫升痰液標本。受試者坐著或站立均可。

處理樣品之前，應保存在2-8°C條件下。但是，如果必要的話，標本可以保存在最高35°C條件下≤3天和在4°C條件下4-10天。

1. 用水沖洗患者口腔兩次。
2. 旋開痰收集容器的蓋子。
3. 讓患者深吸氣，用力咳嗽，將咳出物收集到無菌旋蓋的樣品採集容器中，避免溢出或弄髒容器外表面。
4. 壓緊收集裝置的蓋子。
5. 標本應保存在2-8°C條件下，包括在運送至實驗室過程中。

### 方法 – 痰沉積(sputum sediments)

**注意事項：**不要接受有明顯的食物顆粒或其他固體顆粒標本。

**注意事項：**只有在GeneXpert Dx系統有足夠的模組的情況下，可一次處理多個樣本。嚴謹遵循處理TB的指導原則。

容量要求— 根據Kent和Kubica的方法<sup>8</sup>，製備並重新懸浮在67mM的磷酸鹽/水緩衝液中的痰沉澱物，可以使用本試劑盒進行檢測。一旦再懸浮的沉澱物用於標準的實驗室塗片或培養試驗，確保至少有0.5毫升的再懸浮的沉澱物可用於運行本試劑盒。

1. 給每個檢測匣標記樣品ID。(寫在檢測匣的側面或貼上編號標籤。)請注意：不要將標籤放在蓋上或阻擋檢測匣的二維條碼。

- 2.無菌移液管拿取至少0.5毫升的再懸浮微粒至一個圓錐形、螺旋蓋試管中，以進行檢測。或者，完整樣本在原先的試管裡進行處理。
- 3.如果不立即檢測，則將再懸浮液保存在於2-8°C條件下。不要儲存超過12小時。
- 4.使用無菌移液管添加1.5毫升樣品試劑（SR）至0.5毫升懸浮沉澱物樣品中，劇烈振搖10 – 20次。注意：一個來回轉動是一次振搖。
- 5.樣品在室溫下培養15分鐘。在5至10分鐘培養中，再次用力振搖樣品10 – 20次。樣品應完全液化成無可見的痰液團狀物。微粒物質可以存在，不可用於樣品的組成部分。

#### 方法 - 咳出痰液樣本(expectorated sputum sample)

**注意：**不要接受有明顯的食物顆粒或其他固體顆粒標本。

**注意：**只有在GeneXpert Dx系統有足夠的模組的情況下，可一次處理多個樣本。應嚴格遵守處理TB的指導原則。

- 1.給每個檢測匣標記樣品ID。（寫在了檢測匣的側面或貼上編號標籤。）請注意：不要將標籤放在蓋上或阻擋檢測匣的二維條碼。
- 2.樣品放置在防漏痰液收集容器中。
- 3.對於每個樣品而言，旋開痰液收集容器的蓋子，以樣品試劑：樣品（v/v）2:1的比例加入樣品試劑，蓋上蓋子，用力振搖10 - 20次。注意:一個來回轉動是一次振搖。
- 4.樣品在室溫下培養15分鐘。在5分鐘至10分的培養中，再次用力振搖標本10 – 20次。樣品應完全液化成無可見的痰液團狀物。微粒物質可以存在，但不可用於樣品部分。

#### 方法

##### 準備檢測匣

**重要性：**將樣品加入檢測匣，在30分鐘內開始檢測。

- 1.使用所提供的無菌移液管，將液化的樣品吸入至移液管最低標記之上。如果沒有足夠量的樣品，不要進一步處理樣品。
- 2.打開檢測匣的蓋子。將樣品移至檢測匣的打開部分。見下圖 1。緩緩加入以減少懸浮微粒的形成。
- 3.關閉檢測匣的蓋子。確保蓋子關緊。必要時剩餘液化樣本若保存2-8 °C達12小時，如果需要重複測試的話。

**重要性：**確保將檢測匣放入GeneXpert Dx儀器中，在準備檢測匣的30分鐘內進行檢測。

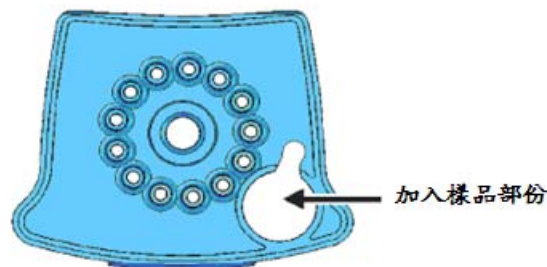


圖1.Xpert MTB/RIF 檢測匣(上方圖視)

## 開始檢測：

**重要性：**在您開始檢測之前，確保系統已經配備了GX2.1軟體，並且Xpert MTB/RIF檢測已經輸入該軟體中。該部分列出了運行檢測的基本步驟，詳細說明請參見GeneXpert Dx系統操作手冊

1. 打開電腦，然後打開GeneXpert Dx 系統。
2. 在Windows ®桌面上，按兩下GeneXpert Dx快捷方式圖示。
3. 輸入您的用戶名和密碼登錄到GeneXpert Dx系統軟體。
4. 在GeneXpert Dx系統視窗中，按一下建立測試。出現掃描檢測匣條碼的對話方塊。
5. 掃描檢測匣的條碼，建立測試窗口。使用條碼的資訊，該軟體會自動填寫以下資料：選擇分析種類、試劑批號、檢測匣SN和效期。
6. 在樣品ID框中，掃描或鍵入樣品編號。請確保您鍵入正確的樣品編號。樣本編號關聯著測試結果且顯示在“查看結果”視窗和所有的報告。
7. 按一下開始測試。出現的對話方塊中，鍵入您的密碼。
8. 儀器的綠燈閃爍時打開門並放入檢測匣。
9. 關門。測試開始，綠燈停止閃爍。當測試完成後，指示燈熄滅。
10. 等到運行結束，系統開鎖，打開門，移走檢測匣。
11. 根據實驗室標準操作，丟棄已使用過的檢測匣於適當的廢棄物容器中。

## 預覽和列印結果

對於如何預覽和列印結果的詳細說明，請參見Cepheid *GeneXpert Dx 系統操作手冊*。

## 品質控制

每個檢測匣都包括樣品處理品管（SPC）和探針檢查（PCC）。

**樣品處理控制（SPC）**—確保樣品經過正確處理。SPC包含乾孢子盒形式的非傳染性孢子，它包含在每一個檢測匣中，用於確認結核分枝桿充份處理。如果存在有機體，SPC可確認結核分枝桿菌的溶解已經發生，並可確認樣品處理是充分的。另外，這種控制可對樣品相關即時PCR分析的抑制作用進行檢測。SPC應在陰性樣品中呈陽性，並能在陽性樣品中呈陰性或陽性。如果符合驗證過的接受標準，則SPC為合格。如果在陰性測試中沒有檢測到SPC，檢測結果將會“無效”。

**探針檢查控制（PCC）**—在PCR反應開始之前，GeneXpert Dx系統從探針的螢光信號測量來監測bead再水合、反應管充填、探針完整和染料穩定。如果符合指定的接受標準，那麼探針檢查控制為通過。



圖 2. GeneXpert Dx 系統—受限使用者預覽結果視窗，檢測到低量結核分枝桿菌，檢測到利福平抗藥性

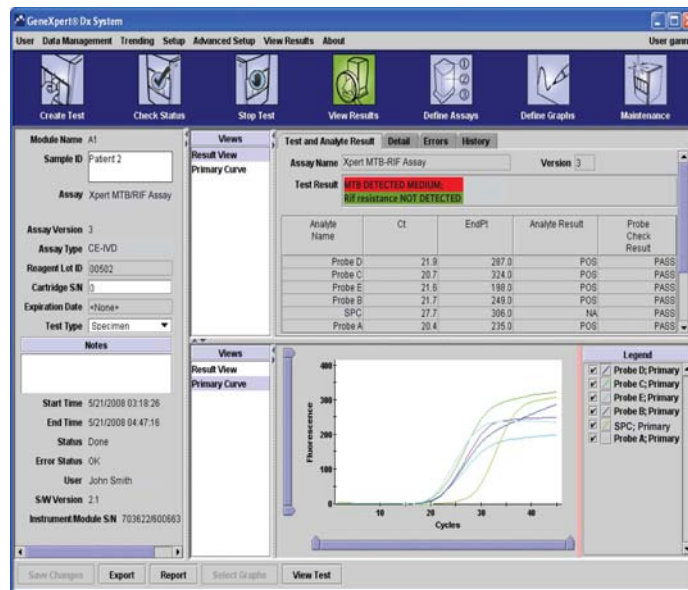


圖 3. GeneXpert DX 系統—受限使用者預覽結果視窗，檢測到中等量結核分枝桿菌，未檢測到利福平抗藥性

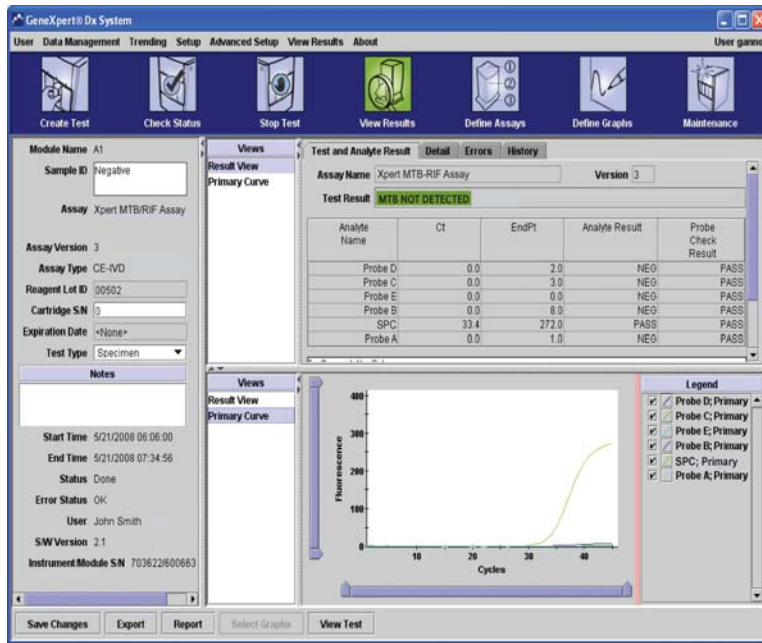


圖4. GeneXpert Dx系統—受限使用者預覽結果視窗，未檢測到結核分枝桿菌

#### 結果解釋

測試結果通過GeneXpert Dx系統從測量螢光信號和嵌入式計算演算法來解釋，將在“預覽結果”視窗顯示，較低的Ct值代表了較高的DNA樣本起始濃度；較高的Ct值代表了DNA樣本的濃度較低。

#### 一、檢測到結核分枝桿菌

檢測到結核分枝桿菌標的DNA

- 結核分枝桿菌檢測-基於樣品中MTB目標的Ct值，MTB結果將以高、中、低或非常低來顯示。表1列出了所顯示的MTB結果的Ct值範圍

表1.MTB結果名稱和Ct值範圍

MTB 結果	Ct 值範圍
高	3-16
中	16-22
低	22-28
非常低	>28

- MTB檢測結果中僅顯示檢測到利福平抗藥性、未檢測到利福平抗藥性或利福平抗藥性不確定，並且將顯示在已檢測到MTB的單獨另一條線上
- 檢測到利福平抗藥性； rpoB的基因突變已經檢測到，並落在有效的delta Ct 設定值範圍內。
- 利福平抗藥性不確定；結核分支桿菌的濃度非常低，不能確定抗藥性。
- 未檢測到利福平抗藥性；未檢測到rpoB 的基因突變
- SPC— NA (不適用)；由於可以由該控制完成結核分支桿菌擴增，因此不需要SPC信號。
- 探針檢測—合格；所有的探針檢測都合格。

## 二、未檢測到MTB

未檢測到結核分枝桿菌標的DNA，SPC符合接受標準。

- 未檢測到MTB—未檢測到MTB標的DNA
- SPC—合格；SPC具有一個Ct有效範圍和上述最小設定的終點
- 探針檢測—合格；所有探針檢測合格。

## 三、未檢測到RIF

RIF標的DNA未檢測到，SPC符合接受標準

- RIF未檢測到—RIF標的DNA未檢測到
- SPC—合格；SPC具有一個Ct有效範圍和上述最小設定的終點。
- 探針檢測—合格；所有探針檢測合格。

## 四、無效

不能確定MTB的存在或缺乏，用額外樣品重新進行檢測。SPC不能符合接受標準，樣品未被正確處理或PCR被抑制。

- MTB 無效—MTB DNA的存在或缺乏不能檢出
- SPC—失敗； MTB 目標結果是陰性，且SPC Ct 不在有效範圍內。
- 探針檢測— 合格；所有探針檢測都合格。

## 五、錯誤

- MTB—無結果
  - SPC—無結果
  - 探針檢測—失敗\*；一個或多個探針檢測結果失敗。
- \*如果探針檢測合格，該錯誤則是由系統部件故障引起。

## 六、無結果

- MTB—無結果
- SPC—無結果
- 探針檢測—不適用

## 重新分析的理由

如果出現以下的檢測結果，應使用新的檢測匣重新進行測試或是採用另一種程式：

- 一個“無效的結果”表示SPC失敗。表示該樣本經不正確地處理或PCR受到抑制。
- 一個“無效的結果”表示探針檢測控制失敗，分析失敗有可能是因為探針未能正確填充、檢測到試劑探針的完整性問題、或因為超過了最大壓力限度或出現一個GeneXpert模組故障引起
- 一個“無結果”來自沒有收集到足夠的資料。例如，操作者於中途停止了測試。

## 局限性

使用該說明書中提供的使用程式對Xpert MTB/RIF性能進行驗證。對這些程式的修改可能改變測試的性能。Xpert MTB/RIF的結果，需要結合其他實驗室或臨床醫師的臨床資料來進行解釋。

因為結核分支桿菌的檢測依賴於樣本中有機體的存在數量，可靠的結果依賴於適當的標本收集、處理和存儲。錯誤的測試結果可能因標本採集不當、未遵循建議的樣品採集程式、處理或貯存、技術誤差、樣本混淆、或者起始原料濃度不夠引起。為避免錯誤結果，必須仔細遵守本說明。

陽性檢測結果並不一定意味著存活的有機體的存在。不管怎樣，可假設MTB和RIF的存在。

檢測結果可能受到先前的或同時期抗生素治療的影響。因此，不能使用該測試來評價治療的成功或失敗，因為經過抗生素治療後，DNA可能持續存在。

引子或探針的結合部位的突變或多態性可能導致偵測到新型的或未知的MDR-MTB菌株或利福平抗藥性，錯誤的陰性結果。

## 效能特點：

### 臨床評估研究設計

Xpert MTB/RIF的性能評估於不同的臨床地點進行，Xpert MTB/RIF在GeneXpert系統與1) 耐酸性桿菌 (AFB) 塗片鏡檢，2) 液體和固體培養(Becton Dickinson BACTEC™X MGIT™, Lowenstein-Jensen)和3) 藥物敏感性測試 (DST)[包含異煙肼(INH)，利福平(RIF)，乙胺丁醇(EMB)，鏈黴素(streptomycin)和吡嗪醯胺(PZA)]的比較。從1462位患者收集到的4386樣品中包含567人(39%)AFB陽性塗片鏡檢陽性、174人(12%)AFB陰性塗片鏡檢陽性、105人(7%)臨床上TB病人及616人(42%)非結核分支桿菌病人，進行檢測分析。

## 總體結果

從1462位患者收集到的4386樣品進行了結核分支桿菌和利福平抗藥性的檢測，並與抗酸性桿菌塗片鏡檢和培養進行比較。

下列表格是對於每個患者的所有塗片和培養樣本的總體結果，並與每個患者的Xpert MTB/RIF總體結果進行比較。塗片結果陰性定義為所有塗片皆為陰性或最多1個可疑塗片，但其餘是陰性的結果。塗片結果陽性定義是一個陽性或更多個陽性結果或2個可疑結果。如果一個單獨培養結果為陽性，患者即為陽性，只要一個獨立結果為陽性，對於一個特定患者的Xpert MTB/RIF的結果應為陽性。

## Xpert MTB/RIF 與培養的比較情況

表2 總結了根據樣本塗片情況分類的Xpert MTB/RIF結果與最後培養結果的比較。如果至少1個培養結果為陽性，患者定義為MTB培養陽性，而一個培養陰性患者定義為所有培養結果為陰性。

表 2. Xpert MTB/RIF 與抗酸桿菌塗片和培養的比較情況

Table 2: Overall sensitivity and specificity of Xpert assay using 1, 2, or 3 Xpert results per patient (compared to 3 smears and 4 cultures).				
	Sensitivity All C+	Sensitivity S+C+	Sensitivity S-C+	Specificity Non-TB
UPCH, Peru%(Correct / total) 【95 CI】	99.1 (209/211) 【96.6 - 99.7】	100.0 (199/199) 【98.1 -100.0】	83.3 (10/12) 【55.2 - 95.3】	100.0 (102/102) 【96.4 -100.0】
Borstel & ST, I Azerbaijan%(Correct /total) 【CI】	96.6(144/149) 【92.4 - 98.6】	100.0(80/80) 【95.4 - 100.0】	92.8 (64/69) 【84.1 - 96.9】	97.1 (68/70) 【90.2 - 99.2】
UCT, South Africa % (Correct / total) 【CI】	95.9 (142/148) 【91.4 - 98.1】	99.0 (95/96) 【94.3 - 99.8】	90.4 (47/52) 【79.4 - 95.8】	98.4(186/189) 【95.4 - 99.5】
SAMRC, South Africa % (Correct /total) 【CI】	95.6 (43/45) 【85.2 - 98.8】	100.0(30/30) 【88.6 -100.0】	86.7 (13/15) 【62.1 - 96.3】	97.3 (213/219) 【94.2 - 98.7】
Hinduja, India%(Correct / total) 【CI】	98.4(185/188) 【95.4 - 99.5】	100.0 (162/162) 【99.7 -100.0】	88.5 (23/26) 【71.0 - 96.0】	97.2 (35/36) 【85.8 - 99.5】
Total (Three Xpert tests)% (Correct / total) [CI]	97.6 (723/741) 96.2 - 98.5	99.8 (566/567) 99.0 -100.0	90.2 (157/174) 84.9 - 93.8	98.1 (604/616) 96.6 - 98.9

對於那些分類為塗片陽性、培養陽性的患者，Xpert MTB/RIF分析的靈敏性為90.2% (157/174) 和100% (723/741)

塗片陰性、培養陰性的患者的特異性是98.1%

表 3. 對於利福平Xpert MTB/RIF與藥物敏感性檢測的性能特點比較

Table 3: Xpert sensitivity and specificity for detection of RMP resistance compared to phenotypic drug susceptibility testing (DST) alone and in combination with sequencing of discrepant cases. The bottom row shows Xpert sensitivity for detection of MDR, which was defined as resistance to RMP and INH.				
Comparator:	Phenotypic DST		Phenotypic DST and discrepant resolution by sequencing	
	Sensitivity in RMP resistant cases, %	Specificity in RMP sensitive cases, %	Sensitivity in RMP resistant cases, %	Specificity in RMP sensitive cases, %
UPCH, Peru	100.0 (16/16)	98.4(190/193)	100.0 (19/19)	100.0 (190/190)
Borstel & ST, I Azerbaijan	95.9 (47/49)	95.7 (90/94)	98.1 (51/52)	100.0 (90/90)
UCT, South Africa	93.8 (15/16)	100.0 (126/126)	100.0 (15/15)	100.0 (126/1265)
SAMRC, South Africa	100.0 (3/3)	100.0 (38/38)	100.0 (3/3)	100.0 (38/38)
Hinduja, India	98.3 (119/121)	95.3 (61/64)	99.2 (121/122)	100.0 (62/62)
Total RMP% (Correct/total) [CI]	97.6 (200/205) [94.4 - 98.9]	98.1 (505/515) [96.5 - 98.9]	99.0 (209/211) [96.6 - 99.7]	100.0 (506/506) [99.2 - 100.0]
Total MDR% (Correct/total) [CI]	97.5 (195/200) [94.3 - 98.9]		99.0 (197/199) [96.4 - 99.7]	

對於利福平抗藥性而言，測試到的Xpert MTB/RIF敏感性為97.6%，特异性為98.1%（利福平易感性）

### 干擾物

為評估Xpert Dx MTB/RIF分析處理的痰液樣品中存在物質潛在抑制影響，進行了一項研究。這些包括但不限於：血液、膿、哺乳動物細胞和血紅素。這些物質以5%最終樣品濃度（血液、膿、哺乳動物細胞）或0.2%（血紅素）進行Xpert MTB/RIF性能檢測。

沒有觀察到上述任何潛在的干擾物質的抑制作用。

### 分析靈敏度

為了確定該分析檢測極限（LoD）的95%信賴區間(95%CI)，進行了其他的研究。偵測極限確定為具有95%信賴區間的每個陰性樣品中，可重複測定出的最少數量的菌落形成單位（CFU）。分析檢測極限通過對添加陰性臨床痰樣品中不同濃度的結核分支桿菌的20個平行樣品分析來確定檢測。在這種研究條件下，結果顯示檢測極限為131CFU/ml，95%信賴區間為106.2-176.4CFU/ml。估計值和信賴水準採用不同濃度的測得資料（每個水準的測試陽性數）進行logistic回歸來確定。

信賴區間(confidence intervals)通過對Logistic模型(logistic model)上使用的最大樣本方差協方差矩陣參數最大可能估計來確定，

### 分析特異性(排他性)

對18個非結核分枝桿菌的培養物，NTM非結核分枝桿菌(原MOTT非結核分枝桿菌)進行了Xpert MTB/RIF測試。每個分離菌株的兩個或多個複製品添加至陰性痰液樣本中，在 $10^6$ CFU/毫升濃度下進行檢測。

**表4.** 用於特異性檢測的非結核分支桿菌

NTM Strains Tested ( $10^6$ cfu/mL)			
1	<i>M. avium</i> , SmT Mc2, 2500	10	<i>M. genevenses</i> , #51233
2	<i>M. avium</i> , SmD Mc2, 2501	11	<i>M. xenopi</i> , #2278
3	<i>M. intracellular</i> , #35790	12	<i>M. szulgai</i> , Cap E9-1997
4	<i>M. intracellular</i> , #35776	13	<i>M. celatum</i> , #51131
5	<i>M. kansasii</i> , #35776	14	<i>M. marinum</i> , Cap E10
6	<i>M. scrofulaceum</i> , Cap E5-1985	15	<i>M. simiae</i> , #25275
7	<i>M. malmoense</i> , #29571	16	<i>M. asiaticum</i> , E1-1985
8	<i>M. fortuitum</i> , #35754	17	<i>M. thermoresistable</i> , e22-1985
9	<i>M. chelonae</i> , #35749	18	<i>M. flavescens</i> , PoH 193D

於該研究條件下，所有的非結核分枝桿菌分離菌株為結核分枝桿菌陰性。另外，為了確定高濃度的非結核分枝桿菌是否影響低濃度肺結核的檢測，表5中所列菌株與結核菌株H37Rv混合在痰液樣品中，使最終濃度為 $10^6$  cfu/mL NTM和200 cfu/mL H37Rv。

**表 5.** NTM菌株用於對肺結核檢測影響的測試

Strains Tested
<i>M. avium</i> , SmT Mc2, 2500
<i>M. avium</i> , SmD Mc2, 2501
<i>M. intracellular</i> , #35790
<i>M. intracellular</i> , #35776
<i>M. kansasii</i> , #35776
<i>M. malmoense</i> , #29571

六種菌株中的五種菌株對200 cfu/mL濃度的結核分枝桿菌的檢測沒有影響，該信號與單獨H37Rv相同。第六種-*M. malmoense*，在 $10^6$  cfu/mL時產生微弱的影響，但 $10^5$  cfu/mL或濃度更低時則無影響。因此，即使有 $10^5$  cfu/mL濃度的NTM，對結核分枝桿菌的檢測沒有影響

非結核分枝桿菌病原體 (n=61) 代表了痰液中或者口腔中大部分的病原體、一般的污染物和微生物群，以最終反應體積 $10^6$ 複製物濃度進行檢測。所有生物體都通過Xpert MTB/RIF分析，正確地確定為MTB陰性。陽性和陰性對照也列入此研究中。特異性為100%。

## 特異性檢測的菌種/菌株

表 6. 用於特異性檢測的菌種/菌株

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Actinomyces meyeri</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Staphylococcus capitis</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Listeria grayi</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus equi</i>
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Neisseria lactamica</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Streptococcus constellatus</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Escherichia coli</i> (Strain type 2)	<i>Proteus mirabilis</i>	
<i>Escherichia coli</i> O157H7 (Strain type 1)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Salmonella typhi</i>	
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Serratia marcescens</i>	

## 分析的包容性

採用修訂的Xpert MTB/RIF的DNA檢測方案，從79個MTB菌株中萃取DNA樣本進行檢測。最終反應成份和PCR設定條件與患者樣品檢測的方案相同。70種菌株來自WHO/ TDR收集，9種來自新澤西醫科大學實驗室收集。這些菌株代表了從31個國家的分離菌株，包含了37個利福平抗藥性分離菌株，由13個單一的rpoB核心區域突變組成。這些包含TDR資料庫中發現的每一個單一的rpoB突變。並用水作為陰性樣品。

最終的100µL反應混合物包含分離菌株的90個基因拷貝。

如以下表格所示，Xpert MTB/RIF正確地檢測到所有MTB菌株和正確識別利福平抗藥性菌株。

			GeneXpert Result		
			MTB Positive		MTB Negative
			RIF detected	RIF not detected	
Reference	MTB +	RIF Resistance	37	0	0
		RIF Sensitive	0	42	0
	MTB -	0	0	52	

## 痰標本中的分枝桿菌的滅活

本試劑盒樣品試劑的滅活能力通過採用標準化的定量結核菌培養法來確定。痰樣本添加了高濃度的活性牛分枝桿菌，並與樣品試劑混合其比例為試劑:痰樣本 = 2:1，培養15分鐘。培養後的樣品試劑/痰混合物通過稀釋和過濾，中和，然後培養。與未處理的痰分枝桿菌生物活力相比，處理後的分枝桿菌活性下降了5個對數值(log)。

每個實驗室必須通過他們自身的標準化方法來確定樣品試劑的滅活能力，必須符合推薦的生物安全規則。

## 幫助

請聯繫當地的Cepheid代表。

## 標誌表

標誌	意義
	目錄編號
	體外診斷醫療器材
	僅供單次使用
	警告，請查閱相應文件
	製造廠
	含足夠試劑<n>
	效期
	品管
	歐盟代表
	溫度限制
	生物危害

製造廠名稱: Cepheid AB

製造廠地址: Röntgenvägen 5 SE-171 54, Solna Sweden

藥商名稱: 佑康股份有限公司

藥商地址: 台北市忠孝東路5段550號14樓