艾伯斯特B型肝炎病毒檢測試劑組
Xpert HBV Viral Load

衛部醫器輸字第 033279 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
GXHBV-VL-CE-10

1.效能
本產品為聚合酶鏈鎖反應體外診斷試劑，搭配全自動GeneXpert Dx儀器系統使用，定量檢測慢性B型肝炎感染者血清或血漿(EDTA)中B型肝炎病毒(HBV) DNA含量。
本產品測定血漿HBV DNA含量改變，結合患者臨床表現和其他實驗室標誌可用於疾病預後和作為病毒對抗病毒治療反應的輔助評估。
本產品檢測不作為血液捐贈者HBV篩選試驗，亦不可作為確認HBV感染的存在的診斷測試。

2.概要說明
B型肝炎病毒（HBV）是Hepadnaviridae家族中的一種小的包膜DNA病毒，是急性和慢性HBV肝炎原由。該病毒具有小的環狀DNA基因組，其中部分為雙鏈，部分為單鏈，直徑為42nm。 HBV含有多種抗原成分，包括B型肝炎表面抗原（HBsAg），B型肝炎核心抗原（HBcAg）和B型肝炎e抗原（HBeAg）。 HBV傳播是經皮或黏膜接觸受感染的血液，受感染的母親到新生兒，通過家庭內的密切接觸，通過醫療保健環境中的接受未篩檢的血液或不安全注射，通過注射吸毒，以及與感染者發生性接觸。
慢性B型肝炎（CHB）可能表現出B型肝炎e抗原（HBeAg）-陽性或HBeAg-陰性CHB。年齡特異性HBsAg血清陽性率因地理區域而異，在撒哈拉以南非洲，東亞，巴爾幹地區的一些地區，太平洋島嶼和南美洲的亞馬遜流域患病率最高（＞5%）。在拉丁美洲中部，北美洲和西歐等地區患病率低於2%。總體而言，全球近一半人口居住在高度流行的地區。
CHB的發病率和死亡率與病毒複製的持續性和向肝硬化和/或肝細胞癌（HCC）的進化有關。病毒性肝炎的死亡率隨著時間的推移而增加，並且將繼續增加，除非人們被診斷和治療。
HBV疫苗可用於嬰兒，大大減少了新的慢性感染數，但覆蓋率僅為39%。 2015年，世界上3.5%的人口患感染慢性HBV，西太平洋和非洲地區是受影響最嚴重的地區。在HBV患者中只有9%的知道自己的診斷，而那些被診斷出的患者只有8%接受了治療。核苷和核苷酸類似物，如替諾福韋和恩替卡韋，建議給那些有資格接受治療的人，因為這些抗病毒藥物可有效抑制HBV複製，預防進展到肝硬化，減少肝臟相關死亡。 HBV的治療是持續終生的。

3.程序原理
GeneXpert 設備系統使用即時PCR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。

本產品試劑組包括HBV DNA檢體分析的試劑和兩個內部品管用於定量HBV DNA。內部品管也用於監控PCR過程抑制劑的存在。探針檢查控制（PCC）確認試劑再水合、檢測匣(cartridge)中PCR管的填充、探針完整性和染料穩定性。

本測定法以世界衛生組織（WHO）4th國際標準品用於HBV DNA核酸擴增技術（NIBSC代碼：10/266）進行了標準化。

5.試劑和設備
5.1 ▽提供的材料
本產品試劑組包括足夠處理十位患者和/或品管檢體的試劑，本試劑組包括以下材料：

HBV VL分析匣含有完整反應管	10個
• Bead 1, Bead 2, and Bead 3 (冷凍乾燥)	各1 個/檢測匣
• 裂解試劑 (異硫氰酸胍)	1.7 mL/檢測匣
• 沖洗試劑	0.5 mL /檢測匣
• 溶析試劑	1.5 mL /檢測匣
• 結合試劑	1.5 mL/檢測匣
• 蛋白酶K試劑	0.48 mL/檢測匣
拋棄式1mL移液吸管	10支/試劑組
光碟	1片/試劑組

•檢測定義檔（ADF）
•ADF匯入GeneXpert執行檔使用說明
•使用說明（產品仿單）

註：
本產品提供所有檢測試劑的材料安全資料表（MSDS），可向Cepheid技術支援索取和登錄www.cepheid.com獲得。

註:
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。

6.儲存和操作
- 本產品檢測匣貯存在2–35 ℃直到標籤上的保存期限。
- 如果冷藏保存，請在使用前將檢測匣置於室溫
- 請勿使用已過期的試劑或檢測匣。
- 直到開始檢測時才打開檢測匣。
- 請勿使用已洩漏的檢測匣。

7.其他材料需求但未提供
- GeneXpert Dx系統系統(型號取決於使用的設備模型)：GeneXpert儀器、電腦需包含適當軟體版本4.7b或更高（GeneXpert Dx），Xpertise 6.4b、條碼掃描器和操作手冊。
- 印表機(如有需要，請聯繫廠家，確認適用的印表機型號)。
- 漂白水或次氯酸鈉溶液。
- 乙醇或變性乙醇

8.警告及注意事項
- **僅用於體外診斷。**
- **具感染性的生物性檢體包含使用過的檢測匣，因爲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。**
- **建議良好的實驗室規範包括操作不同樣本更換手套，可避免檢體或試劑的污染。**
- **依照實驗室安全規定操作化學試劑和生物性檢體。**
- **勿以其他試劑取代本產品試劑。**
- **勿打開本產品上蓋直到加入檢體和試劑時。**
- **開封取出的檢測匣，若經掉落請勿使用。**
- **請勿震盪檢測匣。震盪或掉落上蓋已打開的檢測匣可能產生無效結果。**
- **若檢測匣的反應管損壞，請勿使用。**
- **請勿蓋住檢測匣上的掃描標籤。**
- **使用移液吸管或精密定量吸管將樣品添加到檢測匣。不要將檢體直接從收集裝置倒入檢測匣中。**
- **每個檢測匣僅供單次使用，請勿重複使用。**
- **拋棄式移液吸管僅供單次使用，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，請先以新鮮泡製0.5%次氯酸鈉(或1:10稀釋的家用氣漂白水)，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。**
- **生物樣本、轉移設備和使用過的檢測匣應被視爲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樣本和使用過的檢測匣。**

9. 化學危害
- 信號詞：警告(Warning)
- **聯合國GHS危害聲明**
- 吞嚥下去可能有害
- 導致輕微的皮膚刺激
- 引起眼睛刺激
- **聯合國GHS防範聲明**
  - 預防
    - 處理後徹底清洗。
  - 回應
    - 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。
    - 如果感覺不適，呼叫毒物中心或醫生

10.檢體採集，運送和儲存
以K2-EDTA，EDTA-PPT，或血清採集管收集全血，離心分離血漿/血清和紅血球。
- 本產品檢測最少需要0.6 mL血漿或血清。使用試劑盒中的移液管必須將血漿或血清吸至到第四標記處（1.0 mL）。或者，如果使用精密定量吸管，則需要0.6 mL血漿或血清。分別參見第12.2節，選項1和選項2中的說明。
- 準備和測試檢體前，全血可在2-30℃下穩定24小時，或在2-8℃穩定3天。離心應按照製造商說明執行。
- 離心分離後，血漿和血清可在2-35℃下穩定24小時或在2-8℃下穩定達7天。
- 血漿和血清檢體冷凍（-20℃至-80℃）可穩定六個星期。
- 血漿和血清檢體重複三次冷凍/解凍仍可維持穩定。
- 血漿和血清檢體加樣至檢測匣前需解凍並回至室溫。
- 全血、血漿或血清檢體的運送必須符合國家，地區，州和地方法規對生物性試劑運送的規範。

11.步驟
11.1檢體的準備

注意：添加檢體到檢測匣(cartridge)需在4小時內進行檢測。

1. 在全血樣本離心後，可以將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11.2節，檢測匣的準備）。
2. 冷凍檢體，請置於室溫20-35℃解凍，完全解凍到室溫後再使用。
3. 2-8℃儲存的血漿或血清檢體應自冰箱取出回溫至室溫再使用。
4. 2-8℃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，請快速離心使檢體澄清。

11.2檢測匣的準備
1. 使用拋棄式手套。
2. 如果檢測匣有冷藏，使用前回溫至室溫。
3. 檢查檢測匣。如有損壞，請勿使用。
4. 標註檢體資訊在檢測匣。
5. 打開檢測匣的蓋子。
6. 加入檢體到檢測匣。
   - 選項1：如果使用試劑組中的移液吸管(圖1)，將移液吸管吸取採集管中的血漿或血清到第四標記處（1.0 mL）或略高一些。將移液管的內容物加入檢測匣的的樣品槽中（圖2）。
   - 選項2：如果使用自動定量吸管，取至少0.6 mL血漿或血清到檢測匣的的樣品槽中（圖2）。

注意：檢測匣上有13個孔，內圈覆蓋有塑料薄膜，請勿移除此薄膜。

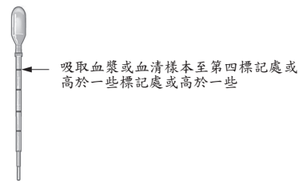

圖1: HBV VL分析移液吸管

7. 關閉檢測匣蓋子。 確保蓋子牢固地卡入到位。

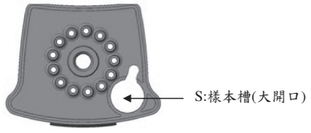

圖2:HBV-VL檢測匣(上方俯視圖)

11.3檢測開始
重點:啓動檢測前，確認HBV VL檢測定義檔已導入到軟體中。
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的系統工作流程，步驟可以不同
1. 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軟體圖示捷徑。
2. 以您的使用者名稱和密碼登入GeneXpert設備系統軟體。
3. 在GeneXpert系統視窗，按下Create test(GeneXpert Dx)進入新增檢測視窗。
4. 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。
5. 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。
6. 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，試劑批號標示，檢測匣序號，和有效日期。
   注意:如果HBV VL檢測匣的條碼未掃描出來，請使用新檢測匣重複測試。
7. 按下 “Start Test”(GeneXpert Dx)。如有需要，輸入您的密碼。
8. 以GeneXpert Dx設備:
   A.綠燈閃爍時打開儀器模組的門，並裝上檢測匣。
   B.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。
   C.直到設備打開門鎖，才可打開模組門並取出檢測匣。
   D.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。

12.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。
- 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。

13.品管
每個檢測匣都包括樣本足量控制(SVA)、內部定量標準高值及低值(IQS-H和IQS-L)，批號特定參數(LPS)及探針檢查控制(PCC）。
- 樣本足量控制（SVA）：確保檢體正確添加到檢測匣。SVA可確保正確的樣本量被添加至樣本槽。SVA通過表示檢體量標準。如果SVA沒有通過，ERROR 2096表示無樣本加入，ERROR 2097表示樣本量不足。系統將預防用戶繼續測試。
- 內部定量標準高值及低值(IQS-H和IQS-L)：IQS-H和IQS-L是兩個與HBV無關的序列線性化質體，其包含在每個檢測匣中並經歷整個檢測過程。這些是用於計算樣品中HBV DNA濃度的標準品。此外，IQS-H和IQS-L可檢測檢體相關的即時PCR抑制反應。若IQS-H和IQS-L合格，表示符合驗證標準。
- 用於定量的批號特定參數（LPS）：每個試劑盒批號都有一個由HBV校正套組產生的內建LSP，可追溯到HBV WHO 4th國際標準（NIBSC代碼：10/266），以及IQS-H和IQS-L。LSP對於試劑批號是唯一的，用於確保正確的定量。
- 探頭檢查品管（PCC）：在PCR反應開始之前，GeneXpert系統測量來自探針的螢光信號來監測 bead再水合、反應管充填、探針完整和染料穩定。如果符合驗證的標準，那麼探針檢查品管為合格。
- 外部控制：遵循良好的實驗室規範，試劑組中不包含外部品管，請根據當地和國家認可機構的要求使用。

14.結果判讀
結果判讀是由GeneXpert 設備藉由量測的螢光信號和內建軟體的計算公式產生結果。結果將顯示於“View Results”視窗(圖3和圖8)。可能結果顯示於表1

表1. Xpert HBV Viral Load 分析結果與解釋

結果	解釋
HBV 被檢測出 XX IU/mL (log X.XX) 見圖3	HBV DNA檢測到 XX IU/mL(log X.XX)。 •HBV DNA量在在測定的定量範圍內(10-1.00E09 IU/mL) •IQS-H和IQS-L：PASS。 •探針檢查 - PASS; 所有探針檢查結果通過。
HBV 被檢測出 > 1.00E09 IU/mL 見圖4	HBV DNA檢測值高於分析測量範圍。 •IQS-H和IQS-L：通過。 •探針檢查 - PASS; 所有探針檢查結果通過。
HBV 被檢測出 < 10 IU/mL 見圖5	HBV DNA檢測值低於分析測量範圍。 •IQS-H和IQS-L：通過。 •探針檢查 - PASS; 所有探針檢查結果通過。
HBV 未偵測到 見圖6	HBV DNA未被偵測到。 •IQS-H和IQS-L：通過。 •探針檢查 -通過; 所有探針檢查結果通過。
無效 見圖7	無法確定HBV DNA存在或不存在。按第15.2節所述重複測試。 IQS-H和/及IQS-L：失敗；週期閾值(Cts)不在有效範圍內。 •探針檢查 -通過; 所有探針檢查結果通過。
錯誤 見圖8	無法確定HBV DNA存在或不存在。按第15.2節所述重複測試。 •探針檢查 – 失敗; 所有或一個探針檢查結果失敗。 •如果探針檢查通過，則錯誤是由超過最大壓力限制可接受範圍引起的 或者系統組件故障。
沒結果	無法確定HBV DNA存在或不存在。按第15.2節所述重複測試。 A NO RESULT表示收集的數據不足。例如，操作員停止了正在進行的測試

注意：分析截圖僅供示例。版本號可能與本仿單不同。

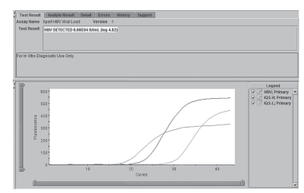

圖3. HBV 被檢測出並定量

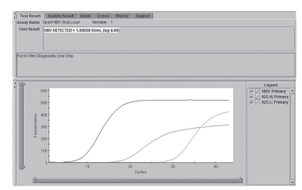

圖4. HBV DNA被檢測出但檢測值高於分析測量範圍。

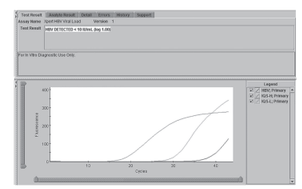

圖5. HBV DNA被檢測出但檢測值低於分析測量範圍。

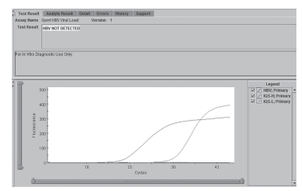

圖6. HBV未檢測出

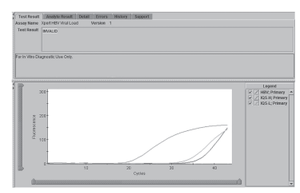

圖7.無效結果

圖8.錯誤

15.重測
15.1重新檢測的原因
如果出現下列檢測結果，請依照說明書15.2重新檢測
- INVALID結果顯示下列1或多個原因：
  - IQS-H和/或IQS-L未在有效範圍
  - 檢體沒有正確處理或PCR被抑制。
- ERROR結果顯示分析被停止，可能原因有：檢體加樣不足、反應管不適當的填充、試劑探針完整性問題、壓力超標。
- NO RESULT結果顯示資料不足。如：操作者中途停止檢測或電力發生中斷。

15.2重新檢測的流程
如果測試結果為INVALID、ERROR、NO RESULT請使用新的檢測匣重新檢測受影響的檢體(請勿重複使用檢測匣)。
1. 從盒中取用新的檢測匣。
2. 請見章節11，步驟見11.2準備新的檢測匣，11.3開始測檢體。

16.限制
- **建議良好的實驗室規範和操作不同檢體更換手套，可避免檢體或試劑的污染。**
- **本產品的目標區域內，罕見的突變可能影響引子或探針結合，從而導致病毒定量下降或檢測病毒失敗。**
- **這個分析已經被驗證僅用於EDTA血漿。用這種方法檢測其他檢體類型可能會導致不準確的結果。**
- **陰性測試結果並不排除HBV感染。因此，本產品不應作爲一個診斷測試來確認是否存在HBV感染。**

17.性能特徵
17.1最低偵測極限
本產品的最低偵測極限（LOD）是測定透過以HBV陰性EDTA血漿和血清序列稀釋4th WHO國際標準HBV DNA（NIBSC代碼10/266）中的HBV基因型A決定。分別使用四個或三個試劑批號測試六種濃度和陰性的EDTA血漿和血清組。每組在三天內進行測試，每個試劑批號重複24次。每個血漿組總共重複96次測試，每個血清組重複72次測試。
EDTA血漿和血清的結果顯示在表2中。研究表明，本產品檢測到的世界衛生組織（WHO）國際標準的HBV DNA在EDTA血漿中的濃度為3.20 IU / mL，在血清中的濃度為5.99 IU / mL，通過PROBIT回歸測定的陽性率為95%。

表2. Xpert HBV VL的最低偵測極限檢測使用4th WHO HBV國際標準品

基因型	基質	標示HBV濃度 (IU/mL)	有效的重複數	陽性數	陽性比例(%)	95% LOD by PROBIT (95% 信賴區間)
A	血漿	10	95	95	100	3.20 IU/mL (2.79 – 3.60 IU/mL)
		5	96	94	98	
		2.5	96	82	85	
		1.25	96	62	65	
		0.625	96	41	43	
		0	96	0	0	
A	血清	10	72	71	99	5.99 IU/mL (5.13 – 6.86 IU/mL)
		5	72	67	93	
		2.5	72	58	81	
		1.25	72	33	46	
		0.625	72	21	29	
		0	72	0	0	

HBV基因型B至H的最低偵測極限透過測試由代表每種基因型的HBV陽性檢體摻入HBV陰性EDTA血漿製備的六或七組決定（基因型B至G來自WHO國際參考組，PEI代碼：5086/08，和基因型H臨床檢體）。每組使用三個試劑批號測試超過三天，每組總共24個重複。結果列於表3中。

表3.EDTA血漿中HBV基因型B至H的最低偵測極限

基因型	95% LOD by PROBIT (IU/mL)	95%信賴區間 (IU/mL)
B	1.34	0.98 – 1.69
C	1.63	1.23 – 2.03
D	3.96	3.01 – 4.92
E	3.77	2.76 – 4.78
F	2.39	1.82 – 2.96
G	1.21	0.95 – 1.47
H	3.84	2.91 – 4.77

根據CLSI EP17-A2，使用24個重複，在血清中驗證HBV基因型B至H的最低偵測極限。如果未達到> 85%的陽性率，則測試更高的濃度。結果見表4。

表4.血清中基因型B至H的LOD驗證

基因型	標示HBV濃度 (IU/mL)	陽性比例(%)
B	1.34	88
C	3.25	96
D	3.96	96
E	3.77	96
F	2.39	92
G	1.21	88
H	3.84	100

用前核心突變體評估本產品的表現，測定序列的HBV臨床檢體包括兩個前核心突變（C1858T和G1896A）和兩個基礎核心啟動子突變（A1762T和G1764A）。用一個試劑批號在EDTA血漿和血清中稀釋至10 IU / mL的濃度。在每個基質中， 24次重複的每一個測試，呈現100%的陽性率。

17.2最低定量極限
最低定量極限(LLOQ)被定義為依總分析誤差（TAE）規範及基於兩次測量之間差異的方法達可接受的精密度和正確性的HBV DNA被定量的最低濃度。在接近偵測極限的EDTA血漿中，用四個獨立檢體（代表HBV基因型A至D）評估LLOQ。每個檢體使用四個批號試劑測試，每個批號重複8-24次。根據CLSI規範EP17-A2，使用Westgard模型計算TAE，其標準為[（絕對偏差）+2SDs≤$1\log_{10}$IU/ mL]。用該標準評估兩種測量方法之間的差異[（2xSQRT（2）xSD）≤$1\log_{10}$IU/ mL]。
表5中列出了每個檢體的LLoQ分析。結果表明，本產品可接受的真實性和精密度定量的HBV DNA為10 IU / mL。

表5. Xpert HBV VL分析的LLOQ的測定

HBV 基因型	批號	數量	HBV 濃度 (log10 IU/mL) 預期	觀察	偏差	總SD	總分析誤差[a]	兩種測量方法[b]
A	1	24	1.00	1.02	0.02	0.20	0.42	0.57
	2	24	1.00	1.05	0.05	0.16	0.37	0.45
	3	24	1.00	0.94	-0.06	0.20	0.46	0.57
	4	23	1.00	1.02	0.02	0.14	0.30	0.40
B	1	16	1.00	1.18	0.18	0.11	0.39	0.30
	2	24	1.00	1.18	0.18	0.17	0.53	0.49
	3	8	1.00	1.17	0.17	0.19	0.54	0.53
	4	8	1.00	1.25	0.25	0.19	0.64	0.55
C	1	16	1.00	1.10	0.10	0.17	0.44	0.47
	2	24	1.00	1.11	0.11	0.22	0.55	0.61
	3	8	1.00	0.83	-0.17	0.24	0.65	0.68
	4	8	1.00	1.01	0.01	0.18	0.36	0.50
D	1	16	1.00	0.81	-0.19	0.28	0.74	0.78
	2	24	1.00	0.79	-0.21	0.27	0.75	0.76
	3	8	1.00	0.83	-0.14	0.14	0.42	0.39
	4	8	1.00	0.91	-0.09	0.11	0.31	0.32

a.根據Westgard模型計算的TAE，其中[TAE = ｜Bias｜ + (2xSD) ≤ 1 $\log_{10}$ IU/mL]確保測量值小於1 $\log_{10}$ IU / mL的概率為95%值
b.兩種測量方法[2 × (SQRT(2) × SD) ≤ 1 $\log_{10}$ IU/mL]表明，隨機測量誤差可以解釋小於1 $\log_{10}$ IU / mL的差。

17.3精密度/再現性
使用方差分析（ANOVA）在K2EDTA血漿中評估本產品的精密度/再現性以估計總變異。
該研究是一個多中心（3個地點; 2個外部和1個內部）盲測研究，評估本產品的變異主要成分為以8個HBV陽性組所組成的8組物質。通過將有特性的HBV質體或HBV陽性臨床檢體稀釋到EDTA血漿中製備成HBV陽性物質。兩個操作員，一個具有先前的PCR經驗，一個沒有，在三個研究地點，在六個測試日內每組每天測試兩次（相當於每天重複八次），每個小組成員總共144個重複測試。。使用三個批號本產品，每個批號代表兩天的測試。精密度和可重複性 根據CLSI EP05-A311和CLSI EP15-A3評估。
通過使用ANOVA評估本產品的精密度和再現性，其中包括地點/儀器，批號，日，操作員/運行和批內。如表6中所示計算由$\log_{10}$ HBV轉化濃度的每種組分引起的標準偏差和變異性百分比。

表6. Xpert HBV VL分析的精密度/再現性

HBV DNA 濃度 (Log_{10} IU/mL)			對整體變異SD貢獻 (CV%)										總合精密度	
			地點/儀器		批號		天		操作員/運行		批內			
Expected	Observed	N	SD	(%)[a]	SD	(%)[a]	SD	(%)[a]	SD	(%)[a]	SD	(%)[a]	SD	CV (%)[b]
9.00	9.13[c]	144	<0.01	>0.01	0.04	23.4	<0.01	<0.01	0.02	4.9	0.07	71.7	0.08	19.7
8.00	8.17	144	<0.01	<0.01	0.04	26.7	<0.01	<0.01	0.02	5.4	0.06	67.9	0.07	16.9
7.00	7.15	144	0.01	2.2	0.03	12.2	0.01	3.9	<0.01	<0.01	0.07	81.8	0.07	16.8
6.00	6.18	144	<0.01	<0.01	0.04	32.1	0.01	4.3	<0.01	<0.01	0.05	63.6	0.06	14.7
4.70	4.87	144	0.02	4.5	0.03	15.3	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.07	80.2	0.07	17.1
3.00	3.19	144	<0.01	<0.01	0.03	28.8	<0.01	<0.01	0.02	11.5	0.04	59.7	0.06	13.2
2.00	2.17	144	<0.01	<0.01	0.02	8.6	<0.01	<0.01	0.01	1.0	0.08	90.5	0.08	19.0
1.00	1.13	144	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.05	11.0	0.01	0.3	0.15	88.8	0.16	37.7

a（%）是變異分量對總體變異的貢獻
b "CV" 是對數正態CV，使用公式得到：$Lognormal\ CV(\%) = 100 * \sqrt{10^{(\ln(10)*\sigma^2_{log\ result\ data})} - 1}$
c 觀察值高於本產品的定量範圍

17.4線性範圍
本產品的線性範圍由8個組分析，HBV濃度範圍為1.00-9.00 $\log_{10}$ IU / mL。透過HBV陰性EDTA血漿和血清稀釋HBV基因型A臨床檢體或高濃度HBV 質體DNA來配置。每組以各批號進行8次重複分析，除了最低稀釋度，使用兩個試劑批號進行16次重複分析。結果如圖9和圖10所示。

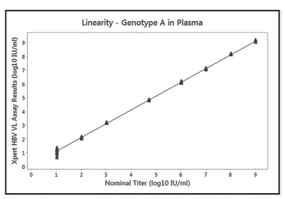

圖9. EDTA血漿中Xpert HBV VL分析的線性

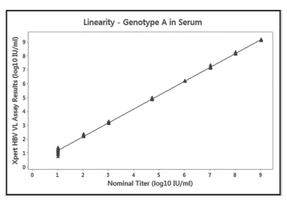

圖10. EDTA血清中Xpert HBV VL分析的線性

為了確認線性，透過HBV陰性EDTA血漿中稀釋每種基因型的臨床檢體，製備代表HBV基因型B至H的稀釋組以盡可能覆蓋測量範圍。每組分析使用一個試劑批號進行與有HBV基因型A與相同次數的重複分析。
基因型A-H線性根據CLSI指南EP06-A驗證，R^2> 0.99。本產品在基因型A 在1.00 - 9.00 $\log_{10}$ IU / mL的範圍內是線性的，且在基因型B至H的測試範圍內是線性的（參見表7）。

表7. Xpert HBV VL分析基因型的線性

Genotype	Linear Regression Equation	R^2	Tested Titer Range (Log_{10} IU/mL)
A (Plasma)	y = 1.005x + 0.093	0.999	1.00 – 9.00
A (Serum)	y = 1.000x + 0.167	0.999	1.00 – 9.00
B	y = 0.998x – 0.027	0.995	1.00 – 6.83
C	y = 0.998x – 0.119	0.998	1.00 – 7.69
D	y = 0.993x + 0.101	0.998	1.00 – 7.41
E	y = 1.010x – 0.149	0.999	1.00 – 8.14
F	y = 0.994x – 0.068	0.999	1.00 – 7.96
G	y = 0.990x + 0.538	0.999	1.00 – 8.61
H	y = 0.991x + 0.122	0.999	1.00 – 6.35

17.5分析特異性（排斥性）
本產品的分析特異性通過添加濃度為1×10⁶CFU / mL的潛在交叉反應有機物，或添加1x10⁷copies / mL或TCID50 / mL病毒於HBV陰性EDTA血漿和EDTA血漿含有約30 IU / mL的HBV參考物質（4th WHO HBV國際標準，NIBSC代碼：10/266）。測試的生物體列於表8中。所測試的生物體均未顯示交叉反應或干擾本產品的定量。

表8.分析特異性有機物

病毒		細菌	酵母菌
BK Human polyoma virus	Human Immunodeficiency virus 1	*Staphylococcus epidermidis*	*Candida albicans*
Cytomegalovirus	Human Immunodeficiency virus 2	*Staphylococcus aureus*	
Epstein-Barr virus	Human papilloma virus 16		
Hepatitis A virus	Human papilloma virus 18		
Hepatitis C virus	Human T-cell lymphotropic virus type 1		
Herpes simplex virus 1	Human T-cell lymphotropic virus type 2		
Herpes simplex virus 2	Varicella Zoster virus		
Human herpes virus 6	Vaccina virus		
Human herpes virus 8			

17.7潛在的干擾物質
本產品透過對高濃度內源性物質，自體免疫疾病標誌物和HBV感染患者的給藥進行肝染感受性評估。於存在和不存在約30IU / mL HBV DNA（4th WHO HBV國際標準，NIBSC代碼：10/266）參考物質的情況下評估抑製作用。
表9中列出的高濃度內源性物質顯示不干擾本產品的定量，在每個含有潛在干擾物質的log10陽性HBV 檢體落在陽性對照±0.10 log10 IU / mL範圍內。沒有HBV靶標的所有檢體皆為陰性結果，證明對測定的特異性沒有影響。

表9. 內源性物質和濃度測試

物質	測試濃度
Albumin	9 g/dL
Bilirubin	20 mg/dL
Hemoglobin	500 mg/dL
Human DNA	0.4 mg/dL
Triglycerides	3000 mg/dL

表10的藥物組分顯示在存在和不存在HBV DNA時，以三次峰值濃度（C max）測試，皆不干擾本產品的定量或影響測定特異性。

表10. 藥物混合測試

混合	藥物
1	Zidovudine, Saquinavir, Clarithromycin, Interferon-alfa-2b, Ritonavir, Ombitasvir, Paritaprevir, Dasabuvir, Didanosine
2	Abacavir Sulfate, Fosamprenavir, Peginterferon-alfa-2a, Ribavirin, Entecavir, Adefovir Dipivoxil
3	Tenofovir disoproxil fumarate, Lamivudine, Indinavir sulfate, Ganciclovir, Valganciclovir HCl, Acyclovir, Paroxetine, Telbivudine
4	Stavudine, Efavirenz, Lopinavir, Enfuvirtide, Ciprofloxacin Fluoxetin
5	Nevirapine, Nelfinavir, Azithromycin, Valacyclovir, Sertraline, Tenofovir, Alafenamide

對來自每個自身免疫疾病標誌物系統性紅斑狼瘡（SLE），抗核抗體（ANA）或類風濕因子（RF）陽性的5個個體的K_2EDTA血漿檢體測試顯示沒有干擾本產品的性能。加入平均濃度$\log_{10}$ HBV DNA的檢體落在陽性對照的±0.10$\log_{10}$ IU / mL範圍內。沒有HBV靶標的所有檢體皆為陰性結果，證明對測定的特異性沒有影響。

17.8基質等效性（K2EDTA血漿，PPT-EDTA和血清）
以K_2EDTA血漿，PPT-EDTA和血清採集管採檢， 32例符合的HBV陽性臨床檢體和23例陰性臨床檢體。 23個符合的HBV陰性臨床檢體摻入HBV陽性物質，來自代表HBV基因型B至G的臨床檢體和表現HBV基因型A標靶序列的DNA質體，在整個線性範圍內具有濃度。
在測試檢體中證明了基質等效性，如圖11和圖12所示。

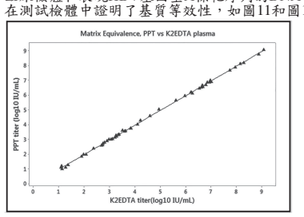

圖11.PPT-EDTA血漿與K_2EDTA血漿的線性回歸圖

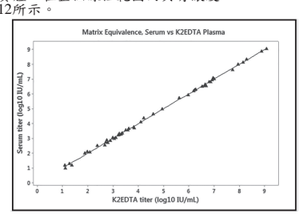

圖12.血清與K_2EDTA血漿的線性回歸圖

18.8整個系統故障
本產品的整個系統失敗率通過重複測試100次的EDTA血漿來確定，所述EDTA血漿摻入第HBV DNA 第4th WHO國際標準品（NIBSC代碼：10/266）和基因型A檢體。加標樣品的目標濃度約為3xLLOQ（30IU / mL）。
本研究結果表明，所有重複樣本均為HBV目標有效且陽性，導致整個系統失敗率為0.0%。

18.9殘餘量污染
測試濃度HBV陽性檢體（> 1x10⁷ IU / mL），然後立即在相同的GeneXpert儀器模組中測試HBV陰性檢體。該過程在兩個模組中重複二十（20）次。 本產品的殘餘率為0%。

18.性能特徵 - 臨床表現
18.1正常捐血者的特異性
使用來自HBV陰性捐血者的99份血清和100份EDTA血漿檢體評估本產品的特異性。 本產品的特異性為100.0%[95%CI：98.1-100.0（196/196）]。

18.2方法的相關性
使用來自已知感染HBV的個體的剩餘標準護理血清和EDTA血漿檢體，進行多點研究以評估本產品和HBV DNA定量比較方法的性能。
在876名符合條件的受試者中，351名（40.1%）為女性，489名（55.8%）為男性。平均年齡為47.2±15.9歲，範圍為18至89歲。在這876個樣本中，560個在本產品和比較分析的定量範圍內。 Deming回歸和簡單線性回歸分析的結果如圖13所示。

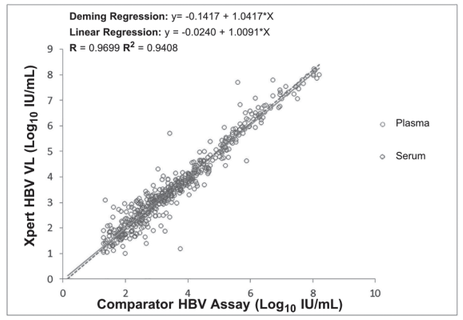

圖13.使用血清和EDTA血漿樣本的Xpert HBV VL分析與比較方法的相關性

19.參考文獻

1. World Health Organization (WHO). Guidelines for the Prevention, Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis B Infection. March 2015. Accessed March 14, 2018 at: http://www.who.int/hiv/pub/hepatitis/hepatitis-b-guidelines/en/.
2. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. J. Hepat. 2012; 57:167-185. Available at: http://dxdoi.org/10.1016/j.jhep.2012.02.010.
3. World Health Organisation. Global hepatitis report, 2017. WHO. April 2017.
4. The 4th WHO International Standard for Hepatitis B Virus DNA for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC code: 10/266). National Institute for Biological Standards and Control; 2016.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (5th edition), accessed March 5, 2018 at http://www.cdc.gov/biosafety/publications/.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
7. World Health Organization. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd Edition. WHO, 2014. Accessed April 20, 2018 at http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/.
8. 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.
9. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2012.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. User Verification of Precision and Estimation of Bias; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP15-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach. Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2003.

20. Cepheid總公司位置

Corporate Headquarters	European Headquarters
Cepheid 904 Caribbean Drive Sunnyvale, CA 94089 USA	Cepheid Europe SAS Vira Solelh 81470 Maurens-Scopont France
Telephone: +1 408.541.4191	Telephone: +33 563 825 300
Fax: +1 408.541.4192	Fax: +33 563 825 301
www.cepheid.com	www.cepheidinternational.com

21.技術支援
在聯繫Cepheid技術支持之前，請收集以下信息：
- 產品名稱
- 批號
- 儀器的序列號
- 錯誤消息（如果有任何訊息）
- 軟件版本和電腦服務標籤號（如果適用）

區域	電話	Email
US	+ 1 888 838 3222	techsupport@cepheid.com
Australia and New Zealand	+ 1800 130 821 + 0800 001 028	techsupportANZ@cepheid.com
Brazil and Latin America	+ 55 11 3524 8373	latamsupport@cepheid.com
China	+ 86 021 5406 5387	techsupportchina@cepheid.com
France	+ 33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Germany	+ 49 69 710 480 480	support@cepheideurope.com
India, Bangladesh, Bhutan, Nepal, and Sri Lanka	+ 91 11 48353010	techsupportindia@cepheid.com
Italy	+ 39 800 902 567	support@cepheideurope.com
South Africa	+ 27 861 22 76 35	support@cepheideurope.com
United Kingdom	+ 44 3303 332 533	support@cepheideurope.com
Other European, Middle East, and African countries	+ 33 563 825 319 + 971 4 253 3218	support@cepheideurope.com
Other countries not listed	+ 1 408 400 8495	techsupport@cepheid.com

22.標誌表

標誌	意義
REF	型號
IVD	體外診斷醫療器材
	僅供單次使用
LOT	批號
	注意
	製造廠

標誌	意義
Σ	足夠的檢測試劑
CONTROL	品管液
	保存期限
°C	溫度限制
	生物性風險因子
	警告

製造廠名稱: Cepheid AB
製造廠地址: 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
301-5878, Rev. A July 2018