

艾伯斯特人類免疫缺陷病毒檢測試劑組

Xpert HIV-1 Viral Load

衛部醫器輸字第 031746 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
GXHIV-VL-CE-10

1.品名
HIV-1 VL

2.效能

本產品為反轉錄聚合酶鏈鎖反應(RT-PCR) 體外診斷試劑，用於定量人類免疫缺陷病毒1型（HIV-1），感染者血漿中HIV-1 RNA以全自動GeneXpert儀器系統執行。本產品可用於定量HIV-1 M型(亞型A、B、C、D、 F、G、H、J、K、CRF01_AE、CRF02_AG及CRF03_AB)、N型及O型，可定量HIV-1 RNA的範圍從40至10,000,000 copies/ml。

本產品測定血漿HIV-1 RNA含量改變，結合患者臨床表現和其他實驗室標識可用於疾病預後和作為病毒對抗反轉錄病毒治療反應的輔助評估。本產品應由實驗室專業人員或經過專門培訓的醫療人員使用。

本產品檢測不作為血液捐贈者HIV-1篩選試驗，亦不可作為確認HIV-1感染的存在的診斷測試。

3.概要說明

人類免疫缺陷病毒（HIV）是後天免疫缺陷症候群（AIDS）的病原體。HIV可以通過性接觸、接觸受感染的血液或血液製品、胎兒產前感染或新生兒產程中或出生後感染。未經治療的HIV-1感染具有高量病毒產生和CD4 T細胞破壞特徵，即使有冗長臨床潛伏期，仍顯著表現CD4 T細胞淨減少和後天免疫缺陷症候群。HIV診斷在過去的二十 years 有顯著發展並對HIV感染患者的治療和照護管理持續保持重要。以核酸的分子診斷分析測定血漿HIV-1 RNA的濃度或病毒量被作為評估HIV陽性病人的預後和抗反轉錄病毒治療反應的照護基準。病毒量的評估是疾病進行速率的一個很好的指標，由自身或結合CD4 T細胞計數，具有極大的預後價值。本產品檢測採用反轉錄聚合酶鏈反應（RT-PCR）技術，對HIV-1感染者血漿中HIV-1 RNA 定量檢測具有高敏感度。

4.程序原理

GeneXpert 設備系統使用即時反轉錄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RT-PCR試劑及控制RT-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系統操作手冊或GeneXpert Infinity 系統操作手冊。

本產品試劑組包括HIV-1 RNA檢體分析的試劑和兩個內部品管用於定量HIV-1 RNA。內部品管也用於監控RT和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。

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或品管檢體的試劑，本試劑組包括以下材料：

HIV-1 VL檢測匣含有完整反應管 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) 2.0 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 2.4 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GX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.cephheid.com獲得。

註:

本試劑組的牛血清白蛋白（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2–28 ℃。使用之前，將檢測匣置於室溫。
- 直到開始檢測時才打開檢測匣。
- 檢測匣開封後，4小時內要用完。
- 請勿使用已洩漏的檢測匣。

7.其他材料需求但未提供

- GeneXpert Dx系統或GeneXpert Infinity 系統(型號取決於使用的設備模型)：GeneXpert 儀器、電腦(包含適當軟體版本4.7b、Xpertise 6.4b或更高)、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
- 乙醇或變性乙醇

8.警告及注意事項

• 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。

• 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HIV-1 VL 分析試劑。

• 僅在加入檢體和試劑時才打開檢測匣上蓋。

• 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。

• 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
 - 導致輕微的皮肤刺激
 - 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。

10.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EDTA或ACD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。使用試劑盒中的移液管的最小檢體量為1.2 mL血漿(請參閱下面的第12.2節，選項1中的說明)。或者，使用精準的定量吸管，最少檢體量為1mL血漿。
- 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EDTA或ACD作為抗凝劑的無菌收集管中在15-30℃下穩定8小時，15-25℃下穩定24小時或在2-8℃穩定72小時。離心應按照製造商說明執行。
- 血漿從全血分離後可在15-30℃下穩定24小時，在2-8℃下穩定達6天或冷凍（≤-18 ℃和-70≤℃）可穩定六個星期。離心後的血漿應從主採集管中取出儲存。
- 血漿檢體重複三次冷凍/解凍仍可維持穩定。

11.步驟

11.1檢體的準備

- 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，選項1中的說明）。
- 冷凍的血漿檢體在檢測前應置於室溫(20-35℃) 回溫至完全解凍。
- 2-8℃儲存的血漿檢體檢測前應自冰箱取出至室溫(20-35℃) 回溫。
- 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(10秒)使檢體澄清。

11.2檢測匣的準備

重要：添加檢體到檢測匣(cartridge)需在4小時內進行檢測。

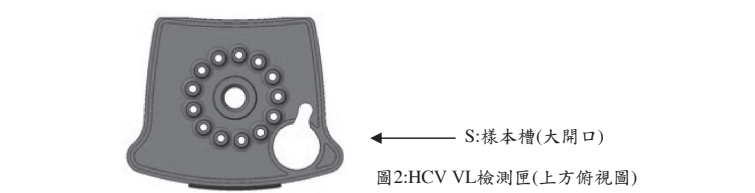
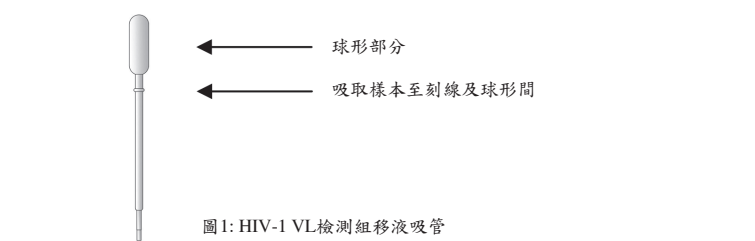
注意：檢測匣檢體加樣少於1 mL血漿將會啟動不足量錯誤偵測(ERROR 2097)，預防儀器進行檢體檢測（請參閱下面的第12.2節，選項1中的說明）。

待測血漿加入檢測匣前兩者需回至室溫。

- 使用拋棄式手套。
- 檢查檢測匣。如有損壞，請勿使用。
- 打開檢測匣的蓋子。

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。

- 選項1：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（圖2）的樣品槽中。**不要將檢體直接倒入樣本槽中。**
- 選項2：如果使用自動定量吸管，取至少1 mL血漿到檢測匣（圖2）的樣品槽中。**不要將檢體直接倒入樣本槽中。**



- 關閉檢測匣蓋子。
- 將檢測匣載入GeneXpert Dx設備或Infinity系統。

11.3檢測開始

重點:啓動檢測前，確認HIV-1 VL檢測定義檔(ADF)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操作手冊或GeneXpert Infinity System操作手冊。

- 打開GeneXpert 設備電源：(GeneXpert 軟體將自動載入)
 - 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。
 - 如果使用GeneXpert Infinity設備，開啟機器電源，GeneXpert軟體會自動執行。若未自動執行，請按2下window桌面的Xpertise軟體圖標。
- 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) 或Order和Order test(Infinity)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，試劑批號標示，檢測匣序號，和有效日期。
- 按下 “Start Test” (GeneXpert Dx)或” Submit” (Infinity)。如有需要，輸入您的密碼。
- 以GeneXpert Infinity系統，將檢測匣放置傳送帶上。檢測匣會自動載入進行測試運行，用過的檢測匣會進入廢棄物容器。
 - 或以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。

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操作手冊或GeneXpert Infinity 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)，這也是樣品處理控制(SPC)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 pass 表示檢體量標準，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恢復試驗。
- 內部定量標準高值及低值(IQS-H和IQS-L)：IQS-H和IQS-L是兩個對HIV呈現非特异性反應的帶蓋甲RNA（armored RNA），以乾燥的bead運作在整個GX的過程。IQS-H和IQS-L的校正回溯至WHO 3rd IS。其定量是以批號專一的參數計算樣本中HIV-1 RNA濃度。此外，IQS-H和IQS-L可檢測標本相關RT-PCR抑制反應。若IQS-H和IQS-L合格，表示符合驗證標準。
- 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：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4)。可能結果顯示於表1

結果	解釋
HIV-1 DETECTED XX copies/mL 見圖3	HIV-1 RNA檢測到 XX copies/mL。 •HIV-1 RNA在分析測量範圍內具有定量數值。 •IQS-H和IQS-L：通過。 •探針檢查 - PASS; 所有探針檢查結果通過。
HIV-1 DETECTED >1 × 10 ⁷ copies/mL	HIV-1 RNA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。
HIV-1 DETECTED < 40 copies/mL	HIV-1 RNA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。
HIV-1 NOT DETECTED 見圖4	HIV-1 RNA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。
INVALID	無法確定HIV-1 RNA存在或不存在。按第16.2節所述重複測試。 •IQS-H和/及IQS-L：失敗；週期間值(Ct)s不在有效範圍內。 •探針檢查 -通過; 所有探針檢查結果通過。
Error	無法確定HIV-1 RNA存在或不存在。按第16.2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
No Result	無法確定HIV-1 RNA存在或不存在。按第16.2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：結果單位可以在軟體內將 copies/mL轉為IU/mL，請參閱GeneXpert Dx System操作手冊或GeneXpert Infinity System操作手冊修改設定。 HIV-VL檢測轉換因子: 1 copy=1.72 國際單位(IU)。

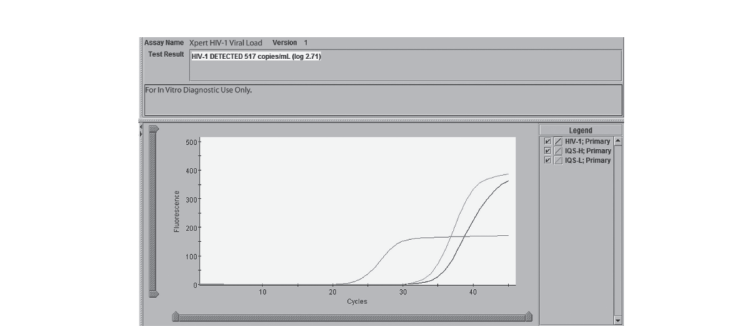


Figure 3. HIV-1 Detected

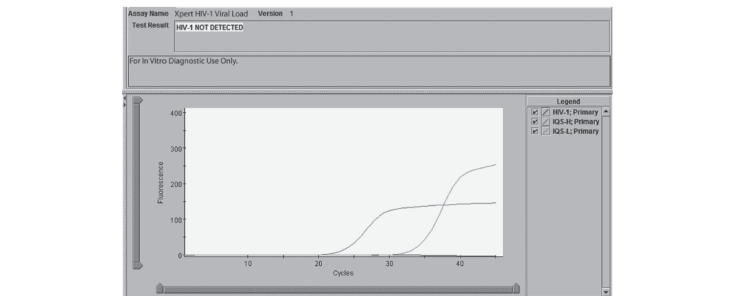


圖4. HIV-1 Not Detected

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)。

- 從盒中取用新的檢測匣。
- 請見章節12，步驟見12.2準備新的檢測匣，12.3開始測檢體。
- 產生2次INVALID結果的檢體可能含有抑制劑，不建議重新檢測。

16.限制

• 建議良好的實驗室規範和操作不同樣本更換手套，可避免檢體或試劑的污染。

• **HIV-1 VL**測定的靶區域內，罕見的突變可能影響引子和/或探針結合，從而導致病毒定量下降。

• **HIV-1 VL**分析已經被驗證僅用於EDTA和ACD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HIV-1感染。因此，這種檢測不應作為一個診斷測試來確認是否存在HIV-1感染。

17.性能特徵

17.1最低偵測極限

檢測HIV-1VL的最低偵測極限（LOD）是以兩個不同的HIV-1B亞型參考標準，一個細胞培養原品，及兩個以HIV-1陰性EDTA血漿稀釋的臨床檢體，所製備的五種不同稀釋品測試決定。在LOD研究中使用的HIV-1 B亞型材料包括來自AIDS臨床試驗組病毒的品質保證實驗室（VQA）參考物質，WHO 3rd國際標準品 (NIBSC code 10/152)，細胞培養原品分株株BK132和兩個臨床標本。細胞培養原品和臨床檢體濃度的指定以Abbott即時HIV-1檢測。最低偵測極限以三個試劑批號，三種濃度各72次重複檢測決定。本評估根據CLSI 指引 E17-A2進行。HIV-1RNA濃度以概率回歸分析陽性檢測率>95％。各批號和檢體結果顯示於表2。以WHO國際標準品分析EDTA血漿中HIV-1B亞型最大/最高觀察的最低偵測極限為21.1 copies/mL（95％ CI 16.1-26.0）。以VQA標準品分析EDTA血漿中HIV-1B亞型最大/最高觀察的最低偵測極限為16.3 copies/mL（95％ CI 13.0-19.5）。

表2. HIV-1 VL檢測最低偵測極限估計值是以EDTA血漿中HIV-1 B亞型檢體進行Probit回歸及95％信賴區間計算

檢體	Lot	LOD (copies/ mL)	95% CI
WHO	Lot 1	21.1	16.1–26.0
	Lot 2	14.3	11.2–17.5
	Lot 3	19.0	14.3–23.7
VQA	Lot 1	15.5	12.5–18.6
	Lot 2	14.0	11.2–16.7
	Lot 3	16.3	13.0–19.5
臨床檢體 1	Lot 1	24.0	18.1–29.9
	Lot 2	25.5	19.5–31.5
	Lot 3	23.1	17.5–28.7
臨床檢體 2	Lot 1	20.3	15.8–24.7
	Lot 2	15.4	12.0–18.7
	Lot 3	28.5	21.3–35.7
細胞培養檢體	Lot 1	18.8	14.6–23.1
	Lot 2	20.0	15.6–24.4
	Lot 3	32.0	24.7–39.3

VQA參考物質的最低偵測極限在ACD血漿中也使用一個試劑批次進行確認。 VQA檢體在ACD血漿中HIV-1 B亞型的最低偵測極限估計值為15.8 copies /mL（95％CI 12.1-19.5）。使用Probit分析法分析EDAT血漿中HIV-1 B亞型的最低偵測極限使用兩套不同的標準品和3個不同批號的HIV-1VL檢驗試劑：

- WHO 3rd國際標準品的最低偵測極限：18.3 copies / mL（95％CI 15.9-20.8）
- VQA標準物質的最低偵測極限：15.3 copies / mL（95％CI 13.5-17.0）

HIV-1 B亞型陽性率在40 copies /mL正確分析率>95%顯示於表3，在EDTA及ACD血漿中的HIV-1 B亞型本產品的最低偵測極限為40 copies /mL。

表3. EDTA血漿中HIV-1 B亞型檢體的HIV-1 VL檢測最低偵測極限

檢體	Nominal concentration (copies/mL)	No. Replicates	No. Positives	Positivity Rate (%)
WHO	1	72	10	14
	2.5	72	18	25
	5	72	40	56
	10	72	55	76
	20	72	65	90
VQA	40	72	72	100
	1	72	5	7
	2.5	72	20	28
	5	72	30	42
	7.5	72	50	69
臨床檢體 1	10	72	61	85
	20	72	67	93
	40	72	72	100
	1	72	11	15
	2.5	72	20	28
臨床檢體 2	5	72	38	53
	10	72	49	68
	20	72	69	96
	40	72	69	96
	1	72	8	11
細胞培養檢體	2.5	72	17	24
	5	71	27	38
	10	72	47	65
	20	72	62	86
	40	72	72	100
	1	72	4	6
	2.5	72	17	24
	5	72	30	42
	10	72	46	64
	20	72	64	89
	40	72	70	97

此外，稀釋的細胞培養原品或在陰性人類EDTA血漿中的HIV-1 M組亞型A，C-D，F-H，J，K，CRF- A / B，CRF-A/ E，CRF-A/ G，O組和N組臨床檢體表現，以HIV-1 VL檢測單一試劑批號，每個濃度24次重覆分析。細胞培養物原品及臨床檢體定義濃度分配是以Abbott即時 HIV-1檢測為基準。所有亞型及各組陽性率在40 copies/mL正確分析率>95％，結果顯示於表4。

表4. EDTA血漿中HIV-1 非B亞型檢體的HIV-1 VL檢測最低偵測極限正確分析率

組	亞型	最低濃度水平 >95%正確分析率(copies/mL)	正確分析率(%)
Group M	A	20	96
Group M	C	40	100
Group M	D	20	100
Group M	F	40	100
Group M	G	40	96
Group M	H	20	96
Group M	J	20	100
Group M	K	40	96
Group M	CRF A/B	20	100
Group M	CRF A/E	20	96
Group M	CRF A/G	40	96
Group N	N/A	10	100
Group O ^a	N/A	20	100
Group O ^a	N/A	20	100
Group O ^a	N/A	10	100

^a 3批不同的分離

17.2最低定量極限

最低定量極限LOQ被定義為依總分析誤差（TAE）規範達可接受的精密度和正確性的HIV-1 RNA被定量的最低濃度。總TAE透過LoD研究的數據進行分析（WHO和VQA標準）估算，並根據CLSI規範E17-A2進行精密度/再現性研究，稀釋濃度位於或接近40 copies/mL（1.60 log10)的TAE結果呈現於表5中。TAE以兩種方法進行評估，分析結果顯示HIV-1 VL在40 copies/mL具可接受的正确性和精密度，即HIV-1 VL的LOQ為40 copies/mL。

表5. HIV-1 VL總分析誤差（TAE）估計值Log copies/mL

檢體 (研究)	DL 批號	數量	濃度 (log Cp/mL)		偏差	總SD	TAE ^a 絕對偏差+ (2xSD)	TAE ^b SQRT (2) x (2xSD)
			預期	觀察				
Reference Material (Precision)	DL6	72	2.00	1.96	0.04	0.19	0.43	0.55
	DL7	71	2.00	1.91	0.09	0.19	0.46	0.53
	DL8	72	2.00	1.92	0.08	0.21	0.51	0.60
Reference Material (Precision)	DL6	70	1.60	1.56	0.04	0.22	0.48	0.62
	DL7	71	1.60	1.53	0.08	0.28	0.64	0.80
	DL8	71	1.60	1.54	0.06	0.22	0.50	0.62
WHO (LOD)	DL6	24	1.60	1.53	0.07	0.23	0.52	0.65
	DL7	24	1.60	1.39	0.21	0.24	0.68	0.67
	DL8	24	1.60	1.49	0.11	0.19	0.48	0.52
VQA (LOD)	DL6	24	1.60	1.61	0.00	0.18	0.37	0.51
	DL7	24	1.60	1.54	0.06	0.26	0.58	0.74
	DL8	24	1.60	1.58	0.02	0.26	0.54	0.73

a.TAE是根據CLSI Ep17-A2 （6.2節）中Westgard模型計算。

b.TAE基於兩種測量方法的差異。

TAE分析結果表示HIV-1 VL在40 copies /mL (1.60 log10)具有可接受的精密度和正確性。

17.3精密度/再現性

本產品的精密度/再現性以HIV-1陰性EDTA血漿平行稀釋製備的HIV-1的參考材料（HIV-1

B亞型）進行分析。使用的參考材料校正回溯至WHO HIV-1 3rd國際標準品（NIBSC code: 10/152）。本研究於兩個地點，雙盲，比較在HIV-1陰性EDTA血漿中7組HIV-1參考材料以HIV-1VL檢測RNA的定量範圍。兩個研究點各有兩位操作者，每個組每天一次分析21個檢體，超過六測試天，一個研究點使用Infinity-80設備，另一點使用GeneXpert Dx設備檢測。本研究共有三個試劑批號被使用。精密度/再現性依據 “臨床化學設備的精密度性能評估；核可準則 “CLSI EP5-A2。每個試劑批號和三個試劑批號合併精密度結果呈現於表6。

表6. HIV-1 VL檢測單一批號及三個批號總合之精密度

預期 HIV-1 RNA 濃度 (log10 copies/mL)	單一批號的總精密度						3個批號總合精密度	
	批號 1		批號 2		批號 3		總合	
	SD ^a	CV ^b	SD ^a	CV ^b	SD ^a	CV ^b	SD ^a	CV ^b
1.60	0.24	58.6%	0.29	73.6%	0.23	57.6%	0.25	62.5%
2.00	0.20	48.8%	0.20	47.3%	0.22	53.1%	0.20	49.1%
3.00	0.10	22.6%	0.08	18.2%	0.10	22.6%	0.09	20.5%
4.00	0.06	13.7%	0.07	17.3%	0.09	19.8%	0.07	17.1%
5.00	0.06	13.8%	0.07	16.3%	0.08	17.7%	0.08	17.8%
6.00	0.05	12.4%	0.07	15.3%	0.07	16.2%	0.08	19.3%
7.00	0.06	14.3%	0.07	15.5%	0.09	21.5%	0.10	22.6%

a. Total SD in log10.

b. "CV" is lognormal CV, as obtained using the formula

CVained using the formula:

√

10

ln
(

10

10

−
σ
)
−
1

本產品的再現性以nested ANOVA分析地點/設備、批號、天、操作者/運行及批內。標準偏差和變異度以log10 HIV-1轉化的濃度進行計算（見表7）。

表7. HIV-1 VL檢測整體變異及整體精密度貢獻

HIV-1 RNA 濃度 (log10 copies/mL)			對整體變異SD貢獻 (CV%)										總合精密度	
預期	實際 (平均)	數量 ^a	地點		批號		天		操作者/運行		批內		總合	
			SD	(%)	SD	(%)	SD	(%)	SD	(%)	SD	(%)	SD	CV ^b
1.60	1.54	212	0.00	0.0%	0.00	0.0%	0.00	0.0%	0.09	11.7%	0.23	88.3%	0.25	62.5%
2.00	1.93	215	0.00	0.0%	0.00	0.0%	0.00	0.0%	0.04	4.8%	0.20	95.2%	0.20	49.1%
3.00	2.98	215	0.01	0.9%	0.01	1.2%	0.00	0.0%	0.01	2.6%	0.09	95.3%	0.09	20.5%
4.00	3.98	214	0.00	0.0%	0.01	3.5%	0.01	1.7%	0.02	9.1%	0.07	85.7%	0.07	17.1%
5.00	4.99	213	0.00	0.0%	0.04	21.8%	0.00	0.0%	0.03	15.0%	0.06	63.2%	0.08	17.8%
6.00	5.96	215	0.00	0.0%	0.05	42.1%	0.02	4.4%	0.02	6.9%	0.06	46.7%	0.08	19.3%
7.00	6.94	213	0.00	0.0%	0.07	45.3%	0.01	0.9%	0.02	5.3%	0.07	48.5%	0.10	22.6%

a. Number of valid replicates within assay range

b."CV" is lognormal CV, as obtained using the formula:

CV (of the lognormal dist) =

√

10

ln
(

10

10

−
σ
)
−
1

17.4線性範圍

HIV-1 VL測定的線性範圍由9個組分析，以30（1.48 log₁₀）至1x10⁷（7 log₁₀）copies/mL的HIV-1陰性EDTA血漿平行稀釋製備的HIV-1參考材料（HIV-1 B亞型）進行分析。使用的參考材料校正回溯至WHO HIV-1 3rd國際標準品（NIBSC code: 10/152）。兩位操作者使用單一試劑批號，重複測試3天。此外，各組一天測試三重複，並新增兩個試劑批號，每組總共重複測試30次，線性分析根據CLSI EP06-A準則，三個試劑批號合併結果呈現於圖5， 本產品的線性範圍為30（1.5 log10）到1 x10⁷ （7 log10）copies/mL，R²值為0.9935。

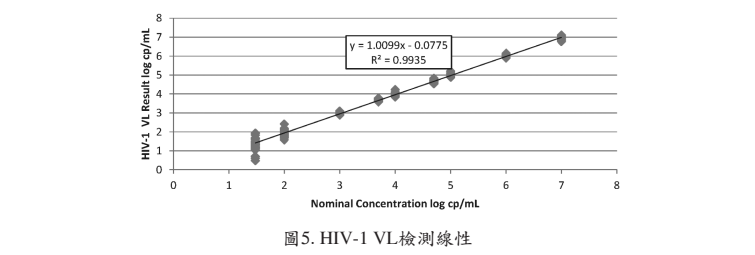


圖5. HIV-1 VL檢測線性

17.5分析反應性（包容性）

本產品的分析反應性是以HIV-1 M組亞型A-D，F-H，CRF A/G和A/E；N組；O組細胞培養物上清液進行評估，細胞培養物上清液及臨床檢體定義濃度分配是以Abbott即時 HIV-1檢測為基準。每個細胞培養上清液在HIV-1陰性EDTA血漿中被稀釋為1x10²的濃度，1x10⁴和1x10⁶copies/mL。每個濃度在同一天使用單一批號HIV-1 VL檢測試劑組執行六重複。所有亞型和組 HIV-1 VL分析獲得的平均log₁₀濃度與定義的log₁₀濃度做比較。結果顯示於圖6，HIV-1的M組亞型和O組的所有測試結果表現出一致的效能，所有測試亞型及O組平均log10結果均在定義濃度+/-0.5log₁₀。

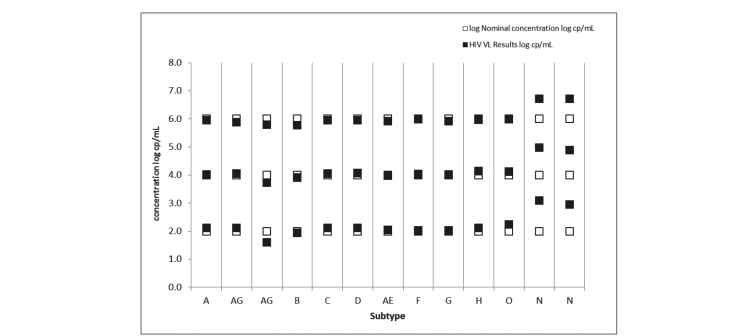


圖6. HIV-1 VL檢測包容性

17.6分析特异性（排斥性）

本產品的分析特异性以添加培養有機物5x10⁴顆粒或copies/ mL濃度入HIV-1陰性EDTA血漿且血漿中包含1000 copies/mL HIV-1的參考材料（HIV-1B亞型）進行評估。被測試有機體列於表8。

表8. 分析特异性有機物

<i>Human Immunodeficiency virus 2</i>
<i>Human T-cell lymphotropic virus 1</i>
<i>Human T-cell lymphotropic virus 2</i>
<i>Candida albicans</i>
<i>Cytomegalovirus</i>
<i>Epstein-Barr virus</i>
<i>Hepatitis A virus</i>
<i>Hepatitis B virus</i>
<i>Hepatitis C virus</i>
<i>Herpes simplex virus 1</i>
<i>Herpes simplex virus 2</i>
<i>Human herpes virus 6</i>
<i>Influenza A</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>

被測試的生物體沒有顯示交叉反應性且以HIV-1 VL分析的所有HIV-1陽性重複結果效價在HIV-1陽性對照的±0.5 log範圍

17.7潛在的干擾物質

本產品分析透過對HIV-1感染患者的給藥，和自體免疫疾病標誌物進行高濃度內源性物質干擾的感受性評估。以HIV-1的陰性EDTA血漿和血漿含有1000 copies/mL的HIV-1的參考材料（HIV-1 B亞型）進行測試。在表9中顯示高濃度內源性物質不會干擾HIV-1的定量分析或影響分析的特異性。

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17為五種藥物混合以三次峰值值測試本產品特异性，結果顯示表中藥物成分不會干擾HIV-1 VL定量或衝擊檢測特异性。

表10. 藥物混合測試

混合	藥物
Control	n/a
1	Zidovudine, Saquinavir, Ritonavir, Clarithromycin
2	Abacavir sulfate, Peginterferon 2b, Ribavirin
3	Tenofovir disoproxil fumarate, Lamivudine, (3TC), Indinavir sulfate, Ganciclovir, Valganciclovir HCl, Acyclovir, Raltegravir
4	Stavudine (d4T), Efavirenz, Lopinavir/Ritonavir, Enfuvirtide (T-20), Ciprofloxacin
5	Nevirapine, Nelfinavir mesylate, Azithromycin, Valacyclovir HCl
6	Fosamprenavir Calcium, Interferon alfa-2b

以具有自體免疫性疾病標誌的五個人，包含系統性紅斑狼瘡（SLE），抗核抗體（ANA）或類風濕因子（RF）檢體執行HIV-1 VL分析顯示不受干擾。

17.8抗凝固劑等效（EDTA，PPT-EDTA和ACD）

以不同抗凝管EDTA，PPT-EDTA和ACD採檢，匹配25例陽性個案檢體和25例陰性個案檢體。比較本產品使用EDTA相對於ACD抗凝管效價表現顯示於圖7，使用EDTA相對於PPT-EDTA抗凝管效價表現結果顯示於圖8。所有HIV-1陽性檢體以ACD或PPT-EDTA抗凝劑收集相對於EDTA抗凝管收集之檢體，HIV-1 RNA濃度結果在±0.5 log₁₀ copies/mL。所有匹配的HIV-1陰性檢體以本產品檢測皆未檢出。

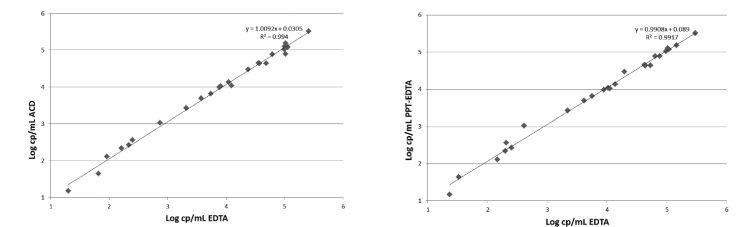


圖7. ACD及EDAT Log copies/mL比較散佈圖

18.性能特徵 - 臨床表現

18.1特异性

以109例 HIV-1陰性捐贈者之EDTA血漿樣本評估本產品的特异性。沒有一例樣本被檢出HIV-1 VL，特异性為100%（95%CI = 96.7-100.0）。

18.2方法的相關性

取自HIV-1感染者的新鮮和冷凍的人血漿標本，以多點研究評估本產品相對於Abbott即時HIV-1檢測的性能。724例合格樣品，分別來自獨特的個體，519例（71.8％）為男性，平均年齡44.5±11.3歲，年齡範圍為18–83歲。724例樣本中390例樣本包含47 HIV-1M組非B亞型，包含A類，C和C類，D，F，G，H，J，AE，AG和其他各種流行重组型（CRFs），兩種方法皆落於定量範圍內。Deming回歸顯示了本產品與比較方法有極佳的相關性，斜率為1.0589，截距為0.1771，R²為0.9696(圖9)。

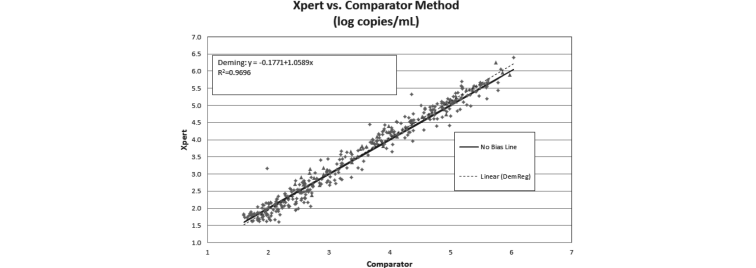


圖9. 相對於比較方法的HIV-1 VL檢測的表現

19.參考文獻

- Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). Science 1983;220:868–871.
- Popovic M, Sarngadharan MG, Read E, et al. Detection, isolation and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-I) from patients with AIDS and pre-AIDS. Science 1984;224:497–500.
- Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M, et al. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-I) from patients with AIDS and at risk for AIDS. Science 1984;224:500–503.
- Curran JW, Jaffe HW, Hardy AM, et al. Epidemiology of HIV infection and AIDS in the United States. Science 1988;239:610–616.
- Schochetman G, George JR, editors. AIDS testing: a comprehensive guide to technical, medical, social, legal, and management issues. 2nd ed. New York: NY Springer-Verlag; 1994.
- Nduati R, John G, Mbori-Ngacha D, et al. Effect of breastfeeding and formula feeding on transmission of HIV-1: a randomized clinical trial. Journal of the American Medical Association 2000;283:1167–1174.
- Perelson AS, Neumann AU, Markowitz M, Leonard JM, Ho DD. HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. Science 1996; 271:1582–1586.
- Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, Johnson VA, Emini EA, Deutsch P, Lifson JD, Bonhoeffer S, Nowak MA, Hahn BH, et al. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. Nature 1995; 373:117–122.
- Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Markowitz M. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. Nature 1995; 373:123–126.
- Katzenstein DA, Hammer SM, Hughes MD, Gundacker H, Jackson JB, Fiscus S, Rasheed S, Elbeik T, Reichman R, Japour A, Merigan TC, Hirsch MS. The relation of virologic and immunologic markers to clinical outcomes after nucleoside therapy in HIV-infected adults with 200 to 500 CD4 cells per cubic millimeter. AIDS Clinical Trials Group Study 175 Virology Study Team. N Engl J Med 1996; 335:1091–1098.
- Mellors JW, Munoz A, Giorgi JV, Margolick JB, Tassoni CJ, Gupta P, Kingsley LA, Todd JA, Saah AJ, Detels R, Phair JP, Rinaldo CR, Jr. Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. Ann Intern Med 1997; 126:946–954.
- 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.
- O'Brien WA, Hartigan PM, Martin D, Eshnhart J, Hill A, Benoit S, Rubin M, Simberkoff MS, Hamilton JD. Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4+ lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS. Veterans Affairs Cooperative Study Group on AIDS. N Engl J Med 1996; 334:426–431.
- Ruiz L, Romeu J, Clotet B, Balague M, Cabrera C, Sirera G, Ibanez A, Martinez-Picado J, Raventos A, Tural C, Segura A, Foz M. Quantitative HIV-1 RNA as a marker of clinical stability and survival in a cohort of 302 patients with a mean CD4 cell count of 300 x 10(6)/L. Aids 1996; 10:F39–44.
- Saag MS, Holodniy M, Kuritzkes DR, O'Brien