

Table 2. SA Nasal Complete Assay Performance vs. Reference Culture					
Xpert		Reference Culture			
		MRSA+	SA+/MRSA-	Neg/No Growth	Total
	MRSA+	150	24	25	208
	SA+/MRSA-	9	393	152	554
	SA-	5	37	1683	1725
	Total	173	454	1860	2487
	MRSA		91.9% (159/173) (95% CI: 86.8-95.5%)		
	Sensitivity:		97.9% (2265/2314) (95% CI: 97.2-98.4%)		
	Specificity:		76.4% (159/208) (95% CI: 70.1-82.0%)		
	PPV:		99.4% (2265/2279) (95% CI: 99.0-99.7%)		
	NPV:				
	SA		93.3% (585/627) (95% CI: 91.1-95.1%)		
	Sensitivity:		90.5% (1683/1860) (95% CI: 89.1-91.8%)		
	Specificity:		76.8% (585/762) (95% CI: 73.6-79.7%)		
	PPV:		97.6% (1683/1725) (95% CI: 96.7-98.2%)		
	NPV:				

所有合格檢體以本產品執行第一次檢測，成功率為96.5％（2487/2578），剩餘91個檢體第一次檢測為不確定的結果（31:"無效"，51:"錯誤"和9:"無結果"）。這項研究設計不允許進行重複測試。

Empty Cassette Variants

經本產品確認為MRSA陽性，必須是spa.mecA及SCCmec皆陽性。若spa和SCCmec為陽性，但mecA不是陽性，則為SA，因為它是甲氧苄青黴素敏感(methicillin sensitive)。這種狀況在部分SCCmec攜帶的mecA基因被切除時就會發生，因這個移動片段的端部仍存在原地，仍可得到一個陽性SCCmec信號。這些分離菌株也被稱作為“Empty Cassette Variants”，且在臨床中並非是不常見的。這些分離菌株的重要意義是，MRSA的測定法並不直接檢測mecA基因。本產品設計檢測方法，可正確地檢測出這些變種的SA。在本報告中的數據分析，共14個符合empty cassette表現變異菌株，測試結果為spa和SCCmec的陽性，但mecA陰性(Ct= 0)，表3中所示的14個檢體被證實為真陰性MRSA菌株，真陽性菌株SA相對於參考培養。

Table 3. SA Nasal Complete Performance vs. Reference Culture — Empty Cassette Variants							
Subject #	Xpert Result	spa (Ct)	mecA (Ct)	SCCmec (Ct)	Culture	Xpert vs. Culture	
						MRSA	SA
1	SA	34.2	0	36.2	SA	TN	TP
2	SA	32.4	0	34.3	SA	TN	TP
3	SA	24.6	0	26.3	SA	TN	TP
4	SA	26.9	0	29.0	SA	TN	TP
5	SA	29.1	0	31.1	SA	TN	TP
6	SA	24.4	0	26.8	SA	TN	TP
7	SA	31.8	0	33.6	SA	TN	FP
8	SA	32.3	0	34.7	SA	TN	TP
9	SA	28.5	0	31.1	SA	TN	TP
10	SA	25.8	0	27.5	SA	TN	TP
11	SA	17.4	0	19.7	SA	TN	TP
12	SA	17.4	0	18.9	SA	TN	TP
13	SA	26.9	0	29.7	SA	TN	TP
14	SA	22.6	0	24.6	SA	TN	TP

性能分析

特异性分析

交叉反應 (Cross-reactivity Study)

收集與金黃色葡萄球菌或可能存在鼻腔菌群相關的114株菌株以Xpert SA Nasal complete 測試。其中，103株來自美國菌種保存中心（ATCC），2株從瑞典哥德堡大學菌種保存中心（CCUG），1株從德國收集和細胞培養（DSM）獲得，1株從日本東京Juntendo大學，Teruyo Ito獲得和7株來自抗藥性金黃色葡萄球菌(NARSA)。測試的有機體被確定為革蘭氏陽性（83），革蘭氏陰性（28），或酵母菌（3）。當然，甲氧西林凝固酶陰性葡萄球菌，MSCoNS（34）和耐甲氧西林凝固酶陰性葡萄球菌，MRCoNS（12）都包括在內。生物體被進一步分類為需氧（106）或厭氧（8）。分離菌株被三重複的測定在4.5-9.5*10⁸CFU/ml或1.7-3.2（McFarland units）。這項研究的條件下，以本產品進行菌株檢測。本產品分析特异性為100%，這些結果顯示，樣品中含有非金黃色葡萄球菌的物種（>1*10⁸ CFU/ml）結果為MRSA(+)，SA(+)不會觸發本產品產生偽陽性MRSA/ SA測試結果。

BORSA Strains的評估

7株具特點邊緣性耐苯唑西林的金黃色葡萄球菌株（BORSA）進行測試，包括一株確定為“empty cassette”（見上文）。耐甲氧西林金黃色葡萄球菌是對於所有S-內酰胺類藥物具有抗藥性，利用mecA15經由改變盤尼西林結合蛋白PBP2a編碼。BORSA菌株mecA是陰性，但顯示出苯唑西林(oxacillin)的最低抑菌濃度（MIC）是≥1和≤8 μg/ml。這是特別有價值從BORSA菌株分辨MRSA可以幫助對感染甲氧西林敏感金黃色葡萄球菌患者處以適當的管理和隔離預防措施選項。這項研究的條件下，7株BORSA菌株（包括確認為“empty cassette”分離株）使用本產品測定為MRSA陰性/ SA陽性在含有高和低的細胞濃度。並未檢測出mecA的信號。這些結果表明以本產品進行檢測BORSA菌株將被正確地鑑別為MRSA陰性/ SA陽性，將不會出現偽陽性MRSA測試結果。

敏感度分析 (Analytical Sensitivity) 偵測極限 (Limit of Detection Studies)

研究執行為決定偵測極限（LoD）95％信賴區間，分析金黃色葡萄球菌（SA）和耐甲氧西林金黃色葡萄球菌（MRSA）稀釋模擬鼻分泌物基質。鼻分泌物基質包括粘液和血液存於含15％的甘油的PBS。偵測極限被定義為可被檢測到的最低數量的菌落形成單位（CFU），每個樣本在95％信賴度可再現性或最低的濃度20次重複檢測中19次為陽性。針對3個SA菌株以不同濃度重複評估20次。以USA、USA900及USA1200為代表。

針對10個MRSA代表菌株為SCCmec type I，II，III，IVAa，IVd，V，VI，VII和VIII，在不同MRSA濃度測試（CFU/swab）重複評估20次。利用銜衝凝膠电泳（PFGE）在確定的USA100菌株，院內最常見的菌株及USA400社區最常見的菌株之一的存在。分離株報告包含具有苯唑西林抗性表現型的異質亞型在內。

評估和信賴區間的檢測是採用數據的線性回歸（陽性結果的數量/每個級別中重複的數量）進行CFU/swab 的範圍測試。信賴區間採用最大似然估計，以大樣本方差-協方差矩陣邏輯模型參數決定。針對SA和MRSA的SCCmec分型所進行的測試其LoD的估計和95％的上限和下限的信賴區間，總結呈現於表4和表5。

Table 4. 95% Confidence Intervals for Analytical LoD — SA				
SA Strain ID	PFGE	LoD Est. (CFU/swab)	Lower 95% CI	Upper 95% CI
N7129	USA900	154	132	197
102-04	USA1200	128	109	177
29213	unknown	94	76	138

Table 5. 95% Confidence Intervals for Analytical LoD — MRSA					
MRSA Strain ID	SCCmec Type	PFGE	LoD Est. (CFU/swab)	Lower 95% CI	Upper 95% CI
64/4176	I	USA500	79	64	119
N315	II	USA100	94	76	131
BK2464	II	USA100	143	116	212
11373	III	unknown	52	42	77
MW2	IVa	USA400	85	69	130
BK2529 ¹	IVd	USA500	256	216	334
ST59-MRSA-V	V	USA1000	127	105	170
HDE288 ¹	VI	USA800	97	78	141
JCSC6082	VII	unknown	214	182	276
WA MRSA-16	VIII	unknown	292	259	384

¹ Heterogeneous oxacillin-resistant isolates

本研究的結果顯示，本產品檢測鼻腔拭子包含175 CFU 95％的分析次數在95％信賴區間及鼻腔拭子包含300 CFU 95％的分析次數在95％信賴區間產生陽性SA結果。

分析反應

248株金黃色葡萄球菌菌株使用本產品檢測，所有菌株稀釋到濃度在或接近分析判定值(cut off)進行三重複試驗。每個測試的菌落形成單位由相同的體積和稀釋的菌數來確定。199株MRSA和49株MSSA被選擇是依據多樣性的系統發育結構種類中的SA。選擇主要依據觀察到特有MRSA菌落型態。包含MRSA和MSSR以及那些只包含MSSA。

本產品可正確鑑別所有248株SA：49株為MRSA陰性/SA陽性; 199株為MRSA陽性/SA陽性。菌株表現Cooper和Feil群IA，1B和2，12 SCCmec 型和次型（I，II，III，IV，IVa，IVb，IVc，IVd，V，VI，VII，和VIII），24株序列類型（STs），75株 *spa*型，13株PFGE和18株菌落複合物（CC）。

使用本產品，39株USA300菌株被正確報告為MRSA陽性/ SA陽性。Empty cassette variants，BORSA菌株和heteroresistant菌株全部正確識別。

干擾物質

在Xpert SA Nasal complete檢測研究中，在2487個檢體觀察到63個檢體含有粘液，32個檢體含有血液，和7個檢體觀察到含有其它非特异性的物質，這有可能干擾測定（請注意，某些樣品含有超過一種類型的潛在的污染物）。費雪的精確測試執行於具有和不具有這些潛在干擾物質的拭子數據顯示沒有影響MRSA敏感度，SA敏感度和SA特异性。針對MRSA特异性，若檢體含有血液，顯示相關輕微偏高超過預期的偽陽性率。

在非臨床研究中，潛在干擾物質可以存在於臨床鼻檢體直接與Xpert SA Nasal檢測的性能相關。潛在的干擾鼻標本物質可能包括，但不限於：鼻噴霧劑，鹽水，減充血劑和抗組胺劑（包括吸入的鼻類固醇），人血，粘液。測試的活性成分和測試濃度如表6所示。

根據本研究的條件下，在人體血液，粘液，和陰性或陽性檢體被觀察到的抑制作用無統計學顯著意義，以下鼻腔噴霧劑在100％（V/V）濃度的測試：Anefrin，NasalCrom，Neo-synephrine，鹽水，Rhinolast（Astelin）和Zicam凝膠。陽性檢體包括了SA兩個臨床分離株（N7129和10204）和MRSA SCCmec types II（N315）和IVa（MW2）摻入接近每個分析的偵測極限濃度。

抑制作用使本產品檢測時造成無效的測試結果，吸入性鼻類固醇Flonase和Nasonex在陰性檢體相對濃度大於5％（V/V）和10％（V/V）時觀察到本產品造成偽陰性結果，吸入性鼻類固醇Flonase和Nasonex在MRSA檢體相對濃度大於1％（V/V）和5％（V/V）時觀察到本產品造成偽陰性結果。

Table 6. Potential Interfering Nasal Substances Tested		
Substance	Active Ingredient	% Tested
TET Buffer (Control)	Control	Control
Mucous (Mucin)	Porcine mucin representing densely glycosylated proteins (mucous)	5% (w/v)
Anefrin Spray (Decongestant)	0.05% Oxymetazoline Hydrochloride	100% (v/v)
Blood	N/A	100% (v/v)
NasalCrom (Nasal Allergy Symptom Controller)	5.2 mg Cromolyn Sodium	100% (v/v)
Neo-Synephrine (Nasal Decongestant)	0.5% Phenylephrine Hydrochloride	100% (v/v)
Saline Nasal Moisturizing Spray	0.65% Sodium Chloride	100% (v/v)
Zicam Nasal Gel (Upper Respiratory Allergy Symptom Relief)	4x,12x, 30x Luffa operculata 12x, 30x Galphimia glauca 12x, 30x, 200x Histaminum hydrochloricum 12x, 30x, 200x Sulphur	100% (v/v)
Nasonex (Nasal Allergy Symptom Medication, inhaled nasal steroid)	0.05% Mometasone furoate monohydrate (anti-inflammatory corticosteroid)	100% (v/v) 50% (v/v) 25% (v/v) 10% (v/v) 5% (v/v)
Flonase (inhaled nasal steroid)	0.05% Fluticasone Propionate (corticosteroid)	100% (v/v) 50% (v/v) 25% (v/v) 10% (v/v) 5% (v/v) 1% (v/v)
Rhinolast (Asteiin Antihistamine Nasal Spray)	0.1% Azelastine Hydrochloride	100% (v/v)

Empty Cassette Variants評估

使用的Xpert SA Nasal completer檢測，22株SA分離鑑定為“Empty Cassette Variants”。過夜培養物被調整為0.5 McFarland units（～3*10⁸ CFU /ml）。培養物進一步稀釋10萬倍或～3000 CFU/ml。每個分離物加入到本產品的洗脫劑約～300 CFU /測試（接近偵測極限）和～3*10⁵ CFU/測試。所有22株兩種細胞的濃度被正確報告為MRSA陰性/ SA陽性。沒有mecA基因信號。這些結果顯示，“Empty Cassette Variants”被正確地檢測為MRSA陰性/SA陽性。使用本產品檢測，並不會誤報MRSA測試結果。

遺留污染(carry-over)的研究

此研究為驗證單次使用的，單包裝的GeneXpert反應匣預防遺留污染發生在相同GeneXpert模塊，在濃度很高的陽性檢體運行後操作陰性檢體。本研究以一個陰性檢體運作後在同樣的GeneXpert模塊立即處理一個非常高的MRSA陽性樣品（大約10⁷ CFU/檢驗）。這兩個

GeneXpert模塊之間重複進行20次，總共42個次。沒有證據顯示任何遺留污染。在很高的陽性檢體隨後立即處理20個陰性檢體，結果全部都正確，報告為MRSA陰性/SA陰性。所有20個陽性標本正確報告為MRSA陽性/SA陽性。

再現性(Reproducibility)

10個檢體，有不同濃度的SA，MRSA和表皮葡萄球菌（陰性）進行了測試兩次在不同的10天，不同的三個地點（10個樣本x2次/天x10x3點）。同批號Xpert SA Nasal complete試劑盒用於3個測試點。本產品依據所仿單步驟執行，結果呈現於表7和8。注意，由於高濃度的陰性檢體接近偵測極限值，預期產生一些陽性結果。

Table 7. Summary of Reproducibility Results (All) ¹				
Specimen ID	Site 1	Site 2	Site 3	Total Agreement
Neg (MSSE)	100.0% (20/20)	100.0% (20/20)	100.0% (20/20)	100.0% (60/60)
SA – High Neg	95.0% (19/20)	95.0% (19/20)	95.0% (19/20)	95.0% (57/60)
SA – Low Pos	85.0% (17/20)	95.0% (19/20)	100.0% (20/20)	93.3% (56/60)
SA – Mod Pos	100.0% (20/20)	100.0% (20/20)	100.0% (20/20)	100.0% (60/60)
MRSA1 – High Neg	100.0% (20/20)	95.0% (19/20)	85.0% (17/20)	93.3% (56/60)
MRSA1 – Low Pos	95.0% (19/20)	95.0% (19/20)	100.0% (20/20)	96.7% (58/60)
MRSA1 – Mod Pos	95.0% (19/20)	100.0% (20/20)	100.0% (20/20)	98.3% (59/60)
MRSA2 – High Neg	60.0% (12/20)	60.0% (12/20)	50.0% (10/20)	56.7% (34/60)
MRSA2 – Low Pos	95.0% (19/20)	95.0% (19/20)	95.0% (19/20)	95.0% (57/60)
MRSA2 – Mod Pos	100.0% (20/20)	100.0% (20/20)	100.0% (20/20)	100.0% (60/60)
% Total Agreement by Site	92.5% (185/200)	93.5% (187/200)	92.5% (185/200)	92.8% (557/600)

¹ For negative and high negative samples, %Agreement = (# negative results/total samples run); for low and moderate positive samples, %Agreement = (# positive results/total samples run).

Table 8. Summary of Ct Value Results by Sample Level and Target			
SPC			
Level	Mean	Std Dev	%CV
Neg (MSSE)	34.3	0.72	2.1
SA High Neg	34.3	0.75	2.2
MRSA1 High Neg	34.6	0.86	2.5
MRSA2 High Neg	34.6	0.75	2.2
Spa			
Level	Mean	Std Dev	%CV
SA Low Pos	33.7	0.91	2.7
SA Moderate Pos	31.6	0.71	2.2
MRSA1 Low Pos	32.6	1.53	4.7
MRSA1 Moderate Pos	31.7	0.79	2.5
MRSA2 Low Pos	32.7	0.97	3.0
MRSA2 Moderate Pos	30.6	0.85	2.8
mecA			
Level	Mean	Std Dev	%CV
MRSA1 Low Pos	33.3	0.98	2.9
MRSA1 Moderate Pos	32.2	0.82	2.5
MRSA2 Low Pos	33.4	1.02	3.1
MRSA2 Moderate Pos	31.1	0.75	2.4
SCCmec			
Level	Mean	Std Dev	%CV
MRSA1 Low Pos	34.1	0.96	2.8
MRSA1 Moderate Pos	32.9	0.79	2.4
MRSA2 Low Pos	34.6	1.19	3.4
MRSA2 Moderate Pos	32.5	0.80	2.5

參考文獻:

- Bode LGM, Kluytmans JAJW, Wertheim HFL, et al. Preventing surgical-site infections in nasal carriers of Staphylococcus aureus. N Engl J Med. 2010;362(1):9-17.
- Wenzel, RP. Editorial: Minimizing Surgical-Site Infections. N Engl J Med. 2010;362(1):75-77.
- Bannerman TL. Chapter 28: Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci that Grow Aerobically. Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. ASM Press Washington, D.C. 2003; 384-404.
- National nosocomial infections surveillance (NNIS) system report, data summary from January 1992 through June 2004. Am J Infect Control 2004; 32:470-485.
- Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. Control of endemic methicillin resistant Staphylococcus aureus. J Am Medical Assoc. 1999; 282(19):1745-1751.
- Das I, O’Connell N, Lambert P. Epidemiology, clinical and laboratory characteristics of Staphylococcus aureus bacteraemia in a university hospital in UK. 1: J Hosp Infect. 2007 Feb;65(2):117-23.
- Shopsin B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular epidemiology of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Emerg Infect Dis. 7(2):323-326.
- Padmanabhan RA, Fraser TG. 2005. The emergence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in the community. Cleveland Clinic J Med. 72(3):235-241.
- 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.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections: Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).

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

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

製造廠名稱: Cepheid
製造廠地址: 904 Caribbean Drive, Sunnyvale, CA 94089-1189, U.S.A
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