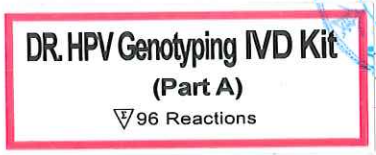
106. 6. 12

# 醫療器材仿單標籤粘貼表

| 產品中文名稱 | 晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組 | 申請廠商 | 晶宇生物科技實業股份有限公司<br>科學園區分公司 |
|---|---|---|---|

## Part A 側標(上)、上標(中)及 Part B 外標(下)

106. 6. 12



106. 6. 12

※ 裝訂原廠之仿單、使用說明書及其中文仿單稿、最小包裝、標籤

※ 中文仿單稿包括適應症、禁忌症、型號（規格）、產品說明及注意事項等敘述，最後段須加刊製造廠名稱、地址及藥商名稱、地址，如有附件、配件請一併列明

※ 仿單標籤等實物過大或印於玻璃金屬容器等不便於黏貼時可將照相影本代替黏貼報核

# 醫療器材仿單標籤粘貼表

| 產品中文名稱 | 晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組 | 申請廠商 | 晶宇生物科技實業股份有限公司<br>科學園區分公司 |
|---|---|---|---|

## Part A、Part B 內容物小標籤

106. 6. 12

106. 6. 12

※ 裝訂原廠之仿單、使用說明書及其中文仿單稿、最小包裝、標籤

※ 中文仿單稿包括適應症、禁忌症、型號（規格）、產品說明及注意事項等敘述，最後段須加刊製造廠名稱、地址及藥商名稱、地址，如有附件、配件請一併列明

※ 仿單標籤等實物過大或印於玻璃金屬容器等不便於黏貼時可將照相影本代替黏貼報核

# 醫療器材仿單標籤粘貼表

| 產品中文名稱 | 晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組 | 申請廠商 | 晶宇生物科技實業股份有限公司<br>科學園區分公司 |
|---|---|---|---|

## Part B 內容物中標籤

※ 裝訂原廠之仿單、使用說明書及其中文仿單稿、最小包裝、標籤

※ 中文仿單稿包括適應症、禁忌症、型號（規格）、產品說明及注意事項等敘述，最後段須加刊製造廠名稱、地址及藥商名稱、地址，如有附件、配件請一併列明

※ 仿單標籤等實物過大或印於玻璃金屬容器等不便於黏貼時可將照相影本代替黏貼報核

# 醫療器材仿單標籤粘貼表

| 產品中文名稱 | 晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組 | 申請廠商 | 晶宇生物科技實業股份有限公司<br>科學園區分公司 |
|---|---|---|---|

## Part A 外觀

**Part A 外部(正面; (長:6.9 x 寬:2.9x 高:6.3 $cm^3$))**

**Part A 內部**

**STG 聚合酶鏈鎖反應試劑、DNA 聚合酵素(4.5cm)**

※ 裝訂原廠之仿單、使用說明書及其中文仿單稿、最小包裝、標籤

※ 中文仿單稿包括適應症、禁忌症、型號（規格）、產品說明及注意事項等敘述，最後段須加刊製造廠名稱、地址及藥商名稱、地址，如有附件、配件請一併列明

※ 仿單標籤等實物過大或印於玻璃金屬容器等不便於黏貼時可將照相影本代替黏貼報核

# 醫療器材仿單標籤粘貼表

| 產品中文名稱 | 晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組 | 申請廠商 | 晶宇生物科技實業股份有限公司<br>科學園區分公司 |
|---|---|---|---|

## Part B 外觀

DR. HPV Chip 包裝(左圖)及實體照片(右圖)

核酸雜交液/親合素阻斷劑/呈色原稀釋劑/雜交洗滌液 (中)

DR. Hyb Buffer / Blocking Reagent/Detection Buffer/ Wash Buffer (英)　呈色原劑(0.8mL)/鹼磷酶標記親合劑(40µL)

Part B 內部

Part B 外盒(長:23.2 x 寬:16 x 高:16 $cm^3$)

※ 裝訂原廠之仿單、使用說明書及其中文仿單稿、最小包裝、標籤

※ 中文仿單稿包括適應症、禁忌症、型號（規格）、產品說明及注意事項等敘述，最後段須加刊製造廠名稱、地址及藥商名稱、地址，如有附件、配件請一併列明

※ 仿單標籤等實物過大或印於玻璃金屬容器等不便於黏貼時可將照相影本代替黏貼報核

# 晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組

DR. HPV Genotyping IVD Kit

使用說明書

晶宇生物科技實業股份有限公司科學園區分公司

供體外診斷使用 For In Vitro Diagnostic Use

晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組 使用說明書

目錄

效能 ..... 1
簡介 ..... 1
檢測方法原理 ..... 2
試劑內容物、成分及儲存溫度 ..... 3
警告和預防注意事項 ..... 3
必備儀器 ..... 4
所需材料但未提供 ..... 4
檢體收集 ..... 5
檢體運輸及保存 ..... 5
操作流程 ..... 5
檢體前處理 ..... 5
檢體 DNA 萃取 ..... 5
試劑準備 ..... 5
聚合酶鏈鎖反應(PCR) ..... 6
雜交反應(Hybridization) ..... 6
洗滌及呈色(Wash and Detection) ..... 6
結果判讀 ..... 8
晶宇人類乳突病毒基因分型檢測晶片探針示意圖 ..... 8
偵測結果分析 ..... 10
品質管制 ..... 13
實驗過程中須預防及注意事項 ..... 13
實驗結果的限制 ..... 13
臨床前效能評估 ..... 14
臨界值結果 ..... 14
偵測極限 ..... 14
交叉反應 ..... 16
再現性 ..... 17
干擾性 ..... 18
臨床前檢體測試 ..... 19
臨床效能評估 ..... 22
參考文獻 ..... 29

SN:DMT-PV(8D1086)-1706-X
Issue Date:1706

## 名稱

晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組
DR. HPV Genotyping IVD Kit

使用前需詳細參照說明書

供體外診斷使用

衛部醫器製 字第004934號

## 效能

本產品用於檢測人類乳突病毒(Human Papillomavirus，簡稱HPV)之DNA。本產品適用於醫院或實驗室，經由專業人員採檢後，交由受過訓練的人員檢測檢體，此試劑套組可偵測以下分型，分別為6 /11 /16 /18 /31 /33 /35 /39 /45 /51 /52 /53 /54 /58 /59 /61 /62 /66 /68 /70 /73 /81 /84。檢測之檢體浸泡於採檢刷組保存液的子宮頸上皮細胞，檢體經萃取得到DNA後，利用聚合酶鏈反應(PCR)使待測之DNA片段增幅放大，再以晶片雜交(hybridization)進行呈色後即可偵測該檢體感染人類乳突病毒(HPV)之型別。晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組之結果僅作為提供分型(定性)之用途。

## 簡介

Harold zur Hausen 於 1983 年證明人類乳突病毒與子宮頸癌有直接的關聯[1]。子宮頸癌在全世界及台灣婦女癌症中排名第二，是導致婦女死亡於癌症的主要原因之一[2,3]。感染特定型別之 HPV 為導致子宮頸上皮內贅瘤及子宮頸癌的重要危險因子之一[4,5,6,7]，高達 99%以上的子宮頸癌皆歸因於 HPV 感染[8]。婦女感染 HPV，大約有 80%感染者可以在數年內自我痊癒。但若持續感染高危險型 HPV 病毒者，子宮頸細胞便容易發生癌化，形成子宮頸癌前期病變[9]。

人類乳突病毒是一種 DNA 病毒，其基因變異型別非常多，目前已經發現了超過 120 種以上的基因型，研究已知大約有 40 種 HPV 感染肛門或生殖道[10]，子宮頸病變相關的 HPV 可分成 3 類：子宮頸癌高危險型(第 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68、73 和 82 型)，因為它們被認為與鱗狀上皮病變或子宮頸癌有高度關聯；可能高危險型(第 26、53 和 66 型)和低危險型(第 6、11、40、42、43、44、54、61、70、72、81 和 CP6108 型)[11,12]。子宮頸癌患者有 70%是因 HPV 16 及 HPV 18 感染而導致[13]。而低危險型 HPV6 和 HPV11 感染則主要和肛門及生殖器溼疣有關。根據研究 HPV 陽性的女性有 20-40%同時感染兩種以上的型別[14]。

由於HPV感染與子宮頸癌的關係非常密切，目前也發展出許多HPV感染的診斷方法用於流行病學及公共衛生的研究上。此外，有鑒於HPV型別的多樣性以及可能造成同一病人的多重性感染，發展出可靠的診斷方法以區別不同型別的HPV便顯得重要[15]。目前人類乳突病毒分型檢驗可應用於子宮頸癌癒後追蹤[16]；評估及開發HPV疫苗[17]等多種應用。





## 檢測方法原理

晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組在萃取檢體DNA後須經過2個步驟的試驗 (1) 聚合酶鏈鎖反應(PCR)；(2) 晶宇獨家專利的核酸雜交晶片技術系統。利用一組含有3條引子及一組有2條引子的試劑進行聚合酶鏈鎖反應分別增幅出具有特異性的450bp之L1保留性基因片段和β-globin片段。其中β-globin為人類內源基因，可用來確認檢體細胞量並監測萃取及PCR反應過程。增幅後的DNA，再與已被覆上特異性探針的生物晶片進行雜交反應，生物晶片上的探針除了特異性探針外還包含3種控制組：內控制組探針作為檢體品質與PCR增幅的確效；雜交控制組探針作為確認生物晶片雜交過程正確執行的確效；HPV共通性探針，只要有HPV感染即可偵測此訊號。雜交後，經由酵素性的類抗原抗體呈色，產生紫黑色的雜交訊號，最後再經由晶宇所研發的影像系統-晶宇快速檢驗試劑判讀儀(DR. AiM Reader)進行讀取及分析。

**附註：**本產品原可偵測 27 種病毒分型 6 / 11 / 16 / 18 / 31 / 33 / 35 / 39 / 45 / 51 / 52 / 53 / 54 / 56 / 58 / 59 / 61 / 62 / 66 / 68 /69 / 70 / 72 / 73 / 81 / 82 / 84，其中 4 種型別由於在臨床試驗中所取得的陽性樣本數不足(包含 HPV69 和 HPV72)及與 TS-PCR 比對測試之一致性低(包含 HPV56 和 HPV82)，故僅做 23 種病毒分型認證。

## 試劑內容物、成分及儲存溫度

| 內容物 | 品名及主成分 | 規格 | 數量 | 儲存溫度 |
|---|---|---|---|---|
| Part A | STG DNA **Pol. DNA 聚合酵素**(紅色瓶蓋)<br>(內含酵素、穩定液和緩衝液) | 15μL | 1 | -20±5℃ |
| | STG PM **STG 聚合酶鏈鎖反應試劑**(紫色瓶蓋)<br>(內含 5 條引子及緩衝液) | 1.2 mL | 2 | |
| Part B | DR. Hyb Buffer **晶宇-核酸雜交液**<br>(含 NaOH 和 NaCl 等試劑) | 30 mL | 1 | 2-8℃ |
| | Blocking Reagent **晶宇-親合素阻斷劑**<br>(含 Blocking reagent、NaOH 和 NaCl 等試劑) | 120mL | 1 | |
| | Detection Buffer **晶宇-呈色原稀釋劑**<br>(含 NaCl 和 Tris-base 等試劑) | 120 mL | 1 | |
| | Wash Buffer **晶宇-雜交洗滌液**<br>(含 SDS 等試劑) | 200 mL | 3 | |
| | Strep-AP **晶宇-鹼磷酶標記親合劑**(無色瓶蓋)<br>(含 Strep-AP) | 40μL | 3 | |
| | NBT/BCIP **晶宇-呈色原劑**(棕色瓶蓋)<br>(含 NBT-BCIP) | 0.8mL | 3 | |
| | DR. HPV Chip<br>晶宇人類乳突病毒基因分型檢測晶片 | 條 | 12 | |
| | 96孔盤架* | 組 | 1 | |
| | 透明膠膜* | 片 | 2 | |
| | 使用說明書* | 份 | 1 | |

* 96孔盤架、透明膠膜、使用說明書屬非試藥的材料，取出後可於室溫保存。

## 警告和預防注意事項

1. 體外診斷專用。此套組僅限受過適當訓練的分生實驗人員操作。
2. 檢體來源適用於子宮頸上皮細胞。
3. 此套組可供檢測96個反應。
4. 所有實驗步驟需遵照使用手冊。
5. 操作過程請全程穿戴實驗用手套。
6. 爲避免分裝造成污染，請使用無菌可拋棄式的塑膠製品。
7. 試劑若不慎碰觸眼部，請立即以大量的水沖洗眼睛並聯繫就醫。





8. 請勿使用過期的檢測套組，保存期限詳見外盒。
9. 請勿將不同批號的試劑混合使用。
10. 丟棄未使用的試劑或相關廢棄物請依照各實驗室生物性標準作業流程。

## 必備儀器

1. 晶宇恆溫雜交箱 (DR. Mini Oven)
2. 晶宇微孔盤自動清洗儀 (DR. Fluidic Station)
3. 晶宇快速檢驗試劑判讀儀 (DR. AiM Reader)(衛署醫器製壹字第002405號)

## 所需材料但未提供

1. 立寶採檢刷組LIBO Specimen Collection kit (衛署醫器製壹字第002535號)
2. 台灣圖點自動化磁珠操作平台(衛部醫器製字第004479號)(另選購TANBead Viral Auto Plate)
3. 冰盒或-20℃冰箱
4. 震盪器 (Vortex mixer)
5. 微量高速離心機(Microcentrifuge)：離心轉速達10,000 x g 以上
6. 桌上型微量離心機
7. 微量分注器 (Micropipettes)：2、10、200與1000 μL等規格
8. 拋棄式DNase/ RNase-free 微量吸管：10、200與1000 μL等規格
9. 聚合酶鏈鎖反應儀 (thermal cycler)
10. 1.5 mL DNase-free 微量離心管
11. 0.2 mL DNase/ RNase-free PCR管
12. 陽性對照組(建議購買生物資源保存及研究中心(BCRC)來源之HeLa cell line，DNA適用濃度：125pg/μL)
13. 陰性對照組(建議購買生物資源保存及研究中心(BCRC)來源之Jurkat cell line，DNA適用濃度：5 ng/μL)

### 操作本產品前應注意事項

1. 本產品僅供輔助檢測用，實際臨床診斷結果仍需由專業醫師判斷。
2. 由於檢體核酸已不具傳染性，故檢體核酸之增幅放大、雜交、洗滌及呈色、結果判讀步驟皆於一般合格實驗室操作即可，但所有廢液/物仍須嚴格收集滅菌始能丟棄。
3. 操作過程必須謹慎小心以避免發生任何污染的可能性而影響最終判讀結果。

## 檢體收集

使用晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組(DR. HPV Genotyping IVD Kit)需搭配台灣立寶醫學器材有限公司之「立寶採檢刷組」(衛署醫器製壹字第002535號)，由醫生或專業人員採檢子宮頸上皮細胞，採集後將細胞樣本浸泡於1.8mL保存液內，並確保液體不會溢出。

## 檢體運輸及保存

以台灣立寶醫學器材有限公司之「立寶採檢刷組」收集子宮頸上皮細胞，將檢體懸浮於1.8mL保存液內存於4-10℃於15天內完成檢體萃取。

## 操作流程

### 檢體前處理

1. 從 1.8mL 細胞懸浮液中取出 1mL ，混有子宮頸上皮細胞的保存液檢體並離心 2500xg 10 分鐘。
2. 去除 500μL 上清液，混合均勻後取 200μL 做 DNA 萃取，剩餘檢體置於-20℃保存。

### 檢體DNA萃取

檢體DNA萃取建議使用台灣圖點自動化磁珠操作平台(衛部醫器製字第004479號)搭配TANBead Viral Auto Plate (使用前依照原廠提供說明書進行萃取)。每個檢體以200μL保存液檢體進行萃取。萃取後的檢體DNA請置於-20℃備用及保存。檢體DNA以β-globin 之擴增結果做為濃度及品質管制。

### 試劑準備

取出Part A中的STG PM在0-8°C回溫至溶解，在取用前須振盪離心確認液體都在試管底部，STG PM包含96個反應，每次做PCR時需額外添加陽性對照組和陰性對照組，並依下表配製反應試劑。

| 試劑 | 體積(μL) |
|---|---|
| STG PM | 15.92 |
| STG DNA Pol | 0.08 |
| DNA | 4 |
| Total Vol | 20 |

*每次操作需同時增加陽性(建議HeLa cell genomic DNA，適用濃度均為125 pg/μL)和陰性對照組(建議Jurkat cell genomic DNA，適用濃度均為5 ng/μL)。





### 聚合酶鏈鎖反應(PCR)

在上機之前，聚合酶鏈鎖反應儀先暖機約15-30分鐘，之後再將配製完成的試劑放入，反應條件如下 95 °C 10分鐘；接以35個循環步驟： 95°C 30秒，50°C 30秒，72°C 50秒；最後再以72°C作用7分鐘，將以上增幅放大所得的PCR產物，請置於 4℃備用，若需長期貯存請置於 -20℃ 以下保存。

### 雜交反應(Hybridization)

**※請先將DR. Mini Oven 開啓電源並設定溫度爲50℃。**

**※請先將 DR. Hyb Buffer 及 Wash Buffer 回溫至室溫備用。**

1. 將 PCR 產物加熱變性：置於聚合酶鏈鎖反應儀設定 95°C 加熱 5 分鐘，再迅速將 PCR 產物降溫至 4°C。
2. 取DR. HPV Chip 晶宇人類乳突病毒基因分型檢測晶片，於晶片內加入200μL Hyb Buffer 和 3 μL PCR 產物後貼上透明膠膜。
3. 待 DR. Mini Oven 升溫至 50°C 後，放入晶片盤並開啟震盪鈕，反應時間 40 分鐘。

### 洗滌及呈色(Wash and Detection)

晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組的洗滌及呈色可依操作者需求，進行手動操作或自動操作(二擇一)，惟自動操作之洗滌和呈色需搭配使用晶宇微孔盤自動清洗儀(DR. Fluidic Station)。

**【手動操作】**

1. 取出雜交完的晶片，撕開DR. HPV Chip 孔盤上之透明膠膜。完全地移除雜交的液體。
2. 加入300μL Wash Buffer 並於室溫下靜置1分鐘，將Wash Buffer移除。重複三次。
3. 將晶片倒扣在吸水紙上反覆拍打，去除殘留的液體。
4. 配製Blocking Solution：每反應以0.25μL Strep-AP混合250μL Blocking 試劑；加入晶片內，於室溫下靜置反應20分鐘。此試劑需新鮮配製，請於每次使用前配製。
5. 完全地移除液體後，加入300μL Wash Buffer 並於室溫下靜置1分鐘，將Wash Buffer移除。重複三次。
6. 將晶片倒扣在吸水紙上反覆拍打，去除殘留的液體。
7. 加入300μL Detection Buffer 清洗晶片，將Detection Buffer移除。
8. 配製Detection Solution：每反應以 5μL NBT/BCIP 混合 250μL Detection Buffer；加入晶片內，於室溫下避光靜置反應7分鐘。此試劑需新鮮配製，請於每次使用前配製。

9. 移除液體後，以水沖洗晶片。將晶片晾乾或烘乾後，以DR. AiM Reader進行HPV型別判讀分析。(判讀前請確認晶片表面是否已完全乾燥)

**【自動操作】**

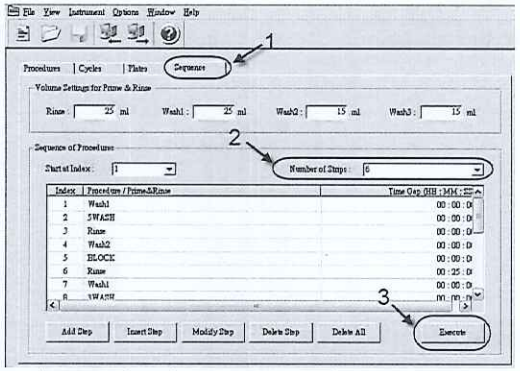
1. 操作 DR. Fluidic Station 前，依下表配製各試劑

| 試劑名稱 | | | Wash Buffer | Blocking Reagent | Strep-AP | Detection Buffer | NBT/BCIP |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 樣品數量 | 1~24 個 (<3 條晶片) | Wash Buffer | 150mL | | | | |
| | | Blocking solution | | 21mL | 21μL | | |
| | | Detection solution | | | | 21mL | 420μL |
| | 25~48 個 (4~6 條晶片) | Wash Buffer | 250mL | | | | |
| | | Blocking solution | | 27mL | 27μL | | |
| | | Detection solution | | | | 27mL | 540μL |
| | 49~72 個 (7~9 條晶片) | Wash Buffer | 300mL | | | | |
| | | Blocking solution | | 33mL | 33μL | | |
| | | Detection solution | | | | 33mL | 660μL |
| | > 73 個 (>10 條晶片) | Wash Buffer | 400mL | | | | |
| | | Blocking solution | | 39mL | 39μL | | |
| | | Detection solution | | | | 39mL | 780μL |

2. 將配製好的 Blocking solution 和 Detection solution 倒入專用的溶劑貯存槽內。撕開 DR. HPV Chip 孔盤上之透明膠膜，以第一排朝前的方向將晶片放置於自動清洗儀中白色承載盤上。
3. 開啟電腦及DR. Fluidic Station 電源，執行 DR. Fluidic 軟體下之 「DR. HPV Series SNXXXXXX」程式，選取反應試劑條數後執行程式，如下圖。








操作步驟：點選 **Sequence** → **Number of Strips** (點選Strip條數)→ 點選 **Execute** (執行)。

4. 程式執行完畢後將晶片取出，待晶片無殘留液體，可進行結果判讀。

**結果判讀**

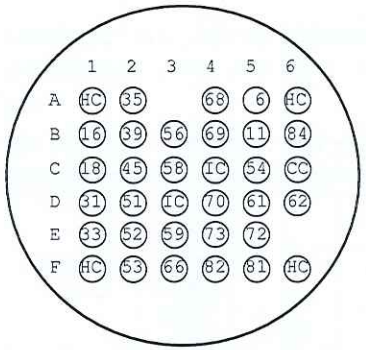
※ 晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組的結果判讀是以晶宇快速檢驗試劑判讀儀(DR. AiM Reader) 讀取晶片並以DR. AiM Soft軟體進行分析。DR. AiM Soft軟體能計算各型別探針的灰階值並判斷感染型別。本試劑套組各型別之陽/陰性判定係根據本仿單【臨床前效能評估】之【臨界值結果】，定義DR. AiM Reader所測得各型別之灰階值≧5為陽性；灰階值＜5為陰性。

1. 打開DR. AiM Reader電源及點選DR. AiM Reader軟體，將晶片放入Reader內，選取掃描範圍進行影像掃描。
2. 在**選擇樣本**中點選HPV template。
3. 執行比對及儲存比對結果。

## 晶宇人類乳突病毒基因分型檢測晶片探針示意圖

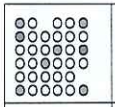
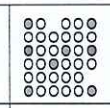
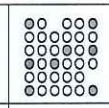
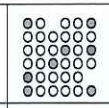
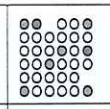
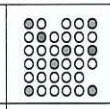
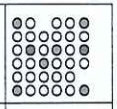
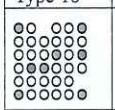
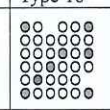
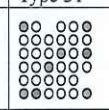
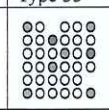
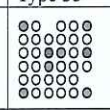
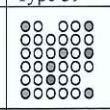
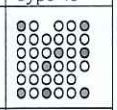
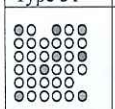
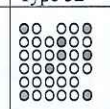
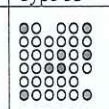
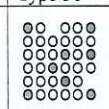
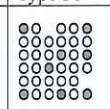
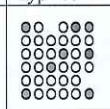
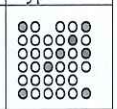
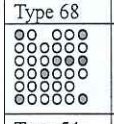
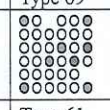
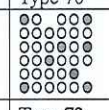
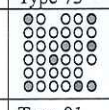
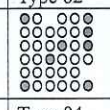
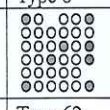
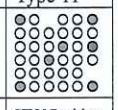
DR. HPV Chip 表面已植入探針，標的基因片段經萃取及 PCR 增幅後，與晶片上之探針進行專一性結合，反應結果利用晶宇快速檢驗試劑判讀儀(DR. AiM Reader) 判讀，以篩檢 HPV 型別的感染。下圖為晶片上探針位置的圖譜，包含 27*種不同 HPV 型別之專一性探針、 HPV 共通性探針(HPV consensus)、內控制組探針(Internal Control)及雜交控制組探針(Hybridization Positive Control)。當 HPV 型別之專一性探針位置上清楚出現紫黑色沉澱的圓點，經 DR. AiM Reader 判讀灰階值≧5，即表示檢體 DNA 的該型別為陽性反應。

註*：27 種型別中，HPV56、69、72 及 82 結果僅供參考。




| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | B1 | HPV16 | A4 | HPV68 |
| | | C1 | HPV18 | B4 | HPV69 |
| | | D1 | HPV31 | D4 | HPV70 |
| | | E1 | HPV33 | E4 | HPV73 |
| | | A2 | HPV35 | F4 | HPV82 |
| | | B2 | HPV39 | A5 | HPV6 |
| | | C2 | HPV45 | B5 | HPV11 |
| | | D2 | HPV51 | C5 | HPV54 |
| | | E2 | HPV52 | D5 | HPV61 |
| | | F2 | HPV53 | E5 | HPV72 |
| A1, A6, F1, F6 | Hybridization Positive Control (HC) | B3 | HPV56 | F5 | HPV81 |
| C4, D3 | Internal Control (β-globin) (IC) | C3 | HPV58 | B6 | HPV84 |
| C6 | HPV consensus control (CC) | E3 | HPV59 | D6 | HPV62 |
| | | F3 | HPV66 | | |

HPV各型別示意圖譜：

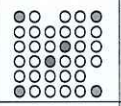
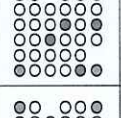
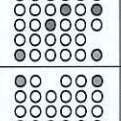
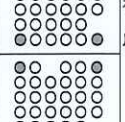
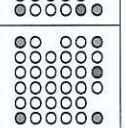
| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
|  |  |  |  |  |  |  |
| Type 16 | Type 18 | Type 31 | Type 33 | Type 35 | Type 39 | Type 45 |
|  |  |  |  |  |  |  |
| Type 51 | Type 52 | Type 53 | Type 56 | Type 58 | Type 59 | Type 66 |
|  |  |  |  |  |  |  |
| Type 68 | Type 69 | Type 70 | Type 73 | Type 82 | Type 6 | Type 11 |
|  |  |  |  |  |  |  |
| Type 54 | Type 61 | Type 72 | Type 81 | Type 84 | Type 62 | HPV Positive |

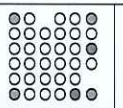
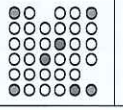




## 偵測結果分析

1. 依據 HPV 各型別示意圖譜，雜交控制組探針位置為 A1、A6、F1 和 F6。此控制組可確認晶片雜交至呈色的過程是否正確。晶片呈色後，雜交控制組(A1、A6、F1 和 F6)應同時出現訊號，若雜交控制組無 4 點同時出現，則為 Invalid。
2. C4 和 D3 為內控制組(Internal Control)，可確認所萃取檢體 DNA 的品質及後續的 PCR 反應至雜交反應。晶片呈色後，內控制組(C4 和 D3)應同時出現訊號，若內控制組無 2 點同時出現，則為 Invalid。HPV 共通性探針位置為 C6，此訊號可視為 HPV 的陽性確認點，當有專一性型別位置陽性時，C6 亦應同時為陽性。

| HPV 型別專一性探針 | HPV 共通性探針 (C6) | β-globin 內控制組 (C4/D3) | 例 | 判讀結果 |
|---|---|---|---|---|
| **陰性** | **陰性** | **陽性** |  | **Negative**<br>HPV 為陰性 |
| **陽性** | **陽性** | **陽性** |  | **例：HPV81 Positive**<br>係指 27*型 HPV 專一型別為陽性 |
| **陰性** | **陽性** | **陽性** |  | **HPV Consensus Positive**<br>係指 27 型別之外 HPV 為陽性 |
| **陰性** | **陰性** | **陰性** |  | **Invalid**<br>檢測為無效結果<br>**解決方案請參照"疑難排解"** |
| **陽性** | **陰性** | **陰性** |  | |
| **陰性** | **陽性** | **陰性** | | |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 陽性 | 陽性 | 陰性 |  | |
| 陽性 | 陰性 | 陽性 |  | |

註*：27種型別中，HPV56、69、72及82結果僅供參考





## 疑難排解

| 結果 | 可能原因 | 建議事項 |
|---|---|---|
| 1. 雜交控制組(A1/A6/F1/F6)訊號微弱、非4點同時出現或無訊號 | 不適當的雜交反應溫度。 | 確認晶宇恆溫雜交箱溫度是否正確，並使用新的晶片重新操作晶片雜交及呈色步驟。 |
| | 雜交反應效率不足。 | 確認晶宇恆溫雜交箱是否有效率地震動，並使用新的晶片重新操作晶片雜交及呈色步驟。 |
| | Blocking Reagent 或 Detection buffer 等試劑過期；或 Blocking Reagent 未加入 Strep-AP；或 Detection buffer 未加入 NBT/BCIP。 | 確認 Blocking Reagent 或 Detection buffer 等試劑是否過期；Blocking buffer 是否添加 Strep-AP 或 Detection buffer 是否添加 NBT/BCIP，並使用新的晶片重新操作晶片雜交及呈色步驟。 |
| 2. 內控制組(C4/D3)訊號微弱、非2點同時出現或無訊號 | 檢體萃取不當或 DNA 濃度不足。 | 重新採檢或重新萃取 DNA。 |
| | DNA 萃取液中含有抑制 PCR 反應的物質。 | DNA 模板濃度稀釋再重新 PCR 步驟。 |
| | 雜交反應效率不足。 | 確認晶宇恆溫雜交箱是否有效率地震動，並使用新的晶片重新操作晶片雜交及呈色步驟。 |
| 3.陰性控制組[註1]出現偽陽性訊號 | 操作過程發生污染。 | 由 PCR 反應開始，重新操作一次。 |
| | PCR 反應或雜交反應過程受到其他陽性檢體交叉污染。 | |
| 4.陽性控制組[註2]出現偽陰性訊號 | 若雜交控制組訊號清楚，可能 PCR 反應的混合液配製不正確；或陽性對照組 DNA 失效。 | 由 PCR 反應開始，重新操作一次；或重新製備陽性對照組 DNA。 |
| | 若雜交控制組訊號微弱，請參考**結果 1.**的可能原因。 | 參見**結果 1.**的建議事項。 |
| 5. HPV 共通性探針(C6)偽陰性 | 可能 PCR 反應的混合液配製不正確。 | 由 PCR 反應開始，重新操作一次。 |

| | | |
|---|---|---|
| 6.A3和E6背景值過高 | 清洗不完全。 | 手動清洗需確認清洗次數及時間；自動清洗需確認 DR. Fluidic Station 的管路是否通暢，並使用新的晶片重新操作晶片雜交及呈色步驟。。 |
| | 呈色過久。 | 確認呈色時間，並使用新的晶片重新操作晶片雜交及呈色步驟。 |

註1. 陰性對照組(建議購買BCRC來源之Jurkat cell line，DNA適用濃度：5 ng/μL)
註2. 陽性對照組(建議購買BCRC來源之HeLa cell line，DNA適用濃度：125pg/μL)

## 品質管制

晶宇人類乳突病毒基因分型檢測晶片為確認檢體細胞量足以進行晶片後續分析，於晶片上設計內控制組(β-globin)探針。當檢體細胞量不足或檢體萃取過程失當，檢測結果即顯現偵測不到內控制組的訊號或訊號微弱，依此作為檢體DNA的品質確認。

操作者每次檢測應包含陽性及陰性對照組(本產品未提供)，陽性對照組可確認PCR反應及晶片雜交反應的效率。本產品建議以HeLa cell line genomic DNA作為陽性對照組。此陽性對照組可同時呈現雜交控制組(A1/A6/F1/F6) 、內控制組(C4/D3)、HPV共通性(C6)及HPV18型別專一性探針(C1)的訊號。陰性對照組建議以Jurkat cell line genomic DNA作為排除PCR試劑及晶片雜交反應的相關試劑因操作不當而污染情形。

## 實驗過程中須預防及注意事項

1. 爲避免實驗上的污染發生，建議將 PCR 相關設備區分爲 PCR 前處理區，細分爲核酸萃取區及試劑準備區(檢體 DNA 的萃取和 PCR 反應的製備)和儀器分析室(PCR 反應的執行和分析)。
2. 由於檢體核酸已不具傳染性，故檢體核酸之增幅放大、雜交、洗滌及呈色、結果判讀步驟皆於一般合格實驗室操作即可，但所有廢液/物仍須嚴格收集滅菌始能丟棄。
3. 操作後 DR. Fluidic Station 的試劑槽須清洗乾淨，避免潛在性的汙染發生。
4. 操作過程必須謹慎小心以避免發生任何污染的可能性而影響最終判讀結果。

## 實驗結果的限制

1. 患者在採樣前應依照醫生的吩咐避免禁忌事項以確保樣本的品質。
2. 萃取後的 DNA 品質差及 PCR 抑制物存在可能會造成偽陰性發生。
3. 每個 HPV 型別都有靈敏度的限制，當病毒 DNA 濃度低於靈敏度，可能會造成偽陰性發生。
4. 實驗結果需按照標準流程執行檢體蒐集、運送、儲存及人員操作。





## 臨床前效能評估

## 臨界值結果

本試驗在於驗證 DR. HPV Genotyping IVD Kit 經由既定設備(DR. AiM Reader)讀取灰階值數據後，以最適合條件下呈現陽性結果與陰性結果之灰階值，藉以定義灰階值用來區分陽性與陰性結果之最佳臨界值。

取 115 個 Jurkat cell 樣本(濃度為 5ng/μL)，此樣本定義為陰性結果，且分析 27 種型別及 1 種共通性探針灰階值 (介於 0~5)所呈現次數(spot)。

由 115 個 Jurkat cell 所測得陰性樣本，其 28 種探針灰階值皆介於 0~4，平均灰階值介於為 0.04~1.3。當 DR. AiM Reader 讀取陰性樣本結果時灰階值均小於 5，大於 5 的讀取次數為 0，故可定義臨界值為 5 (即灰階值≧5 為陽性；灰階值＜5 為陰性)。

## 偵測極限

晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組可偵測 27 型 HPV 病毒的核酸(HPV6/ 11/ 16/ 18/ 31/ 33/ 35/ 39/ 45/ 51/ 52/ 53/ 54/ 56/ 58/ 59/ 61/ 62/ 66/ 68/ 69/ 70/ 72/ 73/ 81/ 82/ 84)，故製備此 27 型 HPV 標準品，並個別測試晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組對此 27 型的偵測極限。

晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組以 27 型 types 6/ 11/ 16/ 18/ 31/ 33/ 35/ 39/ 45/ 51/ 52/ 53/ 54/ 56/ 58/ 59/ 61/ 62/ 66/ 68/ 69/ 70/ 72/ 73/ 81/ 82/ 84 等 HPV 標準品(plasmid)作為材料，同時以 HeLa、Caski、SiHa 及 Jurkat cell 等細胞株做陽性和陰性對照組。27 型別 DNA 依序稀釋成 250、125、50、25 及 12.5 copies/μL，根據初步測試結果取其中四個濃度做測試，另外 HPV 標準品需添加 HPV 陰性細胞株 (Jurkat cell line)作為 internal control。每一型別測試 12 次，約 1296 個測試。同時，每個型別測試時需有相同測試條件下的陰性對照組 Jurkat cell。此外，取 HeLa cell、Caski cell 和 SiHa cell 的 genomic DNA 625 pg/μL、125 pg/μL、62.5 pg/μL 及 12.5 pg/μL 等濃度，每一濃度測試 12 重複，約 144 個測試。

**附註：**本產品原可偵測 27 種病毒分型 6 / 11 / 16 / 18 / 31 / 33 / 35 / 39 / 45 / 51 / 52 / 53 / 54 / 56 / 58 / 59 / 61 / 62 / 66 / 68 /69 / 70 / 72 / 73 / 81 / 82 / 84，其中 4 種型別由於在臨床試驗中所取得的陽性樣本數不足(包含 HPV69 和 HPV72)及與 TS-PCR 比對測試之一致性低(包含 HPV56 和 HPV82)，故僅做 23 種病毒分型認證。

**表一** 晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組偵測極限分析

| HPV 型別 | 偵測極限 | |
|---|---|---|
| | copies/μL | copies/Rx* |
| 6 | 12.5 | 50 |
| 11 | 25 | 100 |
| 16 | 12.5 | 50 |
| 18 | 12.5 | 50 |
| 31 | 12.5 | 50 |
| 33 | 50 | 200 |
| 35 | 250 | 1000 |
| 39 | 50 | 200 |
| 45 | 125 | 500 |
| 51 | 50 | 200 |
| 52 | 250 | 1000 |
| 53 | 250 | 1000 |
| 54 | 125 | 500 |
| 56 | 250 | 1000 |
| 58 | 12.5 | 50 |
| 59 | 250 | 1000 |
| 61 | 12.5 | 50 |
| 62 | 25 | 100 |
| 66 | 12.5 | 50 |
| 68 | 25 | 100 |
| 69 | 12.5 | 50 |
| 70 | 12.5 | 50 |
| 72 | 125 | 500 |
| 73 | 50 | 200 |
| 81 | 12.5 | 50 |
| 82 | 50 | 200 |
| 84 | 12.5 | 50 |

註*：DR. HPV Genotyping IVD Kit 之 PCR 每反應需加入 4μL DNA 模板。





**表二** 晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組對細胞株的偵測極限分析

| Infected HPV cell line (type) | 偵測極限 | |
|---|---|---|
| | pg/μL | ng/Rx* |
| HeLa (HPV 18) | 12.5 | 0.05 |
| Caski (HPV 16) | 12.5 | 0.05 |
| SiHa (HPV 16) | 625 | 2.5 |

註*：DR. HPV Genotyping IVD Kit 之 PCR 每反應需加入 4μL DNA 模板。

由**表一**中了解 HPV 27 型別靈敏度在 250 copies/μL 皆可偵測到，27 型別中有超過 5 成的型別其靈敏度介於 12.5~50 copies/μL，其中 HPV 6/ 16 / 18 / 31 / 58 / 61 / 66 / 69 / 70 / 81 及 84 等型別其靈敏度可達 12.5 copies/μL。並從**表二**中所測之 Cell line 其靈敏度皆在 625 pg/μL 以下，其中以 HeLa cell 及 Caski cell 有較佳的靈敏度，可達 12.5 pg/μL。

## 交叉反應

此特異性測試所使用之標準微生物菌株部分來自美國食品藥物管理局(源自 Guidance for Industry and Food and Drug Administration Staff)[18]所建議，共計18種不同的基因體核酸，其中包含 10 種微生物、3 種非HPV病毒及 5 種不同型別的HPV病毒。測試結果並不會與HPV 型別專一性的探針產生交叉反應，測試清單如**表三**。

**表三** 實驗使用十八種非-HPV 微生物之標準菌株或病毒之樣本名

| No | 微生物名 | No | 微生物名 |
|---|---|---|---|
| 1 | *Staphylococcus aureus* | 10 | *Enterobacter gallinarum* |
| 2 | *Streptococcus Agalactiae* | 11 | HSV-1 |
| 3 | *E.coli* (O157:H7) | 12 | HSV-2 |
| 4 | *E.coli* (O86:H2) | 13 | ADV |
| 5 | *Actinetobacter calcoaceticus* | 14 | HPV30 其 C6 共同性探針應為陽性 |
| 6 | *Aeromonas eucrenophila* | 15 | HPV34 其 C6 共同性探針應為陽性 |
| 7 | *Bacillus subtilis* | 16 | HPV42 其 C6 共同性探針應為陽性 |
| 8 | *Enterobacter durans* | 17 | HPV44 其 C6 共同性探針應為陽性 |
| 9 | *Enterobacter faecium* | 18 | HPV102 其 C6 共同性探針應為陽性 |

全部樣品檢測呈現陰性，無交叉反應現象，故上述之微生物並不會造成誤判檢測具特異性。

## 再現性

以27型 types 6/ 11/ 16/ 18/ 31/ 33/ 35/ 39/ 45/ 51/ 52/ 53/ 54/ 56/ 58/ 59/ 61/ 62/ 66/ 68/ 69/ 70/ 72/ 73/ 81/ 82/ 84等HPV標準品(plasmid)作為材料，取界定LoD以上的兩個濃度備用，並添加Jurkat cell line之genomic DNA (5ng/μL)。三位操作人員分成3天，一位操作者分別於同一天完成同批次測試，再依各型別之偵測極限選擇兩個濃度各作6重複，每一型別每一濃度共54個測試。每個型別需有陰性對照組(Negative control)在相同的條件下進行試驗，共測試27型HPV之陽性檢測頻率，測試結果如**表四**。

**表四** 晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組再現性分析

| Type | copies/μL | copies/Rx* | 再現性(%) |
|---|---|---|---|
| 6 | 12.5 | 50 | 100 |
| | 25 | 100 | 100 |
| 11 | 25 | 100 | 100 |
| | 50 | 200 | 100 |
| 16 | 12.5 | 50 | 100 |
| | 25 | 100 | 100 |
| 18 | 12.5 | 50 | 100 |
| | 25 | 100 | 100 |
| 31 | 12.5 | 50 | 100 |
| | 25 | 100 | 100 |
| 33 | 50 | 200 | 100 |
| | 125 | 500 | 100 |
| 35 | 250 | 1000 | 100 |
| | 500 | 2000 | 100 |
| 39 | 50 | 200 | 100 |
| | 125 | 500 | 100 |
| 45 | 125 | 500 | 100 |
| | 250 | 1000 | 100 |
| 51 | 50 | 200 | 100 |
| | 125 | 500 | 100 |
| 52 | 250 | 1000 | 100 |
| | 500 | 2000 | 100 |
| 53 | 250 | 1000 | 100 |
| | 500 | 2000 | 100 |
| 54 | 125 | 500 | 100 |
| | 250 | 1000 | 100 |
| 56 | 250 | 1000 | 100 |
| | 500 | 2000 | 100 |
| 58 | 12.5 | 50 | 100 |
| | 25 | 100 | 100 |
| 59 | 250 | 1000 | 100 |
| | 500 | 2000 | 100 |
| 61 | 12.5 | 50 | 100 |
| | 25 | 100 | 100 |
| 62 | 25 | 100 | 100 |
| | 50 | 200 | 100 |
| 66 | 12.5 | 50 | 100 |
| | 25 | 100 | 100 |
| 68 | 25 | 100 | 100 |
| | 50 | 200 | 100 |
| 69 | 12.5 | 50 | 100 |
| | 25 | 100 | 100 |
| 70 | 12.5 | 50 | 100 |
| | 25 | 100 | 100 |
| 72 | 125 | 500 | 100 |
| | 250 | 1000 | 100 |
| 73 | 50 | 200 | 100 |
| | 125 | 500 | 100 |
| 81 | 12.5 | 50 | 100 |
| | 25 | 100 | 100 |
| 82 | 50 | 200 | 100 |
| | 125 | 500 | 100 |
| 84 | 12.5 | 50 | 100 |
| | 25 | 100 | 100 |

註*：DR. HPV Genotyping IVD Kit 之 PCR 每反應需加入 4μL DNA 模板。





由**表四**可知各分型使用兩個濃度分析晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組，皆可得 100% 的再現性。

## 干擾性

本試驗目的在於驗證 DR. HPV Genotyping IVD Kit 產品在採樣過程中，如有發炎而使用殺菌藥膏、出血或潤滑劑及消毒清潔液等物質時，可能會造成型別誤判或抑制結果，故選取四種代表性型別檢體(HPV16/18/52/58)進行干擾性試驗以確保本產品於設定條件內不受影響結果。

事先挑選四種臨床上常見的型別 (HPV16/18/52/58)的子宮頸上皮細胞檢體，檢體係以立寶採檢刷進行採樣，採檢後將檢體浸泡於該採檢刷組之 PBS 保存液中。其偵測極限包含偵測極限較高(250copies/μL)之型別(如 HPV52)及偵測極限較低(12.5copies/μL)之型別(如 HPV16/18/58)。每一檢體分成二份，每份檢體 200μL，一份為不添加任何干擾物質的檢體；另一份作為加入干擾性物質的檢體。干擾物質成分及測試濃度如**表五**所示，將欲測試的干擾物質加入 200μL 待測檢體中並均勻混合。同時進行檢體萃取及測試，每一型別的每一種干擾物質測試 2 例檢體，每個測試檢體萃取 1 次，重複 4 次晶宇人類乳突病毒基因分型檢測分析，同時以 Hela cell genomic DNA 及 Jurkat cell genomic DNA(5ng/μL)作為本測試評估的陽性和陰性對照組。

**表五** 干擾性測試物質成分表

| 測試物質 | 內含干擾物質成分 | 測試量 |
|---|---|---|
| 全血[i] | 白血球 / 血球 / 血小板 / 血清 | 10μL |
| 保險套[ii] | 矽光油潤滑劑 | 1cm$^2$ |
| 抗菌藥膏[iii] | Gramicidin / Neomycin / Nystatin / Triamcinolone Aectonide | 10μg / 2.5μg / 100IU /10μg |
| 陰道潤滑劑[iv] | 甘油/葡萄糖酸內脂/氫氧化鈉/氯己定二葡糖酸鹽/(羊全)苯甲酯/(羊全)乙基纖維素 | 20μL |
| 陰道消毒清潔液[v] | 三氯卡巴 | 1μg |

註[i]. 全血來源由檢測操作人員提供。

註[ii]. 保險套測試因無法刮取矽光油潤滑劑，故該測試為剪下 1cm$^2$ 的保險套，與檢體充分混合均勻後進行測試。

註[iii~v]. 抗菌藥膏為妥膚定乳膏 Topidin Cream(寶齡富錦生技 Panion & BF Biotech Inc.)；陰道潤滑劑為 K-Y Brand Jelly Personal Lubricant；陰道消毒清潔液為素露 Derma-Solu Solution(杏輝藥品工業股份有限公司)。

經由干擾性測試結果，晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組測試結果不會受**表五**所列之相關干擾物質影響其所偵測型別。本試驗所測試之干擾物質濃度為預估一般正常情況之使用量，若檢體含有過量干擾物質，則不在此試驗範圍內。

## 臨床前檢體測試

### 已上市產品比較

晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組可以偵測 HPV27 種分型(6、11、16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、54、56、58、59、61、62、66、68、69、70、72、73、81、82、84)，目前市面上沒有完全類似的產品，因此從市面上找到 HPV 分型的類似產品並比較其一致性。

### 晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組 V.S. CLART human papillomavirus 2 (Genomica)

CLART human papillomavirus 2 是在歐洲上市具有歐盟認證的產品，主要銷售於西班牙，利用 My09/11 混合引子使 HPV DNA 增值擴大，並利用探針作 HPV 35 型別分型，其可偵測之型別分別為 HPV6、11、16、18、26、31、33、35、39、40、42、43、44、45、51、52、53、54、56、58、59、61、62、66、68、70、71、72、73、81、82、83、84、85、89 共 35 型。
註:底線標示為僅 CLART human papillomavirus 2 可偵測之型別。

晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組與 CLART human papillomavirus 2 皆為 HPV 分型檢驗，之後以臨床檢體進行比對測試。挑選 105 支 HPV 檢體，其中 4 支為無效檢體，依照各別產品操作流程操作，最後將型別分析作統計其一致性。

**表六**晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組與 CLART human papillomavirus 2 比對結果

| | CLART human papillomavirus 2 | | | |
|---|---|---|---|---|
| 晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組 | 臨床檢體 | 陽性 | 陰性 | 總和 |
| | 陽性 | 66 | 0 | 66 |
| | 陰性 | 8 | 27 | 35 |
| | 總和 | 74 | 27 | 101 |
| | | **一致性：** | **92.1%** | |

將晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組與 CLART human papillomavirus 2 (Genomica)統計如**表六**，由結果可知兩產品一致性為 92.1%。歸納其結果不一致的 8 例檢體，其型別為 HPV16/54/59/61，探究其原因主要為偵測極限的差異。雖然這兩套組分型不盡相似，但檢測結果一致性仍高達 90%以上。





### 比對測試

市面上販售的檢驗試劑大致分成兩類，其中一類的檢驗方式為偵測高風險型人類乳突病毒，另一類檢驗試劑則為 HPV 基因型的鑑別分析，檢測的標的包含常見的高、低風險型人類乳突病毒基因分型。而目前晶宇生技晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組發展以 My09/11 引子(primer)放大 L gene 區域中一段 450bp 的片段，且可偵測 27 型病毒的 HPV 檢驗試劑，與市售的檢驗試劑皆不太相似，例如分析型別不盡相同。因此，在參考比較市售檢驗試劑及國際期刊之標準檢測方法，選擇針對型別特異性 PCR 發展出來的 TS-PCR (Type-specific PCR)是較佳的選擇。TS-PCR 是根據 HPV L1，E6/E7 基因的多樣性(polymorphisms)，進而針對不同 HPV 型別設計特異的引子序列，這是一個靈敏度高、特異性高的檢測方法，因此使用 TS-PCR 與晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組做臨床前檢體之分析比較。

從臨床檢體中，平均挑選單一感染、多重感染、陰性三種檢體。分別以 TS-PCR 方法，將總共 182 支檢體做個別 27 型別 HPV 進行 TS-PCR 測試，最後以電泳圖分析結果；另外以晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組檢驗 182 支檢體，並以晶片分析結果。最後再將 TS-PCR 的結果與晶片做分析比對並做統計分析一致性(Agreement)。

**表七** 晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組與 TS-PCR 分析臨床前檢體比較表

| Type | TS +/DR.+ | TS+/DR- | TS-/DR+ | TS-/DR- | 一致性 |
|---|---|---|---|---|---|
| 6 | 12 | 1 | 2 | 167 | 98.4 |
| 11 | 4 | 5 | 0 | 173 | 97.3 |
| 16 | 19 | 7 | 1 | 155 | 95.6 |
| 18 | 14 | 5 | 1 | 162 | 96.7 |
| 31 | 6 | 1 | 0 | 175 | 99.5 |
| 33 | 9 | 0 | 1 | 172 | 99.5 |
| 35 | 1 | 4 | 0 | 177 | 97.8 |
| 39 | 11 | 8 | 1 | 162 | 95.1 |
| 45 | 3 | 0 | 0 | 179 | 100.0 |
| 51 | 7 | 4 | 3 | 168 | 96.2 |
| 52 | 14 | 9 | 1 | 158 | 94.5 |
| 53 | 13 | 2 | 1 | 166 | 98.4 |
| 54 | 11 | 5 | 0 | 166 | 97.3 |
| 56 | 4 | 2 | 0 | 176 | 98.9 |
| 58 | 14 | 2 | 2 | 164 | 97.8 |
| 59 | 3 | 1 | 1 | 177 | 98.9 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 61 | 8 | 0 | 0 | 174 | 100.0 |
| 62 | 8 | 3 | 0 | 171 | 98.4 |
| 66 | 10 | 4 | 1 | 167 | 97.3 |
| 68 | 3 | 2 | 1 | 176 | 98.4 |
| 69 | 0 | 2 | 0 | 180 | 98.9 |
| 70 | 12 | 2 | 1 | 167 | 98.4 |
| 72 | 0 | 0 | 2 | 180 | 98.9 |
| 73 | 3 | 0 | 0 | 179 | 100.0 |
| 81 | 7 | 5 | 0 | 170 | 97.3 |
| 82 | 2 | 1 | 0 | 179 | 99.5 |
| 84 | 7 | 0 | 3 | 172 | 98.4 |

註:(1)TS+：TS-PCR 結果陽性；(2)TS-：TS-PCR 結果陰性

(3)DR+：DR. HPV Genotyping IVD Kit 結果陽性；(4)DR-：DR. HPV Genotyping IVD Kit 結果陰性

由**表七**中看分析結果，在 182 支檢體中，每一型別的一致性皆達 94%以上。表示晶宇人類乳突病毒基因分型檢測套組在相對 TS-PCR 有很高的一致性。





## 臨床效能評估

臨床收樣納入統計者共 1103 人，其中 91 位(8.3%)分類為 Normal、362 位(32.8%)分類為 ASCUS、274 位(24.8%)分類為 LSIL 及 376 位(34.1%)分類為 HSIL。主要評估以 TS-PCR 的 PCR 產物定序之結果為比對標準，評估 DR. HPV Genotyping IVD Kit 用於每一型別 (by type) 定型的靈敏度、特異性以及一致性，每位受試者的細胞檢體將分別以 DR. HPV Genotyping IVD Kit 以及 TS-PCR 定序進行測試。若 DR. HPV Genotyping IVD Kit 檢測結果顯示 HPV-X 為陽性，則此受檢者感染了 HPV-X 型別。每一型別透過 DR. HPV Genotyping IVD Kit 檢測之陽性與陰性結果，將與比對標準進行比較，計算 DR. HPV Genotyping IVD Kit 用於檢測每一型別之靈敏度及特異性所得結果如**表八**。次要評估以 TS-PCR 的 PCR 產物定序之結果為比對標準，評估 DR. HPV Genotyping IVD Kit 用於每一檢體 (by subject) 偵測有無感染高危險型 HPV 的靈敏度、特異性以及一致性所得結果如**表九**。另外以 TS-PCR 的 PCR 產物定序之結果為比對標準，評估 DR. HPV Genotyping IVD Kit 用於在中度子宮頸上皮內腫瘤(CIN2)或以上的族群中，針對每一檢體 (by subject) 偵測有無感染高危險型 HPV 的靈敏度、特異性以及一致性，DR. HPV Genotyping IVD Kit 偵測之高危險型 HPV 定義包含基因型 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68、73 以及 82。同一檢體只要比對標準檢驗(定序)中 15 型高危險型 HPV 基因任一型呈陽性，則此檢體由比對標準檢驗結果為有感染高危險型 HPV，反之則為無感染高危險型 HPV。而在 DR. HPV Genotyping IVD Kit 方面，同一檢體 DR. HPV Genotyping IVD Kit 的結果只要 15 型高危險型中任一型呈陽性則為有感染高危險型 HPV，反之則為無感染高危險型 HPV，確定每一檢體由 DR. HPV Genotyping IVD Kit 檢驗為有感染或無感染高危險型 HPV，再與比對標準比對進行「有無感染 15 型高危險型 HPV」之靈敏度與特異性的分析。其結果如**表十**。

**附註：**本產品原可偵測 27 種病毒分型 6 / 11 / 16 / 18 / 31 / 33 / 35 / 39 / 45 / 51 / 52 / 53 / 54 / 56 / 58 / 59 / 61 / 62 / 66 / 68 /69 / 70 / 72 / 73 / 81 / 82 / 84，其中 4 種型別由於在臨床試驗中所取得的陽性樣本數不足(包含 HPV69 和 HPV72)及與 TS-PCR 比對測試之一致性低(包含 HPV56 和 HPV82)，故僅做 23 種病毒分型認證。

表八 DR. DR. HPV Genotyping IVD Kit 與 TS-PCR 的 PCR 產物定序之比較

| HPV genotype | Positive$ | Negative$ | Kappa | C-statistics | Sensitivity | 95%CI | Specificity | 95%CI |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Type6 | | | 0.98 | 0.98 | 0.96 | (0.85-1.00) | 1.00 | (0.99-1.00) |
| Positive | 22 ( 2.0%) | 0 ( 0.0%) | | | | | | |
| Negative | 1 ( 0.1%) | 1080 ( 97.9%) | | | | | | |
| Type11 | | | 0.92 | >0.995 | 1.00 | (0.42-1.00) | >0.995 | (1.00-1.00) |
| Positive | 6 ( 0.5%) | 1 ( 0.1%) | | | | | | |
| Negative | 0 ( 0.0%) | 1096 ( 99.4%) | | | | | | |
| Type16 | | | 0.99 | 0.99 | 0.98 | (0.98-1.00) | 1.00 | (0.99-1.00) |
| Positive | 163 ( 14.8%) | 0 ( 0.0%) | | | | | | |
| Negative | 3 ( 0.3%) | 937 ( 85.0%) | | | | | | |
| Type18 | | | 0.93 | 0.97 | 0.95 | (0.81-0.97) | >0.995 | (0.99-1.00) |
| Positive | 53 ( 4.8%) | 5 ( 0.5%) | | | | | | |
| Negative | 3 ( 0.3%) | 1042 ( 94.5%) | | | | | | |
| Type31 | | | 0.98 | 0.99 | 0.97 | (0.89-1.00) | 1.00 | (0.99-1.00) |
| Positive | 33 ( 3.0%) | 0 ( 0.0%) | | | | | | |
| Negative | 1 ( 0.1%) | 1069 ( 96.9%) | | | | | | |
| Type33 | | | 0.99 | 0.99 | 0.98 | (0.92-1.00) | 1.00 | (0.99-1.00) |
| Positive | 46 ( 4.2%) | 0 ( 0.0%) | | | | | | |
| Negative | 1 ( 0.1%) | 1056 ( 95.7%) | | | | | | |
| Type35 | | | 0.93 | 0.93 | 0.87 | (0.75-1.00) | 1.00 | (0.99-1.00) |
| Positive | 13 ( 1.2%) | 0 ( 0.0%) | | | | | | |
| Negative | 2 ( 0.2%) | 1088 ( 98.6%) | | | | | | |





| HPV genotype | Positive$ | Negative$ | Kappa | C-statistics | Sensitivity | 95%CI | Specificity | 95%CI |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Type39 | | | 0.92 | 0.93 | 0.87 | (0.92-1.00) | 1.00 | (0.99-1.00) |
| Positive | 45 ( 4.1%) | 0 ( 0.0%) | | | | | | |
| Negative | 7 ( 0.6%) | 1051 ( 95.3%) | | | | | | |
| Type45 | | | 0.89 | 0.90 | 0.80 | (0.74-1.00) | 1.00 | (0.99-1.00) |
| Positive | 12 ( 1.1%) | 0 ( 0.0%) | | | | | | |
| Negative | 3 ( 0.3%) | 1088 ( 98.6%) | | | | | | |
| Type51 | | | 0.97 | 0.97 | 0.94 | (0.95-1.00) | 1.00 | (0.99-1.00) |
| Positive | 80 ( 7.3%) | 0 ( 0.0%) | | | | | | |
| Negative | 5 ( 0.5%) | 1018 ( 92.3%) | | | | | | |
| Type52 | | | 0.96 | 0.98 | 0.96 | (0.94-0.99) | 0.99 | (0.98-1.00) |
| Positive | 181 ( 16.4%) | 5 ( 0.5%) | | | | | | |
| Negative | 8 ( 0.7%) | 909 ( 82.4%) | | | | | | |
| Type53 | | | 0.93 | 0.96 | 0.92 | (0.85-0.98) | >0.995 | (0.99-1.00) |
| Positive | 60 ( 5.4%) | 4 ( 0.4%) | | | | | | |
| Negative | 5 ( 0.5%) | 1034 ( 93.7%) | | | | | | |
| Type54 | | | 0.89 | 0.93 | 0.85 | (0.79-0.99) | >0.995 | (0.99-1.00) |
| Positive | 29 ( 2.6%) | 2 ( 0.2%) | | | | | | |
| Negative | 5 ( 0.5%) | 1067 ( 96.7%) | | | | | | |
| Type56 | | | 0.77 | 0.82 | 0.63 | (0.86-1.00) | 1.00 | (0.98-0.99) |
| Positive | 24 ( 2.2%) | 0 ( 0.0%) | | | | | | |
| Negative | 14 ( 1.3%) | 1065 ( 96.6%) | | | | | | |

| HPV genotype | Positive$ | Negative$ | Kappa | C-statistics | Sensitivity | 95%CI | Specificity | 95%CI |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Type58 | | | 0.98 | 0.99 | 0.98 | (0.95-1.00) | >0.995 | (0.99-1.00) |
| Positive | 129 ( 11.7%) | 2 ( 0.2%) | | | | | | |
| Negative | 3 ( 0.3%) | 969 ( 87.9%) | | | | | | |
| Type59 | | | 0.94 | 0.95 | 0.90 | (0.87-1.00) | 1.00 | (0.99-1.00) |
| Positive | 26 ( 2.4%) | 0 ( 0.0%) | | | | | | |
| Negative | 3 ( 0.3%) | 1074 ( 97.4%) | | | | | | |
| Type61 | | | 0.81 | 0.95 | 0.91 | (0.54-0.89) | 0.99 | (0.99-1.00) |
| Positive | 20 ( 1.8%) | 7 ( 0.6%) | | | | | | |
| Negative | 2 ( 0.2%) | 1074 ( 97.4%) | | | | | | |
| Type62 | | | 0.98 | 0.98 | 0.95 | (0.91-1.00) | 1.00 | (0.99-1.00) |
| Positive | 41 ( 3.7%) | 0 ( 0.0%) | | | | | | |
| Negative | 2 ( 0.2%) | 1060 ( 96.1%) | | | | | | |
| Type66 | | | 0.92 | 0.93 | 0.85 | (0.91-1.00) | 1.00 | (0.99-1.00) |
| Positive | 41 ( 3.7%) | 0 ( 0.0%) | | | | | | |
| Negative | 7 ( 0.6%) | 1055 ( 95.6%) | | | | | | |
| Type68 | | | 0.98 | 0.98 | 0.97 | (0.89-1.00) | 1.00 | (0.99-1.00) |
| Positive | 31 ( 2.8%) | 0 ( 0.0%) | | | | | | |
| Negative | 1 ( 0.1%) | 1071 ( 97.1%) | | | | | | |
| Type69 | | | 0.86 | 0.88 | 0.75 | (0.29-1.00) | 1.00 | (0.99-1.00) |
| Positive | 3 ( 0.3%) | 0 ( 0.0%) | | | | | | |
| Negative | 1 ( 0.1%) | 1099 ( 99.6%) | | | | | | |





| HPV genotype | Positive$ | Negative$ | Kappa | C-statistics | Sensitivity | 95%CI | Specificity | 95%CI |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Type70 | | | 0.99 | >0.995 | 1.00 | (0.89-1.00) | >0.995 | (1.00-1.00) |
| Positive | 46 ( 4.2%) | 1 ( 0.1%) | | | | | | |
| Negative | 0 ( 0.0%) | 1056 ( 95.7%) | | | | | | |
| Type72 | | | 0.28 | 0.87 | 0.75 | (0.04-0.43) | 0.99 | (0.99-1.00) |
| Positive | 3 ( 0.3%) | 14 ( 1.3%) | | | | | | |
| Negative | 1 ( 0.1%) | 1085 ( 98.4%) | | | | | | |
| Type73 | | | 0.89 | 0.90 | 0.80 | (0.74-1.00) | 1.00 | (0.99-1.00) |
| Positive | 12 ( 1.1%) | 0 ( 0.0%) | | | | | | |
| Negative | 3 ( 0.3%) | 1088 ( 98.6%) | | | | | | |
| Type81 | | | 0.98 | 0.98 | 0.96 | (0.86-1.00) | 1.00 | (0.99-1.00) |
| Positive | 24 ( 2.2%) | 0 ( 0.0%) | | | | | | |
| Negative | 1 ( 0.1%) | 1078 ( 97.7%) | | | | | | |
| Type82 | | | 0.72 | 0.78 | 0.56 | (0.66-1.00) | 1.00 | (0.99-1.00) |
| Positive | 9 ( 0.8%) | 0 ( 0.0%) | | | | | | |
| Negative | 7 ( 0.6%) | 1087 ( 98.5%) | | | | | | |
| Type84 | | | 0.91 | 0.98 | 0.97 | (0.71-0.95) | >0.995 | (0.99-1.00) |
| Positive | 31 ( 2.8%) | 5 ( 0.5%) | | | | | | |
| Negative | 1 ( 0.1%) | 1066 ( 96.6%) | | | | | | |



衛生福利部 醫療器材 許可證 6.12

**表九** 感染 HPV 高危險型之 DR. HPV Genotyping IVD Kit 與 TS-PCR 的 PCR 產物定序之比較

| *HPV genotype* | *Positive$* | *Negative$* | *Kappa* | *C-statistics* | *Sensitivity* | *95%CI* | *Specificity* | *95%CI* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **High risk HPV*** | | | 0.95 | 0.98 | 0.97 | (0.98-0.99) | 0.98 | (0.94-0.98) |
| Positive | 645 ( 58.5%) | 8 ( 0.7%) | | | | | | |
| Negative | 18 ( 1.6%) | 432 ( 39.2%) | | | | | | |

Note: $=TS-PCR Sequence result

Note: *=Including type 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, and 82

**表十** 中度子宮頸上皮內腫瘤(CIN2)或以上的族群中，感染高危險型 HPV 之 DR. HPV Genotyping IVD Kit 與 TS-PCR 的 PCR 產物定序之比較

| *HPV genotype* | *Positive$* | *Negative$* | *Kappa* | *C-statistics* | *Sensitivity* | *95%CI* | *Specificity* | *95%CI* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **High risk HPV*** | | | 0.92 | 0.97 | 0.98 | (0.97-1.00) | 0.96 | (0.83-0.97) |
| Positive | 300 ( 79.8%) | 3 ( 0.8%) | | | | | | |
| Negative | 6 ( 1.6%) | 67 ( 17.8%) | | | | | | |

Note: $=TS-PCR Sequence result

Note: *=Including type 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, and 82





**表八**顯示在 DR. HPV Genotyping IVD Kit 結果與 TS-PCR 定序結果兩者的一致性的結果中，除了 Type56、Type72 及 Type82 的 Kappa 值為一般吻合及高度吻合的結果之外，其餘型別的 Kappa 值皆大於 0.81，呈現幾乎完全吻合的結果。另外，這 27 種型別的特異度皆在 0.99 以上，而靈敏度除了 Type56、Type69、Type72 及 Type82 之外，其餘 23 種型別亦皆在 0.8 以上，具高靈敏度。

若針對高危險型的 HPV 型別計算結果，如**表九**和**表十**不論在所有族群或中度子宮頸上皮內腫瘤(CIN2)或以上的族群中，DR. HPV Genotyping IVD Kit 對於高危險型 HPV 的偵測結果與 TS-PCR 定序結果兩者的一致性之 Kappa 與 C-statistics 值皆大於 0.92，靈敏度及特異度亦都大於 0.96，呈現兩者幾乎完全吻合且對於 HPV 的診斷具有非常好的鑑別力。



6. 12

## 參考文獻


1. Matthias durst, Lutz gissmann, Hans ikenberg, and Harald zur hausen 1983. A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. Proc Natl Acad Sci U S A. 80(12): 3812–3815.

2. Parkin DM, Bray F. Chapter 2: the burden of HPV-related cancers. Vaccine 2006;24:S11–25.

3. Woodman CB, Collins SI, Young LS. The natural history of cervical HPV infection: unresolvedissues. Nat Rev Cancer 2007;7:11–22.

4. Franco EL, Rohan TE, Villa LL. Epidemiologic evidence and human papillomavirus infection as a necessary cause of cervical cancer. J Natl Cancer Inst 1999;91:506–11.

5. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J Pathol 1999;189:12–9.

6. Bosch FX, Manos MM, Munoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, Schiffman MH, Moreno V, Kurman R, Shah KV. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group. J Natl Cancer Inst 1995;87:796–802.

7. Harald zur Hausen. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. J Natl Cancer Inst 2000;92:690–8.

8.Cogliano V, Baan R, Straif K, et al. Carcinogenicity of human papillomaviruses. Lancet Oncol. 2005;6:204.

9. Molly C. Fey, FNP, MSN, Margaret W. Beal, CNM, PhD. The Role of Human Papilloma Virus Testing in Cervical Cancer Prevention. J Midwifery Womens Health.2004;49(1):4-13.

10. Mario Poljak and Boštjan J Kocjan. Commercially available assays for multiplex detection of alpha human papillomaviruses. Expert Rev. Anti Infect. Ther. 2010;8(10):1139-1162.

11. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical CancerNew England Journal of Medicine . 2003;348:518–527.

12. Chyong-Huey Lai, Huei-Jean Huang1, Swei Hsueh, Angel Chao, Cheng-Tao Lin, Shang-Lang Huang, Fang-Yu Chao, Jian-Tai Qiu, Ji-Hong Hong, Hung-Hsueh Chou, Ting-Chang Chang1 and Chee-Jen Chang. Human papillomavirus genotype in cervical cancer: A population-based study. Int. J. Cancer:2007; 120: 1999–2006.




106. 6. 12




13. Kahn JA. HPV vaccination for the prevention of cervical intraepithelial neoplasia. N Engl J Med 2009; 361:271.

14. Mendez, F., N. Munoz, H. Posso, M. Molano, V. Moreno, A. J. van den Brule, M. Ronderos, C. Meijer, and A. Munoz. Cervical coinfection with human papillomavirus (HPV) types and possible implications for the prevention of cervical cancer by HPV vaccines. J. Infect. Dis. 2005;192:1158–1165.

15. Sotlar K, Diemer D, Dethleffs A, Hack Y, Stubner A, Vollmer N, Menton S, Menton M, Dietz K, Wallwiener D, Kandolf R, Bultmann B. Detection and typing of human papillomavirus by E6 nested multiplex PCR. J Clin Microbiol 2004;42: 3176-3184.

16. Huang, H.J., Huang, S.L., Lin, C.Y., Lin, R.W., Chao, F.Y., Chen, M.Y., Chang, T.C., Hsueh, S., Hsu, K.H., Lai, C.H., Human papillomavirus genotyping by a polymerase chain reaction-based genechip method in cervical carcinoma treated with neoadjuvant chemotherapy plus radical surgery. Int. J. Gynecol. Cancer 2004; 14: 639–649.

17. Giuliano, A.R., Papenfuss, M., Abrahamsen, M., Denman, C., de Zapien, J.G., Henze, J.L., Ortega, L., Brown de Galaz, E.M., Stephan, J., Feng, J., Baldwin, S., Garcia, F., Hatch, K.,. Human papillomavirus infection at the United States– Mexico border: implications for cervical cancer prevention and control. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 2001; 10:1129–1136.

18. Guidance for Industry and Food and Drug Administration Staff, 2011. (Establishing the Performance Characteristics of In Vitro Diagnostic Devices for the Detection or Detection and Differentiation of Huamn Papillomaviruses.)



藥商名稱：晶宇生物科技實業股份有限公司科學園區分公司
藥商地址：苗栗縣竹南鎮科中路 31 號
製造廠名稱：晶宇生物科技實業股份有限公司科學園區分公司
製造廠地址：苗栗縣竹南鎮科中路 31 號