

人乳头瘤病毒（6 型, 11 型）核酸检测试剂盒（PCR 荧光法）说明书

【产品名称】

通用名称：人乳头瘤病毒（6 型,11 型）核酸检测试剂盒（PCR 荧光法）

【包装规格】 32 人份/盒

【预期用途】

本产品用于体外定性检测男性尿道拭子样本或女性宫颈拭子样本中 HPV 6 型和 11 型核酸。

由于未进行相应临床试验，不得用于宫颈癌筛查相关的临床用途。

适应症：由 HPV6 型和 11 型引起的生殖道感染。

【检验原理】

本试剂盒选用人乳头瘤病毒（HPV）E1 区作为扩增区域，设计特异引物及特异 Taqman 探针，该探针能与引物扩增区域中间的一段 DNA 模板发生特异性结合，在 PCR 延伸反应过程中，Taq 酶的外切酶活性将 5'端荧光基团从探针上切割下来，使之游离于反应体系中，从而脱离了 3'端荧光淬灭基团的屏蔽，即能接受光刺激而发出可供仪器检测的荧光，从而实现在全封闭反应体系中对 6 型和 11 型人乳头瘤病毒核酸的自动化检测。

【主要组成成分】

组成	成分	规格
核酸提取液	含 0.4M 氯化钠、10mM 氢氧化钠、0.5%NP-40、0.5%Triton X-100、5%Chelex-100	1.8mL×1
HPV6/11 反应混合液	含 Tris-HCl(pH8.3)10mmol/L、氯化钾 50mmol/L、氯化镁 4mmol/L、dTTP、dATP、dGTP、dCTP 各 100umol/L、引物 A 100nmol/L、引物 B 100nmol/L、探针 75nmol/L	1.2mL×1
Taq 酶	含 Taq DNA 酶及抗体	14μL×1
HPV6/11 阳性对照	主要成份为 HPV6/11 基因组 DNA(重组克隆)	100μL×1
阴性对照	主要成分为 0.9%氯化钠	100μL×1

注：不同批号试剂盒中各组分不可以互换。

【储存条件及有效期】

-20℃ 保存，有效期 12 个月。未使用完的试剂继续冷冻保存不影响其稳定性，但试剂反复冻融不得超过三次。生产日期和使用期限详见产品标签或外包装盒。

【适用仪器】

具有 FAM 荧光通道的 ABI7500 型荧光 PCR 扩增仪和 ABI-StepOne Plus 荧光 PCR 扩增仪。

【样本要求】

1. 样本：男性尿道拭子样本或女性宫颈拭子样本
2. 采集容器：应当选用国家批准生产的一次性使用的男性拭子或女性拭子，拭子应当包括套管、棉签杆、塞子，棉签杆与塞子都应连接牢固。
3. 采集： 样本采集具体方法请参考《微生物标本采集手册》一书。

【男性】先清洁尿道口，要求病人在采样前 2 小时不能排尿。取尿道分泌物或细小棉拭子伸入尿道约 2-4cm，略捻拭子取出分泌物（应略带黏膜）。将分泌物或棉拭子置入无菌玻璃管，密闭送检。

【女性】先用棉/麻拭子将宫颈口过多的分泌物擦去，用扩阴器扩阴，再换取棉拭子伸入宫颈，通过上皮交界处，直到看不到拭子头，旋转 10-20 秒，取出拭子，将拭子置入无菌玻璃管中，密闭送检。

4. 存放：2-8℃ 保存，不超过 24 小时；-20℃ 下保存，不超过 3 个月；-70℃ 下长期保存，但应避免反复冻融。
5. 运输：采用冰壶加冰或泡沫箱加冰密封进行运输。

【检验方法】

1.样本处理(样本处理区)

- (1) 样本试管中加入 1mL 无菌生理盐水(冻存样本使用前在室温融解并充分混匀)，充分震荡摇匀，吸取液体转至 1.5mL 离心管中，12000rpm 离心 5 分钟。弃上清取沉淀加入 50μL 核酸提取液(内含固体沉淀颗粒物，为使颗粒均匀分布，每次取样时请用吸头反复吸打)，混匀后 2000rpm 离心 10sec，100℃ 水浴或干浴 10min，12000rpm 离心 10min，上清供 PCR 扩增用（如样本裂解产物当天不使用，请于-20℃ 保存）。
- (2) 阴性对照、阳性对照直接取出 50μL，加入 50μL 核酸提取液，混匀后 100℃ 水浴或干浴 10min。12000rpm 离心 10min，备用。

2.试剂配制 (试剂准备区)

从试剂盒中取出 HPV6/11 反应混合液，在室温下融化并振荡混匀后，2000rpm 离心 10sec。计算需准备样品数 n 份[n=样本数+2 管对照品]。每测试反应体系配制如下：

试 剂	HPV6/11 反应混合液	Taq 酶
用 量	35.6μL	0.4μL

计算上述各试剂的使用量，加入一适当体积的离心管中，充分混匀后，按 36μL 量分装到 PCR 反应管中，转移至样本处理区。

3.上样 (样本处理区)

各反应管中分别加入 4μL 的阴性对照、阳性对照、样品处理上清液，盖紧反应管，转移至检测区。

4.PCR 扩增及荧光检测（PCR 检测区）

将各反应管按一定顺序放入 PCR 仪上,按以下程序进行 PCR 扩增：

步 骤	循 环 数	温 度	时 间
1	1	95℃	3min
2	40	94℃	15sec
		60℃	30sec

检测荧光选择：请选择 FAM 荧光。

【阳性判断值】

通过研究确定本试剂盒检测目标基因的阳性判断值为 Ct 值≤38.0。

【检验结果的解释】

选择 FAM 通道，调节 baseline cyclor 至 6~15(不同仪器根据实际情况，baseline cyclor 可在 2~15 之间变化),阈值设定原则以阈值线刚好超过正常阴性对照品的最高点。在阈值以上的荧光曲线应当是具有明显的 S 型曲线，阳性对照 Ct 值应小于 38，阴性对照 Ct 无数值，Ct 值等于 40.0 或 0 的样本为阴性，Ct 值≤38.0 的样本为阳性，Ct>38.0 的标本需重复实验，重复结果 Ct<40.0 为阳性，否则为阴性。

【检验方法的局限性】

检测结果不能直接作为临床确诊或排除病例的依据，仅供临床医生参考使用。

【产品性能指标】

- 1. 准确性：检测试剂盒检测范围内人乳头瘤病毒全基因组不同型别国家分型参考品或经标化的企业不同型别参考品，结果均为阳性。
- 2. 特异性：检测人乳头瘤病毒全基因组国家分型参考品 5 份阴性参考品或经标化的企业阴性参考品，检测结果均为阴性；检测人乳头瘤病毒全基因组不同型别国家分型参考品或经标化的企业不同型别参考品，检测结果应为不在其检测范围内的高危型别，不得出现交叉；不在其检测范围内的低危型别，交叉反应率分别不大于 10.0%。
- 3. 重复性：检测试剂盒检测范围内 2 份人乳头瘤病毒全基因组不同型别国家分型参考品或经标化的企业重复性参考品，重复检测 10 次，结果均为相应型别阳性，且 Ct 值的变异系数(CV,%)不大于 5%。
- 4. 检测限：检测试剂盒检测范围内人乳头瘤病毒全基因组不同型别国家分型参考品标化的企业检测限参考品，结果均为阳性，检测限不高于 500copies/mL。

【注意事项】

- 1. 有关实验室管理规范请严格按照行业行政主管部门颁布的有关基因扩增检验实验室的管理规范执行。
- 2. 本试剂盒仅用于体外检测。
- 3. 实验室严格分区操作：

第一区：PCR 前准备区-准备扩增所需试剂。

第二区：样本处理区-待检测样本和对照品的处理。

第三区：检测区-PCR 扩增检测。

- 4. 各区物品均为专用，不得交换使用，避免污染，每次实验完后立即清洁工作台。
- 5. 使用不含荧光物质的一次性手套、一次性专用离心管、自卸式移液枪和带滤芯吸头。
- 6. 反应液分装时应尽量避免产生气泡，上机前注意检查各反应管是否盖紧，以免荧光物质泄露污染仪器。
- 7. 加样时应使样品完全放入反应液中，不应有样品粘附于管壁上，加样后应尽快盖紧管盖。
- 8. 扩增完毕请立即取出反应管，密闭在专用塑料袋中，放于指定地点，等待统一处理。
- 9. 实验中用过的吸头请直接打入盛有 1%的次氯酸钠的废物缸内，并与其他废弃物品一同灭菌后丢弃。
- 10. 工作台及各种实验用品应定期用 1%的次氯酸钠、75%酒精或紫外灯进行消毒。
- 11. PCR 反应混合液应避光低温保存。
- 12. 不同批号的试剂请勿混用，并请在有效期范围内使用。

【参考文献】

- 1. 《体外诊断试剂说明书编写指导原则》
- 2. 《临床实验室定量测定室内质量控制指南》
- 3. 《临床基因扩增检验实验室管理暂行办法》
- 4. Real time quantitative PCR. Genome Res. 6:986-994.
- 5. Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reaction. Bio/Technology11:1026-1030.
- 6. Williams JF. Optimization strategies for the polymerase chain reaction. Biotechniques 1989, 7:762-768.

【基本信息】

注册人/生产企业名称：艾康生物技术（杭州）有限公司
住 所：杭州市西湖区振中路 210 号
联系方式：0571-87775858
售后服务单位名称：艾康生物技术（杭州）有限公司
联系方式：400-118-2266
生产地址：杭州市西湖区振中路 210 号；杭州市临安区开源街 8 号 3 幢（仓库地址）
生产许可证编号：浙食药监械生产许 20120007 号

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】国械注准 20143402229

【说明书核准日期及修改日期】核准日期：2019.07.29

修改日期：2022.04.21