

【产品名称】

通用名称：人乳头瘤病毒（20 个型）基因分型检测试剂盒（PCR-电化学基因芯片法）

【包装规格】 24 人份/盒**【预期用途】**

本试剂盒适用于体外定性分型检测女性宫颈脱落细胞样本中人乳头瘤病毒（HPV）DNA，包括 13 种高危型别（16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68），5 种中等风险型别（26、53、66、73、82）和 2 种低风险型别（6、11）。

人乳头瘤病毒属于乳头瘤病毒科，是一种小分子的、无被膜包被的、环状双链 DNA 病毒。HPV 感染，特别是持续的高危型人乳头瘤病毒（high-risk human papillomavirus, HR-HPV）是引起宫颈癌及癌前病变的主要病因。研究发现，99%以上宫颈癌患者的宫颈脱落细胞标本中都可以检测到 HPV 的感染。

本试剂盒可用于人乳头瘤病毒亚型感染的辅助诊断。由于未完成相关临床试验，本产品不得用于宫颈癌筛查的相关用途。检测结果仅供临床参考，不能单独作为确诊或排除病例的依据。

【检验原理】

本试剂盒针对人乳头瘤病毒基因组晚期区 L1 区设计特异引物和探针（包括信号探针和捕获探针）。特异性捕获探针分别固定在特制的印刷电路板金电极表面，制备成 HPV 分型电化学传感器（芯片），用于捕获 PCR 多重扩增产物；信号探针与已捕获的 PCR 产物特异结合。由于信号探针标记有二茂铁分子，通过夹心杂交产生电流的变化，应用电化学基因芯片检测仪检测出电流值（信号值），最后进行人乳头瘤病毒基因型别判定。同时设计了内标 Globin 基因引物和探针，用于对核酸提取过程的监控，可减少假阴性结果的出现。

本试剂盒添加了相关的防污染组分（尿嘧啶 DNA 糖基化酶，即 UDG/UNG），其作用机理是选择性水解断裂含有 dU 的双链或者单链 DNA 中的尿嘧啶糖苷键，形成有缺失碱基的 DNA 链，在碱性介质以及高温下会进一步水解断裂，从而被消除。

【主要组成成分】

组分名称		规格	主要组成成分	数量
PCR 试剂/ 电化学杂交 试剂	HPV 分型 PCR 反应液 A	528 μL/管	PCR 缓冲液、引物	1
	HPV 分型 PCR 反应液 B	72 μL/管	热启动酶、三磷酸脱氧核糖核苷、尿嘧啶糖基化酶	1
	HPV 分型阳性质控品	200 μL/管	传代培养的宫颈癌 HeLa 细胞	1
	阴性质控品	200 μL/管	灭菌纯化水	1
	HPV 分型杂交液 I	1680 μL/管	信号探针	1
	杂交液 II	240 μL/管	蛋白质	1
	杂交液 III	480 μL/管	高氯酸钠	1
HPV 分型电化学传感器（芯片）		3 包铝箔袋，每包 8 个共 24 个传感器	印刷电路板、捕获探针	24

不同批号试剂盒的以上成分不可以互换使用。

建议配套使用的核酸提取试剂为本公司生产的核酸提取或纯化试剂（备案号：粤穗械备 20170583 号）；样本采集设备为潮州凯普生物化学有限公司生产的一次性使用宫颈细胞采集器（注册证编号：粤械注准 20162220713）。

质控品说明：HPV 分型阳性质控品为传代培养的宫颈癌 HeLa 细胞，使用时，应视为具有传染性物质，操作和处理均需符合相关法规要求；阴性质控品为纯化水。

【储存条件及有效期】

1. PCR 试剂/电化学杂交试剂保存于 $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ ，HPV 分型电化学传感器（芯片）保存于 $0\sim 30^{\circ}\text{C}$ ，有效期为 9 个月。
2. 试剂使用时开瓶（复融）后 8 小时内其检测性能不受影响；试剂使用前反复冻融次数最多不能超过 4 次；传感器使用时打开铝箔袋后 14 天内必须使用完。
3. 试剂盒的生产日期及有效期见产品标签。

【适用仪器】 DA9100 电化学基因芯片检测仪。**【样本要求】**

1. 适用标本类型：宫颈脱落细胞样本。
2. 标本采集：

用刷头为尼龙材质的宫颈刷深入宫颈口处旋转 2~6 周获取上皮细胞，然后取出宫颈刷置于盛有样本保存液的采样管中备检。

标本应立即用于测试， $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 保存不应超过 2 个星期， $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 保存不应超过 12 个月。
3. 运送：标本运送应采用 0°C 冰壶。

【检验方法】**1. 样本处理与 DNA 提取**

建议取 200 μL 样本进行核酸提取。建议采用本公司生产的核酸提取或纯化试剂（备案号：粤穗械备 20170583 号），该试剂可用于对宫颈脱落细胞样本中病毒 DNA 的提取，请按照试剂盒说明书进行操作。

本试剂盒中的质控品均参与提取，其中阴性质控品用于对环境进行监控；HPV 分型阳性质控品用于提取及 PCR 检测试剂的质控。

2. PCR 扩增（在定性 PCR 扩增仪上按照下列条件进行 PCR 循环程序的设置）

取适量 PCR 反应管，每管加入 HPV 分型 PCR 反应液 A 22 μL、HPV 分型 PCR 反应液 B 3 μL（也可根据 PCR 反应用量，计算各组所需总量，混匀后分装 25 μL 于单个 PCR 反应管中）；

于上述 PCR 反应管中分别加入提取好的样本 DNA 和阴性质控品、HPV 阳性质控品 DNA 各 5 μL，6,000rpm 瞬时（5 秒）离心后，将各反应管放入 PCR 仪，按下述条件上机进行扩增： 50°C 3 分钟， 95°C 预变性 15 分钟，然后按 94°C 45 秒 $\rightarrow$ 55°C 45 秒 $\rightarrow$ 72°C 45 秒扩增 50 个循环，最后 72°C 延伸 7 分钟。

3. 杂交操作**3.1 杂交前处理**

PCR 扩增结束后，依次将 70 μL HPV 分型杂交液 I，10 μL 杂交液 II，20 μL 杂交液 III 加入 PCR 产物中，充分混匀（注意尽量不要有气泡），将混匀的液体移入标有相应待检样本编号的 HPV 分型电化学传感器（芯片）的管中，压紧管盖。

3.2 DA9100 电化学基因芯片检测仪的使用

3.2.1 开机和用户登录：打开仪器背面左下的主电源开关，然后按压仪器正面键盘下方的圆形电源开关 1-2 秒开机。当登录界面出现时，在“用户名”与“密码”对话框中分别输入用户名及密码（可通过仪器键盘或屏幕键盘输入），然后点击“登录”按钮。

3.2.2 输入待测样本序列号：在触摸显示屏上点击一个传感器检测模块（比如：A1）的文本字段框，闪烁的光标会在文本字段框上显示，提示可进行输入序列号。直接用仪器键盘输入样本序列号，或者点击触摸屏上的按钮，使用屏幕键盘输入序列号。点击键盘的“Enter”键或“Tab”键可移到下个检测模块，继续输入余下检测模块对应的样本序列号。

3.2.3 将 HPV 分型电化学传感器（芯片）装载到仪器检测模块中：此时确保检测模块的塑料手柄位于最右端，并且各检测模块左边的 LED 灯显示蓝色（提示检测模块可装载 HPV 分型电化学传感器（芯片））。将 HPV 分型电化学传感器（芯片）带有 e-DNA logo 字样的面朝上并顺着检测模块开口的方向插入到最里面。将检测模块的手柄由最右端滑动至最左侧，即可将 HPV 分型电化学传感器（芯片）定位在检测模块中，LED 灯此时将显示橙色。

注：样本的序列号输入与装载 HPV 分型电化学传感器（芯片）于检测模块的时间顺序可任意选择，但一定要确保样本管的序列号与输入到仪器里的 HPV 分型电化学传感器（芯片）序列号完全对应。

3.2.4 选定仪器运行的杂交程序：在触摸显示屏上点击一个 HPV 分型电化学传感器（芯片）检测模块（比如：A1）的文本字段框，并弹出新对话框，点击对话框中的“详细”按钮，出现本仪器已有的所有杂交程序，点击“E-HPV”，点击“下一个”移到下个检测模块，继续为余下装载有芯片的检测模块选择杂交程序。选定完毕，LED 灯显示黄色。

注：如果本次检测的所有样本均需运行相同的杂交程序，点击“Apply to all”，选择对应杂交程序，则本次所有需检测模块的程序均已选定。

3.2.5 启动测试：点击“启动”按钮启动测试，检测模块上的 LED 灯开始闪烁绿灯，约 30 秒（跟环境温度有关）后，LED 灯显示稳定的绿灯，说明检测正常继续。

3.2.6 完成测试：检测模块的 LED 显示闪烁的蓝色灯时提示测试已完成，可将检测模块的手柄滑动至最右侧，之后即可将 HPV 分型电化学传感器（芯片）移走，并根据实验室有关规则进行丢弃。

3.2.7 生成和查看报告：点击“报告”主选项标签。定义搜索条件，点击“查找”按钮。在报告列表中点击要查看的样本报告。报告列表框外有箭头标签，可点击进行上下左右翻动查阅。在“报告类型”栏中选择报告类型。点击“查看”按钮，会显示所选的样本报告，报告页面可通过箭头标签上下翻动查阅。并可进行“输出”、“打印”报告文档。点击“关闭”按钮，可退出查看报告界面。

3.2.8 输出检测报告到外部的储存器：插入可用的 USB 储存器，仪器的 USB 端口默认地定位为“D:\PDFs”。点击“报告”主选项栏，定义搜索条件，然后点击“查找”按钮。选择在报告框里的所有需要输出的报告。点击“输出”按钮。在弹出界面，选择输出方式及输出位置。选择“.PDF”输出打印报告，选择“TXT”可输出信息处理系统使用的结果文件或作电子数据表查看。当弹出界面显示确认数据的成功输出时，点击“确定”按钮。

4. 质量控制

4.1 HPV 分型阳性质控品：检测结果为高信号控制点（HiS Control）和芯片低信号控制点（LoS Control）的结果显示“Pass”，HPV18 显示“Positive”，其余型别结果均显示“Target Not Detected”。

4.2 阴性质控品：检测结果为高信号控制点（HiS Control）结果显示“Fail”，芯片低信号控制点（LoS Control）的结果显示“Pass”，其它型别结果均显示“Target Not Detected”。

以上各项同时满足的条件下本次实验有效，否则全部试验应重新进行。

5. 结果分析

检测结果

型别	结果
HPV16	Positive
HPV18	Target Not Detected
HPV26	Target Not Detected
HPV31	Target Not Detected
HPV33	Target Not Detected
HPV35	Target Not Detected
HPV39	Target Not Detected
HPV45	Target Not Detected
HPV51	Target Not Detected
HPV52	Target Not Detected
HPV53	Positive
HPV56	Target Not Detected
HPV58	Target Not Detected
HPV59	Target Not Detected
HPV66	Target Not Detected
HPV68	Target Not Detected
HPV73	Target Not Detected
HPV82	Target Not Detected
HPV6	Target Not Detected
HPV11	Target Not Detected
HiS Control	Pass
LoS Control	Pass

- End of Report -

HPV16 型和 HPV53 型阳性

检测结果

型别	结果
HPV16	Target Not Detected
HPV18	Positive
HPV26	Target Not Detected
HPV31	Target Not Detected
HPV33	Target Not Detected
HPV35	Target Not Detected
HPV39	Target Not Detected
HPV45	Target Not Detected
HPV51	Target Not Detected
HPV52	Target Not Detected
HPV53	Target Not Detected
HPV56	Target Not Detected
HPV58	Target Not Detected
HPV59	Target Not Detected
HPV66	Target Not Detected
HPV68	Target Not Detected
HPV73	Target Not Detected
HPV82	Target Not Detected
HPV6	Target Not Detected
HPV11	Target Not Detected
HiS Control	Pass
LoS Control	Pass

- End of Report -

HPV 分型阳性质控品

检测结果

型别	结果
HPV16	Target Not Detected
HPV18	Target Not Detected
HPV26	Target Not Detected
HPV31	Target Not Detected
HPV33	Target Not Detected
HPV35	Target Not Detected
HPV39	Target Not Detected
HPV45	Target Not Detected
HPV51	Target Not Detected
HPV52	Positive
HPV53	Target Not Detected
HPV56	Target Not Detected
HPV58	Target Not Detected
HPV59	Target Not Detected
HPV66	Target Not Detected
HPV68	Target Not Detected
HPV73	Target Not Detected
HPV82	Target Not Detected
HPV6	Target Not Detected
HPV11	Target Not Detected
HiS Control	Pass
LoS Control	Pass

- End of Report -

HPV52 型阳性

检测结果

型别	结果
HPV16	Target Not Detected
HPV18	Target Not Detected
HPV26	Target Not Detected
HPV31	Target Not Detected
HPV33	Target Not Detected
HPV35	Target Not Detected
HPV39	Target Not Detected
HPV45	Target Not Detected
HPV51	Target Not Detected
HPV52	Target Not Detected
HPV53	Target Not Detected
HPV56	Target Not Detected
HPV58	Target Not Detected
HPV59	Target Not Detected
HPV66	Target Not Detected
HPV68	Target Not Detected
HPV73	Target Not Detected
HPV82	Target Not Detected
HPV6	Target Not Detected
HPV11	Target Not Detected
HiS Control	Fail
LoS Control	Pass

- End of Report -

阴性质控品

- 5.1 检测报告中会提供 20 个 HPV 型别结果（如上图所示），检测阳性的 HPV 型别对应的结果显示为“Positive”，检测阴性的 HPV 型别对应的结果显示为“Target Not Detected”。
- 5.2 检测报告中会显示本试剂盒可以检测的 20 种 HPV 型别及结果。检测报告可以打印，也可以直接查看电子版的信息，详细的信息可以阅读电化学基因芯片检测仪说明书。
- 5.3 检测报告中内标 Globin 基因和芯片高信号控制点的检测结果在高信号控制点（HiS Control）中显示，芯片低信号控制点的检测结果在芯片低信号控制点（LoS Control）中显示。
- 5.4 有效的结果：样本检测结果为高信号控制点（HiS Control）和芯片低信号控制点（LoS Control）的结果显示“Pass”。
- 5.5 无效的结果：样本检测结果为高信号控制点（HiS Control）或芯片低信号控制点（LoS Control）的结果显示“Fail”，该实验视为无效，建议重新测试。

6. 结果判断

- 6.1 结果判断为有效的结果情况下，检测结果显示为“Positive”表明样本有该 HPV 病毒的 DNA 存在。
- 6.2 结果判断为有效的结果情况下，检测结果显示“Target Not Detected”并不能排除样本不含有该病毒 DNA，只能说明样本含有的病毒 DNA 浓度低于本试剂盒的检测下限。

【阳性判断值】

使用本试剂盒对临床样本进行检测，当位点信号值小于 8nA 时，视该信号值为背景信号，报告单报告该位点型别为“Target Not Detected”；当位点信号值不小于 8nA 时，作为型别判定依据，报告单即正常报出该型别信息。

芯片高信号控制点（HiS Control）、芯片低信号控制点（LoS Control）和各型别位点 cutoff 值根据统计学方法计算算出，已预设电化学基因芯片检测仪自动运行的分析软件中。

【检验结果的解释】

1. 每次实验均需检测阴性质控品和 HPV 分型阳性质控品，结果满足质量控制要求时方可进行检测结果的判定；
2. 检验结果的解释：

待检物	芯片低信号控制点 (LoS Control)	芯片高信号控制点 (HiS Control)	HPV 检测型别	检验结果的解释
HPV 分型阳性质控品	Fail	Fail/Pass	Target Not Detected /Positive	结果无效
	Fail/ Pass	Fail	Target Not Detected /Positive	结果无效
	Pass	Pass	HPV18 “Positive”	HPV 分型阳性质控品有效
	Pass	Fail/Pass	Target Not Detected	可能由于操作不当、试剂性能降低或无效、仪器故障或耗材存在抑制物等，建议结合扩增情况排除原因，重新检测
阴性质控品	Fail	Fail/Pass	Target Not Detected /Positive	结果无效
	Fail/ Pass	Pass	Target Not Detected /Positive	结果无效
	Pass	Fail	Target Not Detected	阴性质控品有效
	Pass	Pass	Target Not Detected	可能存在环境污染、试剂污染、PCR 产物污染或样本间交叉污染等，建议排除污染原因后重新检测
	Pass	Fail/Pass	Positive	
样本	Fail	Fail/Pass	Target Not Detected /Positive	结果无效
	Pass	Pass	Target Not Detected	样本阴性或低于试剂盒检测下限
	Pass	Pass	Positive	样本阳性
	Pass	Fail	Positive	样本阳性，内标由于竞争原因受抑制，结果有效
	Pass	Fail	Target Not Detected	可能由于操作不当、试剂性能降低或无效、仪器故障或耗材存在抑制物等，重新检测

【检验方法的局限性】

1. 低于本试剂盒检测限浓度的样品无法分型。
2. 除上述提及的 20 种 HPV 型别外，未在本试剂盒设计范围内的 HPV 其他型别不能分型。
3. 本试剂盒只能检测待检样本中的人乳头瘤病毒 DNA，不能确定待检样本是否有人乳头瘤病毒（HPV）颗粒。
4. 样本检测结果和样本收集、处理、运送及保存质量有关，其中任何失误都将会导致假阴性结果。如果样本处理时没有控制好交叉污染，可能出现假阳性结果。
5. 本试剂盒检测结果应结合宫颈细胞学检查及其他相关医学检查结果进行综合分析，不得单独作为患者管理的依据。

【产品性能指标】

1. 本试剂盒可用于检测 DNA 样本中 20 种 HPV 型别（包括 13 种高危型别（16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68），5 种中等风险型别（26、53、66、73、82）和 2 种低风险型别（6、11）），试剂盒的检测限为 5×10^3 拷贝/mL。
2. 本试剂盒对 HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 26, 53, 66, 73, 82, 6, 11 型样本，在三个浓度水平（中阳水平、临界阳性水平和阴性水平）进行批内、批间、日内、日间、操作者间精密度分析，结果表明检测结果准确性高、批内、批间、日内、日间、操作者间重复性好，并且

各型别的检测不存在交叉反应。

3. 本试剂盒与检测范围外的 HPV 基因型，包括 40 型、42 型、43 型、44 型、54 型、61 型、67 型、69 型、70 型、71 型、72 型、81 型、83 型和 CP8304 以及可能存于人类泌尿、生殖道的微生物基因组（正常人生殖道分泌物（人基因组）、单纯疱疹病毒 II 型（HSV2）、梅毒螺旋体、解脲脲原体（UU）、人型支原体、淋病奈瑟菌（淋球菌）、白色念珠菌、阴道毛滴虫、沙眼衣原体（CT）、阴道棒状杆菌、鲍曼不动杆菌、短小棒状杆菌、耻垢分枝杆菌、脆弱类杆菌、阴沟肠杆菌、粪肠球菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、甲型链球菌、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、HIV 病毒、EB 病毒、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒 I 型）均无交叉。
4. 血红蛋白（30mg/mL）和白细胞（30mg/mL）等内源性物质以及宫颈粘液、女性外用避孕栓、洁阴洗液、咪康唑、阴道润滑液等外源性物质对检测结果无干扰。
5. 根据临床试验统计结果，与已上市的同类产品相比，本试剂盒检测 HPV 分型的阳性符合率为 98.66%，阴性符合率为 100.00%，总符合率为 98.79%，Kappa 值为 0.934（P<0.001）；与 Sanger 测序相比，本试剂盒检测 HPV 分型的阳性符合率为 99.89%，阴性符合率为 98.59%，总符合率为 99.72%，Kappa 值为 0.988（P<0.001）。

【注意事项】

1. 本品仅用于体外诊断。
2. 实验前请仔细阅读本说明书。
3. 为了避免样本中任何潜在的生物危险，检测样品应视为具有传染性物质，避免接触到皮肤和粘膜；样本的处理建议在可防止气雾外流的生物安全柜中操作，操作中使用的试管、吸头丢弃前需经灭菌处理。标本操作和处理均需符合相关法规要求：卫生部《病原微生物实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》。
4. 实验人员必须进行专业培训，PCR 实验室应与检测室分开。PCR 实验应分别在样品处理区，PCR 加样区，扩增区和检测室分别进行，各区应相对分隔。人和实验用物品应从样品处理区 → PCR 加样区 → 扩增区 → 检测室单向流动，PCR 试剂盒不可存放于检测室。
5. 为了试剂和标本准备阶段提供负压超净工作台，实验过程中请穿工作服，PCR 室和检测室工作服应分开，带一次性手套，使用自卸管移液器。
6. 对每次实验进行质量控制。
7. PCR 反应使用的 0.2mL 离心管、吸头等应高压灭菌并一次性使用。
8. 标本制备区所用过的吸头请打入盛有消毒剂的容器，并与废弃物一起灭菌后方可丢弃。
9. 实验完毕用 10%次氯酸或 70%酒精或紫外线灯处理工作台和移液器。
10. 必须保持电化学传感器（芯片）的干燥，使用完毕后须尽快将其移出电化学基因芯片检测仪的卡槽。

【参考文献】

1. Gary M. Clifford, et al. Human Papillomavirus Genotype Distribution in Low-Grade Cervical Lesions: Comparison by Geographic Region and with Cervical Cancer, Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2005;14(5) 1157-1164. May 2005.
2. P. E. GRAVITT, et al. Improved Amplification of Genital Human Papillomaviruses. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Jan. 2000, p. 357 - 361.
3. Susanne K Kjaer, et al. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. BMJ VOLUME 325 14 SEPTEMBER 2002.
4. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. N Engl J Med 2003;348:518-527.

【基本信息】

注册人/生产企业名称：广州达安基因股份有限公司
住所：广州市高新技术产业开发区香山路 19 号
联系方式：
传真：020-32068820 电话：400 000 0340 020-32290789
邮政编码：510665 网址：http://www.daangene.com
售后服务单位名称：广州达安基因股份有限公司
联系方式：
传真：020-32068820 电话：400 000 0340 020-32290789
邮政编码：510665 网址：http://www.daangene.com
生产地址：广州市高新技术产业开发区香山路 19 号；广州市高新技术产业开发区荔枝山路 6 号；广州市黄埔区香山路 17 号 B104 号房。
生产许可证编号

【医疗器械注册证/产品技术要求编号】

【说明书核准日期及修改日期】