

【产品名称】

通用名称：人乳头瘤病毒(6, 11 型)核酸检测试剂盒(PCR—荧光法)

【包装规格】20 人份/盒（单管单人份）；20 人份/盒（非单管单人份）。

【预期用途】

本品适用于体外定性检测生殖泌尿道分泌物、生殖道刮片、组织活检标本受感染细胞中人乳头瘤病毒(HPV)6, 11 型 DNA。
本品可用于人乳头瘤病毒(HPV)6, 11 型感染的辅助诊断。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。
由于未做相关验证，本产品不能用于宫颈癌筛查、不能用于 ASC-US（意义未确定的非典型鳞状上皮细胞）人群分流用途。

【检验原理】

本品选用人乳头瘤病毒(HPV)6 型（GenBank 序列号为：AF092932）基因组中编码主要外壳蛋白 L1 基因的编码区为扩增靶区域，设计特异性引物及荧光探针，扩增片段长度为 221bp，利用实时荧光定量 PCR 技术，定量检测人乳头瘤病毒(HPV)6, 11 型 DNA。

【主要组成成分】

20 人份/盒（单管单人份）

	试剂名称	规格	各组份的组成成分	数量
核酸提取试剂	DNA 提取液	500μL/管	去污剂和 Tris 盐酸缓冲液	2 管
核酸扩增试剂	HPV6, 11 PCR 反应管		HPV6, 11PCR 特异引物探针、酶系和 Tris 盐酸缓冲液	20 管
质控品	HPV6, 11 阳性定量质控品（1×10 ⁶ copies/μL）	50μL/管	HPV6, 11PCR 阳性标本处理液	1 管
	阴性质控品	200μL/管	HPV6, 11PCR 阴性标本处理液	1 管

20 人份/盒（非单管单人份）

	试剂名称	规格	各组份的组成成分	数量
核酸提取试剂	DNA 提取液	500μL/管	去污剂和 Tris 盐酸缓冲液	2 管
核酸扩增试剂	HPV 6, 11 PCR 反应液	800μL/管	引物、探针	1 管
	Taq 酶系	60μL/管	Taq 酶	1 管
质控品	HPV6, 11 阳性定量质控品（1×10 ⁶ copies/μL）	50μL/管	HPV6, 11PCR 阳性标本处理液	1 管
	阴性质控品	200μL/管	HPV6, 11PCR 阴性标本处理液	1 管

注：不同批号试剂盒的以上成分不可以互换使用。

【储存条件及有效期】保存于-20±5℃；有效期 6 个月。试剂盒生产日期和有效日期见产品标签。

【适用仪器】

- 1.单管单人份：主要包括 PE GeneAmp5700、ABI Prism 7700、DA-7600、Line Gene、iCycler。
- 2.非单管单人份：主要包括 DA-7600、ABI Prism 7500。

【样本要求】

1. 适用标本类型：生殖泌尿道分泌物棉拭子、生殖道刮片、组织活检标本。
2. 标本采集：
 - 2.1 生殖泌尿道分泌物
男性—用细小棉拭子伸入尿道约 2~4 厘米，捻动拭子采集分泌物，将棉拭子置无菌管，密闭送检(采集分泌物前 2 小时禁小便)。
女性生殖道—用无菌生理盐水棉球洗去宫颈外分泌物，再用无菌棉拭子插入宫颈内，停 5 秒钟后旋动棉拭子采集宫颈分泌物，将棉拭子置入无菌玻璃管，密闭送检。
女性尿道—用无菌生理盐水棉球洗净尿道口，再用无菌棉拭子插入尿道约 2 厘米，捻动拭子采集分泌物，将棉拭子置入无菌玻璃管，密闭送检。
 - 2.2 生殖道刮片：用生殖道刮片刮取宫颈口组织细胞置入无菌管，密闭送检。
 - 2.3 组织活检标本：取可疑组织约 50 毫克置无菌管，密闭送检。
3. 标本保存和运送：标本可立即用于测试，也可保存于-20℃待测，保存期为 6 个月。标本运送时应采用 0℃冰盒。

【检验方法】

1、DNA 提取

- 1.1 阴性质控品处理
 - a. 取 50μL 阴性质控品加入等量 DNA 提取液充分混匀，100℃保温 10 分钟，误差不超过 1 分钟。
 - b. 12,000 rpm 离心 5 分钟，备用。
- 1.2 标本处理
 - 1.2.1 生殖泌尿道分泌物棉拭子：
 - a. 向玻璃管中加入 1 ml 灭菌生理盐水，充分震荡摇匀，挤干棉拭子。
 - b. 吸取全部液体转至 1.5ml 离心管中，12,000rpm 离心 5 分钟。
 - c. 去上清，沉淀加灭菌生理盐水 1ml，充分震荡混匀，12,000rpm 离心 5 分钟。
 - d. 去上清，沉淀加入 50μL DNA 提取液充分混匀，100℃保温 10 分钟，误差不超过 1 分钟。
 - e. 12,000 rpm 离心 5 分钟，备用。
 - 1.2.2 生殖道刮片：
 - a. 向玻璃管中加入 1 ml 灭菌生理盐水，充分震荡摇匀。12,000rpm 离心 5 分钟。
 - b. 以下操作同 2.1c.d.e
 - 1.2.3 组织活检标本：
 - a. 用适量灭菌生理盐水洗净送检组织沾带的血液；
 - b. 取约 50 毫克组织，加 1ml 灭菌生理盐水用匀浆器研磨成组织匀浆，转移至 1.5ml 离心管中，12,000rpm 离心 5 分钟；
 - c. 以下操作同 2.1c.d.e。
- 1.3 HPV 6, 11 阳性定量质控品（1×10⁶copies/μL）处理
 - a. 将阳性定量质控品 6,000rpm 离心数秒，标示为 1×10⁶。
 - b. 取 5 支灭菌 0.5ml 离心管，分别加入 45μL 阴性质控品，依次标示为 1×10⁵~1×10²。
 - c. 取 1×10⁶ 阳性定量质控品 5μL 至 1×10⁵ 管，用加样器反复混匀后换吸头取 5μL 至 1×10⁴ 管，依此方法依次稀释至 1×10² 管。
 - d. 每个梯度各取 40μL，各加 40μL DNA 提取液充分混匀，100℃保温 10 分钟，误差不超过 1 分钟。
 - e. 12,000rpm 离心 5 分钟，备用。

2、PCR 扩增

PE GeneAmp 5700 操作

1. 加样
- 1.1 单管单人份：取 PCR 反应管若干，加入处理后的样品（标本或阴性或阳性定量质控品）上清液 2μL，6,000rpm 离心数秒，放入仪器样品槽。
- 1.2 非单管单人份：按比例（HPV6,11 PCR 反应液 40μL/人份+ Taq 酶 3μL/人份）取相应量的 PCR 反应液及 Taq 酶，充分混匀后按 43μL/管分装至 0.2ml 离心管中，备用。向准备好试剂的 0.2ml 离心管中，分别加入处理后的样品（标本或阴性或阳性定量质控品）上清液 2μL，8,000rpm 离心数秒，放入仪器样品槽。
2. 编辑
- 2.1 按对应顺序设置阴性质控品、阳性定量质控品以及未知标本，并在 Name 栏中设置样品名称。选中所有设置样品孔，点击工具栏中 P 键，选择 PR1 Primer1 后关闭窗口。选择工具栏中 Q 键，输入对应阳性定量质控品浓度。
- 2.2 打开 instrument 窗口设置循环条件：93℃→2 分钟预变性，93℃ 45 秒→55℃ 60 秒，10 个循环，再 93℃ 30 秒→55℃ 45 秒，30 个循环。保存文件，运行。
3. 结果分析
- 3.1 反应结束后保存检测数据文件。
- 3.2 分析条件设置：在 Analysis 菜单下调节 Baseline 的 start 值、stop 值以及 Threshold 下 manual 的 value 值，使 Std curve 窗口下的标准曲线图达到最佳，即 correlation 数值介于-0.97~-1.0。在 Analysis 菜单下选择 Analyze 自动分析结果。最后到 Tray 窗口下读取的未知样品数值（Qty）。
4. 质量控制
- 阴性质控品：全部阴性
- 阳性定量质控品：全部阳性
- 0.97≤|r|≤1（r 值等同于 correlation 数值）
- 以上要求需在同一次实验中同时满足，否则，本次实验无效，全部实验应重新进行。

【检验结果的解释】

1. PE GeneAmp 5700
- 1.1. 阴性结果判定：如果增长曲线不呈 S 型曲线或 Ct 值=30，则样品的 HPV 6,11 DNA 含量判为小于 2.5×10³copies。
- 1.2. 阳性结果判定：如果增长曲线呈 S 型曲线且 Ct 值<27，则实验结果判为阳性；样品的拷贝数计算为：
若实验结果显示，1×10²≤样品的 Qty≤×10⁶，则该样品的 HPV 6,11 DNA 含量= 25×（Qty）copies；
若实验结果显示样品的 Qty>1×10⁶，则该样品的 HPV 6,11 DNA 含量为>2.5×10⁷copies。如果需要精确定量，可将提取后的样品稀释 1000 倍再检测。
- 1.3. 实验灰度区：如果 30>Ct 值≥27，则为实验灰度区，需重复实验一次，若重复实验结果显示为增长曲线呈 S 型曲线且 Ct 值<30，则判为阳性， 该样品的 HPV 6,11 DNA 含量= 25×（Qty）copies；
否则判为样品的 HPV 6,11 DNA 含量小于 2.5×10³copies。
- 1.4 以上定量结果仅供参考，不作为定量依据。
2. ABI Prism 7700、DA-7600、Line Gene、iCycler、ABI Prism 7500
- 以上仪器 PCR 操作、循环条件、阴阳性结果判定、实验灰度区、质量控制同 PE GeneAmp 5700。
3. 对于检测结果阳性的报告，表明该样本有 HPV 6,11 型病毒的遗传物质 DNA 存在，并不显示一定存在活病毒。
4. 虽然本试剂盒的检测特异性、灵敏度均较高，但检测结果阴性并不能排除样本含有病毒，只能说明样本含有的病毒浓度低于本试剂盒的检测下限。
5. 检测系统的交叉反应性已经临床考核而确定，阳性结果仅能说明 HPV 6 型或 HPV 11 型病毒 DNA 存在，并不能证明其它 HPV 亚型的存在与否。

【检验方法的局限性】 由于样本来自组织或分泌物，不同部位的组织或分泌物含 HPV 核酸的量可能不同，因此检测结果仅反映样本中的核酸含量，且该定量结果仅供参考，不作为定量依据。

【产品性能指标】

1. 灵敏度：本试剂盒对标本的灵敏度为 2.5×10³copies。
2. 线性检测范围：本试剂盒线性检测范围 10⁶copies/μL~10²copies/μL。
3. 精密度：以阳性定量质控标准品 L3 为精密度参考品，连续 10 次重复检测，CT 值的变异系数小于 10%。
4. 尖锐湿疣的临床：主要由人乳头瘤病毒(HPV)6,11 型感染引起，尚有部分由人乳头瘤病毒(HPV)其它亚型感染引起，所以阴性结果并不能排除人乳头瘤病毒(HPV)6,11 型以外其它亚型的感染。
5. 交叉反应：试剂盒与 CT（沙眼衣原体）、NG（淋病奈瑟菌）、UU（解脲脲原体）、HPV 其它亚型临床无交叉反应。

【注意事项】

1. 实验前请仔细阅读本说明书；
2. 实验人员必须进行专业培训，实验过程严格分区进行（试剂准备区、标本制备区、扩增和产物分析区），所用消耗品应灭菌后一次性使用，PCR 操作每个阶段使用专用的仪器和设备，各区各阶段用品不能交叉使用；
3. 为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，带一次性手套，使用自卸管移液器；
4. 对每次实验进行质量控制；
5. 自备灭菌生理盐水；
6. 标本处理时“去上清”步骤，注意吸头不要碰触沉淀；
7. 试剂使用前要完全解冻，但应避免反复冻融；
8. 试剂盒 DNA 提取液内含不溶于水的物质，取样时需用加样器充分混匀后吸取。如出现因吸头嘴部太细不能吸取或取样后堵塞吸头的现象，可先用洁净无污染的剪刀将吸头嘴部剪去一截；
9. 加样时要加于反应管壁上，然后务必离心，使样品与反应液充分混匀；
10. 为保证病毒颗粒充分裂解可转至 4℃静置 6~8 小时；
11. 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；
12. 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。
13. 本试剂盒内的阳性定量质控品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；卫生部《微生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》。

【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

售后和服务单位名称：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

【医疗器械注册证书编号/产品技术要求编号

【说明书核准日期及修改日期