



【产品名称】

通用名称：人乳头瘤病毒（HPV）分型检测试剂盒（微阵列芯片法）

【包装规格】

24 人份/套、96 人份/套。

【预期用途】

本试剂盒用于对人宫颈上皮细胞中人乳头瘤病毒（Human Papillomavirus,HPV）型别进行检测，可检测的型别包括：6、11、16、18、26、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、70、73、81、82。

由于未做相关验证，本产品不能用于宫颈癌筛查相关的临床用途。

【检验原理】

本试剂盒针对常见的 HPV 病毒型，采用多重不对称 PCR 结合通用芯片（Tag array）的技术对常见的 HPV 病毒进行检测和分型。

本试剂盒以人乳头瘤病毒基因组 DNA 为模板，采用带有 Tag（标签）序列的型特异性引物，对各型人乳头瘤病毒基因组中 L1 区片段进行扩增和荧光标记，然后与能够识别编码各基因位点的相应标签序列的微阵列芯片进行杂交，最后通过人乳头瘤病毒分型检测判别系统对芯片进行扫描和数据分析就可以得到所检测的 22 个型的检测结果。

【主要组成成分】

表 1.试剂盒组成（24 人份/套，产品货号：340010-01）

组成	种类	名称	主要成分
A 部分	杂交耗材	芯片及盖片	芯片及盖片
B 部分	PCR 试剂	PCR 扩增试剂 A	扩增引物、Taq 酶、dNTP、dUTP、UNG
		PCR 扩增试剂 B	扩增引物、Taq 酶、dNTP、dUTP、UNG
	阳性对照品	阳性对照品	HPV18 型病毒克隆质粒、人基因组 DNA
	杂交试剂	杂交缓冲液	Denhardt's, SDS, SSC

表 2.试剂盒组成（96 人份/套，产品货号：340010-02）

组成	种类	名称	主要成分
A 部分	杂交耗材	芯片及盖片	芯片及盖片
B 部分	PCR 试剂	PCR 扩增试剂 A	扩增引物、Taq 酶、dNTP、dUTP、UNG
		PCR 扩增试剂 B	扩增引物、Taq 酶、dNTP、dUTP、UNG
	阳性对照品	阳性对照品	HPV18 型病毒克隆质粒、人基因组 DNA
	杂交试剂	杂交缓冲液	Denhardt's, SDS, SSC

注：不同批号试剂盒中各组分不可以互换。

主要组分-芯片介绍：

采用微量点样技术，将各位点检测探针与各种质控探针固定在经过化学修饰的基片上，检测探针各重复 3 个点，质控探针各重复 3、6 个点，形成 10 行×9 列的微阵列。每张芯片上有 4 个或 8 个同样的子阵列，每一个子阵列可以检测一份样品。子阵列中的探针排布如表 3 所示，排布说明见表 4。

表 3. 子阵列芯片探针排布（排布说明见表 4）

行 \ 列	1-3	4-6	7-9
1	QC	BC	PC
2	HPV16	HPV18	HPV26
3	HPV31	HPV33	HPV35
4	HPV39	HPV45	HPV51
5	HPV52	HPV53	HPV56
6	HPV58	HPV59	HPV66
7	HPV68	HPV73	HPV82
8	HPV6	HPV11	HPV70
9	HPV81	IC	NC
10	PC	BC	QC

表 4. 探针排布说明

探针种类	探针名称	探针含义	探针名称	探针含义
质控探针	QC	表面化学质控探针	BC	空白对照探针

	PC	杂交阳性对照探针	NC	阴性对照探针
	IC	人基因组 DNA 检测探针		
HPV 病毒型检测探针	6	HPV 6 型检测探针	52	HPV 52 型检测探针
	11	HPV 11 型检测探针	53	HPV 53 型检测探针
	16	HPV 16 型检测探针	56	HPV 56 型检测探针
	18	HPV 18 型检测探针	58	HPV 58 型检测探针
	26	HPV 26 型检测探针	59	HPV 59 型检测探针
	31	HPV 31 型检测探针	66	HPV 66 型检测探针
	33	HPV 33 型检测探针	68	HPV 68 型检测探针
	35	HPV 35 型检测探针	70	HPV 70 型检测探针
	39	HPV 39 型检测探针	73	HPV 73 型检测探针
	45	HPV 45 型检测探针	81	HPV 81 型检测探针
	51	HPV 51 型检测探针	82	HPV 82 型检测探针

【储存条件及有效期】

试剂盒 A 部分于 2~8℃ 避光保存，试剂盒 B 部分于 -20℃ 避光保存，有效期 8 个月。

拆封后的芯片室温避光保存，建议一月之内用完。

生产日期和失效日期见产品标签。

【适用仪器】

适用于本公司生产的 LuxScan10K/A、LuxScan10K/B 微阵列芯片扫描仪。

【样本要求】

1.样本

临床上常用方法采集的宫颈脱落细胞样本。

2.采集方法

按照临床样本采集标准操作流程进行，样本应避免经期采集；采集后的样本放于样本保存液中。

3.保存

采集的样本应立即送检，若不能立即检测，2~8℃ 保存不超过一周；-20℃ 保存不应超过三个月；样本应避免反复冻融。

4.运输

样本的短期运输可采用冰壶加冰或泡沫箱加冰密封进行运输。

【检验方法】

注：试剂盒从 PCR 扩增开始，样品制备过程推荐使用本公司生产的核酸提取试剂，产品货号：340011。

整个检测过程需要自备以下试剂：

● 纯化水

● 10% SDS（推荐使用本公司生产的清洗液，产品货号：441060）

● 20×SSC（推荐使用本公司生产的清洗液，产品货号：441050）

1. PCR 扩增

1.1 实验前准备

● 纯化水

● 待检样品 DNA

1.2 分装 PCR 反应体系

在 PCR 配液区内，按照被检样品数目的两倍（两套管分别用来检测 HPV 的不同型）准备 200 μL 离心管，并在管上标记样品编号，两套管须一一对应。从试剂盒中取出 PCR 扩增试剂 A 和扩增试剂 B，使其充分融化（自然解冻），涡旋混匀，瞬时离心至管底。

建议：每次 PCR 扩增时，可增加 2 个 PCR 反应体系，其中之一加入 1 μL 阳性对照品（红色盖），用于 PCR 扩增和杂交过程的质控；同时，另一管做以纯化水为模板的 BC 对照，以监控环境及操作过程中的污染情况。该操作需要增加相应离心管和 PCR 反应混合物的份数。

将扩增试剂 A 和 B 分别分装到 PCR 扩增管中，24 μL/管。

1.3 加入扩增模板



在 PCR 扩增区内向每管扩增试剂中加入 1μL 待检样品 DNA (或阳性对照品、纯化水)，作为 PCR 扩增的模板。每份 PCR 反应体系总体积为 25μL。

表 5. PCR 反应体系

反应管 A	体积 (μL)
PCR 扩增试剂 A	24
待检样品 DNA	1
共计	25

反应管 B	体积 (μL)
PCR 扩增试剂 B	24
待检样品 DNA	1
共计	25

1.4 扩增

将 PCR 管置于 PCR 扩增仪中，按表 6 中的热循环程序进行 PCR 扩增反应。

表 6. PCR 反应热循环程序

温度 (℃)	37	95	94	57	66	60	12
时间 (s)	600	600	30	30	45	600	-
循环数	1	1	40				1
备注	PCR 程序总反应时间约为 2 小时 20 分钟。						

2. 杂交

2.1 实验前准备

● 芯片洗涤液：

根据需要及实际情况，按如下比例配制洗涤液 I 和 II。

✧ 洗涤液 I：SSC 终浓度为 0.3×，SDS 终浓度为 0.1%。以配制总量 2000 ml 为例，量取 1950 ml 纯化水倒入 2500 ml 试剂瓶中，加入 30 ml 20×SSC，混匀。再加入 20 ml 10% SDS，混匀。

✧ 洗涤液 II：SSC 终浓度为 0.06×。以配制总量 2000 ml 为例，量取 1994 ml 纯化水倒入 2500 ml 试剂瓶中，加入 6 ml 20×SSC，混匀。

提示：若 10% SDS 产生白色絮状沉淀，请于 50℃ 水浴中融化混匀后配制洗涤液。

PCR 扩增反应结束前，将杂交仪仪器预热至 50℃。

2.2 芯片的准备

在杂交盒的沟槽中加入 300 μl 纯化水（见图 1），将芯片正面向上放入盒中，盖片四个凸台向下盖在芯片上（见图 2），注意盖片的放置方向，其末端应与芯片末端的标签对齐。

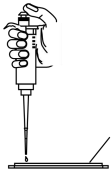


图 1

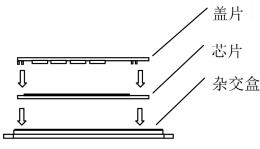


图 2

重要提示：

- 操作应在较干净的环境中进行，以避免灰尘落在芯片或盖片上，干扰结果判读。
- 不要用任何记号笔在芯片上做标记，否则可能造成芯片背景变脏，影响结果判读。

2.3 杂交反应混合物的配制

根据样品数目准备 200 μl 离心管并编号。从试剂盒中取出杂交缓冲液（白色盖），50℃ 加热使其完全融化。充分混匀后，在微量离心机中瞬时离心，按每份 10 μl 分装。

PCR 扩增结束后，将同一样品的两管不同扩增体系管（A、B）扩增后的 PCR 产物各取 2.5 μl 加入到对应样品编号的 10 μl 杂交缓冲液管中（见表 7），充分混匀并瞬时离心。

表 7. 杂交反应混合物

杂交反应混合物组分	体积 (μl)
杂交缓冲液	10
PCR 产物 A	2.5
PCR 产物 B	2.5
共计	15

2.4 加样并开始杂交反应

用移液器将杂交反应混合物经盖片上的加样孔垂直加入到芯片上，14μl/阵列（见图 3）。迅速盖上杂交盒上盖，并密封（见图 4）。每个微阵列限加一份样品，记录芯片编号、微阵列位置及对应的样品编号。将密封好的杂交盒立即水平放入预热到 50℃ 的杂交仪器中。待杂交盒全部放入后计时 60 分钟。

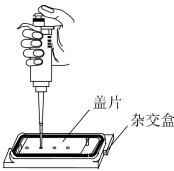


图 3

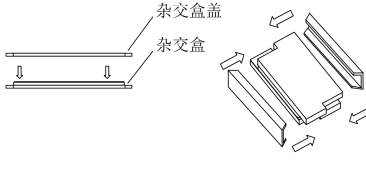


图 4

重要提示：

- 加样过程中应避免加入气泡。
- 从加样开始至干燥芯片（步骤 2.5）之前的任何一个环节中，均应避免芯片阵列上的液体长时间直接暴露在空气中，以防干燥造成芯片背景变脏，干扰结果的判读。

2.5 芯片洗涤液的准备

根据芯片数量，准备适量芯片洗涤液 I 和 II，体积以洗涤时能够完全浸没芯片为准。将洗涤液 I 和洗涤液 II 放入恒温水浴摇床中，80 rpm 匀速振摇，平衡至 42℃（如果使用空气浴摇床，需事先将洗涤液预热平衡至 42℃）。

2.6 芯片的洗涤与干燥

杂交反应结束后，将杂交盒水平取出拆开，将芯片取出，立即放在盛有平衡至 42℃ 洗涤液 I 的容器中（如有玻片架，可将玻片架置于盛有洗涤液的容器中，然后将芯片竖直插在玻片架上；如没有玻片架，可将芯片正面向上平放在容器底部），于预热至 42℃ 的摇床上 80 rpm 洗涤 2 min。

提示：注意不要使芯片相互碰撞、摩擦。

迅速将芯片从洗涤液 I 中取出放入另一杯预热好的洗涤液 II 中，42℃ 摇床 80 rpm 洗涤 2 min。将芯片放入微阵列芯片离心管，再放入离心机中 1000 rpm 离心 2min，甩干后扫描。

3. 芯片扫描

使用 LuxScan10K/B 微阵列芯片扫描仪和相应的 HPV 分型检测系统进行信号读取及判断。具体操作见扫描仪及软件用户手册。

4. 结果判读

检测结果由“HPV 分型检测系统”进行自动判读。

【阳性判断值】

本试剂盒中各 HPV 型的 cut off 值主要采用 ROC 法计算得到。当各型探针的检测信号值大于或等于该探针的 cut off 值时，判断该探针为阳性，待检样品中含有该 HPV 型；当探针的检测信号值小于该探针的 cut off 值时，判断该探针为阴性，待检样品中不含有该 HPV 型。试剂盒中各型 cut off 值已经整合到 HPV 分型检测系统判别软件中，由软件自动对样品检测结果进行判别。

【检验结果的解释】

● 本试剂盒中对照品检测结果：HPV18 型，如图 5 所示。

● 空白对照 BC 检测结果：应只有 QC 和 PC 出现阳性信号，软件提示无检测样品，如图 6 所示。

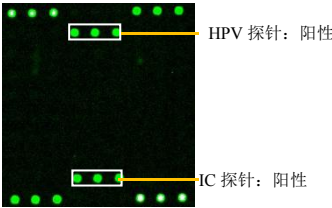


图 5 阳性对照品：HPV18 型

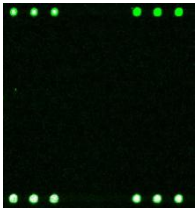


图 6 空白对照：阴性

● 样品检测结果：试剂盒针对所涉及的 22 个型的 HPV 病毒进行检测，样品中感染的病毒型根据软件判读结果得出。

每份样品的检测结果可能有以下三种情况出现：

（1）IC 检测结果阳性，病毒检测探针阳性，表明该份样品中感染 HPV 病毒，软件提示样品感染了 HPV 病毒及感染的病毒型，如图 7 所示；

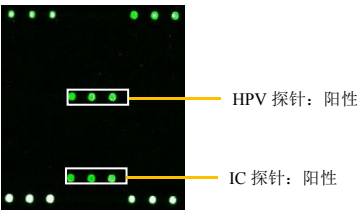


图 7 HPV53 型病毒感染

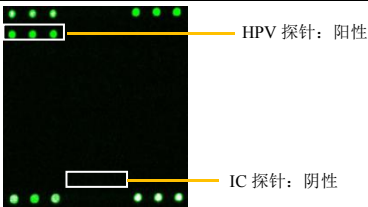


图8 HPV16 型病毒感染

(2) IC 检测结果阴性，病毒检测探针阳性，表明该份样品中感染 HPV 病毒，软件提示样品感染了 HPV 病毒及感染的病毒型，如图 8；

(3) IC 检测结果阳性，病毒检测探针阴性，表明该份样品中未感染试剂盒所涉及的 HPV 病毒型，软件提示样品未感染 HPV 病毒，如图 9；

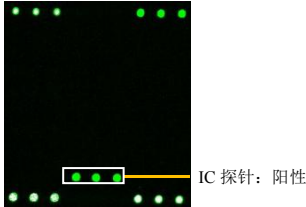


图9 HPV 病毒检测阴性

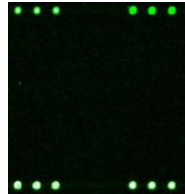


图10 阴性检测结果

(4) IC 检测结果阴性，病毒检测探针阴性，表明该份取样样品中细胞量少，需要重新取样后检测，如图 10。

当检验结果异常时，参见下表。

异常情况	可能原因	解决方案
◆ 没有检测到任何点的信号，包括 QC 探针	◆ 不正确插入芯片 ◆ 芯片受到物理损伤 ◆ 扫描仪或软件故障	◆ 检查芯片及其插入方向 ◆ 扫描一张未使用过的芯片，检查扫描仪及软件是否出现故障
◆ 只检测到 QC 探针的信号，没有检测到 PC 探针的信号	◆ 杂交操作失误 ◆ 芯片洗涤液配制不正确	◆ 核对芯片编号及实验记录 ◆ 核对杂交温度 ◆ 核对芯片洗涤液配制记录
◆ PCR 的 BC 对照出现检测探针阳性信号	◆ PCR 产物交叉污染	◆ PCR 实验实行严格分区 ◆ 重新检测

【检验方法的局限性】

本试剂盒检测对象为试剂盒所涉及的 22 个 HPV 型，试剂盒具有一定的检测限，当试剂盒检测结果阴性时并不代表样品未感染 HPV 病毒。

【产品性能指标】

- 灵敏度：试剂盒的最低检测限为 10^4 copies 病毒/ μ L；
- 特异性：试剂盒对不覆盖的 HPV 型（40、42、43、44、54、55、61、72、83）无交叉反应，试剂盒对覆盖的 22 个型病毒之间无交叉反应。试剂盒对常见阴道微生物及常见微生物，如：淋球菌、大肠埃希氏菌、屎肠球菌、嗜血杆菌、肺炎军团菌、肺炎链球菌、肺炎衣原体、白色念珠菌、阴沟肠杆菌、脆弱拟杆菌、表皮葡萄球菌、阴道加德纳菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌、流感嗜血杆菌、结核分枝杆菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、EB 病毒、腺病毒、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒、乙型肝炎病毒无交叉反应。
- 临床研究结果：通过四家临床医院对临床 2441 份样品检测结果表明，本试剂盒与测序方法的一致率为 94.8%。

【注意事项】

- 本试剂一次性使用，用于临床诊断，请勿使用过期试剂。
- 操作人员必须经过培训，合格后方可上岗。
- 操作注意安全防护。操作血液应在规定的实验场所进行，穿戴防护衣物、一次性手套、口罩；所有直接接触过待检样品的物品应进行消毒后丢弃或再次使用。

- 使用前，液体试剂应混合均匀，尽量避免反复冻融。
- 所使用的接触试剂的材料均要求干燥、洁净，以防止污染。
- PCR 操作应严格按照国家有关规定进行分区，以防止交叉污染。分装 PCR 反应液应在干净环境下的试剂储存和准备区内进行；模板加样应在标本制备区内进行，PCR 检测应在扩增区进行。不同工作区域内的设备、物品不得混用。
- 操作过程中，尽量减少试剂的曝光时间。如使用前发现铝箔袋包装破损，请勿使用。开封后的芯片须避光保存。

【标识的解释】

标签上“**IVD**”标识代表“体外诊断医疗器械”。

【参考文献】

- 王红旗，郭远瑜，汪敏，等，6868 例妇科门诊病人 HPV 感染状况及基因型分析。中国卫生检验杂志，2010，20（5）：1204-1206
- 赵健，廖秦平，人乳头瘤病毒核酸检测技术问题探讨。中国实用妇科与产科杂志，2010，26（5）：344-346
- Mayrand MH, Duarte-Franco E, Rodrigues I, et al. Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. N Engl J Med, 2007, 357（16）：1579-1588
- Castellsague X, De Sanjose S, Aguado T, et al. HPV and Cervical Cancer in the World. 2007 Report. WHO / ICO information centre on HPV and cervical cancer (HPV Information Centre). Vaccine, 2007, 25
- Clifford GM, Gallu s S, H errero R, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the international agency for research on cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. Lancet, 2005, 366: 991- 998
- Qiao YL, Franceschi S, Belinson JL, et al. HPV prevalence in Chinese women: a population based multiple center survey in main land China. Oral presentation 1B-01, 24 th International Papillomavirus Conference and Clinical Work shop, November 39, 2007, Beijing International Convention Center. China
- Zhao FH, Forman MR, Belinson J, et al. Risk factors for HPV infection and cervical cancer among unscreened women in a high-risk rural area of China. Int J Cancer, 2006, 118(2): 442-448

【基本信息】

注册人/生产企业名称：成都博奥晶芯生物科技有限公司
住所：成都市温江区永宁镇八一路北段 88 号
联系方式：028-67278289
传真：028-67278189
邮编：611135
网址：<http://www.capitalbiotech.com>

售后服务单位名称：北京博奥晶典生物技术有限公司
联系方式：400-9968-999
邮箱：service@capitalbiotech.com
网址：<http://www.capitalbiotech.com>

生产地址：成都市温江区永宁镇八一路北段 88 号 3 栋-2 三楼、3 栋-3、3 栋-4（一楼 E-109、二楼、顶楼 3-3 至 3-5）、4 栋（101、103）、5 栋
生产许可证编号：川食药监械生产许 20150041 号

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

国械注准 20173401336

【说明书核准及修改日期】

核准日期：2017 年 7 月 28 日
修改日期：2021 年 1 月 18 日
说明书编号：UML—033
版次：1.2