



中华人民共和国医药行业标准

YY/T 1226—2022
代替 YY/T 1226—2014

人乳头瘤病毒核酸(分型)检测试剂盒

Detection and genotyping kits for human papillomavirus nucleic acid

2022-05-18 发布

2023-06-01 实施

国家药品监督管理局 发布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件代替 YY/T 1226—2014《人乳头瘤病毒核酸(分型)检测试剂(盒)》，是评价人乳头瘤病毒核酸(分型)检测试剂盒质量的依据。

本文件与 YY/T 1226—2014 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 范围：增加了预期用途为 HPV 感染的辅助诊断和(或)宫颈癌筛查用的人乳头瘤病毒核酸(分型)检测试剂盒，并补充了适用方法。
- b) 术语：更改了“基因型”的定义，并在注中更新了 HPV 型别。
- c) 要求：
 - 1) 增加了“内标和(或)对照”“核酸提取功能”和“稳定性”的要求(见 4.1.2、4.1.3、4.1.8、4.2.2、4.2.3、4.2.8、4.3.2、4.3.3、4.3.8)；
 - 2) “4.1.2 准确性(阳性符合率)”修改为“4.1.4 阳性参考品符合率”；“4.1.3 特异性(阴性符合率)”修改为“4.1.5 阴性参考品符合率”；“4.1.4 重复性(精密度)”修改为“4.1.6 重复性”；“4.1.5 检测限”修改为“4.1.7 检出限”；
 - 3) “4.2.2 准确性(阳性符合率)”修改为“4.2.4 阳性参考品符合率”；“4.2.3 特异性(阴性符合率)”修改为“4.2.5 阴性参考品符合率”；“4.2.4 重复性(精密度)”修改为“4.2.6 重复性”；“4.2.5 检测限”修改为“4.2.7 检出限”；
 - 4) “4.3.2 准确性(阳性符合率)”修改为“4.3.4 阳性参考品符合率”；“4.3.3 特异性(阴性符合率)”修改为“4.3.5 阴性参考品符合率”；“4.3.4 重复性(精密度)”修改为“4.3.6 重复性”；“4.3.5 检测限”修改为“4.3.7 检出限”；
 - 5) 更改了“4.1.5 阴性参考品符合率”和“4.2.5 阴性参考品符合率”的内容：由“交叉反应率不高于 20%”修改为“高危型别应不存在交叉反应，低危型别的交叉反应率应不大于 10.0%”，并对参考品作了相应的要求；
 - 6) 更改了“4.3.5 阴性参考品符合率”：由“检测结果应符合制造商的要求”修改为“交叉反应率不大于 20%”，并对参考品作了相应的要求；
 - 7) 更改了“重复性”的内容，对参考品的型别选择和浓度作了相应要求；
 - 8) 更改了“4.1.7 检出限”和“4.2.7 检出限”的内容：对于两种常见高危型 HPV16 和 HPV18，要求其检出限不高于 10^3 copies/反应；
 - 9) 第 5 章试验方法依据第 4 章中要求的条款作相应的调整。
- d) 标识、标签和使用说明书：应符合 GB/T 29791.2 的相应规定。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件由全国医用临床检验实验室和体外诊断系统标准化技术委员会(SAC/TC 136)归口。

本文件起草单位：中国食品药品检定研究院、亚能生物技术(深圳)有限公司、湖南圣湘生物科技有限公司、江苏硕世生物科技股份有限公司、碧迪医疗器械(上海)有限公司、罗氏诊断产品(上海)有限公司。

本文件主要起草人：田亚宾、许四宏、田洁、邓中平、张蓉、田静、蔡晓蓉。

YY/T 1226—2022

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——2014 年首次发布为 YY/T 1226—2014；

——本次为第一次修订。

人乳头瘤病毒核酸(分型)检测试剂盒

1 范围

本文件规定了人乳头瘤病毒核酸(分型)检测试剂盒(以下简称“试剂盒”)的术语和定义、技术要求、试验方法、标识、标签和使用说明书、包装、运输、贮存等。

本文件适用于预期用途为人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染的辅助诊断和(或)宫颈癌筛查用的人乳头瘤病毒核酸(分型)检测试剂盒,适用的检测方法包括 PCR 荧光法、PCR-反向杂交法、杂交捕获-化学发光法、酶切信号放大法、基因芯片法、高通量测序等。

注:本文件主要针对检测 HPV DNA 的检测试剂盒。其中宫颈癌筛查用途包括在临床上可用于无明确意义的非典型鳞状细胞分流(atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US)、与细胞学联合筛查、宫颈癌初筛。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 191—2008 包装储运图示标志

GB/T 29791.2 体外诊断医疗器械 制造商提供的信息(标示) 第2部分:专业用体外诊断试剂

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

基因型 genotype

基因型又称遗传型,是某一生物个体全部基因组合的总称,往往特指某一性状的基因型,如具体等位基因位点的基因组。

注1:人乳头瘤病毒 L1 基因或全基因组序列的差异在 10% 以上鉴定为一种新的型别(type);若差异在 2% 以下称为变异体(variant);在型与变异体之间,即序列差异在 2%~10% 之间称为亚型(subtype)。

注2:现已鉴定的 HPV 型别约 200 多种。

注3:依据不同 HPV 型别的致癌潜力,将 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68 列为高危型别,HPV26、53、66、73、82 列为潜在高危型;HPV6、11、40、42、43、44、54、61 等为低危型别。

4 要求

4.1 人乳头瘤病毒核酸(分型)检测试剂盒(PCR 荧光法)要求

4.1.1 外观

外观应满足以下条件:

a) 试剂盒应符合制造商规定的外观要求;

- b) 试剂盒应组分齐全,包装外观清洁、无泄漏、无破损;标志、标签字迹清楚。

4.1.2 内标和(或)对照

制造商应对检测过程建立适宜的质量控制程序。在反应体系中,应设置关于人基因组的内标检测和监测检测过程的对照。

4.1.3 核酸提取功能

应符合以下要求:

- a) 若需要核酸提取,且试剂盒中包含核酸提取组分:制造商应对核酸提取做适当要求,并对核酸提取功能进行验证;
- b) 若需要核酸提取,但试剂盒中不包含核酸提取组分:制造商应说明或指定配套的提取试剂盒,并提供相应的验证资料;
- c) 若不需要核酸提取,试剂盒可直接对样本进行检测:制造商应能提供充分证据,以证明其抗干扰性。

4.1.4 阳性参考品符合率

检测试剂盒检测范围内人乳头瘤病毒不同型别国家分型参考品或经标化的企业参考品,结果应均为阳性或相应型别阳性。参考品应覆盖检测范围内涉及的所有 HPV 基因型别。

4.1.5 阴性参考品符合率

应符合以下要求:

- a) 检测人乳头瘤病毒阴性国家参考品或经标化的企业参考品,检测结果应均为阴性;
- b) 检测人乳头瘤病毒不同型别国家分型参考品或经标化的企业参考品,高危型别应不存在交叉反应,低危型别的交叉反应率应不大于 10.0%。对于可能产生交叉反应的型别应在产品说明书等技术文件中予以注明。

参考品应符合以下要求:

- a) 浓度上应设置在病毒和细菌感染的医学相关水平;
- b) 交叉反应的评价应包含一定数量的不在检测范围内的基因型别。

4.1.6 重复性

检测试剂盒检测范围内人乳头瘤病毒不同型别国家分型参考品或经标化的企业重复性参考品,要求相应检测通道 Ct 值的变异系数(CV,%)应不大于 5.0%。参考品可不包含所有涉及的 HPV 基因型别,但应遵照以下要求选择:

- a) 临床较常见的或风险程度较高的基因型(至少应包含 HPV16 和 HPV18);
- b) 每个检测通道或每个反应至少选择一个型别进行评价;
- c) 浓度上至少设置一个弱阳性水平,建议为 $(3\sim 5)\times \text{LoD}$ 。

4.1.7 检出限

两种常见高危型 HPV16、HPV18 应不高于 10^3 copies/反应;其他型别应不高于 10^4 copies/反应。

注 1: copies/反应表示单个反应中加入的模板样品量。

注 2: 上述为试剂盒检出限的最低标准,各试剂盒可注明检测范围内每个型别的最低检出限。

注 3: 用于宫颈癌筛查的试剂需结合临床验证,确定其阳性判断值并验证其检出限。

4.1.8 稳定性

可选用以下方法之一进行验证：

- a) 效期稳定性：制造商应规定产品的有效期。取到效期后一定时间内的样品，检测阳性参考品符合率、阴性参考品符合率、重复性、检出限，结果应符合 4.1.4~4.1.7 的要求。
- b) 热稳定性：试剂盒在制造商规定的热稳定性条件下放置一定时间，检测阳性参考品符合率、阴性参考品符合率、重复性、检出限，结果应符合 4.1.4~4.1.7 的要求。

注 1：一般情况下，效期为 1 年时选择不超过 1 个月的产品，效期为半年时选择不超过半个月的产品，以此类推，进行效期稳定性检测。但如超过规定效期，产品符合要求时也可采纳。

注 2：热稳定性不能用于推导产品有效期，除非是采用基于大量的稳定性研究数据建立的推导公式。

注 3：根据产品特性可选择 a)、b) 方法的任意组合，但所选用方法宜能验证产品的稳定性，以保证在效期内产品性能符合标准要求。

4.2 人乳头瘤病毒核酸(分型)检测试剂盒(PCR-反向杂交法、基因芯片法、高通量测序等原理的方法)要求

4.2.1 外观

外观应满足以下条件：

- a) 试剂盒应符合制造商规定的外观要求；
- b) 试剂盒应组分齐全，包装外观清洁、无泄漏、无破损；标志、标签字迹清楚。

4.2.2 内标和(或)对照

制造商应对检测过程建立适宜的质量控制程序。在反应体系中，应设置关于人基因组的内标检测和监测检测过程的对照。

4.2.3 核酸提取功能

应符合以下要求：

- a) 若需要核酸提取，且试剂盒中包含核酸提取组分：制造商应对核酸提取做适当要求，并对核酸提取功能进行验证；
- b) 若需要核酸提取，但试剂盒中不包含核酸提取组分：制造商应说明或指定配套的提取试剂盒，并提供相应的验证资料；
- c) 若不需要核酸提取，试剂盒可直接对样本进行检测：制造商应能提供充分证据，以证明其抗干扰性。

4.2.4 阳性参考品符合率

检测试剂盒检测范围内人乳头瘤病毒不同型别国家分型参考品或经标化的企业参考品，结果应均为阳性或相应型别阳性。参考品应覆盖检测范围内涉及的所有 HPV 基因型别。

4.2.5 阴性参考品符合率

应符合以下要求：

- a) 检测人乳头瘤病毒阴性的国家参考品或经标化的企业参考品，检测结果应均为阴性；
- b) 检测人乳头瘤病毒不同型别国家分型参考品或经标化的企业参考品，高危型别应不存在交叉反应，低危型别的交叉反应率应不大于 10.0%。对于可能产生交叉反应的型别应在产品说明书等技术文件中予以注明。

参考品应符合以下要求：

- a) 浓度上应设置在病毒和细菌感染的医学相关水平；
- b) 交叉反应的评价应包含一定数量的不在检测范围内的基因型别。

4.2.6 重复性

检测试剂盒检测范围内人乳头瘤病毒不同型别国家分型参考品或经标化的企业重复性参考品，要求结果均一致。参考品可不包含所有涉及的 HPV 基因型别，但应遵照以下要求选择：

- a) 临床较常见的或风险程度较高的基因型(至少应包含 HPV16 和 HPV18)；
- b) 浓度上至少设置一个弱阳性水平，建议为 $(3\sim5)\times\text{LoD}$ 。

4.2.7 检出限

两种常见高危型 HPV16、HPV18 应不高于 10^3 copies/反应；其他型别应不高于 10^4 copies/反应。

注 1：copies/反应表示单个反应中加入的模板样品量。

注 2：上述为试剂盒检出限的最低标准，各试剂盒可注明检测范围内每个型别的最低检出限。

注 3：用于宫颈癌筛查的试剂需结合临床验证，确定其阳性判断值并验证其检出限。

4.2.8 稳定性

可选用以下方法之一进行验证：

- a) 效期稳定性：制造商应规定产品的有效期。取到效期后一定时间内的样品，检测阳性参考品符合率、阴性参考品符合率、重复性、检出限，结果应符合 4.2.4~4.2.7 的要求。
- b) 热稳定性：试剂盒在制造商规定的热稳定性条件下放置一定时间，检测阳性参考品符合率、阴性参考品符合率、重复性、检出限，结果应符合 4.2.4~4.2.7 的要求。

注 1：一般情况下，效期为 1 年时选择不超过 1 个月的产品，效期为半年时选择不超过半个月的产品，以此类推，进行效期稳定性检测。但如超过规定效期，产品符合要求时也可采纳。

注 2：热稳定性不能用于推导产品有效期，除非是采用基于大量的稳定性研究数据建立的推导公式。

注 3：根据产品特性可选择 a)、b) 方法的任意组合，但所选用方法宜能验证产品的稳定性，以保证在效期内产品性能符合标准要求。

4.3 人乳头瘤病毒核酸(分型)检测试剂盒(杂交捕获-化学发光法、酶切信号放大法等基于信号放大法原理的方法)要求

4.3.1 外观

外观应满足以下条件：

- a) 试剂盒应符合制造商规定的外观要求；
- b) 试剂盒应组分齐全，包装外观清洁、无泄漏、无破损；标志、标签字迹清楚。

4.3.2 内标和(或)对照

制造商应对检测过程建立适宜的质量控制程序。

4.3.3 核酸提取功能

应符合如下要求：

- a) 若需要核酸提取，且试剂盒中包含核酸提取组分：制造商应对核酸提取做适当要求，并对核酸提取功能进行验证；

- b) 若需要核酸提取,但试剂盒中不包含核酸提取组分:制造商应说明或指定配套的提取试剂盒,并提供相应的验证资料;
- c) 若不需要核酸提取,试剂盒可直接对样本进行检测:制造商应能提供充分证据,以证明其抗干扰性。

4.3.4 阳性参考品符合率

检测试剂盒检测范围内人乳头瘤病毒不同型别国家分型参考品或经标化的企业参考品,结果应均为阳性或相应型别阳性。参考品应覆盖检测范围内涉及的所有 HPV 型别。

4.3.5 阴性参考品符合率

应符合以下要求:

- a) 检测人乳头瘤病毒阴性的国家参考品或经标化的企业参考品,检测结果应均为阴性;
- b) 检测人乳头瘤病毒不同型别国家分型参考品或经标化的企业参考品,交叉反应率应不大于 20%;对于可能产生交叉反应的型别应在产品说明书等技术文件中予以注明。

参考品应符合以下要求:

- a) 浓度上应设置在病毒和细菌感染的医学相关水平;
- b) 交叉反应的评价应包含一定数量的不在检测范围内的基因型别。

4.3.6 重复性

检测试剂盒检测范围内人乳头瘤病毒不同型别国家分型参考品或经标化的企业重复性参考品,要求结果均一致。参考品可不包含所有涉及的 HPV 基因型别,但应遵照以下要求选择:

- a) 临床较常见的或风险程度较高的基因型(至少应包含 HPV16 和 HPV18);
- b) 浓度上至少设置一个弱阳性水平,建议为 $(3\sim5)\times\text{LoD}$ 。

4.3.7 检出限

检出限应不高于 10^4 copies/反应。

注 1: copies/反应表示单个反应中加入的模板样品量。

注 2: 上述为试剂盒检出限的最低标准,各试剂盒可注明检测范围内每个型别的最低检出限。

注 3: 用于宫颈癌筛查的试剂需结合临床验证,确定其阳性判断值并验证其检出限。

4.3.8 稳定性

可选用以下方法之一进行验证:

- a) 效期稳定性:制造商应规定产品的有效期。取到效期后一定时间内的样品,检测阳性参考品符合率、阴性参考品符合率、重复性、检出限,结果应符合 4.3.4~4.3.7 的要求;
- b) 热稳定性:试剂盒在制造商规定的热稳定性条件下放置一定时间,检测阳性参考品符合率、阴性参考品符合率、重复性、检出限,结果应符合 4.3.4~4.3.7 的要求。

注 1: 一般情况下,效期为 1 年时选择不超过 1 个月的产品,效期为半年时选择不超过半个月的产品,以此类推,进行效期稳定性检测。但如超过规定效期,产品符合要求时也可采纳。

注 2: 热稳定性不能用于推导产品有效期,除非是采用基于大量的稳定性研究数据建立的推导公式。

注 3: 根据产品特性可选择 a)、b) 方法的任意组合,但所选用方法宜能验证产品的稳定性,以保证在效期内产品性能符合标准要求。

5 试验方法

5.1 人乳头瘤病毒核酸(分型)检测试剂盒(PCR 荧光法)试验方法

5.1.1 外观

在自然光下目视检查外观。

5.1.2 内标和(或)对照

适用时,按照制造商提供的方法进行试验。

5.1.3 核酸提取功能

适用时,按照制造商提供的方法进行试验。

5.1.4 阳性参考品符合率

按照试剂盒的说明书操作,检测试剂盒检测范围内人乳头瘤病毒不同型别国家分型参考品或经标化的企业参考品。

5.1.5 阴性参考品符合率

应符合以下要求:

- a) 按照试剂盒的说明书操作,检测不少于 5 份人乳头瘤病毒阴性参考品;
- b) 按照试剂盒的说明书操作,检测人乳头瘤病毒不同型别国家分型参考品或经标化的企业参考品。

注:其中交叉反应率为出现交叉反应的型别数与检测的总型别数的比值。

5.1.6 重复性

按照试剂盒的说明书操作,检测人乳头瘤病毒不同型别国家分型参考品或经标化的企业参考品,重复检测 10 次,计算 Ct 值的变异系数(CV,%)。

5.1.7 检出限

按照试剂盒的说明书操作,检测试剂盒检测范围内人乳头瘤病毒各个型别国家分型参考品或经标化的企业参考品。

5.1.8 稳定性

可选用以下方法进行验证:

- a) 效期稳定性:取近效期的样品进行检测;
- b) 热稳定性:取有效期内样品,按制造商规定的方法进行检测。

5.2 人乳头瘤病毒核酸(分型)检测试剂盒(PCR-杂交法、基因芯片法、高通量测序等原理的方法)试验方法

5.2.1 外观

在自然光下目视检查外观。

5.2.2 内标和(或)对照

适用时,按照制造商提供的方法进行试验。

5.2.3 核酸提取功能

适用时,按照制造商提供的方法进行试验。

5.2.4 阳性参考品符合率

按照试剂盒的说明书操作,检测试剂盒检测范围内人乳头瘤病毒不同型别国家分型参考品或经标化的企业参考品。

5.2.5 阴性参考品符合率

应符合以下要求:

- a) 按照试剂盒的说明书操作,检测不少于5份人乳头瘤病毒阴性参考品;
- b) 按照试剂盒的说明书操作,检测人乳头瘤病毒不同型别国家分型参考品或经标化的企业参考品。

5.2.6 重复性

按照试剂盒的说明书操作,检测人乳头瘤病毒不同型别国家分型参考品或经标化的企业参考品。

5.2.7 检出限

按照试剂盒的说明书操作,检测试剂盒检测范围内人乳头瘤病毒各个型别国家分型参考品或经标化的企业参考品。

5.2.8 稳定性

可选用以下方法进行验证:

- a) 效期稳定性:取近效期的样品进行检测;
- b) 热稳定性:取有效期内样品,按制造商规定的方法进行检测。

5.3 人乳头瘤病毒核酸(分型)检测试剂盒(杂交捕获-化学发光法、酶切信号放大法等基于信号放大法原理的方法)试验方法

5.3.1 外观

在自然光下目视检查外观。

5.3.2 内标和(或)对照

适用时,按照制造商提供的方法进行试验。

5.3.3 核酸提取功能

适用时,按照制造商提供的方法进行试验。

5.3.4 阳性参考品符合率

按照试剂盒的说明书操作,检测试剂盒检测范围内人乳头瘤病毒不同型别国家分型参考品或经标

化的企业参考品。

5.3.5 阴性参考品符合率

应符合以下要求：

- a) 按照试剂盒的说明书操作,检测不少于 5 份人乳头瘤病毒阴性参考品；
- b) 按照试剂盒的说明书操作,检测人乳头瘤病毒不同型别国家分型参考品或经标化的企业参考品。

注：其中交叉反应率为出现交叉反应的型别数与检测的总型别数的比值。

5.3.6 重复性

按照试剂盒的说明书操作,检测人乳头瘤病毒不同型别国家分型参考品或经标化的企业参考品。

5.3.7 检出限

按照试剂盒的说明书操作,检测试剂盒检测范围内人乳头瘤病毒各个型别国家分型参考品或经标化的企业参考品。

5.3.8 稳定性

可选用以下方法进行验证：

- a) 效期稳定性：取近效期的样品进行检测；
- b) 热稳定性：取有效期内样品,按制造商规定的方法进行检测。

6 标识、标签和使用说明书

标识、标签和使用说明书应符合 GB/T 29791.2 的相应规定。

7 包装、运输、贮存

7.1 包装

包装储运图示标志应符合 GB/T 191—2008 的规定,试剂盒应采用适宜的包装容器。

7.2 运输和贮存

试剂(盒)的包装应在制造商规定的条件下运输和保存,保证产品包装在长途运输中不受损坏,不泄露。

参 考 文 献

- [1] GB/T 21415—2008 体外诊断医疗器械 生物样品中量的测量 校准品和控制物质赋值的计量学溯源性
- [2] YY/T 0316 医疗器械 风险管理对医疗器械的应用
- [3] YY/T 0466.1—2016 医疗器械 用于医疗器械标签、标记和提供信息的符号 第1部分：通用要求
- [4] YY/T 1182—2020 核酸扩增检测用试剂(盒)
- [5] EP12-User protocol for Evaluation of qualitative Test Performance; Approved Guideline-Second Edition, CLSI, 2010
- [6] EP17-Evaluation of Detection Capability for clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline-Second Edition, CLSI, 2012
-

中华人民共和国医药
行 业 标 准
人乳头瘤病毒核酸(分型)检测试剂盒
YY/T 1226—2022

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238

读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

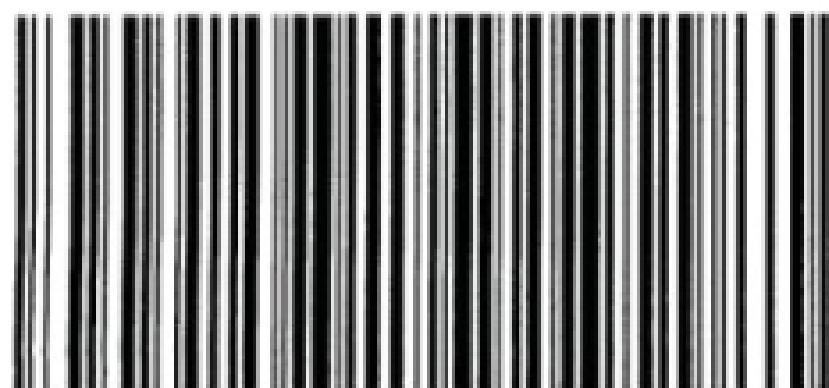
*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 25 千字
2022年5月第一版 2022年5月第一次印刷

*

书号: 155066·2-36385 定价 24.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



YY/T 1226-2022



码上扫一扫 正版服务到

