

## 《人乳头瘤病毒核酸（分型）检测试剂盒》标准编制说明

### 一、工作简况

1、任务来源：按照国家食品药品监督管理局综合和规划财务司文件发布的《国家药监局综合司关于印发 2020 年医疗器械行业标准制修订项目的通知》（药监综械注〔2020〕48 号）文的要求，本标准的项目编号为 I2020012-T-ZJY，归口单位是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/TC136）。

2、工作过程：至少包括起草阶段、验证阶段、征求意见阶段、审查阶段等重点时间节点。

本标准由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，豪洛捷医疗科技（北京）有限公司，中山大学达安基因股份有限公司等单位共同完成修订工作。标准主要起草人是田亚宾，田洁，邓中平，张蓉，田静，蔡晓蓉，张嫻，蒋析文。本标准自立项后，经查询相关国家标准及行业标准，并对大量相关生产企业的试剂进行调研。同时，结合以往检验工作中发现和存在的问题，于 5 月拟定《人乳头瘤病毒核酸（分型）检测试剂盒》行业标准的工作组讨论稿。2020 年 06 月 03 日在北京召开了体外诊断试剂标准草案研讨会，来自企业、审评、检测机构、医院等单位的代表共计 110 人参加了讨论。与会专家及代表对工作组讨论稿进行了全面讨论，提出一些建议。研讨会议结束后，结合专家意见，对标准的草案稿进行了修改和完善，并明确了标准验

证方案。2020年7月，根据验证方案开始组织各参与单位进行验证工作。

## 二、标准编制原则和确定标准主要内容的论据

### 1、标准制定的意义、原则

人乳头瘤病毒（Human papillomavirus, HPV）是一种小的非包膜的双链DNA病毒。目前，已分离鉴定150种不同型别的HPV，其中30多种主要感染人的生殖器官、肛门及口腔黏膜的上皮细胞，与皮肤疣及癌症的发生相关。高危型HPV的持续性感染是造成宫颈癌及癌前病变的主要原因，低危型HPV与尖锐湿疣的形成有关。目前，主要采用分子学方法诊断HPV的感染。通过检测HPV核酸（DNA或RNA）反映机体当前的感染状态，可用于HPV流行病学调查、宫颈癌筛查和HPV疫苗的效力评价。

目前市场上已有近百个人乳头瘤核酸（分型）检测试剂盒获得国家药品监督管理局的批准上市。这些试剂的预期用途主要用于HPV感染的辅助诊断。市场上在研的很多试剂，预期用途不同，有些试剂在临床上用于宫颈癌的筛查，有些试剂仅为HPV感染的辅助诊断。由我单位牵头起草的《人乳头病毒核酸（分型）检测试剂（盒）》自2014年发布实施以来，对试剂盒的质量提高起到了促进作用。然而，该行业标准还是存在一定的局限性，如缺乏稳定性性能评价，表述不清等问题。尤其对于未来用于宫颈筛查类的试剂是否与HPV感染的诊断用类试剂的标准一致，提出了新的挑战。随着分子诊断的发展，新技术层出不穷，该标准应囊括新的技术新的方法。为了更好的指导该类试

剂的质量评价工作，对《人乳头病毒核酸（分型）检测试剂（盒）》（YY\_T 1226-2014）进行修订，使其更加完善，能够更好地统一和提高此类试剂盒的质量。

2、本标准性能指标制定依据，对于有争议指标的处理及验证情况。

本标准保留原标准中对于不同方法学试剂盒作出的性能要求，在原有性能指标的基础上，结合《人乳头瘤病毒（HPV）核酸检测及基因分型、试剂技术审查指导原则》和《核酸扩增检测试剂（盒）》行业标准（YY/T 1182-2020）并根据临床使用情况，增加了“内标和/或对照”和“核酸性能功能”等两个通用要求。在内容上，其中“阳性参考品符合率”和“精密度”除了增加对于参考品补充要求外，其要求不发生变化。主要对于“阴性参考品符合率”和“检出限”进行了修订。

在“阴性参考品符合率”上，对于基于 PCR 扩增等原理的方法提高了对于高危型别的交叉反应的要求。现要求为“高危型不存在交叉反应，低危型别的交叉反应率应不大于 10.0%”。对于信号扩大法等原理的试剂盒，现要求“交叉反应不高于 20%”。

在“检出限”性能上，对于是否提高相应的标准和 copies/反应用于评价该性能是否合适。对于基于 PCR 扩增等原理的方法，对国内不同的检测试剂盒进行验证研究，各试剂盒检测 HPV16 和 HPV18 的

检出限低于  $10^3$ copies/反应，且常见的高危型别 HPV52 和 HPV58 的检出限也均低于  $10^3$ copies/反应。而其他型别的检出限均低于  $10^4$ copies/反应。但对于该标准的确定，需要结合临床的情况。对于在临床上的应用，临床灵敏度更重要。并结合美国食品药品监督管理局批准的用于宫颈癌筛查的试剂的检出限，该标准中仅对于两种常见高危型 HPV16 和 HPV18 进一步提高了标准。并增加了应结合预期用途确定检出限。对于 copies/反应，由于目前所有评价试剂的性能上，除了用 HPV 阳性细胞系，如 SiHa、HeLa 等，大多数用 HPV DNA 质粒评价。大多数的评价未进行提取性能的分析，故主要评价单个反应中包含的质粒拷贝数评价。故在本行标中，增加了“核酸提取功能”，企业应结合各试剂盒的特点，自行进行验证。

### 三、主要实验（或验证）的分析、综述报告、技术经济论证、预期的经济效果

该标准主要对原标准进行了修订，增加了“内标和（或）对照”和“核酸提取功能”等两个通用要求。该部分为资料性验证，由企业提供其相应的资料。对于“阴性参考品符合率”、“检出限”和“精密度”进行了验证，采用新一代人乳头瘤病毒全基因组国家参考品进行了验证。分析结果后，PCR 荧光法和 PCR 杂交法高危型别 HPV 均未出现交叉反应，低危型别也不存在交叉反应。参与验证的试剂均能达到要求。而对于信号放大法，如杂交捕获，存在一定的交叉反应，如 HPV43、66、82。故除了要求在产品说明书等技术性文件中声明交叉

反应，也做了相应的要求。同时，由于本次验证的参考品中包含的 HPV 的型别有限，故结合人乳头瘤病毒 L1 分型国家参考品的说明书的标准，对 PCR 荧光法和 PCR 杂交法试剂的交叉反应做了调整。

综上，在本标准中，修订的内容即从资料的研究上进行验证，也通过试验进行了验证，基本得到了充分的证实和试验。修订的条款均能够更好地反映该试剂盒的性能要求，提高该类试剂的质量。一些试剂均能达到此行业标准的要求，另一些试剂基于此标准进一步完善。

人乳头病毒核酸（分型）检测试剂是目前体外诊断试剂行业当中种类最多、注册产品最多的病原体检测产品。基于其临床上用于宫颈癌的筛查和治疗后病人预后的监测，在市场上使用率和占有率较高。由于各试剂使用不同的方法学进行检测，这些试剂的质量层次不齐。人乳头病毒核酸（分型）检测试剂（盒）（YY/T1226-2014）自 2014 年发布实施以来，对试剂盒的质量提高起到了促进作用。然而，该行业标准在实施中，还是存在一定的局限性，如缺乏稳定性性能评价，表述不清等问题。尤其对于未来在临床上用于宫颈癌筛查类的试剂的质量，提出了新的挑战。本标准的修定有利于进一步规范和提高该类试剂的质量，进而提高临床诊断水平，保障人民健康，可具有重要经济效果。

**四、采用国际标准和国外先进标准的程度，以及与国际、国外同类标准水平的对比情况，或与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况。**

目前，WHO 已有 HPV16 型（NIBSC, 06/202）和 HPV18 型国际标准品（NIBSC, 06/206）。对于 HPV 全基因组国家分型参考品的更

新换代，对于所有 HPV 样品，参考 WHO 的协作标定的方案。采用荧光 PCR 法将 HPV 参考品溯源至 WHO 第一代 HPV16 DNA 国际参考品（NIBSC code: 06/202），采用上述样品标准修订的项目进行了验证。

#### 五、与有关的现行法律、法规和强制性国家标准的关系。

本标准不与现行法律、法规和强制性国家标准产生冲突。

#### 六、重大分歧意见的处理经过和依据。

无

#### 七、行业标准作为强制性行业标准或推荐性行业标准的建议。

本标准延续原标准，为推荐性标准。

#### 八、贯彻行业标准的要求和措施建议(包括组织措施、技术措施、过渡办法等内容)

建议该标准在发布后 12 个月实施，并在实施前召开标准宣贯会议，向监管部门、技术审评部门、检验机构、生产企业、医疗机构等单位发放标准宣贯资料并解答标准中相关技术难点和疑点，进行技术指导并促进标准的实施。

#### 九、废止现行有关标准的建议。

自发布实施后，该标准将代替原人乳头瘤病毒核酸（分型）检测试剂（盒）（YY/T 1226-2014），即原标准（YY/T 1226-2014）废止。

#### 十、其他应予说明的事项。

无

标准起草工作组

2020年07月11日