

团体标准

T/SZAS XXXX—XXXX

人乳头瘤病毒（HPV）DNA 检测性能验证和 室内质控规程

Performance verification and quality control procedures for human papilloma virus
(HPV) DNA detection

(征求意见稿)

XXXX – XX – XX 发布

XXXX – XX – XX 实施

深圳市标准化协会 发布

目 次

前言 II

1 范围 3

2 规范性引用文件 3

3 术语和定义 3

4 人乳头瘤病毒（HPV）DNA 检测方法 3

5 人乳头瘤病毒（HPV）DNA 检测性能要求 4

6 人乳头瘤病毒（HPV）DNA 检测性能验证方法 4

7 室内质控规程 5

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。

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。

本文件由深圳华大医学检验实验室提出。

本文件由深圳市标准化协会归口。

本文件起草单位：深圳华大医学检验实验室、武汉华大医学检验所有限公司、康圣序源生物科技（武汉）有限公司、武汉市中心医院、云南省肿瘤医院、武汉大学人民医院、青岛市黄岛区卫生健康局、青岛市黄岛区中心医院、云南省妇幼保健院、安顺市妇幼保健院、拉萨市人民医院、深圳市盐田区妇幼保健院、三明市第一医院、东莞市妇幼保健院、惠州市第二妇幼保健院、龙岩市第一医院、福建医科大学附属第二医院、香港中文大学赛马会公共卫生及基层医疗学院、喀什地区第一人民医院、陕西省人民医院、新疆人民医院、沧州市妇幼保健院、天津市泰达医院、河南省中医院（河南中医药大学第二附属医院）、长沙市妇幼保健院、武汉儿童医院、哈尔滨医科大学附属第一医院、吉林大学白求恩第一医院、长春市妇产医院、哈尔滨医科大学附属第六医院、大连市妇女儿童医疗中心（集团）、深圳华大基因科技有限公司。

本文件主要起草人：吴亚、王静、郭诗雨、吴昊、王岩琦、阳晶晶、夏琦、刘雷、甘家骅、余丹、金晓炜、吴娟子、刘彩虹、刘萍、邹团标、周德、冉宇、次珍、普布卓玛、王文杰、卓德祥、周萍、张蕊、陈维媚、黄荣富、黄丽仪、刘雯、张凌燕、常晨、李智伟、霍庆赞、刘俊凤、张勤、高彩、刘永生、刘静、何学莲、吴鹤、杨雷、林杨、李莹杰、邹娜、刘杨杨。

人乳头瘤病毒（HPV）DNA 检测性能验证和室内质控规程

1 范围

本文件规定了人乳头瘤病毒（HPV）DNA检测性能验证规则和室内质控规程。
本规范适用于需要进行人乳头瘤病毒（HPV）DNA检测各类医学检验实验室等检测机构。

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。

YY/T 1226—2022《人乳头瘤病毒核酸（分型）检测试剂盒》

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

人乳头瘤病毒 human papilloma virus; HPV

人乳头瘤病毒是隶属于乳多空病毒科乳头瘤病毒属的一组球形、微小、无包膜的环状双链DNA病毒。具有嗜上皮性，主要引起人类皮肤、黏膜的增生性病变。分为高危型、中危型和低危型三大类。症状表现为寻常疣、生殖器疣（尖锐湿疣）等。

3.2

在控 within control

指根据质控规则判断质控品检测结果没有符合失控规则的情况。

3.3

失控 out of control

指根据质控规则判断质控品检测结果有符合失控规则的情况。

4 人乳头瘤病毒（HPV）DNA 检测方法

4.1 非扩增法

非扩增法检测HPV DNA为杂交捕获，使用探针进行靶标杂交捕获，利用抗体和酶进行信号放大，荧光信号检测或化学发光检测。

4.2 扩增法

扩增法检测HPV DNA的方法有以下：

- a) 荧光 PCR 法（PCR-荧光探针法）：使用特异引物和荧光标记探针，利用荧光信号实时检测病的 DNA 序列扩增；
- b) PCR-毛细管电泳法：采用多重 PCR 技术同时对多个靶点进行特异性扩增，通过毛细电泳，根据扩增片段长度的不同对型别进行区分；
- c) PCR-微流控芯片法：在密闭芯片内全程全自动进行目的 DNA 提取纯化、多重 PCR 扩增和反向斑点杂交型别检测；
- d) 荧光 PCR-熔解曲线法：采用实时荧光 PCR 实时监测扩增曲线，并采用熔解曲线对应的熔解峰温度判定 PCR 产物的基因型信息；

- e) PCR-反向点杂交法：PCR 扩增后将生物素标记的特异性 PCR 扩增产物与固定于膜上的探针杂交显色，进行基因分型检测；
- f) PCR-流式荧光杂交法：PCR 扩增产物和微球上交联的探针进行杂交，加入荧光标记反应后在流式荧光检测仪读取荧光信号；
- g) 恒温扩增-荧光法：恒定温度下，使用酶和特异引物进行快速核酸扩增；
- h) 高通量测序法：通过对样本中的病毒 DNA、PCR 扩增目标区域、构建文库并行测序，利用生物信息学比对分析序列，实现一次反应精准识别多种 HPV 型别。

5 人乳头瘤病毒（HPV）DNA 检测性能要求

5.1 准确度

使用该检测系统，对检测系统声称的可检出型别对应的质控品和样本进行检测，均能检出。[参照：YY/T 1226—2022《人乳头瘤病毒核酸（分型）检测试剂盒》]

5.2 特异性

使用检测系统检测阴性质控品及样本，结果为阴性。

5.3 重复性

使用该检测系统，对检测系统声称的可检出型别对应的质控品进行检测，每个型别分别进行3次生物重复和2次技术重复，重复性良好。

5.4 最低检测限

使用该检测系统，对检测系统声称的可检出型别对应的检测限浓度质控品和样本进行检测，均能检出。

5.5 交叉反应

使用该检测系统，对检测系统声称的可检出型别范围外的其他HPV型别的样本或质控品进行检测，结果为阴性。

5.6 临床检测等效性

使用该检测系统，检测一定数量的已知结果的样本，总体符合率应 $\geq 95\%$ 。

5.7 人员仪器比对

5.7.1 人员比对

不同人员使用相同检测系统检测相同样本，要求比对结果一致率为100%。

5.7.2 仪器比对

由相同人员，分别在检测系统指定型号的2台检测仪器上进行同一样本的检测，与预期结果进行比对，要求比对结果一致率为100%。

6 人乳头瘤病毒（HPV）DNA 检测性能验证方法

6.1 准确度检测

分别对应型别质控品和样本，使用检测体系进行检测，检测结果应符合5.1的要求。

6.2 特异性

使用检测系统检测不少于10例阴性质控品及样本，检测结果应符合5.2的要求。

6.3 重复性

根据检测系统声称的可检出型别，使用该检测系统，检测对应型别的质控品，每个型别分别进行3次生物重复和2次技术重复，对应qPCR类有量化数值的检测体系，检测值的CV值 $<2\%$ ，对于杂交探针类无量化数值的检测体系，对CV值不作要求，但需保证每次判读结果一致。

6.4 最低检测限

使用该检测系统，对检测系统声称的可检出型别对应的检测限浓度质控品和样本进行检测，每个型别分别进行不少于10次重复检测，检测结果应符合5.4的要求。

6.5 交叉反应

使用该检测系统，对检测系统声称的可检出型别范围外的其他HPV型别的样本或质控品进行检测，每个型别分别进行不少于3次重复检测，检测结果应符合5.5的要求。

6.6 临床检测等效性

使用该检测系统，检测不少于100例的已知结果的样本，检测结果应符合5.6的要求。

注：样本类型应与该检测系统声称可兼容的样本类型相符。

6.7 人员仪器比对

6.7.1 人员比对

不同人员同一检测系统上进行检相同样本的检测，每次比对挑选已知结果的HPV阳性样本不少于4例，阴性样本不少于1例，比对2组结果一致性，检测结果应符合5.7的要求。

6.7.2 仪器比对

由相同人员，分别在检测系统指定型号的2台检测仪器上进行同一样本的检测，每次比对挑选已知结果的HPV阳性样本不少于4例，阴性样本不少于1例，比对2组结果一致性，检测结果应符合5.6的要求。

7 室内质控规程

7.1 室内质控时机与室内质控品选择

实验室应建立室内质控体系，定期监控检测程序的稳定性。室内质控推荐使用第三方质控品或临床明确诊断阳性样本，与临床样本一同进行全流程检测实验与分析。

室内质控应满足以下要求：

- a) 阴性质控品：用于监测环境污染或假阳性；
- b) 阳性质控品：应包含常见的 HPV 高危型别（如 HPV16、18、52、58 等）中的一种或多种。推荐使用弱阳性质控品（通常为方法检出限的 1.5~3 倍），以有效监控检测灵敏度；
- c) 基质要求：质控品宜参与从核酸提取到扩增检测的全过程。因此，推荐使用与临床样本基质相近的质控品，而非纯化 DNA 或质粒，以更好地模拟临床样本并监控提取效率；
- d) 型别覆盖：理想情况下，质控方案应能在一定周期内（如一个月）覆盖实验室所报告的所有 HPV 型别。

7.2 质控品的验收与储存

7.2.1 验收

收到质控品后，管理员需立即核对品名、货号、批号、数量、效期，检查包装完整性及冷链运输温度记录（如需冷藏/冷冻）。任何不符或损坏均需记录并及时联系供应商。验收合格后，进行详细。

7.2.2 储存

应按照说明书要求的条件（如 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $2\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 或室温）储存。储存设备应配有温度计并进行每日温度监控记录，确保温度始终在允许范围内。

7.2.3 使用

使用质控品时应注意：

- a) 液体体质控品使用前需充分混匀，避免剧烈震荡；
- b) 冻干粉质控品需按说明书要求精确复溶，静置 10~15 分钟后使用；
- c) 质控品应按实验所需用量进行分装，避免反复冻融（通常不超过 3 次）；
- d) 记录每次使用的型别、日期、批号、效期、使用者及剩余量。

7.3 检测过程控制

7.3.1 仪器设备监控

所有用于HPV检测的设备，如核酸提取仪、PCR扩增仪、测序仪等，应按照制造商的要求进行日常维护和定期校准。核心配件更换维修对整体性能有重大影响时，应进行性能验证，并保存相关记录。

7.3.2 试剂监控

新批号试剂或校准品在使用前，应进行批间差异验证。方法是用同一质控品（或在可能的情况下用临床样本）同时测试新旧批号试剂，关键性能指标（如Ct值、信号强度）的差异应在可接受标准内（例如，Ct值差异不超过0.5）。

7.3.3 室内质控频率

室内质控频率可按以下情况进行：

- a) 每检测日：原则上，每次检测临床样本时都应运行室内质控品；
- b) 每批次：如果一天内进行多个批次的检测，每个批次都应包含质控品；
- c) 特殊情况：如进行重大维护、更换关键试剂或核心配件更换维修对整体性能有重大影响时，需进行验证。

7.3.4 质控检测操作

质控品应与临床样本在完全相同的条件下进行处理，包括核酸提取、纯化、扩增和检测，即参与“从样本处理到结果报告”的全过程，以全面监控整个检测流程。

7.4 环境和安全控制

实验室环境及安全控制应满足以下条件：

- a) 实验室温度应在 15℃~30℃之间，湿度应在 30%~70%之间；
- b) 实验人员须持有实验操作上岗证，严格按照操作规程进行，确保实验的准确性和稳定性；
- c) 试剂耗材质检合格，在保质期内；
- d) 实验人员需通过生物安全培训且培训合格。

7.5 结果与分析

7.5.1 结果判定规则

质控品的结果判定应遵循以下规则：

- a) 阳性质控品检测结果应均为阳性；
- b) 阴性质控品检测结果应均为阴性。

7.5.2 质控结果记录

质控结果记录应如下：

- a) 每批次实验结束后将原始质控结果进行记录；
- b) 每批次实验室内质控需与样本同时测定，只有当质控结果达到实验室设定的标准，才能签发当天的检测报告。

7.5.3 失控分析及处理

检测失控应进行以下操作：

- a) 操作人员发现失控后，应立即通知相关人员，做好相关记录；
- b) 失控期间，失控项目不得发出报告。如有发出，应予以追回，并尽快查明失控原因，采取相应纠正措施；

- c) 失控原因分析：系统误差原因包括但不限于试剂与质控品更换，试剂配错、试剂变质、质控品变质、试剂或质控品的不适当贮存、环境气溶胶污染等因素。随机误差原因包括但不限于反应孔气泡、试剂混合不恰当、仪器电压不稳等因素。

7.5.4 质控数据管理与回顾

每月质控数据统计处理，每个月末，应对所有质控数据进行汇总和统计处理，随后存档保存。
