

**Nome del prodotto**

Kit di rilevamento dell'acido nucleico per il papillomavirus umano ad alto rischio (PCR-Fluorescence Probing)

**Valutazione dell'imballaggio**

24 test/kit, 48 test/kit, 96 test/kit

**Inteso Use**

Questo kit viene utilizzato per il rilevamento qualitativo in vitro di 15 acidi nucleici del DNA del papillomavirus umano (HPV) ad alto rischio in campioni cervicali femminili (cellule epiteliali esfoliate cervicali o secrezioni): 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68 e HPV 16 e 18 sono classificati.

Il papillomavirus umano (HPV) è un tipo di papillomavirus A appartenente alla famiglia papovaviridae. È un virus a DNA sferico, non avvolto, a doppio filamento. Può infettare solo la pelle umana e le cellule epiteliali della mucosa, causando una varietà di papillomi o verruche della pelle umana e lesioni proliferative dell'epitelio del tratto riproduttivo. A causa della mancanza di verifiche pertinenti, questo prodotto non può essere utilizzato per lo smistamento della popolazione ASC-US, lo screening del cancro cervicale combinato con la citologia cervicale e la valutazione della storia citologica e di altri fattori di rischio per guidare la gestione del paziente.

I risultati dei test sono solo di riferimento clinico e non possono essere utilizzati da soli come base per confermare o escludere i casi.

**Principio di prova**

Til suo kit è based sulla piattaforma tecnologica pcr fluorescente in tempo reale, utilizza taqmana tecnologia di sonda e tecnologia di primer specifica per amplificare il gene E6 di HPV in vitro. Il reagente PCR multiplex a tubo singolo progettato in questo kit rileva contemporaneamente 15 tipi di HPV, tra cui HPV16 viene rilevato dal canale ROX, HPV18 viene rilevato dal canale HEX / VIC e altri 13 tipi vengono rilevati dal canale FAM. Il DNA HPV ad alto rischio nei campioni cervicali è stato qualitativamente rilevato dal cambiamento del segnale di fluorescenza.

Questo sistema di reazione contiene misure anti-inquinamento dell'enzima dUTP-UDG per evitare risultati falsi positivi; viene fornito un controllo interno per evitare risultati falsi negativi.

**Componenti principali**

Elementi	Nome	Spec.( 48 test/ kit)	Spec.( 96 test/ kit)	Costituenti
Kit di amplificazione PCR	Buffer PCR 1	TuboL ×1 da 1,1 m	Tubo L ×2 da 1,1 m	DNA-polimerasi, UNG, dNTPs, Mg <sup>2+</sup>
	Buffer PCR 2	Tubo 100µL×1	Tubo 200µL×1	Primers, Sonde
Controllo qualità	Controllo Positivo	400µL×1 Tubo	800µL×1 Tubo	Frammento del gene Target
	Controllo negativo	400µL×1 Tubo	800µL×1 Tubo	Soluzione Salina

**Note:**

I componenti di lotti diversi non devono essere miscelati.

Materiali di consumo richiesti: tubo speciale fluorescente PCR a parete sottile, si consiglia di utilizzare i prodotti pertinenti di Axygen, selezionare i materiali di consumo corrispondenti in base all'uso dello strumento.

**Condizioni di conservazione e Validità**

Il kit deve essere conservato alla temperatura di -20±5°C al buio ed evitare ripetuti congelamenti e scongelamenti (in caso di congelamento e scongelamento, non devono superare le 4 volte), con un periodo di validità di 12 mesi. Può essere conservato a 2 ~ 8 ° C dopo l'apertura del coperchio, con un periodo di validità di 30 giorni. Il kit deve essere trasportato in una ghiacciaia.

**Strumenti applicabili**

Uno strumento PCR in tempo reale contenente almeno quattro canali di fluorescenza a colori, come Singuway serie Singu9600, Tianlong Gentier96, Bio-rad CFX96, ABI 7500, Roche Light Cycle 480.

**Requisito del campione**

1. Tipo di campione applicabile: campioni cervicali H uman (cellule epiteliali esfoliate cervicali o secrezioni).

2. Raccolta dei campioni:

2.1 Utilizzare tamponi di cotone sterili per raccogliere cellule epiteliali esfoliate cervicali o secrezioni dalla cervice umana. Si consiglia di utilizzare il kit di campionamento di SINGUWAY BIOTECH INC.

2.2 Preparazione prima del campionamento: Esporre la cervice con un dilatatore vaginale inumidito con acqua tiepida o soluzione salina sterile, evitando l'uso di conservanti e lubrificanti. Se c'è molta secrezione al di fuori della cervice, rimuovere prima la secrezione in eccesso con un batuffolo di cotone sterile.

2.3 Campionamento: inserire un batuffolo di cotone sterile da 1 cm a 2 cm nel canale cervicale, girare da 2 a 3 giri per raccogliere le secrezioni, rimanere per 20 a 30 secondi se necessario e ruotare per il campionamento e posizionare il batuffolo di cotone nel tubo di campionamento.

3. Conservazione e consegna dei campioni

3.1 I campioni per il rilevamento devono essere conservati alle seguenti condizioni: meno di 24 ore a 2-8°C, meno di 1 mese a -20±5°C o un tempo più lungo a -70°C. E il congelamento e lo scongelamento ripetuti devono essere evitati (il congelamento e lo scongelamento non devono superare 3 volte).

3.2 Una scatola di trasferimento del ghiaccio è stata utilizzata per il trasporto di campioni.

**Metodo di prova**

1. Estrazione dell'acido nucleico (nell'area di elaborazione del campione del laboratorio)

1.1 Si raccomanda di utilizzare il kit di estrazione dell'acido nucleico del virus, la colonna centrifuga o il metodo del tallone magnetico di SINGUWAY BIOTECH INC. L'acido nucleico è stato estratto da circa 200µL di campione fare riferimento alle istruzioni del kit di estrazione dell'acido nucleico.

1.2 Il controllo positivo e il controllo negativo sono stati estratti contemporaneamente ai campioni da testare.

2. Preparazione del reagente PCR (nell'area di preparazione del reagente)

2.1 Preparare la soluzione di reazione PCR secondo la seguente composizione ("n" è il numero di reazioni necessarie): aggiungere 23µL×n PCR Buffer 1 e 2µL×n PCR Buffer 2 in un nuovo tubo e mescolare bene.

(Note: È necessario centrifugare prima dell'uso il buffer PCR 1 e il buffer 2 e che siano completamente disciolti prima dell'uso e che tutto il liquido sia affondato sul fondo).

2.2 Miscelare nuovamente la soluzione di reazione PCR preparata nella fase precedente e quindi imballare separatamente **25µL/tubo** nel tubo di reazione PCR. Transfer il tubo di reazione contenente la soluzione di reazione PCR all'area di elaborazione del campione.

3. Aggiungo campioni (nell'area di elaborazione del campione)

**15µL** dei campioni trattati, controllo negativo estratto e controllo positivo sono stati rispettivamente aggiunti al tubo di reazione PCR contenente la miscela master PCR. Coprire il cappuccio, miscelare bene ed eseguire una breve rotazione per consentire alla soluzione di reazione di affondare sul fondo del tubo.

4. Amplificazione PCR (nell'area di prova di amplificazione)

4.1 Caricare i tubi di reazione PCR nello strumento PCR in tempo reale per l'amplificazione.

4.2 Configurazione del programma di amplificazione:

Passo	Ciclo	Temperatura (°C)	Tempo (min:sec)	Raccogli il segnale di fluorescenza
1	1	50	2:00	No
2	1	95	3:00	No
3	45	95	0:10	No
		60	0:30*	Si

\*: Impostato su 32 secondi su ABI7500.

Selezione del canale di rilevamento dello strumento:

Channel	FAM	ESAGONALE/VIC	ROX	Cy5
Signal	HPV31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68	HPV18	HPV16	IC

5. Standard QC

5.1 Controllo negativo: i risultati del canale FAM, HEX/VIC, ROX sono negativi, mentre il risultato del canale CY5 è positivo (Ct≤37)..

5.2 Controllo positivo: i risultati dei canali FAM, HEX/VIC, ROX sono positivi e Ct≤37.

5.3 Gli elementi di cui sopra devono essere soddisfatti contemporaneamente in un esperimento, altrimenti questo esperimento non è valido e l'esperimento deve essere ripetuto.

6. Analisi dei risultati

6.1 Dopo l'esperimento, analizzare secondo il software degli strumenti correlati, regolare la tolleranza al rumore al di sopra del rumore di base.

6.2 Il principio di impostazione della soglia è che la linea di soglia supera di poco il punto più alto della normale curva di controllo negativa (linea di rumore irregolare), 6-15 aree di circolazione sono state generalmente selezionate per la linea di base.

6.3 Registrare il valore Ct del campione calcolato mediante l'analisi automatica dello strumento.

**Risultato**

I risultati sono giudicati sulla base della premessa che il me sperimentaled gli standard QC.

1. Determinazione del risultato relativo di HPV n:

Se il canale FAM, HEX/VIC, ROX non ha una curva di crescita logaritmica significativa, mentre il risultato del canale CY5 è positivo e Ct ≤37, il risultato è HPV negativo.

2. Determinazione dei risultati HPV positivi:

Il risultato del canale CY5 è positivo e Ct ≤37, if il canale FAM, HEX/VIC o ROX has curva di crescita logaritmica e il Ct ≤37, il risultato ha determinato che l'HPV è positivo, determine l'HPV digitare secondo la tabella sottostante.

(Avviso: quando la concentrazione del virus è troppo alta, l'amplificazione dell'IC può essere inibita e Ct = 45 o nessun valore)

Canale Fluorescenza	Valore Ct	Interpretazione risultato
FAM	Ct=45 o nessun valore	I tipi di HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68 erano tutti negativi o inferiori al limite minimo di rilevamento.
	Ct≤37	Almeno uno dei tipi di HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66 e 68 era positivo.
	37 < Ct < 45	Tra i tipi di HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66 e 68, almeno un tipo è sospettato di essere positivo e si raccomanda un nuovo test.
ROX	Ct=45 o nessun valore	L'HPV di tipo 16 è negativo o inferiore al limite minimo di rilevamento.
	Ct≤37	L'HPV di tipo 16 è positivo.
	37 < Ct < 45	Si sospetta che l'HPV di tipo 16 sia positivo e si raccomanda un nuovo test.
HEX/VIC	Ct=45 o nessun valore	L'HPV di tipo 18 è negativo o inferiore al limite minimo di rilevamento.
	Ct≤37	L'HPV di tipo 18 è positivo.
	37 < Ct < 45	Si sospetta che l'HPV di tipo 18 sia positivo e si raccomanda un nuovo test.

6. Le operazioni di "ricontrollo" menzionate nella Tabella 1 sono le seguenti:

Si raccomanda di concentrare il campione: prelevare 1 ml di campione ben miscelato; centrifugare 12000 giri/min per 5 minuti a 4°C; rimuovere con attenzione il supernatante e lasciare come campione circa 200µL di strato inferiore. Quindi eseguire l'estrazione e l'amplificazione come il campione generale.

#### Valore di cut-off (CO) o intervallo di riferimento

Dopo aver analizzato i campioni negativi e positivi, è stata utilizzata la curva a del ricevitore (ROC) per l'analisi e il valore di cut-off (CO) o l'intervallo di riferimento di questo kit è stato determinato a 37.

1. I risultati dei test sono solo di riferimento clinico e non possono essere utilizzati da soli come base per confermare o escludere casi.

2. Possibilità di analisi dei risultati falsi negativi.

2.1 La raccolta, il trasporto e l'elaborazione impropri dei campioni o le goccioline di virus troppo basse nei campioni possono causare risultati falsi negativi.

2.2 I risultati falsi negativi possono essere causati da mutazioni della sequenza bersaglio dell'HPV.

2.3 Poiché il tempo al più alto titolo virale dopo l'infezione da HPV negli esseri umani non è dimostrato e la carica virale è influenzata dall'età del paziente, dalla storia medica e dalle diverse fasi dell'infezione, un'analisi di questi errori si tradurrà in risultati falsi negativi.

3. Altri fattori non verificati.

Se la contaminazione incrociata non è stata ben controllata durante la raccolta, il trasporto e la lavorazione dei campioni, possono verificarsi risultati falsi positivi.

#### Indice di performance del prodotto

1. Tasso di conformità di riferimento positivo

Sono stati rilevati rispettivamente 15 P1~P15 di riferimento positivo all'impresa, tra cui HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68 e ogni test è stato eseguito una volta. I risultati dovrebbero essere tutti positivi e il tasso di coincidenza è stato del 100%.

2. Tasso di conformità di riferimento negativo

Sono stati testati 8 riferimenti negativi aziendali N1 ~ N8 e ogni test è stato eseguito una volta. I risultati dovrebbero essere tutti negativi e il tasso di coincidenza è stato del 100%.

3. Limite minimo di rilevamento (sensibilità di analisi):

La sensibilità al saggio di questo reagente è stata di 500 copie/mL.

Rilevare HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68 con la concentrazione di 500copie/mL di riferimento di sensibilità aziendale L1 ~ L15. Ogni campione deve essere testato in 10 repliche, che dovrebbero corrispondere a 10 risultati positivi.

4. Precisione

Un riferimento di precisione aziendale con  $1 \times 10^4$  copie / mL di pseudo virus HPV16 + 18 wcome eseguito per 10 test e il CV del valore Ct non era superiore al 5%.

5. Specificità dell'analisi

5.1 Reazione incrociata:

I virus al di sotto delle seguenti concentrazioni non hanno ioni di reazione incrociata con questo kit.

Nome di esempio	Concentrazione	Nome di esempio	Concentrazione
Campioni clinicamente positivi di HPV6	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL	HPV61 campioni clinicamente positivi	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL
HPV11 campioni clinicamente positivi	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL	HPV67 campioni clinicamente positivi	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL
HPV43 campioni clinicamente positivi	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL	HPV69 campioni clinicamente positivi	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL
HPV44 campioni clinicamente positivi	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL	HPV70 campioni clinicamente positivi	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL
HPVCP8304 campioni clinicamente positivi	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL	HPV71 campioni clinicamente positivi	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL
HPV26 campioni clinicamente positivi	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL	HPV72 campioni clinicamente positivi	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL
HPV40 campioni clinicamente positivi	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL	HPV73 campioni clinicamente positivi	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL
HPV54campioni clinicamente positivi	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL	HPV81 campioni clinicamente positivi	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL
HPV82 campioni clinicamente positivi	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL	HPV83 campioni clinicamente positivi	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL
Neisseria gonorrhoeae	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL	Chlamydia trachomatis	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL
Ureaplasma urealiticum	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL	Human herpes virus	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL
Treponema pallidum	s/cov=25	Mycoplasma hominis	$\geq 10^7$ CFU/mL
Candida albicans	$\geq 10^7$ CFU/mL	Trichomonas vaginalis	$\geq 10^7$ CFU/mL
Staphylococcus aureus	$\geq 10^7$ CFU/mL	Enterococcus faecalis	$\geq 10^7$ CFU/mL
Herpes simplex virus	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL	Citomegalovirus	$10^6 \sim 10^7$ Copie/mL

5.2 Sostanze interferenti:

Le sostanze interferenti endogene, come l'emoglobina (2g/dL), le cellule mononucleate del sangue periferico ( $10^6$  cellule/mL) e il muco cervicale non interferiscono con il rilevamento di questo kit. Levamisolo, etanolo dell'acido retinoico, aciclovir, interferone, che sono farmaci terapeutici comuni, non interferiscono con i risultati dei test di questo kit.

#### Avviso

1. Questo prodotto viene utilizzato solo per la diagnosi in vitro; leggere attentamente questo manuale prima dell'uso.

2. Al fine di evitare qualsiasi potenziale pericolo biologico nel campione, il campione di prova è considerato una sostanza infettiva per evitare il contatto con la pelle e le mucose; si raccomanda di utilizzare il campione nell'armadio di biosicurezza che può impedire il deflusso di nebbia d'aria e il funzionamento e il trattamento del campione devono soddisfare i requisiti delle leggi e dei regolamenti pertinenti.

3. La sostanza di controllo positiva del kit è l'acido nucleico sintetico artificiale che non ha potenziale infettività; Sebbene abbia superato i test di HBs-Ag, HIV1/2-Ab, HCV-Ab e altri articoli, fino ad ora, non esiste un test in grado di garantire la sicurezza assoluta, quindi i componenti di cui sopra devono essere trattati come sostanza infettiva durante il funzionamento.

4. Gli operatori sperimentali devono aver ricevuto la formazione professionale di amplificazione genica o di individuazione di metodi biologici molecolari e possedere la pertinente qualifica di funzionamento sperimentale. Il laboratorio è dotato di adeguati impianti di prevenzione della biosicurezza e procedure di protezione e la gestione del laboratorio deve essere effettuata in stretta conformità con le specifiche di gestione dei pertinenti laboratori nazionali di biologia molecolare e dei laboratori clinici di amplificazione genica. Il processo sperimentale deve essere effettuato in diversi settori quali l'area di preparazione dei reagenti, l'area di preparazione dei campioni, l'area di amplificazione e l'area di analisi del prodotto. In ogni fase dell'operazione sperimentale devono essere utilizzati strumenti e attrezzature speciali e le forniture in ciascuna fase di ciascuna zona non devono essere utilizzate in modo intercambiabile. Devono essere stabiliti requisiti rigorosi per il flusso di personale e il flusso d'aria in ciascuna sezione al fine di evitare la massima contaminazione incrociata. I materiali di consumo, come il tubo centrifugo, la testa di aspirazione, ecc. per l'esperimento devono essere adeguate procedure di pulizia e controllo della qualità per evitare la contaminazione da RN ase/DNasi o l'amplificazione di inibitori reattivi con risultati falsi negativi.

5. Ogni componente del kit deve essere completamente fuso e scosso prima dell'uso, ma è necessario evitare ripetuti congelamenti-scongelamenti (in caso di congelamento e scongelamento, non devono superare le 4 volte). Il reagente nel tubo della centrifuga deve essere centrifugato per alcuni secondi prima dell'uso.





















6. Dopo aver completato l'estrazione dell'acido nucleico del campione, si consiglia di condurre immediatamente l'esperimento successivo. In caso contrario, conservare il campione a  $-20 \pm 5^\circ\text{C}$  e completare il test entro una settimana. I prodotti di pirólisi del campione conservati a  $-20 \pm 5^\circ\text{C}$  devono essere scongelati a temperatura ambiente prima dell'aggiunta del campione e utilizzati dopo una centrifugazione di breve durata.

7. Quando i reagenti sono confezionati separatamente, le bolle devono essere evitate per quanto possibile. Prima di caricare, si prega di prestare attenzione a verificare se il coperchio di ciascun tubo di reazione è stretto, in modo da evitare perdite di sostanze fluorescenti e contaminazione dello strumento.

8. Dopo l'esperimento, 50ppm ~ 2000ppm ipoclorito di sodio o alcool al 75% e lampada a raggi ultravioletti sono necessari per trattare il tavolo e la pipetta.

9. I rifiuti sanitari generati nel test devono essere trattati in conformità con le normative locali.

## Simboli

Etichetta	Istruzione	Etichetta	Istruzione	Etichetta	Istruzione
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Cautela		Catalogo ue number
	Consultare le istruzioni per l'uso		Non riutilizzare		Codice lotto
	Rischi biologici		Keep secco		Data di fabbricazione
	Oggetti fragili, maneggiare con cura		Fabbricante		Data di scadenza
	Ascensionale		Contiene un numero sufficiente per i test <n>		Non utilizzare se la confezione è danneggiata
	Limite di impilamento per numero		Limite di temperatura		Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea
	Ombreggiamento		Marchio CE		

### Informazioni di base

Produttore: SINGUWAY BIOTECH INC.

Aggiungi: B1302, Life Science Park, Shen Cheng Tou Innovation Factory, Julongshan A Road, Xiuxin Community, Kengzi Street, Pingshan District, Shenzhen City, 518122 Guangdong, P.R. Cina

Tel: +86-755-23704711 Web: www.singuway.com

CMC Medical Devices & Drugs SL

Aggiunto: C/ Horacio Lengo Nº 18, CP 29006, Málaga, Spagna

Telefono: +34951214054 Fax: +34952330100

C/Horacio Traguado Nº 18, CP 29006, Malaga-Spagna

### Data di approvazione e data di modifica del disciplinare

Gennaio 15, 2022

402-000261-00 V1,0 -  
esso