

新型冠状病毒 2019-nCoV 核酸检测试剂盒（荧光 PCR 法）说明书

械备 20200071 号）

可分离病毒的保存液：友康恒业生物科技（北京）有限公司的病毒采样试剂盒（京械注准 20182400236 号）、江苏康健医疗用品有限公司的一次性使用病毒采样管（苏泰械备 20180169 号）、宁波海乐施基因科技有限公司的细胞保存液（浙甬械备 20190062 号）、江苏硕世生物科技股份有限公司的转运培养基（苏泰械备 20200114 号）或者 3mL 生理盐水（0.9% 的氯化钠水溶液）。

【储存条件及有效期】

避光-20±5℃贮存，有效期 10 个月。

泡沫箱加冰袋低温运输 7 天（温度控制在-40℃~15℃）、反复冻融 5 次对效期没有影响。

生产日期、有效期至：见外包装盒。

【适用仪器】

ABI 7500、QuantStudio™ 5、Roche LightCycler®480、Bio-Rad CFX96、上海宏石 SLAN-96P/S 荧光定量 PCR 仪。

【样本要求】

1. 样本类型：咽拭子、鼻咽拭子、痰液。
2. 采集方法：采集按照国家卫健委发布的《新型冠状病毒感染的肺炎实验室检测技术指南》进行采集。

咽拭子：用 2 根聚丙烯纤维头的塑料杆拭子同时擦拭双侧咽后壁，将拭子头浸入含 3mL 病毒保存液的管中，尾部弃去，旋紧管盖。

鼻咽拭子：将 1 根聚丙烯纤维头的塑料杆拭子轻轻插入鼻道鼻咽腔后壁时，停留片刻后缓慢转动退出。取另一根聚丙烯纤维头拭子以同样的方法采集另一侧鼻孔。上述两根拭子浸入同一含 3mL 病毒保存液的管中，尾部弃去，旋紧管盖。

痰液：将咳出的痰液收集于含 3mL 病毒保存液的 50mL 螺口塑料管或者痰盒中。痰液样本加入等体积的痰消化液（含 1g/L 蛋白酶 K 的磷酸盐缓冲液），振荡混匀，静置 5 分钟消化后进行核酸提取。经消化后的痰液样本可以当做常规拭子样本进行后续处理。

经上述 5 种可分离病毒的保存液收集的样本可加入异硫氰酸胍溶液（终浓度不低于 2.5mol/L）进行灭活，也可以将样本在 56℃加热 30 分钟进行灭活。

3. 保存方式：样本采集后应尽快进行检测，如无法及时检测可置于 4℃保存 24 小时，-20℃或者-70℃及以下可保存 10 个月；样本冻融不可超过 5 次，否则影响检测结果。

【检验方法】

1. 试剂准备（试剂准备区）

取出试剂盒，在室温下融化并振荡混匀后，低速离心 10 秒，计算需准备反应试剂人份数（n=样本数+2管对照）。每人份反应体系配制如下：

反应液配制表（每人份）

反应液组份	加量/每人份
核酸扩增反应液	7.5 μL
酶混合液	5 μL
新型冠状病毒（2019-nCoV）反应液	4 μL
去 RNA 酶水	3.5 μL
总体积	20 μL

计算上述各试剂的使用量，加入一适当体积的离心管中，充分混匀后，按 20μL 的量分装到 n 个 PCR 反应管中。

2. 样本处理（样本处理区）

2.1 核酸提取 取待测样本、阳性对照和空白对照，按核酸提取试剂盒说明书操作提取核酸。

2.2 加样 在上述准备好的 PCR 反应管中分别加入提取好的待测

【产品名称】新型冠状病毒 2019-nCoV 核酸检测试剂盒（荧光 PCR 法）

【包装规格】25 人份/盒，50 人份/盒，200 人份/盒

【预期用途】

本试剂盒用于体外定性检测新型冠状病毒肺炎疑似病例、聚集性病例、其他需要进行新型冠状病毒感染诊断或鉴别诊断者的咽拭子、鼻咽拭子、痰液样本中，新型冠状病毒（2019-nCoV）ORF1ab 和 N 基因。

有关“疑似病例”、“聚集性病例”等人群的定义参照《新型冠状病毒肺炎诊疗方案》、《新型冠状病毒肺炎防控方案》等文件执行。

在使用上应当遵守《新型冠状病毒肺炎诊疗方案》、《新型冠状病毒肺炎防控方案》等文件的相关要求。

开展新型冠状病毒核酸检测，应符合《新型冠状病毒肺炎实验室检测技术指南》等的要求，做好生物安全工作。

本试剂盒检测结果仅供临床参考，不得作为临床诊断的唯一标准。建议结合患者临床表现和其他实验室检测对病情进行综合分析。

【检验原理】

本试剂盒采用实时荧光 PCR 技术和水解探针技术在同一反应管中实现新型冠状病毒（2019-nCoV）ORF1ab 和 N 基因在核酸水平上的定性检测，操作简单，全程不开盖减少污染，仪器软件系统自动绘制出实时扩增曲线，实现即时结果判断。本试剂盒设置有内标（RNaseP），对待测样本的采集、运输和提取过程中进行监控，避免检测结果的假阴性。

【主要组成成分】

组份名称	规格/体积/数量			主要成分
	25 人份	50 人份	200 人份	
核酸扩增反应液	188μL×1 管	375μL×1 管	750μL×2 管	三羟甲基氨基甲烷、氯化钾、氯化镁、核苷酸混合液
酶混合液	125μL×1 管	250μL×1 管	1000μL×1 管	逆转录酶、RNA 酶抑制剂、Taq DNA 聚合酶
新型冠状病毒（2019-nCoV）反应液	100μL×1 管	200μL×1 管	800μL×1 管	含 ORF1ab、N 基因和 RNaseP 的引物、探针
阳性对照	500μL×1 管	500μL×1 管	1000μL×1 管	含 3.5 × (10 ⁵ ~10 ⁷) copies/mL ORF1ab 和 N 基因以及内标片段的病毒样颗粒
空白对照	500μL×1 管	500μL×1 管	1000μL×1 管	去 RNA 酶水

备注：不同批号间的试剂不能互换。本试剂盒不包含但检测必需的配套提取试剂：江苏硕世生物科技股份有限公司的病毒核酸提取试剂盒（货号：SDK60102、SDK60103、SDK60104、SDK60105，备案号分别为苏泰械备 20140001 号、苏泰械备 20140002 号、苏泰械备 20150182 号、苏泰械备 20150256 号），凯杰公司的 QIAamp Viral RNA Mini Kit（货号：52904、52906）提取试剂盒提取核酸，按试剂盒说明书操作。

本试剂盒不包含但检测必需的配套病毒保存液：

含胍盐的病毒保存液：江苏硕世生物科技股份有限公司的样本保存液（苏泰

样本、阳性对照、空白对照各5μL，终体积为25μL/管，盖紧管盖，瞬时低速离心。

3. RT-PCR 扩增检测（核酸扩增区）

3.1 将反应管放入荧光 PCR 扩增仪进行扩增检测。

3.2 以ABI 7500操作说明为例

3.2.1 循环参数设定

步骤		温度	时间	循环数
1	逆转录反应	50℃	10 min	1 cycle
2	预变性	97℃	1 min	1 cycle
3	变性	97℃	5 s	45 cycles
	退火、延伸及检测荧光	58℃	30 s	
步骤 3 中 58℃时荧光检测 ， 检测通道：FAM、VIC、CY5				

注：ABI 7500实时荧光PCR仪不选 ROX 校正，淬灭基团选 None。

3.2.2 结果分析

ABI 7500：反应结束自动保存结果，根据分析后图像调节 BaseLine的Start值、End值以及Threshold值（可以根据实际情况自行调整，Start值可以在3~15、End值可设在5~20，调整空白对照的扩增曲线平直或低于阈值线），点击Analysis自动获得分析结果，在Report界面察看结果。

【阳性判断值】

1. 阳性：Ct≤37且曲线呈S型。
2. 阴性：Ct>40或者未检出。

【检验结果的解释】

质量控制

通道	Ct值		
	FAM通道	VIC通道	CY5通道
空白对照	UNDET	UNDET	UNDET
阳性对照	Ct≤30	Ct≤30	Ct≤30

结果判读

在仪器正常，阳性对照和空白对照均正常的情况下进行结果分析：FAM通道为新型冠状病毒（2019-nCoV）ORF1ab基因、VIC通道为新型冠状病毒（2019-nCoV）N基因、CY5通道为内标。

通道	基因	结果解释
FAM	ORF1ab 基因	1. 阳性：待测样本单通道或双通道检测结果Ct≤37，曲线呈S型且有明显指数增长期，判为阳性； 2. 阴性：所有通道Ct>40 或未检出，此次结果判断为阴性； 3. 可疑：当出现任一通道及双通道检测结果37<Ct≤40时，应对样本进行重复检测，如复检实验结果单通道Ct值≤37或者两个通道Ct值在37-40范围，曲线呈标准S型且有明显指数增长期，则判断为阳性，否则判断为阴性。
VIC	N基因	
CY5	内标	样本内标CY5通道检测结果应Ct≤37，否则采样复测。当样本结果判读为阳性时如内标Ct>37或未检出，结果仍可信。

【检验方法的局限性】

1. 本试剂盒用于样本中核酸的定性检测。检测结果仅供临床参考，对患者的临床诊治应结合其症状/体征、病史、其他实验室检查及治疗反应等情况综合考虑。
2. 有关假阳性结果的可能性分析
 - 2.1 如果样本在运输、处理过程中发生交叉污染，则可能导致假

阳性结果；

2.2 实验环境有 PCR 产物等气溶胶污染，则可能导致假阳性结果；

2.3 实验过程中使用的耗材、设备等受污染，则可能导致假阳性结果。

3. 有关假阴性结果的可能性分析

3.1 不正确的样本采集、转运及处理、样本中病原体含量过低均有可能导致假阴性结果；

3.2 该病原体待测靶序列的变异或其他原因导致的序列改变可能会导致假阴性结果；

3.3 未经验证的其他干扰或PCR抑制因子等可能会导致假阴性结果。

【产品性能指标】

1. 阳性参考品符合率：以经标化的企业阳性参考品（P1-P10）进行检测，阳性符合率 100%；检测国家参考品 P1-P7 为阳性，符合要求。

2. 阴性参考品符合率：以经标化的企业阴性参考品（N1-N12）进行检测，阴性符合率 100%；检测国家参考品 N1-N22 为阴性，符合要求。

3. 最低检出限：不高于 350 copies/mL。检测国家灵敏度参考品，检出 S1（1:9 稀释比例）、S2（1:27 稀释比例）、S3（1:81 稀释比例）、S4（1:243 稀释比例）、S5（1:729 稀释比例）、S6（1:2187 稀释比例）均为阳性，S7 仅单批次阳性，其余阴性。

4. 精密性：以经标化的企业精密性参考品（J1、J2）各重复检测 10 次，Ct 值的变异系数（CV，%）不大于 5%；检测国家参考品 R 小于 2%，符合要求。

5. 特异性：与其感染部位相同或感染症状相似的其它病原体（蝙蝠 SARS 冠状病毒、SARS 冠状病毒、MERS 冠状病毒、冠状病毒 229E 型、冠状病毒 OC43 型、冠状病毒 HKU1 型、冠状病毒 NL63 型、H1N1（新型甲型 H1N1 流感病毒（2009）、季节性 H1N1 流感病毒）、H3N2、H5N1、H7N9、乙型流感病毒 Yamagata 和 Victoria、副流感病毒（1、2、3 型）、腺病毒（1、2、3、4、5、7、55 型）、呼吸道合胞病毒（A、B 型）、人偏肺病毒、博卡病毒、鼻病毒（A、B、C）、肠病毒（EV71、埃可病毒 30 型、脊髓灰质炎病毒 1 型、EV-D68 型）、EB 病毒、麻疹病毒、人巨细胞病毒、轮状病毒（A 组）、诺如病毒（GII 型）、腮腺炎病毒、水痘-带状疱疹病毒、肺炎支原体、肺炎衣原体、军团菌、百日咳杆菌、流感嗜血杆菌、金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、化脓性链球菌、肺炎克雷伯菌、结核分枝杆菌、烟曲霉、白色念珠菌、光滑念珠菌、新生隐球菌）以及人类基因组 DNA、人白细胞总核酸无交叉反应。

6. 干扰物质：正常人新鲜血液、鼻腔分泌物、粘液、粘蛋白、鼻腔喷雾剂或滴鼻剂（苯福林、羟甲唑啉、氯化钠）、鼻用皮肤类固醇（倍氯美松、地塞米松、氟尼缩松、曲安奈德、布地奈德、莫米松、氟替卡松）、过敏性症状缓解药物盐酸组胺、抗病毒药物（α-干扰素、扎那米韦、利巴韦林、奥司他韦、帕拉米韦、洛匹那韦/利托那韦、阿比多尔）、抗生素（莫匹罗星、左氧氟沙星、阿奇霉素、头孢曲松、美罗培南）、全身性抗菌药（妥布霉素）对检测结果无影响。

7. 临床评价：在六家临床机构完成 970 例样本的临床试验，与已上市的同类试剂相比：阳性符合率为 100.00%，阴性符合率为 95.09%，总符合率为 97.22%。

【注意事项】

1. 本试剂盒为体外检测试剂。操作人员应经过专业培训并具有一定经验，使用前请仔细阅读本说明书。
2. 为保证实验结果的准确性和可靠性请使用已校准的移液器，选用合格的一次性使用的PCR反应管、离心管、枪头等样本处理及配液等操作，所有用具应不含DNA酶和RNA酶。
3. 实验请严格分区操作；各区物品、工作服均为专用，不得交

叉使用，避免污染，实验后请立即清洁工作台。

4. 本产品使用前应在室温充分融化，混匀并瞬时低速离心。
5. 样本处理应在生物安全柜中进行，以保护操作人员安全和防止对环境的污染。
6. 每次实验应设置空白对照和阳性对照。不同批号的试剂请勿混用，在有效期内使用试剂盒。
7. 待测样本尽可能新鲜，提取过程应严防RNA酶污染及操作不当导致的RNA降解。
8. -70℃或以下保存的RNA样本，加样前应在室温充分融化、混匀并瞬时低速离心后使用。
9. 分装有反应液的反应管应扣盖或装入密封袋内再转移至样本处理区。
10. 加样时应使样品完全加入反应液中，不应有样品粘附于管壁上，加样后应尽快盖紧管盖。
11. 反应液分装时尽量避免产生气泡，上机前注意检查各反应管是否盖紧，避免泄露污染仪器。
12. 扩增完毕取出反应管，密封在专用塑料袋内，丢弃于指定地点。
13. 实验中用过的枪头请直接打入盛有10%次氯酸钠的废物缸内，并与其他废弃物品一同丢弃。
14. 工作台及各种实验用物品经常用10%次氯酸钠、75%酒精和紫外灯进行消毒。
15. 实时荧光 PCR 仪需经常校正和清洁载样板板孔。
16. 本试剂盒涉及的待测样本应视为具有传染性物质，操作和处理均需符合卫生部《微生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》相关要求。
17. 试剂保存运输及使用过程中多种因素可能导致性能变化，如保存运输不当、样本采集、样本处理及检测过程操作不规范等，请严格按照说明书操作。因拭子等样本采集过程及病毒感染过程本身的特点，可能存在采集到的样本量不足等原因带来的假阴性结果，应结合临床其他诊疗信息综合判断，必要时复测。

【参考文献】

- [1] 新型冠状病毒感染的肺炎防控方案。
- [2] Clinical management of severe acute respiratory infection when novel coronavirus (nCoV) infection is suspected.WHO.2020.
- [3] SN/T 5098-2019 国境口岸人冠状病毒 NL63 和 HKU1 实时荧光 RT-PCR 检测方法。
- [4] 临床基因扩增检验实验室管理暂行办法 医卫发[2002]10 号。

【基本信息】

生产企业名称：江苏硕世生物科技股份有限公司

住所：泰州市开发区寺巷富野村、帅于村 A 幢（G19）第三层厂房与第三、第四层办研区

联系方式：

售后服务单位名称：

联系方式：

生产地址：泰州市开发区寺巷富野村、帅于村 A 幢（G19）第三层厂房与第三、第四层办研区，泰州市开发区寺巷富野村、帅于村 F 幢（G14 四楼办研区），泰州市国家医药高新技术产业园寺巷富野村、帅于村（G20）

【医疗器械生产许可证编号】苏食药监械生产许20100121号

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

【说明书核准日期及修改日期】