

PN.1060071

13 种呼吸道病原体多重检测试剂盒 (PCR 毛细电泳片段分析法) 使用说明书

1 产品名称

通用名称：13 种呼吸道病原体多重检测试剂盒（PCR 毛细电泳片段分析法）

2 包装规格

50 人份 / 盒

3 预期用途

本产品用于对人痰液或咽拭子样本提取核酸中的 13 种呼吸道病原体进行定性检测。检测的病原体包括：甲型流感病毒（H7N9、H1N1、H3N2、H5N2）、甲型流感病毒 H1N1(2009)、季节性 H3N2 病毒、乙型流感病毒（Victoria 株和 Yamagata 株）、腺病毒（B 组、C 组和 E 组）、博卡病毒、鼻病毒、副流感病毒（1 型、2 型、3 型和 4 型）、冠状病毒（229E、OC43、NL63 和 HKU1）、呼吸道合胞病毒（A 组和 B 组）、偏肺病毒、肺炎支原体和衣原体（沙眼衣原体和肺炎衣原体）。其中腺病毒、副流感病毒、冠状病毒、呼吸道合胞病毒和衣原体检测结果不分型。

人痰液或咽拭子样本的选择，需结合临床诊断，如临床表现为下呼吸道感染的，建议采用痰液样本进行检测。呼吸道病原体是造成人鼻腔、咽喉、气管和支气管等呼吸道组织器官感染的病原体总称。大多数的呼吸道感染是由病毒、衣原体或支原体引起的，这些病原体种类繁多，且引起的临床症状相似。

流行性感冒病毒（*Influenza Virus*,InfA），简称流感病毒。人流感病毒分为甲、乙、丙三型，它是一种有包膜、分节基因组的双链 RNA 病毒，是正粘病毒科（*Orthomyxoviridae*）的代表种。根据血凝素（Hemagglutinin, HA）和神经氨酸酶（Neuraminidase, NA）抗原性的不同分为不同的亚型。甲型流感病毒经常发生变异，传染性大，传播迅速，极易发生大范围流行；乙型流感病毒的核酸变异较小，通常只引起流感的局部爆发；丙型流感病毒相对稳定，且致病力较弱。流感病毒主要通过空气中的飞沫、人与人之间的接触传播。典型的临床症状是发热、全身疼痛、乏力等。一般秋冬季节是其高发期，所引起的并发症和死亡现象较严重。

腺病毒（*Human Adenovirus*, HADV）是一种没有包膜、直径为 70～90 nm 的双链 DNA 病毒。腺病毒对呼吸道、胃肠道、尿道和眼等均可感染，其中呼吸道疾病主要由 HADV-B、HADV-C 和 HADV-E 引起，本试剂盒不分型检测腺病毒 B 组、C 组和 E 组。腺病毒感染引起的呼吸道典型症状包括咳嗽、鼻塞和咽喉痛，还可伴有发热、寒战、头痛等症状，严重时可引起腺病毒肺炎并发多种细菌感染，甚至导致死亡。

博卡病毒（*Bocavirus*, Boca）属于细小病毒科，单链 DNA 病毒。通过空气传播。其主要临床表现为咳嗽、发热、喘息、腹泻等症状。

鼻病毒（*Human Rhinovirus*, HRV）属于微小核糖核酸病毒科，单链 RNA 病毒。临床表现轻者有倦怠、乏力、低热等症状，重者可能会导致脊髓等重要器官受损。

副流感病毒（*Human Parainfluenza Virus*, HPIV）是一种单链的 RNA 病毒，本试剂盒不分型检测副流感病毒 1 型、2 型、3 型和 4 型。HPIV 感染是一种常见的病毒性呼吸道感染性疾病，可引起发热、鼻塞、流清鼻涕、打喷嚏、咽痛、咽部充血等急性上呼吸道感染症状，亦可造成阻塞性（哮喘性）喉炎、反复发作的感冒和肺炎、支气管炎、毛细支气管炎等。

冠状病毒（*Human Coronavirus*, HCOV）属于冠状病毒科（*Coronaviridae*），是具外套膜的单股 RNA 病毒，本试剂盒不分型检测 229E、NL63、HKU1 和 OC43。典型临床表现包括流鼻涕、咳嗽、咽痛、发热等感冒症状。不同型别病毒的致病力不同，引起的临床表现也不尽相同。229E 和 OC43 感染引起气管炎、鼻塞、鼻炎、喷嚏、咽痛、咳嗽等；也能导致严重的下呼吸道感染，包括婴儿、老人和免疫系统受抑制者的肺炎，其中 OC43 的典型症状是咽痛，229E 是鼻炎的常见病原体之一。NL63 引起喉气管炎（哮喘），以及婴儿、老人和免疫系统受抑制患者的非致死上呼吸道感染和下呼吸道感染。HKU1 引起鼻炎、发烧、咳嗽、热性痉挛、喘鸣、气管炎、肺炎等症状。

呼吸道合胞病毒（*Human Respiratory Syncytial Virus*, HRSV）是一种 RNA 病毒，属副粘液病毒科，本试剂盒不分型检测呼吸道合胞病毒的 A 组和 B 组。呼吸道合胞病毒感染可引起的包括鼻涕、咽痛、咳嗽、头痛、疲劳、发热、支气管炎和肺炎等。

偏肺病毒（*Human Metapneumovirus*, HMPV）属于副粘病毒科（*Paramyxoviridae*），该病毒已和呼吸道合胞病毒、腺病毒等被认为是导致小儿急性呼吸道感染的主要病原体。咳嗽、流涕、发热是其引起的主要症状，亦可导致咽喉炎、支气管炎和肺炎。

肺炎支原体（*Mycoplasma Pneumoniae*, Mp）是在无细胞培养基上生长的最小微生物之一，无细胞壁。肺炎支原体是人类支原体肺炎的最主要病原体，发病形式多样，可引起干咳、咽痛、低热、疲乏、支原体肺炎等。部分患者可出现突发高热并伴有明显的头痛、肌痛及恶心等全身中毒症状。

衣原体（*Chlamydia*, Ch）是革兰氏阴性病原体，是一类能通过细菌过滤器、在细胞内寄生、有独特发育周期的微生物。它没有合成高能化合物 ATP、GTP 的能力，必须由宿主细胞提供，因而成为寄生物。本试剂盒不分型检测沙眼衣原体和肺炎衣原体。衣原体引起急性呼吸道感染症状，以肺炎多见。沙眼衣原体肺炎常见于 6 个月以内婴儿，典型表现如流涕、鼻塞等，多不发热或低热，随后出现咳嗽，百日咳样阵咳，呼吸增快、肺炎等；肺炎衣原体是 5 岁以上小儿及成人常见呼吸道感染的常见病原体，典型症状包括咳嗽、流涕、鼻塞并伴有咽痛、声音嘶哑、发热等亦可引起肺炎。

4 检验原理

本试剂盒采用多重 RT-PCR 与毛细电泳联用技术，以常见的 13 种呼吸道病原体的高度保守序列为靶区域，设计了 13 组特异性引物，在一个扩增产管中进行一步法 RT-PCR 扩增；采用毛细电泳分离不同长度的扩增产物、得到病原体的检测结果；通过同时对样品中的人 RNA 和人 DNA 进行检测，对样品质量进行监控；本试剂盒带有 RT-PCR 内参，用于对核酸提取、RT-PCR 和毛细电泳等整个检测过程进行监控。

5 主要组成成分

产品组成	主要成分	装量	试剂盖颜色
呼吸道 13 重预混液	特异性引物、dNTPs、镁离子、缓冲成分等	770 μ L，1 管	棕色
RT-PCR 酶液	反转录酶、热启动 DNA 聚合酶、UDG 酶、甘油等	60 μ L，1 管	红色
呼吸道 13 重阳性对照	检测靶点和人 RNA、人 DNA 的重组质粒	350 μ L，1 管	黄色
阴性对照	人基因组溶液	350 μ L，1 管	白色
标准品	荧光标记的 DNA 片段	50 μ L，1 管	紫色（外套棕色避光瓶）
RT-PCR 内参	RNA 病毒样颗粒	120 μ L，1 管	蓝色
水（无核酸酶）	纯化水	1000 μ L，1 管	透明

注：（1）不同批号试剂盒的组分不能互换使用。
（2）需要但未提供的设备和材料：PCR 管、离心机、涡旋混匀仪、移液器等。
（3）核酸提取试剂使用“核酸提取或纯化试剂”（宁波海尔施基因科技，备案号：浙甬械备 20150246 号），在全自动核酸提取仪 Smart LabAssist-16/Smart LabAssist-32 上进行核酸自动提取；或者使用“核酸提取或纯化试剂”（宁波重鼎生物技术有限公司，备案号：浙甬械备 20150006 号）进行手动提取。

6 储存条件及有效期

有效期：12 个月，生产日期和失效日期：见盒签或瓶签。
储存条件：-25～-15℃。
开瓶冻融稳定性：2 个月内，不大于 8 次。
运输稳定性要求：试剂盒需低温运输（-8℃及以下），运输时间不超过 5 天。

7 适用仪器

Sanger 测序仪 GenomeLab™ GeXP Genetic Analysis System、3500Dx 基因分析仪、3500xL Dx 基因分析仪、T400 Sanger 测序仪。

8 样本要求

- 样本类型：痰液或咽拭子。
- 咽拭子的采样方法
 - 采集器材：应使用专用的咽拭子，推荐使用植绒拭子。
 - 采样方法：左手用压舌板压住患者舌头，右手将拭子伸至咽喉处，适度用力擦拭咽后壁和两侧扁桃体部位数次并旋转拭子以增加接触面，应避免接触舌及口腔粘膜等处。取样后迅速将拭子放入装有 3mL 采样液的采样管中，靠近采样管顶端处折断并弃去尾部，旋紧管盖。
 - 采样液要求：含有蛋白稳定剂、阻止细菌和真菌生长的抗生素、缓冲液。
- 痰液的采样方法
 - 患者自行咳出。若无法自行咳出时可用吸痰器配合吸痰管吸引。
 - 采集器材的要求：一次性痰杯。
 - 采样方法：采集标本前应用清水、冷开水漱口或用牙刷（不用牙膏）清洁口腔和牙齿，有假牙者应取下假牙（为减少口腔正常菌群污染标本），用力咳出痰液，痰液直接吐入痰杯中，标本量应≥1mL。
- 样本的保存
 - 样本采集后应立即竖直放置于冰袋中，不得倾斜或颠覆，并马上送检。如不能马上检测，咽拭子样本放置在 2～8℃冰箱中保存不超过 3 天，在 -25～-15℃冰箱中保存不超过 2 个月；痰液样本放置在 2～8℃冰箱中保存不超过 3 天，在 -25～-15℃冰箱中保存不超过 2 个月，在 -85～-75℃冰箱中保存不超过 12 个月。
 - 冻融次数限制在 3 次以内。

9 检验方法

- 样本前处理
 - 咽拭子样本：将采样管置于涡旋混匀仪上充分涡旋 10 秒，以洗下拭子上粘附的病毒及含有病毒的细胞等。
 - 痰液样本：将痰液样本彻底混匀，吸取上清进行核酸提取；粘稠度较大，导致无法吸取的样本，加入等体积的生理盐水，彻底混匀，吸取上清进行核酸提取。
- 核酸提取
 - 根据核酸提取试剂的要求，吸取相应体积的样本（包括阳性对照和阴性对照）并加入 2 μ L 的 RT-PCR 内参共同提取。

- RT-PCR 扩增
 - 配制 RT-PCR 体系
 - 对预混液进行彻底混液，瞬时离心 10 秒；对 RT-PCR 酶液进行瞬时离心 10 秒后竖直置于冰上。
 - 计算样品数目 N（N= 阳性对照 1 个 + 阴性对照 1 个 + 临床待测样品数目），按照下表依次类推在离心管中依次加入对应体积的试剂。
- | | |
|---------|--|
| N≤10 | 14 μ L ×（N+1）的呼吸道 13 重预混液 +1 μ L ×（N+1）的 RT-PCR 酶液 |
| 10<N≤20 | 14 μ L ×（N+2）的呼吸道 13 重预混液 +1 μ L ×（N+2）的 RT-PCR 酶液 |
| 20<N≤30 | 14 μ L ×（N+3）的呼吸道 13 重预混液 +1 μ L ×（N+3）的 RT-PCR 酶液 |
| 30<N≤40 | 14 μ L ×（N+4）的呼吸道 13 重预混液 +1 μ L ×（N+4）的 RT-PCR 酶液 |

- 配制完后，将离心管中的混合液颠倒混匀并离心 10 秒；取 15 μ L 的混合液分装至各个八联管中，离心 10 秒。
 - 3.1.3 取 15 μ L 的混合液分装至各个 PCR 管或八联管中，瞬时离心 10 秒，将 PCR 管竖直置于冰上。由于混合液较粘稠，为确保分装准确，建议使用反向移液法（吸液时先将移液器按压至第 2 档，之后放松移液器以吸取混合液，推液时压至第 1 档结束）。
- 3.2 加样
 - 在上述 PCR 管中加入待检测的核酸样品和已经提取完成的阳性对照、阴性对照核酸各 5 μ L；加样完成后，将 PCR 管瞬时离心 10 秒，并竖直置于冰上。
- 3.3 RT-PCR 扩增
 - 在 PCR 仪上编辑如下扩增程序：

步骤	温度	时间	循环数	步骤	温度	时间	循环数
1	25℃	5 分钟	1 个循环	7	94℃	30 秒	29 个循环
2	50℃	15 分钟	1 个循环	8	60℃	30 秒	
3	95℃	2 分钟	1 个循环	9	72℃	60 秒	
4	94℃	30 秒	65→60℃， 1℃降落退火， 共 6 个循环	10	72℃	10 分钟	1 个循环
5	65→60℃	30 秒		11	4℃	-	1 个循环
6	72℃	60 秒					

- 毛细电泳仪荧光信号强度的测量
 - 配制毛细电泳液
 - 使用标准品测量毛细电泳平台中所有毛细管的荧光信号强度。按照下表，根据不同的毛细电泳平台配制标准品电泳液。
- | | | | |
|-----------------------|------------|---------------------------|-------------|
| 3500Dx/3500xL Dx/T400 | 加样量 | GenomeLab™ GeXP | 加样量 |
| AB Master Mix | 90 μ L | SLS 上样液 | 287 μ L |
| 标准品 | 10 μ L | SizeStandard-400/Size 420 | 3 μ L |
| | | 标准品 | 10 μ L |

AB Master Mix 为含 2.5% SIZE-500 Plus 的 Hi-Di™ Formamide。

- 4.2 加样：
 - 3500Dx、3500xL Dx 和 T400：将上述配制的标准品电泳液充分涡旋混匀后，分别取 10 μ L；加入到每道毛细管对应的 96 孔样品板上并进行电泳分离，得到每孔（道）毛细管中标准品的峰高度。
 - GenomeLab™ GeXP：将约 200 μ L 分离液加入 96 孔分离液板上对应数目的孔中。将上述配制的标准品电泳液充分涡旋混匀后，分别取 30 μ L；加入到每道毛细管对应的 96 孔样品板上并滴入 1 滴矿物油，进行电泳分离，得到每孔（道）毛细管中标准品的峰高度。

5. PCR 产物的毛细电泳分离
 - 5.1 3500Dx、3500xL Dx 和 T400 基因分析仪示例：
 - 1）制备电泳样品

3500 Dx/3500xL Dx/T400	量 / 孔
AB Master Mix	9 μ L
PCR 产物	1 μ L

AB Master Mix 为含 2.5% SIZE-500 Plus 的 Hi-Di™ Formamide

- 2）3500Dx、3500xL Dx 和 T400 基因分析仪毛细电泳分离样品。选择“Fragment”电泳方法，（详见 3500Dx、3500xL Dx 和 T400 说明书）。
- 5.2 GenomeLab™ GeXP 遗传分析系统示例：
 - 1）制备电泳样品

GenomeLab™ GeXP	量 / 孔
SLS 上样液	28.7 μ L
SizeStandard-400/Size 420	0.3 μ L
PCR 产物	1 μ L
矿物油	1 滴

- 2）准备分离液：将约 200 μ L 分离液加入 96 孔分离液板上适当数目的孔中。
- 3）GenomeLab™ GeXP 遗传分析系统毛细电泳分离样品。选择“Frag-3”样品分离方法（详见 GenomeLab™ GeXP 遗传分析系统说明书）。

10 阳性判断值

标准品在毛细电泳平台的电泳结果参考图见图 1。

- 扩增产物中目的位点峰高度低于该道毛细管标准品低峰（NegS）的，判该位点阴性；
- 扩增产物中目的位点峰高度高于该道毛细管标准品高峰（PosS）的，判该位点阳性；
- 扩增产物中目的位点峰高度高于该道毛细管标准品低峰、但低于标准品高峰的，判该位点灰区；
- 扩增产物中目的位点峰高度落在灰区的样品，建议重新进行核酸提取、扩增并电泳分析。该位点若仍落在灰区的，判阳性；若落在阳性区域的，判阳性；若落在阴性区域的，判阴性。
- 标准品和目的峰的具体峰高度请参见毛细电泳仪软件上的峰高度示数。

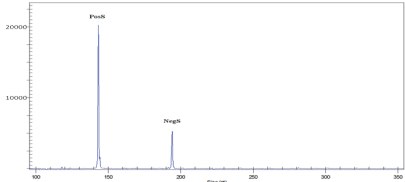


图 1A、标准品电泳参考图 -GenomeLab™ GeXP 遗传分析系统

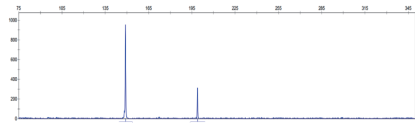


图 1B、标准品电泳参考图 -3500Dx 基因分析仪

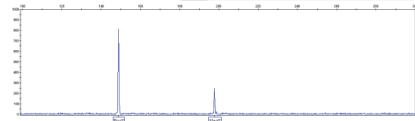


图 1C、标准品电泳参考图 -3500xL Dx 基因分析仪

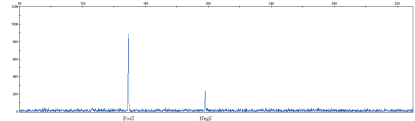


图 1D、标准品电泳参考图 -T400 Sanger 测序仪

11 检验结果的解释

1. 质量控制：
- 1.1 以阳性对照为模板的峰型图中必须出现13个病原体特征峰和3个内参峰，共16个峰，且16个峰的峰高度均高于该道毛细管中标准品高峰（PosS峰）（图2），实际片段长度与参考片段长度的差距绝对值小于1.5nt，各个检测靶点和内参的对应扩增片段大小参见表1. 13种呼吸道病原体多重检测试剂盒所检测的病原体对应扩增片段信息表。
- 1.2 以阴性对照为模板的峰型图中必须出现人DNA内参（huDNA）峰和RT-PCR内参（IC）峰，且这2个内参峰的峰高度均高于该道毛细管中标准品高峰（PosS峰）（图3），可以出现或不出现人RNA内参峰，不能出现本试剂盒检测病原体特征峰；实际片段长度与参考片段长度的差距绝对值小于1.5nt。
- 1.3 在同一次实验中，在满足质量控制要求的前提下对待检样品的检测结果进行判定；否则，当次实验无效，实验重新进行。
2. 结果判定：
- 2.1 阴性结果判定
- 未出现病原体特征峰或病原体特征峰为阴性时，如果出现人DNA内参峰、人RNA内参峰和RT-PCR内参峰且3个内参峰高于PosS峰高时，则检测结果判定为阴性；如果未出现人DNA内参峰和人RNA内参峰或峰高低于PosS峰高时，则考虑样本取样或保存不当，应重新取样进行提取检测；如果未出现RT-PCR内参峰或峰高低于PosS峰高时，则考虑检测失败，应重新对样本进行提取检测。
- 2.2 阳性结果判定
- 病原体特征峰为阳性时，检测结果判定为该病原体阳性。
- 2.3 灰区结果判定
- 病原体特征峰为灰区时，需从样本提取开始重新检测；灰区样本重新检测结果若位于灰区或阳性，则判定为该病原体阳性；重复检测结果若为阴性，则判定为该病原体阴性。
- 病原体检测结果示例见图4。
3. 甲型流感病毒H1N1（2009）和季节性H3N2病毒阳性的判定方法：
- 当病原体特征峰09H1和InfA均为阳性时，判定为甲型流感病毒H1N1（2009）阳性。
- 当病原体特征峰InfA和09H1峰高度出现1个或者2个峰位于灰区时，进行重复检测。重复检测结果中，仅当InfA和09H1峰为阳性或灰区时，判定为甲型流感病毒H1N1（2009）阳性。
- 除以上述情况外，其余情况均不能判定为甲型流感病毒H1N1（2009）阳性。
- 季节性H3N2病毒阳性的判定方法同甲型流感病毒H1N1（2009）。

表1. 13种呼吸道病原体多重检测试剂盒所检测的病原体对应扩增片段信息表			
靶点/内参	简称	GenomeLab™ GeXP	3500Dx、3500xL Dx、T400
		±1.5nt	±1.5nt
甲型流感病毒	InfA	105.0	105.2
腺病毒	HADV	110.2/113.9	112.7/114.7
博卡病毒	Boca	121.6	121.1
鼻病毒	HRV	129.6	129.5
人RNA内参	huRNA	148.6	147.0
甲型流感病毒H1N1(2009)	09H1	163.3	158.6
副流感病毒	HPIV	181.6	179.1
衣原体	Ch	190.5	188.2
偏肺病毒	HMPV	202.8	199.9
乙型流感病毒	InfB	212.7	207.0
肺炎支原体	Mp	217.0	212.3
人DNA内参	huDNA	235.5	232.6
季节性H3N2病毒	H3	244.9	241.0
冠状病毒	HCOV	265.1	261.7
呼吸道合胞病毒	HRSV	280.3	276.7
RT-PCR内参	IC	315.9	313.0

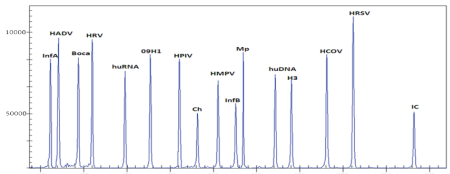


图 2A、阳性对照峰型参考图 -GenomeLab™ GeXP 遗传分析系统

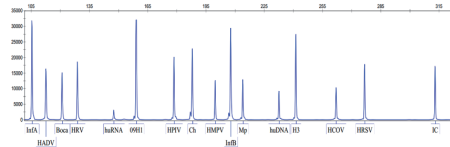


图 2B、阳性对照峰型参考图 -3500Dx 基因分析仪

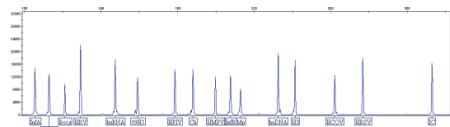


图 2C、阳性对照峰型参考图 -3500xL Dx 基因分析仪

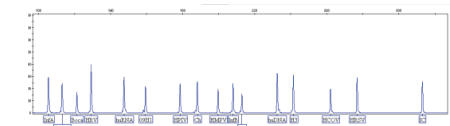


图 2D、阳性对照峰型参考图 -T400 Sanger 测序仪

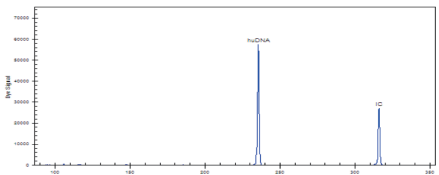


图 3A、阴性对照峰型参考图 -GenomeLab™ GeXP 遗传分析系统

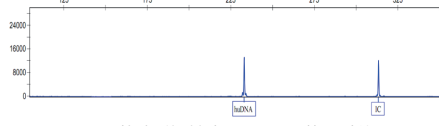


图 3B、阴性对照峰型参考图 -3500 Dx 基因分析仪

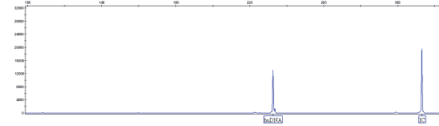


图 3C、阴性对照峰型参考图 -3500xL Dx 基因分析仪

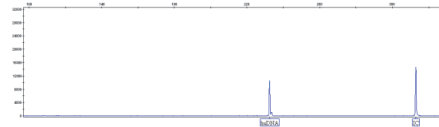
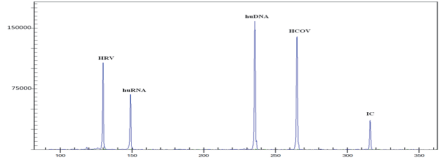
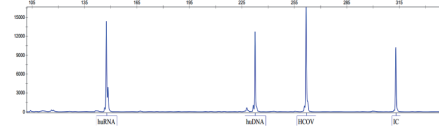


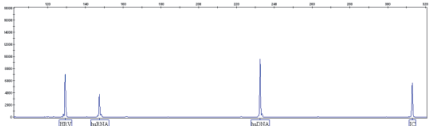
图 3D、阴性对照峰型参考图 -T400 Sanger 测序仪



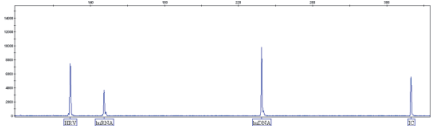
出现 huRNA、huDNA 和 IC 内参峰，出现 HCOV 和 HRV 特征峰；且上述 5 个峰的峰高度均高于该道毛细管标准品高峰，判定该样品为冠状病毒和鼻病毒复合感染。



出现 huRNA、huDNA 和 IC 内参峰，出现 HCOV 特征峰；且上述 4 个峰的峰高度均高于该道毛细管标准品高峰，判定该样品为冠状病毒感染。



出现 huRNA、huDNA 和 IC 内参峰，出现 HRV 特征峰；且上述 4 个峰的峰高度均高于该道毛细管标准品高峰，判定该样品为鼻病毒感染。



出现 huRNA、huDNA 和 IC 内参峰，出现 HRV 特征峰；且上述 4 个峰的峰高度均高于该道毛细管标准品高峰，判定该样品为鼻病毒感染。

12 检验方法的局限性

1. 检测结果仅供临床参考，不能单独作为确诊或排除病例的依据。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综合情况考虑。
2. 不合理的样本采集、转运及核酸提取均有可能导致假阴性结果。
3. 病毒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。
4. 试剂盒运输、保存不当或试剂配制不准确引起的试剂检测效能的下降，可能会出现假阴性结果。
5. 阴性结果仅说明样品中病原体浓度低于本试剂盒的最低检测限或样本中无本试剂盒所检测的病原体，但不能完全排除感染其他病原体的可能。
6. 处理样本时未有效控制污染，可能出现假阳性结果。
7. 当模板浓度过高时，各目的峰峰型可能不能清晰分辨，建议对样本进行适度稀释后重新检测。
8. 对于副流感病毒、冠状病毒、呼吸道合胞病毒和衣原体，若判定为阳性，则仅代表该病原体阳性，不能区分上述四种病原体的具体型别。
9. 对于人咽拭子样本类型，肺炎支原体和衣原体（沙眼衣原体和肺炎衣原体）两个靶点阳性率低于痰液样本。

13 产品性能指标

1. 阳性参考品：符合率100%。
2. 阴性参考品：符合率100%。
3. 本试剂盒对各病原体的最低检测限为：

病原体	数值	病原体	数值
甲型流感病毒	0.098 TCID ₅₀ /mL	鼻病毒	0.15 TCID ₅₀ /mL
甲型流感病毒 H1N1(2009)	0.098 TCID ₅₀ /mL	偏肺病毒	0.35 TCID ₅₀ /mL
季节性 H3N2 病毒	0.1 TCID ₅₀ /mL	博卡病毒	5,000 Copies/mL
乙型流感病毒（Victoria 和 Yamagata）	2.0 TCID ₅₀ /mL	腺病毒	2,000 Copies/mL 或 1 TCID ₅₀ /mL
呼吸道合胞病毒（A 组和 B 组）	0.4 TCID ₅₀ /mL		
副流感病毒（1 型、2 型、3 型和 4 型）	0.4 TCID ₅₀ /mL	衣原体	5,000 Copies/mL
冠状病毒（OC43、HKU1、NL63 和 229E）	0.3 TCID ₅₀ /mL	肺炎支原体	3,000 Copies/mL

4. 本试剂盒检测“甲/乙型流感病毒核酸检测试剂国家参考品”和“甲型H1N1流感病毒核酸检测试剂国家参考品”均符合要求。
5. 与以下浓度的病原体样本无交叉反应：

巨细胞病毒 7.5×10 ⁶ Copies/mL	解脲支原体 2.7×10 ⁵ Copies/mL	EB 病毒 1.4×10 ⁹ Copies/mL	金黄色葡萄球菌 5.0×10 ⁶ CFU /mL
化脓链球菌 1.5×10 ⁶ CFU/mL	表皮葡萄球菌 6.2×10 ⁶ CFU/mL	粪肠球菌 2.6×10 ⁹ CFU/mL	铜绿假单胞菌 3.0×10 ⁹ CFU/mL
肺炎克雷伯杆菌 7.3×10 ⁷ CFU/mL	大肠埃希氏菌 5.8×10 ¹¹ CFU/mL	麻疹病毒 国家参考品	腮腺炎病毒 国家参考品
风疹病毒 国家参考品	水痘带状疱疹病毒 国家参考品	铜绿假单胞菌 国家参考品	大肠埃希氏菌 国家参考品

6. 内源性物质：粘蛋白（20 mg/mL）和血液（5%）不干扰本试剂盒的检测结果；样本中可能存在药峰浓度的硫酸沙丁胺醇（1.2mg/mL），醋酸地塞米松（5 mg/mL）、盐酸羟甲唑啉（0.15 mg/mL）不干扰本试剂盒检测结果。
7. 重复性：对重复性参考品进行10次重复检测，结果一致。
8. 临床试验：本试剂盒在三家临床机构进行了对比试验，采用一代测序方法作为对比方法，检测的样品为痰液，样本总量为1650例。在1650例样本中，被考核试剂和对照（测序法）检测结果的阳性符合率为100%，阴性符合率为99.94%，总符合率为99.95%。
- 988例痰液样本被考核试剂和已上市对比试剂检测结果的阳性符合率为90.34%，阴性符合率为99.08%，总符合率为98.23%；665例咽拭子样本被考核试剂和已上市对比试剂检测结果的阳性符合率为92.97%，阴性符合率为98.82%，总符合率为98.17%；655例咽拭子和痰液同源比对检测结果的阳性符合率为85.16%，阴性符合率为99.43%，总符合率为98.15%。

14 注意事项

1. 本试剂盒仅用于体外诊断。
2. 实验前请仔细阅读本试剂盒说明书，严格按操作步骤执行，不可变更。
3. 使用本试剂盒时，应遵循临床基因扩增实验室的技术规范进行操作。临床基因扩增实验室应该分为以下三个区域：准备区、加样区、扩增检测区；各区的仪器、耗材、试剂等不能交叉使用。
4. 实验人员应接受过专业培训并具备相关的实验操作资质；实验室应具备合理的生物安全防护设施及防护程序；操作人员需穿实验服、佩戴口罩与一次性无粉乳胶手套操作；操作过程中要仔细、干净，防止交叉污染。
5. 检测过程中用到的所有耗材如离心管、吸头等均为无菌且无核酸酶，推荐使用带滤芯的吸头。
6. 在打开试剂管盖之前确保试剂完全融解且充分涡旋混匀（RT-PCR酶液除外），并离心5~10秒，使试剂落在管底部。
7. RT-PCR酶液对热敏感，最好随用随取，用完即放回冰箱，防止影响酶的活性。配制好的扩增体系应置于冰上。
8. 呼吸道13重预混液和标准品对光照敏感，应避免保存，开盖后尽快使用。
9. 完成样本核酸提取后，建议马上进行核酸扩增，否则请将核酸置于-25~-15℃暂存，推荐保存在-85~-75℃，并避免反复冻融。
10. 分装每个样品时，均应更换吸头。
11. 检查所有需使用的仪器设备，是否运作正常，以求精确与正确的操作。
12. 实验废弃物均需按照医疗废弃物处理。
13. 收到本产品时如发现有破损，请不要使用，并与客服联系。
14. 本试剂盒所含的标准品为荧光标记的DNA片段，用来测量毛细管不同孔道间的荧光信号并参与结果判断。a.标准品需避光保存并尽量避免反复冻融；b.同一批次的标准品仅能用来判断该批次体系的扩增产物的结果；c.毛细电泳仪搬动、更换毛细管或对光路进行维护后，需重新对标准品进行电泳，并收集各道毛细管中标准品峰高度的数据后，用于后续检测结果的判断。

15 参考文献

1. Gunson RN, Collins TC,CarmanWF,et al.Real-time RT-PCR detection of 12 respiratory viral infections in four triplex reactions.JClinVirol,2005,33(4):341-344.
2. Jansen RR,SchinkelJ,KoekkoekS,et al.Development and evaluation of a four-tube real time multiplex PCR assaycovering fourteen respiratory viruses,and comparison to its corresponding single target counterparts.ClinVirol,2011,51(3):179-185.
3. GinocchioCC,ZhangF,ManjiR,et al.2009.Evaluation of multiple test methods for the detection of the novel 2009 influenza A (H1N1) during the New York City outbreak.JClinVirol,2009,45(3):191-195.

16 基本信息

注册人/生产企业名称：宁波海尔施基因科技股份有限公司
住所：宁波市科技园区明珠路396号
邮政编码：315040
电话号码：+86-574-27978799
传真号码：+86-574-26868392
售后服务单位名称：宁波海尔施基因科技股份有限公司
邮政邮编：315040
电话号码：+86-574-27978799
传真号码：+86-574-26868392
生产 地址：宁波市科技园区明珠路396号
生产许可证编号：浙食药监械生产许 20130074号

17 医疗器械注册证编号 / 技术要求编号

国械注准 20183400518

18 说明书核准日期及修改日期

核准日期：2018-11-20 修改日期：2020-11-30 修改日期：2022-02-09



宁波海尔施基因科技股份有限公司
地址：宁波市科技园区明珠路 396 号
服务热线：0574-27978799
技术支持：support@hgt.cn

