

呼吸道病原体多重核酸检测试剂盒（PCR-荧光探针法）说明书			
【产品名称】			
通用名称：呼吸道病原体多重核酸检测试剂盒（PCR-荧光探针法）			
【包装规格】			
预分装，24 人份/盒；大包装，24 人份/盒；			
预分装 A，48 人份/盒；预分装 B，48 人份/盒；			
大包装 A，48 人份/盒；大包装 B，48 人份/盒。			
【预期用途】			
本试剂盒用于体外定性检测人咽拭子样本中的甲型流感病毒、乙型流感病毒、呼吸道合胞病毒、肺炎支原体、腺病毒和人鼻病毒的核酸。			
本试剂盒可区分样本中上述不同病原体，但无法区分同一病原体的具体型别。检测结果可用于疑似呼吸道感染患者的辅助诊断，为呼吸道病原体感染提供分子诊断依据。检测结果仅供临床参考，不可作为确诊或排除病例的唯一依据，需临床医师结合临床病史、症状及其他诊断结果综合判定。			
呼吸道感染是指病原体从人体的鼻腔、咽喉、气管和支气管等部位侵入而引起的有传染性的疾病，根据感染部位，分为上呼吸道感染（鼻、咽、喉）和下呼吸道感染（气管、支气管、肺）。常见的呼吸道感染病原体有流感病毒、呼吸道合胞病毒、人鼻病毒、腺病毒及肺炎支原体等。			
流感病毒可分为甲（A）、乙（B）、丙（C）、丁（D）四个型别，其中，甲型流感病毒（FluA）和乙型流感病毒（FluB）是引起流行性感冒的主要病原体，前者可分为 18 个 H 亚型和 11 个 N 亚型，后者分为 Yamagata 系和 Victoria 系。呼吸道合胞病毒（RSV）只有一个血清型，分为 A 和 B 两个亚型。早期症状多局限于上呼吸道，如鼻塞、流涕、咳嗽等，少数可发展为下呼吸道症状（如肺炎）。肺炎支原体（MP）是社区获得性肺炎的常见病原体，临床表现为喉咙痛、疲乏、发热、咳嗽缓慢加重。腺病毒（AdV）属于腺病毒科，分为 7 个亚属（A-G）。其中，B 亚属的 3 型和 7 型是引起我国呼吸道感染的主要型别。人鼻病毒（HRV）是导致呼吸道感染中重要的致病因子，临床表现为鼻塞、流涕、咽痛、发热或咳嗽等上呼吸道感染症状。目前，人鼻病毒有 A/B/C 三个亚型，A 型和 C 型是人鼻病毒感染的主要亚型。			
【检验原理】			
本试剂盒采用多重实时荧光 PCR 技术，针对待检测病原体核酸保守区设计特异性引物、特异荧光探针，配以 PCR 反应液等组分。在 PCR 扩增过程中，探针与核酸模板结合，探针的 5'端报告基团被 Taq DNA 聚合酶（5'→3'外切核酸酶活性）切断，进而远离淬灭基团，产生荧光信号。通过收集 PCR 扩增产生的荧光信号，确定待测样本中是否含呼吸道病原体核酸。试剂盒 PCR 检测体系同时设置有阳性内对照（内标），通过检测待测样本中编码甘油醛-3-磷酸脱氢酶（GAPDH）管家基因是否正常，进而来监测待测样本的提取过程和 PCR 扩增过程，从而避免导致假阴性结果。			
【主要组成成分】			
本试剂盒有以下六种包装形式组成：			
类别	组成名称	规格及数量	主要成分
预分装 A，48 人份/盒	PCR 反应液 A	10 μL/管×3 排	FluA 引物探针、FluB 引物探针、RSV 引物探针、内标引物探针、PCR 反应预混液等
	PCR 反应液 B	10 μL/管×3 排	MP 引物探针、AdV 引物探针、HRV 引物探针、内标引物探针、PCR 反应预混液等
	阳性对照	1 mL/管×1 管	含靶基因片段的假病毒颗粒、克隆菌液
	阴性对照	1 mL/管×1 管	慢病毒颗粒
大包装，24 人份/盒	PCR 反应液 A	240 μL/管×1 管	FluA 引物探针、FluB 引物探针、RSV 引物探针、内标引物探针、PCR 反应预混液等
	PCR 反应液 B	240 μL/管×1 管	MP 引物探针、AdV 引物探针、HRV 引物探针、内标引物探针、PCR 反应预混液等
	阳性对照	1 mL/管×1 管	含靶基因片段的假病毒颗粒、克隆菌液
	阴性对照	1 mL/管×1 管	慢病毒颗粒

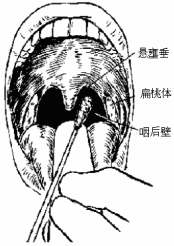
类别	组成名称	规格及数量	主要成分
预分装 A，48 人份/盒	PCR 反应液 A	10 μL/管×6 排	FluA 引物探针、FluB 引物探针、RSV 引物探针、内标引物探针、PCR 反应预混液等
	阳性对照	1 mL/管×1 管	含靶基因片段的假病毒颗粒、克隆菌液
	阴性对照	1 mL/管×1 管	慢病毒颗粒
预分装 B，48 人份/盒	PCR 反应液 B	10 μL/管×6 排	MP 引物探针、AdV 引物探针、HRV 引物探针、内标引物探针、PCR 反应预混液等
	阳性对照	1 mL/管×1 管	含靶基因片段的假病毒颗粒、克隆菌液
	阴性对照	1 mL/管×1 管	慢病毒颗粒
大包装 A，48 人份/盒	PCR 反应液 A	240 μL/管×2 管	FluA 引物探针、FluB 引物探针、RSV 引物探针、内标引物探针、PCR 反应预混液等
	阳性对照	1 mL/管×1 管	含靶基因片段的假病毒颗粒、克隆菌液
	阴性对照	1 mL/管×1 管	慢病毒颗粒
大包装 B，48 人份/盒	PCR 反应液 B	240 μL/管×2 管	MP 引物探针、AdV 引物探针、HRV 引物探针、内标引物探针、PCR 反应预混液等
	阳性对照	1 mL/管×1 管	含靶基因片段的假病毒颗粒、克隆菌液
	阴性对照	1 mL/管×1 管	慢病毒颗粒

备注：1. 不同批号试剂盒中各组分不可以互换。
2. 阳性对照为人工构建，不具有传染性。
3. 需要但未提供的试剂：广州美基生物科技有限公司的核酸提取或纯化试剂（粤穗械备 20150062 号），如需使用其它核酸提取或纯化试剂，请自行验证。

【储存条件及有效期】
试剂盒-20±5℃避光密闭保存，有效期为 12 个月。
开瓶稳定性实验结果表明：大包装试剂盒在开瓶后，每周使用 1 次、共连续进行 3 次开瓶，性能稳定。
冻融稳定性实验结果表明：本试剂反复冻融 5 次，性能稳定。
运输稳定性实验结果表明：本试剂盒冷链运输 7 天，性能稳定。
生产日期及失效日期请见外包装盒。

【适用仪器】
适用于上海宏石医疗科技有限公司的全自动医用 PCR 分析系统（型号：SLAN-96P）。

【样本要求】
1. 适用样本类型：口咽拭子。
2. 样本采集：用采样拭子越过舌根，在被采集者双侧咽扁桃体及咽后壁（见下图）擦拭数次，然后将拭子头浸入采样液〔（生理盐水或一次性使用病毒采样管（京海械备 20200033）〕中，在采样液中挤压拭子头部数次，用力折断拭子尾部，将拭子的尾部弃去，旋紧管盖，密闭送检。



3. 样本保存和运输：经上述处理的样本可立即用于测试，也可置于 2~8℃保存，72 小时内完成检测；-20±5℃条件下保存 10 个月；于-60℃及以下保存 24 个月。样本冻融次数不可超过 5 次。适用于本试剂的样本在提取核酸后，应尽快完成检测，如需要先保存再检测，推荐保存条件为：2~8℃保存不超过 24 小时，-20±5℃保存不超过 7 天。标本运送采用冰壶加冰或泡沫箱加冰密封进行运输，长途运输建议采用干冰等制冷方式进行保藏。

【检验方法】
1. 样本处理和核酸提取（标本制备区）
分别取 200 μL 待测样本、阴性对照、阳性对照到 1.5 mL 离心管中，具体操作步骤请按照核酸提取或纯化试剂的说明书进行。

2. PCR 试剂准备（试剂储存和准备区）
(1) 预分装，24 人份/盒；预分装 A，48 人份/盒；预分装 B，48 人份/盒
根据待测样本、阴性对照、阳性对照的数量，取出 N 个〔N=（待测样本个数+阳性对照+阴性对照）〕PCR 反应液 A（标识“A1~A8”的八联管）和/或 PCR 反应液 B（标识“B1~B8”的八联管），待其溶解后，2000 rpm 离心 5~10 秒备用。
(2) 大包装，24 人份/盒；大包装 A，48 人份/盒；大包装 B，48 人份/盒
取出试剂盒中各组分，待其溶解后，涡旋混匀，取 N 个〔N=（待测样本个数+阳性对照+阴性对照）〕PCR 反应液 A 和/或 PCR 反应液 B，分成 A、B 组，每组 PCR 反应管分别加入 10 μL 对应的 PCR 反应液 A、PCR 反应液 B。

3. 加样（标本制备区）
在分装好 PCR 反应液 A、B 反应管中分别加入 10 μL 提取的待测样本核酸、阳性对照和阴性对照，总反应体积为 20 μL，扣紧管盖，瞬时离心转移至扩增检测区。

4. PCR 扩增（扩增区）
(1) 将反应管放入 PCR 仪的样品槽内，按对应顺序设置阳性对照、阴性对照及待测样本，并设置样本名称。
(2) 荧光通道设置如下：

	FAM	ROX	CY5	HEX(或 VIC)
PCR 反应管 A	RSV	FluB	FluA	内标
PCR 反应管 B	MP	HRV	AdV	内标

步骤		条件	循环数
1	逆转录	55℃：15 分钟	1
2	预变性	95℃：30 秒	1
3	PCR	95℃：10 秒 57℃：30 秒 <u>采集荧光</u>	45
4	仪器冷却（可选）	25℃：10 秒	1

设置完毕，保存文件，运行反应程序。

5. 结果分析（请参照仪器使用说明书进行设置）
反应结束后自动保存结果，对检测靶标以及内标的扩增曲线进行分析。根据分析后图像调节基线起点、基线终点以及阈值（用户可根据实际情况进行调整，基线起点值可以设在 3~15、基线终点值可设在 5~20，调整阴性对照的扩增曲线使其平直或低于阈值线），点击分析进行分析，使各项参数符合下述“6. 质量控制”的要求，然后到实验分析窗口下记录定性结果。

6. 质量控制
(1) 阴性对照：PCR 反应液 A 和 PCR 反应液 B 分别检测阴性对照，检测内标为阳性，即 VIC（或 HEX）通道有明显 S 型扩增曲线，且 Ct 值≤38，其余 FAM、CY5 和 ROX 通道无扩增曲线（NoCt）或 Ct 值>38；
(2) 阳性对照：PCR 反应液 A 和 PCR 反应液 B 分别检测阳性对照，检测 FAM、ROX 和 CY5 通道均有明显 S 型扩增曲线，且检测 Ct 值应符合 24≤Ct≤34，VIC（或 HEX）通道无明显扩增曲线（NoCt）或 Ct 值>38；
(3) 以上要求需在同一次实验中同时满足，否则，本次实验无效，需重新进行。

【阳性判断值】
阳性判断值通过对具有呼吸道病原体感染症状的 392 例临床样本进行研究，采用受试者工作特征曲线（receiver operating characteristic，ROC）法计算得到。确定本试

试剂盒检测目标基因的 Ct 阳性判断值为 38，内标 Ct 阳性判断值为 38。

【检验结果的解释】

1. 阴性判断

阴性对照检测有效，待测样本有明显 S 型扩增曲线，且各病原的阴性按下表所示 Ct 值进行判断：

PCR 反应管 A	FAM		ROX		CY5		VIC（或 HEX）	
	RSV 阳性	RSV 阴性	FluB 阳性	FluB 阴性	FluA 阳性	FluA 阴性	内标 阳性	内标 阴性
	Ct 值 ≤38	NoCt 或 Ct >38	Ct 值 ≤38	NoCt 或 Ct >38	Ct 值 ≤38	NoCt 或 Ct >38	Ct 值 ≤38	NoCt 或 Ct >38
PCR 反应管 B	MP 阳性	MP 阴性	HRV 阳性	HRV 阴性	AdV 阳性	AdV 阴性	内标 阳性	内标 阴性
	Ct 值 ≤38	NoCt 或 Ct >38	Ct 值 ≤38	NoCt 或 Ct >38	Ct 值 ≤38	NoCt 或 Ct >38	Ct 值 ≤38	NoCt 或 Ct >38

2. 对于阳性样本，内标检测结果不做要求；对于阴性样本，其内标检测应为阳性（Ct 值 ≤38），若其内标 Ct 值 >38 或无显示，则该样本的检测结果无效，应查找并排除原因，并对此样本重新采样，进行重复试验。

【检验方法的局限性】

1. 本试剂盒的检测结果仅供临床参考，对患者的临床治疗应结合其症状/体征、病史、其它实验室检测及治疗反应等情况综合考虑。
2. 样本处理时没有控制好交叉污染，可能出现假阳性结果。
3. 样本检测结果与样本收集、处理、运送及保存质量有关，不合理的样本采集、转运、储存及处理过程均有可能导致错误的检测结果。
4. 由于不同提取方法的原理不同，采用不同核酸提取试剂进行样本处理时核酸提取效率存在一定差异，建议使用本试剂盒推荐使用的核酸提取或纯化试剂，用户可根据需求进行选择确认。
5. 本试剂盒检测是针对病原体的保守区，极少发生突变，但不排除病原体在流行过程中的基因突变可能导致假阴性结果。
6. 待检核酸序列可能长时间出现在体内，而与病原体活性无关，核酸检测阳性并不意味着目前感染了相应病原体或其为临床症状的致病因子。
7. 在不同病程、不同阶段采集的标本检测结果可能不相同。
8. 取标本期间如接种流感疫苗，可能会得到不准确的阳性结果。

【产品性能指标】

1. 阴性符合率：检测 12 份企业阴性参考品阴性符合率为 100%。
2. 阳性符合率：检测 30 份企业阳性参考品阳性符合率为 100%。
3. 精密性：检测 9 份精密性参考品各 10 次，相应病原体检测通道 Ct 值的变异系数不大于 5.0%。
4. 根据产品性能评估结果，本试剂盒甲型流感病毒、乙型流感病毒、呼吸道合胞病毒、肺炎支原体、腺病毒和人鼻病毒的检出限如下 1 所示：

病原	最低检出限	病原	最低检出限
甲型流感病毒	600 copies/mL	肺炎支原体	500 copies/mL
乙型流感病毒	600 copies/mL	腺病毒	500 copies/mL
呼吸道合胞病毒	500 copies/mL	人鼻病毒	500 copies/mL

本试剂盒检测第二代甲/乙型流感病毒核酸检测试剂国家参考品：流感的阳性符合率（+/+）为 10/10；流感的阴性符合率（-/-）为 10/10；精密性（CV，%）：CV 均不大于 5.0%；最低检出限：检出限参考品 L1 ~ L2：浓度为 1.2×10³ U/mL 及以上时，检测结果为乙型流感阳性、甲型流感阴性；L3 ~ L5：浓度为 1.2×10³ U/mL 及以上时，检测结果为甲型流感阳性、乙型流感阴性。

5. 特异性：本试剂盒涵盖的各呼吸道病原菌之间无交叉反应，与常见呼吸道病原体无交叉反应（见下表）。

巨细胞病毒 1.9×10 ⁶ PFU/mL	白念珠菌 1.88×10 ⁶ CFU/mL	金黄色葡萄球菌 2.9×10 ⁶ CFU/mL
柯萨奇病毒 A 型 4.8×10 ⁶ PFU/mL	嗜肺军团菌 2.15×10 ⁷ CFU/mL	大肠杆菌 1.21×10 ⁷ CFU/mL

百日咳杆菌 1.32×10 ⁶ CFU/mL	博卡病毒 5.33×10 ⁷ copies/mL	铜绿假单胞菌 1.78×10 ⁷ CFU/mL
肺炎衣原体 1.11×10 ⁷ copies/mL	单纯疱疹病毒 1 型 5.1×10 ⁶ PFU/mL	人副流感病毒 1 型 4.9×10 ⁵ PFU/mL
流感嗜血杆菌 1.02×10 ⁶ CFU/mL	水痘带状疱疹病毒 4.7×10 ⁵ PFU/mL	偏肺病毒 9.2×10 ⁵ PFU/mL
唾液链球菌 9.84×10 ⁶ CFU/mL	白喉棒状杆菌 1.87×10 ⁶ CFU/mL	肠道病毒 71 型 4.1×10 ⁵ PFU/mL
肺炎链球菌 3.32×10 ⁶ CFU/mL	保加利亚乳酸杆菌 2.35×10 ⁶ CFU/mL	诺如病毒 2.78×10 ⁷ copies/mL
脑膜炎奈瑟菌 1.21×10 ⁶ CFU/mL	卡他莫拉菌 1.78×10 ⁷ CFU/mL	轮状病毒 2.1×10 ⁶ PFU/mL
结核分枝杆菌 3.46×10 ⁶ CFU/mL	表皮葡萄球菌 6.3×10 ⁶ CFU/mL	光滑念珠菌 5.06×10 ⁶ CFU/mL
人副流感病毒 3 型 2.6×10 ⁵ PFU/mL	化脓性链球菌 9.4×10 ⁵ PFU/mL	人冠状病毒 229E 2.5×10 ⁵ PFU/mL
人副流感病毒 2 型 1.8×10 ⁵ PFU/mL	肺孢子菌 4.34×10 ⁷ copies/mL	SARS 冠状病毒 8.33×10 ⁶ copies/mL
EB 病毒 1.3×10 ⁷ copies/mL	肺炎克雷伯菌 8.7×10 ⁶ CFU/mL	MERS 冠状病毒 6.94×10 ⁶ copies/mL
隐球菌 8.24×10 ⁶ CFU/mL	麻疹病毒 2.8×10 ⁶ PFU/mL	新型冠状病毒 2019-nCoV 5.1×10 ⁶ PFU/mL
烟曲霉 1.64×10 ⁷ CFU/mL	腮腺炎病毒 2.3×10 ⁶ PFU/mL	黄曲霉 4.3×10 ⁶ CFU/mL
风疹病毒 4.6×10 ⁵ PFU/mL		

另外，本试剂盒在以下浓度的内/外源干扰物质中，未被干扰：

物质	活性成分	终浓度
血液（人类）	人全血	20%（v/v）
粘蛋白	纯化粘蛋白	20 µg/mL
鼻腔喷雾剂或滴鼻剂	苯福林	100 µg/mL
	盐酸羟甲唑啉	100 µg/mL
	氯化钠（含防腐剂）	60 µg/mL
鼻用皮肤类固醇	倍氯美松	50 µg/mL
	地塞米松	50 µg/mL
	布地奈德	50 µg/mL
	莫米松	50 µg/mL
	氟替卡松	50 µg/mL
	氟尼缩松	10 µg/mL
	曲安奈德	100 µg/mL
过敏性症状缓解药物	盐酸组胺	50 µg/mL
润喉片、口服麻醉剂和镇痛剂	苯佐卡因	50 µg/mL
	薄荷脑	50 µg/mL
抗病毒药物	扎那米韦	100 µg/mL
	利巴韦林	100 µg/mL
	奥司他韦	100 µg/mL
	帕拉米韦	100 µg/mL
抗生素、鼻用软膏	阿奇霉素	100µg/mL
	莫匹罗星	50 µg/mL
全身性抗菌药	妥布霉素	50 µg/mL
其他	SDS	100 µg/mL

呼吸道病原体多重核酸检测试剂盒（PCR-荧光探针法）说明书

	EDTA	10 µg/mL
	尿素	100 µg/mL
	FeCl ₃	100 µg/mL
	血红素	10 µg/mL

6. 临床性能：本试剂盒在六家研究中心开展临床试验，采用同类已上市产品进行对比研究。首次试验和人鼻病毒的补充试验纳入统计的 1844 例符合率情况如下：甲型流感病毒总符合率 99.89%；乙型流感病毒总符合率 100%；呼吸道合胞病毒总符合率 99.89%；肺炎支原体总符合率 100%；腺病毒总符合率 99.89%；人鼻病毒总符合率 99.89%。乙型流感病毒的补充试验纳入统计的 500 例符合率情况如下：乙型流感病毒总符合率 100%。

【注意事项】

1. 本试剂盒用于体外检测，使用前请仔细阅读本说明书。
2. 整个检测过程应在三区进行：试剂储存和准备区、标本制备区、扩增区。各区使用的仪器、设备、耗材和工作服应独立专用。实验后即请清洁工作台，并进行消毒。
3. 使用不含荧光物质的一次性手套（经常替换）、一次性专用离心管、移液器和带滤嘴吸头。
4. 样本处理应在生物安全柜内进行操作，以防止污染环境和保护操作者。
5. 操作人员应经过专业培训，具有一定经验和操作技能。
6. 操作台、移液器、离心机、PCR 扩增仪等仪器设备应经常用 10%次氯酸或 75%酒精、紫外线灯或臭氧消毒处理。
7. 实验中接触过对照品的废弃物品（如吸头）、扩增完毕的离心管、样本等应进行无害处理后方可丢弃。
8. 试剂使用前应在室温下充分融化并混匀。
9. 反应管/板中尽量避免气泡存在，扣紧 PCR 反应管盖。
10. 不同批号的试剂请勿混用，请在有效期内使用试剂盒。
11. 临床实验室应严格按照分子生物学实验室、临床基因扩增实验室要求执行。
12. 产品性能仅针对说明书中适用样本类型及样本采集和处理方法进行了验证，其他样本类型或样本采集、处理方法不能保证产品性能。

【参考文献】

- [1] 中华医学会儿科学分会临床检验学组.儿童肺炎原体呼吸道感染实验室诊断中国专家共识[J].中华检验医学杂志, 2019, 42(7):507-513.
- [2] 童永清,赵志军,徐万洲,等.急性呼吸道感染病原体的临床检验诊断路径[J].中华检验医学杂志, 2020, 43(7):4.
- [3] Jia L , Hongwu A , Ying X ,et al.Prevalence and Correlation of Infectious Agents in Hospitalized Children with Acute Respiratory Tract Infections in Central China[J].Plos One, 2015, 10(3):e0119170.
- [4] 国家呼吸系统疾病临床医学研究中心生物样本库专家组.丁永杰,罗文婷,等.呼吸系统疾病生物样本采集保藏管理技术标准和规范[J].中国医药导报, 2021, 18(12):7.

【基本信息】

注册人/生产企业名称：广东辉锦创兴生物医学科技有限公司
住所：佛山市顺德区龙江镇东涌社区居民委员会人民西路 68 号新基国际创意园 C 座 201
联系方式：0757-29266029
售后服务单位名称：广东辉锦创兴生物医学科技有限公司
联系方式：0757-29266029
生产地址：佛山市顺德区龙江镇东涌社区居民委员会人民西路 68 号新基国际创意园 C 座 201、A 座 202
生产许可证编号：粤药监械生产许 20245525 号
【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】
国械注准 20263401042
【说明书批准日期/生效日期及修改日期】
2026 年 05 月 19 日