



新型冠状病毒 2019-nCoV 核酸检测试剂盒（荧光 PCR 法）说明书

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

32 人份/盒、48 人份/盒、96 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感染的肺炎疑似病例、疑似聚集性病例患者、其他需要进行新型冠状病毒感染诊断或鉴别诊断者的口咽拭子、鼻咽拭子和痰液样本中，新型冠状病毒（2019-nCoV）ORF1ab 和 N 基因。

有关“疑似病例”、“疑似聚集性病例”等人群的定义参照《新型冠状病毒肺炎诊疗方案》、《新型冠状病毒感染的肺炎病例监测方案》等文件执行。使用上应当遵守《新型冠状病毒肺炎诊疗方案》、《新型冠状病毒感染的肺炎防控方案》等文件的相关要求。

开展新型冠状病毒核酸检测，应符合《新型冠状病毒感染的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，不能用作临床诊断、治疗唯一标准，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

本产品采用 OneStep 实时荧光 RT-PCR 法，对新型冠状病毒 2019-nCoV 的 ORF1ab 和 N 基因的保守区域设计特异性引物探针，通过 RT-PCR 反应体系中荧光信号的变化，实现对待测样本中 2019-nCoV 的定性检测。

本产品采用 UNG-dUTP 防污染措施，降低 PCR 扩增产物污染的可能性。设有外源性内标，采用一段不含靶基因片段的假病毒，检测过程中与待测样本同步处理，通过内标扩增的正常与否来监控 PCR 反应的有效性，避免假阴性。

主要组成成分

序号	组分	主要成分	12 人份	48 人份	96 人份
1	2019-nCoV PCR 反应液	PCR 缓冲液、Mg ²⁺ 离子、dNTPs、引物、探针	256μL×1 管	384μL×1 管	768μL×1 管
2	2019-nCoV 酶液	逆转录酶、Taq 酶、UNG 酶	64μL×1 管	96μL×1 管	192μL×1 管
3	2019-nCoV 阴性对照品	生理盐水	800μL×1 管	1000μL×1 管	1400μL×1 管
4	2019-nCoV 阳性对照品	含目的扩增片段的假病毒	800μL×1 管	1000μL×1 管	1400μL×1 管
5	2019-nCoV 内标	含内标片段的假病毒	32μL×1 管	48μL×1 管	96μL×1 管

注：①不同批号试剂各组分请勿互换；②实验所需但试剂盒未提供的物品：离心管、0.2 mL PCR 反应管（或八联 PCR 管、96 孔 PCR 板）、带滤芯吸嘴（10 μL、200 μL、1000 μL）等耗材。

配套提取试剂：中元汇吉生物技术股份有限公司的《核酸提取试剂盒（磁珠法）》（备案号：渝械备 20180096 号）。

试剂盒不包含但检测需配套的病毒保存液：友康恒业生物科技公司（北京）有限公司（京械注准 20182400236 号），浙江拱东医疗器械股份有限公司（浙械注准 20152410740 号），江苏健友医疗科技有限公司（苏械注准 20172410782 号），中元汇吉生物技术股份有限公司（渝械备 20200108 号），浙江森瑞生物科技有限公司（浙湖械备 20190003 号）以及生理盐水。

储存条件及有效期

- 在 -20±5℃ 避光保存，有效期为 12 个月。
- 试剂开瓶后，在 2~8℃ 避光保存，有效期为 10 天，反复冻融不宜超过 5 次；

- 生产日期及失效期详见包装标签。

适用仪器

ABI 7500 荧光定量 PCR 仪，SLAN-96P 荧光定量 PCR 仪。

样本要求

- 适用样本类型：口咽拭子、鼻咽拭子、痰液样本。
- 样本采集：按照《新型冠状病毒感染的肺炎实验室检测技术指南（第五版）》的方法进行采集。

鼻咽拭子：将含聚丙烯纤维拭子头的塑料杆采样拭子贴鼻孔进入，沿下鼻道的底部向后缓慢深入，待拭子底部到达鼻咽腔后壁，轻轻旋转一周，然后缓慢取出拭子，将拭子头浸入含 3 mL 保存液的管中，尾部弃去，旋紧管盖。

口咽拭子：将含聚丙烯纤维拭子头的塑料杆采样拭子越过舌根，在被采集者两侧咽喉扁桃体来回擦拭至少 3 次，然后在咽后壁上上下下擦拭至少 3 次，将拭子头浸入含 3 mL 保存液的管中，尾部弃去，旋紧管盖。

痰液样本：被采集者深咳后，将咳出的痰液收集于含 3 mL 保存液的 50 mL 螺口塑料管中，在采集好的痰液样本中加入等体积消化液（含 1 g/L 蛋白酶 K 的磷酸盐缓冲液），震荡混匀，静置 5 min，后续操作按照常规样本操作。

按照上述方法来采集的标本可加入异硫氰酸胍（终浓度 2~3 M），30 min 进行灭活，或 56℃ 加热 30 min 进行灭活。

- 以上预处理样本应立即用于检测，或在 2~8℃ 保存，不超过 24 h；长期保存应置于 -60℃ 以下（如无 -60℃ 条件，可暂存于 -25~-15℃，不超过 2 个月），经提取后的核酸提取液 2~8℃ 保存应不超过 4 h，避免反复冻融。标本运输采用冰壶加冰或泡沫盒加冰密封运输。

检验方法

- 核酸提取（样本处理区进行）

使用中元汇吉生物技术股份有限公司的《核酸提取试剂盒（磁珠法）》（备案号：渝械备 20180096 号），进行 2019-nCoV RNA 的分离制备，样本量为 200 μL。内标参与提取过程，根据待测样本数，按 1 μL 内标/测试，将 2019-nCoV 内标加入配套核酸提取试剂盒中的【蛋白酶 K】，混匀后进行核酸提取，具体提取过程参照说明书进行操作。阳性对照品、阴性对照品与待测样本同步进行核酸提取操作。

- PCR 试剂准备（试剂准备区）

从试剂盒中取出 2019-nCoV PCR 反应液置于室温融化，振荡混匀并瞬时离心后备用，计算所需反应试剂的人份数 N（N=样品数+阴性对照品+阳性对照品），按如下进行反应体系配制：

组分名称	加量（μL）/每人份
2019-nCoV PCR 反应液	8
2019-nCoV 酶液	2
合计	10

配制好的溶液震荡混匀并瞬时离心，按 10 μL/管分装至 PCR 反应管中，将装有反应体系的反应管转移至样本处理区。

- 加样（样本处理区进行）

使用带滤芯吸嘴分别加入 10 μL 待测核酸样本、阴性对照品、阳性对照品，盖紧管盖，短暂离心后转移至扩增检测区避免 PCR 管产生气泡。

- PCR 扩增检测（扩增检测区进行）

将反应管放入荧光 PCR 仪，并记录样本编号及顺序，按下表设置 PCR 扩增参数：

步骤	温度	时间	循环数	
1	UNG 酶反应	37℃	1 分钟	1
2	逆转录	50℃	5 分钟	1
3	预变性	95℃	2 分钟	1
4	变性	95℃	5 秒	
5	扩增、荧光检测	60℃	30 秒	45

步骤 5 中 60℃ 时荧光检测；
其中，ABI7500 报告荧光设置：FAM、ROX、VIC；淬灭荧光设置：None；
Passive Reference 设置：None。
SLAN-96P 荧光设置：通道 1、通道 2、通道 3。

新型冠状病毒 2019-nCoV 核酸检测试剂盒（荧光 PCR 法）说明书

5. 结果分析

反应结束后自动保存结果，对靶标的曲线和相应内标曲线分别进行分析，根据分析后图像调整 Baseline 的 Start 值、End 值及 Threshold 值 (eg: Start 值范围 3~15, End 值范围 5~20)，使阴性对照的扩增曲线平直或低于阈值线，点击 Analyze 获得分析结果，使各项参数符合下述“6. 质量控制程序”中的要求，然后到 Plate 窗口记录检测结果。

6. 质量控制程序

序号	质控品	质控标准
1	阳性对照品	靶标通道 (FAM、ROX) 同时满足：扩增曲线呈典型 S 型，且 Ct 值 < 40。
2	阴性对照品	靶标通道 (FAM、ROX) Ct=45 或无数值，同时内标 (VIC) Ct < 40。

需一次实验中同时满足，否则视为实验无效。

阳性判断值

2 个靶标 (FAM、ROX) 同时满足 Ct 值 < 40，判断为阳性。

检验结果的解释

结果	判断标准
阳性	FAM 和 ROX 通道同时满足：扩增曲线呈典型 S 型，且 Ct 值 < 40，提示 2019-nCoV 病毒为阳性。其中 FAM 通道代表 N 基因，ROX 代表 ORF1ab 基因检测结果。
阴性	FAM、ROX 荧光通道均无 Ct 或者 Ct 值等于 45，同时 VIC 通道 Ct < 40，提示 2019-nCoV 病毒为阴性。
灰区	FAM 或 ROX 有 1 个为阳性，或 40 ≤ Ct < 45，同时 VIC 通道 Ct < 40，提示结果处于灰区，需复测。如复测结果中 FAM 或 ROX 有 1 个通道 Ct < 45，且呈典型扩增曲线，则判断为阳性，否则为阴性。
无效	FAM、ROX 荧光通道 Ct=45 或无数值，同时 VIC 通道 Ct ≥ 40 或无数值，提示结果无效，需重复实验。

检验方法的局限性

- 本试剂盒的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、其他实验室检查及流行病学资料综合判断。
- 不合理的样本采集、转运及处理，以及不当的实验操作和实验环境均有可能导致假阴性或假阳性结果。
- 阴性结果仅说明低于产品检测限，不能完全排除感染。

产品性能指标

- 阴/阳性参考品符合率：检测国家参考品中的阳性参考品，或经标准化的企业阳性参考品，阳性符合率 100%；检测国家参考品中的阴性参考品，或经标准化的企业阴性参考品，阴性符合率 100%。
- 最低检出限：本试剂盒最低检测限为 200 copies/mL。
- 精密度：Ct 值变异系数 (CV, %) < 5%。
- 特异性：与呼吸道其他冠状病毒 (NL63, HKU1, 229E, OC43)、SARS、MERS、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 Yamagata、Victoria、呼吸道合胞病毒 A、B 型、副流感病毒 1、2、3 型、鼻病毒 A、B、C 组、腺病毒 1、2、3、4、5、7、55 型、肠道病毒 A、B、C、D 组、人偏肺病毒、EB 病毒、麻疹病毒、人巨细胞病毒、轮状病毒、诺如病毒、腮腺炎病毒、水痘-带状疱疹病毒、肺炎衣原体、肺炎支原体、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、人类基因组 DNA 等无交叉反应。
- 干扰试验：在潜在最大浓度下，正常人血液、粘蛋白、鼻腔喷雾剂或滴鼻剂 (羟甲唑林、苯福林、氯化钠)、鼻用皮肤类固醇 (地塞米松、倍氯米松、氟尼缩松、曲安奈德、布地奈德、莫米松、氟替卡松)、盐酸组胺、抗病毒药物 (α 干扰素、奥司他韦、扎那米韦、利巴韦林、帕拉米韦、海昔那韦、利托那韦阿比多尔)、抗生素 (左氧氟沙星、头孢曲松、阿奇霉素、美罗培南)、妥布霉素对检测结果未见显著影响。
- 临床评价：在 4 家临床机构完成 789 例临床样本测试，与已

上市同类产品相比，阳性符合率 98.99%，阴性符合率 98.58%，总符合率 98.73%。

注意事项

- 临床实验室应严格按照《医疗机构临床基因扩增实验室管理办法》(卫办医政发〔2010〕194 号) 等有关分子生物学实验室、临床基因扩增实验室的管理规范执行。实验人员必须进行专业培训，实验过程严格分区进行，所用消耗品应灭菌后一次性使用，实验操作的每个阶段使用专用的仪器和设备，各区各阶段用品不能交叉使用。
- 检测样本应视为具有传染性物质，操作和处理均符合相关法规：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》的要求。
- 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。因试剂等样本采集过程及病毒检测过程本身的特点，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。
- 实验完毕，所用器具、设备应用 10% 次氯酸或 70% 乙醇及紫外灯处理。实验中废弃的吸头弃于含 10% 次氯酸的废液缸中，以防止污染。

标识的解释

标识	标识注释	标识	标识注释
IVD	体外诊断医疗器械		生产日期
LOT	批次代码		有效期
	查阅使用说明		温度极限
REF	产品编号		

参考文献

- 新型冠状病毒肺炎实验室检测技术指南 (第二版). 中华人民共和国国家卫生健康委员会疾病预防控制局, 2020.
- 侯云德. 急性呼吸道病毒感染的病原学与防治. 中国协和医科大学出版社, 2005.
- 李金明. 实时荧光 PCR 技术 (第二版). 科学出版社, 2016.
- Brittain-Long R, Nord S, Olofsson S, et al. Multiplex real-time PCR for detection of respiratory tract infections. Journal of Clinical Virology, 2008, 41(1):53-56.

基本信息

注册人/生产企业名称：中元汇吉生物技术股份有限公司
住所：重庆市大渡口区建桥工业园 C 区太康路 6 号 30 栋第 14 层
邮编：400082
联系方式：+86(0)23 6819 0901
售后服务单位名称：中元汇吉生物技术股份有限公司
全国服务热线：400-056-7879
传真：+86(0)23 6869 9779
E-mail: zy@zybio.com
网址: http://www.zybio.com
生产地址：重庆市大渡口区建桥工业园 C 区太康路 6 号 30 栋第 1-4 层、5 层 A 区；重庆市大渡口区建桥工业园 C 区太康路 10 号 27-28 栋第 1-4 层
【医疗器械生产许可证编号】渝食药监械生产许 20150016 号
【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】国械注准 20213400228
【说明书核准日期及修改日期】
核准日期：2021 年 04 月 01 日
修改日期：2021 年 10 月 26 日