



新型冠状病毒（2019-nCoV）核酸检测试剂盒（荧光 PCR 法）

【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；96 人份/盒；192 人份/盒；384 人份/盒

【预期用途】

本试剂盒用于体外定性检测具有新型冠状病毒感染相关症状人群、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、鼻咽拭子样本中，新型冠状病毒（2019-nCoV）ORF1ab 和 N 基因。

本试剂盒检测结果应结合流行病学史、临床表现、其他实验室检查等进行综合分析，作出诊断。

该产品在使用上应遵守新型冠状病毒感染诊疗方案等文件的相关要求。

开展新型冠状病毒核酸检测，应符合新冠病毒样本采集和检测技术相关指南的要求，做好生物安全工作。

【检验原理】

本产品采用实时荧光 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。本品设有人 β -actin 基因作为试剂盒内源性内标，通过内标扩增的正常与否对标本采集、核酸提取过程及 PCR 扩增过程进行监控，避免假阴性。

【主要组成成分】

序号	组分名称	主要组分	32 人份 /盒	96 人份 /盒	192 人份 /盒	384 人份 /盒
1	2019-nCoV PCR 反应液	Tris-HCl 缓冲液, dNTPs, Mg ²⁺ , 引物和探针	256 μ L $\times$ 1 管	768 μ L $\times$ 1 管	1536 μ L $\times$ 1 管	3072 μ L $\times$ 1 管
2	2019-nCoV 酶液	逆转录酶, Taq DNA 聚合酶, UNG 酶	64 μ L $\times$ 1 管	192 μ L $\times$ 1 管	384 μ L $\times$ 1 管	768 μ L $\times$ 1 管
3	2019-nCoV 阴性对照品	纯化水	800 μ L $\times$ 1 管	1600 μ L $\times$ 1 管	1600 μ L $\times$ 1 管	1600 μ L $\times$ 1 管
4	2019-nCoV 阳性对照品	含 2019-nCoV 靶基因片段的假病毒，含内标片段的质粒	800 μ L $\times$ 1 管	1600 μ L $\times$ 1 管	1600 μ L $\times$ 1 管	1600 μ L $\times$ 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、0.2mL PCR 反应管（或八联管、96 孔 PCR 板）、带滤芯枪头（10 μ L，200 μ L，1000 μ L）等耗材；

配套核酸提取试剂：中元汇吉生物技术股份有限公司生产的核酸提取试剂盒（磁珠法），渝械备 20180096 号或渝械备 20200128 号。

试剂盒不包含但检测需配套的病毒采样管或病毒保存液：中元汇吉生物技术股份有限公司（渝械备 20200108 号）灭活型；友康生物科技（北京）股份有限公司（京械注准 20182400236、京海械备 20200033 号）。

【储存条件及有效期】

1、在-25~ -15℃避光保存，有效期为 8 个月。

2、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；

3、生产日期及失效期详见包装标签。

【适用仪器】

中元汇吉 EXP 160/EXP 161/EXP 162 和 中元汇吉 EXP 160R/EXP 161R、宏石 SLAN-96P、博日 FQD-96C、安普 AGS4800、乐普 Leppen96、雅普 MA-6000、天隆 Gentier96R、ABI 7500、Bio-Rad CFX96。

【样本要求】

1、适用样本类型：口咽拭子、鼻咽拭子。

2、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》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 灭活型保存液的管中，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，在被采集者两侧咽扁桃体会来回擦拭至少 3 次，然后再在咽后壁上下来擦拭至少 3 次，将拭子头浸入含 3 mL 灭活型保存液的管中，尾部弃去，旋紧管盖。

若采用非灭活型保存液，可以在按照上述方法采集标本后加入异硫氰酸胍（终浓度 2~3 M），30 min 进行灭活；或 95℃加热 15 min 进行灭活。

3、样本保存：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；-60℃及以下条件不超过 9 个月（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】

1、核酸提取（样本处理区）

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 号或渝械备 20200128 号）以及全自动核酸提取仪（备案号：渝械备 20200079 号或渝械备 20200110 号）进行 2019-nCoV RNA 的分离制备，样本量为 200 μ L，洗脱体积为 65 μ L。具体操作流程详见说明书。

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。

2、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），根据下表进行反应体系配制：

组分	试剂加量/人份
2019-nCoV PCR 反应液	8 μ L $\times$ N
2019-nCoV 酶液	2 μ L $\times$ N

配制好的溶液震荡混匀并瞬时离心，按 10 μ L/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。

3、加样（样本处理区）

使用带滤芯枪头分别加入 10 μ L 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）。

4、PCR 扩增检测（扩增检测区）

将 PCR 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：



新型冠状病毒（2019-nCoV）核酸检测试剂盒（荧光 PCR 法）

①中元汇吉 EXP 160/EXP 161/EXP 162 和 中元汇吉 EXP 160R/EXP 161R、博日 FQD-96C、安普 AGS4800、天隆 Gentier96R、Bio-Rad CFX96 扩增参数设置：

步骤	温度	时间	循环数
1	逆转录	54℃	2 分钟
2	预变性	95℃	1 分钟
3	变性	95℃	5 秒
4	扩增、荧光检测	55℃	10 秒

荧光检测：步骤 4；

报告荧光设置：FAM, VIC 和 CY5；淬灭荧光设置：NONE。

②宏石 SLAN-96P、乐普 Leppen96、雅普 MA-6000、ABI 7500 扩增参数设置：

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

荧光检测：步骤 5；

报告荧光设置：FAM, VIC 和 CY5；淬灭荧光设置：NONE。

5、结果分析

FAM 通道代表 N 基因，VIC 通道代表 ORF1ab 基因，CY5 通道代表内标 β -actin 基因。

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，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，然后到检测窗口记录检测结果。

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（N、ORF1ab）和内标通道同时满足：扩增曲线呈典型 S 型，且 Ct 值<40。
2	阴性对照品	靶标通道（N、ORF1ab）无数值。

需一次实验中同时满足，否则视为实验无效。

【阳性判断值】

两个靶标通道（N、ORF1ab）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	N 和 ORF1ab 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。
阴性	N 和 ORF1ab 通道无 Ct 值，同时内标通道 Ct<40，提示 2019-nCoV 病毒为阴性。
复测	1. N 或 ORF1ab 任一靶标通道 Ct 值<40，需复测。 2. N 或 ORF1ab 任一靶标通道 40≤Ct 值≤42，且内标通道 Ct 值<40，需复测。 判读：若复测结果中 N 或 ORF1ab 任一通道 Ct<40，且呈典型扩增曲线，则判断为阳性，否则为阴性。
无效	N 和 ORF1ab 通道同时满足 Ct 值≥40 或无数值，且内标通道 Ct 值≥40 或无数值，提示结果无效，需重新取样检测。

【检测方法的局限性】

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

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) 实验环境有 PCR 产物等气溶胶污染，则可能导致假阳性结果；

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

1) 不合理的样本采集、转运、储存及处理、样本中病原体含量过低均有可能导致假阴性结果；

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) 未经验证的其他干扰或 PCR 抑制因子等都可能会导致假阴性结果。

4、阴性结果仅说明低于产品检测限，不能完全排除感染的可能性。

【产品性能指标】

1、阴阳性参考品符合率：检测国家参考品（批号：370099-202001）中的阳性参考品 P1~P7，其中 P1~P5 阳性符合率应为 100%，P6 不做要求，P7 应为 N 基因阳性且 ORF1ab 基因阴性；或检测经标化的企业阳性参考品，阳性符合率应为 100%；检测国家参考品中的阴性参考品或经标化的企业阴性参考品，阴性符合率应 100%。

2、最低检出限：200 copies/mL。

3、包容性：对新型冠状病毒 Alpha B.1.1.7、Beta B.1.351、Delta B.1.617.2、Omicron B.1.1.529/BA.2.2/BA.2.3/BA.3/BA.5 进行包容性评价，精密度和最低检出限验证结果均符合要求，不影响产品检测性能。

4、精密度：检测国家参考品（批号：370099-202001）中的精密度参考品，10 次检测结果均为阳性，且 Ct 值的变异系数（CV，%）应不高于 5.0%；或对 3 个浓度水平的样本（阴性样本、临界阳性样本和中强阳性样本）进行测试，结果均符合：阴性样本的检测结果均为阴性；临界阳性样本的检测结果均为阳性；中强阳性样本检测结果为阳性，且 Ct 值变异系数≤5%。

5、分析特异性

5.1、交叉反应：本产品与呼吸道其他冠状病毒（NL63，HKU1，229E，OC43）、SARS-CoV、MERS-CoV、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、腺肺炎病毒、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（以上病原体浓度>1×10⁵ copies/mL），及与高浓度人类基因组 DNA 均无交叉反应。

5.2、干扰试验：2%（v/v）正常人新鲜血液、2.5%（w/v）粘蛋白、0.5mg/mL 苯福林、15%（v/v）羟甲唑啉、0.9%（w/v）氯化钠、100 μ g/mL 倍氯美松、10 μ g/mL 地塞米松、1mg/mL 氟尼缩松、100 μ g/mL 曲安奈德、200 μ g/mL 布地奈德、500 μ g/mL 莫米松、500 μ g/mL 氯替卡松、12%（v/v）西瓜霜、15%（v/v）盐酸组胺、400U/ μ L α -干扰素、0.568 μ g/mL 扎那米韦、52.7g/mL 利巴韦林、7.5mg/mL 奥司他韦、100 μ g/mL 帕拉米韦、100 μ g/mL 洛匹那韦、100 μ g/mL 利托那韦、100 μ g/mL 阿比多尔、100 μ g/mL 左氧氟沙星、10mg/mL 阿奇霉素、100 μ g/mL 头孢曲松、

新型冠状病毒（2019-nCoV）核酸检测试剂盒（荧光 PCR 法）

112µg/mL 美罗培南、4µg/mL 妥布霉素对检测结果均无干扰。

6. 临床评价：在 3 家临床机构完成 542 例临床样本测试，与已上市同类产品相比，阳性符合率 98.72%，阴性符合率 98.70%，总符合率 98.71%。

【注意事项】

- 1、本产品仅用于体外诊断，使用前请仔细阅读本说明书，仅供专业人士使用。
- 2、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》等有关分子生物学实验室要求及《医疗机构新型冠状病毒核酸检测工作手册》（试行第二版）执行。
- 3、实验人员应具备分子生物学检测知识或经过 PCR 技能培训。
- 4、阳性对照品应视为具有传染性物质，操作和处理必须符合有关法规的要求。
- 5、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。实验中废弃的枪头弃于含 10%次氯酸的废液缸中，以防止污染。
- 6、本产品的性能验证仅包含了上述样本类型和处理方法，对于其他样本类型或样本采集和处理方法的产品性能不能得到保证。
- 7、本产品和检测样本应视为潜在传染源，操作人员应采取防护措施，遵守实验室安全操作规程；所有废物均应按照当地法规进行处理。
- 8、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诊疗方案(试行第九版). 中华人民共和国卫生健康委员会. 2022-06-27.
- 2、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.
- 3、李金明. 实时荧光 PCR 技术(第二版). 科学出版社, 2016.
- 4、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.

【标识的解释】

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

新型冠状病毒（2019-nCoV）核酸检测试剂盒（荧光 PCR 法）

【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 1-4 层
邮编：400082
联系方式：+86(0)23 6895 9999
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 20233400677
【说明书核准日期及修改日期】
核准日期：2023 年 05 月 25 日