

受理号：CSZ2300070

# 体外诊断试剂产品注册技术审评报告

产品中文名称：呼吸道 12 项病原体核酸检测试剂盒（荧光  
PCR 熔解曲线法）

产品管理类别：第三类

申请人名称：广州市宝创生物技术有限公司

国家药品监督管理局

医疗器械技术审评中心

## 目 录

基本信息.....	3
一、申请人名称.....	3
二、申请人住所.....	3
三、生产地址.....	3
技术审评概述.....	4
一、产品概述.....	4
二、临床前研究概述.....	5
三、临床评价概述.....	12
四、产品受益风险判定.....	22
综合评价意见.....	24

## 基本信息

### 一、申请人名称

广州市宝创生物技术有限公司

### 二、申请人住所

广州市黄埔区开源大道 11 号 C6 栋 301 室、C6 栋 401 室

### 三、生产地址

广州市黄埔区开源大道 11 号 C6 栋 301 室、C6 栋 401 室

## 技术审评概述

### 一、产品概述

#### (一) 产品主要组成成分

本试剂盒由逆转录酶混合液、酶混合液、工作液、DEPC处理水、阴性对照和阳性对照组成。具体内容详见说明书。

#### (二) 产品预期用途

本产品适用于体外定性检测人咽拭子、痰液样本中的 12 项病原体核酸，可检测的病原体核酸包括：肺炎衣原体、肺炎支原体、腺病毒（B 组、C 组、E 组）、甲型流感病毒（H1N1、H3N2、H1N1（2009）、H5N1、H7N9）、乙型流感病毒（Victoria、Yamagata）、副流感病毒（1 型、2 型、3 型、4 型）、鼻病毒、呼吸道合胞病毒（A 型、B 型）、博卡病毒、偏肺病毒、冠状病毒（229E、HKU1、NL63、OC43）、新型冠状病毒 ORF1ab 基因和新型冠状病毒 N 基因。其中腺病毒、甲型流感病毒、乙型流感病毒、副流感病毒、呼吸道合胞病毒、冠状病毒的检测结果不分亚型。

检测结果仅作为辅助诊断使用，其阴性结果及阳性结果不能排除检测指标外其他病原体混合感染情况。本产品检测结果不得作为患者病情评价的唯一指标，必须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。

### **(三) 产品包装规格**

48 测试/盒、96 测试/盒。

### **(四) 产品检验原理**

本产品为单管扩增检测形式，采用多重荧光探针 RT-PCR 技术（四通道检测：FAM、VIC、ROX、CY5），并结合熔解曲线分析方法，分别检测 12 种病原体，其中三通道（FAM、VIC、ROX）对目标病原体进行扩增检测，根据各通道内扩增信号的 Ct 值和目标病原体对应的熔解温度范围内峰高变化率进行鉴定，CY5 通道检测内源性内标，用于监测样本质量，本产品配套病原体核酸分析软件实现自动判读。

## **二、临床前研究概述**

### **(一) 主要原材料**

#### **1. 主要原材料的选择**

该产品主要原材料包括引物、探针、逆转录酶混合液、酶混合液等。其中，引物、探针为申请人自行设计后由专业的合成公司合成、逆转录酶混合液、酶混合液为外购方式获得。申请人对主要原材料进行了供应商的选择，选择有资质的供应商提供的原料，通过功能性试验筛选出合格供应商，制定了各主要原材料的质量标准并经检验合格。

## 2.企业参考品和质控品设置情况

申请人设计完整的企业参考品，包括阳性参考品、阴性参考品、最低检出限参考品和精密性参考品。企业参考品采用临床样本或病原体培养物制备，阳性参考品和最低检出限参考品各 21 份，由肺炎衣原体、肺炎支原体、腺病毒（1 型、2 型、3 型、5 型、7 型、55 型）、甲型流感病毒（H1N1、H3N2、H1N1（2009）、H5N1、H7N9）、乙型流感病毒（Victoria、Yamagata）、副流感病毒（1 型、2 型、3 型、4 型）、鼻病毒、呼吸道合胞病毒（A 型、B 型）、博卡病毒、偏肺病毒（A 型、B 型）、冠状病毒（229E、HKU1、NL63、OC43）、新型冠状病毒组成。阴性参考品共 12 份，由嗜肺军团菌、肺炎克雷伯菌、流感嗜血杆菌、肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌、化脓性链球菌、铜绿假单胞菌、EB 病毒、腮腺炎病毒、肠道病毒 Cocksackie、SARS 假病毒和 MERS 假病毒组成。精密性参考品共 5 份，由肺炎衣原体、肺炎支原体、腺病毒（3 型）、甲型流感病毒（H1N1、H3N2）、乙型流感病毒（Victoria、Yamagata）、副流感病毒（3 型）、鼻病毒、呼吸道合胞病毒（A 型）、博卡病毒、偏肺病毒、冠状病毒（OC43）、新型冠状病毒和阴性样本组成。

试剂盒分别设置阳性质控品和阴性质控品各 1 份，用于检测过程的质量控制。

## （二）生产工艺及反应体系研究

申请人对逆转录酶混合液用量、酶混合液用量、引物探针工作液配方、工作液用量、核酸样本用量、逆转录时间、退火温度、退火时间、延伸温度、延伸时间、循环数和溶解曲线收集前温度梯度程序等进行研究，最终确定了最佳的反应体系和生产工艺。

## （三）分析性能评估

该产品分析性能评估内容主要包括：准确度、精密度、分析灵敏度、分析特异性（交叉反应和干扰实验）、包容性、核酸提取性能等。申请人提交了有效运行的质量管理体系下生产的连续 3 批产品在适用机型上的分析性能评估资料。

在准确性评估中，申请人选择三批试剂盒检测阳性参考品和阴性参考品，评估结果显示：3 批试剂盒检测阳性参考品，检测结果均为相应病原体阳性，阳性符合率 100%。3 批试剂盒检测阴性参考品，检测结果均为阴性，阴性符合率 100%。

在精密度性能评估中，申请人采用 3 批试剂检测企业精密性参考品，阳性样本检测结果为相应病原体阳性，阴性样本检测为阴性，批内/批间精密度均符合要求。申请人对不同亚型病原体与相邻  $T_m$  值病原体的临界阳性浓度混合的样本，采用 3 批试剂盒重复检测 10 次，检测结果为相应病原体阳性，且精密

度均符合要求，不同亚型病原体的  $T_m$  值 95% 置信区间与相邻  $T_m$  值的病原体不同亚型的  $T_m$  值 95% 置信区间无重叠，可区分不同亚型病原体为该病原体阳性。申请人对于高、中、检出限浓度的甲型流感病毒、乙型流感病毒和新型冠状病毒混合样本，采用 3 批试剂盒重复检测 10 次，检测结果为相应病原体阳性，且精密度均符合要求。申请人选择不同操作者，在同一天内的不同时间段、不同天内、不同实验室间采用 3 批试剂检测不同浓度的临床样本，连续检测 20 天，阳性样本检测结果为相应病原体阳性，阴性样本检测为阴性，试剂盒的批内/批间精密度、日内/日间精密度、不同操作者间精密度和不同实验室间的精密度均符合要求。

在分析灵敏度评估中，申请人选择不同来源的 12 种病原体中常见亚型的临床样本和病毒培养物，采用 3 批试剂对不同样本类型的每种病原体的最低检出限进行确认和验证，以检出率  $\geq 95\%$ ，确定各病原体最低检出限浓度。

在交叉反应研究中，申请人对试剂盒检测范围内和试剂盒检测范围外的病原体进行交叉反应验证，验证结果是试剂盒检测范围内的所有病原体和试剂盒检测范围外的病原体（SARS 冠状病毒、MERS 冠状病毒、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒 1 型、水痘带状疱疹病毒、EB 病毒、新肠道病毒 EV71、麻疹病毒、



腮腺炎病毒、肠道病毒（A、B、C、D）、Q 热立克次体、诺卡菌、粘质沙雷菌、百日咳杆菌、流感嗜血杆菌、嗜肺军团菌、卡他莫拉菌、肺炎链球菌、鲍曼不动杆菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、表皮葡萄球菌、柠檬酸杆菌、大肠杆菌、唾液链球菌、粘液罗氏菌、口腔链球菌、嗜酸乳杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌、化脓性链球菌、脑膜炎奈瑟氏菌、结核分枝杆菌、新生隐球菌、烟曲霉、黄曲霉、肺孢子虫、白色念珠菌、鹦鹉热衣原体、洋葱伯克霍尔德菌、纹带棒杆菌、轮状病毒、诺如病毒、光滑念珠菌、淋球菌）均无交叉反应。

在干扰性研究中，申请人采用三批成品试剂盒，进行了内源/外源干扰物质研究及竞争性干扰研究，对样本中可能含有的干扰物质分别进行评价，包括 10% 血液、10% 鼻腔分泌物、100 µg/mL 盐酸羟甲唑啉、50 µg/mL 地塞米松、100 µg/mL 奥司他韦、100 µg/mL 扎那米韦、100 µg/mL 布地奈德、100 µg/mL 苯福林、50 µg/mL 倍氯美松、100 µg/mL 氟尼缩松、100 µg/mL 苯佐卡因、1% 粘蛋白、100 µg/mL 肾上腺素、100 µg/mL 阿比多尔、100 µg/mL 阿奇霉素、100 µg/mL 美罗培南、100 µg/mL 金英、100 µg/mL 莫米松、100 µg/mL 氟替卡松、100 µg/mL 盐酸组胺、100 µg/mL 曲安奈德、100 U/mL α-干扰素、100 µg/mL 洛匹那韦、100 µg/mL 帕拉米韦、100 µg/mL 利巴韦林、100

100 µg/mL 莫匹罗星、100 µg/mL 妥布霉素、100 µg/mL 薄荷脑、0.9% 氯化钠（含防腐剂）、100 µg/mL 利托那韦、100 µg/mL 左氧氟沙星、100 µg/mL 头孢曲松、100 µg/mL 曲安西龙、100 µg/mL 硫磺，结果显示内外源干扰物质不会对产品检测结果产生干扰。同时在竞争性干扰研究中，申请人选取临床上常见的呼吸道病毒混合感染类型制备高浓度与低浓度混合样本，同时选取本试剂盒中相邻 Tm 值的病原体制备高浓度与低浓度混合样本，采用 3 批试剂盒对混合样本进行检测，检测结果是高浓度分析物对低浓度分析物检测无竞争性干扰影响，相邻 Tm 值病原体间无竞争性干扰。故试剂盒检测结果不受内源/外源干扰物质及竞争性干扰影响。

在包容性研究中，采用 3 批试剂对不同来源的检出限浓度水平的乙型流感病毒（Victoria 型、Yamagata 型）、肺炎支原体、副流感病毒（1 型、2 型、3 型、4 型）、冠状病毒（229E、HKU1、NL63、OC43）、博卡病毒（1 型、2 型、3 型、4 型）、肺炎衣原体、鼻病毒（鼻病毒 A、鼻病毒 B、鼻病毒 C）、偏肺病毒（A 型、B 型）、腺病毒（1 型、2 型、3 型、4 型、5 型、7 型、55 型）、呼吸道合胞病毒（A 型、B 型）、甲型流感病毒（H1N1、H3N2、H1N1（2009）、H5N1、H7N9）、新型冠状病毒（Delta、Omicron BA.2、Omicron BA.4、Omicron BA.5、

Omicron BF.7、Omicron XBB) 进行检测, 检测结果均为相应病原体阳性, 说明试剂盒有较好的包容性。

在核酸提取性能评估中, 申请人选取多个临床常见型别病原体通过与质量较好的核酸提取试剂比较, 评估了产品配套使用的核酸提取试剂盒的提取效果, 结果表明配套使用的核酸提取试剂盒的核酸提取效率和纯度满足产品使用需求。

#### (四) 阳性判断值或参考区间研究

阳性判断值研究检测 2688 例样本, 其中咽拭子样本 1336 例, 痰液样本 1352 例, 采用 ROC 曲线法得到 Ct 值和峰高变化率的 Cutoff 值, 采用平均值、标准差、最大值和最小值确定 Tm 值的 Cutoff 值。根据确定的 Ct 值、Tm 值的阳性判断值及峰高变化率的标准, 开发自动判读软件。本试剂盒的阳性判断值为目标通道: FAM 通道、VIC 通道和 ROX 通道有典型扩增曲线, 且 Ct 值 $\leq 40$ ; 内标通道: CY5 通道有典型扩增曲线, 且 Ct 值 $\leq 42$ 。

#### (五) 稳定性研究

申请人对该产品的货架有效期内稳定性、运输稳定性、使用稳定性以及样本稳定性进行了研究, 确定了在各种条件下该产品及临床样本的有效保存时间。

货架有效期内稳定性研究: 将 3 批试剂避光储存于  $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$  条件下, 分别于第 0、3、6、9、12、15 个月取出试剂盒, 以企

业参考品为待检样本按产品说明书进行检测，考察试剂的外观、阴性参考品符合率、阳性参考品符合率、最低检出限和精密度，结果显示：3 批试剂盒避光储存于 $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 条件下，储存 15 个月后，试剂盒性能仍稳定。因此确定本试剂盒 $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 条件下避光储存，有效期为 12 个月。

申请人对产品的开瓶稳定性、冻融稳定性、运输稳定性以及样本稳定性分别进行了研究。结果显示，产品的性能均能满足产品说明书的声称。

### 三、临床评价概述

申请人在广州医科大学附属第一医院、武汉大学人民医院、上海市公共卫生临床中心、广州市妇女儿童医疗中心、西安交通大学第二附属医院、中山大学附属第五医院、成都市公共卫生临床医疗中心、安徽省立医院共 8 家机构完成了临床试验。共纳入有效样本 4406 例，入组病例为疑似呼吸道感染病例，样本类型为咽拭子和痰液。对比方法选择已上市同类产品和一代测序。

#### （一）甲型流感病毒

针对咽拭子样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 96.26%，100%），阴性符合率 100%（95%CI: 99.82%，100%），总符合率 100%

(95%CI: 99.83%, 100%) ; 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%(95%CI: 89.57%, 100%), 阴性符合率 100%(95%CI: 99.32%, 100%), 总符合率 100%(95%CI: 99.36%, 100%)。

针对痰液样本, 本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%(95%CI: 95.07%, 100%), 阴性符合率 100%(95%CI: 99.76%, 100%), 总符合率 100%(95%CI: 99.77%, 100%); 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%(95%CI: 83.89%, 100%), 阴性符合率 100%(95%CI: 98.97%, 100%), 总符合率 100%(95%CI: 99.02%, 100%)。

## (二) 乙型流感病毒

针对咽拭子样本, 本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%(95%CI: 97.74%, 100%), 阴性符合率 100%(95%CI: 99.82%, 100%), 总符合率 100%(95%CI: 99.83%, 100%); 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%(95%CI: 91.97%, 100%), 阴性符合率 100%(95%CI: 99.31%, 100%), 总符合率 100%(95%CI: 99.36%, 100%)。

针对痰液样本，试验结果显示，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 95.58%，100%），阴性符合率 100%（95%CI: 99.76%，100%），总符合率 100%（95%CI: 99.77%，100%）；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 51.01%，100%），阴性符合率 100%（95%CI: 99.01%，100%），总符合率 100%（95%CI: 99.02%，100%）。

### （三）呼吸道合胞病毒

针对咽拭子样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 98.90%，100%），阴性符合率 98.65%（95%CI: 98.03%，99.08%），总符合率 98.86%（95%CI: 98.33%，99.22%）；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 92.44%，100%），阴性符合率 99.82%（95%CI: 98.97%，99.97%），总符合率 99.83%（95%CI: 99.05%，99.97%）。

针对痰液样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 96.50%，100%），阴性符合率 99.74%（95%CI: 99.34%，99.90%），总符合率 99.76%（95%CI: 99.38%，99.91%）；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 70.09%，

100%），阴性符合率 99.74%（95%CI: 98.52%，99.95%），总符合率 99.74%（95%CI: 98.55%，99.95%）。

#### （四）腺病毒

针对咽拭子样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 97.40%，100%），阴性符合率 99.48%（95%CI: 99.08%，99.71%），总符合率 99.52%（95%CI: 99.14%，99.73%）；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 93.47%，100%），阴性符合率 99.63%（95%CI: 98.65%，99.90%），总符合率 99.66%（95%CI: 98.78%，99.91%）。

针对痰液样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 96.79%，100%），阴性符合率 99.67%（95%CI: 99.24%，99.86%），总符合率 99.70%（95%CI: 99.29%，99.87%）；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 85.13%，100%），阴性符合率 99.73%（95%CI: 98.47%，99.95%），总符合率 99.74%（95%CI: 98.55%，99.95%）。

#### （五）偏肺病毒

针对咽拭子样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 99.00%（95%CI: 94.55%，99.82%），

阴性符合率 99.86% (95%CI: 99.59%, 99.95%), 总符合率 99.82% (95%CI: 99.55%, 99.93%); 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 97.56% (95%CI: 87.40%, 99.57%), 阴性符合率 100% (95%CI: 99.31%, 100%), 总符合率 99.83% (95%CI: 99.05%, 99.97%)。

针对痰液样本, 本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 98.39% (95%CI: 91.41%, 99.71%), 阴性符合率 100% (95%CI: 99.76%, 100%), 总符合率 99.94% (95%CI: 99.66%, 99.99%); 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 91.67% (95%CI: 64.61%, 98.51%), 阴性符合率 100% (95%CI: 98.99%, 100%), 总符合率 99.74% (95%CI: 98.55%, 99.95%)。

#### (六) 博卡病毒

针对咽拭子样本, 本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100% (95%CI: 97.29%, 100%), 阴性符合率 99.39% (95%CI: 98.96%, 99.64%), 总符合率 99.43% (95%CI: 99.02%, 99.67%); 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100% (95%CI: 92.13%, 100%), 阴性符合率 99.45% (95%CI: 98.40%, 99.81%), 总符合率 99.49% (95%CI: 98.52%, 99.83%)。



针对痰液样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 95.82%，100%），阴性符合率 99.62%（95%CI: 99.17%，99.82%），总符合率 99.64%（95%CI: 99.21%，99.83%）；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 75.75%，100%），阴性符合率 98.94%（95%CI: 97.30%，99.59%），总符合率 98.97%（95%CI: 97.38%，99.60%）。

#### （七）肺炎支原体

针对咽拭子样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 97.04%，100%），阴性符合率 99.81%（95%CI: 99.52%，99.93%），总符合率 99.82%（95%CI: 99.55%，99.93%）；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 89.28%，100%），阴性符合率 100%（95%CI: 99.32%，100%），总符合率 100%（95%CI: 99.36%，100%）。

针对痰液样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 97.23%，100%），阴性符合率 99.93%（95%CI: 99.63%，100%），总符合率 99.94%（95%CI: 99.66%，99.99%）；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 93.00%，

100%），阴性符合率 100%（95%CI: 98.87%，100%），总符合率 100%（95%CI: 99.02%，100%）。

#### （八）肺炎衣原体

针对咽拭子样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 94.80%，100%），阴性符合率 99.95%（95%CI: 99.74%，99.99%），总符合率 99.96%（95%CI: 99.75%，99.99%）；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 85.69%，100%），阴性符合率 99.65%（95%CI: 98.73%，99.90%），总符合率 99.66%（95%CI: 98.78%，99.91%）。

针对痰液样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 93.12%，100%），阴性符合率 100%（95%CI: 99.76%，100%），总符合率 100%（95%CI: 99.77%，100%）；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 64.57%，100%），阴性符合率 100%（95%CI: 99.00%，100%），总符合率 100%（95%CI: 99.02%，100%）。

#### （九）鼻病毒

针对咽拭子样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 99.45%（95%CI: 98.03%，99.85%），

阴性符合率 98.95% (95%CI: 98.38%, 99.32%), 总符合率 99.03% (95%CI: 98.54%, 99.36%); 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 99.30% (95%CI: 96.15%, 99.88%), 阴性符合率 99.56% (95%CI: 98.39%, 99.88%), 总符合率 99.49% (95%CI: 98.52%, 99.83%)。

针对痰液样本, 本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100% (95%CI: 97.49%, 100%), 阴性符合率 99.60% (95%CI: 99.13%, 99.82%), 总符合率 99.64% (95%CI: 99.21%, 99.83%); 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100% (95%CI: 90.59%, 100%), 阴性符合率 99.72% (95%CI: 98.40%, 99.95%), 总符合率 99.74% (95%CI: 98.55%, 99.95%)。

#### (十) 冠状病毒

针对咽拭子样本, 本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 99.38% (95%CI: 96.57%, 99.89%), 阴性符合率 99.72% (95%CI: 99.38%, 100.87%), 总符合率 99.69% (95%CI: 99.37%, 99.85%); 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100% (95%CI: 87.94%, 100%), 阴性符合率 99.82% (95%CI: 99.00%, 99.97%), 总符合率 99.83% (95%CI: 99.05%, 99.97%)。

针对痰液样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 94.50%，100%），阴性符合率 100%（95%CI: 99.76%，100%），总符合率 100%（95%CI: 99.77%，100%）；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 81.57%，100%），阴性符合率 100%（95%CI: 98.98%，100%），总符合率 100%（95%CI: 99.02%，100%）。

#### （十一）副流感病毒

针对咽拭子样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 98.69%，100%），阴性符合率 99.50%（95%CI: 99.07%，99.73%），总符合率 99.56%（95%CI: 99.19%，99.76%）；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 95.77%，100%），阴性符合率 99.60%（95%CI: 98.57%，99.89%），总符合率 99.66%（95%CI: 98.78%，99.91%）。

针对痰液样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 96.95%，100%），阴性符合率 99.67%（95%CI: 99.24%，99.86%），总符合率 99.70%（95%CI: 99.29%，99.87%）；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 87.54%，

100%），阴性符合率 99.45%（95%CI: 98.00%，99.85%），总符合率 99.48%（95%CI: 98.14%，99.86%）。

## （十二）新冠病毒

针对咽拭子样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 93.00%，100%），阴性符合率 100%（95%CI: 99.83%，100%），总符合率 100%（95%CI: 99.83%，100%）；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 98.83%，100%），阴性符合率 100%（95%CI: 98.10%，100%），总符合率 100%（95%CI: 99.27%，100%）。

针对痰液样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 93.00%，100%），阴性符合率 100%（95%CI: 99.76%，100%），总符合率 100%（95%CI: 99.77%，100%）；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%（95%CI: 94.65%，100%），阴性符合率 100%（95%CI: 95.91%，100%），总符合率 100%（95%CI: 97.63%，100%）。

另外，针对试验用体外诊断试剂声称可检出的但无法分型的每种基因亚型，临床试验均纳入了充分数量的阳性样本进行了充分验证。

综上，试验用体外诊断试剂的临床试验资料符合技术审评要求。

#### 四、产品受益风险判定

根据《YY/T 0316-2016 医疗器械风险管理对医疗器械的应用》及其内部质量管理体系规定执行风险管理相关活动，对该产品进行风险分析。经综合评价，该产品的受益和风险总结如下：

##### （一）受益评估

呼吸道病原体感染引起的临床症状和体征都较为相似，其临床表现主要为鼻炎、咽炎、喉炎、扁桃体炎等症状，严重的可引起气管炎、支气管炎及肺炎等，但不同病原体引起的感染，其治疗方法、疗效和病程也不同，因此，一次性检测和鉴别呼吸道病原体感染类型有助于临床诊断和治疗。

本产品适用于体外定性检测人咽拭子、痰液样本中的 12 项病原体核酸，可检测的病原体核酸包括：肺炎衣原体、肺炎支原体、腺病毒（B 组、C 组、E 组）、甲型流感病毒（H1N1、H3N2、H1N1（2009）、H5N1、H7N9）、乙型流感病毒（Victoria、Yamagata）、副流感病毒（1 型、2 型、3 型、4 型）、鼻病毒、呼吸道合胞病毒（A 型、B 型）、博卡病毒、偏肺病毒、冠状病毒（229E、HKU1、NL63、OC43）、新型冠状病毒 ORF1ab

基因和新型冠状病毒 N 基因。其中腺病毒、甲型流感病毒、乙型流感病毒、副流感病毒、呼吸道合胞病毒、冠状病毒的检测结果不分亚型。

本产品检测结果仅作为辅助诊断使用，其阴性结果及阳性结果不能排除检测指标外其他病原体混合感染情况。本产品检测结果不得作为患者病情评价的唯一指标，必须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。

## **(二) 风险评估**

根据申请人提供的申报资料，经综合评价，在目前认知水平上，认为该产品上市带来的受益大于风险。但为保证用械安全，基于对主要剩余风险的规避，需要在说明书中提示以下信息：

1. 与预期用途有关的风险，例如本试剂检测结果应结合患者临床症状及其他相关医学检查结果进行综合分析，不得单独作为患者管理的依据。

2. 与使用有关的风险，例如不合理的样本采集、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。

3. 警示及注意事项：该试剂盒说明书中明确了该试剂盒检测方法的局限性及使用中的注意事项。

## 综合评价意见

本申报项目为境内第三类体外诊断试剂产品注册。依据《医疗器械监督管理条例》（国务院令第 739 号）、《体外诊断试剂注册与备案管理办法》（国家市场监督管理总局令第 48 号）等相关医疗器械法规与配套规章，经对申请人提交的注册申报资料进行系统评价，申报产品符合安全性、有效性的要求，符合现有认知水平，经系统评价后，建议准予注册。

2024 年 07 月 23 日

附件：产品说明书



## 呼吸道 12 项病原体核酸检测试剂盒（荧光 PCR 熔解曲线法）

### 【产品名称】

通用名称：呼吸道 12 项病原体核酸检测试剂盒（荧光 PCR 熔解曲线法）

### 【包装规格】

48 测试/盒、96 测试/盒

### 【预期用途】

本产品适用于体外定性检测人咽拭子、痰液样本中的 12 项病原体核酸，可检测的病原体核酸包括：肺炎衣原体、肺炎支原体、腺病毒（B 组、C 组、E 组）、甲型流感病毒（H1N1、H3N2、H1N1（2009）、H5N1、H7N9）、乙型流感病毒（Victoria、Yamagata）、副流感病毒（1 型、2 型、3 型、4 型）、鼻病毒、呼吸道合胞病毒（A 型、B 型）、博卡病毒、偏肺病毒、冠状病毒（229E、HKU1、NL63、OC43）、新型冠状病毒 ORF1ab 基因和新型冠状病毒 N 基因。其中腺病毒、甲型流感病毒、乙型流感病毒、副流感病毒、呼吸道合胞病毒、冠状病毒的检测结果不分亚型。

本产品适用于具有体征/症状符合呼吸道感染的目标人群。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。

该产品在使用上应当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。

呼吸道病原体感染引起的临床症状和体征都较为相似，其临床表现主要为鼻炎、咽炎、喉炎、扁桃体炎等症状，严重的可引起气管炎、支气管炎及肺炎等，但不同病原体引起的感染，其治疗方法、疗效和病程也不同，其中以呼吸道病毒最常见，因此准确、快速地检测和鉴别呼吸道病原体感染类型有助于临床诊断和治疗。

检测结果仅作为辅助诊断使用，其阴性结果及阳性结果不能排除检测指标外其他病原体混合感染情况。本产品检测结果不得作为患者病情评价的唯一指标，必须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】

本产品为单管扩增检测形式，采用多重荧光探针 RT-PCR 技术（四通道检测：FAM、VIC、ROX、CY5），并结合熔解曲线分析方法，分别检测 12 种病原体，其中三通道（FAM、VIC、ROX）对目标病原体进行扩增检测，根据各通道内扩增信号的 Ct 值和目标病原体对应的熔解温度范围内峰高变化率进行鉴定，CY5 通道检测内源性内标，用于监测样本质量，本产品配套病原体核酸分析软件实现自动判读。

### 【主要组成成分】

1. 主要组成成分见表 1。

表 1 试剂盒组分

序号	组成	主要成分	48 测试/盒标示量	96 测试/盒标示量
1	逆转录酶混合液	逆转录酶、RNase 抑制剂	48 $\mu$ L/管，1 管	96 $\mu$ L/管，1 管
2	酶混合液	热启动 DNA 聚合酶、dNTPs、氯化镁	192 $\mu$ L/管，1 管	384 $\mu$ L/管，1 管
3	工作液	引物、探针	144 $\mu$ L/管，1 管	288 $\mu$ L/管，1 管
4	DEPC 处理水	DEPC 处理水	1000 $\mu$ L/管，1 管	1000 $\mu$ L/管，2 管
5	阴性对照	人基因组 DNA	500 $\mu$ L/管，1 管	500 $\mu$ L/管，1 管
6	阳性对照	人基因组 DNA、乙型流感病毒假病毒、肺炎衣原体菌液、呼吸道合胞病毒假病毒	500 $\mu$ L/管，1 管	500 $\mu$ L/管，1 管

2. 不同批号试剂盒的组分不能互换使用。
3. 本试剂盒需要但未提供的试剂材料：4%NaOH（或商用的痰液液化试剂）、广州市宝创生物技术有限公司的一次性使用病毒采样管（粤穗械备 20200225 号）、广州阳普医疗科技股份有限公司的样本保存液（粤穗械备 20150192 号）、广州市准易科技有限责任公司的一次性使用病毒采样管（粤穗械备 20201201 号）、广州达安基因股份有限公司的一次性使用采样器（粤穗械备 20201915 号）、深圳市梓健生物科技有限公司的一次性使用病毒采样管（粤深械备 20190041 号）和江苏默乐生物科技股份有限公司的一次性使用病毒采样管（苏泰械备 20200685 号）、核酸提取或纯化试剂盒（粤穗械备 20150224 号、粤穗械备 20210924 号、粤穗械备 20210930 号）、无 RNA/DNA 酶的吸头和离心管、移液器等。

### 【储存条件及有效期】

1.  $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$  条件下避光保存，有效期为 12 个月。
2. 运输条件：采用低温运输方式（不高于  $-5^{\circ}\text{C}$ ），运输时间不应超过 5 天。
3. 试剂开瓶后， $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$  条件下避光保存，有效期为 3 个月。试剂反复冻融不超过 6 次为宜，应尽量避免反复冻融。
4. 生产日期及失效日期见包装标签。

### 【适用仪器】

上海宏石医疗科技有限公司生产的 SLAN-96S 荧光 PCR 仪

### 【样本要求】

1. 样本类型：人咽拭子、痰液样本。
2. 样本采集：按照以下常规样本采集方法进行采集，或按照《新型冠状病毒感染的肺炎防控方案》文件中《新型冠状病毒

感染的肺炎实验室技术指南》“样本采集方法”相关规定执行。

- 2.1 口咽拭子采集：应使用专用的咽拭子采样（拭子头材质为人造纤维或植绒，拭子柄为塑料材质）适度用力擦拭咽后壁及两侧扁桃体部位，应尽量避免接触舌部和口腔粘膜部位。取样后迅速将拭子放入采样管中，靠近采样管顶端处折断并弃去尾部，旋紧管盖。
- 2.2 痰液采集：先用清水漱口，患者用力咳出痰液或使用吸痰器配合吸痰管吸出痰液，痰液直接吐入无菌一次性痰杯中，旋紧管盖，采集痰液量不能少于 1 mL。（若样本中唾液占绝大部分，则需重新采集样本）
- 2.3 样本的灭活：

根据《新型冠状病毒感染的肺炎防控方案（第九版）》对样本灭活的要求，其中口咽拭子推荐的保存液厂家中，广州市宝创生物技术有限公司的一次性使用病毒采样管（粤穗械备 20200225 号）、广州市准易科技有限责任公司的一次性使用病毒采样管（粤穗械备 20201201 号）、广州达安基因股份有限公司的一次性使用采样器（粤穗械备 20201915 号）、深圳市梓健生物科技股份有限公司的一次性使用病毒采样管（粤深械备 20190041 号）和江苏默乐生物科技股份有限公司的一次性使用病毒采样管（苏泰械备 20200685 号）这 5 个厂家的保存液均为灭活型，采集的咽拭子样本无需进行后续的灭活处理；广州阳普医疗科技股份有限公司的样本保存液（粤穗械备 20150192 号）采集的咽拭子样本以及痰液样本推荐采用 95℃ 加热 15min 进行灭活。

3. 样本保存：样本采集后应立即送检，如不能马上检测，含病毒保存液的咽拭子样本放置在（2-8）℃ 冰箱中保存不超过 7 天，在-20±5℃ 冰箱中保存不超过 6 个月，在-60℃ 及以下冰箱中可长期保存；未处理痰液样本或 4% 氢氧化钠处理后的痰液样本放置在（2-8）℃ 冰箱中保存不超过 1 天，在-20±5℃ 冰箱中保存不超过 3 个月，在-60℃ 及以下冰箱中可长期保存；样本反复冻融次数不应超过 3 次。样本提取后的核酸应立即检测，如不能立即检测，在（2-8）℃ 保存不超过 1 天，-20±5℃ 保存不超过 3 个月，-60℃ 及以下保存不超过 6 个月；核酸样本反复冻融次数不应超过 3 次。
4. 样本运输：样本采集后应竖直放入样本架中，尽量避免倾斜或颠倒，采用低温运输方式，样本运输应遵守国家关于第二类病原体的相关生物安全规定。

#### 【检验方法】

##### 1. 试剂配制（试剂准备区）

- 1.1 取出试剂盒，室温下充分解冻后，将各组分混匀 10 秒，然后瞬时离心 10 秒，置于冰盒上备用。
- 1.2 核算当次所需的测试数目 N（N=待测样本数+阴性对照+阳性对照），按照表 2 配方配制 PCR 反应液：

表 2 反应液配方表

主要组成	加入量（μL）/测试
逆转录酶混合液	1
酶混合液	4
工作液	3
DEPC 处理水	7
合计	15

- 1.3 将配制的 PCR 反应液混匀 10 秒后，瞬时离心 10 秒，按 15 μL/孔分装到相应的 PCR 管/板中，转移至样本处理区的冰盒上备用。

##### 2. 样本处理（样本处理区）

###### 2.1 样本前处理

- 2.1.1 咽拭子样本：将采样管置于混匀仪上充分涡旋 10 秒，取 200 μL 上清提取。
- 2.1.2 痰液样本：痰液样本加入 3mL 4%NaOH（或商用的痰液液化试剂）进行液化操作，彻底混匀，吸取 200 μL 上清提取。
- 2.2 核酸提取：经验证后推荐配合使用广州市宝创生物技术有限公司生产的核酸提取或纯化试剂盒（粤穗械备 20150224 号、粤穗械备 20210924 号、粤穗械备 20210930 号），按照提取试剂盒的说明书提取样本核酸。
- 2.3 阴性对照和阳性对照，各取 200 μL 与样本参与同步提取。

###### 3. 加样（样本处理区）

向上述 PCR 管/板中加入待检测的样本核酸、阴性对照提取的核酸、阳性对照提取的核酸各 5 μL，加样完成后，盖紧反应管，做好标记，将 PCR 管/板瞬时离心 10 秒，置于冰盒上，转移至扩增区。

###### 4. PCR 扩增和熔解曲线分析（扩增区）

同时选择 FAM、VIC、ROX 和 CY5 荧光检测通道，PCR 扩增体积设定为 20 μL，推荐的扩增程序和熔解曲线程序设定如下表 3。

表 3 反应程序设置

步骤	温度（℃）	时间	循环数	信号
逆转录	55	10 min	1	/
热启动	95	3 min	1	/
扩增	95	10 s	46	/
	60	45 s		收集信号
	69	20 s		/
熔解曲线分析	45	20 s	1	/

	35	20 s		/
	25	1min		/
	25-68	/		升温过程收集信号

## 5. 结果分析

5.1 基线和阈值的设定，不同通道应分开设置。

5.2 基线：可以采用设备自动调整的基线，用户也可根据实际扩增的本底信号调整基线。

5.3 阈值：阈值一般设定在样本指数扩增期的拐点，并高于基线背景，用户可根据实际扩增情况调整设置。

5.4 确定好基线和阈值后点击“分析”，系统将自动获得检测数据，导出实验数据（Ct 值和熔解曲线）。

## 6. 软件判读分析

将上述已导出的实验数据（Ct 值和熔解曲线），按软件使用说明书的操作流程导入配套的广州市宝创生物技术有限公司的病原体核酸分析软件（注册证号：粤械注准 20222210269，版本号：V1）中进行结果判读，其中阴性控制孔为阴性对照，阳性控制孔为阳性对照，最后导出并保存 Excel 或 PDF 格式的结果报告。

具体操作流程如下：

1) 启动软件，登录成功后进入主界面，选择本次实验所使用的 PCR 仪器型号，导入上述已导出的实验数据（Ct 值和熔解曲线），导入数据完毕后进入孔板状态设置界面。

2) 在孔板状态设置界面中，点击【样本】后再点击左边孔板中代表对应编号的反应孔方框，即可设置该孔为“样本”状态；点击【阴性】后再点击左边孔板中代表对应编号的反应孔方框，即可设置该孔为“阴性控制”状态；点击【阳性】后再点击左边孔板中代表对应编号的反应孔方框，即可设置该孔为“阳性控制”状态；点击【忽略】后再点击左边孔板中代表对应编号的反应孔方框，即可设置该孔为“可忽略”状态。按照实验的实际情况设置好之后，点击【下一步】，进入分析界面。

3) 在分析界面中，点击【计算】，软件将自动开始计算结果。计算完毕后，点击【下一步】，进入生成报告界面。

4) 在生成报告界面中，可以看到计算分析后生成的软件判读结果报告。

## 7. 质量控制

7.1 阴性对照：FAM、VIC 和 ROX 通道均无典型扩增曲线或 Ct 值 > 40；CY5 通道有典型扩增曲线，且 Ct 值 ≤ 42；

7.2 阳性对照：FAM、VIC 和 ROX 通道均有典型扩增曲线，且 Ct 值 ≤ 40；CY5 通道有典型扩增曲线，且 Ct 值 ≤ 42；病原体核酸分析软件（版本号：V1）判读为乙型流感病毒、肺炎衣原体和呼吸道合胞病毒。

### 【阳性判断值】

目标通道：FAM 通道、VIC 通道和 ROX 通道有典型扩增曲线，且 Ct 值 ≤ 40；内标通道：CY5 通道有典型扩增曲线，且 Ct 值 ≤ 42。

### 【检验结果的解释】

1. 判读试剂盒对照品的检测结果合格后，对样本的检测结果进行分析。

2. 若样本在目标通道：FAM 通道、VIC 通道和 ROX 通道有扩增信号，且 Ct 值 ≤ 40，则样本检测结果为阳性，通过病原体核酸分析软件（版本号：V1）确定病原体具体类型。

3. 若样本在目标通道：FAM 通道、VIC 通道和 ROX 通道无扩增信号，或 Ct 值 > 40，此时结合分析内标 CY5 通道。若 CY5 通道有扩增信号，且 Ct 值 ≤ 42，则检测结果可判读为阴性；若 CY5 通道无扩增信号，或 Ct 值 > 42，则提示检测结果异常，一般包括未采集到足够样本或样本中含有大量反应抑制物，对检测结果产生影响，需要分析原因并复检。

4. 根据新型冠状病毒 ORF1ab 基因和 N 基因的检测结果，结果判定如下表 4 所示。

表 4 新型冠状病毒的结果判定情况

实验结果	结果判定
ORF1ab 基因和 N 基因均为阳性	新型冠状病毒阳性
仅 ORF1ab 基因为阳性或仅 N 基因为阳性	则需重复测定，复检结果为 ORF1ab 基因和 N 基因至少一个为阳性可判断为新型冠状病毒阳性；如复检结果均为阴性，则可判断为新型冠状病毒阴性
ORF1ab 基因和 N 基因均为阴性	新型冠状病毒阴性

5. 本试剂盒各项病原体的检测通道、熔解温度范围及峰高变化率情况，如下表 5 所示。阳性样本应在相应病原体的检测熔解温度范围内与阴性对照熔解曲线具有峰高变化，可通过病原体核酸分析软件（版本号：V1）完成判读，确定病原体具体类型。

表 5 本试剂盒各项病原体的检测通道、熔解温度范围及峰高变化率情况

序号	病原体类型	病原体缩写	检测通道	检测的熔解温度范围（单位：℃）	峰高变化率
1	乙型流感病毒	IFB	FAM 通道	32.0-34.0	>0.15
2	肺炎支原体	MP		38.0-40.0	>0.20
3	新型冠状病毒 ORF1ab 基因	2019-nCoV-ORF1ab		44.0-46.0	>0.20
4	副流感病毒	PIV		49.0-60.0	>0.15
5	冠状病毒	HCOV	VIC 通道	30.0-40.0	>0.18
6	博卡病毒	HBOV		43.0-45.0	>0.20
7	肺炎衣原体	CP		48.0-50.0	>0.35

序号	病原体类型	病原体缩写	检测通道	检测的熔解温度范围 (单位: °C)	峰高变化率
8	鼻病毒	HRV	ROX 通道	56.0-59.0	>0.18
9	偏肺病毒	HMPV		30.0-34.0	>0.15
10	腺病毒	HADV		36.5-38.5	>0.15
11	呼吸道合胞病毒	RSV		42.0-45.0	>0.14
12	新型冠状病毒 N 基因	2019-nCoV-N		49.2-51.2	>0.30
13	甲型流感病毒	IFA		53.0-55.0	>0.15

#### 【检验方法的局限性】

1. 本试剂检测结果应结合患者临床症状及其他相关医学检查结果进行综合分析，不得单独作为患者诊断的依据。
2. 检验的病原体核酸出现序列变异时会存在假阴性风险。
3. 不合理的样本采集、转运及处理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。
4. 应明确不同病程不同阶段样本的阳性率不一致。取样本期间，接种减毒活疫苗的患者可能会导致检测试剂检测结果呈阳性。
5. 阳性和阴性预测值很大程度上取决于流行率。该检验性能是在流行季节期间（如 2018/2019）确立。对某些病毒的检验性能可能随检测流行率和检测人群变化。
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。核酸检测阳性并不一定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. 本产品仅能对试剂盒覆盖范围内的 12 种病原体进行检测，因此阴性结果及阳性结果均不能排除存在试剂盒覆盖范围外其他病原体感染的情况。
8. 开展检测项目时仅限于说明书规定的样本类型、适用机型及检测方法。

#### 【产品性能指标】

1. 外观检查：试剂盒包装完整，无内容物溢出；标签外观完整，无脱落，标签标识内容清晰；试剂盒内组成正确，无重复、缺失组分；试剂融化后，澄清，无混浊，无沉淀。
2. 阳性参考品符合率：3 批试剂盒检测阳性参考品，检测结果均为相应病原体阳性，阳性符合率 100%。
3. 阴性参考品符合率：3 批试剂盒检测阴性参考品，检测结果均为阴性，阴性符合率 100%。
4. 最低检出限：采用 3 批试剂分别验证试剂盒覆盖的 12 种病原体的最低检出限浓度，检出率≥95%，各病原体最低检出限浓度见表 6。

表 6 本试剂盒各病原体最低检出限浓度

病原体类别	数值	病原体类别	数值	病原体类别	数值
甲型流感病毒 (H1N1)	$8.0 \times 10^3$ copies/mL	副流感病毒 (1 型、2 型、3 型、4 型)	$1.0 \times 10^3$ copies/mL	呼吸道合胞病毒 (A 型、B 型)	$1.0 \times 10^3$ copies/mL
甲型流感病毒 (H3N2)	$1.2 \times 10^4$ copies/mL	腺病毒 (B 组、C 组、E 组)	$1.0 \times 10^3$ copies/mL	偏肺病毒	$1.0 \times 10^3$ copies/mL
甲型流感病毒 (H1N1 (2009))	$1.8 \times 10^3$ copies/mL	冠状病毒 (229E、HKU1、NL63、OC43)	$1.0 \times 10^3$ copies/mL	鼻病毒	$1.0 \times 10^3$ copies/mL
甲型流感病毒 (H5N1、H7N9)	$1.0 \times 10^3$ copies/mL	新型冠状病毒	$4.0 \times 10^2$ copies/mL	肺炎衣原体	$1.0 \times 10^3$ copies/mL
乙型流感病毒 (Victoria、Yamagata)	$2.0 \times 10^3$ copies/mL	博卡病毒	$1.0 \times 10^3$ copies/mL	肺炎支原体	$1.0 \times 10^3$ copies/mL

#### 5. 精密度:

5.1 采用 3 批试剂检测企业精密性参考品，阳性样本检测结果为相应病原体阳性，阴性样本检测为阴性，批内/批间精密度均符合各通道的 Ct 值变异系数  $CV \leq 5\%$ ，靶标通道相应病原体 Tm 值的变异系数  $CV \leq 5\%$ ，靶标通道相应病原体的峰高变化率的变异系数  $CV \leq 15\%$ 。

5.2 对不同亚型病原体与相邻 Tm 值病原体的临界阳性浓度混合的样本，采用 3 批试剂盒重复检测 10 次，检测结果为相应病原体阳性，且精密度均符合各通道的 Ct 值变异系数  $CV \leq 5\%$ ，靶标通道相应病原体 Tm 值的变异系数  $CV \leq 5\%$ ，靶标通道相应病原体的峰高变化率的变异系数  $CV \leq 15\%$ ，不同亚型病原体的 Tm 值 95% 置信区间与相邻 Tm 值的病原体不同亚型的 Tm 值 95% 置信区间无重叠，可区分不同亚型病原体为该病原体阳性。

5.3 对于高、中、检出限浓度的甲型流感病毒、乙型流感病毒和新型冠状病毒混合样本，采用 3 批试剂盒重复检测 10 次，检测结果为相应病原体阳性，且精密度均符合各通道的 Ct 值变异系数  $CV \leq 5\%$ ，靶标通道相应病原体 Tm 值的变异系数  $CV \leq 5\%$ ，靶标通道相应病原体的峰高变化率的变异系数  $CV \leq 15\%$ 。

5.4 不同操作者，在同一天内的不同时间段、不同天内、不同实验室间采用 3 批试剂检测不同浓度的临床样本，连续检测 20 天，阳性样本检测结果为相应病原体阳性，阴性样本检测为阴性，试剂盒的批内/批间精密度、日内/日间精密度、不同操作者间精密度和不同实验室间的精密度均符合各通道的 Ct 值变异系数  $CV \leq 5\%$ ，靶标通道相应病原体 Tm 值的变异系数  $CV \leq 5\%$ 。

#### 6. 分析特异性:

6.1 交叉反应：与下表 7 所示浓度的病原体无交叉反应。

表 7 试剂盒覆盖范围外的病原体

SARS 冠状病毒	百日咳杆菌	嗜麦芽窄食单胞菌
-----------	-------	----------

1.0×10 <sup>6</sup> copies/mL	1.0×10 <sup>6</sup> CFU/mL	1.0×10 <sup>6</sup> CFU/mL
MERS 冠状病毒	流感嗜血杆菌	化脓性链球菌
1.0×10 <sup>6</sup> copies/mL	1.0×10 <sup>6</sup> CFU/mL	1.0×10 <sup>6</sup> CFU/mL
巨细胞病毒	嗜肺军团菌	脑膜炎奈瑟氏菌
1.0×10 <sup>6</sup> copies/mL	1.0×10 <sup>6</sup> CFU/mL	1.0×10 <sup>6</sup> CFU/mL
单纯疱疹病毒 1 型	卡他莫拉菌	结核分枝杆菌
1.0×10 <sup>6</sup> copies/mL	1.0×10 <sup>6</sup> CFU/mL	1.0×10 <sup>4</sup> 个/mL
水痘带状疱疹病毒	肺炎链球菌	新生隐球菌
1.0×10 <sup>6</sup> copies/mL	1.0×10 <sup>6</sup> CFU/mL	1.0×10 <sup>6</sup> CFU/mL
EB 病毒	鲍曼不动杆菌	烟曲霉
1.0×10 <sup>6</sup> copies/mL	1.0×10 <sup>6</sup> CFU/mL	1.0×10 <sup>6</sup> CFU/mL
新肠道病毒 EV71	金黄色葡萄球菌	黄曲霉
1.0×10 <sup>6</sup> copies/mL	1.0×10 <sup>6</sup> CFU/mL	1.0×10 <sup>6</sup> CFU/mL
麻疹病毒	铜绿假单胞菌	肺孢子虫
1.0×10 <sup>6</sup> copies/mL	1.0×10 <sup>6</sup> CFU/mL	1.0×10 <sup>6</sup> copies/mL
腮腺炎病毒	肺炎克雷伯菌	白色念珠菌
1.0×10 <sup>6</sup> copies/mL	1.0×10 <sup>6</sup> CFU/mL	1.0×10 <sup>6</sup> CFU/mL
肠道病毒 A	表皮葡萄球菌	鹦鹉热衣原体
3.6×10 <sup>6</sup> copies/mL	1.0×10 <sup>6</sup> CFU/mL	1.0×10 <sup>6</sup> copies/mL
肠道病毒 B	柠檬酸杆菌	洋葱伯克霍尔德菌
3.5×10 <sup>6</sup> copies/mL	2.1×10 <sup>6</sup> CFU/mL	2.2×10 <sup>6</sup> CFU/mL
肠道病毒 C	大肠杆菌	纹带棒杆菌
3.3×10 <sup>6</sup> copies/mL	2.5×10 <sup>6</sup> CFU/mL	2.4×10 <sup>6</sup> CFU/mL
肠道病毒 D	唾液链球菌	轮状病毒
3.5×10 <sup>6</sup> copies/mL	2.5×10 <sup>6</sup> CFU/mL	1.6×10 <sup>5</sup> copies/mL
Q 热立克次体	粘液罗氏菌	诺如病毒
3.1×10 <sup>6</sup> copies/mL	1.5×10 <sup>6</sup> CFU/mL	1.8×10 <sup>5</sup> copies/mL
诺卡菌	口腔链球菌	光滑念珠菌
2.0×10 <sup>6</sup> CFU/mL	1.8×10 <sup>6</sup> CFU/mL	2.6×10 <sup>6</sup> CFU/mL
粘质沙雷菌	嗜酸乳杆菌	淋球菌
2.0×10 <sup>6</sup> CFU/mL	1.6×10 <sup>6</sup> CFU/mL	3.0×10 <sup>6</sup> CFU/mL

6.2 干扰物质：样本中的干扰物质不超过表 8 所示的浓度，对检测结果均无干扰。

表 8 干扰物质

10% 血液	100 µg/mL 莫米松
10% 鼻腔分泌物	100 µg/mL 氟替卡松
100 µg/mL 盐酸羟甲唑啉	100 µg/mL 盐酸组胺
50 µg/mL 地塞米松	100 µg/mL 曲安奈德
100 µg/mL 奥司他韦	100 U/mL α-干扰素
100 µg/mL 扎那米韦	100 µg/mL 洛匹那韦
100 µg/mL 布地奈德	100 µg/mL 帕拉米韦
100 µg/mL 苯福林	100 µg/mL 利巴韦林
50 µg/mL 倍氯美松	100 µg/mL 莫匹罗星
100 µg/mL 氟尼缩松	100 µg/mL 妥布霉素
100 µg/mL 苯佐卡因	100 µg/mL 薄荷脑
1% 粘蛋白	0.9% 氯化钠（含防腐剂）
100 µg/mL 肾上腺素	100 µg/mL 利托那韦
100 µg/mL 阿比多尔	100 µg/mL 左氧氟沙星
100 µg/mL 阿奇霉素	100 µg/mL 头孢曲松
100 µg/mL 美罗培南	100 µg/mL 曲安西龙
100 µg/mL 金英	100 µg/mL 硫磺

6.3 竞争性干扰：选取临床上常见的呼吸道病毒混合感染类型制备高浓度与低浓度混合样本，同时选取本试剂盒中相邻 T<sub>m</sub> 值的病原体制备高浓度与低浓度混合样本，采用 3 批试剂盒对混合样本进行检测，检测结果是均为相应病原体阳性，高浓度分析物对低浓度分析物检测无竞争性干扰影响，相邻 T<sub>m</sub> 值病原体间无竞争性干扰。

7. 包容性验证：采用 3 批试剂对不同来源的检出限浓度水平的乙型流感病毒（Victoria 型、Yamagata 型）、肺炎支原体、副流感病毒（1 型、2 型、3 型、4 型）、冠状病毒（229E、HKU1、NL63、OC43）、博卡病毒（1 型、2 型、3 型、4 型）、肺炎衣原体、鼻病毒（鼻病毒 A、鼻病毒 B、鼻病毒 C）、偏肺病毒（A 型、B 型）、腺病毒（1 型、2 型、3 型、4 型、5 型、7 型、55 型）、呼吸道合胞病毒（A 型、B 型）、甲型流感病毒（H1N1、H3N2、H1N1（2009）、H5N1、H7N9）、新型冠状病毒（Delta、Omicron BA.2、Omicron BA.4、Omicron BA.5、Omicron BF.7、Omicron XBB）进行检测，检测结果

均为相应病原体阳性。

#### 8. 临床评价:

申请人在 8 家机构完成了临床试验。共纳入有效样本 4406 例, 入组病例为疑似呼吸道感染病例, 样本类型为咽拭子和痰液。对比方法选择已上市同类产品和一代测序。

##### (一) 甲型流感病毒

针对咽拭子样本, 本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 100%, 总符合率 100%; 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 100%, 总符合率 100%。

针对痰液样本, 本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 100%, 总符合率 100%; 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 100%, 总符合率 100%。

##### (二) 乙型流感病毒

针对咽拭子样本, 本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 100%, 总符合率 100%; 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 100%, 总符合率 100%。

针对痰液样本, 试验结果显示, 本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 100%, 总符合率 100%; 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 100%, 总符合率 100%。

##### (三) 呼吸道合胞病毒

针对咽拭子样本, 本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 98.65%, 总符合率 98.86%; 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 99.82%, 总符合率 99.83%。

针对痰液样本, 本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 99.74%, 总符合率 99.76%; 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 99.74%, 总符合率 99.74%。

##### (四) 腺病毒

针对咽拭子样本, 本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 99.48%, 总符合率 99.52%; 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 99.63%, 总符合率 99.66%。

针对痰液样本, 本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 99.67%, 总符合率 99.70%; 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 99.73%, 总符合率 99.74%。

##### (五) 偏肺病毒

针对咽拭子样本, 本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 99.00%, 阴性符合率 99.86%, 总符合率 99.82%; 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 97.56%, 阴性符合率 100%, 总符合率 99.83%。

针对痰液样本, 本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 98.39%, 阴性符合率 100%, 总符合率 99.94%; 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 91.67%, 阴性符合率 100%, 总符合率 99.74%。

##### (六) 博卡病毒

针对咽拭子样本, 本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 99.39%, 总符合率 99.43%; 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 99.45%, 总符合率 99.49%。

针对痰液样本, 本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 99.62%, 总符合率 99.64%; 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 98.94%, 总符合率 98.97%。

##### (七) 肺炎支原体

针对咽拭子样本, 本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 99.81%, 总符合率 99.82%; 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 100%, 总符合率 100%。

针对痰液样本, 本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 99.93%, 总符合率 99.94%; 本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下: 阳性符合率 100%, 阴性符合率 100%, 总符合率 100%。

##### (八) 肺炎衣原体



针对咽拭子样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%，阴性符合率 99.95%，总符合率 99.96%；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%，阴性符合率 99.65%，总符合率 99.66%。

针对痰液样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%，阴性符合率 100%，总符合率 100%；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%，阴性符合率 100%，总符合率 100%。

#### （九）鼻病毒

针对咽拭子样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 99.45%，阴性符合率 98.95%，总符合率 99.03%；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 99.30%，阴性符合率 99.56%，总符合率 99.49%。

针对痰液样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%，阴性符合率 99.60%，总符合率 99.64%；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%，阴性符合率 99.72%，总符合率 99.74%。

#### （十）冠状病毒

针对咽拭子样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 99.38%，阴性符合率 99.72%，总符合率 99.69%；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%，阴性符合率 99.82%，总符合率 99.83%。

针对痰液样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%，阴性符合率 100%，总符合率 100%；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%，阴性符合率 100%，总符合率 100%。

#### （十一）副流感病毒

针对咽拭子样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%，阴性符合率 99.50%，总符合率 99.56%；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%，阴性符合率 99.60%，总符合率 99.66%。

针对痰液样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%，阴性符合率 99.67%，总符合率 99.70%；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%，阴性符合率 99.45%，总符合率 99.48%。

#### （十二）新冠病毒

针对咽拭子样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%，阴性符合率 100%，总符合率 100%；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%，阴性符合率 100%，总符合率 100%。

针对痰液样本，本产品与一代测序对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%，阴性符合率 100%，总符合率 100%；本产品与对比试剂对于临床样本检测的符合率如下：阳性符合率 100%，阴性符合率 100%，总符合率 100%。

#### 【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。
2. 实验前请熟悉和掌握需使用的各种仪器的操作方法和注意事项，对每次实验进行质量控制。操作人员需经培训合格后方能使用本试剂盒。
3. 本试剂盒在使用过程中，需要准确加入 PCR 反应液 15  $\mu$ L，待测核酸样本 5  $\mu$ L，总反应体积需准确为 20  $\mu$ L/孔。
4. 加样完毕后需盖紧 PCR 管盖，防止液体挥发，反应液过多过少均会导致实验结果出现偏差。
5. 本试剂盒检测结果会受到样本本身的来源、样本采集过程、样本质量、样本运输条件、样本预处理等因素影响，同时也受到样本提取质量、荧光定量 PCR 仪型号、操作环境以及当前分子生物学技术的局限性等限制，可能导致得出假阳性或假阴性的检测结果，请严格按照说明书规定操作。
6. 试剂盒、样本以及扩增后的 PCR 产物应作为潜在传染性物质进行处理，实验过程中，请穿着合适的实验室工作服，并佩戴一次性手套等防护性用品并经常更换手套以避免样品间的交叉污染，避免接触皮肤与眼睛，遵循国家实验室生物安全防范的相关规定，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》，避免对人员和环境造成污染。
7. 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 号或现行有效版本）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。
8. 实验过程严格分区进行，实验操作的每个阶段使用专用的仪器和设备，各区用品不能交叉使用，相应的耗材应无 DNA 酶和 RNA 酶污染，同时实验操作过程中也应避免引入 DNA 酶和 RNA 酶，推荐使用带滤芯的吸头。
9. 用于新型冠状病毒（2019-nCoV）筛查时需严格按照国家卫生健康委发布的“新型冠状病毒感染的肺炎实验室检测技术指南”的要求进行操作。

#### 【标识的解释】

名称	英文简称
甲型流感病毒	IFA
腺病毒	HADV
偏肺病毒	HMPV
副流感病毒	PIV

名称	英文简称
冠状病毒	HCOV
乙型流感病毒	IFB
呼吸道合胞病毒	RSV
鼻病毒	HRV
博卡病毒	HBOV
肺炎衣原体	CP
肺炎支原体	MP
新型冠状病毒 ORF1ab 基因	2019-nCoV-ORF1ab
新型冠状病毒 N 基因	2019-nCoV-N

#### 【参考文献】

1. 周旺, 王强, 胡克等. 新型冠状病毒肺炎防治手册[M]. 湖北科学技术出版社, 2020.
2. 临床基因扩增检验实验室管理暂行办法[J]. 中国临床实验室, 2002, (第 1 期).
3. Clinical management of severe acute respiratory infection when novel coronavirus (nCoV) infection is suspected, WHO, 2020.
4. Mahony James B. Detection of respiratory viruses by molecular methods. [J]. Clinical microbiology reviews, 2008, 21(4).
5. Ieven M, Goossens H. Relevance of nucleic acid amplification techniques for diagnosis of respiratory tract infections in the clinical laboratory. [J]. Clinical microbiology reviews, 1997, 10(2).

#### 【基本信息】

注册人/生产企业名称: 广州市宝创生物技术有限公司  
 住所: 广州市黄埔区开源大道 11 号 C6 栋 301 室、C6 栋 401 室  
 联系方式:  
 售后服务单位名称:  
 联系方式:  
 生产地址: 广州市黄埔区开源大道 11 号 C6 栋 301 室、C6 栋 401 室  
 生产许可证编号:

#### 【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

#### 【说明书批准日期/生效日期及修改日期】