

受理号: CSZ2400001

体外诊断试剂产品注册技术审评报告

产品中文名称: 轮状病毒、诺如病毒、肠道腺病毒、星状病
毒和札如病毒核酸检测试剂盒(PCR-荧光探
针法)

产品管理类别: 第三类

申请人名称: 北京博晖创新生物技术集团股份有限公司

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	6
三、临床评价概述.....	12
四、产品受益风险判定.....	14
综合评价意见.....	17

基本信息

一、申请人名称

北京博晖创新生物技术集团股份有限公司

二、申请人住所

北京市昌平区生命园路 9 号院

三、生产地址

北京市昌平区生命园路 9 号院

技术审评概述

一、产品概述

(一) 产品主要组成成分

试剂盒的主要组成成分

组分	名称	装量 (X 测试/盒)		数量	主要成分
		12	4		
试剂盒 I	扩增反应液	300μL	160μL	1 管	Tris-HCl 缓冲液、dNTPs、taq 酶、UNG 酶、M-MLV 逆转录酶
	引物液 A	100μL	45μL	1 管	ASTV、RV、ADV 和内参 (人 RNaseP) 4 个靶标的引物和探针, 引物无修饰, 探针分别由 FAM、ROX、CY5 和 VIC 荧光基团修饰
	引物液 B	100μL	45μL	1 管	NV-G I 、NV-G II 、SAPV 和内参 (人 RNaseP) 4 个靶标的引物和探针引物无修饰, 探针分别由 FAM、ROX、CY5 和 VIC 荧光基团修饰
	Carrier RNA	82μL	33μL	1 管	Carrier RNA
	蛋白酶 K	190μL	100μL	1 管	20mg/mL 蛋白酶 K
	阳性质控品	220μL	220μL	1 管	含 ASTV、NV-GI、NV-G II 、SAPV 的 ORF1 和 ORF2 基因片段, RV 的 NSP5 基因片段, ADV 的 Hexon 基因片段的假病毒, 以及 HEK-293 细胞
试剂盒 II	阴性质控品	350μL	350μL	1 管	HEK-293 细胞
	磁珠	440μL	200μL	1 管	磁珠
	润洗液	1mL	500μL	1 管	0.1% BSA
试剂盒 III	洗脱液	1mL	500μL	1 管	TE
	硅油	1.2 mL	1.0 mL	1 管	硅油
	裂解液 C	3mL	1.5 mL	1 管	5M 异硫氰酸胍、1mM 二硫苏糖醇
	异丙醇	3mL	1.5 mL	1 管	异丙醇

	漂洗液 1A	3mL	1.5 mL	1 管	3M 盐酸胍、50% 异丙醇
	漂洗液 2A	3mL	1.5 mL	1 管	70% 乙醇

备注：1. 不同规格或批次的试剂盒组分不得混用。

2. 需要但未提供的材料和设备：200 μ L 移液器及配套枪头，博晖微流控仪器配套芯片和枪头。

（二）产品预期用途

本产品用于体外定性检测腹泻患者粪便样本中的轮状病毒（A、B、C 群）、诺如病毒（GI、GII 型）、肠道腺病毒（40、41 型）、星状病毒和札如病毒的核酸。

本产品可区分样本中上述 5 种病毒，轮状病毒和腺病毒不区分同一病原体的具体型别，诺如病毒可区分 GI、GII 型别，检测结果可用于上述病毒感染的辅助诊断。

（三）产品包装规格

12 测试/盒，4 测试/盒。

（四）产品检验原理

本试剂盒以待检测病毒的保守序列为靶序列，设计特异性 PCR 扩增引物及 Taqman 探针，采用一步法 RT-PCR 对目标靶点进行扩增和实时荧光检测并绘制出扩增曲线，根据扩增曲线的 Ct 值判断样本的阴阳性。试剂盒设计了内参及外标质控品（阳性、阴性质控品）对检测过程进行质量控制，同时引入 dUTP/UDG 防污染系统，以保障检测过程的准确性。

本产品依托微流控技术，在配套芯片（泵液芯片模块，以

下简称“芯片”）上实现从样本到结果的一站式操作。只需将试剂、试剂架和芯片放入仪器的指定位置，将待测样本加入芯片的加样孔中，点击鼠标加载运行程序，仪器就可以实现核酸提取纯化、PCR、荧光采集及结果判读。

二、临床前研究概述

（一）主要原材料

本产品在制备过程中主要原材料包括 Carrier RNA、磁珠、引物、探针、扩增反应液、星状病毒假病毒、诺如病毒-GI 假病毒、诺如病毒-GII 假病毒、轮状病毒假病毒、札如病毒假病毒、肠道腺病毒假病毒以及 HEK-293 细胞。其中 Carrier RNA、磁珠、引物、探针、扩增反应液、星状病毒假病毒、诺如病毒-GI 假病毒、诺如病毒-GII 假病毒、轮状病毒假病毒、札如病毒假病毒、肠道腺病毒假病毒为外购，HEK293 细胞为申请人自行生产。

申请人对主要原材料进行了供应商的选择，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。

本产品企业参考品包括阳性参考品、阴性参考品、最低检测限参考品和精密度参考品。参考品采用粪便样本和病原体培养物制备而成。组成如下：

阳性参考品：10份，由试剂盒检测范围内的不同亚型病毒的粪便样本组成。

阴性参考品：10份，由试剂盒检测范围外的病原体培养物组成。

精密度参考品：3份，由弱阳性水平的粪便样本组成。

最低检测限参考品：10份，由试剂盒检测范围内的不同亚型病毒的最低检测限浓度水平的粪便样本组成。

本试剂盒设置了阴性质控品，其中阴性质控品为HEK293细胞；阳性质控品为含六个目标靶点基因的假病毒和HEK293细胞的混合物，用于检测过程中试剂和仪器的质量控制。

（二）生产工艺及反应体系研究

申请人通过企业内部参考品试验确定最佳的生产工艺及反应体系，包括：核酸提取试剂、PCR扩增试剂和质控品的配液工序、分装工序及组装工序等，同时对蛋白酶K、Carrier RNA、磁珠、裂解液C、漂洗液1A、漂洗液2A、异丙醇、润洗液、洗脱液、硅油等试剂组分使用量以及样本上样量等条件进行了研究，并对反转录条件、PCR扩增程序、反应体积等反应条件进行研究，还包括对样本类型的研究、样本稳定性的研究。

申请人通过对试剂主要生产工艺的研究，确定了最佳的生产工艺。

（三）分析性能评估

本试剂盒分析性能评估主要包括：准确度、精密度、分析特异性、最低检测限，包容性等，申请人提交了质量管理体系下生产的三批产品在适用机型上的性能评估资料。

1.准确度

在准确度研究中，申请人采用三批试剂盒对企业参考品及临床样本在所有适用机型上进行准确度评价。结果表明检测企业参考品阴性符合率为 100%，阳性符合率为 100%；检测临床样本，与一代测序结果符合率 100%。

2.精密度

精密度研究中，申请人使用三批试剂对阴性临床样本 4 份、临界阳性临床样本 13 份、中阳性临床样本 13 份，共 30 份临床样本进行精密度研究。重复性和室内精密度评价试验模型为 $20 \times 2 \times 2$ ，实验室间精密度评价试验模型为 $3 \times 5 \times 5$ 。研究结果表明产品的重复性、室内精密度、再现性精密度和批间精密度 CV 均 $\leq 5\%$ 。

3.分析特异性

分析特异性研究包括交叉反应研究、竞争性干扰研究和内外源干扰研究。

在交叉反应性能评估中，申请人使用三批试剂对试剂盒检

测范围内 5 种病原体之间及与检测范围内病原体核酸序列具有同源性、易引起相同或相似的临床症状、采样部位寄生或易并发的其他微生物共 55 种病原体，包括肠道病毒 EV71、金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌 14 型、副流感、脑膜炎奈瑟菌、流感嗜血杆菌、鼻病毒 A 组 HRV16、甲流 H1N1、甲流 H3N2、乙型流感病毒、呼吸道合胞体病毒 A 型、呼吸道合胞体病毒 B 型、腺病毒 1、腺病毒 3、腺病毒 7、冠状病毒 229E、单纯疱疹病毒 1 型、水痘-带状疱疹病毒、非伤寒沙门氏菌、空肠弯曲杆菌、类志贺邻单胞菌、结肠弯曲菌、河弧菌、拟态弧菌、假结核耶尔森菌、痢疾志贺杆菌、艰难芽孢梭状杆菌、产气荚膜杆菌、伤寒沙门菌、戊型肝炎病毒、甲型肝炎病毒、B 族-链球菌、鼠伤寒沙门菌、甲副伤寒沙门菌、乙副伤寒沙门菌、丙副伤寒沙门菌、风疹病毒、麻疹病毒、流行性腮腺炎病毒、黏液罗氏菌、柯萨奇病毒 CA16、埃可病毒、脊髓灰质炎病毒、溶组织内阿米巴、蓝氏贾第鞭毛虫、隐孢子虫、肠致病性大肠杆菌、肠侵袭性大肠杆菌、产志贺毒素大肠杆菌、肠出血性大肠杆菌、肠聚集性大肠杆菌、小肠结肠炎耶尔森菌、肠炎沙门氏菌、大肠埃希菌、嗜水气单胞菌进行交叉反应评价，结果表明试剂盒检测范围内的 5 种病原体之间没有交叉反应，与检测范围内病原体核酸序列具有同源性、易引起相同或相似的临床症状、采样部

位寄生或易并发的其他微生物共 55 种病原体无交叉反应。

在竞争性干扰研究中，申请人使用三批试剂对同一反应体系内不同病原体间的竞争性干扰进行评估，根据临幊上常见的腹泻病毒混合感染情况，分析同一反应体系内高浓度病原体对低浓度病原体检测的影响。结果表明样本中存在同一体系内的两种或三种靶标时，不会出现内部竞争抑制作用。

在干扰研究中，申请人使用一批试剂对粪便中潜在的 32 种内、外源性干扰物质（包括全血、粘蛋白、腹泻患者使用药物，以及抗生素和抗病毒药物），使用临界阳性水平样本进行检测。

结果表明，内源物质 2.5mg/ml 粘蛋白，10%(v/v)全血，74nmol/L 甘油三酯，26nmol/L 胆固醇，5.52nmol/L 脂肪酸（棕榈酸），0.8nmol/L 脂肪酸（硬脂酸），2.4mg/L 盐酸多西环素片，0.5g/L 甲硝唑片，100mg/L 制霉菌素片，6mg/L 萘普生钠胶囊，24mg/dL 钙片，1mL/L 磷酸钠注射液，6mg/L 多库酯钠片，100% 开塞露，0.1% 漂白剂，20% 乙醇，100mg/L 己苯醇醚栓剂，0.02mg/mL 盐酸去氧肾上腺素，4mg/L 皮质醇，16mg/L 盐酸洛哌丁胺，24% 氢氧化镁，30%(v/v)矿物油，25000U/L 杆菌肽，100mg/L 比沙可啶，5g/L 碱式水杨酸铋，60g/L 蒙脱石散，500mg/L 的枯草杆菌二联活菌肠溶胶囊，12g/L 诺氟沙星胶囊，20g/L 肠炎宁片，10%(v/v)霍香正气口服液，3g/L 利巴韦林，0.75g/L 奥斯他韦不

会影响检测结果的判定。

4. 最低检测限

申请人使用三批试剂对试剂盒检测范围内病原体亚型的培养物及临床样本（4 株培养物、57 例临床样本）进行最低检测限研究。以检出率 $\geq 95\%$ 时所对应的浓度水平确定本试剂盒的最低检测限，并进行验证。结果表明试剂盒中轮状病毒、腺病毒、诺如病毒 GI 和札如病毒最低检测限为 2000copies/mL，星状病毒和诺如病毒 GII 最低检测限为 1000copies/mL。对应的病原体滴度为轮状病毒 A 群 0.54 TCID50/mL、腺病毒 0.88 TCID50/mL、星状病毒 0.7 TCID50/mL。

5. 包容性

申请人使用三批试剂对 3 个不同来源共 39 个临床样本进行包容性研究，临床样本包括 A 群轮状病毒 3 个、B 群轮状病毒 3 个、C 群轮状病毒 3 个、腺病毒 F 亚组 40 型 3 个、腺病毒 F 亚组 41 型 3 个、星状病毒共 12 个（1 和 4 型各 3 个、星状病毒 2~3 和 5~8 型各 1 个）、诺如病毒 GI 亚型 3 个、诺如病毒 GII 亚型 3 个、札如病毒 GI 亚型 3 个、札如病毒 GII 亚型 3 个。结果表明试剂盒包容性满足要求。

（四）阳性判断值研究

阳性判断值的确定：选取来自不同地区有明确诊断信息的 522

例临床样本进行研究。分别纳入试剂盒检测范围内的 6 种单阳性样本及常见混合阳性样本，共 399 例阳性样本，阴性样本 123 例，使用本试剂盒进行检测，采用 ROC 曲线法进行统计分析，确定试剂盒各病原体的阳性判断值均为 38。内参检测 Ct 值范围为 ≤ 38 。

阳性判断值验证：选取来自不同地区有明确诊断信息的 341 例临床样本进行验证，结果表明本试剂盒阳性判断值设置合理。

（五）稳定性研究

申请人对本产品的实时稳定性、开封稳定性、冻融稳定性、运输稳定性以及样本稳定性进行研究，确定了在各种条件下本产品及样本的有效保存时间。

实时稳定性：使用企业参考品对三批试剂按照技术要求检测，分别于试剂盒保存的第 0 个月、3 个月、6 个月、9 个月、12 个月、15 个月进行稳定性试验；检测结果均符合技术要求。因此，试剂盒按照说明书要求可保存 12 个月。

此外，申请人对产品的开封稳定性、冻融稳定性、运输稳定性和样本稳定性分别进行了研究，结果显示，产品的性能均满足产品说明书声称的要求。

三、临床评价概述

申请人在首都医科大学附属北京儿童医院、首都医科大学

附属北京安贞医院、石家庄市中医院、广州医科大学附属妇女儿童医疗中心、武汉市疾病预防控制中心、江西省疾病预防控制中心和山东省疾病预防控制中心共7家机构完成了临床试验。

入组病例均为腹泻患者，样本类型为粪便。临床试验共分为两部分：

（一）与一代测序的比较研究

针对轮状病毒、诺如病毒、肠道腺病毒、星状病毒和札如病毒采用试验体外诊断试剂与临床参考方法一代测序法进行比较研究，确认本产品的临床性能。本部分临床试验共入组病例2558例，其中轮状病毒阳性病例282例，包括A群217例，B群34例，C群34例，诺如病毒阳性病例310例，包括GI型85例，GII型235例，肠道腺病毒阳性病例210例，星状病毒阳性病例175例，札如病毒阳性病例160例。针对轮状病毒检测，阳性符合率为100%（95%CI: 98.66%, 100%），阴性符合率为99.87%（95%CI: 99.61%, 99.96%）；针对诺如病毒检测，阳性符合率为100%（95%CI: 98.78%, 100%），阴性符合率为100%（95%CI: 99.83%, 100%）；针对肠道腺病毒检测，阳性符合率为99.52%（95%CI: 97.35%, 99.92%），阴性符合率为99.87%（95%CI: 99.62%, 99.96%）；针对星状病毒检测，阳性符合率为100%（95%CI: 97.85%, 100%），阴性符合率

为 99.92% (95%CI: 99.69%, 99.98%)；针对札如病毒检测，阳性符合率为 100% (95%CI: 97.66%, 100%)，阴性符合率为 99.92% (95%CI: 99.70%, 99.98%)；临床试验显示试验体外诊断试剂与参考方法检测结果一致性较好。

（二）、与已上市同类产品的比较研究

针对诺如病毒、A 群轮状病毒和肠道腺病毒，申请人开展了与已上市同类产品进行的比对研究。其中针对诺如病毒，临床试验共计入组病例 1025 例，诺如病毒阳性病例 175 例，阳性符合率为 100% (95%CI: 97.85%, 100%)，阴性符合率为 99.65% (95%CI: 98.97%, 99.88%)；针对 A 群轮状病毒和肠道腺病毒，共入组病例 1338 例，A 群轮状病毒阳性病例 139 例，阳性符合率为 100% (95%CI: 97.31%, 100%)，阴性符合率为 100% (95%CI: 99.68%, 100%)；肠道腺病毒阳性病例 132 例，阳性符合率为 100% (95%CI: 97.17%, 100%)，阴性符合率为 100% (95%CI: 99.68%, 100%)。临床试验显示试验体外诊断试剂与已上市同类产品检测结果一致性较好。

综上所述，该产品临床试验设计符合《体外诊断试剂临床试验技术指导原则》的相关要求。

四、产品受益风险判定

本产品根据 YY/T 1437-2023 医疗器械风险管理对本产品的

安全风险分析方式，对本产品进行风险分析。

（一）受益评估

产品通过对腹泻患者粪便样本中的五项病毒核酸的定性检测，一次性获得多个病原体的检测结果，检测结果供临床诊断参考，为上述病毒感染性疾病的临床诊疗提供一种更多的辅助诊断方法，提高诊断效率。

（二）风险评估

申请人对已知危险（源）进行风险评价，按照风险可接受准则判断每个危险（源）的风险是否达到可接受水平，对合理可行降低的风险、不经过风险/收益分析既判定为不可接受的风险采取控制措施，并对具体措施进行实施验证，同时重新对采取措施后的风险进行估计，确认其风险水平是否可接受。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.与储存或运输相关的风险，例如产品储存条件不达标，产品运输条件不达标。
- 3.与使用有关的风险，例如不合理的样本采集、处理方法，

其他样本类型或样本采集、处理方法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；检测芯片使用前请确保八联排 PCR 管与芯片贴合得紧密无缝，如有松动现象应人工安装紧固后再使用；注意轻拿轻放，放置到仪器上时请保证八联排 PCR 管置于仪器上的加热模块内。芯片开封后如暂时不用，请放置于干燥环境内，并尽快使用。

4.与防护有关的风险，仪器使用时需关闭仪器舱门，操作者穿工作服和一次性手套，万一试剂与皮肤、粘膜接触，请立即用自来水冲洗。

5.警示及注意事项：该试剂盒说明书中明确了该试剂盒检查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。申请人的注册申报资料符合现行要求,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,经系统评价后,建议准予注册。

2025年5月20日

附件: 产品说明书

轮状病毒、诺如病毒、肠道腺病毒、星状病毒和札如病毒核酸检测

试剂盒（PCR-荧光探针法）说明书

【产品名称】

通用名称：轮状病毒、诺如病毒、肠道腺病毒、星状病毒和札如病毒核酸检测试剂盒（PCR-荧光探针法）

【包装规格】

12 测试/盒，4 测试/盒

【预期用途】

本产品用于体外定性检测腹泻患者粪便样本中的轮状病毒（A、B、C 群）、诺如病毒（GI、GII 型）、肠道腺病毒（40、41 型）、星状病毒和札如病毒的核酸。

本产品可区分样本中上述 5 种病毒，轮状病毒和腺病毒不区分同一病原体的具体型别，诺如病毒可区分 GI、GII 型别，检测结果可用于上述病毒感染的辅助诊断。

腹泻是临床最常见的疾病之一，表现为腹痛、恶心、呕吐及发热，小肠感染常为水样泻，大肠感染常含血性便等多种症状，可由多种病原体引起，包括细菌、病毒、寄生虫等，其中病毒被认为是最重要的一类腹泻病原。

轮状病毒 (Rotavirus, RV) 属于呼肠孤病毒科，双链 RNA，轮状病毒可分为 A~G 等 7 个群，它们通过感染小肠上皮细胞，从而造成细胞损伤，引起腹泻，其中 A、B 和 C 群和人类疾病有关。A、C 群轮状病毒主要感染儿童，以秋冬季多见，主要症状为腹泻和呕吐，可伴发热和呼吸道症状；B 群轮状病毒主要感染成人，常于 5-6 月短期暴发流行，以腹泻为主，伴恶心、呕吐、腹痛、乏力等症状。针对轮状病毒检测技术包括：核酸检测、免疫学检测、电镜技术、病毒分离培养鉴定，其中核酸检测、免疫学检测最常用。电镜技术对病毒颗粒滴度要求高，设备成本高昂，常用于科研。病毒分离培养灵敏度低，需要特殊培养条件，对实验室及操作人员要求高，培养周期长，且轮状病毒 B 和 C 当前无法培养。

诺如病毒 (Norovirus, NV) 属于杯状病毒科，诺如病毒属，为单股正链 RNA 病毒。诺如病毒有五个基因型，其中 GI 和 GII 与人类感染最为相关。诺如病毒和轮状病毒一样，是造成胃肠炎流行的重要原因。该病毒传染性强人群普遍易感，100 个病毒颗粒即可致病，可在环境中长期存在，患者的粪便及呕吐物、污染的水和食物都是潜在的传染源。患者常出现腹泻和呕吐症状，其次为恶心、腹痛、头痛、发热等。针对诺如病毒检测技术包括：核酸检测、免疫学检测、电镜技术，其中核酸检测最常用。电镜技术对病毒颗粒滴度要求高，设备成本高昂，常用于科研。诺如病毒抗原容易发生漂移，导致免疫学检测漏检率较高，不常用。诺如病毒当前无法培养。

腺病毒（Adenovirus, ADV）为无包膜的双股 DNA 病毒，至少分为 47 个血清型，其中 40 型和 41 型即肠腺病毒。肠道腺病毒是导致婴幼儿病毒性腹泻的主要病原之一，肠道腺病毒感染年龄主要为 5 岁以下，85% 以上的感染者年龄小于 3 岁。腺病毒性肠炎无明显季节性，全年均可发病，主要通过粪一口途径传播，亦可通过呼吸道传播。针对肠道腺病毒检测技术包括：核酸检测、免疫学检测、电镜技术、病毒分离培养鉴定，其中核酸检测、免疫学检测最常用。电镜技术对病毒颗粒滴度要求高，设备成本高昂，常用于科研。病毒分离培养灵敏度低，需要特殊培养条件，对实验室及操作人员要求高，培养周期长，常用于科研。

星状病毒（Astrovirus, ASTV）为无衣壳单股正链 RNA 病毒，基因全长 6.8kb。有 3 个开放阅读框架，即 ORF1a、ORF1b、ORF2 和 8 个血清型。是引起急性肠胃炎仅次于轮状病毒的主要病原之一，可散发或暴发流行。临床经过 1-3 天潜伏期后表现有水样便伴呕吐、腹泻及发热症状。星状病毒检测的常见技术是核酸检测。电镜技术对病毒颗粒滴度要求高，设备成本高昂，常用于科研。星状病毒极难培养。

札如病毒（Sapovirus, SAPV）属于杯状病毒科，为单股正链 RNA 病毒，基因组大小约 74kb，根据 RNA 聚合酶区和衣壳蛋白区的基因多样性，札如病毒进一步分为 5 个遗传组，其中 GI、GII、GIV 和 GV 感染人，可引起不同年龄人群腹泻。札如病毒感染后常出现腹泻、发烧、呕吐、反胃、腹部不适、头痛等症状，与诺如病毒感染相比，症状较轻，极个别病例可导致严重症状。札如病毒检测的常见技术是核酸检测。电镜技术对病毒颗粒滴度要求高，设备成本高昂，常用于科研。札如病毒抗原容易发生漂移，导致免疫学检测漏检率较高，不常用。札如病毒当前无法培养。

【检验原理】

本试剂盒以待检测病毒的保守序列为靶序列，设计特异性 PCR 扩增引物及 Taqman 探针，采用一步法 RT-PCR 对目标靶点进行扩增和实时荧光检测并绘制出扩增曲线，根据扩增曲线的 Ct 值判断样本的阴阳性。试剂盒设计了内参及外标质控品（阳性、阴性质控品）对检测过程进行质量控制，同时引入 dUTP/UDG 防污染系统，以保障检测过程的准确性。

本产品依托微流控技术，在配套芯片（泵液芯片模块，以下简称“芯片”）上实现从样本到结果的一站式操作。只需将试剂、试剂架和芯片放入仪器的指定位置，将待测样本加入芯片的加样孔中，点击鼠标加载运行程序，仪器就可以实现核酸提取纯化、PCR、荧光采集及结果判读。

【主要组成成分】

组分	名称	装量 (X 测试/盒)		数量	主要成分
		12	4		
试剂盒 I	扩增反应液	300 μ L	160 μ L	1 管	Tris-HCl 缓冲液、dNTPs、Taq 酶、UNG 酶、M-MLV 逆转录酶
	引物液 A	100 μ L	45 μ L	1 管	ASTV、RV、ADV 和内参（人）

					RNaseP) 4 个靶标的引物和探针, 引物无修饰, 探针分别由 FAM、ROX、CY5 和 VIC 荧光基团修饰
	引物液 B	100 μ L	45 μ L	1 管	NV-G I 、 NV-G II 、 SAPV 和内参(人 RNaseP) 4 个靶标的引物和探针引物无修饰, 探针分别由 FAM、ROX、CY5 和 VIC 荧光基团修饰
	Carrier RNA	82 μ L	33 μ L	1 管	Carrier RNA
	蛋白酶 K	190 μ L	100 μ L	1 管	20mg/mL 蛋白酶 K
	阳性质控品	220 μ L	220 μ L	1 管	含 ASTV、NV-GI、NV-G II 、 SAPV 的 ORF1 和 ORF2 基因片段, RV 的 NSP5 基因片段, ADV 的 Hexon 基因片段的假病毒, 以及 HEK-293 细胞
	阴性质控品	350 μ L	350 μ L	1 管	HEK-293 细胞
试剂盒 II	磁珠	440 μ L	200 μ L	1 管	磁珠
	润洗液	1mL	500 μ L	1 管	0.1% BSA
	洗脱液	1mL	500 μ L	1 管	TE
试剂盒 III	硅油	1.2 mL	1.0 mL	1 管	硅油
	裂解液 C	3mL	1.5 mL	1 管	5M 异硫氰酸胍、1mM 二硫苏糖醇
	异丙醇	3mL	1.5 mL	1 管	异丙醇
	漂洗液 1A	3mL	1.5 mL	1 管	3M 盐酸胍、50% 异丙醇
	漂洗液 2A	3mL	1.5 mL	1 管	70% 乙醇

备注: 1. 不同规格或批次的试剂盒组分不得混用。

2. 需要但未提供的材料和设备: 200 μ L 移液器及配套枪头, 博晖微流控仪器配套芯片和枪头。

【储存条件及有效期】

试剂盒 I 在-15℃以下保存, 试剂盒 II 在 2℃~8℃保存, 试剂盒 III 在 10℃~30℃保存; 试剂盒有效期为 12 个月。

试剂盒 I 干冰运输, 开箱温度不高于-15℃; 试剂盒 II 2℃~8℃运输; 试剂盒 III 10℃~30℃运输; 运输时间不超过 7 天。

试剂盒 I 反复冻融≤6 次。

生产日期和使用期限见盒签或瓶签。

【适用仪器】

北京博晖创新生物技术集团股份有限公司生产的全自动核酸检测分析系统（型号 BHQ-III）
(注册证号: 国械注准 20233220697)。

【样本要求】

1. 样本类型

粪便。

2. 样本采集与处理

收集患者腹泻粪便样本，成型便约 1g，水样便约 1mL，置于无菌粪便采样杯，送检。

实验时，取黄豆粒大小的成型便或 200 μ L 水样便，用 1mL 生理盐水对送检的粪便样本制成悬液，用 5min/3000r 离心后取上清液进行检测。

3. 样本保存与运输

采集的待测样本可立即用于检测，如不能立即检测，原始粪便样本可在 2~8℃ 保存 2 天，-20 \pm 5℃ 可保存 12 个月，-70℃ 及以下保存 2 年。粪便加生理盐水稀释后，可在 2~8℃ 保存 2 天，-20 \pm 5℃ 可保存 6 个月。原始粪便样本和生理盐水稀释后的粪便样本均可反复冻融不超过 5 次。

【检验方法】

1. 实验前准备

1.1 样本准备

将采样管置于涡旋混匀仪上充分涡旋 10 s，取上清检测；冻存样本需提前室温解冻，恢复至室温后，震荡混匀 10s，取上清检测。

1.2 仪器和试剂准备

打开全自动核酸检测分析系统（按照仪器说明书操作）；

将试剂盒 I 和试剂盒 II 分别从冰箱中取出，待各组分充分平衡至室温后混匀，将管壁上残留试剂甩至管底，然后将各试剂组分置于仪器试剂架上对应位置，并放置足够的合适大小的枪头。

2. 实验操作

2.1 将混匀的样本，使用移液器各取 200 μ L，加入芯片加样孔，将芯片装载到仪器上。

2.2 打开软件，勾选样本通道，点击加载实验，运行腹泻病毒五项核酸检测试剂盒（PCR-荧光探针法）操作程序。

核酸提取程序运行基本过程如下所示，所有试剂组分加液过程均由仪器自动完成。

核酸提取	细胞裂解与核酸提取纯化	加样枪分 183 μ L 裂解液到试剂池
		加样枪分别吸取一定量的裂解液（12 测试：253 μ L；4 测试：93 μ L）、蛋白酶 K（12 测试：150 μ L；4 测试：61 μ L）和阴性质控 115 μ L 加入到 Carrier RNA 管，并混合
		加样枪分配上步中的混合液（包括裂解液 20 μ L、蛋白酶 K 10 μ L 和 Carrier RNA 5.5 μ L、阴性质控 4.5 μ L）到芯片试剂池，然后泵液到样本池

	PCR 试剂混合进样	加样枪分配 30 μ L 磁珠到试剂池，然后泵液到样本池	
		加样枪分配 170 μ L 异丙醇到试剂池，然后泵液到样本池	
		仪器自动进行磁珠捕获	
		加样枪分配 80 μ L 漂洗液 1A 到试剂池，然后进行漂洗	
		加样枪分配 80 μ L 漂洗液 2A 到试剂池，然后进行漂洗	
		加样枪分配 60 μ L 润洗液到洗脱池，然后进行沟道漂洗	
		加样枪分配 60 μ L 洗脱液到洗脱池，然后进行核酸洗脱	
		加样枪分别吸取一定量的扩增反应液（12 测试：125 μ L; 4 测试：56.3 μ L）加入到引物液 A 管和引物液 B 管，并混匀，形成扩增反应液 A 和扩增反应液 B	
		PCR 管 1 和 PCR 管 2 中分别加入扩增反应液 A 和扩增反应液 B，各 13.5 μ L（其中包含扩增反应液 7.5 μ L 和引物 6 μ L）	
		通过气泵向 PCR 管 1 和 PCR 管 2 中分别泵入等量的核酸 16.5 μ L	
		PCR 管 1 和 PCR 管 2 用硅油 30 μ L 密封	

PCR 扩增程序如下所示：

温度	时间	循环数
55°C	10min	1
95°C	30s	1
95°C	10s	45
58°C (荧光采集)	30s	

2.3 实验结束，将试剂管架上试剂瓶和芯片卸载，清洁仪器工作台。

【阳性判断值】

选取 522 例临床样本进行研究，采用受试者工作特征曲线 (receiver operating characteristic curve, ROC) 法计算得出，各个检测靶标的阳性判断值为 38。当某一病原体的 Ct 值小于或等于其阳性判断值时，判断该病原体为阳性；相反，则判断该病原体检测为阴性。内参检测 Ct 值范围为≤38。

本产品各病原体的阳性判断值及内参检测 Ct 值范围整合进了判读软件中，检测结果由软件自动判读。

【检验结果的解释】

样本的检测结果由软件判读，结果显示在“检测信息”窗口中。各种病原体分两个扩增孔检测，引物液 A、引物液 B 各通道对应的靶标见下表：

检测通道	引物液 A	引物液 B
FAM 通道	星状病毒	诺如病毒 GI

ROX 通道	轮状病毒	札如病毒
CY5 通道	腺病毒	诺如病毒 GII
VIC 通道	内参	内参

1.质量控制

- (1) 阳性质控品结果显示为轮状病毒阳性, 星状病毒阳性, 腺病毒阳性, 诺如病毒 GI 阳性, 札如病毒阳性, 诺如病毒 GII 阳性, 内参阳性, 且各病原体及内参的检测 $Ct \leq 35$ 。
- (2) 阴性质控品结果显示为轮状病毒阴性, 星状病毒阴性, 腺病毒阴性, 诺如病毒 GI 阴性, 札如病毒阴性, 诺如病毒 GII 阴性, 内参阳性且 $Ct \leq 33$ 。
- (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。

2.实验结果判读

样本的检测结果由软件判读, 结果显示在“检测信息”窗口中。

2.1 阴性结果判读

各个病原体靶标阴性 (Ct 值大于 38, 或无 Ct) , 引物液 A、引物液 B 中内参阳性 ($Ct \leq 38$), 结果判定为阴性; 若各个病原体靶标阴性 (Ct 值大于 38, 或无 Ct), 引物液 A、引物液 B 中内参仅 1 个阳性或 2 个都是阴性, 则判定为检测结果无效, 需查找原因并重新检测或重新采样后检测。

阴性样本结果示例如下:

阴性结果 1	引物液 A	引物液 B
FAM	—	—
VIC	+	+
ROX	—	—
CY5	—	—
软件显示	各个病原体阴性, 内参阳性, 检测结果: 阴性	

阴性结果 2	引物液 A	引物液 B
FAM	—	—
VIC	+	—
ROX	—	—
CY5	—	—
软件显示	各个病原体阴性, 内参异常, 检测结果: 无效	

2.2 阳性结果判读

引物液 A、引物液 B 中内参阳性, 任一病原体阳性则判为对应病原体阳性。若引物液 A、引物液 B 中内参仅 1 个阳性, 另一管内有病原体阳性, 则判为对应病原体阳性, 若另一管内参

阴性且病原体也是阴性，则判为检测结果无效，需查找原因并重新检测或重新采样后检测。阳性样本结果示例如下：

阳性结果 1	引物液 A	引物液 B
FAM	—	—
VIC	+	+
ROX	+	—
CY5	—	—
软件显示	对应病原体阳性，内参阳性，检测结果：轮状病毒阳性	

阳性结果 2	引物液 A	引物液 B
FAM	—	—
VIC	+	—
ROX	+	—
CY5	—	—
软件显示	对应病原体阳性，内参异常，检测结果：无效	

阳性结果 3	引物液 A	引物液 B
FAM	—	—
VIC	+	—
ROX	—	+
CY5	—	—
软件显示	对应病原体阳性，内参阳性，检测结果：诺如病毒 GII 阳性	

阳性结果 4	引物液 A	引物液 B
FAM	—	—
VIC	—	—
ROX	+	+
CY5	—	—
软件显示	对应病原体阳性，内参阴性，检测结果：轮状病毒阳性、诺如病毒 GII 阳性	

【检验方法的局限性】

1. 本试剂盒的检测结果仅供临床参考，不得作为临床诊断的唯一标准。临床诊断和治疗需要结

合临床症状、病史、其他实验室检测指标等综合考虑。

2. 检测靶序列的变异（扩增引物位置的变异、探针位置的变异）会导致假阴性结果。
3. 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。
4. 样本中病毒滴度过低、核酸降解等均有可能导致无效检测或假阴性结果；
5. 未经验证的其它干扰因素，如未经验证的其他干扰物或 PCR 抑制因子等会导致假阴性结果。
6. 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。
7. 待检核酸序列可能长时间出现在体内，而与病毒活性无关。核酸检测阳性并不一定意味着目前感染了相应病毒或其为临床症状的致病因子。

【产品性能指标】

1. 最低检测限：

序号	病原体	数值	序号	病原体	数值
1	轮状病毒	2000 Copies/mL 0.54TCID ₅₀ /mL	4	诺如病毒 GI	2000 Copies/mL
2	星状病毒	1000 Copies/mL 0.70TCID ₅₀ /mL	5	诺如病毒 GII	1000 Copies/mL
3	腺病毒	2000 Copies/mL 0.88TCID ₅₀ /mL	6	札如病毒	2000 Copies/mL

2. 阳性/阴性符合率：检测企业阳性参考品 10 份（P1~P10）、阴性参考品 10 份（N1~N10），符合率均为 100%。

3. 分析特异性：本试剂盒与以下病原体无交叉反应。

肠道病毒 EV71 1.0E5 TCID50/mL	金黄色葡萄球菌 1.0E6 cfu/mL	肺炎链球菌 14 型 1.0E6 cfu/mL	副流感 1.0E5 TCID50/mL
脑膜炎奈瑟菌 1.0E6 cfu/mL	流感嗜血杆菌 1.0E6 cfu/mL	鼻病毒 A 组 HRV16 1.0E5 TCID50/mL	甲流 H1N1 1.0E5 TCID50/mL
甲流 H3N2 1.0E5 TCID50/mL	乙型流感病毒 1.0E5 TCID50/mL	呼吸道合胞体病毒 A 型 1.0E5 TCID50/mL	呼吸道合胞体病毒 B 型 1.0E5 TCID50/mL
腺病毒 1 1.0E5 TCID50/mL	腺病毒 3 1.0E5 TCID50/mL	腺病毒 7 1.0E5 TCID50/mL	冠状病毒 229E 1.0E5 TCID50/mL
单纯疱疹病毒 1 型 1.0E5 TCID50/mL	水痘-带状疱疹病毒 1.0E5 TCID50/mL	非伤寒沙门氏菌 (NTS) 1.0E6 cfu/mL	空肠弯曲杆菌 1.0E6 cfu/mL
类志贺邻单胞菌 1.0E6 cfu/mL	结肠弯曲菌 1.0E6 cfu/mL	河弧菌 1.0E6 cfu/mL	拟态弧菌 1.0E6 cfu/mL

假结核耶尔森菌 1. 0E6 cfu/mL	痢疾志贺杆菌 1. 0E6 cfu/mL	艰难芽孢梭状杆菌 1. 0E6 cfu/mL	产气荚膜杆菌 1. 0E6 cfu/mL
伤寒沙门菌 1. 0E6 cfu/mL	戊型肝炎病毒 1. 0E5 TCID50/mL	甲型肝炎病毒 1. 0E5 TCID50/mL	B 族-链球菌 1. 0E6 cfu/mL
鼠伤寒沙门菌 1. 0E6 cfu/mL	甲副伤寒沙门菌 1. 0E6 cfu/mL	乙副伤寒沙门菌 1. 0E6 cfu/mL	丙副伤寒沙门菌 1. 0E6 cfu/mL
风疹病毒 1. 0E5 TCID50/mL	麻疹病毒 1. 0E5 TCID50/mL	流行性腮腺炎病毒 1. 0E6 cfu/mL	黏液罗氏菌 1. 0E6 cfu/mL
柯萨奇病毒 CA16 1. 0E5 TCID50/mL	埃可病毒 1. 0E5 TCID50/mL	脊髓灰质炎病毒 1. 0E5 TCID50/mL	溶组织内阿米巴 1. 0E5copies/mL
蓝氏贾第鞭毛虫 1. 0E5copies/mL	隐孢子虫 1. 0E5copies/mL	肠致病性大肠杆菌 1. 0E6 cfu/mL	肠侵袭性大肠杆菌 1. 0E6 cfu/mL
产志贺毒素大肠杆菌 1. 0E6 cfu/mL	肠出血性大肠杆菌 1. 0E6 cfu/mL	肠聚集性大肠杆菌 1. 0E6 cfu/mL	小肠结肠炎耶尔森菌 1. 0E6 cfu/mL
肠炎沙门氏菌 1. 0E6 cfu/mL	大肠埃希菌 1. 0E6 cfu/mL	嗜水气单胞菌 1. 0E6 cfu/mL	

- 干扰试验：内源物质 2.5mg/ml 粘蛋白, 10%(v/v)全血, 74nmol/L 甘油三酯, 26nmol/L 胆固醇, 5.52nmol/L 脂肪酸（棕榈酸）, 0.8nmol/L 脂肪酸（硬脂酸）, 2.4mg/L 盐酸多西环素片, 0.5g/L 甲硝唑片, 100mg/L 制霉菌素片, 6mg/L 莢普生钠胶囊, 24mg/dL 钙片, 1mL/L 磷酸钠注射液, 6mg/L 多库酯钠片, 100%开塞露, 0.1%漂白剂, 20%乙醇, 100mg/L 壬苯醇醚栓剂, 0.02mg/mL 盐酸去氧肾上腺素, 4mg/L 皮质醇, 16mg/L 盐酸洛哌丁胺, 24%氢氧化镁, 30%(v/v) 矿物油, 25000U/L 杆菌肽, 100mg/L 比沙可啶, 5g/L 碱式水杨酸铋, 60g/L 蒙脱石散, 500mg/L 的枯草杆菌二联活菌肠溶胶囊, 12g/L 诺氟沙星胶囊, 20g/L 肠炎宁片, 10%(v/v)霍香正气口服液, 3g/L 利巴韦林, 0.75g/L 奥斯他韦不会影响检测结果的判定。
- 精密度：本研究用于精密度评价的样本包含 3 个水平，阴性样本、临界阳性样本和中阳性样本，其中临界阳和中阳样本是用阴性样本稀释配置成临界阳和中阳两个浓度（即 $2 \times \text{LoD}$ 和 $20 \times \text{LoD}$ ）。重复性和室内精密度评价试验模型为 $20 \times 2 \times 2$ ，实验室间精密度评价本次试验模型为 $3 \times 5 \times 5$ 。产品的重复性精密度、室内精密度、再现性精密度和批间精密度 CV 均 $\leq 5\%$ 。
- 临床试验结果：本临床试验在 7 家临床中心开展，共纳入 2558 例。采用测序法与已上市同类产品进行比较研究，确认产品有效性。与测序法的检测结果符合率分别为：轮状病毒阳性符合率 100.00%，阴性符合率 99.87%。诺如病毒阳性符合率 100.00%，阴性符合率 100.00%。肠道腺病毒阳性符合率 99.52%，阴性符合率 99.87%。星状病毒阳性符合率 100.00%，阴性符合率 99.92%。札如病毒阳性符合率 100.00%，阴性符合率 99.92%。与同类已上市产品的检测结果符合率分别为：诺如病毒阳性符合率 100.00%，阴性符合率 99.65%。A 群轮状病毒阳性符合率 100.00%；阴性符合率 100.00%。肠道腺病毒阳性符合率 100.00%，阴性符合率 100.00%。

【注意事项】

1. 本试剂盒仅用于体外诊断。
2. 本产品仅针对样本要求项中说明的适用样本类型及样本采集、处理方法，其他样本类型或样本采集、处理方法不能保证产品性能。
3. 由于 Taqman 荧光 PCR 方法本身的局限性等因素，可能会产生非典型扩增曲线，导致假阳性，如出现该情况建议对该样本进行复检。
4. 试剂、样本使用前要完全解冻并混匀，应尽量避免反复冻融。
5. 检测芯片使用前请确保八联排 PCR 管与芯片贴合得紧密无缝，如有松动现象应人工安装紧固后再使用；注意轻拿轻放，放置到仪器上时请保证八联排 PCR 管置于仪器上的加热模块内。芯片开封后如暂时不用，请放置于干燥环境内，并尽快使用。
6. 实验前请仔细阅读本试剂盒说明书全文，并严格按操作步骤执行；不使用本试剂盒提供的组分或不按照说明书进行实验将可能导致错误结果。
7. 仪器使用时需关闭仪器舱门，操作者穿工作服和一次性手套，万一试剂与皮肤、粘膜接触，请立即用自来水冲洗。
8. 临床样本应被视为潜在传染源，应按照相应的生物安全规范操作处理，在样本采集和处理过程中需注意防护，并符合相关法规要求：卫生部《微生物生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》。
9. 每次实验前后对核酸芯片检测仪进行清洁，实验前使用 84 消毒液，用无尘布沾液进行表面擦拭，过程中不要碰触气路板和硅橡胶垫片，结合紫外照射破坏残留核酸，降低污染；实验后使用 84 消毒液，用无尘布沾液进行表面擦拭。必要时用 DNA 去除剂进行清洁擦拭。

【标识的解释】

IVD 体外诊断医疗器械

【参考文献】

1. WS 271-2007 《感染性腹泻诊断标准》。
2. 商晓春，帅慧群，赵雪琴，等。2012—2019 年浙江省杭州市哨点医院 5 岁以下儿童病毒性腹泻病原学和流行病学特征分析。疾病监测 2020 年 9 月 30 日第 35 卷第 9 期。
3. Hainian Yan, Fumihiro Yagyu, Shoko Okitsu, et al. Detection of norovirus (GI, GII), Sapovirus and astrovirus in fecal samples using reverse transcription single-round multiplex PCR. Journal of Virological Methods 114 (2003) 37 – 44.

【基本信息】

注册人/生产企业名称：北京博晖创新生物技术集团股份有限公司

住所：北京市昌平区生命园路 9 号院

邮编:

电话:

传真:

售后服务单位名称:

客户服务电话:

生产地址: 北京市昌平区生命园路 9 号院

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】