

受理号：CSZ2300404

体外诊断试剂产品注册技术审评报告

产品中文名称：十六项呼吸道病原体核酸联合检测试剂盒（荧光
PCR 法）

产品管理类别：第三类

申请人名称：厦门安普利生物工程有限公司

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.....	9
四、 产品受益风险判定.....	13
综合评价意见.....	14

基本信息

一、申请人名称

厦门安普利生物工程有限公司

二、申请人住所

厦门市海沧区阳光路 10 号

三、生产地址

厦门市海沧区阳光路 10 号

技术审评概述

一、产品概述

(一) 产品主要组成成分

试剂盒 1: 稀释缓冲液、D-1 反应缓冲液、B 酶混合液、RVD16 扩增液 1#~8#、TE 缓冲液、石蜡油; 试剂盒 2: RVD16 阴性对照、RVD16 阳性对照。(具体内容详见产品说明书)

(二) 产品预期用途

本试剂盒定性检测并区分人口咽拭子样本中的甲型流感病毒、乙型流感病毒、人副流感病毒 I 型、人副流感病毒 II 型、人副流感病毒 III 型、人腺病毒、人呼吸道合胞病毒、人冠状病毒 229E 组、人冠状病毒 OC43 组、人冠状病毒 NL63 组、人冠状病毒 HKU1 组、人博卡病毒、人偏肺病毒、人鼻病毒、肺炎支原体及肺炎衣原体核酸。

适用于临床人呼吸道感染的辅助诊断。

(三) 产品包装规格

24 人份/盒

(四) 产品检验原理

本试剂盒根据体外基因扩增原理, 利用荧光共振能量转移实时跟踪荧光定量检测方法, 以人 18S rRNA 基因作为内标靶基因, 并结合多荧光通道检测方法, 对人呼吸道病原体核酸进行定性分析。

二、临床前研究概述

(一) 主要原材料

1. 主要原材料的选择

本产品主要原材料包括：引物、探针；dNTPs；Taq DNA 聚合酶；M-MLV 逆转录酶等。主要原材料 Taq DNA 聚合酶和 M-MLV 逆转录酶为申请人自制，引物、探针和 dNTPs 均为外购。申请人选择有资质的供应商提供的原料，通过功能性试验，筛选出最佳原材料和供应商，制定了各主要原材料质量要求并经检验合格。

2. 企业参考品和质控品的设置情况

本试剂盒企业参考品包括阳性参考品、阴性参考品、检测限参考品和精密性参考品。

阳性参考品 21 支，包括三个浓度的样本，由覆盖试剂盒检测范围内病原体的常见基因型别的临床样本混合组成；阴性参考品 10 支，由试剂盒检测范围外的临床阴性样本及病原体培养物组成；精密性参考品 11 支，包括中阳性、弱阳性和阴性浓度水平的样本；最低检测限参考品 10 支，由包含试剂盒检测范围内病原体常见基因型别的临床样本混合组成。

本试剂盒设置了阴性对照为 0.9%氯化钠；阳性对照为含有检测范围内各病原体目标基因片段的质粒和假病毒，用于检测过程中的质量控制。

(二) 生产工艺及反应体系研究

申请人对本试剂盒反应体系的研究包括拭子材质选择研究、采样

条件研究、反应条件的确定、样本处理方式和灭活适用性研究及样本和核酸用量的确定等。通过功能性实验，最终确定了最佳反应体系。

申请人通过对试剂主要生产工艺的研究包括引物浓度、探针浓度、内标引物浓度、内标探针浓度、dNTPs 浓度、BSA 浓度、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 浓度、 MgCl_2 浓度、KCl 浓度、Taq DNA 聚合酶终浓度、M-MLV 逆转录酶终浓度以及酶生产工艺研究，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内容主要包括：核酸提取性能、准确度、精密度、最低检测限、分析特异性、包容性等。申请人提交了有效运行的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。

在核酸提取性能研究中，申请人比较评估了配套使用的核酸提取试剂与其他已上市核酸提取试剂的提取浓度、纯度、提取效率、检测准确度等性能，结果表明配套使用的核酸提取试剂的提取性能符合研制设计要求。

准确度的研究中，申请人采用三批成品试剂盒，以临床样本为研究样本，与已上市产品和 Sanger 测序方法进行对比。结果表明申报产品检测结果与对比试剂、Sanger 测序方法符合率良好。

精密度研究中，申请人使用三批试剂，分别对中阳性、临界阳性和阴性 3 个水平的样本，进行了 20 天的多次检测，对批内/间、操作者间、日内/间、室内精密度和室间精密度等进行了评价。结果表明：精密度良好，检测结果 CV 均 $\leq 5\%$ 。

最低检测限的研究中，申请人使用三批试剂，检测不同浓度梯度

的病原体培养物和临床阳性样本，研究样本包含目标病原体的主要可检测型别，将 $\geq 95\%$ 阳性检出率的浓度水平作为确定的最低检测限，并进行最低检测限验证。最终确定检测范围内 16 种病原体的最低检测限为 500 copies/mL。

分析特异性包含交叉反应研究及干扰研究。在交叉反应研究中，申请人使用三批试剂进行了试剂盒检测范围内及试剂盒检测范围外的呼吸道感染相关病原体的交叉反应研究，研究显示：巨细胞病毒、单纯疱疹病毒 1 型、水痘带状疱疹病毒、EB 病毒、百日咳杆菌、白喉棒状杆菌、流感嗜血杆菌、乳酸杆菌属、嗜肺军团菌、卡他莫拉菌、脑膜炎奈瑟菌、金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、肺炎链球菌、化脓性链球菌、唾液链球菌、肺孢子菌、白念珠菌、肺炎克雷伯菌、肠道病毒 A 组、肠道病毒 B 组、肠道病毒 C 组、肠道病毒 D 组、轮状病毒、诺如病毒、结核分枝杆菌、隐球菌、烟曲霉、大肠杆菌、鲍曼不动杆菌、人基因组 DNA、SARS 病毒、MERS 病毒、新冠病毒对于检测结果无交叉。

在干扰研究中，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，结果显示声称浓度下的血液（人类）、无水乙醇、粘蛋白、苯福林、羟甲唑啉、氯化钠（含防腐剂）、倍氯美松、地塞米松、氟尼缩松、曲安奈德、布地奈德、莫米松、氟替卡松、盐酸组胺、流感疫苗、苯佐卡因、薄荷脑、扎那米韦、利巴韦林、奥司他韦、帕拉米韦、洛匹那韦、利托那韦、阿比多尔、 α -干扰素、莫匹罗星、左氧氟沙星、阿奇霉素、头孢曲松、美罗培南、盐酸头孢甲肟、妥布霉素

对试剂盒检测结果无干扰。在进行的竞争性干扰研究中，使用一种低浓度（500 copies/mL）的分析物和一种高浓度（ 5.0×10^6 或 5.0×10^7 copies/mL）分析物评估同一反应体系中的病原体和常见混合感染病原体的竞争性干扰，检测结果均为试剂盒检测范围内相应病原体阳性，结果显示可检测的病原体及亚型之间无竞争性干扰。在交叉污染研究中，对同管内多种病原体高浓度混合样本（ 1.0×10^7 copies/mL），所有16种病原体高浓度混合样本（ 1.0×10^7 copies/mL），多种病原体高浓度、个别病原体低浓度混合样本（其中一个病原体为500 copies/mL，其他15种病原体为 1.0×10^7 copies/mL）的多种最差情况进行研究，结果显示在多种不同条件下，最差条件下（多种病原体高浓度混合）试剂盒检测结果不存在交叉、干扰、抑制影响。

包容性研究中，申请人采用三批成品试剂盒，收集不同时间和地区的各目标病原体阳性样本进行检测，包括：甲型流感病毒 H7N9、H3N2、H5N1、H1N1；乙型流感病毒 Victoria、Yamagata 株；人腺病毒 1 型、2 型、3 型、4 型、5 型、7 型、55 型；人鼻病毒 A 组、B 组、C 组；人副流感病毒 I 型、人副流感病毒 II 型；人副流感病毒 III 型；人冠状病毒 229E、人冠状病毒 OC43、人冠状病毒 NL63、人冠状病毒 HKUI；人呼吸道合胞病毒 A 组、B 组；人偏肺病毒 A 组、B 组；人博卡病毒 1 型、2 型、3 型、4 型；肺炎支原体和肺炎衣原体。检测结果表明，本试剂检测不同时间和地区收集的检测范围内病原体均能正确检出。

（四）阳性判断值研究

申请人采用 ROC 曲线法进行试剂盒的阳性判断值的研究,共收集 880 例阳性及 280 例阴性临床样本进行检测,确定 $C_t=38$ 为试剂盒的阳性判断值。

(五) 稳定性研究

申请人对本产品进行了稳定性研究,包括实时稳定性、使用稳定性、运输稳定性等。研究结果表明:试剂盒在 $-30^{\circ}\text{C}\sim 8^{\circ}\text{C}$ 避光保存,有效期 12 个月。开瓶后 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 避光保存,不得超过 7 天。反复冻融次数不得超过 5 次。运输稳定性研究结果支持说明书声称。

样本稳定性研究:为考察该产品对不同条件下储存不同时间的样本的检出性能,申请人使用该产品分别对短期储存、长期储存的样本进行测试,研究结果支持说明书声称。

三、临床评价概述

申请人在徐州医科大学附属医院、杭州市第一人民医院、广州医科大学附属清远医院(清远市人民医院)、南方医科大学珠江医院、温州医科大学附属第二医院、温州医科大学附属第一医院、厦门疾病预防控制中心共 7 家机构完成了临床试验,入组样本均为呼吸道感染患者的样本,样本类型为口咽拭子。临床试验共分为两部分:

(一) 与 Sanger 测序法比较研究

共纳入统计 2323 例,与 Sanger 测序法进行比较研究。

针对甲流病毒检测,阳性病例 679 例,阳性符合率为 100%(95%CI: 99.44%, 100%),阴性符合率为 99.39%(95%CI: 98.88%, 99.67%);针对 HCOV-NL63 检测,阳性病例 79 例,阳性符合率为 100%(95%CI:

95.36%，100%），阴性符合率为100%（95%CI: 99.83%，100%）；针对腺病毒检测，阳性病例122例，阳性符合率为100%（95%CI: 96.95%，100%），阴性符合率为99.93%（95%CI: 99.74%，99.99%）；针对副流感病毒II型检测，阳性病例73例，阳性符合率为100%（95%CI: 95%，100%），阴性符合率为100%（95%CI: 99.83%，100%）；针对HCOV-OC43检测，阳性病例72例，阳性符合率为100%（95%CI: 94.93%，100%），阴性符合率为100%（95%CI: 99.83%，100%）；针对博卡病毒检测，阳性病例142例，阳性符合率为100%（95%CI: 97.37%，100%），阴性符合率为99.95%（95%CI: 99.74%，99.99%）；针对副流感病毒I型检测，阳性病例69例，阳性符合率为100%（95%CI: 94.73%，100%），阴性符合率为100%（95%CI: 99.83%，100%）；针对鼻病毒检测，阳性病例303例，阳性符合率为100%（95%CI: 98.75%，100%），阴性符合率为99.85%（95%CI: 99.56%，99.95%）；针对呼吸道合胞病毒检测，阳性病例202例，阳性符合率为100%（95%CI: 98.13%，100%），阴性符合率为99.95%（95%CI: 99.73%，99.99%）；针对肺炎衣原体检测，阳性病例119例，阳性符合率为99.16%（95%CI: 95.39%，99.85%），阴性符合率为100%（95%CI: 99.83%，100%）；针对肺炎支原体检测，阳性病例147例，阳性符合率为99.32%（95%CI: 96.25%，99.88%），阴性符合率为100%（95%CI: 99.82%，100%）；针对HCOV-229E检测，阳性病例53例，阳性符合率为100%（95%CI: 93.24%，100%），阴性符合率为100%（95%CI: 99.83%，100%）；针对偏肺病毒检测，阳性病例123例，阳性符合率

为 100% (95%CI: 96.97%, 100%)，阴性符合率为 100% (95%CI: 99.83%, 100%)；针对乙流病毒检测，阳性病例 448 例，阳性符合率为 100% (95%CI: 99.15%, 100%)，阴性符合率为 99.79% (95%CI: 99.45%, 99.92%)；针对副流感病毒 III 型检测，阳性病例 73 例，阳性符合率为 100% (95%CI: 95%, 100%)，阴性符合率为 99.96% (95%CI: 99.75%, 99.99%)；针对 HCOV-HKU1 检测，阳性病例 71 例，阳性符合率为 100% (95%CI: 94.87%, 100%)，阴性符合率为 100% (95%CI: 99.83%, 100%)。试验结果显示，本产品与对比方法一致性较好。

(二) 与已上市同类产品的比较研究

申请人开展了与已上市同类产品的比较研究，共纳入 1556 例样本。

针对甲流病毒检测，阳性病例 374 例，阳性符合率为 100% (95%CI: 98.98%, 100%)，阴性符合率为 100% (95%CI: 99.68%, 100%)；针对 HCOV-NL63 检测，阳性病例 69 例，阳性符合率为 100% (95%CI: 94.73%, 100%)，阴性符合率为 100% (95%CI: 99.74%, 100%)；针对腺病毒检测，阳性病例 104 例，阳性符合率为 100% (95%CI: 96.44%, 100%)，阴性符合率为 100% (95%CI: 99.74%, 100%)；针对副流感病毒 II 型检测，阳性病例 68 例，阳性符合率为 100% (95%CI: 94.65%, 100%)，阴性符合率为 100% (95%CI: 99.74%, 100%)；针对 HCOV-OC43 检测，阳性病例 86 例，阳性符合率为 100% (95%CI: 95.72%, 100%)，阴性符合率为 100% (95%CI: 99.74%, 100%)；针对博卡病毒检测，阳性病例 90 例，阳性符合率为 100%

(95%CI: 95.91%, 100%)，阴性符合率为 100% (95%CI: 99.74%, 100%)；针对副流感病毒 I 型检测，阳性病例 88 例，阳性符合率为 100% (95%CI: 95.82%, 100%)，阴性符合率为 100% (95%CI: 99.74%, 100%)；针对鼻病毒检测，阳性病例 167 例，阳性符合率为 100% (95%CI: 97.75%, 100%)，阴性符合率为 100% (95%CI: 99.72%, 100%)；针对呼吸道合胞病毒检测，阳性病例 102 例，阳性符合率为 100% (95%CI: 96.37%, 100%)，阴性符合率为 100% (95%CI: 99.74%, 99.99%)；针对肺炎衣原体检测，阳性病例 66 例，阳性符合率为 100% (95%CI: 94.50%, 100%)，阴性符合率为 100% (95%CI: 99.74%, 100%)；针对肺炎支原体检测，阳性病例 104 例，阳性符合率为 100% (95%CI: 96.44%, 100%)，阴性符合率为 100% (95%CI: 99.74%, 100%)；针对 HCOV-229E 检测，阳性病例 74 例，阳性符合率为 100% (95%CI: 95.06%, 100%)，阴性符合率为 100% (95%CI: 99.74%, 100%)；针对偏肺病毒检测，阳性病例 120 例，阳性符合率为 100% (95%CI: 96.90%, 100%)，阴性符合率为 100% (95%CI: 99.73%, 100%)；针对乙流病毒检测，阳性病例 70 例，阳性符合率为 100% (95%CI: 94.80%, 100%)，阴性符合率为 100% (95%CI: 99.74%, 100%)；针对副流感病毒 III 型检测，阳性病例 74 例，阳性符合率为 100% (95%CI: 95.06%, 100%)，阴性符合率为 100% (95%CI: 99.74%, 100%)；针对 HCOV-HKU1 检测，阳性病例 80 例，阳性符合率为 100% (95%CI: 95.42%, 100%)，阴性符合率为 100% (95%CI: 99.74%, 100%)。试验结果显示，本产品与已上市同类产品一致性较好。

综上所述，该产品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，认为该产品的上市为适用人群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. 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. 检验的病毒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. 不同病程不同阶段样本的阳性率不一致。
5. 取标本期间，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。
6. 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。
7. 对于突发的新型流感病毒，其检测的最适样本类型及感染后的最佳采样时间可能尚未确认，因此，在同一患者分次、多部位采集样本会降低假阴性结果的可能性。
8. 未经验证的其他干扰或 PCR 抑制因子，可能会导致假阴性结果。

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

十六项呼吸道病原体核酸联合检测试剂盒（荧光 PCR 法）

【产品名称】十六项呼吸道病原体核酸联合检测试剂盒（荧光 PCR 法）

【包装规格】

24 人份/盒

【预期用途】

本试剂盒定性检测并区分人口咽拭子样本中的甲型流感病毒、乙型流感病毒、人副流感病毒 I 型、人副流感病毒 II 型、人副流感病毒 III 型、人腺病毒、人呼吸道合胞病毒、人冠状病毒 229E 组、人冠状病毒 OC43 组、人冠状病毒 NL63 组、人冠状病毒 HKU1 组、人博卡病毒、人偏肺病毒、人鼻病毒、肺炎支原体及肺炎衣原体核酸。

适用于临床人呼吸道感染的辅助诊断。

【检验原理】

本试剂盒根据体外基因扩增原理，利用荧光共振能量转移实时跟踪荧光定量检测方法，以人 18S rRNA 基因作为内标靶基因，并结合多荧光通道检测方法，对人呼吸道病原体核酸进行定性分析，为临床检验提供实验室辅助诊断的依据。

【主要组成成分】

本试剂盒由试剂盒 1 和试剂盒 2 两个部分组成：

试剂盒 1 主要组成成分：

组成名称	规格	数量	主要成分
稀释缓冲液	1.8mL/支	3	三羟甲基氨基甲烷盐酸盐、三羟甲基氨基甲烷、水
D-1 反应缓冲液	1.6mL/支	3	三羟甲基氨基甲烷盐酸盐、三羟甲基氨基甲烷、氯化钾、氯化镁、硫酸铵溶液、BSA、dNTPs、水
B 酶混合液	110μL/支	2	TaqDNA 聚合酶、M-MLV 逆转录酶、酶储存液 B
RVD16 扩增液 1#	24 人份/支	1	IAV 引物探针、HCOV-NL63 引物探针、内标引物探针
RVD16 扩增液 2#	24 人份/支	1	HADV 引物探针、HPIV II 引物探针、内标引物探针
RVD16 扩增液 3#	24 人份/支	1	HCOV-OC43 引物探针、HBOV 引物探针、内标引物探针
RVD16 扩增液 4#	24 人份/支	1	HPIV I 引物探针、HRV 引物探针、内标引物探针
RVD16 扩增液 5#	24 人份/支	1	HRSV 引物探针、CP 引物探针、MP 引物探针、内标引物探针
RVD16 扩增液 6#	24 人份/支	1	HCOV-229E 引物探针、HMPV 引物探针、IBV 引物探针、内标引物探针
RVD16 扩增液 7#	24 人份/支	1	HPIV III 引物探针、内标引物探针
RVD16 扩增液 8#	24 人份/支	1	HCOV-HKU I 引物探针、内标引物探针
TE 缓冲液	1.2mL/支	2	三羟甲基氨基甲烷盐酸盐、三羟甲基氨基甲烷、乙二胺四乙酸二钠、水
石蜡油	1.5mL/支	4	

试剂盒 2 主要组成成分：

组分名称	规格	数量	主要成分
RVD16 阴性对照	200μL/支	1	0.9%氯化钠
RVD16 阳性对照	200μL/支	1	0.9%氯化钠，RVD16 质粒、颗粒

备注：试剂盒不同批次间的各组分不能互换。

需要但未提供的试剂：核酸提取试剂盒，采用厦门安普利生物工程有限公司生产的核酸提取试剂（闽厦械备 20170006）。

【储存条件及有效期】

试剂盒在-30℃~8℃避光保存，有效期 12 个月。

开瓶后 2~8℃避光保存，不得超过 7 天。反复冻融次数不得超过 5 次。运输使用泡沫保温箱或冷链箱，加放预冷冰袋或冰排，密封装箱运输，温度不超过 4℃，时间不超过 168 小时。生产日期及有效期至见包装标签。

【适用仪器】

全自动医用 PCR 分析系统（GeneLight 9820）、全自动核酸提纯及荧光 PCR 分析系统（Anadas 9850）。

【样本要求】

1. 适用标本类型：口咽拭子。
2. 采样拭子：推荐使用棉拭子或尼龙植绒拭子头及丙烯腈-丁二烯-苯乙烯（ABS）、PP 聚丙烯杆材质的一次性无菌采样拭子。
3. 样本采集：将拭子越过舌根，在被采集者两侧扁桃体稍微用力来回擦拭至少 3 次，然后再在咽后壁上上下下擦拭至少 3 次，将采集标本后的拭子浸入预加 1mL 生理盐水的离心管中充分洗脱，将拭子充分挤干后丢弃，检测前应振摇标本管，使之充分混匀备用。采集后的样本可加入异硫氰酸胍（终浓度 3M）进行灭活，或 56℃加热 30min 进行灭活。
4. 样本保存：待测分泌物拭子在 2~8℃保存，保存期不应超过 72 小时；在-20±5℃保存期半年，-70℃以下可保存四年；冷藏样本检测前应恢复至室温，样本应尽量避免反复冻融，冻融次数不超过 5 次；标本一经采集，应尽可能快的送至检测实验室。提取的核酸 OD260/OD280 应在 1.7~2.1 之间。提取完成的核酸应立即进行检测实验，否则请于-20±5℃保存，保存时间不超过 3 个月。

【检验方法】

1. 试剂准备（试剂准备区）

(1) 取出试剂盒中的 D-1 反应缓冲液、RVD16 扩增液 1#~8#、稀释缓冲液、B 酶混合液和 TE 缓冲液室温放置，使其充分溶解，备用。

(2) 配制酶反应体系：按照标本数量，每人份体系（1μLB 酶混合液+9μL 稀释缓冲液）×8（备注：每个标本分 8 管扩增）进行配制，充分混合均匀，3000~5000g 离心 5 秒，移至标本处理区。

(3) 配制 RVD16 扩增体系：往 RVD16 扩增液 1#~8#各加入 240μLTE 缓冲液，充分混合均匀后，3000~5000g 离心 5 秒，移至标本处理区。

2. 标本处理（标本处理区）

取 50μL 标本，采用厦门安普利生物工程有限公司生产的核酸提取试剂（闽厦械备 20170006）提取核酸，按照说明书操作。阴性对照和阳性对照与标本进行同步处理。核酸提取完后，每管加入 100μL 稀释缓冲液，振荡混匀，备用。

3. 加样（标本处理区）

PCR 反应管中加入 20μLD-1 反应缓冲液、10μL 酶反应体系和 30μL 石蜡油，按顺序在管中分别加入 10μL RVD16 扩增液体系 1#~ 8#，然后分别加入标本处理步骤制备的核酸 10μL，稍微离心，置入荧光 PCR 扩增仪内。

4. 上机检测（扩增检测区）

(1) 循环条件设置

48°C 30 分钟，95°C 2 分钟；进入以下循环：95°C 15 秒，58°C 50 秒（30 秒后读荧光），40 循环。

(2) 仪器检测通道选择

荧光素设定为 FAM、ROX、HEX、Cy5（内标），荧光信号收集设在 58°C 30 秒，具体设置方法请参考仪器使用说明书。

5. 结果分析条件设定

使用全自动医用 PCR 分析系统或全自动核酸提纯及荧光 PCR 分析系统进行分析时，基线取 3~12 个循环的荧光信号，阈值可以根据仪器噪音情况调整，设定原则以阈值线刚好超过正常阴性对照扩增曲线（无规则的噪音线）的最高点为准。

【检验结果的解释】

1. 阴性对照无 Ct 值，阳性对照所有病原体 Ct 值 ≤ 35，检测样本的内标应有扩增曲线（若由于阳性浓度过高而导致内标部分无扩增曲线，结果仍可信），内标（CY5 通道）Ct 值 ≤ 37，否则该次实验视为无效。若对照试验结果有效，检验结果按下列解释报告。

2. 八联管中的各个荧光通道有信号升起表示该标本感染对应病原体，具体对应情况参考下表。

反应液编号	1 或 A		2 或 B		3 或 C		4 或 D		5 或 E			6 或 F			7 或 G	8 或 H	
	荧光通道	FAM	ROX	FAM	ROX	FAM	ROX	FAM	HEX	FAM	HEX	ROX	FAM	HEX	ROX	FAM	HEX
Ct 值	≤38	≤38	≤38	≤38	≤38	≤38	≤38	≤38	≤38	≤38	≤38	≤38	≤38	≤38	≤38	≤38	≤38
对应病原体	IAV	HCOV -NL63	HADV	HPIV II 型	HCOV -OC43	HBOV	HPIV I 型	HRV	HRSV	CP	MP	HCOV -229E	HMPV	IBV	HPIV III 型	HCOV -HKU I	
	甲型 流感 病毒	人冠状 病毒 NL63	人腺 病毒	人副流 感病毒 II 型	人冠状 病毒 OC43	人博 卡病 毒	人副 流感 病毒 I 型	人鼻 病毒	人呼 吸道 合胞 病毒	肺炎 衣原 体	肺炎 支原 体	人冠状 病毒 229E	人偏 肺病 毒	乙型 流感 病毒	人副 流感 病毒 III 型	人冠状 病毒 HKU I	

3. 如果检测样本 Ct 值在 38 ≤ Ct < 40 范围内，样本重检。

【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，不得单独作为患者管理的依据。
2. 检验的病毒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. 不同病程不同阶段样本的阳性率不一致。
5. 取标本期间，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。
6. 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。
7. 对于突发的新型流感病毒，其检测的最适样本类型及感染后的最佳采样时间可能尚未确认，因此，在同一患者分次、多部位采集样本会降低假阴性结果的可能性。
8. 未经验证的其他干扰或 PCR 抑制因子，可能会导致假阴性结果。

【产品性能指标】

1. 试剂（盒）应组分完全，包装外观清洁、无泄漏、无破损；标志、标签字迹清楚。
2. 准确度：检测阳性参考品，检测结果应为相应病原体类型或型别阳性，阳性符合率 100%。与已上市产品进行对比，检测 46 份临床样本，结果均一致。
3. 特异性（阴性参考品符合率）：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：试剂盒覆盖的 16 种病原体的最低检出限浓度为 500copies/mL。
5. 精密性：采用中阳性、临界阳性和阴性 3 个水平的样本，对批内/间、操作者间、日内/间、室内精密度和室间精密度等进行了评价，检测阴性样本均为阴性，检测阳性样本结果均为相应病原体类型或型别阳性且 CV 均 ≤ 5%。
6. 包容性：试剂盒检测具有不同时空特征的临界阳性的病原体样本，所有样本的对应病原体均检出为阳性，且重复性 CV (%) 均不大于 5.0%。
7. 干扰物质研究：血液（人类）（5%）、无水乙醇（5%）、粘蛋白（20μg/mL）、苯福林（100μg/mL）、羟甲唑啉（100μg/mL）、氯化钠（含防腐剂）（0.9%）、倍氯美松（50μg/mL）、地塞米松（50μg/mL）、氟尼缩松（100μg/mL）、曲安奈德（100μg/mL）、布地奈德（200μg/mL）、莫米松（100μg/mL）、氟替卡松（200μg/mL）、盐酸组胺（200μg/mL）、流感疫苗（50μg/mL）、苯佐卡因（50μg/mL）、薄荷脑（50μg/mL）、扎那米韦（100μg/mL）、利巴韦林（100μg/mL）、奥司他韦（100μg/mL）、帕拉米韦（100μg/mL）、洛匹那韦（100μg/mL）、利托那韦（100μg/mL）、阿比多尔（100μg/mL）、α-干扰素（300U/mL）、莫匹罗星（100μg/mL）、左氧氟沙星（100μg/mL）、阿奇霉素（100μg/mL）、头孢曲松（100μg/mL）、美罗培南（100μg/mL）、盐酸头孢甲肟（100μg/mL）、妥布霉素（100μg/mL）对试剂盒检测结果无干扰。竞争性干扰研究中，使用一种低浓度（500copies/mL）的分析物和一种高浓度（5.0×10⁶ 或 5.0×10⁷copies/mL）分析物评估同一反应体系中的病原体和常见混合感染病原体的竞争性干扰，检测结果均为试剂盒检测范围内相应病原体阳性，结果显示可检测的病毒及亚型之间无竞争性干扰。
8. 本试剂盒交叉反应研究包含以下各病原体，研究浓度分别为：巨细胞病毒（1.75E+06PFU/mL）、单纯疱疹病毒-1 型（1.81E+06 PFU/mL）、水痘带状疱疹病毒（5.13E+09 copies/mL）、EB 病毒（1.53E+06PFU/mL）、百日咳杆菌（3.8E+06CFU/mL）、白喉棒状杆菌（2.32E+06 CFU/mL）、流感嗜血杆菌（1.7E+06CFU/mL）、乳酸杆菌属（4.2E+06CFU/mL）、嗜肺军团菌（8.8E+06CFU/mL）、卡他莫拉菌（3.50E+06 CFU/mL）、脑膜炎奈瑟菌（6.31E+06 CFU/mL）、金黄色葡萄球菌（1.0-2.0E+06CFU/mL）、表皮葡萄球菌（7.30E+06 CFU/mL）、肺炎链球菌（4.0E+06CFU/mL）、化脓性链球菌（8.7E+06CFU/mL）、唾液链球菌（2.78E+06CFU/mL）、肺孢子菌（7.31E+06 CFU/mL）、白念珠菌（1.0-2.0E+06CFU/mL）、肺炎克雷伯菌（9.6E+06CFU/mL）、肠道病毒 A 组（1.15E+07 TCID₅₀/mL）、肠道病毒 B 组（2.82E+07 TCID₅₀/mL）、肠道病毒 C 组（4.55E+05 PFU/mL）、肠道病毒 D 组（1.26E+06PFU/mL）、轮状病毒（4.35E+05PFU/mL）、诺如病毒（1.67E+06 PFU/mL）、结核分枝杆菌（7.38E+06CFU/mL）、隐球菌（4.23E+06CFU/mL）、烟曲霉（2.3E+06CFU/mL）、大肠杆菌（1.2E+06CFU/mL）、鲍曼不动杆菌（4.36E+06 CFU/mL）、人基因组 DNA（495.0ng/μL）、SARS 假病毒（1.2E+08copies/mL）、MERS 假病毒（4.1E+08copies/mL）、新冠病毒（6.1E+07copies/mL）。结果显示各病原体对于检测结果无交叉反应。
9. 临床试验结果：本试剂盒临床研究在 7 家机构采用盲法试验设计，与 Sanger 测序法、同类已上市产品进行比较研究。

