

天筛® SARS-CoV-2 核酸自检试剂盒（荧光 PCR 法）

说明书 Ver 1.0

【产品名称】

通用名称：天筛® SARS-CoV-2 核酸自检试剂盒（荧光 PCR 法）

【包装规格】 6 人份/8 次反应

【产品货号】 TS-SA-20220312

【特殊声明】

本品仅限实验室自我检测用，仅供科学研究和自我风险评估，不可作为临床诊断依据。

【强烈建议】

请勿给有发烧及干咳等新型肺炎症状的检测，应立即去医院就诊；如有传染后果自负。

【预期用途】

本试剂针对拥有 qPCR 仪器的科研或企业研发实验室人员进行实验室自我筛查，为实验室或企业人员评估感染 SARS-CoV-2 新冠病毒的风险。设计目的是支持为国家全民建立自我疾病防控网络，缓解国家集中大规模核酸筛查的压力。如重复确认有阳性结果，请前往医院或具有资质的医学检验所进行进一步检查确诊。

【产品特征】

1. **高灵敏度：**试剂最低检出限 100 拷贝/mL，符合国家 500 拷贝/mL 以下的灵敏度要求；且高于目前具有医疗器械许可证的新冠核酸检测试剂灵敏度，更适合无症状感染者的自我筛查。
2. **高特异性：**采用中国 CDC 和美国 CDC 公布的引物探针序列，与其它病毒无交叉反应；采用上海计量院提供的无质粒污染的 400 拷贝/mL RNA 假病毒，阳性对照气溶胶更容易降解；采用 UNG/dNTP 防污染系统，防止扩增产物气溶胶污染。
3. **操作简便：**使用 5G 聚合酶直扩 RT-qPCR 技术，无需核酸提取；只需加入 25uL 反应液和 25uL 样品即可进行检测，无需复杂体系配制。
4. **高稳定性：**采用半冻干技术和本公司高稳定的 qPCR 预混液，可室温运输。
5. **变异兼容性：**含 ORF1ab 和 N1、N2 及 N 四扩增子的多重 PCR，覆盖了目前主要流行突变毒株检测。

【检验原理】

本试剂盒包含采样用咽拭子(6 根)，SARS-CoV-2 核酸快筛反应管(8 联 PCR 管)，天筛® 5G 定量 PCR 预混液(8 次)，可进行 8 次荧光定量 PCR 反应，同时可对 6 人进行检测。

本试剂盒采用多重荧光探针结合一步法 RT-qPCR 技术，检测 SARS-CoV-2 新型冠状病毒 ORF1ab 基因与编码核衣壳蛋白 N 基因的特异性保守序列。使用中国 CDC 公布的 ORF1ab 基因引物探针序列与 N 基因引物探针序列及美国 CDC 公布的 N1/N2 引物探针序列，通过四扩增子进行 ORF1ab/N 双靶基因进行 RT-PCR 反应检测。反应结束后通过分析各通道的阈值循环数(Ct 值)进行结果判定。同时，试剂盒设计了用于监控取样、加样、扩增等过程的人类管家基因 RNaseP 作为内标，有效防止假阳性与假阴性发生，以保障检测结果的特异性与准确性。

【主要成分】

组成	规格	数量	主要成分
咽拭子	1 支 /包	6 包	采集口咽部样品
SARS-CoV-2 核酸快筛反应管	8 管/袋	1	逆转录酶, RNase 抑制剂, N 基因引物探针, ORF1ab 引物探针, 人 RNase P 引物探针, 冻干赋形剂等, 定量 PCR 八连管; 针对不同机型分为 0.1mL 和 0.2mL 两种包装形式; 请注意选择.
天筛® 5G 定量 PCR 预混液	1 管/袋 (200uL/管)	1	PCR 缓冲液, DNA 聚合酶, UDG 酶, 甜菜碱等
阴性质控品(-)	各 1 管/袋 (各 30uL/管)	1	无酶 PCR 水
阳性质控品(+)			含 ORF1ab 及 N 基因片段 RNA 假病毒

备注: SARS-CoV-2 阳性质控品采用上海计量院经过数字 PCR 定值的标准品, 含有 ORF1ab 及 N 基因片段的 RNA 假病毒, 无传染性。且每管中仅含有 10-12copies 的阳性, 即使形成气溶胶, 很快会发生降解, 所以也无需担心气溶胶污染。SARS-CoV-2 阳性质控品因室温运输过程有可能发生降解, 导致不能检出, 所以结果仅供参考。若阳性质控品检测不出, 请以 RNase P 基因的检出作为试剂效能指标的评估。

【储运条件】

2-8℃ 避光保存, 可室温运输; 但 SARS-CoV-2 阳性质控品效果变差, 建议立即使用或 -20℃ 保存。

【自备物品】

1. 含 1mL 无酶 PCR 水的离心管:

请自行准备 2mL 离心管并加入 1mL 无酶 PCR 水。

(可使用生理盐水, TE Buffer 或我公司提供的病毒保存液代替无酶水, 其它缓冲液不一定兼容)

2. 滤芯吸头:

加样时请务必使用滤芯吸头, 以免样品间交叉污染造成假阳性。

3. 离心机:

使用适用于 2 mL 及定量 PCR 八连管的离心机;

4. 荧光定量 PCR 仪器:

适用于各种定量 PCR 仪机型。

5. 通用耗材

移液器, 手套, 口罩, 防护服等其它耗材。

【已验证】

Gentier 48E, Gentier 96R 实时荧光定量 PCR 仪(西安天隆); 3204-F 实时荧光定量 PCR 仪(杭州柏恒); LineGene 9600 Plus 实时荧光定量 PCR 仪(杭州博日); ABI 7500, QuantStudio 1 实时荧光定量 PCR 仪(Thermo); SLAN-96S 实时荧光定量 PCR 仪(上海宏石); CFX 96 实时荧光定量 PCR 仪(Biorad); ABI StepOne Plus 实时荧光定量 PCR 仪(Thermo)。

【采样方法】

让被采集人员张开嘴发出“啊”音，用 1 根一次性无菌拭子在扁桃体两侧快速擦拭双侧咽扁桃体及咽后壁，将拭子头浸入含 1 mL 无酶水的离心管中；尾部弃去，旋紧管盖，得到待检样本，请置于冰上，立即进行检验；若样本请于-20℃保存。保存时间不应超过三天且避免反复冻融。

【试剂准备】

1. 拆开 SARS-CoV-2 荧光 PCR 试剂盒将所有试剂恢复到室温，确保天筛® 5G 定量 PCR 预混液完全融化，用手颠倒混合 3 次充分混匀。将天筛® 5G 定量 PCR 预混液和 SARS-CoV-2 核酸快筛反应管离心 15 秒。
2. 用移液器吸取天筛® 5G 定量 PCR 预混液各孔 25μL 到 SARS-CoV-2 核酸快筛反应管中，用移液器吸打混匀 5 次后待用。

【模板加样】

1. 将阴性对照、SARS-CoV-2 待检样本及阳性对照涡旋混合 10sec，完全溶解和混匀,瞬时离心。
2. 依次向 SARS-CoV-2 核酸快筛反应管加入 25μL 阴性质控品(-)、SARS-CoV-2 待检样本及阳性质控品(-)到反应管中液面以下，盖上盖后颠倒混匀 5 次，用手指弹 PCR 管 5 次，离心 15 秒后直接上机使用。

【仪器设置】

1. 标记并记录各样品孔编号。
2. 设置反应体系为 50μL。
3. 荧光信号设置为：
FAM 通道设置为 ORF 基因
VIC 通道设置为 N 基因
ROX 通道为内参人 RNaseP 基因。

4. 反应条件如下：

使用 Gentier 48E, Gentier 96R(西安天隆); 3204-F(杭州柏恒); LineGene 9600 Plus (杭州博日); ABI QuantStudio 1&StepOne Plus(Thermo); CFX 96(Biorad)等实时定量 PCR 仪按如下条件：

步骤	循环数	温度	时间	收集荧光(是/否)
1	1	55℃	5min	否
2	45	95℃	3 sec	否
		60℃	10 sec	是

使用 SLAN-96S 实时荧光定量 PCR 仪(上海宏石) 按如下条件:

步骤	循环数	温度	时间	收集荧光(是/否)
1	1	55℃	5min	否
2	45	95℃	3 sec	否
		60℃	15 sec	是

使用 ABI 7500 实时定量 PCR 仪(Thermo)和其它型号仪器按如下条件:

步骤	循环数	温度	时间	收集荧光(是/否)
1	1	55℃	5min	否
2	45	95℃	3 sec	否
		60℃	30 sec	是

备注: 使用其它我司未验证的定量 PCR 仪器时, 可直接使用 ABI 7500 实时定量 PCR 仪(Thermo) 的作为仪器通用条件.

【结果分析】

根据本试剂盒特征, 请先分析 VIC/ROX 通道数据, 后单独分析 FAM 通道数据.

1. VIC 和 ROX 通道分析

选择被分析样品, 同时勾选 ROX 和 VIC 通道, 点击分析;
导出 ROX 和 VIC 通道扩增曲线图及 Ct 值。

2. FAM 通道分析

选择被分析样品, 勾选 FAM 通道, 点击分析;
导出 FAM 通道扩增曲线图及 Ct 值。

【结果判定】

1. 若阴性对照 VIC 或 FAM 通道有扩增, 结果无效, 请立即排查污染。
2. 若阴性对照 VIC 或 FAM 通道无扩增, 按如下结果进行判定和风险评估:

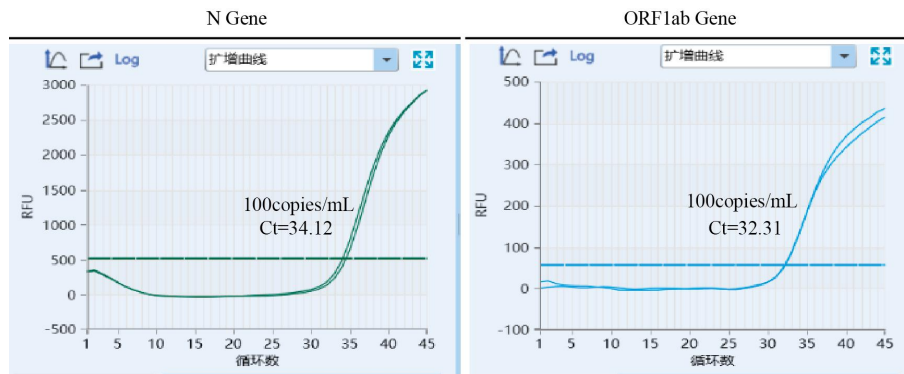
结果类型	ORF1(FAM)	N (VIC)	RNase P(ROX)	判定	处理建议
1	Ct≤40	Ct≤40	Ct≤40 或 No Ct	阳性	高风险, 请立即去医院.
2	No Ct	Ct≤40	Ct≤40 或 No Ct	单阳性	中风险, 请立即去医院进一步确认.
3	Ct≤40	No Ct	Ct≤40 或 No Ct	单阳性	
4	No Ct	No Ct	Ct≤40	阴性	无风险, 正常上班.
5	No Ct	No Ct	No Ct or Ct≥40	无效采样	采样不成功, 请重新采样

【性能指标】

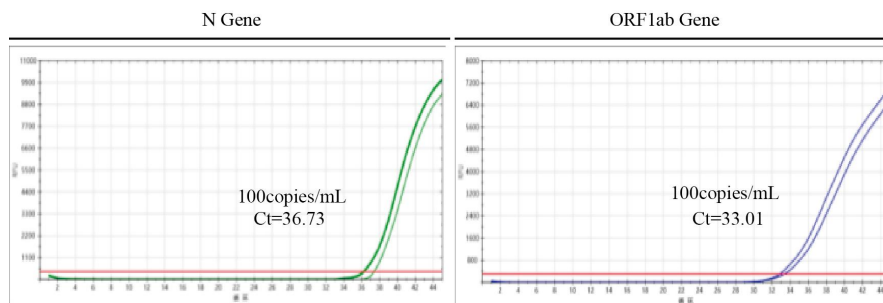
本试剂盒已使用上海市计量测试技术研究院提供的 SARS-CoV-2 假病毒标准品 (500 拷贝/ μ L) 稀释到 100copies/mL 进行最低检出限的验证。

1. 最低检测限:100copies/mL

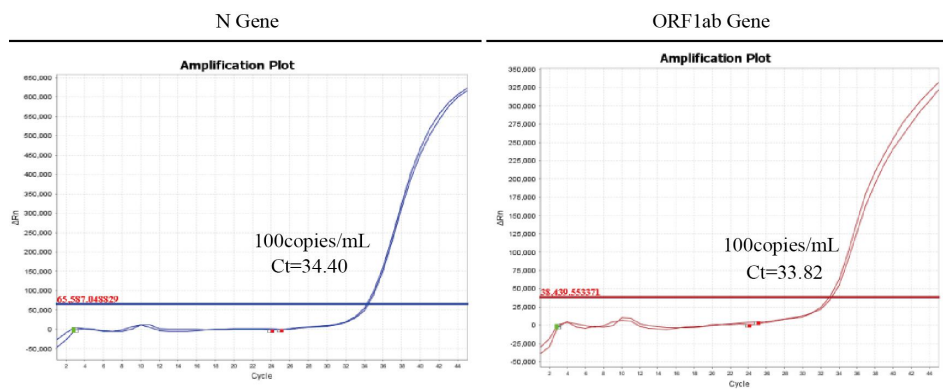
在 Gentier 96R 上 100copies/mL 扩增曲线如下, 扩增时间为 42min。



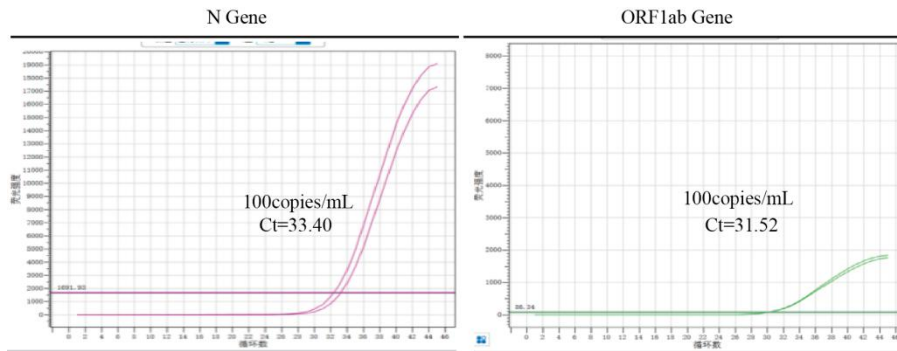
在柏恒 3204F 上 100copies/mL 扩增曲线如下, 扩增时间为 42min。



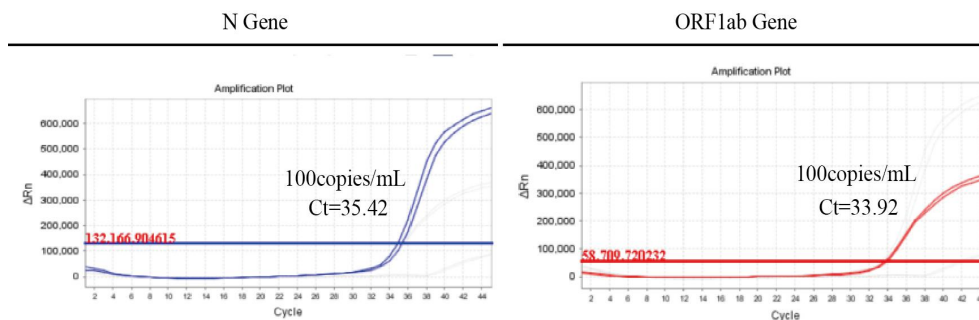
在 QuantStudio 1 上 100copies/mL 扩增曲线如下, 扩增时间为 52min。



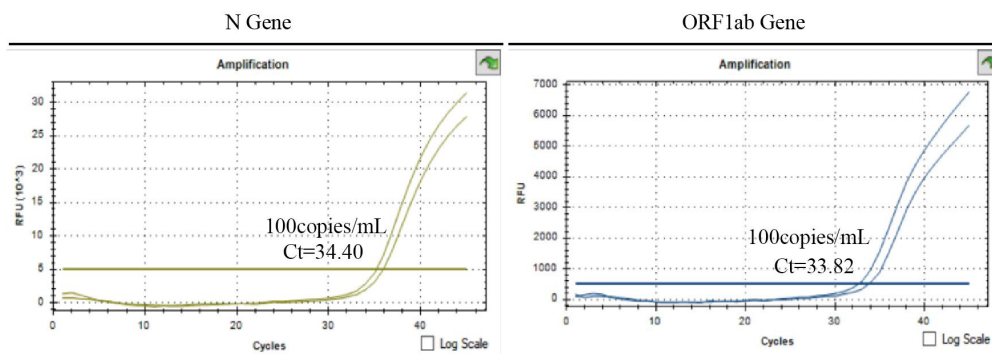
在 LineGene 9600 Plus 上 100copies/mL 扩增曲线如下, 扩增时间为 67min。



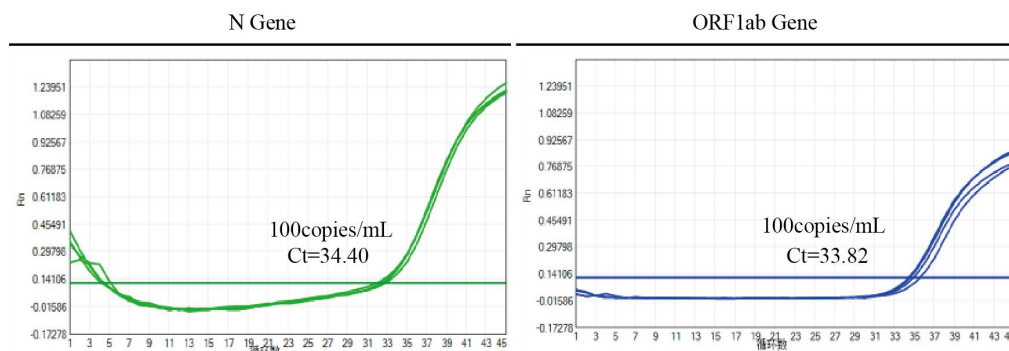
在 StepOne Plus 上 100copies/mL 扩增曲线如下, 扩增时间为 43min。



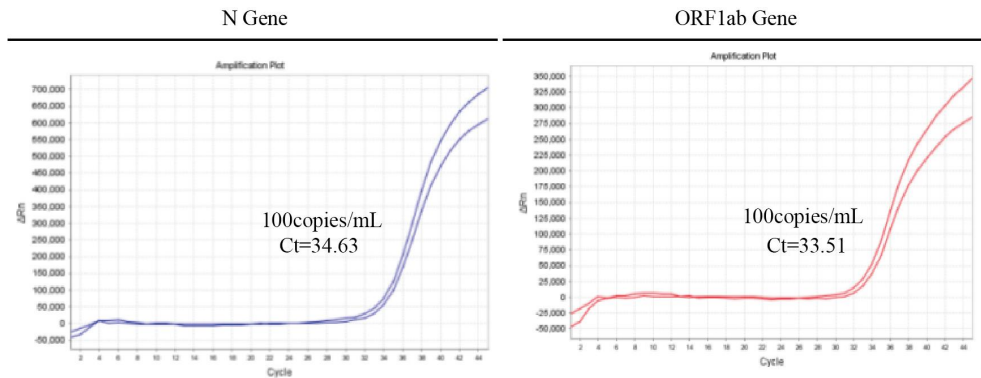
在 CFX96 上 100copies/mL 扩增曲线如下, 扩增时间为 56min。



在 SLAN-96S 上 100copies/mL 扩增曲线如下, 扩增时间为 57min。



在 ABI 7500 上 100copies/mL 扩增曲线如下，扩增时间为 58min。



2. 包容性和特异性分析:

ORF1ab 和 N 基因的引物-探针组由中国 CDC^[1]开发, N1 基因、N2 基因和人 RNase P(IC 对照)引物-探针组由美国 CDC^[2]开发。中国疾病预防控制中心和美国疾控中心验证了引物探针的包容性, 可检测目前所有新冠病毒的突变体检测。所有引物探针均对 SARS-CoV-2 具有高度特异性, 与其他呼吸道病毒^[3-5]没有交叉反应。

【参考文献】

- [1] Institute of Viral Diseases. China CDC. National Institute for Viral Disease Control and Prevention http://ivdc.chinacdc.cn/kyjz/202001/t20200121_211337.html (2020).
- [2] CDC. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Centers for Disease Control and Prevention <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/rt-pcr-panel-primer.probes.html> (2020).
- [3] Vogels C B F , Brito A F , Wyllie A L , et al. Analytical sensitivity and efficiency comparisons of SARS-CoV-2 RT - qPCR primer - probe sets[J]. Nature Microbiology, 2020.
- [4] Nalla A K , Casto A M , Huang M L W , et al. Comparative Performance of SARS-CoV-2 Detection Assays using Seven Different Primer/Probe Sets and One Assay Kit [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2020, 58(6).
- [5] Jung, Y., Park, G.-S., Moon, J. H., Ku, K. B., Beak, S.-H., Lee, C.-S., Kim, H. G. (2020). Comparative analysis of primer-probe sets for RT-qPCR of COVID-19 causative virus (SARS-CoV-2). ACS Infectious Diseases.

【注意事项】

1. 试剂盒使用前, 请仔细阅读本说明书全文。
2. 整使用一次性专用离心管、校准合格的移液器、带滤芯吸头和不含荧光物质的一次性手套等, 手套须经常更换。
3. 阳性对照中 RNA 因运输和保存不当, 可能进行降解, Ct 值仅供参考。
4. 所有试剂使用前须完全解冻, 混合均匀, 瞬时离心后使用。
5. 操作台、移液器、离心机、PCR 仪等仪器设备应经常用 10%次氯酸钠或 75%酒精、紫外线或臭氧消毒处理。
6. 反应管中应液体必须充分混匀, 且尽量避免气泡存在, 管盖需盖紧。
7. 扩增完毕后取出反应管, 密封在专用塑料袋内, 丢弃于指定地点。

【联系信息】



天筛（上海）科技有限公司

TOROIVD TECHNOLOGY COMPANY LIMITED.

联系方式: +86-21-68030217/33782006/33782046

全国热线: 400-688-2055

商务地址: 上海市浦东新区天雄路 588 弄 10 号楼/3 号楼

天罗诊断科技江苏有限公司

TOROIVD TECHNOLOGY COMPANY LIMITED.

生产地址: 江苏如东生命健康产业园珠江路 888 号 20 号楼

邮箱: market@toroivd.com

网址: www.toroivd.com

【说明书修改日期】

版本号	章节	修改说明	修改日期
V1.0	All	First release	2020.03.12