



仅供临床实验室或医护人员使用
仅供医疗专业使用

StrongStep[®]
新型冠状病毒 (SARS-CoV-2)
多重实时PCR试剂盒
(检测三种基因)

使用说明 (IFU)

StrongStep[®]
新型冠状病毒 (SARS-CoV-2)
多重实时 PCR 试剂盒-COVID-19 IFU
DOC LM213955
第4.0版出版日期: 2020年3月25日黎明生物制品有限公司

RER 500190 Σ 96 tests

StrongStep®新型冠状病毒（SARS-CoV-2）多重实时PCR试剂盒（检测三个基因）

Sample Types	Extraction Platforms	PCR Platforms
Nasopharyngeal Swabs	FDA/CE IVD Extraction System, suitable for the directed sample types	Applied Biosystem® 7500 Real-Time PCR System; Bio-Rad CFX96
Oropharyngeal Swabs		
Sputum/Bronchoalveolar lavage fluid (BALF)		

目录

1. 预期用途.....	1
2. 试剂盒组成.....	1
3. 储存和运输条件.....	1
3.1. 使用稳定性.....	1
4. 所需但未提供的材料和设备.....	1
4.1. 试剂.....	1
4.2. 设备.....	1
4.3. 实时PCR仪器.....	2
4.4. 设备/培训要求.....	2
5. 背景资料.....	2
6. 产品描述.....	2
6.1. 阳性质控品.....	2
6.2. 提取试剂盒/仪器.....	2
6.3. 实时PCR仪器.....	2
7. 注意和预防措施.....	3
7.1. 安全性信息.....	3
7.2. 处理和程序要求.....	3
8. 使用局限性.....	3
9. 实验步骤.....	4
9.1. 样本制备步骤.....	4
9.2. 反应装置.....	5
9.3. 实时PCR仪器编程.....	6
9.4. 数据分析.....	6
9.5. 结果解释.....	7
10. 性能评估.....	8
10.1. 分析灵敏度.....	8
10.2. 分析特异性.....	10
10.3. 精密度.....	11
10.4. 稳定性.....	13
10.5. 准确度.....	14
11. 质量控制.....	15
12. 技术支持.....	15
13. 商标和免责声明.....	15
14. 符号说明.....	15

1. 预期用途

本产品用于通过FDA/CE IVD提取系统和上述指定PCR平台，对从患者采集的鼻咽拭子、口咽拭子、痰液和BALF中提取的SARS-CoV-2病毒RNA进行定性检测。该试剂盒供受过实验室培训的人员使用。

2. 试剂盒组成

Kit Components	Description	Amount & Package
SARS-CoV-2 rt-qPCR reagent	Lyophilized ready-to-use PCR beads in 8-Strip Tubes	12 X vacuum seal bags
	New 8-Strip Caps	
Positive control	Lyophilized Armored RNA containing target gene.	1 X 2.0 ml tube
Instructions for Use		1

3. 储存和运输条件

-20°C下可保存12个月，低于37°C运输。

应注意包装标签和单管标签上规定的“使用日期”。在此日期，应按照国家第8节中的处置说明丢弃试剂。

3.1. 使用稳定性

试剂应保存在原始包装中。

SARS-CoV-2 rt-qPCR试剂为真空包装。它们必须保持完全干燥。一旦打开，请立即使用或在-20°C下保存，在1个冻融周期内不超过1周。

加水后，阳性对照在-20°C条件下可稳定保存2个月。反复解冻和冷冻应保持在最低限度且不应超过5次冻融。如有必要，可在重新悬浮后将其校准成较小的体积。

4. 所需但未提供的材料和设备

4.1. 试剂

- 合适的核酸提取系统和/或试剂盒（请参考第9.1节“样品制备程序”）
- 注射用水（可在医院药房购买）

4.2. 设备

- 台式离心机
- 涡流混合器
- 可调移液管
- 带过滤器的吸管头

- 一次性手套
- 1.5mL萃取用微量离心管

4.3. 实时PCR仪器

- 合适的实时PCR仪器（请参考第6.3节）。

4.4. 设备/培训要求

样品应在生物安全2级设施中处理，应遵循世界卫生组织2020年2月12日起的实验室生物安全临时指南。COVID-19的检测应由经过相关技术和安全程序培训的人员在装备适当的实验室进行。

5. 背景资料

对表现冠状病毒相关症状的患者进行靶点筛选是非常重要的。

对这一目标的可靠和定期诊断将有助于确保减少感染的传播，同时也有助于迅速治疗感染患者。COVID-19是由SARS-CoV-2病毒引起的。这种病毒现在已经在全球传播。但是可用于描述与COVID-19相关的临床疾病谱的信息有限，并且当有人表现生病的迹象或症状（例如发烧、咳嗽、呼吸困难等）时，它可能会传播给其他人。

6. 产品描述

StrongStep[®] 新型冠状病毒（SARS-CoV-2）多重实时PCR试剂盒（检测三个基因）是一种基于实时PCR技术的体外诊断试验，用于SARS-CoV-2病毒RNA的特异性检测。探针系统是基于称为TaqMan[®]技术的标准水解探针系统。

该产品可在单个管中对SARS-CoV-2的三个独立基因进行四倍检测。设计特异性引物和探针，分别检测SARS-CoV-2的ORF1ab基因、s基因和N基因的保守区，避免了SARS2003和蝙蝠SARS病毒株的非特异性干扰。采用内控（IC）扩增人RNase-P基因的方法，鉴定PCR抑制剂的可能性，测定提取纯度，验证PCR操作的完整性。

提供的试剂盒是现成的冻干PCR粉，可室温下运输。

6.1. 阳性质控品

阳性对照模板（PCT）含有SARS-CoV-2rna（冠状病毒COVID-19）特异序列的标准浓度，浓度为10拷贝/μL。

为了保证PCR运行的有效性，PCT在FAM/HEX/ROX通道中产生的Ct值应≤35。

6.2. 提取试剂盒/仪器

有经验证作为FDA/CE IVD设备的提取系统的StrongStep[®]新型冠状病毒（SARS-CoV-2）多重实时PCR试剂盒用于从临床样本（包括鼻咽拭子、口咽拭子、痰液或BALF）中提取RNA（单独或与DNA一起）。使用GXT DNA/RNA提取试剂盒，在Hain Lifescience GmbH（Brucker）的GenoXtract[®]自动提取系统上对试剂盒进行验证。

6.3. 实时PCR仪器

StrongStep[®]新型冠状病毒（SARS-CoV-2）多重实时PCR试剂盒已开发出来，并经验证可与以下实时PCR仪器一起使用。

- Applied Biosystem[®]7500实时PCR系统（软件版本2.3）

- Bio Rad CFX Maestro (软件版本1.1)
- qPCR机器应满足以下要求:
 - 1.满足8联排PCR管, 体积0.2毫升
 - 2.有4个以上的检测通道:

Channel	Excitation (nm)	Emission (nm)	Pre-Calibrated Dyes
1.	470	525	FAM, SYBR Green I
2	523	564	VIC, HEX, TET, JOE
3	571	621	ROX, TEXAS-RED
4	630	670	CY5

注: 请确保所有使用的仪器均已按照制造商的说明和建议进行安装、校准和维护。

7. 注意和预防措施

7.1. 安全性信息

7.1.1. 样品

SARS-CoV-2的检测应由受过相关技术和安全程序培训的人员在装备齐全的实验室进行。在任何情况下都应遵守国家实验室生物安全指南。

7.1.2. RNA提取试剂盒 (FDA/CE IVD)

在使用您选择的FDA/CE IVD提取试剂盒之前, 请参考供应商提供的相关MSDS。

7.2. 处理和程序要求

7.2.1 概述

- 处理试剂盒成份时, 务必戴上一一次性手套
- 使用单独的工作区域进行样品制备、反应和扩增
- 每个工作区域内的用品和设备应分开, 不得在它们之间移动
- 通过上下吸管混合试剂时, 应使用大约等于总成分体积50%

7.2.2. 防止模板污染

- 阳性对照模板包含大量模板。应在远离试样和试剂盒的地方打开和处理, 以避免交叉污染
- 每次运行完成后, 用DNA/RNA去除剂清洁工作台面和设备
- 切勿打开扩增完成的PCR管。有关处置的进一步说明, 请参阅第8节处置说明

7.2.3. 防止DNA酶污染

- 使用不含DNA酶/RNA酶的一次性塑料器皿和DNA/RNA工作专用移液管, 防止与共享设备中的DNA酶/RNA酶交叉污染。
- 在整个过程中使用不含DNase/RNase的过滤枪头, 以防止气溶胶和液体污染

8. 使用局限性

- StrongStep®新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 多重实时PCR试剂盒已被验证可与口咽拭子、鼻咽拭子、痰液或BALF样本一起使用, 样本可在Applied Biosystem®7500实时和Bio-Rad CFX96 PCR系统上运行

- 必须遵循本手册中所述的程序。任何偏差都可能导致分析失败或导致错误的结果
- 为确保试剂盒的性能，需要良好的实验室操作规程，并注意防止试剂盒组件受到污染。应监测试剂盒成份是否受到污染，任何被认为受到污染的部件应作为标准实验室废物丢弃在密封袋或拉链塑料袋中
- 按照适当的生物安全预防措施，处理所有样本时应将其视为具有传染性
- 对结果的解释必须考虑假阴性和假阳性结果的可能性
- 假阴性结果可能由以下原因引起：
 - ◇ 不恰当收集、处理和/或储存样品
 - ◇ 病毒血症期以外的样本
 - ◇ 未能遵守本手册中的程序
 - ◇ 使用未经授权的提取试剂盒或PCR平台
- 假阳性结果可能由以下原因引起：
 - ◇ 对含有高浓度SARS-CoV-2病毒RNA样本或阳性对照模板处理不当
 - ◇ 扩增产物处理不当
- 所有结果应由医疗专业人员根据患者病史和临床症状进行解释
- 本试验不能排除由其他病原体引起的疾病
- 任何PCR检测的阴性结果不能最终排除感染的可能性

9. 实验步骤

9.1. 样本制备步骤

每次提取时，至少制备1个阴性提取对照品（NEC，即DEPC水）。该NEC将作为整个测试系统的阴性对照。

	Nasopharyngeal swabs	Oropharyngeal swabs	Sputum** or BALF
Collection	Dacron or polyester flocked swabs in viral transport medium	Dacron or polyester flocked swabs in viral transport medium	Sterile container
Transport temperature*	4°C	4°C	4°C
Short-term storage (pre-extraction)*	4°C for ≤ 5 days	4°C for ≤ 5 days	4°C for ≤ 48 hours
Long-term storage (pre-extraction)*	-70°C for longer periods	-70°C for longer periods	-70°C for longer periods
Extraction System	FDA/CE IVD extraction system intended for use in the isolation of RNA	FDA/CE IVD extraction system intended for use in the isolation of RNA	FDA/CE IVD extraction system intended for use in the isolation of RNA
Extraction sample volume	700µL***	700µL***	700µL
Extraction elution volume	85µL	85µL	85µL

*这些是世界卫生组织（世卫组织）的建议。有关样品处理的地方法规必须优先考虑。

**痰必须来自下呼吸道

***样本是指样本容器中提供的病毒传输介质，用作拭子的储存库。

9.1.1. RNA 提取

请咨询所选FDA/CE IVD提取系统的IFU，以获得完整的使用细节。

9.2. 反应装置

- 打开8联排PCR管，向每个SARS-CoV-2rt-qPCR试剂管中加入13µL水（注射用水）
- 根据您的设置，在适当的管中加入5µL以下物质：
 - i. 样本

- ii. PCT: 再悬浮于50 μ L注射用水中 (旋涡搅拌)
- iii. NEC
- iv. 空白对照 (可选): 以注射用水为模板

用新的PCR盖盖紧PCR管, 涡旋离心30s (3000rpm)

9.3. 实时PCR仪器编程

有关使用仪器的更多信息, 请参阅以下手册之一:

- Applied Biosystem®7500实时PCR系统相对标准曲线和比较CT实验 (Applied Biosystem)
- CFX96™ 触摸指导手册 (2013年, Bio-Rad Laboratories Inc.)
 - a) 进入以下扩增程序:

在仪器上创建温度配置文件, 如下所示:

Steps	Cycles	Temperature	Time	Detection Format
Reverse Transcription	1	50°C	15 minutes	N gene=FAM S gene=HEX ORF1ab gene=ROX IPC=Cy5
Pre-denature	1	95°C	3 minutes	
Thermal cycling	45	95°C	5 seconds	
		60°C*	60	

*采集必须在本阶段结束时进行

- b) 确保满载PCT的槽被指定为“样品类型-标准”, 并指定适当的浓度 (见第6.1节)
- c) 确保装有样品的槽被指定为“样品类型-未知”; 如果发生扩增, 软件将自动计算这些槽的数量。

9.4. 数据分析

在解释本结果之前, 必须验证运行是否成功。如果不满足以下标准, 则需要重复测试:

- a) NEC或空白对照在所有通道中无扩增
- b) PCT在FAM/HEX/ROX通道中产生Ct<35

有关正确设定Ct值的仪器特定指南, 请参见下文。

9.4.1. Bio-Rad® CFX96

选择“Ct测定模式”进行回归。此选项可在“视图”下的菜单栏中访问。

9.4.2. Applied Biosystem® 7500 Real-Time PCR系统

- 选择“图形类型: 线性”
- 选择“目标: FAM”
- 取消勾选“阈值: 自动”框
- 勾选“显示: 阈值”
- 手动将阈值线设置为PCT终点荧光值的1/10
- 选择“目标: HEX”
- 取消勾选“阈值: 自动”框
- 勾选“显示: 阈值”

- 手动将阈值线设置为PCT终点荧光值的1/10
- 选择“目标：ROX”
- 取消勾选“阈值：自动”框
- 勾选“显示：阈值”
- 手动将阈值线设置为PCT终点荧光值的1/10
- 选择“目标：Cy5”
- 取消勾选“阈值：自动”框
- 勾选“显示：阈值”
- 手动将阈值线设置为Cy5扩增曲线终点荧光值的1/10。

9.5. 结果解释

如果满足所有数据分析标准，则可以使用以下标准对每个样本进行评估：

Result	Result interpretation
FAM Ct \leq 38*	N gene positive (POS)
FAM Ct > 38	N gene negative (NEG)
HEX Ct \leq 38*	S gene positive (POS)
HEX Ct > 38	S gene negative (NEG)
ROX Ct \leq 38*	Orf1ab gene positive (POS)
ROX Ct > 38	Orf1abene negative (NEG)
Cy5 Ct \leq 38*	Rnase P gene positive (POS)
Cy5 Ct > 38	Rnase P gene negative (NEG)

*请手动检查所有指定Ct值的样本的扩增曲线，以验证阳性扩增。

根据N基因、S基因和Orf1ab基因的结果，对患者样本的结果解释如下：

N gene	S gene	Orf1ab gene	Rnase P gene	Status	Result	Action
NEG	NEG	NEG	NEG	Invalid	NA	Repeat test. If the repeat result remains invalid, consider collecting a new specimen.
NEG	NEG	NEG	POS	Valid	SARS-CoV-2 Not Detected	Report results to healthcare provider. Consider testing for other viruses

Only one SARS-CoV-2 target POS	POS or NEG	Valid	SARS-CoV-2 Inconclusive*	Repeat test. If the repeat result remains inconclusive, additional confirmation testing should be conducted if clinically indicated.
Two or more SARS-CoV-2 targets POS	POS or NEG	Valid	Positive SARS-CoV-2	Report results to healthcare provider and appropriate public health authorities

*SARS-CoV-2检测结果不确定的样品应重新检测一次。

10. 性能评估

StrongStep®新型冠状病毒（SARS-CoV-2）多重实时PCR试剂盒性能评估结果已在Applied Biosystem®7500实时PCR系统上生成。

10.1. 分析灵敏度

分析灵敏度定义为95%置信度下可检测分析物的最低浓度。这是通过用已知拷贝数模板对3个阴性口咽样本进行检测的。然后，将洗脱液连续稀释，至少用3天时间测试11个浓度水平，每种测试浓度至少36个重复。

10.1.1. 分析灵敏度结果

数据表明，StrongStep®新型冠状病毒（SARS-CoV-2）多重实时PCR试剂盒检测到3.9拷贝/ μL SARS-CoV-2病毒RNA，置信度 $\geq 95\%$ 。因此，该浓度用作试剂盒的检测限。

Contrivance Level	ABI 7500 Data (FAM channel)			
	Overall Mean Concentration (copies/ μL)	% Replicate Detection	Mean Ct	Ct Standard Deviation
1	1000	100	26.13	1.386
2	500	100	27.03	1.404
3	250	100	28.15	1.373
4	125	100	29.17	1.373
5	62.5	100	29.99	1.353

6	31.5	100	31.15	1.447
7	15.8	100	32.20	1.125
8	7.9	100	33.17	1.427
9	3.9	97.2	34.21	2.564
10	1.9	72.2	35.17	2.077
11	1	19.4	35.20	0.790
ABI 7500 Data (HEX channel)				
Contrivance Level	Overall Mean Concentration	% Replicate Detection	Mean Ct	Ct Standard Deviation
1	1000	100	26.10	1.386
2	500	100	26.90	1.404
3	250	100	28.02	1.373
4	125	100	29.04	1.373
5	62.5	100	29.86	1.353
6	31.5	100	31.02	1.447
7	15.8	100	32.27	1.125
8	7.9	100	33.14	1.427
9	3.9	100	34.09	2.564
10	1.9	97.2	35.14	2.077
11	1	76.9	35.26	0.790
ABI 7500 Data (ROX channel)				
Contrivance Level	Overall Mean Concentration	% Replicate Detection	Mean Ct	Ct Standard Deviation
1	1000	100	25.99	1.186
2	500	100	26.89	1.204
3	250	100	28.01	1.174
4	125	100	29.03	1.573
5	62.5	100	29.85	1.553
6	31.5	100	31.00	1.646
7	15.8	100	32.05	1.325
8	7.9	100	33.02	1.627
9	3.9	97.2	34.06	2.364
10	1.9	72.2	35.04	2.277
11	1	55.5	35.07	1.004

使用CFX 96 (Bio-Rad®) qPCR仪器重新验证分析灵敏度，以确保3.9拷贝/μl。测试代表分析灵敏度浓度的36个重复的阳性对照模板。

Bio-Rad CFX96 (FAM Channel)

Contrivance Level	Overall Mean Concentration (copies/ μ L)	% Replicate Detection	Mean Ct	Ct Standard Deviation
1	15.8	100	31.79	0.266
2	7.9	100	32.87	0.341
3	3.9	100	33.92	0.564
Bio-Rad CFX96 (HEX Channel)				
Contrivance Level	Overall Mean Concentration (copies/ μ L)	% Replicate Detection	Mean Ct	Ct Standard Deviation
1	15.8	100	31.68	0.266
2	7.9	100	32.74	0.304
3	3.9	100	33.85	0.329
Bio-Rad CFX96 (ROX Channel)				
Contrivance Level	Overall Mean Concentration (copies/ μ L)	% Replicate Detection	Mean Ct	Ct Standard Deviation
1	15.8	100	31.67	0.071
2	7.9	100	32.75	0.078
3	3.9	100	33.87	0.105

10.2. 分析特异性

StrongStep®新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 多重实时PCR试剂盒用于检测所有公开提供的 SARS-CoV-2病毒RNA序列。这是通过电脑序列比较分析和体外样本测试来评估的。在电脑分析中发现, StrongStep®新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 多重实时PCR试剂盒可检测所有 SARS-CoV-2病毒株, 与非SARS-CoV-2病毒株无交叉反应

对其他症状相似或属于同一类、同一种类的病原体进行检测。对其他症状相似或属于同一类别或种类的病原体样本进行检测, 包括甲型H1N1流感、甲型H3N2流感、乙型维多利亚流感、乙型山形流感、呼吸道合胞病毒A、呼吸道合胞病毒B、冠状病毒NL63、冠状病毒229E、冠状病毒HKU、肺炎链球菌和脑膜炎奈瑟菌。病毒检测浓度为103–105 TCID₅₀/mL, 细菌检测浓度为105–106 CFU/mL。StrongStep®新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 多重实时PCR试剂盒显示, 被测样本无交叉反应。

体外样本测试结果如下。

Organism Interpreted	Result*
Influenza A H1N1	SARS-CoV-2 not detected
Influenza A H3N2	SARS-CoV-2 not detected
Influenza B Victoria	SARS-CoV-2 not detected
Influenza B Yamagata	SARS-CoV-2 not detected
RSV A	SARS-CoV-2 not detected

RSV B	SARS-CoV-2 not detected
Coronavirus NL63	SARS-CoV-2 not detected
Coronavirus 229E	SARS-CoV-2 not detected
Coronavirus HKU	SARS-CoV-2 not detected
Coronavirus OC43	SARS-CoV-2 not detected
Streptococcus pneumoniae	SARS-CoV-2 not detected
Neisseria meningitidis	SARS-CoV-2 not detected

结果根据第9.5节解释。

10.3. 精密度

StrongStep®新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 多重实时PCR试剂盒的精密度分析是通过临床样本的重复测试来确定的, 这些样本代表3种病毒载量水平:

- 120拷贝/反应 (24拷贝/ μL)
- 100拷贝/反应 (20拷贝/ μL)
- 80拷贝/反应 (16拷贝/ μL)

精密度以Ct标准差和变异系数的形式表示。

10.3.1. 重复性

通过分析单个板上每个样品的10个重复来测量重复性:

StrongStep® Novel Coronavirus N gene (FAM channel)			
Sample Concentration (copies/ μL)	Mean Ct	% Replicate Detection	Coefficient of Variation (%)
24	31.65	100%	0.040
20	31.81	100%	0.052
16	32.15	100%	0.045
StrongStep® Novel Coronavirus S gene (HEX channel)			
Sample Concentration (copies/ μL)	Mean Ct	% Replicate Detection	Coefficient of Variation (%)
24	31.64	100%	0.025
20	31.76	100%	0.028
16	32.12	100%	0.035
StrongStep® Novel Coronavirus Orf1ab gene (ROX channel)			
Sample Concentration (copies/ μL)	Mean Ct	% Replicate Detection	Coefficient of Variation (%)
24	31.63	100%	0.030
20	31.79	100%	0.045
16	32.11	100%	0.035

10.3.2. 仪器间再现性

通过在2台qPCR仪器上运行每个样品的10个重复测量仪器间重现性。

StrongStep® Novel Coronavirus N gene (FAM channel)			
Sample Concentration (copies/μL)	Mean Ct	% Replicate Detection	Coefficient of Variation (%)
24	31.56	100%	2.16
20	31.84	100%	2.23
16	32.16	100%	2.58
StrongStep® Novel Coronavirus S gene (HEX channel)			
Sample Concentration (copies/μL)	Mean Ct	% Replicate Detection	Coefficient of Variation (%)
24	31.53	100%	2.16
20	31.89	100%	1.98
16	32.20	100%	2.11
StrongStep® Novel Coronavirus Orf1ab gene (ROX channel)			
Sample Concentration (copies/μL)	Mean Ct	% Replicate Detection	Coefficient of Variation (%)
24	31.48	100%	1.86
20	31.82	100%	1.91
16	32.15	100%	1.78

10.3.3. 操作员再现性

三个不同的操作人员使用StrongStep®新型冠状病毒（SARS-CoV-2）多重实时PCR试剂盒测试每个样本的10个重复，以评估操作员的重复性。每次试验使用同一批同一仪器。

StrongStep® Novel Coronavirus N gene (FAM channel)			
Sample Concentration (copies/μL)	Mean Ct	% Replicate Detection	Coefficient of Variation (%)
24	31.48	100%	2.35
20	31.83	100%	2.38
16	32.15	100%	2.98
StrongStep® Novel Coronavirus S gene (HEX channel)			
Sample Concentration (copies/μL)	Mean Ct	% Replicate Detection	Coefficient of Variation (%)

24	31.59	100%	3.16
20	31.91	100%	2.98
16	32.23	100%	2.15
StrongStep® Novel Coronavirus Orf1ab gene (ROX channel)			
Sample Concentration (copies/μL)	Mean Ct	% Replicate Detection	Coefficient of Variation (%)
24	31.50	100%	2.86
20	31.83	100%	1.97
16	32.17	100%	1.88

10.3.4. 每日重现性

通过分析4天内每个样品的40个重复，每天每个浓度的10个重复来评估每日重现性。每次试验使用同一批同一仪器。

StrongStep® Novel Coronavirus N gene (FAM channel)			
Sample Concentration (copies/μL)	Mean Ct	% Replicate Detection	Coefficient of Variation (%)
24	31.53	100%	1.95
20	31.79	100%	2.38
16	32.15	100%	2.92
StrongStep® Novel Coronavirus S gene (HEX channel)			
Sample Concentration (copies/μL)	Mean Ct	% Replicate Detection	Coefficient of Variation (%)
24	31.48	100%	3.16
20	31.75	100%	2.97
16	32.12	100%	2.19
StrongStep® Novel Coronavirus Orf1ab gene (ROX channel)			
Sample Concentration (copies/μL)	Mean Ct	% Replicate Detection	Coefficient of Variation (%)
24	31.51	100%	1.85
20	31.78	100%	2.07
16	32.17	100%	2.15

10.4. 稳定性

同一批试剂盒分别存放在-20°C、24°C、37°C和56°C四种不同温度下。使用更高的温度进行加速研究，这使得快速的稳定性预测成为可能。这些试剂盒每周取出进行9周的功能性测试。对于每个时间点，以-20°C保存的试验作为对照，并与高温保存的试验平行进行试验。分析灵敏度试

验按10.1进行。试剂盒的LoD为3.9份/ μL ，变异系数为2.05 ~ 3.66。

LoD试验结果表明，该试剂盒在-20°C、24°C、37°C和56°C条件下贮存，稳定性均在9周以上。

根据以下公式，由阿伦尼斯方程导出：

预测稳定性=加速稳定性 $\times 2\Delta T/10$ ，

其中 ΔT 是正常储存温度和样品储存温度之间的差。然而，这种差异越大，预测的可靠性就越低。

试剂盒的保质期暂定为1年，储存温度为-20°C，室温运输不超过3个月。由于加速测试是一种模式，应得到实时测试的支持，我们计划继续定期积累实时数据。

10.5. 准确度

用人为的鼻咽拭子和BALF标本对StrongStep®新型冠状病毒（SARS-CoV-2）多重实时PCR试剂盒进行临床评价。

共测试了100个假阳性标本：

- 50个人为的鼻咽拭子阳性标本
- 50个人为的阳性BALF样本

样本是通过将已知浓度的提取的SARS-CoV-2病毒基因组RNA（相对于产物LoD）加入基质制成的，基质在加入RNA之前由StrongStep®新型冠状病毒（SARS-CoV-2）多重实时PCR试剂盒测定为阴性。

除了假阳性样本外，还测试了100个阴性样本：

- 50个鼻咽拭子阴性标本
- 50个阴性样本BALF样本

所有阴性样品均呈阴性结果。

阳性样本结果见下表：

鼻咽拭子临床评价研究

Final RNA Concentration	Number of Positives	Mean Ct	Mean Ct	Mean Ct
		N gene	S gene	ORF1ab
8	25/25	33.18	33.15	33.12
12	20/20	32.78	32.76	32.75
20	5/5a	31.75	31.72	31.72

BALF临床评价研究

Final RNA Concentration in Sample(copies/ μL)	Number of Positives	Mean Ct	Mean Ct	Mean Ct
		N gene	S gene	ORF1ab
8	25/25	33.22	33.18	32.17
12	20/20	32.85	32.83	32.83
20	5/5	31.95	31.87	31.85

11. 质量控制

根据黎明生物制品有限公司ISO 13485认证的质量管理体系，每批试剂盒都按照预定的规格进行测试，以确保产品质量的一致性。

12. 技术支持

有关技术支持，请联系我们的专业技术支持团队：

电话: +86(25)85288510 邮箱: pcr_tech@limingbio.com

13. 商标和免责声明

商标: StrongStep® and



本IFU中出现的所有其他商标均为其各自所有者的财产。

14. 符号说明

Symbol	Explanation
	In vitro diagnostics
	Manufacturer
	Catalogue number
	Suffices for
	Use by Date
	Temperature limit
	Batch Code
	Authorized representative in the European Community

南京黎明生物制品有限公司

No. 12 Huayuan Road, Nanjing, Jiangsu, 210042 P.R. China.

电话: +86(25) 85288506 传真: (0086)25 85476387

邮箱: sales@limingbio.com 网站: www.limingbio.com



WellKang Ltd.(www.CE-marking.eu)

16 Castle St, Dover, Kent, CT16 1PW, England, UK

Tel: +44(20)3287 6300 E-mail: AuthRep@CE-marking.eu

