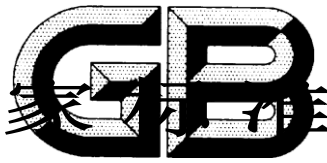


ICS

中华人民共和国国家标准



GB/T XXXXX—XXXXX

新型冠状病毒核酸检测试剂盒质量评价要求

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX发布

XXXX-XX-XX实施

国家市场监督管理总局
中国国家标准化管理委员会

发布

前 言

本标准根据GB/T1.1-2009 给出的规则起草。

本标准由全国医用临床检验实验室和体外诊断系统标准化技术委员会SAC/TC136提出并归口。

本标准起草单位：中国食品药品检定研究院、国家药品监督管理局医疗器械技术审评中心、SAC/TC136、华大生物科技（武汉）有限公司、成都博奥晶芯生物科技有限公司、上海捷诺生物科技有限公司、中山大学达安基因股份有限公司、圣湘生物科技股份有限公司

本标准主要起草人：刘东来，周海卫，麻婷婷，许庭莹，许四宏，杨振，董劲春，李达，刘莹莹，蒋析文，夏懿，程天龄，刘佳，吴红龙

新型冠状病毒核酸检测试剂盒质量评价要求

1. 范围

本标准规定了引起新型冠状病毒肺炎（COVID-19）的严重急性呼吸综合征冠状病毒2（SARS-CoV-2）核酸检测试剂盒的质量评价要求和方法。

本标准适用于检测人鼻咽拭子、口咽拭子、痰液和肺泡灌洗液等样本中的新型冠状病毒核酸的核酸扩增检测试剂盒的质量评价。核酸扩增方法包含聚合酶链反应（PCR）技术和恒温扩增技术。

2. 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 29791.1 体外诊断医疗器械 制造商提供的信息（标示） 第1部分：术语、定义和通用要求

WS 233-2017病原微生物实验室生物安全通用准则

GB19489-2008 实验室生物安全通用要求

GB/T 37871-2019核酸检测试剂盒质量评价技术规范

YY/T 1182-2020核酸扩增检测用试剂(盒)

3. 术语和定义

在本文件中，术语和定义由ISO 13485、ISO 14971、ISO 18113-1、JCGM200给出。

注：ISO 18113-1来源的术语和定义优先于其他来源。

3.1

新型冠状病毒肺炎COVID-19

世界卫生组织将新型冠状病毒肺炎命名为COVID-19（Coronavirus Disease 2019，COVID-19），其中CO指冠状（corona），VI代表病毒（virus），D代表疾病（disease），19代表第一批发现的年份。

3.2

严重急性呼吸综合征冠状病毒2SARS-CoV-2

国际病毒分类委员会将引起新型冠状病毒肺炎（COVID-19）的病毒正式命名为严重急性呼吸综合征冠状病毒2（severe acute respiratory syndrome coronavirus 2，SARS-CoV-2）。

3.3

核酸等温扩增isothermal nucleic acids amplification technology

核酸等温扩增是一类核酸体外扩增技术。其反应过程始终维持在恒定的温度下，通过添加不同活性的酶和特异性引物（获不加）实现特定核酸序列的快速扩增。

4. 实验室和生物安全要求

实验室应建立安全工作制度或安全标准操作程序，并符合GB19489-2008和WS 233。进行SARS-CoV-2核酸检测试剂的质量评价实验，实验室必须满足分子生物学和PCR扩增实验室的需要；符合《医疗机构临床基因扩增实验室管理办法》附件中“医疗机构临床基因扩增检验实验室工作导则”的要求；符合《新型冠状病毒感染的肺炎实验室检测技术指南》的要求。

5. 主要原材料要求

5.1 引物

包括扩增SARS-CoV-2病毒核酸的引物及内标的引物（含引物序列）。引物合成后经HPLC、聚丙烯酰胺凝胶电泳或其他适宜的方法纯化。纯度应达到90%以上，并符合功能性试验的要求。

5.2 探针

包括检测SARS-CoV-2病毒核酸的探针及内标的探针（含探针序列）。探针合成后经HPLC、聚丙烯酰胺凝胶电泳或其他适宜的方法纯化，在相应的末端标记适宜的基团（如荧光基团、荧光淬灭基团、吖啶酯或其他基团），再经HPLC、聚丙烯酰胺凝胶电泳或其他适宜的方法纯化。探针序列应与批准的一致，除另有规定外，纯度应达到90%以上，并符合功能性试验的要求。

5.3 扩增用酶

根据核酸扩增和检测方法，可选用不同的酶或酶的组合，如使用以下的酶，应符合规定。

5.3.1 逆转录酶

应具有逆转录酶活性，cDNA合成试验应合格。应建立核酸酶的标准并符合要求。符合功能性试验的要求。于-15℃以下或其他适宜的条件保存。

5.3.2 DNA 聚合酶

应具有DNA聚合酶活性和热稳定性，94℃保温1小时后仍保持50%活性，或采用其他适宜的方法评价热稳定性。应建立核酸酶的标准并符合要求。符合功能性试验的要求。于-15℃以下或其他适宜的条件保存。

5.3.3 具有逆转录酶活性的 DNA 聚合酶

应具有逆转录酶活性，cDNA合成试验应合格；应具有DNA聚合酶活性和热稳定性，94℃保温1小时后仍保持50%活性，或采用其他适宜的方法评价热稳定性。应建立核酸酶的标准并符合要求。符合功能性试验的要求。于-15℃以下或其他适宜的条件保存。

5.3.4 T7 RNA 聚合酶

应具有T7 RNA聚合酶活性，符合功能性试验的要求。于-15℃以下或其他适宜的条件保存。

5.3.5 尿嘧啶核糖核酸糖基化酶（UNG 酶或 UDG 酶）

具有尿嘧啶糖基化酶活性；1U UNG在37℃处理5分钟，应完全降解103拷贝及以下含dUTP的模板，不产生扩增产物；或1U UNG在37℃处理含dUTP的DNA模板60分钟后产生1nmol 尿嘧啶；或采用其他适宜

的方法评价酶的活性。应建立核酸酶的标准并符合要求。符合功能性试验要求。于 -15℃ 以下或其他适宜的条件保存。

5.4 脱氧三磷酸核苷 dNTPs 或三磷酸核苷 NTPs

脱氧三磷酸核苷包括：dATP、dGTP、dCTP、dTTP或dUTP；三磷酸核苷包括ATP、GTP、CTP和UTP。纯度应大于95%并符合功能性试验要求。于 -15℃ 以下或其他适宜的条件保存。

5.5 内标

内标可以对管内抑制导致的假阴性结果进行质量控制，应与靶核酸一同提取及扩增，申请人应对内标的引物、探针设计和模板浓度做精确验证，既要保证内标荧光通道呈明显的阳性曲线又要尽量降低对靶基因检测造成的抑制。对内对照的检测结果（如Ct值）应做出明确的范围要求。

应科学设置内标，对取样的质量、核酸提取及扩增检测的全过程进行有效监控。内标不应为质粒。

5.6 质控品

试剂盒质控品应参与样本处理、核酸的平行提取和检测的全过程，以对整个提取和PCR扩增过程、试剂/设备、交叉污染等环节进行合理质量控制。应对质控品的检测结果（如Ct值）做出明确的范围要求。

6. 产品质量评价要求和试验方法

6.1 外观

外观应符合但不限于以下要求：

- a) 试剂盒各组分应齐全、完整，液体无渗漏；
- b) 中文包装标签应清晰，无磨损。

6.2 性能评估

6.2.1 核酸提取/纯化性能

在进行靶核酸检测前，需要进行核酸（RNA）提取/纯化的试剂盒：

a) 包含核酸提取组分的试剂盒，生产企业应对核酸提取有适当要求，核酸提取效率、纯度、完整性符合要求。

b) 不包含核酸提取组分的试剂盒，应由生产企业说明或指定提取试剂（盒），并对核酸提取效率、纯度、完整性进行说明。

c) 无需提取，直接进行扩增的试剂盒，无需进行核酸提取/纯化验证，但生产企业应能提供充分证据，以证明其产品酶的抗干扰性。

6.2.2 检出限

使用国家参考品或经国家参考品标化的标准品进行检测，检测结果应满足国家参考品的要求。

注：本标准所涉及的国家参考品信息可参见附录A。

6.2.3 阳性参考品符合率

使用国家参考品或经标化的参考品进行检测，检测结果应为阳性。

阳性参考品设置宜包括具有时间和区域特征性的5个以上不同来源的病毒样本（阳性临床样本或分离培养物）。

注：本标准所涉及的国家参考品信息可参见附录A。

6.2.4 阴性参考品符合率

用国家阴性参考品或经标化的阴性参考品进行检测，检测结果应为阴性。

阴性参考品设置宜参考如下要求：

a) 包括人类冠状病毒（HKU1, OC43, NL63和229E）、SARS冠状病毒（可采用假病毒）和MERS冠状病毒（可采用假病毒）；

b) 包括其他呼吸道感染相关病原体。

注：本标准所涉及的国家参考品信息可参见附录A。

6.2.5 重复性/精密性

使用国家参考品或经标化的参考品进行检测，检测结果：

a) 对于报告Ct值的试剂盒，对同一份样本进行10次重复检测，检测结果应均为阳性，且Ct值的变异系数（CV，%）应不大于5.0%；

b) 对于不报告Ct值的试剂盒，对同一份样本进行10次重复检测，检测结果应均为阳性。

重复性/精密性参考品设置宜包括弱阳性（不高于1000copies/mL）和中/强阳性浓度（不低于10000copies/mL）两个水平。

注：本标准所涉及的国家参考品信息可参见附录A。

6.3 稳定性

可选用以下方法进行验证：

a) 效期稳定性：生产企业应规定试剂盒的有效期。在生产企业规定的储存条件下，取近效期的样品检测6.2.2~6.2.5项，结果应符合相应要求。

b) 热稳定性试验：在生产企业规定的热稳定性试验条件下，检测5.2.2~5.2.5项，结果应符合相应要求。

注1：热稳定性不能直接用于推导产品有效期，除非是采用基于大量的稳定性研究数据建立的推导公式。

注2：根据产品特性可选择a)、b)方法的任意组合，但所选用方法宜能验证产品的稳定性，以保证在有效期内产品性能符合标准要求。

7. 标签和使用说明书

应符合GB/T 29791.2的规定。

8. 包装、运输和贮存

8.1 包装

包装储运图示标志应符合GB/T 191的规定。包装容器应保证密封性良好，完整，无泄露，无破损。

8.2 运输

试剂盒应按生产企业的要求运输。在运输过程中，应防潮，防止重物堆压，避免阳光直射和雨雪浸淋，防止与酸碱物质接触，防止内外包装破损。

8.3 贮存

试剂盒应在生产企业规定条件下保存。

参 考 文 献

- [1]GB/T 21415-2008 体外诊断医疗器械生物样品中量的测量校准品和控制物质赋值的计量学溯源性(ISO17511:2003, IDT)。
- [2]YY/T 0316 医疗器械风险管理对医疗器械的应用 (ISO 14971 , IDT)
- [3]YY 0466-2003 医疗器械用于医疗器械标签、标记和提供信息的符号 (ISO 15223:2000 , IDT)
- [4]ISO/FDIS 18113-1 Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems – In vitro diagnostic medical devices – Information supplied by the manufacturer (labelling) – Part 1: General requirements and definitions
- [5]EN375-2001 Information supplied by the manufacturer with in vitro diagnostic reagents for professional use
- [6]EN980-2003 Graphical symbols for use in the labelling of medical devices
- [7]EP17-A Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline, CLSI, 2004
- [8]MM3-P2 Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases ; Proposed Guideline—Second Edition , CLSI , 2005
- [9]MM6-A Quantitative Molecular Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline , CLSI , 2003
- [10] 《新型冠状病毒感染的肺炎实验室检测技术指南》

附录 A

（资料性附录）

新型冠状病毒核酸检测试剂盒质量评价要求

A.1 总则

附录 A 给出了本标准“5. 产品质量评价指标和试验方法”项中适用的国家参考品信息，该国家参考品为“新型冠状病毒核酸检测试剂国家参考品（参考品批号：370099-202001）”。

A.2 类别

体外诊断试剂参考品。

A.3 批号

370099-202001。

A.4 性状

液体。

A.5 用途

参考品原料包括呼吸道病原体培养物、咽拭子及假病毒、质粒。适用于样本类型为咽拭子、鼻拭子、痰液、肺泡灌洗液等的核酸检测试剂盒的质量评价，适用方法学包括但不限于荧光 PCR 法、恒温扩增芯片法、恒温扩增-实时荧光法、杂交捕获免疫荧光法、RNA 捕获探针法、测序法及 CRISPR 法等。不可用于量值溯源。

A.6 规格和组成

参考品类型	参考品编号	样本类型规格	规格
阳性	P1	病毒培养物	0.5 mL/支
	P2	咽拭子	0.5mL/支
	P3	病毒培养物	0.5mL/支
	P4	咽拭子	0.5mL/支
	P5	咽拭子	0.5mL/支
	P6	咽拭子	0.5mL/支
	P7	质粒（N 全长基因）	0.1 mL/支
阴性	N1	嗜肺军团菌	0.5 mL/支
	N2	肺炎克雷伯菌	0.5 mL/支
	N3	肺炎链球菌	0.5 mL/支

	N4	流感嗜血杆菌	0.5 mL/支
	N5	腺病毒 3 型	0.5 mL/支
	N6	肺炎支原体	0.5 mL/支
	N7	肺炎衣原体	0.5 mL/支
	N8	副流感 2 型	0.5 mL/支
	N9	呼吸道合胞病毒 A 型	0.5 mL/支
	N10	百日咳杆菌	0.5 mL/支
	N11	冠状病毒 OC43	0.5 mL/支
	N12	冠状病毒 NL63	0.5 mL/支
	N13	冠状病毒 HKU-1	0.5 mL/支
	N14	冠状病毒 229E	0.5 mL/支
	N15	禽流感病毒 H7N9	0.5 mL/支
	N16	禽流感病毒 H5N1	0.5 mL/支
	N17	乙型流感病毒（Victoria 系）	0.5 mL/支
	N18	甲型 H1N1（2009）流感病毒	0.5 mL/支
	N19	甲型 H3N2 流感病毒	0.5 mL/支
	N20	EB 病毒	0.5 mL/支
	N21	MERS 假病毒（ORF1ab+N+部分 RdRp 基因）	0.5 mL/支
	N22	阴性模拟拭子样本	0.5 mL/支
灵敏度	S	病毒培养物	0.5 mL/支
精密性	R	病毒培养物	0.5 mL/支

A. 7 特性量值

灵敏度参考品 S 浓度（原液）为 3×10^5 copies/mL，使用数字 PCR 方法联合定值。S 不可用于量值溯源。

A. 8 使用方法

阳性参考品：P1~P6 按照试剂盒说明书要求进行核酸提取后进行检测；P7 作为核酸提取物直接进行检测；

阴性参考品：N1~N22 均按照试剂盒说明书要求进行核酸提取后进行检测；

灵敏度参考品：S 使用无 RNA/DNA 酶去离子水进行 1:3 倍比稀释（2 份水+1 份样本）后，将 1:9、1:27、1:81、1:243、1:729、1:2187、1:6561、1:19683、1:59049、1:177147 分别标记为 S1~S10，按照试剂盒说明书要求进行核酸提取后进行检测；

精密性参考品：R 使用无 RNA/DNA 酶去离子水进行 1:20 稀释（19 份水+1 份样本）后，按照试剂盒说明书要求进行核酸提取后进行检测，重复检测 10 次。