

江苏省地方标准

DB32/T 3762.14—2021

新型冠状病毒检测技术规范 第 14 部分：N 亚基因组荧光 PCR 检测程序

Technical specifications for SARS-CoV-2 detection—
Part 14: Real-time fluorescence PCR test N subgenomic RNA procedure

2021-12-09 发布

2022-01-09 实施

江苏省市场监督管理局 发布

目 次

前言 I

引言 III

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 环境与设施 1

5 设备与耗材 1

6 试剂与材料 1

7 样本前处理与核酸提取 2

8 扩增体系配制与扩增 2

9 结果判定 2

附录 A（规范性） 新型冠状病毒 N 亚基因组实时荧光 PCR 引物与探针序列及阳性对照片段
序列 3

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件是 DB32/T 3762《新型冠状病毒检测技术规范》的第14部分。DB32/T 3762 已经发布了以下部分：

- 第1部分：生物样本采集、运输和保存；
- 第2部分：病毒分离与鉴定；
- 第3部分：核酸荧光 PCR 检测程序；
- 第4部分：重组酶介导等温扩增程序；
- 第5部分：血清 IgM 和 IgG 抗体酶联免疫吸附检测程序；
- 第6部分：血清 IgM 和 IgG 抗体胶体金免疫层析检测程序；
- 第7部分：空气样本检测与评估；
- 第8部分：物体表面检测与评估；
- 第9部分：医务人员职业暴露检测与评估；
- 第10部分：微量血清中和试验；
- 第11部分：全基因组高通量测序；
- 第12部分：药物体外抗病毒效果测定；
- 第13部分：叠氮溴化丙锭-荧光 PCR 检测程序；
- 第14部分：N 亚基因组荧光 PCR 检测程序；
- 第15部分：血清/血浆 IgM 和 IgG 抗体磁微粒化学发光法检测程序；
- 第16部分：核酸数字 PCR 法；
- 第17部分：核酸检测用假病毒阳性质控品；
- 第18部分：规模化核酸检测程序。

本文件由江苏省卫生健康委员会提出。

本文件由江苏省卫生标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：江苏省疾病预防控制中心、无锡市疾病预防控制中心、镇江市疾病预防控制中心、常州市疾病预防控制中心。

本文件主要起草人：朱小娟、崔仑标、朱宝立、葛以跃、吴涛、吴斌、赵康辰、乔乔、陈银、肖勇、徐虹、王凤鸣。

引 言

新型冠状病毒检测涉及多个环节和种类,包括生物样本采集、运输和保存、病毒分离与鉴定、核酸检测与全基因组测序、血清学检测、环境空气样本检测、医务人员职业暴露评估、药物体外抗病毒效果测定等。在疫情常态化防控过程中还遇到了新问题与新挑战,如新型冠状病毒感染后期或“复阳”样本的病毒感染性鉴定、超敏抗体检测、核酸痕量检测以及规模化核酸检测等。DB32/T 3762《新型冠状病毒检测技术规范》,旨在规范全省实验室的新型冠状病毒检测技术,提升实验室检测能力,拟由 18 个部分构成。

- 第 1 部分:生物样本采集、运输和保存。对新型冠状病毒生物样本的采集、运输和保存进行了明确规定,适用于新型冠状病毒肺炎疑似病例、确诊病例和无症状感染者样本的采集与检测。
- 第 2 部分:病毒分离与鉴定。对新型冠状病毒感染临床样本病毒分离培养环境与设施、设备与耗材、试剂与材料、操作步骤和清场与消毒进行了明确规定,适用于新型冠状病毒感染患者各类临床样本中新型冠状病毒的分离培养,其他呼吸道病毒的分离培养程序可参照执行。
- 第 3 部分:核酸荧光 PCR 检测程序。对新型冠状病毒实验室核酸荧光 PCR 检测环境与设施、设备与耗材、试剂与材料、样本前处理与核酸提取、扩增体系配制与扩增、结果判定进行了明确规定,适用于新型冠状病毒实验室核酸荧光 PCR 检测。
- 第 4 部分:重组酶介导等温扩增程序。对新型冠状病毒实验室核酸重组酶介导等温扩增检测的环境与设施、设备与耗材、试剂与材料、样本前处理与核酸提取、扩增体系配制与扩增、结果判定进行了明确规定,适用于新型冠状病毒实验室核酸重组酶介导等温扩增检测。
- 第 5 部分:血清 IgM 和 IgG 抗体酶联免疫吸附检测程序。对新型冠状病毒感染者血清 IgM 和 IgG 抗体酶联免疫吸附检测的环境与设施、设备与耗材、试剂与材料、血清样本采集和酶联免疫吸附实验操作进行了明确规定,适用于新型冠状病毒肺炎确诊病例、疑似病例和密切接触者血清学检查。
- 第 6 部分:血清 IgM 和 IgG 抗体胶体金免疫层析检测程序。对新型冠状病毒 IgM 和 IgG 抗体的胶体金免疫层析检测的环境与设施、设备与耗材、试剂与材料、血清样本采集、胶体金免疫层析检测步骤和结果判定进行了明确规定,适用于被检测者血清中的 IgM 和 IgG 抗体的胶体金免疫层析检测方法。
- 第 7 部分:空气样本检测与评估。对空气中新型冠状病毒的样本分类、现场采样、实验室检测和评估进行了明确规定,适用于新型冠状病毒肺炎流行期间空气中新型冠状病毒的检测,其他呼吸道病毒的空气样本检测可参照执行。
- 第 8 部分:物体表面检测与评估。对物体表面污染新型冠状病毒检测的样本采集、实验室核酸检测和评估进行了明确规定,适用于新型冠状病毒肺炎流行期间物体表面新型冠状病毒的采样和检测,其他传染病流行期间的物体表面污染样本的病毒检测可参照执行。
- 第 9 部分:医务人员职业暴露检测与评估。对医务人员职业暴露新型冠状病毒的样本采集、实验室核酸检测和评估进行了明确规定,适用于新型冠状病毒肺炎流行期间医务人员职业暴露新型冠状病毒的检测与管理,其他传染病流行期间的医务人员职业暴露病毒检测可参照执行。
- 第 10 部分:微量血清中和试验。对新型冠状病毒微量血清中和试验环境与设施、设备与耗材、试剂与材料、操作步骤、结果判定和清场与消毒进行了明确规定,适用于新型冠状病毒实验室微量血清中和试验。
- 第 11 部分:全基因组高通量测序。对新型冠状病毒全基因组高通量测序环境与设施、设备与

耗材、试剂、样本前处理与核酸提取、全基因组测序、结果分析进行了明确规定,适用于新型冠状病毒全基因组高通量测序。

- 第 12 部分:药物体外抗病毒效果测定。对新型冠状病毒药物体外抗病毒效果测定环境与设施、设备与耗材、试剂与材料、技术要求、操作步骤和清场与消毒进行了明确规定,适用于新型冠状病毒药物体外抗病毒效果测定。
- 第 13 部分:叠氮溴化丙锭-荧光 PCR 检测程序。对新型冠状病毒叠氮溴化丙锭-荧光 PCR (PMA-qRT-PCR)检测环境与设施、设备与耗材、试剂与材料、样本处理与核酸提取、扩增体系配制与扩增和结果判断进行了明确规定,为判断样本中的新型冠状病毒是否具有感染性提供辅助手段。
- 第 14 部分:N 亚基因组荧光 PCR 检测程序。对新型冠状病毒 N 亚基因组荧光 PCR 检测环境与设施、设备与耗材、试剂与材料、样本前处理与核酸提取、扩增体系配制与扩增、结果判定进行了明确规定,为判断样本中的新型冠状病毒是否具有感染性提供辅助手段。
- 第 15 部分:血清/血浆 IgM 和 IgG 抗体磁微粒化学发光法检测程序。对新型冠状病毒确诊病例、无症状感染者、疑似病例、密切接触者以及一般人群血清/血浆样本中新冠特异性 IgM 和 IgG 抗体磁微粒化学发光法检测的环境与设施、设备、试剂、样本要求、化学发光实验操作进行了详细的规定。
- 第 16 部分:核酸数字 PCR 法。对新冠病例、一般人群和重点人群的生物样本,包括口咽拭子、鼻咽拭子、血标本、肛拭子等,以及其他需要检测的环境样本的数字 PCR 检测方法进行了明确规定。
- 第 17 部分:核酸检测用假病毒阳性质控品。针对用于制备质控品的假病毒原液和质控品成品两方面提出了相应技术要求。对假病毒原液,必须具备与新型冠状病毒核酸检测靶标 RNA 序列一致的 RNA 片段。对质控品成品,浓度应为核酸检测试剂盒检出限的 1.5 倍~3 倍,保证使用过程中质控品所含靶标 RNA 量值的均匀、稳定。保证质控品适用于获批上市的新型冠状病毒核酸检测试剂盒。
- 第 18 部分:规模化核酸检测程序。对大规模核酸检测过程中的样本采集、样本保存与转运、实验室检测、阳性病例报告处置程序及废弃物处置进行了明确规定。

DB32/T 3762 通过 18 个部分明确了新型冠状病毒检测的术语、实验条件、要求和方法等,让实验相关人员能够更加清晰、准确地进行操作,从而获得更加客观的检测结果,更好地为新型冠状病毒肺炎疫情防控服务,保障人民群众的健康。

新型冠状病毒检测技术规范

第 14 部分:N 亚基因组荧光 PCR 检测程序

1 范围

本文件规定了新型冠状病毒 N 亚基因组荧光 PCR 检测环境与设施、设备与耗材、试剂与材料、样本前处理与核酸提取、扩增体系配制与扩增、结果判定。

本文件适用于新型冠状病毒 N 亚基因组荧光 PCR 检测,为判断样本中的新型冠状病毒是否具有感染性提供辅助手段。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改版)适用于本文件。

DB32/T 3762.3—2020 新型冠状病毒检测技术规范 第 3 部分:核酸荧光 PCR 检测程序

3 术语和定义

3.1

亚基因组 RNA subgenomic RNA;SgRNA

在结构上由病毒 5'UTR 区 Leader 序列及各基因转录 RNA 片段构成,亚基因组的出现可反应病毒复制状态,从而代表病毒的感染性。

4 环境与设施

同 DB32/T 3762.3—2020 的 4.1 和 4.2。

5 设备与耗材

同 DB32/T 3762.3—2020 的 5.1 和 5.2。

6 试剂与材料

6.1 试剂

6.1.1 病毒核酸提取试剂盒。

6.1.2 实时荧光 PCR 检测试剂。

6.2 引物与探针

新型冠状病毒 N 亚基因组的荧光定量 PCR 引物、探针组合物(序列依据附录 A),其中探针的 5'端