

麥博森新冠病毒定溫核酸檢測試劑組

**MobioSense COVID-19 Isothermal  
Nucleic Acid Diagnostic Kit**

型號：COV-INA0-50

防疫專案核准製造第 1096821155 號

**使用說明書**

**保存於-20°C**

藥商名稱：麥博森股份有限公司

藥商地址：臺北市中山區民權東路三段 58 號 13 樓之 3

製造廠名稱及地址：麥博森股份有限公司委託泉沂醫學科技  
股份有限公司(高雄市路竹區路科二路 55 號 3 樓)製造。

電話：+886-2-2517-5455

電子信箱：[contact@mobiosense.co](mailto:contact@mobiosense.co)

公司網站：[www.mobiosense.co](http://www.mobiosense.co)

## 目錄

1 用途與效能.....	1
2 產品概述.....	1
3 試劑組成與規格 .....	2
4 保存與操作處置要求 .....	3
5 搭配使用材料與設備 .....	4
6 警告事項與預防措施 .....	5
7 檢體採集、處置與保存 .....	6
8 操作流程.....	7
9 結果分析與判讀 .....	11
10 使用限制.....	14
11 問題排除.....	15
12 性能評估.....	17
13 技術支援.....	21
14 文獻.....	22

## 1 用途與效能(Intended Use)

本產品使用即時定溫核酸增幅法(real-time isothermal nucleic acid amplification assay)，搭配 QIAamp Viral RNA Mini Kit 及 ABI QuantStudio 3 QPCR machine，以定性檢測人類口咽拭子檢體中新冠病毒核酸序列。不應單以本產品檢測結果做為診斷、治療或病人管理決定的依據。

檢測結果用以辨認萃取後檢體中之新冠病毒 RNA(COVID-19, or SARS-CoV-2 RNA)，通常新冠病毒感染人體之急性期時，可以在呼吸道檢體中檢測到新冠病毒之 RNA。實務上檢測結果仍需搭配接觸史及症狀等加以判別感染情況，不應單以陽性或陰性結果，納入或排除人體感染情形。

本產品僅提供原已有操作呼吸道檢體檢驗之實驗室，或由主管機關(行政院衛福部疾管署)指定之實驗室使用。

## 2 產品概述(Product Description)

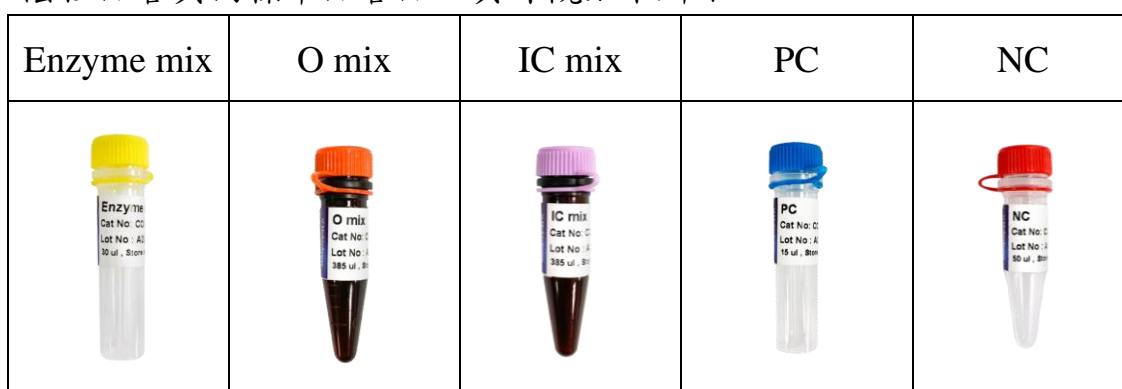
本產品為使用即時定溫核酸增幅法(real-time isothermal nucleic acid amplification assay)之定性產品，其原理是在管中同時進行反轉錄反應(reverse-transcription)以及定溫圈環型核酸增幅法(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)，對從檢體中萃取之 RNA 進行增幅。在本試劑組中，具有專一性高之引子組，針對新冠病毒 ORF1a 基因片段進行偵測(FAM 通道)，每個檢體同時檢 RNase P 基因作為內標準(internal control, IC)，評估 RNA 萃取以及核酸增幅效率。

上述之反轉錄反應與定溫圈環型核酸增幅反應可同時於 60-65°C 溫度範圍內發生。在反應同時螢光基團會嵌入增幅之片段中，使螢光訊號增加，而這樣的螢光訊號改變至超過閾值(threshold)的過程，可被即時聚合酶連鎖反應(QPCR)機台(ABI QuantStudio 3)所即時偵測，使用者可利用螢光超過閾值之循環數(cycle of threshold, Ct)作為陽性或陰性之判讀。

本試劑組亦提供陽性品管 (Positive control, PC) 及陰性品管物 (Negative control, NC)，其中陽性品管品含有新冠病毒 ORF1a 基因及人類 RNase P 基因模板，而內標準品管組則為可增幅人類 RNase P 基因片段之試劑組合，陰性品管物則為無核酸酶水 (Nuclease-free water)。

### 3 試劑組成與規格(Component and Package Specifications)

本試劑組包含緩衝溶液、引子、反轉錄酶及聚合酶等，並提供陽性品，陰性品管與內標準品管品；其外觀如下所示：



	試劑標示	品號	內容物	體積/數量	保存條件
1	Enzyme mix	COV-INAO-A01	反轉錄酶與聚合酶	30 $\mu$ L / 1 管	-20 $^{\circ}$ C
2	O mix	COV-INAO-A02	含有病毒 ORF1a 基因引子，dNTP mix，緩衝溶液，染劑等	385 $\mu$ L / 1 管	
3	IC mix	COV-INAO-A03	含有人類 RNase P 基因引子，dNTP mix，緩衝溶液，染劑等	385 $\mu$ L / 1 管	
4	PC	COV-INAO-A04	陽性品管，內含新冠病毒 ORF1a 基因模板及人類 RNase P 基因模板	15 $\mu$ L / 1 管	
5	NC	COV-INAO-A05	陰性品管，內含無核酸酶水	50 $\mu$ L / 1 管	

### 酵素混合液(Enzyme mix)

Enzyme mix 內含核酸增幅所需之反轉錄酶與聚合酶，依據所需偵測的標的不同，與 O mix 或 IC mix 混合後偵測目標基因序列。

### ORF1a 預混合液(O mix)

本試劑組檢測新冠肺炎 ORF1a 基因，以 O mix 搭配 Enzyme mix 作為 **ORF1a 反應組**，用以評估該檢體是否存在新冠病毒之特徵基因序列。

### 內標準預混合液(IC mix)

本試劑組除檢測新冠肺炎 ORF1a 基因外，亦對每個檢體執行內標準品管，以 IC mix 搭配 Enzyme mix 作為 **RNase P 反應組**(內標準品管組)，用以確認檢體正確地被萃取。檢體應執行 **ORF1a 及 RNase P 反應組**，陰性檢體之 RNase P 基因應正確地被增幅，方可判讀該檢體確為陰性。

### 陽性品管(PC)

本試劑組中內含陽性品管品，其為具有新冠病毒特徵 ORF1a 基因及人類 RNase P 基因之模板，搭配 **ORF1a 反應組**(+O mix+Enzyme mix)，或搭配 **RNase P 反應組**(+IC mix+Enzyme mix)進行反應，其模板可被增幅並產生螢光訊號(FAM 通道)。

### 陰性品管(NC)

本試劑中內含陰性品管品，其為無核酸酶水(nuclease-free water)，搭配 **ORF1a 反應組**(+O mix+Enzyme mix)，或搭配 **RNase P 反應組**(+IC mix+Enzyme mix)進行反應，在反應時間 20 分鐘內不應被增幅而產生螢光訊號。

## 4 保存與操作處置要求(Storage and Handling Requirement)

- ◆ 試劑應保存於-20°C(包含未開封或已開封使用中的狀況)。
- ◆ 試劑開封後，應在 6 個月內使用完畢。
- ◆ Enzyme mix 取出時應置於保冰盒上，添加過程應儘速完成，並將 Enzyme mix 放回-20°C。
- ◆ 除 Enzyme mix 外，其餘試劑使用前應確實解凍。

- ◆ 所有試劑於實驗過程中應置於冰上。
- ◆ 所有試劑使用前應均勻混合，並以低速離心(Spin down)確保無液體殘留於管壁。

## **5 搭配使用材料與設備(本試劑組未提供)(Additional Materials and Equipment)**

本產品不包含呼吸道樣本採集，樣本 RNA 萃取，以及增幅反應所需之即時核酸定量讀取設備(ABI QuantStudio 3)等材料。說明如下：

**5.1 呼吸道樣本採集/保存/運送：**檢體收集拭子(Swab)、運送基質(Transport medium)、保存基質(Storage medium)等。

**5.2 RNA 萃取試劑組：** QIAamp Viral RNA Mini Kit(型號 52904/52906)。

**5.3 增幅反應所需設備(QPCR 機台)：** ABI QuantStudio 3 QPCR machine。

**5.4 防護性設備：**生物安全櫃(至少為 BSL-2 設施)，個人防護裝置(如防護衣、護目鏡、手套、口罩、防護區隔等)。

### **5.5 器具與耗材**

- ◆ 微量吸量管(Pipette) (nuclease-free)
- ◆ 微量吸管尖(tips)
- ◆ 微量離心機
- ◆ 微量離心管(nuclease-free)
- ◆ 試管架(rack)
- ◆ 無菌手套
- ◆ 70-75%酒精消毒液
- ◆ 擦手紙
- ◆ 保冰盒與冰塊
- ◆ 拋棄式無粉手套

## 6 警告事項與預防措施(Warnings and Precautions)

- ◆ 使用前請詳閱本說明書。
- ◆ 本試劑組僅供體外診斷(*in vitro* diagnosis)使用。
- ◆ 本試劑組所有內容物視為傳染性物質處理，建立防止試劑組內容物擴散之操作方式。
- ◆ 若操作之實驗室有多個區域，建議設置本試劑組及相關實驗專用區域。
- ◆ 應依中央主管機關建議之採檢標準，發現通報案例時，應透過適當的新型冠狀病毒之感染管制預防措施採集檢體，送往中央主管機關或指定檢驗機構進行試驗。
- ◆ 在試劑進行增幅反應後，若非必要應避免在無防護狀態下打開微量離心管，以免造成環境被陽性檢體污染而導致後續實驗無法執行陰性品管。
- ◆ 若造成環境被陽性檢體或增幅後核酸污染時，應使用如 DNAZap™ 或相似功能之 DNA 降解溶液，去除核酸污染。
- ◆ 試劑效果可能會因為長期置於室溫或光線照射下而減弱，建議使用後儘速保存於-20°C，或分裝以利多次使用，並避免 UV 及強光照射。
- ◆ 如試劑組被檢體污染時，應避免繼續使用此試劑組。
- ◆ 強烈建議使用無核酸酶(nuclease-free)且具有過濾效果之微量吸管尖(filter tips)。
- ◆ 所有檢體應視為具傳染性的檢體，需在有適當安全設備的實驗室中進行處理。任何廢棄物務必按照相關規定進行收集、消毒以及處置，並根據當地安全法規丟棄檢體和廢棄物。
- ◆ 若有任何非常規狀況發生，應立即停止實驗，並聯絡技術支援。

## 7 檢體採集、處置與保存(Sample Collection, Handling and Storage)

### 7.1 呼吸道樣本採檢送驗：

建議依疾管署公告之建議採集樣本，樣本以口咽拭子為主，樣本採集後應置於運送基質中(transport media)，並立即低溫(2-8°C)運送至檢驗單位進行核酸萃取及核酸檢測，至遲不晚於 72 小時，若預期將延遲核酸萃取時間時，應暫存於-70°C~-90°C。相關規範建議可參照疾管署於 109 年 6 月 5 日所修訂之『嚴重特殊傳染性肺炎病例定義暨採檢送驗注意事項』。

### 7.2 樣本運送：

樣本採集後應妥善包裝，並且視為高傳染性物質進行低溫(2-8°C)運送至檢驗單位進行核酸萃取及核酸檢測，至遲不晚於 72 小時，若預期將延遲核酸萃取時間時，應暫存於-70°C。若對於包裝方式以及更詳細運送方式等資訊，可參酌美國疾管署提供的 Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)。

<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html>

### 7.3 不允收的情形：

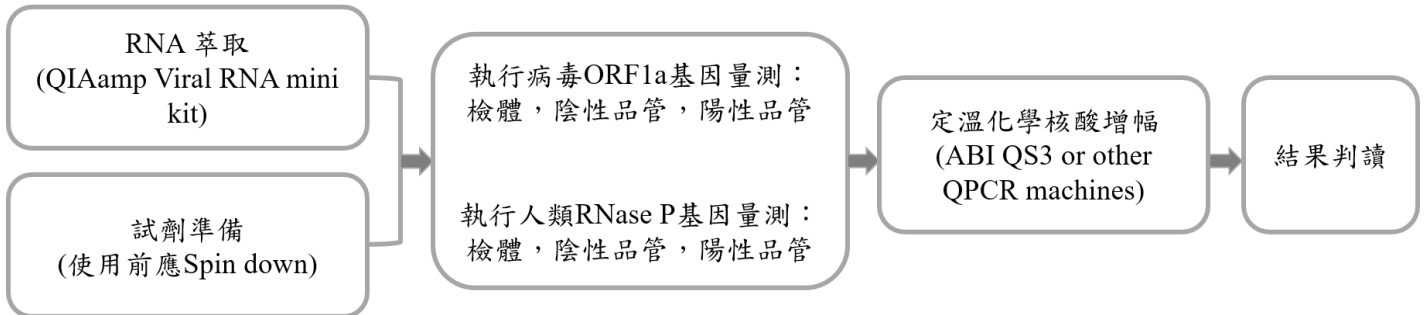
檢體可能因為下列原因不允收而必須重新採檢：

- ◆ 檢體存放於 2-8°C 超過 72 小時。
- ◆ 檢體保存液或運送基質體積不足（少於 1mL）。
- ◆ 檢體外觀標示無法辨識或損壞，或無相對應確認檢體來源之文件。



## 8 操作流程(Assay procedure)

### 8.1 操作流程摘要



麥博森™新冠病毒定溫核酸檢測試劑組工作流程

### 8.2 檢體中 RNA 萃取

本試劑組已驗證可搭配 Qiagen QIAamp Viral RNA mini kit (#52904 or 52906)使用，其萃取流程簡述如下：

1. 取 140  $\mu\text{L}$  檢體(口咽拭子檢體保存液或運送基質(transport medium)) 加入 560  $\mu\text{L}$  AVL 緩衝溶液以及 5.6  $\mu\text{L}$  carrier RNA，間歇震盪 15 秒後靜置 10 分鐘。
2. 低速離心(spin down)確保無液體於管蓋殘留，加入 560  $\mu\text{L}$  96-99% 酒精(不可添加異丙醇或其他醇類)，間歇震盪 15 秒後，再次低速離心(spin down)確保無液體於管蓋殘留。
3. 取 630  $\mu\text{L}$  上述溶液至產品隨附之微型管柱(Column)，並在下方裝載收集管(collection tube)承接廢液，以 8,000 rpm 離心 1 分鐘。
4. 移除收集管中之廢液，重複上述步驟 3，直到步驟 2 液體無剩餘。
5. 移除收集管中之廢液，加入 500  $\mu\text{L}$  AW1 溶液於微型管柱(Column)，以 8,000 rpm 離心 1 分鐘。
6. 移除收集管中之廢液，加入 500  $\mu\text{L}$  AW2 溶液於微型管柱(Column)，以 8,000 rpm 離心 1 分鐘。
7. 移除收集管中之廢液，再次離心確保 AW2 無殘留，以 14,000 rpm 離心 3 分鐘。
8. 移除收集管，放置微型管柱(Column)於新的 1.5mL 微量離心管上，加入 60  $\mu\text{L}$  AVE 溶液，蓋上管蓋靜置回溶 1 分鐘(若有濃縮需求，

體積不可小於 30  $\mu\text{L}$ ，若需盡可能回收 RNA 則可加大體積至 120  $\mu\text{L}$ 。

9. 以 8,000 rpm 離心 1 分鐘，移除微型管柱(Column)，該 RNA 溶液於  $-90^{\circ}\text{C} \sim -65^{\circ}\text{C}$  可保存約一年。

### 8.3 試劑配置準備

1. 實驗開始前，以新鮮 5-10% 漂白水擦拭工作檯面，接著以 75% 酒精或其他效果相同之方法清潔工作檯面，降低檯面上殘留之核酸污染後續實驗之風險。
2. 將 O mix、IC mix、NC、PC 等試劑取出置於冰上解凍至完全呈現液態。
3. 將上述溶液以低速離心(spin down)方式，避免管壁及管蓋液體殘留。

### 8.4 實驗規劃與進行

1. ORF1a 反應組與 RNase P 反應組配置：

進行實驗時，每個檢體及品管(陰性與陽性品管)，皆須進行 ORF1a 基因與 RNase P 基因增幅反應。因此根據所需進行之實驗總數，依照下列配方配置每個樣本和品管所需的 ORF1a 與 RNase P 反應試劑量。配置反應組的實驗過程中應盡可能在冰上進行。

ORF1a 反應組 (每個樣本需求量)	
Enzyme mix	0.3 $\mu\text{L}$
O mix	7.7 $\mu\text{L}$
總和	8 $\mu\text{L}$

RNase P 反應組 (每個樣本需求量)	
Enzyme mix	0.3 $\mu\text{L}$
IC mix	7.7 $\mu\text{L}$
總和	8 $\mu\text{L}$

因此若需檢測 30 個檢體，則需配置 32 份 ORF1a 反應組與 32 份 RNase P 反應組(30 個檢體+1 陽性品管+1 陰性品管)。

ORF1a 反應組(30 個檢體+1 個陰性品管+1 個陽性品管)		
	每管	X32
Enzyme mix	0.3 $\mu$ L	9.6 $\mu$ L
O mix	7.7 $\mu$ L	246.4 $\mu$ L
總和	8 $\mu$ L	256 $\mu$ L

RNase P 反應組(30 個檢體+1 個陰性品管+1 個陽性品管)		
	每管	X32
Enzyme mix	0.3 $\mu$ L	9.6 $\mu$ L
IC mix	7.7 $\mu$ L	246.4 $\mu$ L
總和	8 $\mu$ L	256 $\mu$ L

2. 用微量吸量管(Pipette)吸取 8  $\mu$ L 的 ORF1a 反應組或 RNase P 反應組預混液到反應盤或反應管的每個槽中(例如:ABI QuantStudio 3 適用的 8 連排管或反應盤)。
3. 吸取 2  $\mu$ L 檢體(核酸萃取之 RNA)或 2  $\mu$ L 陽/陰性品管物(PC/NC)到規劃的反應盤或反應管槽中。每批次檢測應至少包含一個陽性品管物(PC)和一個陰性品管物(NC)。  
建議在指定的區域內進行陽性品管物(PC)的添加，並在空間上或時間上與欲反應之預混液和陰性品管物(NC)分開。添加不同患者檢體 RNA 時，需更換新的具濾片微量吸管尖(filter tips)。如果可能的話，在完成所有其他樣本添加操作後，最後再進行陽性品管物(PC)的添加，以避免意外污染。
4. 用光學膠膜密封反應盤，或用適當的蓋子密封反應管。
5. 將反應盤或反應管放入即時聚合酶連鎖反應(QPCR)機台中，然後開始運行。

上述 30 個檢體於上機檢驗之規劃，可圖像化如下：

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	檢體1				陰性 品管		檢體1				陰性 品管	
B	檢體2						檢體2					
C	檢體3						檢體3					
D	檢體4			...			檢體4			...		
E	...			檢體 29			...			檢體 29		
F				檢體 30						檢體 30		
G												
H					陽性 品管						陽性 品管	

ORF1a 反應組
RNase P 反應組

### 8.5 設定定溫化學增幅反應條件

添加完各反應組試劑及萃取後之各檢體 RNA 至反應槽後，設定機台條件以進行定溫化學增幅反應，如下表一所示，而由於同時進行了 ORF1a 反應組以及內標準品管 RNase P 反應組之配置，因此可依據下列表二進行螢光設定：

表一：定溫化學增幅反應條件

操作機台	溫度	時間	循環數
ABI QuantStudio 3	63°C	60 秒	20

\*在每個循環結束時收取螢光

表二：定溫化學增幅反應螢光設置

螢光通道	檢測標的
FAM	新冠病毒 ORF1a 基因反應組
	人類 RNase P 基因反應組

## 8.6 ABI QuantStudio 3 操作方法

請參閱儀器原廠說明書，網址如下：

[http://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/MAN0010407\\_QuantStudio3\\_5\\_InstallUseMaint\\_UG.pdf](http://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/MAN0010407_QuantStudio3_5_InstallUseMaint_UG.pdf)

如有任何問題，請聯絡技術支援，見 13 技術支援。

## 9 結果分析與判讀(Result Interpretation)

### 9.1 基準線和螢光閾值(Threshold)設定

麥博森™新冠病毒定溫核酸檢測試劑組已驗證於 ABI QuantStudio 3 進行增幅。使用者可依據搭配之儀器設定基準線和螢光閾值(Threshold)，通常閾值應設定於基準線發生明顯斜率改變(核酸對數增幅階段)，詳細設定方式可參考該公司儀器之指引，網址如下：

<https://www.thermofisher.com/tw/zt/home/life-science/pcr/real-time-pcr/real-time-pcr-learning-center/real-time-pcr-basics/real-time-pcr-understanding-ct.html>

### 9.2 品管分析結果判讀

每次實驗皆應搭配陰性與陽性品管，若該次實驗品管品未達下列標準，則該次實驗無法進行檢測結果之判讀，需重新進行。相關問題及可能排解方式於 11 章所述。下述品管品合格之判定方式。

**陰性品管品：**陰性品管品在新冠病毒 ORF1a 以及內標準之 RNase P 基因反應組在  $Ct \leq 20$  之反應時間內皆不應有螢光訊號超過閾值。

**陽性品管品：**陽性品管品在新冠病毒 ORF1a 基因，其  $Ct$  應  $\leq 20$ ，而其內標準之 RNase P 基因反應組，其  $Ct$  應  $\leq 20$ 。

若陰性或陽性品管品結果不符合上述之範圍，則先檢查劑組的保存條件與情況，添加樣本與試劑是否為正確體積，反應條件設定等是否符合本說明書之指引，並視情況進行重新上機。

若在檢核上述情況未發生並重新配置試劑，仍持續出現品管品未達標準之情況，則依據 11 章建議進行問題排解，並視情況聯絡技術支援或丟棄該試劑組。

	陰性品管品		結果解釋
檢測項目	ORF1a	IC (RNase P)	
機器結果	- Ct > 20	- Ct > 20	陰性品管合格
	其他結果組合		陰性品管不合格 →該批次重新進行實驗

	陽性品管品		結果解釋
檢測項目	ORF1a	IC (RNase P)	
機器結果	+ Ct ≤ 20	+ Ct ≤ 20	陽性品管合格
	其他結果組合		陽性品管不合格 →該批次重新進行實驗

### 9.3 檢體分析結果判讀

檢體之分析結果判讀方式如下表所示，除檢視 ORF1a 基因是否被增幅外，陰性結果亦須搭配檢視內標準反應組 RNase P 是否正確的被增幅。

檢測項目	結果解釋		
	ORF1a	IC (RNase P)	結果解釋
機器結果	+ Ct ≤ 20	+ Ct ≤ 20	檢體中檢出新冠病毒(陽性)
	- Ct > 20	+ Ct ≤ 20	檢體中無檢出新冠病毒(陰性)
	+ Ct ≤ 20 或 - Ct > 20	- Ct > 20	核酸萃取過程異常→該檢體重新萃取後進行檢測

#### 內標準品管組：

內標準品管用以反應檢體是否正確地進行萃取 RNA，當檢體於 ORF1a 基因出現增幅訊號時(Ct ≤ 20)，內標準品管 RNase P 基因亦需正確增幅(Ct ≤ 20)用以排除 RNA 未被正確萃取之情況。而當檢體於 ORF1a 未出現增幅訊號時，需由 RNase P 之正確增幅(Ct ≤ 20)用以排除 RNA 未被正確萃取之情況。

若出現 RNase P 未被正確增幅之情形，該檢體應重新進行萃取後再次檢測，若持續出現問題則可參閱第 11 章或聯絡技術支援。

## 10 使用限制(Limitations)

- ◆ 本試劑組為一定性測試，不以定量方式反應原始檢體之病毒含量數值。
- ◆ 本檢測中所使用之檢體應該適當地被採集、保存及運送，不正確的檢體操作執行將導致不正確的檢驗結果。
- ◆ 本試劑組適用以常規方式從檢體萃取RNA 樣本(在此為 QIAamp Viral RNA Mini Kit )，本試劑組並未評估其他萃取方式是否適用。
- ◆ 本試劑組以 ABI QuantStudio 3 機台評估試劑效能，使用其他儀器進行試驗時，應評估儀器適用性或進行儀器間平行測試。
- ◆ 在下列情況有發生偽陰性之可能性：
  - 在病毒含量低於本試劑組偵測極限時。
  - 在病毒發生突變，病毒基因序列發生插入或刪除，或序列重組時。



## 11 問題排除(Trouble shooting)

### 11.1 安定性

本產品存放於-20°C 下可保存 12 個月，不建議使用過期的試劑，此舉將可能導致結果不準確。

### 11.2 操作者要求與可能錯誤

使用該產品必須具有良好的分子生物學診斷實驗室操作規範。未經培訓的人員不得使用該產品。用戶必須具有一定的分子生物學經驗並熟悉正確的吸取添加技術，以防止諸如飛濺，交叉污染和體積誤差等錯誤，這對用戶至關重要。微量吸量管使用的吸頭必須在每次吸取加樣過程均須更換；手套亦需時常更換。如果允許，應校準自動分注器及 QPCR 儀器。美國 CDC 提供以下連結之 90 分鐘在線培訓，以建立分子遺傳學測試的良好實驗室操作規範(CDC，2002 年)：

<https://www.cdc.gov/labtraining/trainingcourses/good-lab-practices-molecular-genetics-testing.html>

### 11.3 無效結果/不確定結果

#### 11.3.1 陽性品管品(PC)沒有正確增幅

陽性品管品沒有增幅可能為下列原因導致：

- ◆ 分注錯誤(將控制組注入錯誤的反應槽，添加不足試劑量)。
- ◆ 將盤或試管錯誤地放入即時聚合酶連鎖反應器中。
- ◆ 反應預混液或陽性品管物降解(長時間處於-20°C 以上的溫度導致試劑降解產生)。
- ◆ 使用過期試劑盒。
- ◆ 使用錯誤試劑盒。

### 11.3.2 陰性品管品(NC)出現增幅反應

陰性品管物出現新冠病毒增幅反應顯示有一種或多種試劑遭到汙染或著 96 孔盤或微量離心管在即時聚合酶連鎖反應機器中的擺放不正確，或移液誤差。在此情形下，所有樣品皆須重新進行檢測。若陰性對照組持續出現異常，應進行調查找出造成異常的可能原因。依據調查結果及風險，決定是否重新進行核酸萃取及檢測。

### 11.3.3 內標準反應組組(IC)無增幅反應發生

可能歸因於一個或數個原因，以下為可能發生的例子：

- ◆ 內標準反應組中組成物(IC mix or Enzyme mix)降解
- ◆ 聚合酶連鎖反應的抑制物如酒精及肝素(heparin)
- ◆ 核酸萃取未正確進行
- ◆ 核酸萃取套組保存不當

注意：若內部控制組結果再次異常，應將檢體重新進行核酸萃取及增幅反應。若第三次仍異常，應進行調查找出造成異常的可能原因。若原因清楚，在排除所有已知原因(譬如聚合酶連鎖反應抑制物或核酸萃取失敗)之後可重行測試。若原因不明，請聯繫技術支援。

## 12 性能評估

項目	檢體	標的	偵測極限
偵測極限	上呼吸道口咽	SARS-CoV2	*2 Copies/μL
Limit of detection, LoD	拭子	RNA	

濃度 Copies/μL	#GE /reaction	Mean Ct	Ct SD	Positive rate
10000	1E+05	6.09	0.17	20/20
1000	1E+04	7.43	0.20	20/20
100	1E+03	8.95	0.53	20/20
10	1E+02	10.79	1.4	20/20
4	4E+01	8.8	0.8	20/20
2	2E+01	10.41	2.15	20/20
1	1E+01	14.65	3.89	16/20
NTC	-	-	-	0/20

\*數據係以 SARS-CoV2 RNA 模擬檢體的量測結果。

# GE/reaction 是指每一反應中的能偵測之基因組數目，是以合成病毒 RNA (Twist BioScience 型號 MN908947.3)所做的標準曲線來決定。

### 實驗操作細節

操作者	具分子診斷程序訓練之人員
偵測時間	20 分鐘
萃取方式	QIAamp Viral RNA mini kit(#52904 或 52906)
偵測標的	新冠肺炎病毒(CoV-19 or SARS CoV-2) RNA 之 ORF1a 區域

項目

分析反應性 利用基因資料庫 BLAST，分析本產品是否可辨認新冠肺炎之核酸序列，進而進行核酸增幅反應。從結果發現，以下十個不同時間空間場域特徵之新冠病毒株，本產品皆可增幅。比對其他學研單位更新之病毒全長序列，也可辨認並增幅。

病毒株	Reference No.	<i>in silico</i> analysis for % identity					The likelihood of being detected
		Primer 1	Primer 2	Primer 3	Primer 4	Primer 5	
SARS-coronavirus Wuhan-Hu-1	MN908947.3	100%	100%	100%	100%	100%	Can be detected
SARS-coronavirus 2 isolate USA-WA1	MN985325.1	100%	100%	100%	100%	100%	Can be detected
SARS-coronavirus 2 isolate Australia/VIC01	MT007544.1	100%	100%	100%	100%	100%	Can be detected
SARS-coronavirus 2 isolate BRA/SP02	MT126808.1	100%	100%	100%	100%	100%	Can be detected
SARS-coronavirus 2 isolate PER/Peru-10	MT263074.1	100%	100%	100%	100%	100%	Can be detected
SARS-coronavirus 2 isolate HKG/90	MT215195.1	100%	100%	100%	100%	100%	Can be detected
SARS-coronavirus 2 isolate TKYE6968	LC542976.1	100%	100%	100%	100%	100%	Can be detected
SARS-coronavirus 2 isolate HKU-SZ-005b	MN975262.1	100%	100%	100%	100%	100%	Can be detected
SARS-coronavirus 2 isolate SNU01	MT039890.1	100%	100%	100%	100%	100%	Can be detected
SARS-coronavirus 2 isolate HZ-1	MT039873.1	100%	100%	100%	100%	100%	Can be detected

項目

分析特異性-交叉反應 利用基因資料庫 BLAST，分析麥博森™新冠病毒定溫核酸檢測試劑(以下稱本產品)，是否會與以下其他病毒發生交叉反應，從比對結果可發現，本試劑無增幅以下病毒之核酸序列之潛勢。

病毒株	Reference No.	<i>in silico</i> analysis for % identity					The likelihood of being detected
		Primer 1	Primer 2	Primer 3	Primer 4	Primer 5	
Human coronavirus OC43(HCoV-OC43)	AY391777.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
Human coronavirus NL63(HCoV-NL63)	NC_005831.2	/	/	/	/	/	Will not be detected
Human coronavirus 229E(HCoV-229E)	NC_002645.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
Influenza A	NC_002019.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
Influenza B	NC_002208.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
Cytomegalovirus	X17403.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
Respiratory syncytial virus type B	JN032120.1	/	/	/	30.4%	/	Will not be detected
Human Rhinovirus A	DQ473509.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
Measles	NC_001498.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
SARS-CoV	NC_004718.3	/	/	/	34.8%	57.1%	Will not be detected
MERS-CoV	KT006149.2	/	/	/	/	/	Will not be detected
HCoV-HKU1	NC_006577.2	/	/	/	/	/	Will not be detected
Adenovirus type 1	AC_000017.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
Adenovirus Type 7	AC_000018.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
Enterovirus E Type 1	MG571548.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
Epstein Barr Virus (Human herpesvirus 4)	NC_009334.1	/	/	/	/	/	Will not be detected

Human parainfluenza type1	NC_003461.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
Human parainfluenza type2	AB176531.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
Human parainfluenza type3	NC_001796.2	/	/	/	/	/	Will not be detected
Human parainfluenza type4a	KF878965.2	/	/	/	/	/	Will not be detected
Human parainfluenza type4b	EU627591.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
Human metapneumovirus Isolate 00-1	AF371337.2	/	/	/	/	/	Will not be detected
Mumps Virus	NC_002200.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
<i>Bordetella pertussis</i>	CP011448.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	NC_002491.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
<i>Corynebacterium sp</i>	NZ_CP008913	/	/	/	/	/	Will not be detected
<i>Escherichia coli</i>	AE005174.2	/	/	/	/	/	Will not be detected
<i>Hemophilus influenzae</i>	CP000672.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
<i>Lactobacillus sp</i>	CP027190.1	/	/	/	/	81.0%	Will not be detected
<i>Legionella spp</i>	CP020894.3	/	/	/	/	/	Will not be detected
<i>Moraxella catarrhalis</i>	CP018059.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
<i>Mycobacterium tuberculosis (avirulent)</i>	AL123456.3	/	/	/	/	/	Will not be detected
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	CP014267.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
<i>Neisseria meningitidis</i>	CP023814.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
<i>Neisseria sp</i>	CP022527.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CP000438.1	/	84.2%	/	/	/	Will not be detected
<i>Staphylococcus aureus (Protein A producer)</i>	AP017922.1	/	/	/	/	/	Will not be detected
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	CP019299.1	/	/	/	/	/	Will not be detected

<i>Streptococcus pyogenes</i>	AE009949.1	/	/	38.0%	/	/	Will not be detected
<i>Streptococcus salivarius</i>	CP015282.1	/	/	/	/	71.4%	Will not be detected

### 項目

臨床效能評估 (模擬檢體) 本產品利用 96 個陰性口咽拭子檢體，其中 60 個檢體混入 SARS-CoV2 RNA 作為模擬檢體 (濃度分別為 1x, 2x, 4x LoD 各 20 個)，剩下 36 個視為陰性檢體。臨床效能評估結果如下：

SARS-CoV 2 濃度	結果(檢出數/ 檢測數)	本試劑組檢測一致率
1x LoD	19/20	95%
2x LoD	20/20	100%
4x LoD	20/20	100%
陰性檢體	0/36	100%

### 項目

臨床效能評估 (實際檢體) 本產品實際檢測臨床 5 個陽性口咽拭子檢體及 5 個陰性口咽拭子檢體，依據上述方式以 QIAamp Viral RNA mini kit 萃取後進行檢測，比對方法為疾病管制署核酸檢測方法，陽性及陰性一致率為 100%。

## 13 技術支援

若需技術支援，請聯繫：

電話：+886-2-25175455

電子信箱：[contact@mobiosense.co](mailto:contact@mobiosense.co)

## 14 文獻

1. WHO. 2020. Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Available from: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf>.
2. WHO. 2020. Report of the WHO-China joint mission on coronavirus disease 2019 (COVID-19). Available from: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf>
3. Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, Ren R, Leung KSM, Lau EHY. 2020. Early Transmission dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus–Infected pneumonia. *N. Engl. J. Med* 382:1199–1207.
4. Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, Hase T. 2000. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res*, 28:e63.
5. Wölfel, R., Corman, V.M., Guggemos, W. Michael Seilmaier, S. Zange, M.A. Müller, D. Niemeyer, T.C. Jones, P. Vollmar, C. Rothe, M. Hoelscher, T. Bleicker, S. Brünink, J. Schneider, R. Ehmann, K. Zwirgmaier, C. Drosten, C. Wendtner. 2020. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature* 581:465–469.
6. Xuejiao Hu, Qianyun Deng, Junmin Li, Jierong Chen, Zixia Wang, Xiqin Zhang, Zhixin Fang, Haijian Li, Yunhu Zhao, Pan Yu, Wenmin Li, Xiaoming Wang, Shan Li, Lei Zhang, Tieying Hou. Development and Clinical Application of a Rapid and Sensitive Loop-Mediated Isothermal Amplification Test for SARS-CoV-2 Infection. *mSphere* Aug 2020, 5 (4) e00808-20