



中华人民共和国医药行业标准

YY/T XXXXX—XXXX

细菌和真菌感染多重核酸检测 试剂盒

Multiplex Nucleic Acid Assay for Detection of Infection of Microorganisms

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

国家药品监督管理局 发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 技术要求	2
5 试验方法	3
6 标识、标签和使用说明书	3
7 包装、运输、贮存	3
参考文献	3
<u>附录 A</u>	

前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本标准的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由国家药品监督管理局提出。

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）归口。

本标准起草单位：中国食品药品检定研究院，

本标准主要起草人：

细菌和真菌感染多重核酸检测试剂盒

1 范围

本标准规定了细菌和真菌感染多重核酸检测试剂盒（以下简称“试剂盒”）的术语和定义、分类、技术要求、试验方法、标识、标签和使用说明书、包装、运输和贮存等。

本标准适用于对人体样本（包括血液、脑脊液和粪便等）或其培养物进行单次检测即可同时报告三种及以上靶标（细菌和真菌及其所包含的耐药基因）检测结果的多重核酸检测试剂盒的质量控制。适用于检测原理为聚合酶链式反应（PCR）、等温扩增和高通量测序等技术的试剂盒。

本标准不适用于血源筛查的试剂盒。

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 191 包装储运图示标志

GB/T 29791.2 体外诊断医疗器械 制造商提供的信息（标示） 第2部分：专业用体外诊断试剂

YY XXXX-201X 核酸提取试剂盒（磁珠法）

3 术语和定义

以下术语与定义适用于本文件。

3.1

核酸 nucleic acid

由核苷酸或脱氧核苷酸通过3'，5'-磷酸二酯键连接而成的一类生物大分子。具有非常重要的生物功能，主要是贮存遗传信息和传递遗传信息。包括核糖核酸（RNA）和脱氧核糖核酸（DNA）两类。

3.2

聚合酶链反应 polymerase chain reaction, PCR

聚合酶链反应或多聚酶链反应是一种对特定的DNA或RNA片段在体外进行快速扩增的方法。由变性—退火—延伸三个基本反应步骤构成。

3.3

内标 Internal control, IC

内标是与样本共同进行核酸提取以及核酸扩增的非靶标核酸（人或非人源），用于考察仪器设备功能、试剂盒的完整性以及样本中是否存在抑制剂等。

3.4

阴性对照 Negative control, NC

阴性对照包含非靶标病原菌核酸，因此检测时不会获得信号，用于监测试剂盒非特异检测结果。

3.5

阳性对照 Positive control, NC

阳性对照包含靶标病原菌核酸，用于监测试剂盒完整的检测流程，包括核酸提取、扩增以及检测。阳性对照与待测样本应同时独立进行检测。

4 技术要求

4.1 外观

外观应符合但不限于以下要求：

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

4.2 核酸提取功能

不同核酸提取方法可能产生不同数量和质量的核酸，对检测结果具有重要的潜在影响。样本中病原菌的种类、浓度不同以及病原菌性质的不同等因素，均可影响核酸提取过程。

生产企业根据试剂盒组成应符合如下要求：

- a) 样本需要提取，且包含核酸提取组份的试剂盒，生产企业应对核酸提取做适当要求，并对核酸提取功能进行验证。；
- b) 样本需要提取，但不含核酸提取组份的试剂盒，生产企业应说明或指定核酸提取试剂，并提供相应验证资料，所选提取试剂为磁珠法的产品应符合YY XXXX-201X（核酸提取试剂盒（磁珠法））要求。
- c) 样本无需提取，直接进行检测的试剂盒，生产企业应能提供充分证据，以证明其产品中酶的抗干扰性。

4.3 内标和对照

生产企业应对试剂盒的检测结果建立适宜的质量控制程序，根据其产品特点合理设置内标和对照，内标和对照应与样本同等对待。

阴性对照可包括：

- a) 经检测证明未感染个体的样本，不含任何靶标病原菌；
- b) 含有非靶标病原菌的样本；
- c) 模拟样本，如包裹非靶标病原菌核酸的噬菌体颗粒等；
- d) 不含任何病原菌核酸的水或缓冲液。

阳性对照可包括如下要求：

- a) 标靶病原菌或其混合物；
- b) 模拟样本，如包裹靶标病原菌核酸的噬菌体颗粒等。

4.4 阴性参考品符合率

对国家参考品或企业参考品中的阴性参考品进行检测，检测结果应为阴性。对于存在非靶标病原菌交叉反应，企业应提供充分的验证资料证明交叉反应不影响试剂盒性能，并在产品说明书等相关技术文件中明确标注。

阴性参考品设置应符合如下要求：

- a) 应包含一定数量的非靶标病原菌，可以是独立或混合样本；
- b) 应充分考虑非靶标病原菌选择的科学性、合理性，如与靶标病原菌种属相近、感染部位相同或感染症状相似的其他病原菌。

注：本标准所涉及的国家参考品信息可参考附录A。

4.5 阳性参考品符合率

对国家参考品或企业参考品中的阳性参考品进行检测，检测结果应为阳性。靶标病原菌之间不应存在交叉反应，企业应使用独立样本进行充分验证，并在产品说明书等相关技术文件中明确标注。企业应充分验证试剂盒对于每种靶标病原菌具有临床意义以及代表时间和地域多样性的不同菌株的检测能力，并在产品说明书等相关技术文件中明确标注。

阳性参考品设置应符合如下要求：

- a) 应包含全部靶标病原菌，可以是独立或混合样本；
- b) 可以每种靶标病原菌只选择一株具有代表性的菌株。
- c) 对于难以获得标准株或临床分离株的病原菌，可以使用模拟样本，如包裹病原菌核酸的噬菌体颗粒。

4.6 检出限

对国家参考品或企业参考品中的检出限参考品进行检测，检测结果应符合相应要求。

生产企业应规定并提供试剂盒对于每个靶标病原菌的检出限。建议优先选择感染性单位，如菌落形成单位每毫升（CFU/mL）；如难以获得感染性单位，也可以选择非感染性单位，如拷贝数每毫升（copies/mL）等。检出限的建立和验证方法应科学合理，每种靶标病原菌检出限使用其培养物样本进行初步评估，然后使用特定基质（含有靶标或非靶标病原菌的混合样本）稀释后进行评估并确定最终的检出限。

4.7 精密度

对国家参考品或企业参考品中的精密度参考品进行检测，检测结果应满足：

- a) 对于报告Ct值的实时荧光定量PCR产品，对同一份样本进行重复检测，靶标病原菌Ct值的变异系数（CV，%）应不大于5.0%；或
- b) 对于不报告Ct值的产品，对同一份样本进行重复检测，检测结果应一致。

精密度参考品应包括高、低两个浓度，具体设置应参考如下要求：

- a) 可以使用包含靶标病原菌的混合样本进行验证，覆盖全部靶标病原菌；或
- b) 可以使用包含代表性（革兰氏阳性细菌、革兰氏阴性细菌、真菌、需氧菌、厌氧菌等）的靶标病原菌的独立或混合样本进行验证，覆盖有限数量靶标病原菌。
- c) 对于难以获得标准株或临床分离株的病原菌，可以使用模拟样本，如包裹病原菌核酸的噬菌体颗粒。

4.8 稳定性

可选用以下方法进行验证：

- a) 效期稳定性：企业应规定产品的有效期。取到效期后一定时间内的产品，检测阳性参考品符合率、阴性参考品符合率、检出限、精密度，结果应符合3.2~3.5项相应要求。

b) 热稳定性：在生产企业规定的热稳定性试验条件下，检测阳性参考品符合率、参考品符合率、最低检出限、重复性，结果应符合3.2~3.5项相应要求。

注1：热稳定性不能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2：一般地，效期为1年时选择不超过1个月的产品，效期为半年时选择不超过半个月的产品，以此类推。但如超过规定时间，产品符合要求时也可接受。

注3：根据产品特性可选择a)、b)方法的任意组合，但所选用方法应能验证产品的稳定性，以保证在效期内产品性能符合标准要求。

5 试验方法

5.1 外观

在自然光下以正常视力或矫正视力目视检查，结果应符合4.1的要求。

5.2 核酸提取及纯化

按照生产企业提供的方法或（核酸提取试剂盒（磁珠法））的试验方法进行试验，检测结果应符合4.2的要求。

5.3 内标和对照

按照生产企业提供的方法进行试验，检测结果应符合4.3的要求。

5.4 阴性参考品符合率

参考国家或企业参考品说明书并按照试剂盒说明书操作，对国家或企业参考品中的阴性参考品进行检测，检测结果应满足4.4的要求。

5.5 阳性参考品符合率

参考国家或企业参考品说明书并按照试剂盒说明书操作，对国家或企业参考品中的阳性参考品进行检测，检测结果应满足4.5的要求。

5.6 检出限

参考国家或企业参考品说明书并按照试剂盒说明书操作，对国家或企业参考品中的检出限参考品进行检测，检测结果应满足4.6的要求。

5.7 精密度

参考国家或企业参考品说明书并按照试剂盒说明书操作，对国家或企业参考品中的精密度参考品重复检测10次，检测结果应满足4.7的要求。

5.8 稳定性

5.8.1 效期稳定性

取到效期后一定时间内的试剂盒，结果应符合 4.8 a) 的要求。

5.8.2 热稳定性

取有效期内样品，按生产企业规定的方法进行检测，结果应符合 4.8 b) 的规定。

6 标识、标签和使用说明书

应符合GB/T 29791.2的规定。

7 包装、运输、贮存

7.1 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，无泄漏，无破损。

7.2 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。

7.3 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 1.1-2009 标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写
 - [2] GB/T 29791.1-2013 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
 - [3] GB/T 191-2008 包装储运图示标志
 - [4] YY/T 1182-2010 核酸扩增检测用试剂(盒)
-

附录 A
(资料性附录)
34 种细菌和真菌感染多重核酸检测试剂国家参考品说明书

附录 A 规定了本标准“4 技术要求”项中适用的国家参考品，该国家参考品为“34 种细菌和真菌感染多重核酸检测试剂国家参考品（参考品批号：370026-201801）”。

A.1 类别

体外诊断试剂参考品。

A.2 批号

370026-201801。

A.3 性状

液体。

A.4 用途

本品系 34 种可导致中枢神经系统、血液、呼吸道、肠道以及生殖道感染的致病性细菌或真菌（以下简称“病原菌”）的培养物，适用于对人体样本或其培养物进行单次检测即可同时报告 3 种及以上病原菌检测结果的多重核酸检测试剂的质量评价。本参考品适用的检测原理包括聚合酶链式反应、熔解曲线、等温扩增以及第二代测序技术。

A.5 规格和组成

本品由 7 支混合参考品组成。

表 A.1 参考品组成

类型	编号	规格	支数
混合参考品	M1	0.2ml/支	1
	M2	0.2ml/支	1
	M3	0.2ml/支	1
	M4	0.2ml/支	1
	M5	0.2ml/支	1
	M6	0.2ml/支	1
	M7	0.2ml/支	1

注：本品规格均不少于 0.2ml/支。混合参考品 M1~M7 详细组成见表 A.2。

表 A.2 参考品浓度

编号	细菌和真菌 及其耐药基因	细菌或真菌 英文	浓度 CFU/ml
M1	屎肠球菌 [vanA]	<i>Enterococcus faecium</i>	4.9×10^8
	肺炎链球菌	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1.0×10^7
	粘质沙雷氏菌	<i>Serratia marcescens</i>	1.0×10^9
	大肠埃希氏菌	<i>Escherichia coli</i>	7.8×10^8
	表皮葡萄球菌	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2.9×10^8
M2	鲍曼不动杆菌	<i>Acinetobacter baumannii</i>	2.7×10^8
	肺炎克雷伯菌 [KPC]	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1.8×10^8
	热带念珠菌	<i>Candida tropicalis</i>	1.8×10^6
	克柔念珠菌	<i>Candida krusei</i>	2.3×10^6
	缓症链球菌	<i>Streptococcus mitis</i>	2.1×10^8
M3	粪肠球菌 [vanB]	<i>Enterococcus faecalis</i>	1.8×10^8
	白色念珠菌	<i>Candida albicans</i>	4.0×10^6
	产酸克雷伯菌	<i>Klebsiella oxytoca</i>	3.2×10^8
	化脓链球菌	<i>Streptococcus pyogenes</i>	2.2×10^8
M4	流感嗜血杆菌	<i>Haemophilus influenzae</i>	5.0×10^8
	光滑念珠菌	<i>Candida glabrata</i>	9.6×10^6
	金黄色葡萄球菌 [mecA]	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.3×10^9
	奇异变形杆菌	<i>Proteus mirabilis</i>	1.1×10^8
	无乳链球菌	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1.6×10^8
M5	单核细胞增多性李斯特菌	<i>Listeria monocytogenes</i>	1.6×10^9
	阴沟肠杆菌	<i>Enterobacter cloacae</i>	4.8×10^9
	铜绿假单胞菌	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5.4×10^8

	近平滑念珠菌	<i>Candida parapsilosis</i>	1.7×10^7
	脑膜炎奈瑟菌	<i>Neisseria meningitidis</i>	5.5×10^8
M6	滕黄微球菌	<i>Micrococcus luteus</i>	8.0×10^7
	马红球菌	<i>Rhodococcus equi</i>	7.2×10^8
	格氏李斯特菌	<i>Listeria grayi</i>	2.0×10^9
	琼氏不动杆菌	<i>Acinetobacter junii</i>	1.1×10^9
	副流感嗜血杆菌	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1.5×10^9
M7	干燥奈瑟氏菌	<i>Neisseria sicca</i>	6.9×10^8
	荧光假单胞菌	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	6.9×10^8
	嗜水气单胞菌	<i>Aeromonas hydrophila</i>	7.6×10^8
	葡萄牙念珠菌	<i>Candida lusitanae</i>	2.1×10^7
	嗜肺军团菌	<i>Legionella pneumophila</i>	5.4×10^8

注：vanA/B, 万古霉素耐药基因；KPC, 碳青霉烯耐药基因；mecA, 甲氧西林耐药基因。

A. 6 使用方法和要求

A. 6.1 操作步骤

参考品稀释：所有混合参考品复融至室温后，用无核酸酶无菌水或产品说明书规定的其他稀释基质按适当比例进行稀释后使用，稀释比例参考下文“2. 检测标准”；

核酸提取：所有参考品均需进行核酸提取，使用产品说明书推荐的核酸提取试剂盒操作，用来评价重复性的参考品应平行提取 10 次，其余参考品提取 1 次；

检测及判定：依据本企业产品说明书进行检测和判定。

A. 6.2 检测标准

a) 阳性参考品符合率

检测经稀释（终浓度应不低于 1.0×10^5 CFU/ml）的混合参考品 M1~M7，在产品检测范围内的病原菌均应检出，且与已知型别相符，不在产品检测范围内的病原菌均不应检出。

b) 阴性参考品符合率

检测经稀释（终浓度应不低于 1.0×10^5 CFU/ml）的混合参考品 M1~M7，不在产品检测范围内的病原菌均不应检出。

c) 重复性

检测稀释至最低浓度（不高于产品宣传的最低检出限的 5 倍）的混合参考品 M1~M7，分别重复检测 10 次，在产品检测范围内的病原菌均应检出，且与已知型别相符；不在产品检测范围内的病原菌均不应检出。

d) 最低检出限

检测经 10 倍系列稀释的混合参考品 M1~M7，终浓度为产品宣称的最低检出限浓度及以上时，在产品检测范围内的病原菌均应检出，且与已知型别相符；不在产品检测范围内的病原菌均不应检出。

A.7 包装

离心管。

A.8 贮藏

长期保存应置于-20℃以下。

A.9 注意事项

A.9.1 本参考品复融后建议尽快使用并避免 3 次以上反复冻溶。

A.9.2 本参考品覆盖的病原菌数量有限，企业应使用其他适用的国家参考品和/或自行提供企业参考品对本参考品未覆盖的病原菌进行质量评价。

A.9.3 使用本参考品进行质量评价时，原则上不应发生非特异反应；如发生非特异反应，在企业能够证明该非特异反应不影响产品主要性能，且在产品说明书显著位置予以说明的前提下，可以接受。

A.9.4 本参考品使用过程中应按照传染性物质进行处理。

A.9.5 本参考品效期根据长期稳定性结果确定。

A.10 有效期

国家药品标准物质不设具体有效期，按照规定条件保存的标准物质，在中国食品药品检定研究院发布停用通知前有效。

A.11 技术咨询电话

010-67095776，邮箱 NIFDC_IVD2@163.com。

A.12 声明

A.12.1 请按本品说明书规定使用，若作他用，用户须自行证明适用性；

A.12.2 因用户使用或储存不当所引起的损害或投诉，用户自行承担相关责任；

A.12.3 用户收到本品后应立即核对品种、数量、包装等，若出现质量、数量等不符，相关赔偿只限于标准物质本身，不涉及其他任何损失。