ICS 11.040.30
C 30

1655

YY

中华人民共和国医药行业标准

YY/T 1725—2020

细菌和真菌感染多重核酸检测试剂盒

Multiplex nucleic acid detection kit for infection of microorganisms

2020-06-30 发布　　2021-12-01 实施

国家药品监督管理局　　发布

315
网址www.cnfw315.com
电话4006982315
剖开层 查真伪

中华人民共和国医药
行业标准
细菌和真菌感染多重核酸检测试剂盒
YY/T 1725—2020
*
中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)
网址 www.spc.net.cn
总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238
读者服务部:(010)68523946
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销
*
开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 18 千字
2020年7月第一版 2020年7月第一次印刷
*
书号:155066·2-35000 定价 18.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107

前　言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

请注意本文件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/TC 136)归口。

本标准起草单位:中国食品药品检定研究院、博奥生物集团有限公司、北京市医疗器械检验所、天津华大医学检验所有限公司、湖南圣湘生物科技有限公司、梅里埃诊断产品(上海)有限公司、赛沛(上海)商贸有限公司、广州万孚生物技术股份有限公司、上海复星长征医学科学有限公司、路明克斯贸易(上海)有限公司。

本标准主要起草人:刘东来、张春涛、周海卫、石大伟、沈舒、田亚宾、张岩、代蕾颖、宫艳萍、邓中平、马灵丽、李朝睿、才蕾、夏懿、苏红波。

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、要求、试验方法、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可报告3种及以上细菌和真菌(以下简称“病原菌”,不包括支原体和衣原体)的试剂盒的质量控制。适用于检测原理为聚合酶链反应等温扩增以及第二代测序等技术的试剂盒。

本标准不适用于单次检测可报告1种或2种病原菌的试剂盒。不适用于单次检测可报告1种或2种病原菌的不同基因的试剂盒。不适用于单次检测可报告1种或2种病原菌的不同型别(基因型或血清型)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

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

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。

注: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。

4 要求

4.1 外观

外观应符合但不限于以下要求:

a) 试剂盒各组分应齐全、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

核酸提取功能应符合如下要求:

a) 包含核酸提取组分的试剂盒,制造商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，但不含有核酸提取组分的试剂盒，由制造商说明或指定提取试剂盒，并提供验证资料；

c) 样本无需提取，直接进行扩增的试剂盒，制造商应能提供充分证据，以证明其产品中酶的抗干扰性。

4.3 内标和(或)对照

制造商宜根据其产品工艺特点，在反应体系中合理设置内标和(或)对照，内标和(或)对照宜与样本同等对待。

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。

阴性参考品设置宜参考如下要求：

a) 包含一定数量的非目标病原菌，可以是独立或混合样本；

b) 包含与目标病原菌种属相近、感染部位相同或感染症状相似的非目标病原菌。

注：本标准所涉及的国家参考品信息可参见附录 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，检测结果应为阳性且与已知病原体种类相符。

阳性参考品设置宜参考如下要求：

a) 包含全部目标病原菌，可以是独立或混合样本；

b) 可以每种目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。

注：本标准所涉及的国家参考品信息可参见附录 A。

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。

制造商应规定并提供试剂盒对于每种目标病原菌的检出限。宜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，可以选择非感染性单位，如拷贝数每毫升(copies/mL)等。

注：本标准所涉及的国家参考品信息可参见附录 A。

4.7 重复性

对国家参考品或企业参考品中的重复性参考品进行检测，检测结果应满足：

a) 对于报告 Ct 值的试剂盒，对同一份样本进行重复检测，检测结果应均为阳性且与已知病原体种类相符，目标病原菌 Ct 值的变异系数(CV)应不大于 5.0%；或

b) 对于不报告 Ct 值的试剂盒，对同一份样本进行重复检测，检测结果应均为阳性且与已知病原体种类相符。

重复性参考品应包括高、低两个浓度，具体设置宜参考如下要求：

a) 可以使用包含目标病原菌的混合样本进行验证，覆盖全部目标病原菌；或

b) 可以使用包含代表性的目标病原菌的独立或混合样本进行验证，覆盖有限数量目标病原菌；

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。

注：本标准所涉及的国家参考品信息可参见附录 A。

4.8 稳定性

可对效期稳定性和热稳定性进行验证：

a) 效期稳定性：制造商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、重复性，应符合 4.4～4.7 的要求。效期稳定性试验，一般情况下，效期为 1 年时选择不超过 1 个月的产品进行试验，效期为半年时选择不超过半个月的产品进行试验，以此类推。但如超过规定时间，产品符合要求时也可以接受；

b) 热稳定性：取有效期内的试剂盒在制造商规定的温度放置规定时间，检测阳性参考品符合率、阴性参考品符合率、检出限、重复性，应符合 4.4～4.7 的要求。

注 1：热稳定性试验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：根据产品特性可选择 a)、b)方法的组合，但所选用方法宜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。

5.2 核酸提取及纯化

按照制造商提供的方法进行试验。

5.3 内标和对照

按照制造商提供的方法进行试验。

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。

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。

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。

5.7 重复性

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重复性参考品重复检测 10 次。

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，按照 5.4～5.7 方法进行检测。

5.8.2 热稳定性

取有效期内的试剂盒在制造商规定的温度放置规定时间，按照 5.4～5.7 方法进行检测。

6 标签和使用说明书

应符合 GB/T 29791.2 的规定。

7 包装、运输和贮存

7.1 包装

包装贮运图示标志应符合 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

试剂盒应按制造商的要求运输。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

试剂盒应在制造商规定条件下保存。

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

A.1 总则

附录A给出了第4章适用的国家参考品信息，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.2 类别

体外诊断试剂参考品。

A.3 批号

370026-201801。

A.4 性状

液体。

A.5 用途

本参考品为首批研制，参考品原料系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”，不包括支原体和衣原体）的培养物。本参考品适用于对人体样本或其培养物进行单次检测可报告3种及以上病原菌检测结果的多重核酸检测试剂盒（聚合酶链反应法、恒温扩增法以及第二代测序法）部分性能要求的质量控制和评价：阳性参考品符合率、阴性参考品符合率、重复性及最低检出限。

本参考品不适用于单次检测可报告1种或2种病原菌的试剂盒。不适用于单次检测可报告1种或2种病原菌的不同靶基因的试剂盒。不适用于单次检测可报告1种或2种病原菌的不同型别（基因型或血清型）的试剂盒。

A.6 规格和组成

本品由7支混合参考品组成。参考品规格见表A.1，混合参考品详细组成见表A.2。

表 A.1　参考品规格

类型	编号	规格	支数
混合参考品	M1	0.2 mL/支	1
	M2	0.2 mL/支	1
	M3	0.2 mL/支	1
	M4	0.2 mL/支	1
	M5	0.2 mL/支	1
	M6	0.2 mL/支	1
	M7	0.2 mL/支	1
注：本品规格均不少于 0.2 mL/支。			

表 A.2　混合参考品 M1～M7 详细组成

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]	Enterococcus faecium	4.9×10^{8}
	肺炎链球菌	Streptococcus pneumoniae	1.0×10^{7}
	粘质沙雷氏菌	Serratia marcescens	1.0×10^{9}
	大肠埃希氏菌	Escherichia coli	7.8×10^{8}
	表皮葡萄球菌	Staphylococcus epidermidis	2.9×10^{8}
M2	鲍曼不动杆菌	Acinetobacter baumannii	2.7×10^{8}
	肺炎克雷伯菌[KPC]	Klebsiella pneumoniae	1.8×10^{8}
	热带念珠菌	Candida tropicalis	1.8×10^{6}
	克柔念珠菌	Candida krusei	2.3×10^{6}
	缓症链球菌	Streptococcus mitis	2.1×10^{8}
M3	粪肠球菌[vanB]	Enterococcus faecalis	1.8×10^{8}
	白色念珠菌	Candida albicans	4.0×10^{6}
	产酸克雷伯菌	Klebsiella oxytoca	3.2×10^{8}
	化脓链球菌	Streptococcus pyogenes	2.2×10^{8}
M4	流感嗜血杆菌	Haemophilus influenzae	5.0×10^{8}
	光滑念珠菌	Candida glabrata	9.6×10^{6}
	金黄色葡萄球菌[mecA]	Staphylococcus aureus	2.3×10^{9}
	奇异变形杆菌	Proteus mirabilis	1.1×10^{8}
	无乳链球菌	Streptococcus agalactiae	1.6×10^{8}

表 A.2（续）

编号	细菌和真菌 及其耐药基因	细菌或真菌 英文	浓度 CFU/mL
M5	单核细胞增多性李斯特菌	Listeria monocytogenes	1.6×10^9
	阴沟肠杆菌	Enterobacter cloacae	4.8×10^9
	铜绿假单胞菌	Pseudomonas aeruginosa	5.4×10^8
	近平滑念珠菌	Candida parapsilosis	1.7×10^7
	脑膜炎奈瑟菌	Neisseria meningitidis	5.5×10^8
M6	滕黄微球菌	Micrococcus luteus	8.0×10^7
	马红球菌	Rhodococcusequi	7.2×10^8
	格氏李斯特菌	Listeria grayi	2.0×10^9
	琼氏不动杆菌	Acinetobacter junii	1.1×10^9
	副流感嗜血杆菌	Haemophilusparainfluenzae	1.5×10^9
M7	干燥奈瑟氏菌	Neisseria sicca	6.9×10^8
	荧光假单胞菌	Pseudomonas fluorescens	6.9×10^8
	嗜水气单胞菌	Aeromonoashydrophila	7.6×10^8
	葡萄牙念珠菌	Candida lusitaniae	2.1×10^7
	嗜肺军团菌	Legionella pneumophila	5.4×10^8

注 1：本参考品中的大肠埃希氏菌属于 0157:H7 血清型。

注 2：vanA/B—万古霉素耐药基因；KPC—碳青酶烯耐药基因；mecA—甲氧西林耐药基因。

A.7 使用方法

参考品稀释：所有混合参考品复融至室温后，用无核酸酶无菌去离子水或试剂盒说明书中规定的稀释基质按适当比例进行稀释后使用。阴、阳性参考品稀释后终浓度应不低于 1.0×10^5 CFU/mL；重复性参考品稀释后终浓度应不高于试剂盒宣称的最低检出限的 5 倍；检出限参考品应按 10 倍系列梯度稀释至试剂盒宣称的最低检出限以下。

核酸提取：所有参考品均需进行核酸提取，使用试剂盒说明书中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：依据本企业试剂盒说明书进行检测和判定。

参 考 文 献

[1] 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

[2] YY/T 1182—2010 核酸扩增检测用试剂(盒)

YY/T 1725-2020

版权专有 侵权必究

*

书号:155066·2-35000

定价: 18.00 元