

受理号：CSZ2400196

# 体外诊断试剂产品注册技术审评报告

产品中文名称：肺炎链球菌/流感嗜血杆菌/卡他莫拉菌核酸  
检测试剂盒（荧光 PCR 法）

产品管理类别：第三类

申请人名称：北京卓诚惠生生物科技股份有限公司

国家药品监督管理局

医疗器械技术审评中心

## 目 录

基本信息.....	3
一、申请人名称.....	3
二、申请人住所.....	3
三、生产地址.....	3
技术审评概述.....	4
一、产品概述.....	4
二、临床前研究概述.....	6
三、临床评价概述.....	11
四、产品受益风险判定.....	13
综合评价意见.....	15

## 基本信息

### 一、申请人名称

北京卓诚惠生生物科技股份有限公司

### 二、申请人住所

北京市昌平区生命科学园科学园路 37 号院 1 号楼 C 座 101

室

### 三、生产地址

北京市昌平区沙河镇昌平路 97 号 5 幢 C 门 101, 6 幢 504,  
7 幢 304

## 技术审评概述

### 一、产品概述

#### (一) 产品主要组成成分

试剂盒的主要组成成分见下表

序号	组分名称	主要成分	规格及数量	
			24 人份	48 人份
1	肺链嗜血卡他-扩增反应液	Tris-HCl, KCl, Mg <sup>2+</sup> , dN(U)TP, 耐热 DNA 聚合酶, UDG 酶	840μL×1 管	840μL×2 管
2	肺链嗜血卡他-引物探针混合液	肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、卡他莫拉菌及内标的引物探针	120μL×1 管	120μL×2 管
NC	肺链嗜血卡他-阴性对照	内标基因片段	400μL×1 管	400μL×1 管
PC-h	肺链嗜血卡他-强阳性对照	含肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、卡他莫拉菌和内标基因片段的灭活工程菌	400μL×1 管	400μL×1 管
PC-l	肺链嗜血卡他-弱阳性对照	含肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、卡他莫拉菌和内标基因片段的灭活工程菌	400μL×1 管	400μL×1 管

#### (二) 产品预期用途

本试剂盒用于体外定性检测人痰液样本中的肺炎链球菌、流感嗜血杆菌和卡他莫拉菌的核酸 DNA。

本试剂盒用于下呼吸道感染人群的肺炎链球菌、流感嗜血杆菌和卡他莫拉菌感染的辅助诊断，不能单独作为确诊或排除病例的依据。

肺炎链球菌（*Streptococcus pneumoniae*, SP）、流感嗜血杆菌（*Haemophilus influenzae*, HI）和卡他莫拉菌（*Moraxella catarrhalis*, MC）是常见的条件致病菌，准确及时的检测对于患者诊疗具有非常重要的临床意义。

实验操作人员应接受过基因扩增或分子生物学方法检测的专业培训，具备相关的实验操作资格，实验室应具备合理的生物安全防备设施及防护程序。

### （三）产品包装规格

24 人份/盒、48 人份/盒。

### （四）产品检验原理

试剂盒分别选取肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、卡他莫拉菌基因组中相对保守的区域设计特异性引物和探针，采用实时荧光定量 PCR 技术对样本 DNA 进行检测。PCR 扩增过程中，探针与模板结合，其 5'端报告基团被 Taq 酶 5'→3'外切核酸酶活性切断，使报告基团远离淬灭基团，产生荧光信号。荧光定量 PCR 仪器根据检测到的荧光信号自动绘制出实时扩增曲线，并计算出样本 Ct 值（每个反应管内的荧光信号到达设定的阈值时所经历的循环数）。引物探针混合液中分别使用 FAM、VIC、CY5 荧光基团标记肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、卡他莫拉菌探针，在同一体系中可同时进行以上三种细菌核酸的定性检测。

## 二、临床前研究概述

### (一) 主要原材料

主要原材料包括：引物、探针、dN(U)TP、DNA 聚合酶、UDG 酶、灭活工程菌。这些原材料均为外购方式获得。引物、探针为申请人自行设计后由专业合成公司合成。选择有资质的供应商提供的原料，通过功能性试验，筛选出最佳原材料和供应商，制定了各主要原材料的质量标准并经检验合格。

企业参考品包括阳性参考品、阴性参考品、最低检出限参考品和精密度参考品。参考品组成如下：

阳性参考品：20 份，由试剂盒检测病原菌不同型别的病原体培养物组成。

阴性参考品：9 份，由试剂盒检测范围外的病原体培养物组成。

精密度参考品：3 份，包含中强阳性、弱阳性浓度水平的病原体培养物。

检测限参考品：10 份，由试剂盒检测病原菌不同型别的病原体培养物组成。

试剂盒包含强阳性对照品、弱阳性对照品和阴性对照品各 1 支，用于检测过程的质量控制。

### (二) 生产工艺及反应体系研究

通过对试剂主要生产工艺的研究，确定了最佳生产工艺。申请人对样本中可能存在的抑制因素进行了测试，并对样本核酸提取方法进行了研究；同时对引物、探针、Taq 酶、UDG 酶、dN(UTP)、Mg 离子等原材料的浓度和体积进行了优化；对反应条件进行优化，包括样本采集处理、UDG 酶消化时间、变性时间、退火和延伸温度、循环数的选择等，并通过验证最终确定了最佳反应体系。

### (三) 分析性能评估

分析性能评估内容主要包括：核酸分离纯化性能、准确度、精密度、最低检出限、分析特异性、包容性研究等。申请人提交了有效运行的质量管理体系下生产的三批产品，在适用机型上的性能评估资料。

在核酸分离纯化性能研究中，评估了产品配套使用的核酸提取试剂的提取性能，采用不同的核酸提取试剂及痰液消化液，使用不同浓度、型别的临床阳性样本进行提取效率、核酸纯度等研究，结果表明配套使用的痰液消化液和核酸提取试剂盒可满足产品使用需求。

在准确度研究中，申请人采用三批成品试剂盒，检测企业参考品，结果符合要求。同时采用对比方法验证临床阳性样本和阴性样本，结果表明阳性符合率和阴性符合率均为 100%。

在精密度研究中，申请人采用三批成品试剂盒，对精密度参考品以及不同浓度的阳性临床样本及阴性样本，进行 20 天的重复性检测，评估了重复性（日内/批内精密度）、批间差（日内/批间精密度）、中间精密度（批内/日间精密度、批间/日间精密度、室间/不同操作者精密度）和再现性（不同时间/不同操作人员/不同实验室/不同试剂批次）的精密度。结果显示：Ct 值变异系数（CV，%）均在可接受范围内，试剂盒精密度良好。

在最低检出限研究中，申请人采用三批成品试剂盒，检测系列浓度梯度样本，将达到 95% 阳性检出率的最低浓度水平作为确定的最低检出限，并进行最低检出限验证。最终确定试剂盒的肺炎链球菌最低检出限为 100 CFU/mL，流感嗜血杆菌最低检出限为 1250 CFU/mL，卡他莫拉菌最低检出限为 1000 CFU/mL。

在包容性研究中，申请人对收集的不同来源的各检测病原菌的不同型别的阳性样本进行研究，肺炎链球菌包括 1、2、3、4、5、6A、6B、6C、7N、8、9N、9V、10A、11A、14、15A、15B/15C、17F、18C、19A、19F、20、22F、23A、23F、33F、35F 型，流感嗜血杆菌包括有荚膜型 a、有荚膜型 b、有荚膜型 c、有荚膜型 d、有荚膜型 e、有荚膜型 f、无荚膜型，卡他莫拉

菌包括 BRO-1 型、BRO-2 型。结果表明试剂盒对不同型别的病原体均能正确检出，试剂盒包容性良好。

在特异性研究中，申请人采用三批成品试剂盒，选取与检测目标核酸序列具有同源性病原体、近源菌、易引起相同或相似的临床症状、采样部位正常寄生或易并发的其他病原体作为交叉反应研究对象。结果表明：针对可能与检测样本产生交叉的其他病原菌（浓度水平为  $10^6\text{CFU/mL}$ ~ $10^7\text{CFU/mL}$  的铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、肺炎克雷伯菌、大肠埃希氏菌、阴沟肠杆菌、洋葱伯克霍尔德菌、粪肠球菌、屎肠球菌、金黄色葡萄球菌、百日咳杆菌、结核分枝杆菌、嗜肺军团菌、表皮葡萄球菌、诺卡菌、柠檬酸杆菌、唾液链球菌、化脓性链球菌、副流感嗜血杆菌、脑膜炎奈瑟氏菌、粘质沙雷菌、肺炎支原体、肺炎衣原体、白色念珠菌、黄曲霉菌、新型隐球菌、热带念珠菌、光滑念珠菌、缓症链球菌、嗜链球菌、副溶血嗜血杆菌、杜克嗜血杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌、产气克雷伯菌、口腔链球菌、溶血嗜血杆菌；浓度水平为  $10^6\text{PFU/mL}$  的甲型流感病毒、乙型流感病毒、副流感病毒、EB 病毒、肠道病毒、水痘带状疱疹病毒、呼吸道合胞病毒、人博卡病毒、人偏肺病毒、人鼻病毒、腺病毒；浓度水平为  $10^7\text{copies/mL}$  的耶氏肺孢子菌、新型冠状病毒），无交叉反应。

试剂盒目标内交叉反应病原微生物的检测，检测结果表明除了目标病原体对应的通道检测结果为阳性外，其余非目标病原体通道均为阴性，表明试剂盒内的三种病原体之间无交叉，试剂盒特异性良好。

在干扰性研究中，申请人采用三批成品试剂盒，进行了内源/外源干扰物质研究，对样本中可能含有的干扰物质分别进行评价，检测结果表明：对 2.0 mg/mL 粘蛋白、5% 血液、100 ng/ $\mu$ L 人基因组 DNA、15% 唾液进行检测，检测结果未产生显著影响；针对  $10^6$  CFU/mL 浓度水平的口腔细菌：唾液链球菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌、乳酸杆菌进行验证，针对治疗呼吸道感染的抗菌药物：阿奇霉素、头孢地尼、庆大霉素、亚胺培南、环丙沙星、左氧氟沙星、阿莫西林、利巴韦林、奥司他韦、多西环素、羟甲唑啉、氯化钠（0.45%）、万古霉素、利奈唑胺、氟康唑、肾上腺素、倍氯米松、地塞米松、氟尼缩松、曲安西龙、布地奈德、莫美他松、氟替卡松、莫匹罗星、盐酸组胺、妥布霉素进行验证，均未对检测结果产生显著影响。

同时通过竞争性干扰研究，检测结果表明：高浓度病原对低浓度的病原检测无影响，混合感染样本之间不会相互干扰检测结果。

#### **（四）阳性判断值或参考区间研究**

对收集的不同地域、不同来源的 417 例临床样本进行检测，包括各病原菌的不同型别、不同浓度的临床样本，获得原始的 Ct 值用于制定各指标的阳性判断值。对于含有阳性和阴性数据的指标，采用 ROC 曲线法制定各指标的阳性判断值。并进行了阳性判断值的验证，根据验证结果最终确定了试剂盒的阳性判断值：试剂盒肺炎链球菌的阳性判断值为 Ct=36，流感嗜血杆菌的阳性判断值为 Ct=36，卡他莫拉菌的阳性判断值为 Ct=36。

### **(五) 稳定性研究**

对实时稳定性、开瓶稳定性、冻融稳定性、运输稳定性以及样本稳定性进行了研究，确定了在各种条件下本产品及其样本的有效保存时间。

实时稳定性：试剂盒储存于  $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 。使用三批试剂分别于不同时间点，对其外观、阴阳性符合率、最低检出限和精密度进行考察。结果表明试剂盒在  $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  条件下，试剂盒有效期为 12 个月。

申请人对产品的开瓶稳定性、冻融稳定性、运输稳定性以及样本稳定性分别进行了研究。结果显示，产品的性能均能满足产品说明书的声称。

## **三、临床评价概述**

申请人在蚌埠医学院第一附属医院、长治市人民医院、上

海市肺科医院共 3 家机构完成了临床试验。入组病例为下呼吸道感染人群（包括肺炎、慢性支气管炎、慢性阻塞性肺病等），样本类型为痰液。针对肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、卡他莫拉菌采用试验体外诊断试剂与临床参考方法一代测序法进行比较确认本产品的临床性能；针对肺炎链球菌、流感嗜血杆菌还采用试验体外诊断试剂与已上市同类产品进行比较确认产品临床性能。

针对与一代测序进行对比的研究，临床试验共计入组病例 729 例，其中肺炎链球菌阳性病例 190 例，流感嗜血杆菌阳性病例 192 例，卡他莫拉菌阳性病例 173 例。肺炎链球菌阳性符合率为 100%（95%CI: 98.08%，100%），阴性符合率为 99.81%（95%CI: 98.97，100%）；流感嗜血杆菌阳性符合率为 100%（95%CI: 98.10%，100%），阴性符合率为 99.81%（95%CI: 98.97%，100%）；卡他莫拉菌阳性符合率为 100%（95%CI: 97.83%，100%），阴性符合率为 100%（95%CI: 99.31%，100%）。临床试验显示试验体外诊断试剂与参考方法检测结果一致性较好。

针对与已上市同类产品进行的比对研究，临床试验共计入组病例 349 例，其中肺炎链球菌阳性病例 109 例，流感嗜血杆菌阳性病例 112 例。肺炎链球菌阳性符合率为 100%（95%CI:

96.67%，100%），阴性符合率为 99.17%（95%CI: 97.02%，99.90%）；流感嗜血杆菌阳性符合率为 100%（95%CI: 96.76%，100%），阴性符合率为 99.16%（95%CI: 96.99%，99.90%）。临床试验显示试验体外诊断试剂与已上市同类产品检测结果一致性较好。

同时针对卡他莫拉菌的检测，申请人开展了试验体外诊断试剂与卡他莫拉菌临床诊断标准的比较研究，共入组 297 例，临床诊断为阳性的病例 75 例，临床诊断为阴性的病例 222 例。灵敏度为 100%（95%CI: 95.20%，100%），特异度为 90.54%（95%CI: 85.90%，94.05%）。

综上所述，该产品临床试验设计符合《体外诊断试剂临床试验技术指导原则》的相关要求。

#### **四、产品受益风险判定**

申请人对已知危险（源）进行风险评价，按照风险可接受准则判断每个危险（源）的风险是否达到可接受水平，对合理可行降低的风险、不经过风险/收益分析既判定为不可接受的风险采取控制措施，并对具体措施进行实施验证，同时重新对采取措施后的风险进行估计，确认其风险水平是否可接受。

但为保证用械安全，基于对主要剩余风险的规避，需要在说明书中提示以下信息：

1. 开始检测前请仔细阅读本说明书，本品仅用于体外诊断，请在有效期内使用。

2. 试剂保存运输及使用过程中多种因素可能导致性能变化，如保存运输不当、样本采集、样本处理及检测过程操作不规范等，请严格按照说明书操作。

## 综合评价意见

依据《医疗器械监督管理条例》（国务院令第 739 号）、《体外诊断试剂注册与备案管理办法》（国家市场监督管理总局令第 48 号）等相关医疗器械法规与配套规章，经对申请人提交的注册申报资料进行系统评价，申报产品符合安全性、有效性的要求，符合现有认知水平，建议准予注册。

2025 年 4 月 15 日

附件：产品说明书

## 肺炎链球菌/流感嗜血杆菌/卡他莫拉菌核酸检测试剂盒（荧光 PCR 法）说明书

### 【产品名称】

通用名称：肺炎链球菌/流感嗜血杆菌/卡他莫拉菌核酸检测试剂盒（荧光 PCR 法）

【包装规格】24 人份/盒、48 人份/盒。

### 【预期用途】

本试剂盒用于体外定性检测人痰液样本中的肺炎链球菌、流感嗜血杆菌和卡他莫拉菌的核酸 DNA。

本试剂盒用于下呼吸道感染人群的肺炎链球菌、流感嗜血杆菌和卡他莫拉菌感染的辅助诊断，不能单独作为确诊或排除病例的依据。

肺炎链球菌 (*Streptococcus pneumoniae*, SP)、流感嗜血杆菌 (*Haemophilus influenzae*, HI) 和卡他莫拉菌 (*Moraxella catarrhalis*, MC) 是常见的条件致病菌，准确及时的检测对于患者诊疗具有重要的临床意义。

实验操作人员应接受过基因扩增或分子生物学方法检测的专业培训，具备相关的实验操作资格，实验室应具备合理的生物安全防护设施及防护程序。

### 【检验原理】

本试剂盒分别选取肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、卡他莫拉菌基因组中相对保守的区域设计特异性引物和探针，采用实时荧光定量 PCR 技术对样本 DNA 进行检测。PCR 扩增过程中，探针与模板结合，其 5' 端报告基团被 Taq 酶 5'→3' 外切核酸酶活性切断，使报告基团远离淬灭基团，产生荧光信号。荧光定量 PCR 仪器根据检测到的荧光信号自动绘制出实时扩增曲线，并计算出样本 Ct 值（每个反应管内的荧光信号到达设定的阈值时所经历的循环数）。引物探针混合液中分别使用 FAM、VIC、CY5 荧光基团标记肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、卡他莫拉菌探针，在同一体系中可同时进行以上三种细菌核酸的定性检测。

本试剂盒反应体系含有 dUTP-UDG 防污染措施，可以有效地防止实验室内扩增产物的污染；另外，本试剂盒采用内源性内标质控体系，通过内标可对待测样本的采集、运输和提取过程进行监控，也可对管内抑制导致的假阴性结果进行质量控制。内标荧光标记为 ROX。

### 【主要组成成分】

序号	组分名称	主要成分	规格及数量	
			24 人份	48 人份
1	肺链嗜血卡他-扩增反应液	Tris-HCl, KCl, Mg <sup>2+</sup> , dN(UTP), 耐热 DNA 聚合酶, UDG 酶	840μL ×1 管	840μL ×2 管
2	肺链嗜血卡他-引物探针混合液	肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、卡他莫拉菌及内标的引物探针	120μL ×1 管	120μL ×2 管
NC	肺链嗜血卡他-阴性对照	内标基因片段	400μL ×1 管	400μL ×1 管
PC-h	肺链嗜血卡他-强阳性对照	含肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、卡他莫拉菌和内标基因片段的灭活工程菌	400μL ×1 管	400μL ×1 管
PC-l	肺链嗜血卡他-弱阳性对照	含肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、卡他莫拉菌和内标基因片段的灭活工程菌	400μL ×1 管	400μL ×1 管

备注：不同批号试剂盒中各组分不能互换。

需要但未提供试剂：

序号	名称	生产企业	备案编号
1	核酸提取试剂	北京卓诚惠生生物科技 股份有限公司	京昌械备 20200008
2	核酸提取试剂	北京卓诚惠生生物科技 股份有限公司	京昌械备 20200083

### 【储存条件及有效期】

-20±5℃ 保存，有效期 12 个月。

开盖后置于 2~8℃ 保存，有效期为 15 天。避免反复冻融（冻融次数不得超过 7 次）。

采用干冰和冰袋密封运输，运输温度不高于 0℃，运输时间不宜超过 5 天。

冷链运输：运输温度为 -20±5℃，运输时间不宜超过 5 天。

生产日期及失效日期见标签。

### 【适用仪器】

ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪。

### 【样本要求】

1. 适用样本类型：痰液

## 2. 样本采集

采用无菌痰液样本收集盒。患者留取的痰液样本，应由检验人员或经培训的专业人员目视检查样本质量：样本量一般在3~5mL，如为唾液样本等不合格样本，应在专业人员的进一步指导下取样后重新送检。

## 3. 样本保存

样本应尽快检测，2~8℃条件下可以保存72小时，-20±5℃条件下可以保存12个月，在-90~-70℃条件下可保存48个月。冻存的样本反复冻融后应充分混匀，避免5次以上反复冻融。提取后的核酸可于-20±5℃条件下保存12个月，反复冻融不超过5次。

### 【检验方法】

试剂盒使用前将所需组分提前取出，室温融化，短暂震荡，瞬时离心。

#### 一、样本处理（样本处理区）

##### 1. 样本前处理

**NaOH法：**将痰液样本加到50mL带螺旋盖的试管中，视痰液的粘稠度，加入1~4倍体积4%NaOH消化液于痰液管中，拧紧螺旋盖，涡旋振荡1分钟，室温于生物安全柜内放置15~20分钟，使痰液充分液化。

**DTT法：**将痰液样本加到50mL带螺旋盖的试管中，视痰液的粘稠度，加入1~4倍体积0.1%DTT消化液于痰液管中，拧紧螺旋盖，涡旋振荡1分钟，室温于生物安全柜内放置30分钟，使痰液充分液化。

任选其中一种方法，均可用于样本前处理。

##### 2. 样本提取

取强阳性对照、弱阳性对照、阴性对照和处理后的待测样本各200μL进行提取，具体提取步骤请参照相应提取试剂说明书。

#### 二、PCR试剂配制（试剂准备区）

##### 1. 体系配制

按N个（N=待测样本数+强阳性对照+弱阳性对照+阴性对照）反应配制体系，反应体系配制如下表。

试剂盒组分	反应体系
肺链嗜血卡他-扩增反应液	35μL×N
肺链嗜血卡他-引物探针混合液	5μL×N
总体积	40μL×N

##### 2. 体系分装

将上述反应液混匀离心后，按照每管40μL分装于荧光PCR仪适用的PCR管中。

#### 三、加样（样本处理区）

在分装好试剂的反应体系中分别加入10μL提取的待测样本核酸、强阳性对照、弱阳性对照及阴性对照核酸，总反应体积为50μL。盖紧PCR反应管管盖，瞬时离心将管壁上液体全部甩到管底，然后立即进行PCR扩增反应。

#### 四、PCR扩增检测（扩增检测区）

检测通道：肺炎链球菌选择FAM通道、流感嗜血杆菌选择VIC通道、卡他莫拉菌选择CY5通道，内标选择ROX通道，对应内源性内标质控。ABI 7500仪器中“Quencher Dye”和“Passive Reference”均设置为None。按照样本对应顺序设置强阳和弱阳性对照（Positive Control）、阴性对照（Negative Control）和样本（Unknown），并设置样本名称。

程序设置如下：

序号	阶段	温度（℃）	时间	循环数
1	预反应	50	2分钟	1
		95	5分钟	
2	变性	95	15秒	40
	退火、延伸、采集信号	55	30秒	

#### 五、阈值设定

根据分析后图像调节Baseline的Start值、End值（Start值建议设在3~15、End值建议设在5~20）以及Threshold的Value值。同时调整阴性对照的扩增曲线平直或低于阈值线，点击Analysis自动获得分析结果，在Report界面察看结果。

#### 六、实验有效性判断

1. 强阳性对照：FAM、VIC、CY5和ROX通道有S型曲线，且Ct值≤28。
  2. 弱阳性对照：FAM、VIC、CY5和ROX通道有S型曲线，且Ct值≤36。
  3. 阴性对照：FAM、VIC、CY5通道无S型曲线，Ct显示为Undetermined；ROX通道有S型曲线，且Ct值≤36。
- 注：条件1、2、3必须在同一次实验中全部满足，否则本次实验结果无效。

### 【阳性判断值】

阳性判断值通过对417例临床样本的检测数据采用受试者工作特征曲线（ROC曲线）法计算得到。确定本试剂盒肺炎链球菌的阳性判断值为Ct=36，流感嗜血杆菌的阳性判断值为Ct=36，卡他莫拉菌的阳性判断值为Ct=36。

### 【检验结果的解释】

1. 在仪器正常、强阳性对照、弱阳性对照和阴性对照检测结果符合质控标准的情况下，如果内标（ROX）通道出现S型扩增曲线，且Ct值≤36并具备如下条件，判为阳性：

通道	Ct值	结果判读
----	-----	------

FAM	Ct≤36	肺炎链球菌阳性
VIC	Ct≤36	流感嗜血杆菌阳性
CYS	Ct≤36	卡他莫拉菌阳性

注：对于 FAM、VIC 或 CYS 通道具有明显 S 型扩增曲线的样本，内标（ROX）通道无 S 型扩增曲线或 Ct 值 > 36，可能因为高浓度样本的抑制作用导致，不影响结果判读。

2. 如果内标（ROX）通道出现 S 型扩增曲线（Ct≤36），同时 FAM、VIC 和 CYS 通道检测无 S 型扩增曲线（或目标 Ct 值 > 36），则判定对应目标释为阴性。

3. 如果 FAM、VIC 和 CYS 通道及 ROX 通道均未出现明显的 S 型扩增曲线（或目标及内标 Ct 值 > 36），原因分析及建议：

(a) 采样不合格，建议重新采样检测；(b) 核酸提取过程异常，导致核酸损失，建议重新提取检测；(c) 样本中存在抑制 PCR 反应的物质，可对样本进行稀释后检测。

#### 【检验方法的局限性】

1. 本试剂盒的检测结果仅供临床参考，对患者的临床诊治应结合其症状、体征、病史、其它实验室检查及治疗反应等情况综合考虑。

2. 本试剂盒检测的靶序列为肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、卡他莫拉菌基因的保守区域，待测靶序列的变异或其他原因导致的序列改变可能会导致假阴性结果。

3. 有关假阳性结果的可能性分析

3.1 如果样本在运输、处理过程中发生交叉污染，则可能导致假阳性结果。

3.2 实验环境有 PCR 产物等气溶胶污染，则可能导致假阳性结果。

3.3 实验过程中使用的耗材、设备等受污染，则可能导致假阳性结果。

4. 有关假阴性结果的可能性分析

4.1 不合理样本采集、转运及处理，检测样本中被检测核酸浓度含量低于最低检出限时均有可能导致假阴性结果。

4.2 未经验证的其他干扰或 PCR 抑制因子等可能会导致假阴性结果。

#### 【产品性能指标】

1. 最低检出限：肺炎链球菌的最低检出限为 100 CFU/mL，流感嗜血杆菌的最低检出限为 1250 CFU/mL，卡他莫拉菌的最低检出限为 1000 CFU/mL。

2. 精密度：检测经稀释的《34 种细菌和真菌感染多重核酸检测试剂国家参考品》M1 和 M4，各重复检测 10 次，M1 为肺炎链球菌阳性，M4 为流感嗜血杆菌阳性，且 Ct 值变异系数均（CV，%）≤5.0%；或检测企业精密度参考品 R1、R2 和 R0，各重复检测 10 次，R1 和 R2 检测结果均为肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、卡他莫拉菌阳性，且 Ct 值变异系数（CV，%）均≤5.0%，R0 检测结果均为阴性；使用 3 批试剂盒连续 20 天，每天由 2 名操作人员在两个不同的实验室对企业精密度参考品及临床样本进行重复检测，其重复性、批间差、中间精密度和再现性良好，各检测结果的 Ct 值变异系数（CV，%）均≤5.0%。

3. 阳性参考品符合率：分别检测《34 种细菌和真菌感染多重核酸检测试剂国家参考品》M1、M4 和企业参考品 P17-P20，M1 为肺炎链球菌阳性，M4 为流感嗜血杆菌阳性，P17-P20 为卡他莫拉菌阳性，不在产品检测范围内的病原菌检测结果均为阴性；或检测 20 份企业阳性参考品，符合率（+/-）为 20/20。

4. 阴性参考品符合率：分别检测《34 种细菌和真菌感染多重核酸检测试剂国家参考品》M2、M3、M5、M6 和 M7，检测结果均为阴性；或检测 9 份企业阴性参考品，符合率（-/-）为 9/9。

5. 交叉反应：针对可能与检测样本产生交叉的其他病原菌（浓度水平为 10<sup>6</sup>CFU/mL~10<sup>7</sup>CFU/mL 的铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、肺炎克雷伯菌、大肠埃希氏菌、阴沟肠杆菌、洋葱伯克霍尔德菌、粪肠球菌、屎肠球菌、金黄色葡萄球菌、百日咳杆菌、结核分枝杆菌、嗜肺军团菌、表皮葡萄球菌、诺卡菌、柠檬酸杆菌、唾液链球菌、化脓性链球菌、副流感嗜血杆菌、脑膜炎奈瑟氏菌、粘质沙雷菌、肺炎支原体、肺炎衣原体、白色念珠菌、黄曲霉菌、新型隐球菌、热带念珠菌、光滑念珠菌、缓症链球菌、嗜链球菌、副溶血嗜血杆菌、杜克嗜血杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌、产气克雷伯菌、口腔链球菌、溶血嗜血杆菌；浓度水平为 10<sup>6</sup>PFU/mL 的甲型流感病毒、乙型流感病毒、副流感病毒、EB 病毒、肠道病毒、水痘带状疱疹病毒、呼吸道合胞病毒、人博卡病毒、人偏肺病毒、人鼻病毒、腺病毒；浓度水平为 10<sup>7</sup> copies/mL 的耶氏肺孢子菌、新型冠状病毒），无交叉反应。

6. 干扰物质：对 2.0 mg/mL 粘蛋白、5% 血液、100 ng/μL 人基因组 DNA、15% 唾液进行检测，检测结果未产生显著影响；针对 10<sup>6</sup>CFU/mL 浓度水平的口腔细菌：唾液链球菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌、乳酸杆菌进行验证，针对治疗呼吸道感染抗菌药物：阿奇霉素（8 μg/mL）、头孢地尼（9 μg/mL）、庆大霉素（10 mg/mL）、亚胺培南（5 mg/mL）、环丙沙星（2.5 μg/mL）、左氧氟沙星（5.0 mg/mL）、阿莫西林（10.8 μg/mL）、利巴韦林（60 mg/mL）、奥司他韦（7.5 mg/mL）、多西环素（1.8 mg/L）、羟甲唑啉（25 ng/mL）、氯化钠（0.45%）、万古霉素（60 μg/mL）、利奈唑胺（30 μg/mL）、氟康唑（10 μg/mL）、肾上腺素（0.96 mg/mL）、倍氯米松（400 μg）、地塞米松（0.96 mg/mL）、氟尼缩松（150 μg）、曲安西龙（0.011 mg/mL）、布地奈德（256 μg/mL）、莫美他松（200 μg）、氟替卡松（0.39 ng/mL）、莫匹罗星（4.49 mg/mL）、盐酸组胺（300 ng/mL）、妥布霉素（4 μg/mL）进行验证，均未对检测结果产生显著影响。

7. 临床试验结果：本试剂盒在三家临床检测机构完成了临床试验，采用一代测序法/对比试剂/分离培养法/临床诊断标准作为对比方法。

与一代测序法比对，共入组 729 例样本，肺炎链球菌阳性符合率为 100.00%，阴性符合率为 99.81%。流感嗜血杆菌阳性符合率为 100.00%，阴性符合率为 99.81%。卡他莫拉菌阳性符合率为 100.00%，阴性符合率为 100.00%。

与对比试剂比对，肺炎链球菌阳性符合率为 100.00%，阴性符合率为 99.17%。流感嗜血杆菌阳性符合率为 100.00%，阴性符合率为 99.16%。

与临床诊断标准比对，卡他莫拉菌灵敏度为 100.00%，特异度为 90.54%。

#### 【注意事项】

1. 开始检测前请仔细阅读本说明书，本品仅用于体外诊断，请在有效期内使用。

2. 本试剂盒不含有源性或动物源性物质。
3. 使用本产品时，临床实验室应严格按照《医疗机构临床基因扩增实验室管理办法》等有关分子生物学实验室要求执行。
4. 样本处理在生物安全柜内进行操作，防止污染环境和保护操作者。
5. 实验后的废弃物品，如吸头、扩增产物等需进行无害化处理后方可丢弃。加样本吸头用后打入盛有 1%次氯酸的废物缸里。实验完毕后使用 1%次氯酸或 75%乙醇处理操作台面和移液器、离心机、PCR 仪等仪器表面，然后紫外灯照射 25-30 分钟。
6. 试剂保存运输及使用过程中多种因素可能导致性能变化，如保存运输不当、样本采集、样本处理及检测过程操作不规范等，请严格按照说明书操作。

**【参考文献】**

1. 《病原微生物实验室生物安全通用准则（WS 233-2017）》
2. 《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》卫办医政发〔2010〕194 号
3. 《医疗废物管理条例》
4. Jamal W, Al Roomi E, AbdulAziz LR, Rotimi VO. Evaluation of Curetis Unyvero, a multiplex PCR-based testing system, for rapid detection of bacteria and antibiotic resistance and impact of the assay on management of severe nosocomial pneumonia. *J Clin Microbiol* 2014;52:2487-92.
5. Kais M, Spindler C, Kalin M, Ortqvist A, Giske CG. Quantitative detection of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis* in lower respiratory tract samples by real-time PCR. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2006 Jul;55(3):169-78. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2006.04.007. Epub 2006 Apr 19. PMID: 16626914.

**【基本信息】**

注册人/生产企业名称：北京卓诚惠生生物科技股份有限公司  
住所：北京市昌平区生命科学园科学园路 37 号院 1 号楼 C 座 101 室  
联系方式：  
售后服务单位名称：北京卓诚惠生生物科技股份有限公司  
联系方式：  
生产地址：北京市昌平区沙河镇昌平路 97 号 5 幢 C 门 101，6 幢 504，7 幢 304  
生产许可证编号：

**【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】**

**【说明书批准日期/生效日期及修改日期】**