

受理号：CSZ2400235

# 体外诊断试剂产品注册技术审评报告

产品中文名称：铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、

鲍曼不动杆菌核酸检测试剂盒（数字 PCR  
法）

产品管理类别：第三类

申请人名称：领航基因科技（杭州）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 .....	5
三、临床评价概述.....	10
四、产品受益风险判定.....	12
综合评价意见.....	14

## 基本信息

### 一、申请人名称

领航基因科技（杭州）有限公司

### 二、申请人住所

浙江省杭州市萧山区南阳街道横蓬园区红山工业区

### 三、生产地址

杭州市滨江区滨安路 688 号 6 号楼 402 室、5 号楼

1409/2305/2309 室、2 棟 E 楼 349/351/367 室

# 技术审评概述

## 一、产品概述

### (一) 产品主要组成成分

详见表 1。

表 1. 产品主要组成成分

	组分名称	规格	数量	组成成分
A 部分	反应液	10 $\mu$ L/管	24	引物、探针、dNTP、缓冲液、Taq DNA 聚合酶、尿嘧啶 DNA 糖基化酶
	阳性质控品	1.1mL/管	2	四种细菌核酸、缓冲液
	阴性质控品	1.1mL/管	2	非细菌核酸、缓冲液
	内对照	250 $\mu$ L/管	1	人工合成核酸、缓冲液
B 部分	微流控芯片	4 测试/片	6	微流控芯片、微液滴生成油

注：A 部分中不同批号试剂盒中的组分不可以互换使用。

### (二) 产品预期用途

该产品用于体外定性检测人血浆样本中铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌四种细菌核酸。

用于血流感染的辅助诊断。本产品检测结果不作为患者病情评价的唯一指标，必须结合临床表现和其他实验室检测对病情进行综合分析。

### (三) 产品包装规格

24 测试/盒。

### (四) 产品检验原理

本试剂盒针对四种细菌（铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌）核酸保守区设计特异性引物和荧光探针，采用数字 PCR 技术定性检测样本中上述四种细菌的游离 DNA。

## 二、临床前研究概述

### （一）主要原材料

#### 1. 主要原材料的选择

本产品主要原材料包括引物、探针、dNTP、Taq DNA 聚合酶、尿嘧啶 DNA 糖基化酶和微流控芯片，主要原材料均为外购方式获得。

申请人制定了各主要原材料的质量标准并经检验合格。

#### 2. 企业参考品设置情况

申请人设置了企业参考品用于产品的准确性、灵敏度、特异性和精密度评价，包括 23 个阳性参考品、8 个阴性参考品、1 个检测限参考品和 3 个精密度参考品。

阳性参考品由试剂盒检测范围内靶标菌多个亚型的片段化 DNA 及阴性血浆样本制备而成；阴性参考品由试剂盒检测范围外的非靶标菌片段化 DNA 及阴性血浆样本制备而成；检测限参考品由试剂盒检测范围内靶标菌片段化 DNA 及阴性血浆样本制备而成；精密度参考品由中等阳性精密度参考品、弱阳性精密度

参考品和阴性精密度参考品组成，中等阳性和弱阳性精密度参考品由靶标菌片段化 DNA 及阴性血浆样本制备。

## （二）生产工艺及反应体系研究

申请人通过对试剂反应液，阴性质控品和内对照配制的研究，确定了最佳生产工艺。申请人还对微流控芯片的来料控制、生产和质控参数进行了研究和验证。

申请人对反应体系中的引物探针浓度和用量、dNTP 用量、Taq DNA 聚合酶用量、氯化镁用量、尿嘧啶 DNA 糖基化酶用量、反应体积、反应条件、样本用量和样本处理方式等进行筛选、优化和验证，最终确定了最佳反应体系。

## （三）分析性能评估

该产品分析性能评估内容主要包括：准确度、最低检测限、精密度、分析特异性（交叉反应和干扰实验）、包容性等。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分析性能评估资料。

在准确度研究中，申请人使用三批成品试剂盒检测企业参考品，结果显示企业参考品阳性符合率和阴性符合率均为 100%。申请人还通过检测临床样本，对比该产品与 Sanger 测序检测结果的一致性来评估准确度，其中铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和鲍曼不动杆菌检测结果的一致性分别

为 90%、100%、95.2% 和 95.2%。

最低检测限研究中，对阳性样本进行梯度稀释，使用三批成品试剂盒对每个浓度样本重复检测 20 次，计算各浓度样本阳性检出情况，以阳性检出率 95% 及以上的浓度作为检出限浓度。然后使用三批成品试剂盒对稀释至检出限浓度水平的各样本进行检出限验证。最终确认本试剂盒的检出限：铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和鲍曼不动杆菌的检出限均为 50copies/mL。

在精密度研究中，申请人使用三批成品试剂盒、由两名操作者、分别在三套适用机型上、连续 20 天检测企业精密度参考品 R1（中等阳性精密度参考品）、R2（弱阳性精密度参考品）、临床阴性样本、临床弱阳性样本和临床中等阳性样本，分别评价了该产品批内、批间及日内、日间、操作者间精密度，产品的重复性、再现性、日间精密度和批间精密度研究结果表明 CV 值均  $\leq 10\%$ 。

分析特异性研究包含交叉反应研究和干扰研究。交叉反应研究使用三批成品试剂盒对本试剂盒检测范围外的血流感染常见病原菌进行交叉反应评价，包括奇异变形菌、头葡萄球菌、嗜麦芽窄食单胞菌、洋葱伯克霍尔德菌、肺炎链球菌、草绿色链球菌、阴沟肠杆菌、产气肠杆菌、溶血葡萄球菌、粪肠球菌、

白色念珠菌、光滑念珠菌、表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、屎肠球菌、人葡萄球菌、乙型溶血性链球菌、荧光假单胞菌、恶臭假单胞菌、假单胞菌、布氏假单胞菌、流感嗜血杆菌、脑膜炎奈瑟菌、嗜肺军团菌嗜肺亚种、隐球菌、卡他布朗汉姆氏菌、产酸克雷伯菌、摩氏假单胞菌。结果表明，本产品与试剂盒检测范围外的 28 种常见血流感染病原菌均无交叉反应。

干扰研究使用三批检测试剂，对各种可能的内源性及外源性干扰物质进行评价。结果显示：内源性干扰物质人胆红素（34.2  $\mu\text{mol/L}$ ）、人血红蛋白（20  $\text{mg/mL}$ ）、甘油三酯（0.56  $\text{mmol/L}$ ）、人血红素（0.2  $\text{mg/mL}$ ）以及外源性干扰物质美罗培南（300  $\mu\text{g/mL}$ ）、亚胺培南（20  $\mu\text{g/mL}$ ）、利奈唑胺（40  $\mu\text{g/mL}$ ）、左氧氟沙星（14  $\mu\text{g/mL}$ ）、多黏菌素 B（24  $\mu\text{g/mL}$ ）、替加环素（2.6  $\mu\text{g/mL}$ ）、阿莫西林-克拉维酸（5.6  $\text{mg/mL}$ ）、氨苄西林-舒巴坦（110  $\text{mg/mL}$ ）、头孢哌酮-舒巴坦（259  $\mu\text{g/mL}$ ）、替卡西林-克拉维酸（100  $\mu\text{g/mL}$ ）、头孢曲松（151  $\mu\text{g/mL}$ ）、头孢他啶（20  $\text{mg/mL}$ ）、头孢吡肟（193  $\mu\text{g/mL}$ ）、氨曲南（125  $\mu\text{g/mL}$ ）、头孢西丁（110  $\mu\text{g/mL}$ ）、庆大霉素（10  $\mu\text{g/mL}$ ）、阿米卡星（30  $\mu\text{g/mL}$ ）、氯霉素（12  $\mu\text{g/mL}$ ）、米诺环素（7  $\mu\text{g/mL}$ ）、环丙沙星（46  $\mu\text{g/mL}$ ）、头孢美唑（188  $\mu\text{g/mL}$ ）、磷霉素（90  $\mu\text{g/mL}$ ）、氨苄西林（110  $\text{ng/mL}$ ）、甲氨苄啶-磺胺甲噁唑（122  $\mu\text{g/mL}$ ）、

多西环素 (2.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 不会影响试剂盒检测结果的判定。

竞争性干扰研究使用三批检测试剂，对病原体易共存的近源菌的阳性样本进行评价。结果显示：在高浓度的奇异变形菌、头葡萄球菌、嗜麦芽窄食单胞菌、洋葱伯克霍尔德菌、肺炎链球菌、草绿色链球菌、阴沟肠杆菌、产酸克雷伯菌、溶血葡萄球菌、粪肠球菌、白色念珠菌、光滑念珠菌、表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、屎肠球菌、人葡萄球菌、乙型溶血性链球菌、荧光假单胞菌、恶臭假单胞菌、假单胞菌、布氏假单胞菌、脑膜炎奈瑟菌、嗜肺军团菌嗜肺亚种、黏质沙雷菌、卡他布朗汉姆氏菌、咽峡炎链球菌、摩氏假单胞菌、缓症链球菌存在的情况下，对四种靶标菌的检测结果无影响。

在包容性研究中，申请人对具有时间和区域特征性的不同来源的铜绿假单胞菌 (ST244 型、ST463 型、ST274 型、ST235 型和 ST313 型)、大肠埃希氏菌 (出血性大肠埃希氏菌、肠致病性大肠埃希氏菌、肠侵袭性大肠埃希氏菌、致泻大肠埃希氏菌、产肠毒素大肠埃希氏菌、志贺毒性大肠埃希氏菌和肠道聚集性大肠埃希氏菌)、肺炎克雷伯菌 (肺炎亚种、肺炎克雷伯菌 (臭鼻克雷伯氏菌) 和肺炎克雷伯菌 (鼻硬结克雷伯氏菌) 亚种)、鲍曼不动杆菌 (ST2 型、ST40 型、ST221 型、ST106 型和 ST195 型) 进行评价，结果符合要求。

#### （四）阳性判断值研究

申请人收集来自临床机构的血液样本进行阳性判断值的建立和验证研究。其中阳性判断值建立共纳入 458 例样本，采用 ROC 曲线的方法进行研究，采用 Sanger 测序法确认样本的性质。通过统计分析确定铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌对应的阳性判断值均为  $0.35\text{copies}/\mu\text{L}$ 。另外纳入 151 例样本进行阳性判断值的验证，结果显示基于前述建立的阳性判断值进行结果统计分析，四种靶标菌检测结果与对照方法的阳性符合率均为 100%，阴性符合率为 93.75%~96.77%，总符合率为 96.67%~98.33%，本试剂盒阳性判断值设置合理。

#### （五）稳定性研究

申请人对试剂的货架有效期内稳定性、运输稳定性、使用稳定性以及样本稳定性进行了研究，确定了在各种条件下试剂及临床样本的有效保存时间。

实时稳定性研究：采用三批试剂储存于 $-20\pm5^\circ\text{C}$ 条件，自生产日期起，分别于第 0 个月、第 3 个月、第 6 个月、第 9 个月、第 12 个月和第 13 个月进行外观、阳性参考品符合率、阴性参考品符合率、最低检测限和精密度检测，确认试剂在 $-20\pm5^\circ\text{C}$ 条件下可稳定保存 12 个月。

### 三、临床评价概述

申请人在浙江大学医学院附属邵逸夫医院、东南大学附属中大医院、浙江省人民医院、嘉兴市第二医院、宁波市医疗中心李惠利医院、浙江大学医学院附属第一医院、浙江大学医学院附属第二医院、浙江省台州医院、浙江省立同德医院、树兰（杭州）医院、浙江省中医院共 11 家机构完成了临床试验。采用试验用体外诊断试剂与血流感染临床诊断参考标准血培养法进行比较研究试验，确认本产品的临床性能。临床试验入组病例包括：临床试验机构重症监护室、血液科、感染科、泌尿外科等诊治的疑似血流感染患者，入组患者应符合脓毒症的诊断标准。临床试验共入组病例 2251 例。针对大肠埃希菌，阳性病例 256 例，阴性病例 1995 例，试验结果显示，本产品与临床参考方法对比的灵敏度为 100% (95%CI: 98.52%, 100%)，特异度为 90.48% (95%CI: 89.11%, 91.69%)；针对肺炎克雷伯菌，阳性病例 273 例，阴性病例 1978 例，试验结果显示，本产品与临床参考方法对比的灵敏度为 99.63% (95%CI: 97.95%, 9.94%)，特异度为 91.25% (95%CI: 89.93%, 92.42%)；针对鲍曼不动杆菌，阳性病例 80 例，阴性病例 2171 例，试验结果显示，本产品与临床参考方法对比的灵敏度为 100% (95%CI: 95.42%, 100%)，特异度为 95.03% (95%CI: 94.03%, 95.86%)；针对铜绿假单胞菌，阳性病例 32 例，阴性病例 2169 例，试验结果显示，本产

品与临床参考方法对比的灵敏度为 100% (95%CI: 95.52%, 100%), 特异度为 97.79% (95%CI: 97.08%, 98.33%)。临床试验结果显示本产品与临床参考方法一致性良好。

#### 四、产品受益风险判定

根据《YY/T 0316-2016 医疗器械风险管理对医疗器械的应用》对该产品进行风险分析。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:

##### (一) 产品获益

该产品用于体外定性检测人血浆样本中铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌四种细菌核酸。临幊上用于血流感染的辅助诊断, 提供给患者更多一种血流感染辅助诊断方法的选择。本产品的检查结果仅供临幊参考, 不建议作为血流感染诊治的唯一依据, 对患者的临幊诊治应结合其症狀/体征、病史、其他实验室检查及治疗反应等情况综合考虑。

##### (二) 风险评估

根据申请人提供的申报资料, 经综合评价, 在目前认知水平上, 认为该产品上市带来的受益大于风险。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. 不合理的样本采集、转运、储存、处理以及不当的实验

操作和不适宜实验环境均有可能导致错误的检测结果。

2. 本试剂盒限于人血浆样本的检测，只适用于规定的适用机型。

3. 本试剂盒检测的靶序列为四种细菌各自特异的基因序列，该靶序列在各细菌间都是高度保守且稳定。但如果在靶序列处发生基因突变，则有可能造成假阴性结果，即发生漏检。

4. 本试剂盒检测结果可供临床参考，阴性结果仅说明低于本试剂盒的检测限值但不能完全排除感染的可能。

## 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 01 月 24 日

附件：产品说明书

# 铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌核酸检测试剂盒（数字 PCR 法）说明书

**【产品名称】**铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌核酸检测试剂盒（数字 PCR 法）

**【包装规格】**24 测试/盒

该产品用于体外定性检测人血浆样本中铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌四种细菌核酸。

用于血流感染的辅助诊断。本产品检测结果不作为患者病情评价的唯一指标，必须结合临床表现和其他实验室检测对病情进行综合分析。

血流感染是指病原微生物进入血流引起的播散感染，是危及人类生命的全身性感染疾病，主要病原微生物包括细菌、真菌等，可导致菌血症、败血症，严重者可引起休克、播散性血管内凝血、多脏器功能衰竭乃至死亡。

## 【检验原理】

本试剂盒针对四种细菌（铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌）核酸保守区设计特异性引物和荧光探针，采用数字 PCR 技术定性检测样本中上述四种细菌的游离 DNA。适用仪器不同检测通道对应的靶标如下表：

	FAM通道	VIC通道	ROX通道	CY5通道
对应靶标	铜绿假单胞菌	大肠埃希菌	肺炎克雷伯菌	鲍曼不动杆菌

## 【主要组成成分】

本试剂盒具体组成如下表：

	组份名称	规格	数量	组成成分
A 部分	反应液	10 $\mu$ L/管	24	引物、探针、dNTP、缓冲液、Taq DNA 聚合酶、尿嘧啶 DNA 糖基化酶
	阳性质控品	1.1mL/管	2	四种细菌核酸、缓冲液
	阴性质控品	1.1mL/管	2	非细菌核酸、缓冲液
	内对照	250 $\mu$ L/管	1	人工合成核酸、缓冲液
B 部分	微流控芯片	4 测试/片	6	微流控芯片、微液滴生成油

注：A 部分中不同批号试剂盒中的组分不可以互换使用。

需要但未提供的材料：领航基因科技（杭州）有限公司生产的核酸提取或纯化试剂（型号：CF1，浙杭械备 20200811 号）。

## 【储存条件及有效期】

A 部分：-25℃～-15℃保存，有效期 12 个月。B 部分：2℃～37℃保存，有效期 12 个月。

应避免反复冻融（不超过 5 次）。

生产日期、有效期至见包装标签。

## 【适用仪器】

领航基因科技（杭州）有限公司生产的样本制备仪 DG32（备案证编号：浙杭械备 20200341 号）、PCR 扩增仪 TC1（注册证编号：浙械注准 2020220504，有效期至 2030/05/26）、生物芯片阅读仪 CS5、CS6B、CS7（注册证编号：浙械注准 20212220039，有效期至 2026/1/24）。

## 【样本要求】

1. 本产品适用于血浆样本。
2. 血浆样本的采集与分离方法如下：

- 1) 使用游离 DNA 专用采血管采集血液：遵循标准静脉采血程序和游离 DNA 专用采血管说明书的注意事项，采集血液。采血后，立即轻柔颠倒采血管 10 次，室温（6℃~30℃）保存，3 天内分离血浆。
- 2) 使用常规 EDTA-2Na\ EDTA-2K\ 枸橼酸钠抗凝管采集血液：遵循标准静脉采血程序，采集血液。采血后，立即轻柔颠倒采血管 10 次，尽快分离血浆，2 小时内处理最佳，如不能及时处理，2-8℃静置 2 天内处理。
- 3) 分离血浆：将采血管平衡放入离心机，1600g 离心 15min，吸取上层血浆，转移至无菌保存管。
- 4) 样本保存：血浆分离后应尽快进行核酸提取，或血浆-20±5℃保存，不超过 3 个月，冻融次数不超过 3 次；长期保存应置于-70℃以下，冻融次数不超过 3 次。
- 5) 提取后核酸保存条件和时限：-20±5℃保存，不超过 6 个月，冻融次数不超过 3 次。

#### 【检验方法】

##### 1. 核酸提取

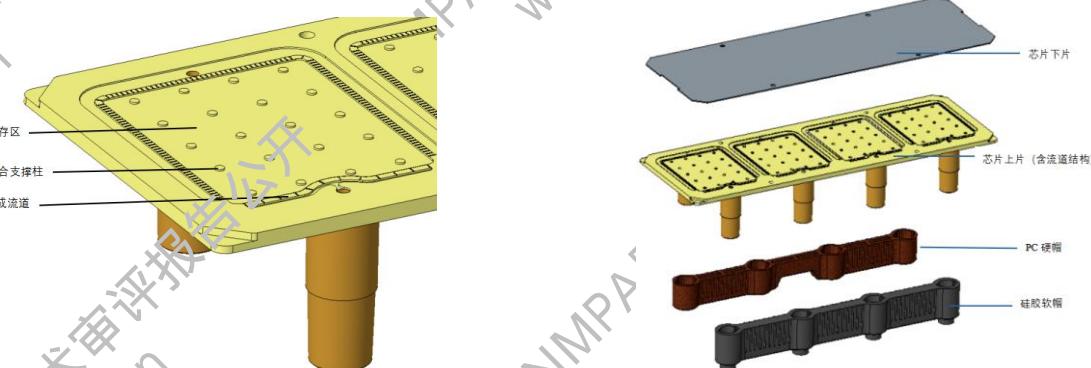
取待检样本、阳性质控品、阴性质控品各 1mL，分别加入 10μL 内对照，使用领航基因科技（杭州）有限公司生产的核酸提取或纯化试剂（型号：CF1）进行核酸提取，操作步骤按照核酸提取或纯化试剂说明书进行。

##### 2. 微滴生成

2.1 试剂准备：确定所需的反应管数  $n$ （样本数 + 2）后，取出相应数量的反应液，室温解冻后，瞬时离心。

2.2 模板加样：往各管反应液分别加入待检样本和质控品的核酸提取产物各 10μL。涡旋混匀，避免气泡产生，瞬时离心。

2.3 微液滴生成：取出微流控芯片，去除密封膜，放在实验桌上，用移液器取加入模板后的反应液 14μL，通过芯片进样口将 14μL PCR 反应液缓慢注入油相底部（注意不要引入气泡）。若有油相溢出，则用蘸有异丙醇的无尘布擦拭干净。将硅胶软帽盖在出口处，将 PC 硬帽盖在进口处。将芯片放入适用仪器内，使用样本制备仪 DG32 进行液滴生成，操作步骤按照样本制备仪 DG32 说明书进行。微流控芯片作为载体，实现样本在微管道内生成微液滴。在微液滴生成过程中，仪器给芯片施加气压，使“油相”微液滴生成油与“水相”反应体系一起流入芯片内的液滴储存区，在界面张力和流体剪切力作用下，反应体系形成尺寸均一的微液滴。芯片结构如图 1 所示：



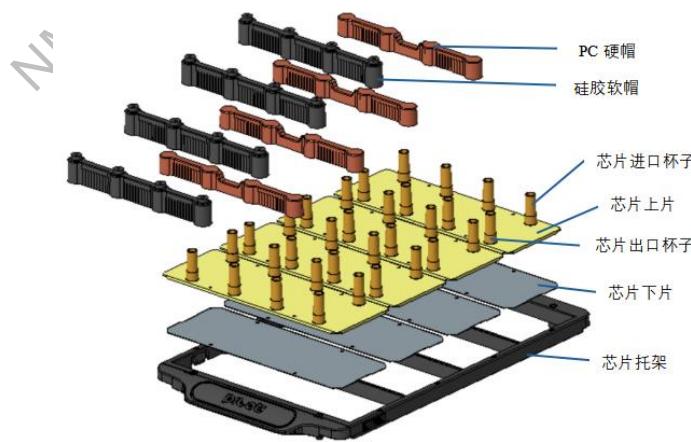


图 1.微流控芯片三维结构示意图

### 3. PCR 扩增

将液滴生成后的芯片放入 PCR 扩增仪 TC1，按照以下 PCR 参数进行反应。

37℃ 2min; 95℃ 5min; [95℃ 15s, 60℃ 30s]\*40cycles; 25℃ 10min

### 4. 芯片扫描

PCR 结束后，将芯片放入生物芯片阅读仪 CS5、CS6B、CS7 的芯片托架内，选择 FAM/VIC/ROX/ CY5/A425 通道，设置芯片孔位，进行芯片扫描和分析。

### 5. 结果分析

阈值设置：可由软件自动进行，或手工调整阈值线，刚好超过阴性液滴的最高点。

质量控制：同一次实验中，阴性质控品和阳性质控品的检测值须同时满足下表要求，否则本次实验无效，需重新进行。

	FAM浓度	VIC浓度	ROX浓度	CY5浓度	A425浓度
阴性质控品	≤0.35copies/µL	≤0.35copies/µL	≤0.35copies/µL	≤0.35copies/µL	≥5.0copies/µL
阳性质控品	≥5.0copies/µL	≥5.0copies/µL	≥5.0copies/µL	≥5.0copies/µL	≥5.0copies/µL

#### 【阳性判断值】

采用ROC曲线方法建立试剂盒的阳性判断值，收集疑似血流感染患者血液样本458例进行检测，分靶标对检测结果进行ROC曲线分析，确定本试剂盒铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌的阳性判断值为 0.35copies/µL，并使用151例临床样本对阳性判断值进行了验证。

#### 【检测结果的解释】

1. FAM通道检测值>0.35copies/µL，提示铜绿假单胞菌DNA阳性。
2. VIC通道检测值>0.35copies/µL，提示大肠埃希菌DNA阳性。
3. ROX通道检测值>0.35copies/µL，提示肺炎克雷伯菌DNA阳性。
4. CY5通道检测值>0.35copies/µL，提示鲍曼不动杆菌DNA阳性。
5. FAM、VIC、ROX、CY5通道检测值均≤0.35copies/µL，A425通道检测值≥5.0 copies/µL，提示铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌DNA阴性（低于检测下限）。
6. 反应液的FAM、VIC、ROX、CY5通道检测值均≤0.35copies/µL，A425通道检测值<5.0 copies/µL，提示该样本检测结果无效，应排查原因后复测。

### 【检验方法的局限性】

1. 本产品的检查结果仅供临床参考, 不建议作为血流感染诊治的唯一依据, 对患者的临床诊治应结合其症状/体征、病史、其他实验室检查及治疗反应等情况综合考虑。
2. 不合理的样本采集、转运、储存、处理以及不当的实验操作和不适宜实验环境均有可能导致错误的检测结果。
3. 本试剂盒限于人血浆样本的检测, 只适用于规定的适用机型。
4. 本试剂盒检测的靶序列为四种细菌各自特异的基因序列, 该靶序列在各细菌间都是高度保守且稳定。但如果在靶序列处发生基因突变, 则有可能造成假阴性结果, 即发生漏检。
5. 本试剂盒检测结果可供临床参考, 阴性结果仅说明低于本试剂盒的检测限值但不能完全排除感染的可能。

### 【产品性能指标】

1. 准确性: 检测企业阳/阴性参考品, 阳/阴性符合率为 100%。通过对比本产品与 Sanger 测序结果的一致性来评估准确度, 其中铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和鲍曼不动杆菌检测结果的一致性分别为 90%、100%、95.2% 和 95.2%。
2. 最低检出限: 使用阴性血浆对阳性样本进行梯度稀释, 以每个浓度样本提取 20 个重复并检测, 计算各样本阳性检出情况, 以阳性检出率 95% 以上的浓度, 作为检出限的确定浓度, 确定铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和鲍曼不动杆菌的最低检出限均为 50copies/mL。
3. 精密度: 采用企业内部精密度参考品 R1 (中等阳性精密度参考品)、R2 (弱阳性精密度参考品) 和 R3 (阴性精密度参考品)、临床阴性样本和临床阳性样本, 使用三批检测试剂, 分别评价了本产品批内、批间及检测日内、日间、操作者间精密度, 结果显示  $\log_{10}$  (检测结果) 变异系数 CV (%) 均  $\leq 10\%$ 。
4. 干扰物质: 采用真实临床样本, 选取临床高浓度铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和鲍曼不动杆菌血培养阳性样本, 混合一起后, 用临床阴性样本稀释到中阳、弱阳和弱阳临界水平, 采用添加回收试验的方法, 使用三批检测试剂, 对各种可能的内源性及外源性干扰物质进行评价, 结果显示: 内源性干扰物质人胆红素 (34.2  $\mu\text{mol/L}$ )、人血红蛋白 (20mg/mL)、甘油三酯 (0.56mmol/L)、人血红素 (0.2 mg/mL) 以及外源性干扰物质美罗培南 (300  $\mu\text{g/mL}$ )、亚胺培南 (20  $\mu\text{g/mL}$ )、利奈唑胺 (40  $\mu\text{g/mL}$ )、左氧氟沙星 (14  $\mu\text{g/mL}$ )、多黏菌素 B (24  $\mu\text{g/mL}$ )、替加环素 (2.6  $\mu\text{g/mL}$ )、阿莫西林-克拉维酸 (5.6mg/mL)、氨苄西林-舒巴坦 (110mg/mL)、头孢哌酮-舒巴坦 (259  $\mu\text{g/mL}$ )、替卡西林-克拉维酸 (100  $\mu\text{g/mL}$ )、头孢曲松 (151  $\mu\text{g/mL}$ )、头孢他啶 (120mg/mL)、头孢吡肟 (193  $\mu\text{g/mL}$ )、氨曲南 (125  $\mu\text{g/mL}$ )、头孢西丁 (110  $\mu\text{g/mL}$ )、庆大霉素 (10  $\mu\text{g/mL}$ )、阿米卡星 (30  $\mu\text{g/mL}$ )、氯霉素 (12  $\mu\text{g/mL}$ )、米诺环素 (7  $\mu\text{g/mL}$ )、环丙沙星 (46  $\mu\text{g/mL}$ )、头孢美唑 (188  $\mu\text{g/mL}$ )、磷霉素 (90  $\mu\text{g/mL}$ )、氨苄西林 (110mg/mL)、甲氨苄啶-磺胺甲噁唑 (122  $\mu\text{g/mL}$ )、多西环素 (2.5  $\mu\text{g/mL}$ )，不会对试剂盒检测结果造成明显影响。
5. 竞争性干扰: 使用三批检测试剂, 弱阳性样本中添加与被测靶标病原体易共存的近源菌, 终浓度为  $10^6$  CFU/mL。结果显示: 在高浓度下干扰菌株奇异变形菌、头葡萄球菌、嗜麦芽窄食单胞菌、洋葱伯克霍尔德菌、肺炎链球菌、草绿色链球菌、阴沟肠杆菌、产酸克雷伯菌、溶血葡萄球菌、粪肠球菌、白色念珠菌、光滑念珠菌、表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、屎肠球菌、人葡萄球菌、乙型溶血性链球菌、荧光假单胞菌、恶臭假单胞菌、假单胞菌、布氏假单胞菌、脑膜炎奈瑟菌、嗜肺军团菌嗜肺亚种、黏质沙雷菌、卡他布朗汉姆氏菌、咽峡炎链球菌、摩氏假单胞菌、缓症链球菌存在的情况下, 对弱阳性样本四种靶标菌的检出无影响。
6. 交叉反应: 阴性样本中添加高浓度的其他血流感染中致病菌, 终浓度为  $10^6$  CFU/mL, 如奇异变形菌、头葡萄球菌、嗜麦芽窄食单胞菌、洋葱伯克霍尔德菌、肺炎链球菌、草绿色链球菌、阴沟肠杆菌、产气肠杆菌、溶血葡萄球菌、粪肠球菌、白色念珠菌、光滑念珠菌、表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、屎肠球菌、人葡萄球菌、乙型溶血性链球菌、荧光假单胞菌、恶臭假单胞菌、假单胞菌、布氏假单胞菌、流感嗜血杆菌、脑膜炎奈瑟菌、嗜肺军团菌嗜肺亚种、隐球菌、卡他布朗汉姆氏菌、产酸克雷伯菌、摩氏假单胞菌和本试剂盒中

所检测的四种靶标菌无交叉现象。

7. 临床试验：采用本试剂与血流感临床诊断参考标准血培养法进行比较研究试验，确认本产品的临床性能。临床试验入组病例包括：临床试验机构重症监护室、血液科、感染科、泌尿外科等诊治的疑似血流感染患者，入组患者应符合脓毒症的诊断标准。临床试验共入组病例 2251 例。针对大肠埃希菌，阳性病例 256 例，阴性病例 1995 例，试验结果显示，本产品与临床参考方法对比的灵敏度为 100% (95%CI: 98.52%, 100%)，特异度为 90.48% (95%CI: 89.11%, 91.69%)；针对肺炎克雷伯菌，阳性病例 273 例，阴性病例 1978 例，试验结果显示，本产品与临床参考方法对比的灵敏度为 99.63% (95%CI: 97.95%, 9.94%)，特异度为 91.25% (95%CI: 89.93%, 92.42%)；针对鲍曼不动杆菌，阳性病例 80 例，阴性病例 2171 例，试验结果显示，本产品与临床参考方法对比的灵敏度为 100% (95%CI: 95.42%, 100%)，特异度为 95.03% (95%CI: 94.03%, 95.86%)；针对铜绿假单胞菌，阳性病例 82 例，阴性病例 2169 例，试验结果显示，本产品与临床参考方法对比的灵敏度为 100% (95%CI: 95.52%, 100%)，特异度为 97.79% (95%CI: 97.08%, 98.33%)。

#### 【注意事项】

1. 本品仅用于体外检验，使用前请仔细阅读本说明书。
2. 本产品的操作人员应具备一定的分子生物学知识和实验操作经历，了解防污染和生物安全要点，并熟练掌握相关仪器设备的使用方法和注意事项。
3. 本产品预期在临床基因扩增检验实验室使用，实验室应符合《医疗机构临床基因扩增检验实验室工作导则》的要求。
4. 取用产品组分时需戴一次性无粉手套。不可吸入或皮肤接触本产品的各个组分，如不慎接触，应及时用大量清水冲洗，必要时应尽快就医。
5. 本产品反应液内有荧光探针，应避免反复冻融且需避光保存。
6. 本产品使用前，需将产品组分充分融化并平衡至室温，再进行瞬时离心，以使管壁上液体离心到管底。
7. 建议使用一次性无 DNA 酶、无 RNA 酶的离心管和移液器吸头。
8. 临床样本的处理需要在生物安全柜中进行，实验过程中应注意生物防护。
9. 所用过程中产生的废液和废物（如离心管、吸头等）应置于盛有消毒剂的容器，并经灭菌后方可丢弃，或者按照医疗废弃物相关规定处理。
10. 不同批号的试剂请勿混用，请在有效期内使用试剂盒。
11. 本产品成分可能存在毒性或潜在生物传染性，切勿入口，注意生物防护。

#### 【标识的解释】

	体外诊断医疗器械		查阅使用说明书
	如包装破损切勿使用		怕雨
	向上		易碎物品，小心搬运
	怕晒		

#### 【参考文献】

1. Bert Vogelstein, Kenneth W Kinzler. Digital PCR. Proc Natl Acad Sci.96:9236-9241(1999).
2. Gudrun Pohl et al. Principle and applications of digital PCR. Expert Rev Mol Diagn.4(1):41-47(2004).

#### 【基本信息】

注册人/生产企业名称：领航基因科技（杭州）有限公司

住所：浙江省杭州市萧山区南阳街道横蓬园区红山工业区

联系方式：

售后服务单位名称：

联系方式：

生产地址：杭州市滨江区滨安路 688 号 6 号楼 402 室、5 号楼 1409/2305/2309 室、2 幢 E 楼 349/351/367 室

生产许可证编号：

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

【说明书核准及修改日期】