

受理号：CSZ2100124

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/肺炎支原体/流感嗜血杆菌核酸

联合检测试剂盒（PCR-荧光探针法）

产品管理类别：第三类

申请人名称：广东和信健康科技有限公司

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	11
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

广东和信健康科技有限公司

二、申请人住所

广州市黄埔区瑞发路1号1栋401房

三、生产地址

广州市黄埔区瑞发路1号自编(1)栋四层015号房，广州市
黄埔区瑞发路1号自编(2)栋四层

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

类别	组成	规格	数量	主要成分
核酸扩增试剂	1、SP/MP/HI/内标扩增反应液	1.0mL/支	1支	引物、探针、dNTPs 酶
	2、Taq DNA 聚合酶	15 μL/支	1支	
质控品	3、SP/MP/HI阳性对照	200 μL/支	1支	质粒菌
	4、SP/MP/HI阴性对照	200 μL/支	1支	Hep-2细胞

(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肺炎链球菌 (SP)、肺炎支原体 (MP) 和流感嗜血杆菌 (HI) 脱氧核糖核酸 (DNA)。

本产品适用于下呼吸道感染患者的肺炎链球菌、肺炎支原体和流感嗜血杆菌病原体感染肺炎的辅助诊断。

本产品采用荧光PCR技术对上述三种病原体进行核酸定性检测，适用于相关病原体肺炎的辅助诊断。结果仅供临床参考，不能单独作为确诊或排除病例的依据。

(三) 产品包装规格

48人份/盒。

(四) 产品检验原理

本试剂盒基于荧光PCR方法的原理结合Taqman荧光探针技术，采用荧光PCR在全封闭的扩增体系中检测SP特异性基因、MP特异性基因和HI特异性基因片段，同时针对人的 β -珠蛋白基因(β -globin)保守区域设计特异性引物和探针作为内参对样本的采集、DNA的提取及扩增进行监控。

二、临床前研究概述

(一) 主要原材料

1. 主要原材料的选择

本产品的主要原材料包括引物、探针、Taq DNA聚合酶和dNTPs。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质量要求并经检验合格。

2. 企业参考品设置情况

本产品企业参考品包括阴性参考品、阳性参考品、精密度参考品和检测限参考品。

阴性参考品10支，由金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、腺病毒3型、腺病毒7型、呼吸道合胞病毒A型、副流感病毒1型、副流感病毒2型、副流感病毒3型、甲型流感病毒、乙型流感病毒组成。阳性参考品15支，由试剂盒检测范围内的各病原体临床常见亚型组成，其中肺炎链球菌包含6A、26(6B)、14、19A、19F、23亚型，肺炎支原体包含I型和II型，流感嗜血杆菌包含a、b、c、d、e、f亚型。精密度参考品由SP/MP/HI

培养物混合制备而成，含中高浓度和低浓度两个梯度。检测限参考品6支，由试剂盒检测范围内的各病原体临床常见亚型的培养物混合制备而成，其中肺炎链球菌包含6A、26(6B)、14、19A、19F、23亚型，肺炎支原体包含I型和II型，流感嗜血杆菌包含a、b、c、d、e、f亚型。

(二) 生产工艺及反应体系研究

申请人通过对试剂主要生产工艺的研究，确定了最佳生产工艺。

申请人对反应体系中的引物探针浓度、dNTPs浓度、Taq DNA聚合酶用量、PCR Buffer及Mg²⁺浓度、反应体积、反应条件、样本用量和样本处理方式等进行筛选和优化验证最终确定了最佳反应体系。

(三) 分析性能评估

分析性能包括准确度、最低检测限、分析特异性（交叉反应和干扰试验）、精密度、核酸分离/纯化性能等。

准确度研究中，使用3批成品试剂盒检测企业阳性参考品、阴性参考品。结果表明企业参考品的检测结果均符合相应企业参考品的要求。

最低检测限研究中，使用3批成品试剂盒对试剂盒检测范围内的各病原体主要亚型菌株的梯度稀释样本进行检测，其中肺炎链球菌包括6A、26(6B)、14、19A、19F、23亚型，流感嗜血杆菌包括a、b、c、d、e、f亚型；肺炎支原体包括I型和II

型，将具有90%-95%的阳性检出率浓度水平确定为本试剂盒的最低检出限浓度；然后采用3批成品试剂盒对稀释至检出限浓度水平的各亚型样本进行检出限验证，最终确定本试剂盒的最低检出限为：肺炎链球菌为1000CFU/mL，流感嗜血杆菌为1000CFU/mL，肺炎支原体为500 Copies/mL。

分析特异性研究包含交叉反应研究和干扰研究。交叉反应评价中，使用3批试剂盒，采用 $\geq 10^5$ TCID₅₀/mL的病毒、 $\geq 10^6$ CFU/mL的细菌、 10^4 个/mL的细胞进行交叉反应。结果表明：本试剂盒与风疹病毒、腮腺炎病毒、麻疹病毒、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌、肠道病毒71型、柯萨奇病毒A16型、呼吸道合胞病毒A型、副流感病毒1型、MDCK细胞、Hep-2细胞、呼吸道合胞病毒B型、巨细胞病毒、甲型流感病毒、肺炎衣原体、乙型流感病毒、副流感病毒2型、副流感病毒3型、奈瑟氏菌属（脑膜炎奈瑟菌、淋球菌）、乳酸杆菌属（干酪乳杆菌、卷曲乳杆菌）、腺病毒3型、肠炎沙门氏菌、乙型溶血性链球菌、普通变形杆菌、EB病毒、嗜肺军团菌、表皮葡萄球菌、博卡病毒、单纯疱疹病毒1型、水痘带状疱疹病毒、百日咳杆菌、棒状杆菌、卡他莫拉菌、结核分枝杆菌、化脓性链球菌、粘质沙雷菌、白念珠菌、口腔链球菌、肺炎克雷伯菌、冠状病毒（OC43）、冠状病毒（229E）、偏肺病毒和肺孢子菌均不会发生交叉反应。

使用3批成品试剂盒，在病原体临界阳性水平进行干扰试验研究。结果表明：5%血液、1%粘蛋白及鼻内活流感病毒疫苗对本

试剂盒的检测无干扰；样本中存在药峰浓度的药物如肾上腺素（苯福林）、羟甲唑啉、氯化钠（含防腐剂）、倍氯美松、地塞米松、氟尼缩松、曲安奈德、布地奈德、莫米松（莫美他松）、氟替卡松、硫磺、金英、盐酸组胺、苯佐卡因、薄荷脑、扎那米韦、利巴韦林、奥司他韦、帕拉米韦、莫匹罗星、妥布霉素、穿琥宁、阿司匹林、布洛芬、对乙酰氨基酚、尼美舒利等对本试剂盒的检测不存在干扰。

使用3批成品试剂盒，在病原体临界阳性水平进行试验：结果显示与肺炎链球菌近源的常见菌种（无乳链球菌、乙型溶血性链球菌、缓型链球菌、口腔链球菌、化脓性链球菌、唾液链球菌），与流感嗜血杆菌近源的常见菌种（埃及嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌、副溶血嗜血杆菌、杜克嗜血杆菌），与肺炎支原体主要检测呼吸道常见的其他病原体（肺炎衣原体、嗜肺军团菌、卡他莫拉菌、金黄色葡萄球菌）对本试剂盒检测结果无干扰。

使用3批成品试剂盒，针对试剂盒检测范围内的各种靶病原体之间设计三三组合（一种靶病原体低浓度、另两种靶病原体高浓度），研究高浓度靶病原体对低浓度靶病原体的检测干扰情况，结果显示试剂盒检测范围内各病原体间不存在竞争干扰。

在精密度研究中，使用3批试剂盒，由两名操作者分别在三个适用机型上对阴性样本、临界阳性样本和强阳性样本进行连续20天的试验。结果表明：阴性样本的结果均为阴性，阴性检

出率为100%；临界阳性样本阳性检出率为100%；强阳性样本的阳性检出率为100%且检测结果的Ct值的 $CV \leq 5.0\%$ 。

申请人进行了核酸提取试剂盒性能的研究，确定配合使用的核酸提取试剂符合要求。

(四) 阳性判断值研究

申请人收集来自不同地域的多家临床机构的痰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327例样本，采用ROC曲线的方法进行研究，采用痰培养结果和/或测序和/或已上市同类产品检测的方法确认样本的阴阳性。通过结果统计分析确定本试剂盒检测肺炎支原体的阳性判断值为Ct值 ≤ 35.37 ，检测肺炎链球菌的阳性判断值为Ct值 ≤ 33.64 ，检测流感嗜血杆菌的阳性判断值为Ct值 ≤ 32.84 。内标Ct值的临界值确定为33.31。阳性判断值验证共纳入429例样本，同时与对比方法（测序和/或痰培养和/或已上市同类产品）进行比对研究，结果显示基于前述建立的阳性判断值进行结果的统计分析，符合率均为100%。

(五) 稳定性研究

稳定性研究包括试剂稳定性和样本稳定性。

实时稳定性研究：采用3批次试剂盒储存于规定储存条件下，分别在0、6、9、12、15、18和20个月对物理性能、准确度、特异性、检测限和精密度进行考察，各项性能指标均符合要求，确定产品于 $-25^{\circ}\text{C} \sim -15^{\circ}\text{C}$ 避光保存，可稳定保存

18个月。

试剂待机稳定性：配制反应体系，加入核酸，盖好PCR管盖后，于 $2^{\circ}\text{C}\sim 8^{\circ}\text{C}$ 分别放置2小时、4小时后、6小时后进行检测。结果表明：样本加样完成，若不立即上机测试，可在 $2^{\circ}\text{C}\sim 8^{\circ}\text{C}$ 保存6小时。

试剂开瓶及冻融稳定性：将试剂盒开瓶后于 $-25^{\circ}\text{C}\sim -15^{\circ}\text{C}$ 储存，在第2个月、第3个月、第4个月、第5个月和第6个月将试剂盒取出，在室温条件下融化并振荡混匀后进行检测。结果表明：试剂开封后于 $-25^{\circ}\text{C}\sim -15^{\circ}\text{C}$ 避光保存，在6个月内经过5次反复冻融，试剂性能稳定。

痰液样本稳定性：收集肺炎链球菌、肺炎支原体、流感嗜血杆菌阳性临床样本根据需要分成若干支，分别储存于 $2^{\circ}\text{C}\sim 8^{\circ}\text{C}$ 、 $-25^{\circ}\text{C}\sim -15^{\circ}\text{C}$ 、 -70°C ，按规定的频率取出进行PCR检测。结果表明：样本在 $2^{\circ}\text{C}\sim 8^{\circ}\text{C}$ 可保存72小时； $-25^{\circ}\text{C}\sim -15^{\circ}\text{C}$ 可保存6个月； -70°C 可保存3年。样本冻融5次，对检测结果无明显影响。

核酸样本稳定性：收集肺炎链球菌、肺炎支原体、流感嗜血杆菌阳性临床样本，根据需要分成若干支，提取核酸后，分别储存于 $2^{\circ}\text{C}\sim 8^{\circ}\text{C}$ 、 $-25^{\circ}\text{C}\sim -15^{\circ}\text{C}$ 、 -70°C ，按规定的频率取出进行PCR检测。结果表明：核酸样本在 $2^{\circ}\text{C}\sim 8^{\circ}\text{C}$ 可保存72小时； -20°C 可保存3个月； -70°C 可保存6个月；应避免反复冻融，冻融次数应不超过3次。

三、临床评价概述

申请人在广州市妇女儿童医疗中心、广州医科大学附属第一医院、武汉市第三医院共 3 家机构完成了临床试验。入组病例为确诊或疑似下呼吸道感染患者，如：肺炎、气管炎、支气管炎、支气管扩张等，具有咽痛、咳嗽、发热、呕吐等症状，临床试验还入组部分其他病原体感染患者。临床试验研究的样本类型为痰液。针对肺炎链球菌与流感嗜血杆菌采用试验用体外诊断试剂与临床参考方法一代测序法进行比对确认本产品的临床性能；针对肺炎支原体采用试验体外诊断试剂与已上市同类产品进行比对确认产品临床性能，已上市同类产品选择湖南圣湘生物科技有限公司的肺炎支原体核酸检测试剂盒（PCR-荧光探针法）。临床试验共计入组病例 739 例，其中肺炎链球菌阳性病例 178 例，肺炎支原体阳性病例 181 例，流感嗜血杆菌阳性病例 269 例。

试验结果显示，针对与一代测序进行对比的研究，肺炎链球菌阳性符合率为 100%（95%CI：99.84%-100%），阴性符合率为 99.29%（95%CI：98.59-99.98%），总符合率为 99.46%（95%CI：98.93%-99.99%），采用 kappa 检验方法进行统计学分析，kappa 值为 0.9853；流感嗜血杆菌阳性符合率为 97.77%（95%CI：96.00%-99.53%），阴性符合率为 99.36%（95%CI：98.64%-100%），总符合率为 98.78%（95%CI：97.99%-99.57%），采用 kappa 检验方法进行统计学分析，

kappa 值为 0.9736。针对与已上市同类产品进行的比对研究，肺炎支原体阳性符合率为 98.34%（95%CI：96.48%-100%），阴性符合率为 99.82%（95%CI：99.47%-100%），总符合率为 99.46%（95%CI：98.93%-99.99%），采用 kappa 检验方法进行统计学分析，kappa 值为 0.9853，临床试验显示试验体外诊断试剂与临床参考方法或已上市同类产品检测结果之间的一致性具有统计学意义。

为进一步确认试验体外诊断试剂的临床性能，临床试验进行了试验体外诊断试剂与病原体分离培养的比对研究，其中肺炎链球菌培养阳性病例 38 例，试验体外诊断试剂检出率为 100%；肺炎支原体培养阳性病例 31 例，试验体外诊断试剂检出率为 100%；流感嗜血杆菌培养阳性病例 41 例，试验体外诊断试剂检出率为 97.56%。针对不一致的样本进行了合理的分析。

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。临床试验结果显示该产品与病原体核酸测序、已上市同类产品及病原体分离培养结果一致性较好。

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. 本试剂盒适用于辅助临床诊断，结果仅供临床参考，
不能单独作为确诊或排除病例的依据。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. 不合理的样本采集、转运及处理，样本中浓度过低均
有可能导致假阴性结果。

综合评价意见

依据《医疗器械监督管理条例》（国务院令第680号）、《体外诊断试剂注册管理办法》（原国家食品药品监督管理总局令第5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。

2023年11月20日

附件：产品说明书

肺炎链球菌/肺炎支原体/流感嗜血杆菌核酸联合检测试剂盒 (PCR-荧光探针法) 说明书

【产品名称】

肺炎链球菌/肺炎支原体/流感嗜血杆菌核酸联合检测试剂盒 (PCR-荧光探针法)

【包装规格】

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肺炎链球菌 (SP)、肺炎支原体 (MP) 和流感嗜血杆菌 (HI) 脱氧核糖核酸 (DNA)。

本产品适用于下呼吸道感染患者的肺炎链球菌、肺炎支原体和流感嗜血杆菌病原体感染肺炎的辅助诊断。

下呼吸道感染是我国临床上最常见的疾病之一，可引发咽痛、头痛、发热、乏力、肌肉酸痛、食欲减退、恶心、呕吐等症状，导致肺炎、鼻窦炎、中耳炎、化脓性脑膜炎、败血症、脓胸等疾病，诱发较高的发病率和病死率。社区获得性肺炎 (community-acquired pneumonia, CAP) 是临床最常见的下呼吸道感染性疾病之一，而肺炎链球菌、肺炎支原体和流感嗜血杆菌是导致社区获得性肺炎的重要病原体。目前临床上主要采用生化指标鉴定、病原体培养等方式确定感染病原体，但周期较长且分离培养较困难，阳性率低。本产品采用荧光PCR技术对上述三种病原体进行核酸定性检测，适用于相关病原体肺炎的辅助诊断。结果仅供临床参考，不能单独作为确诊或排除病例的依据。

【检验原理】

本试剂盒基于荧光PCR方法的原理结合Taqman荧光探针技术，采用四色荧光PCR在全封闭的扩增体系中检测SP特异性基因lytA、MP特异性基因P1和HI特异性基因片段OmpP6，同时针对人的β-珠蛋白基因 (β-globin) 保守区域设计特异性引物和探针作为内参对样本的采集、DNA的提取及扩增进行监控。

【主要组成成分】

类别	组成	规格	数量	主要成分
核酸扩增试剂	1、SP/MP/HI/内标扩增反应液	1.0mL/支	1支	引物、探针、dNTPs 酶
	2、Taq DNA 聚合酶	15μL/支	1支	
质控品	3、SP/MP/HI阳性对照	200μL/支	1支	质粒菌 Hep-2细胞
	4、SP/MP/HI阴性对照	200μL/支	1支	

试剂盒不提供但需准备的仪器和耗材：

- 1) 0.6mL或1.5mL离心管 (推荐AXYGEN)；
- 2) 八排管或96孔板 (推荐AXYGEN)；
- 3) 移液器 (10μL、100μL、200μL、1000μL)；

- 4) Tip头 (10 μ L、100 μ L、200 μ L、1000 μ L) ;
- 5) 离心机 (手掌型离心机; 高速离心机, 转速 \geq 13000rpm) 等。
- 6) 使用广东和信健康科技有限公司生产的核酸提取或纯化试剂 (粤穗械备20150194号) 进行核酸提取。

【储存条件及有效期】

试剂盒未开封情况下于-25 $^{\circ}$ C~-15 $^{\circ}$ C避光保存, 有效期18个月。

试剂盒开瓶后在-25 $^{\circ}$ C~-15 $^{\circ}$ C避光保存, 有效期为6个月。

试剂盒冻融5次以内性能稳定, 超过5次未验证, 应尽量避免反复冻融。

生产日期及失效日期: 见标签。

【适用仪器】

ABI 7500 Real-Time PCR System; 上海宏石医疗科技有限公司Slan荧光PCR检测系统 (SLAN-96P); 西安天隆科技有限公司的实时荧光定量PCR仪 (TL988)。

【样本要求】

1. 样本类型: 痰液。
2. 样本采集: 样本来源于门诊病例或住院病例。采集疑似下呼吸道感染患者的痰液, 要求白细胞数大于25/低倍视野且上皮细胞小于10/低倍视野为合格痰标本, 样本量应不少于0.6mL, 置于样本收集管中。
3. 样本保存:
痰液样本2 $^{\circ}$ C~8 $^{\circ}$ C保存, 不超过72小时; 也可保存于-25 $^{\circ}$ C~-15 $^{\circ}$ C待测, 保存期为6个月; -70 $^{\circ}$ C可保存3年; 应避免反复冻融, 冻融次数不超过5次。核酸样本在2 $^{\circ}$ C~8 $^{\circ}$ C可保存72小时; -25 $^{\circ}$ C~-15 $^{\circ}$ C可保存3个月; -70 $^{\circ}$ C可保存6个月; 应避免反复冻融, 冻融次数应不超过3次。

【检验方法】

一、样本处理

1. 向痰液样本中加入2倍体积4%氢氧化钠溶液, 静置30分钟, 待其充分液化, 在液化过程中可震荡2-3次, 如痰液粘稠, 可适当延长液化时间;
2. 待其完全呈液态状态 (无明显粘稠物), 取1mL加入离心管, 13000rpm离心5分钟;
3. 弃上清, 加入1mL生理盐水洗涤沉淀, 13000rpm离心5分钟;
4. 弃上清, 沉淀加入100 μ L生理盐水, 震荡混匀待用;
5. 取待测样本50 μ L, 质控品 (阳性对照和阴性对照) 50 μ L, 进行提取, 严格按照说明书操作。

二、PCR扩增

1. 配液: 取出 SP/MP/HI/内标扩增反应液, 室温融化后充分混匀, 短暂离心, 并按反应个数 n (n=样本数+2个外标质控品) 分别取反应液和酶按照以下配比配置反应液:

试剂	SP/MP/HI/内标扩增反应液	Taq DNA 聚合酶
用量 (n人份)	20 μ L \times n	0.3 μ L \times n

计算好各试剂用量，加入适当体积于离心管中，充分混匀，短暂离心，然后按20 μ L/管分装到PCR反应管中；

2. 加样：分别加入 5 μ L 处理好的样本核酸、阳性对照和阴性对照，盖紧管盖，短暂离心；

注：加样完成，若不立即上机测试，可在2 $^{\circ}$ C~8 $^{\circ}$ C保存6小时。

3. PCR 扩增：

将PCR反应管放入荧光PCR扩增仪进行扩增检测。ROX/FAM/VIC/CY5四种荧光同时勾选，其中ROX荧光指示肺炎链球菌，FAM荧光指示肺炎支原体，VIC荧光指示流感嗜血杆菌，CY5荧光指示内标 β -globin，荧光采集为Stage2 Step2 (55 $^{\circ}$ C 00:35)。循环参数设定：

步骤	循环数	温度	时间
1	1	94 $^{\circ}$ C	2分钟
2	40	94 $^{\circ}$ C	10秒
		55 $^{\circ}$ C	35秒

注：1、如使用ABI 7500 Real-Time PCR System，请务必于passive reference和quencher处均选择“none”；

2、若与本公司RT-PCR试剂盒同时进行，可在步骤1前增加步骤（48 $^{\circ}$ C，5分钟，循环数为1），此程序已验证。

三、结果分析

1. 反应结束后，根据相关仪器的软件进行分析。
2. 分析条件设置：根据分析后图像调节 Baseline 的 start 值、end 值（可根据试验情况自行调整，一般情况下 start 值可变范围在 1~10，end 值可变范围在 5~20）。阈值设定原则以阈值线刚好超过正常阴性对照曲线（无规则噪音线）的最高点为准。
3. 记录仪器自动分析计算出的样本 Ct 值。

四、质量控制

1. 阴性对照：SP、MP、HI 均无 S 型扩增曲线，Ct 值显示为 Undet；内标 Ct 值 \leq 30；
2. 阳性对照：SP、MP、HI 均有典型的 S 型阳性扩增曲线，且 Ct 值 \leq 30.00；
3. 上述两个条件必须同时满足，否则，本次试验无效。

【阳性判断值】

收集不同地域的痰液样本共327例采用ROC曲线法进行阳性判断值建立，纳入429例痰液样本进行阳性判断值验证，确定本试剂盒肺炎链球菌的阳性判断值为Ct值 \leq 33.64，肺炎支原体的阳性判断值为Ct值 \leq 35.37，流感嗜血杆菌的阳性判断值为Ct值 \leq 32.84，内标阳性判断值为Ct值 \leq 33.31。

【检验结果的解释】

在实验有效的前提下，检验结果依据表1和表2进行判断。

表1 各荧光通道Ct值和阴、阳性结果判断

荧光通道（靶基因）	Ct值	各荧光通道阴、阳性判断结果
CY5（内标）	Ct值>33.31或Undet	阴性结果
	Ct值≤33.31	阳性结果
ROX（SP）	Ct值>33.64或Undet	阴性结果
	Ct值≤33.64	阳性结果
FAM（MP）	Ct值>35.37或Undet	阴性结果
	Ct值≤35.37	阳性结果
VIC（HI）	Ct值>32.84或Undet	阴性结果
	Ct值≤32.84	阳性结果

表2 SP、MP和HI检测结果判定

内标	SP	MP	HI	结果判定
+	-	-	-	SP、MP、HI全部阴性
+或-	+	-	-	SP阳性，MP、HI阴性
+或-	+	+	-	SP、MP阳性，HI阴性
+或-	+	-	+	SP、HI阳性，MP阴性
+或-	+	+	+	SP、MP、HI全部阳性
+或-	-	+	-	SP、HI阴性，MP阳性
+或-	-	+	+	SP阴性，MP、HI阳性
+或-	-	-	+	SP、MP阴性，HI阳性
-	-	-	-	PCR反应失败，可能是DNA样品制备过程中有抑制物，建议将DNA稀释10或者100倍后重复测定，如果有荧光信号，则按上述判定结果，否则重新进行采样

注：“+”表示阳性；“-”表示阴性

【检验方法的局限性】

1. 本试剂盒适用于辅助临床诊断，结果仅供临床参考，不能单独作为确诊或排除病例的依据。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. 不合理的样本采集、转运及处理、样本中浓度过低均有可能导致假阴性结果。

【产品性能指标】

1. 使用流感嗜血杆菌和肺炎链球菌国家参考品进行检测，结果均符合国家参考品要求。
2. 使用企业参考品进行检测，结果均符合企业参考品要求。
3. 最低检出限：采用各病原体临床常见的不同亚型进行研究，肺炎链球菌包括6A、6B（26）、14、19A、19F、23型，肺炎支原体 I 型和 II 型，流感嗜血杆菌包括a、b、c、d、e、f型，确定检测肺炎链球菌的最低检出限为 1×10^3 CFU/mL，检测肺炎支原体的最低检出限为 5×10^2 copies/mL，检测流感嗜血杆菌的最低检出限为 1×10^3 CFU/mL。
4. 精密度：采用阴性、弱阳性、强阳性样本由2位操作者进行连续20天的精密度研究，阴性样本的阴性符合率为100%，弱阳性样本的阳性检出率为100%，强阳性样本的阳性检出率为100%

且检测结果的Ct值的CV≤5.0%。

5. 分析特异性

(1) 交叉反应：本试剂盒与风疹病毒、腮腺炎病毒、麻疹病毒、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌、肠道病毒71型、柯萨奇病毒A16型、呼吸道合胞病毒A型、副流感病毒1型、MDCK细胞、Hep-2细胞、呼吸道合胞病毒B型、巨细胞病毒、甲型流感病毒、肺炎衣原体、乙型流感病毒、副流感病毒2型、副流感病毒3型、奈瑟氏菌属（脑膜炎奈瑟菌、淋球菌）、乳酸杆菌（干酪乳杆菌、卷曲乳杆菌）、腺病毒3型、肠炎沙门氏菌、乙型溶血性链球菌、普通变形杆菌、EB病毒、嗜肺军团菌、表皮葡萄球菌、博卡病毒、单纯疱疹病毒1型、水痘带状疱疹病毒、百日咳杆菌、棒状杆菌、卡他莫拉菌、结核分枝杆菌、化脓性链球菌、粘质沙雷菌、白念珠菌、口腔链球菌、肺炎克雷伯菌、冠状病毒（OC43）、冠状病毒（229E）、偏肺病毒和肺孢子菌均不会发生交叉反应。

(2) 内源/外源物质干扰试验：在药峰浓度下的常见药物如肾上腺素（苯福林）、羟甲唑啉、氯化钠（含防腐剂）、倍氯美松、地塞米松、氟尼缩松、曲安奈德、布地奈德、莫米松（莫美他松）、氟替卡松、硫酸、金英、盐酸组胺、苯佐卡因、薄荷脑、扎那米韦、利巴韦林、奥司他韦、帕拉米韦、莫匹罗星、盐酸头孢吡肟、妥布霉素、穿琥宁、阿司匹林、布洛芬、对乙酰氨基酚、尼美舒利均不会干扰本试剂盒检测；5%血液、1%粘蛋白及鼻内活流感病毒疫苗不会干扰本试剂盒检测。

(3) 竞争性干扰：经验证与肺炎链球菌近源的常见菌种（无乳链球菌、乙型溶血性链球菌、缓型链球菌、口腔链球菌、化脓性链球菌、唾液链球菌），与流感嗜血杆菌近源的常见菌种（埃及嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌、副溶血嗜血杆菌、杜克嗜血杆菌），与肺炎支原体主要检测呼吸道常见的其他病原体（肺炎衣原体、嗜肺军团菌、卡他莫拉菌、金黄色葡萄球菌）对本试剂盒检测结果无干扰；经验证试剂盒内各病原体在浓度高至10⁶CFU/mL下不影响低浓度样本的检测。

6. 临床性能：在三家临床单位共进行739例临床样本的检测，结果总结如下：

符合率 病原体	阳性符合率	阴性符合率	总符合率	Kappa值
SP	100% (95%CI: 99.84%~100%)	99.29% (95%CI: 98.59~99.98%)	99.46% (95%CI: 98.93%~99.99%)	0.9853
MP	98.34% (95%CI: 96.48%~100%)	99.82% (95%CI: 99.47%~100%)	99.46% (95%CI: 98.93%~99.99%)	0.9853
HI	97.77% (95%CI: 96.00%~99.53%)	99.36% (95%CI: 98.64%~100%)	98.78% (95%CI: 97.99%~99.57%)	0.9736

注：SP为肺炎链球菌、MP为肺炎支原体、HI为流感嗜血杆菌。

【注意事项】

1. 本试剂盒仅用于体外检测。
2. 实验前请仔细阅读本试剂盒说明书，严格按操作步骤执行；不使用本试剂盒提供的组分

或不按照说明书进行实验将可能导致错误结果。

3. 实验室管理应严格按照国家有关分子生物学实验室、临床基因扩增实验室的管理规范执行。实验人员必须进行专业培训；实验过程应分区进行（试剂准备区、样本制备区、扩增和产物分析区），实验操作的每个阶段使用专用的仪器和设备，各区各阶段用品不得交叉使用；各区间人员流动及空气流向应有严格要求，最大限度避免交叉污染；实验用消耗品（如离心管、移液器吸头等）应有合理的清洁和质检程序，避免污染或扩增反应抑制物造成假阴性结果。
4. 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。
5. 为了避免样本中任何潜在的生物危害，检测样品均应视为具有传染性物质，避免接触到皮肤，样本的处理应在生物安全柜中操作，操作中废弃物均应按照医疗废弃物进行无害化处理。
6. 操作台、移液器、离心机、耗材等仪器用品应经常用 1.0% 次氯酸钠或稀盐酸擦拭消毒或浸泡。实验房间、超净工作台应定期或每次实验后用紫外灯处理。
7. 手和灰尘是最常见的污染源，所以操作过程一定要带手套，勤换手套，一旦手套接触到样品，立即更换手套。

【标识的解释】



避免日晒



避免雨淋



体外诊断试剂



参考使用说明



向上

【参考文献】

- [1] Busetti M, Longo B, Campello C. Low rates of antimicrobial resistance in respiratory pathogens from a pediatric population in North-eastern Italy[J]. *Pediatr Med Chir*, 2003, 25(2):131-4.
- [2] Lagerstrom F, Bader M, Foldevi M, et al. Microbiological etiology in clinically diagnosed community-acquired pneumonia in primary care in Orebro, Sweden[J]. *Clin Microbiol Infect*. 2003, 9(7):645-52.
- [3] Makela PH. Conjugate vaccines-a breakthrough in vaccine development[J]. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 2003, 34(2):249-53.
- [4] Rosinska M, Zielinski A. In process citation[J]. *Przegl Epidemiol*, 2003, 57(1):57-65.
- [5] Russell FM, Buttery J. Vaccine development for capsulate bacteria causing pneumonia [J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2003, 9 (3):227-32.

【基本信息】

注册人/生产企业名称：广东和信健康科技有限公司

住所：广州市黄埔区瑞发路1号1栋401房（部位：瑞发路1号自编（1）栋四层001-014房）

邮政编码： 电话号码： 传真号码：

售后服务单位：

邮政编码： 电话号码： 传真号码：

生产地址：广州市黄埔区瑞发路1号自编（1）栋四层015号房，广州市黄埔区瑞发路1号自编

（2）栋四层

生产许可证编号：

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

【说明书核准日期及修改日期】