受理号：CSZ2400089

体外诊断试剂产品注册技术审评报告

产品中文名称：碳青霉烯耐药基因检测试剂盒（荧光 PCR 法）

产品管理类别：第三类

申 请 人 名 称 ： 上海伯杰医疗科技股份有限公司

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

上海伯杰医疗科技股份有限公司

二、申请人住所

上海市奉贤区沪杭公路 1588 号 3 号楼 1302、1303、1304、1305、1306、1307、1309 室

三、生产地址

上海市奉贤区沪杭公路 1588 号 3 号楼 502 室、604 室、1003 室、1302 室

技术审评概述

一、产品概述

（一）产品主要组成成分

产品主要组成成分见表 1:

表 1 试剂盒主要组成成分

组分名称	规格及数量		主要成分
	25人份	50人份	
核酸扩增反应液	800μL×1管	800μL×2管	缓冲液、dNTPs、DNA聚合酶、UDG
A管反应液	100μL×1管	200μL×1管	NDM、OXA-48目的检测基因和GAPDH内参的引物、探针
B管反应液	100μL×1管	200μL×1管	KPC、OXA-23目的检测基因和GAPDH内参的引物、探针
阳性对照	500μL×1管	500μL×1管	已灭活的含10^6~10^8copies/mL目的基因和内参基因片段的工程菌菌液
阴性对照	500μL×1管	500μL×1管	生理盐水

具体内容详见产品说明书

（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 4 种碳青霉烯耐药基因，包括：KPC、NDM、OXA-23、OXA-48。

用于疑似革兰氏阴性菌引起的院内获得性肺炎、呼吸机相关肺炎病例的检测，用于临床已经明确或高度怀疑细菌感染的情况下使用，检测结果仅作为经验用药的参考。

细菌耐药已成为全球公共健康领域的重大挑战。耐碳青霉烯类肠

杆菌科细菌（Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae，CRE）与碳青霉烯类耐药鲍曼不动杆菌为 1 类重点（极为重要）的新型抗菌药物研发病原体，产碳青霉烯酶是其耐药的最主要原因。碳青霉烯酶可分为 A、B 和 D 三大类。最常见的 A 类酶是肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶（Klebsiella Pneumoniae Carbapenemases，KPC），B 类酶是新德里金属 β-内酰胺酶（New Delhi Metallo-β-lactamases，NDM），D 类酶为苯唑西林酶（Oxacillinase，OXA）。

不同国家、不同地区、不同医院、不同人群以及不同细菌所产的碳青霉烯酶种类均有差异。我国临床分离的 CRE 菌株产生的碳青霉烯酶以 KPC 和 NDM 型为主，少数菌株产生 OXA-48、IMP（Imipenemase，亚胺培南酶）和 VIM（Verona integron-encoded metallo-β-lactamases，维罗纳整合子编码的金属 β-内酰胺酶）型碳青霉烯酶。我国耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌（Cabapenem resistant acinetobacter baumannii，CRAB）中 OXA-23 的检出率可高达 80%以上。

本试剂盒检测结果仅供临床参考，不得作为临床诊断的唯一标准。建议结合患者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

25 人份/盒；50 人份/盒。

（四）产品检验原理

本试剂盒采用实时荧光 PCR 技术，以 4 种碳青霉烯耐药基因：

KPC、NDM、OXA-48、OXA-23 相对保守区域为靶区域，分别设计特异性引物和探针，通过 2 管检测，实现同时对 4 种耐药基因进行检测。临床样本提取核酸后，通过荧光定量 PCR 仪进行扩增，同时收集荧光信号，仪器软件系统自动绘制出实时扩增曲线。本试剂盒设置了内源性甘油醛-3-磷酸脱氢酶（GAPDH）作为内参对照，用于对样本采集、保存和运输以及核酸提取过程进行监控，避免假阴性结果；试剂盒使用的 UDG 酶和 dUTP，可有效避免 PCR 扩增产物污染的假阳性结果。

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核酸扩增反应液、引物和探针等。这些原材料均是通过外购的方式获得。其中引物、探针的序列由申请人自行设计，由合成公司制备。申请人对主要原材料进行了供应商的选择，通过功能性试验筛选出合格供应商，制定了主要原材料的质量标准并经检验合格。

2. 企业参考品和质控品的设置情况

本产品企业参考品包括阳性参考品、阴性参考品、检测限参考品和精密度参考品。

阳性参考品 8 支，为含有相应的碳青霉烯耐药基因的菌株培养液，包含 KPC、NDM、OXA-23、OXA-48 各 2 支。阴性参考品 11 支，9

支为不含相应的碳青霉烯耐药基因的菌株培养液和 2 支为不含靶标基因的人痰液样本。检测限参考品 1 支，为检出限水平的分别产碳青霉烯耐药基因 KPC、NDM、OXA-23 和 OXA-48 的菌株培养液的混合液。精密度参考品 3 支，两个浓度水平分别产碳青霉烯耐药基因 KPC、NDM、OXA-23 和 OXA-48 的菌株培养液的混合液和碳青霉烯耐药基因阴性样本。

本试剂盒设置了阳性对照和阴性对照，阳性对照为含有目的基因和内参基因的工程菌菌液，阴性对照为生理盐水，可用于检测过程中的质量控制。

（二）生产工艺及反应体系研究

申请人对试剂盒的反应体系研究包括：样本采集和处理、反应体系总体积、引物/探针浓度、内参干扰、PCR 加样量、扩增反应程序和基线与阈值线等的确定。通过功能性实验，最终确定了最佳反应体系。

申请人根据试剂盒中试剂的主要生产工艺的研究结果，确定了最佳的生产工艺。

（三）分析性能评估

本产品分析性能评估内容主要包括准确度、精密度、最低检测限、特异性（交叉反应、干扰试验）、包容性、核酸提取性能。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。

在准确度研究中，申请人分别使用三批试剂对企业参考品检测，阳性参考品符合率为 100%；阴性参考品符合率为 100%。分别使用三批试剂对耐碳青霉烯类革兰阴性杆菌样本进行检测，试剂盒检测靶标内相应耐药基因均为阳性，试剂盒检测靶标外相应耐药基因均为阴性，检测结果满足要求。

在精密度研究中，申请人采用三批试剂对每个靶基因的中阳性样本、检测限浓度阳性样本和阴性样本进行两种适用机型上为期 20 天的检测，对批内/批间、日内/日间、操作者内/操作者间、实验室内/实验室间精密度进行了评价。研究结果表明中阳性样本的阳性检出率均为 100%，且批内、批间、日内、日间、操作者内、操作者间、实验室内、实验室间精密度的变异系数（*CV*）均不大于 5.0%；检测限浓度阳性样本的阳性检出率均≥95%；阴性样本阴性符合率均为 100%。

在最低检测限研究中，申请人分别使用六批试剂进行最低检测限研究，将具有 95%阳性检出率的最低浓度水平作为确定的最低检测限，并进行最低检测限验证。研究结果表明：试剂盒的检出限浓度为 500 copies/mL。

在交叉反应研究中，申请人分别使用三批试剂对试剂盒检测范围内的各耐药基因进行检测，结果表明不存在试剂盒内不同耐药基因之间的交叉反应；对浓度为 10^8 CFU/mL 的具有检测范围外其它耐药基因细菌样本，包括大肠埃希菌、粪肠球菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单

胞菌、阴沟肠杆菌、产酸克雷伯菌、鲍曼不动杆菌、弗氏柠檬酸杆菌、奇异变形杆菌、艰难梭菌、屎肠球菌、嗜麦芽窄食单胞菌、产气肠杆菌、摩氏摩根菌、白色念珠菌、嗜肺军团菌、金黄色葡萄球菌、脑膜炎奈瑟菌、肺炎链球菌、沙门氏菌和浓度为 10^8 copies/mL 的产其他种类碳青霉烯耐药基因细菌样本，包括肺炎克雷伯菌（VIM）、粘质沙雷氏菌（VIM）、大肠埃希菌（IMP）、肺炎克雷伯菌（IMP）进行检测，结果表明本试剂盒不与上述所示细菌产生交叉反应。分别使用三批试剂对浓度为 10^8 copies/mL 的其他碳青霉烯酶耐药基因型（SME、NMC、IMI、GES、VIM、IMP、OXA-24、OXA-51 和 OXA-58）耐药菌进行检测，结果表明本试剂盒不与上述所示其他碳青霉烯酶耐药基因产生交叉反应；对浓度为 10^8 copies/mL 的产 ESBLs 的其他常见耐药菌（肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、奇异变形杆菌、产酸克雷伯菌和阴沟肠杆菌）进行检测，结果表明本试剂盒不与上述所示其他常见耐药菌产生交叉反应。表明本试剂盒具有较好的特异性。

在干扰物质研究中，申请人分别使用三批试剂对临界阳性样本和阴性样本中分别加入干扰物质的方法进行验证，研究结果显示：含粘蛋白（≤0.9 mg/mL）标本、含 5%血液标本、亚胺培南（≤39 mg/L）、美罗培南（≤10 mg/L）、多粘菌素（≤8 mg/L）、万古霉素（≤30 mg/L）、阿米卡星（≤38 mg/L）、氨曲南（≤49 mg/L）、头孢拉定（≤18 mg/L）、头孢曲松（≤9.9 mg/L）、头孢吡肟（≤32.4 mg/L）、氨苄西林（≤12

mg/L）、环丙沙星（≤2.56 mg/L）、左氧氟沙星（≤3.06 mg/L）、三唑巴坦（≤1.3 mg/L）、利福平（≤9 mg/L）、舒巴坦（≤43 mg/L）、胆酸盐（≤0.9%）、消化酶（≤1.25%）对本试剂盒不产生干扰。

在包容性研究中，申请人分别使用六批试剂对靶标范围内阳性耐药菌样本进行检测，耐药基因包括 KPC（KPC-2、KPC-3、KPC-12、KPC-15、KPC-21、KPC-33、KPC-71、KPC-90、KPC-116、KPC-134、KPC-135、KPC-147）、NDM（NDM-1、NDM-4、NDM-5、NDM-6、NDM-7、NDM-9、NDM-14、NDM-36、NDM-37、NDM-41）、OXA-23 和 OXA-48，研究表明上述耐药菌均能检出。检测结果表明，本试剂盒有较好的包容性。

在核酸提取性能研究中，申请人分别使用三批试剂评估了产品配套使用的核酸提取试剂盒的提取效果，评价指标包括纯度、提取效率、重复性等，研究结果表明配套使用的核酸提取试剂盒的核酸提取效果满足产品使用需求。

（四）阳性判断值研究

阳性参考值的确定：选取 164 例痰液样本，使用本试剂盒进行检测，并采用受试者工作特征（ROC）曲线对检测结果进行阳性判断值分析，选择 Youden 指数最大的断点对应的临界值作为试剂盒的阳性判断值，确定 cut off 值为 38。

阳性判断值验证：选取来自临床机构的临床上诊断明确的 140 例

痰液样本进行阳性判断值验证，符合率良好。

（五）稳定性研究

申请人对产品进行了稳定性研究，包括货架效期稳定性研究、开封稳定性研究、运输稳定性研究等。研究结果表明：试剂盒避光-20±5℃储存，有效期 12 个月。试剂盒开封稳定性、运输稳定性等研究结果支持说明书声称。

样本稳定性研究：为考察该试剂对不同条件下储存不同时间的样本的检出性能，申请人使用该试剂分别对 2~8℃储存、-20±5℃储存、-70℃以下储存等储存条件下样本进行测试，研究结果支持说明书声称。

三、临床评价概述

本产品在浙江省人民医院、十堰市太和医院（湖北医药学院附属医院）、宁波市医疗中心李惠利医院、简阳市人民医院四家临床试验机构进行临床试验。临床试验入组病例为住院病人、有相关细菌性感染症状，临床怀疑为革兰氏阴性菌引起的院内获得性肺炎、呼吸机相关肺炎病例，试验体外诊断试剂适用样本类型为痰液。临床试验包括三部分研究。

第一部分研究为试验体外诊断试剂检测结果与微生物培养及药敏试验的对比研究，临床试验中药敏试验所用抗菌药物为美罗培南。四家中心临床试验共入组 1356 例患者，药敏试验结果为敏感的病例 783 例，药敏试验结果为耐药的病例 573 例，其中包括耐碳青霉烯肠杆菌

科细菌 170 例，耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌 229 例，耐碳青霉烯铜绿假单胞菌 86 例。临床试验结果显示，试验体外诊断试剂与微生物培养及药敏试验比对，阳性符合率为 93.19%（95%CI：90.83%～94.98%），阴性符合率为 93.49%（95%CI：91.54%～95.01%）。

第二部分研究为试验体外诊断试剂检测结果与一代测序法的对比研究，四家中心临床试验共入组 1356 例患者，针对耐药基因 OXA-48，对比方法检测阳性病例 77 例，对比方法检测阴性病例 1279 例，临床试验结果显示，试验体外诊断试剂与一代测序比对，阳性符合率为 100%（95%CI：95.25%～100%），阴性符合率为 99.37%（95%CI：98.77%～99.68%）；针对耐药基因 NDM，对比方法检测阳性病例 117 例，对比方法检测阴性病例 1239 例，临床试验结果显示，试验体外诊断试剂与一代测序比对，阳性符合率为 100%（95%CI：96.82%～100%），阴性符合率为 98.87%（95%CI：98.11%～99.33%）；针对耐药基因 KPC，对比方法检测阳性病例 197 例，对比方法检测阴性病例 1159 例，临床试验结果显示，试验体外诊断试剂与一代测序比对，阳性符合率为 100%（95%CI：98.09%～100%），阴性符合率为 98.27%（95%CI：97.35%～98.88%）；针对耐药基因 OXA-23，对比方法检测阳性病例 223 例，对比方法检测阴性病例 1133 例，临床试验结果显示，试验体外诊断试剂与一代测序比对，阳性符合率为 100%（95%CI：98.31%～100%），阴性符合率为 97.09%（95%CI：95.94%～97.92%）。

第三部分研究为试验体外诊断试剂不同适用机型的比对研究，申报产品适用于 ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪、上海宏石 SLAN-96S 全自动医用 PCR 分析系统。针对两个适用机型的比对研究共入组病例 1356 例，针对耐药基因 OXA-48，对比机型检测阳性病例 84 例，对比机型检测阴性病例 1272 例，临床试验结果显示，阳性符合率为 100%（95%CI: 95.63%～100%），阴性符合率为 99.92%（95%CI: 99.56%～99.99%）；针对耐药基因 NDM，对比机型检测阳性病例 131 例，对比机型检测阴性病例 1225 例，临床试验结果显示，阳性符合率为 100%（95%CI: 97.15%～100%），阴性符合率为 100%（95%CI: 99.69%～100%）；针对耐药基因 KPC，对比机型检测阳性病例 218 例，对比机型检测阴性病例 1138 例，临床试验结果显示，阳性符合率为 99.54%（95%CI: 97.45%～99.92%），阴性符合率为 100%（95%CI: 99.66%～100%）；针对耐药基因 OXA-23，对比机型检测阳性病例 255 例，对比机型检测阴性病例 1101 例，临床试验结果显示，阳性符合率为 100%（95%CI: 98.52%～100%），阴性符合率为 99.91%（95%CI: 99.49%～99.98%）。

综上所述，临床试验结果显示本产品的临床性能满足技术审评要求。

四、产品受益风险判定

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，

认为该产品的上市为适用人群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. 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、其他实验室检查及治疗反应等情况综合考虑。

2. 不合理的样品采集、运输、保存以及不当的试剂运输、保存、配制都可能会影响实验结果，甚至会导致假阴性结果。

3. 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。

4. 实验室污染、试剂污染、样品交叉污染，可能出现假阳性结果。

5. 本产品所检测的 4 个耐药基因是导致碳青霉烯耐药的主要机制，但并非是碳青霉烯耐药机制所特有。

综合评价意见

本申报项目为境内第三类体外诊断试剂产品注册。申请人的注册申报资料符合现行要求，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，经系统评价后，建议准予注册。

2025年8月4日

附件：产品说明书

碳青霉烯耐药基因检测试剂盒（荧光 PCR 法）说明书

【产品名称】

通用名称：碳青霉烯耐药基因检测试剂盒（荧光 PCR 法）

【包装规格】25 人份/盒；50 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 4 种碳青霉烯耐药基因，包括：KPC、NDM、OXA-23、OXA-48。

用于疑似革兰氏阴性菌引起的院内获得性肺炎、呼吸机相关肺炎病例的检测，用于临床已经明确或高度怀疑细菌感染的情况下使用，检测结果仅作为经验用药的参考。

细菌耐药已成为全球公共健康领域的重大挑战。耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌（Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae，CRE）与碳青霉烯类耐药鲍曼不动杆菌为 1 类重点（极为重要）的新型抗菌药物研发病原体，产碳青霉烯酶是其耐药的最主要原因。碳青霉烯酶可分为 A、B 和 D 三大类。最常见的 A 类酶是肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶（Klebsiella Pneumoniae Carbapenemases，KPC），B 类酶是新德里金属 β-内酰胺酶（New Delhi Metallo-β-lactamases，NDM），D 类酶为苯唑西林酶（Oxacillinase，OXA）。

不同国家、不同地区、不同医院、不同人群以及不同细菌所产的碳青霉烯酶种类均有差异。我国临床分离的 CRE 菌株产生的碳青霉烯酶以 KPC 和 NDM 型为主，少数菌株产生 OXA-48、IMP（Imipenemase，亚胺培南酶）和 VIM（Verona integron-encoded metallo-β-lactamases，维罗纳整合子编码的金属 β-内酰胺酶）型碳青霉烯酶。我国耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌（Cabapenem resistant acinetobacter baumannii，CRAB）中 OXA-23 的检出率可高达 80%以上。

本试剂盒检测结果仅供临床参考，不得作为临床诊断的唯一标准。建议结合患者临床表现和其他实验室检测对病情进行综合分析。

【检验原理】

本试剂盒采用实时荧光 PCR 技术，以 4 种碳青霉烯耐药基因：KPC、NDM、OXA-48、OXA-23 相对保守区域为靶区域，分别设计特异性引物和探针，通过 2 管检测，实现同时对 4 种耐药基因进行检测。临床样本提取核酸后，通过荧光定量 PCR 仪进行扩增，同时收集荧光信号，仪器软件系统自动绘制出实时扩增曲线。本试剂盒设置了内源性甘油醛-3-磷酸脱氢酶（GAPDH）作为内参对照，用于对样本采集、保存和运输以及核酸提取过程进行监控，避免假阴性结果；试剂盒使用的 UDG 酶和 dUTP，可有效避免 PCR 扩增产物污染的假阳性结果。

【主要组成成分】

组分名称	规格及数量		主要成分
	25 人份	50 人份	
核酸扩增反应液	800μL×1 管	800μL×2 管	缓冲液、dNTPs、DNA 聚合酶、UDG
A 管反应液	100μL×1 管	200μL×1 管	NDM、OXA-48 目的检测基因和 GAPDH 内参的引物、探针
B 管反应液	100μL×1 管	200μL×1 管	KPC、OXA-23 目的检测基因和 GAPDH 内参的引物、探针
阳性对照	500μL×1 管	500μL×1 管	已灭活的含 10^6~10^8copies/mL 目的基因和内参基因片段的工程菌菌液
阴性对照	500μL×1 管	500μL×1 管	生理盐水

说明：

①不同批号的组分不可以互换使用。

②自备试剂：核酸提取试剂盒，可采用上海伯杰医疗科技股份有限公司生产的核酸提取及纯化试剂（沪奉械备 20180202 号），货号：TQ-BG-008-96B。

【储存条件及有效期】

1. 避光-20±5℃储存，有效期 12 个月。
2. 采用泡沫箱加冰袋的运输方式，运输及开箱温度不得高于 15℃，运输时间不超过 5 天。开封后避光-20±5℃储存，对有效期没有影响。避免反复冻融，冻融次数不超过 6 次。
3. 生产日期、有效期至：见外包装盒。

【适用仪器】

ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪、上海宏石 SLAN-96S 全自动医用 PCR 分析系统。

【样本要求】

1. 适用样本类型：人痰液。
2. 样本采集：

用无菌采样管取受检者肺深部咳出痰液 1~3 毫升，密闭送检，标本可立即用于测试。

3. 样本保存：

用上述方法所采集的样本应尽快进行检测，如不立即检测，应放置于 2~8℃保存，并不超过 7 天。-20±5℃保存不超过 6 个月。-70℃以下保存不超过 18 个月。应避免反复冻融，冻融次数不得超过 3 次。

【检验方法】

1. 试剂准备（试剂准备区）

从试剂盒中取出核酸扩增反应液、A 管反应液（B 管反应液），室温融化，充分振荡混匀后瞬时离心。

计算试剂使用份数 N（N=样本数+1 管阳性对照+1 管阴性对照），根据下表配制反应体系 mix，加入一适当体积离心管中，充分振荡混匀后瞬间离心，按 20 μL 分装至 PCR 反应管中，并转移至样本处理区（A 管和 B 管各配制上述 N 份试剂）。

组分名称	体积（μL）*N
核酸扩增反应液	16*N
A 管反应液（B 管反应液）	4*N
总体积	20*N

2. 样本处理（样本处理区）

①核酸提取：

a.阳性对照及阴性对照，取 200 μL 按照核酸提取试剂盒说明书进行操作。

b.痰液：取适量痰液样本，加入 4 倍体积的 4%NaOH（自备），充分振荡混匀，室温静置 30 min 液化，取 200 μL 按照核酸提取试剂盒说明书进行操作。

c.提取后的 DNA 应尽快检测，-40±5℃保存不超过 3 个月，应避免反复冻融，冻融次数不得超过 3 次。

②加样：在上述准备好的 PCR 反应管中分别加入待测样本核酸、阳性对照和阴性对照核酸各 5 μL，终体积为 25 μL/管，盖紧管盖，瞬时离心。

3. PCR 扩增检测（核酸扩增区）

①将 PCR 反应管置于荧光定量 PCR 仪扩增检测。

②循环参数设定

ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪程序设置：

步骤		温度	时间	循环数
1	预变性	97 ℃	90 s	1 cycle
2	变性	97 ℃	2 s	40 cycles

	退火/延伸/检测荧光	55 ℃	30 s	

上海宏石 SLAN-96S 全自动医用 PCR 分析系统程序设置：

	步骤	温度	时间	循环数
1	预变性	97 ℃	90 s	1 cycle
2	变性	97 ℃	2 s	42 cycles
	退火/延伸/检测荧光	55 ℃	15 s	

说明：

①步骤 2 中 55℃时设置荧光检测，检测通道设置如下：

	检测靶标	通道
A 管	OXA-48	FAM
	NDM	VIC
	内参	CY5
B 管	KPC	FAM
	OXA-23	VIC
	内参	CY5

② ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪参比荧光（Reference Dye）选择 None，其余机型不用设置。

4．结果分析参数设定

阈值设定：根据分析后扩增曲线图调节起止值，（建议起始设在 3～15、终止设在 5～20，同时调整阴性对照的扩增曲线平直或低于阈值线），点击分析，在报告界面查看结果。

【阳性判断值】

采用 ROC 曲线法确定 KPC、NDM、OXA-48、OXA-23 的阳性判断值均为 Ct 值≤38；采用百分位法（99%）确定内参基因 GAPDH 的阳性判断值为 Ct 值≤38。

【检验结果的解释】

1．质控标准

① 以下要求需在同一实验中同时满足，否则本次实验无效。

	通道（检测靶标）	阴性对照	阳性对照
A 管	FAM 通道（OXA-48）	无 Ct 值	Ct≤35
	VIC 通道（NDM）	无 Ct 值	Ct≤35
	CY5 通道（内参）	—*	Ct≤35
B 管	FAM 通道（KPC）	无 Ct 值	Ct≤35
	VIC 通道（OXA-23）	无 Ct 值	Ct≤35
	CY5 通道（内参）	—*	Ct≤35

*注：“—”表示阴性对照检测时对内参不作要求。

2．结果判读（在符合质控标准下进行以下判读）

FAM/VIC 通道	CY5 通道	结果判读
Ct 值≤38	Ct 值≤38*	相应靶标判定为阳性
无 Ct 值	Ct 值≤38	相应靶标判定为阴性
Ct 值＞38	Ct 值≤38	需复测，若复测结果一致，相应靶标判定为阳性
Ct 值＞38 或无 Ct 值	Ct 值＞38	检测结果无效，建议重新采集样本检测

*注：对于 FAM 或 VIC 通道 Ct 值≤38 的人源性样本，CY5 通道 Ct 值应≤38，

但样本中存在高浓度的目的基因时，可能因为体系竞争抑制而导致 CY5 通道 Ct 值＞38 或无 Ct 值。

【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、其他实验室检查及治疗反应等情况综合考虑。

2．不合理的样品采集、运输、保存以及不当的试剂运输、保存、配制都可能会影响实验结果，甚至会导致假阴性结果。

3．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。

4．实验室污染、试剂污染、样品交叉污染，可能出现假阳性结果。

5．本产品所检测的 4 个耐药基因是导致碳青霉烯耐药的主要机制，但并非是碳青霉烯耐药机制所特有。

【产品性能指标】

1．检测碳青霉烯类耐药基因核酸检测试剂盒国家参考品（370039-202101）符合情况如下：

①检测阳性参考品 CRB-P1~CRB-P10，CRB-P1~CRB-P2 结果应均为 KPC 耐药基因阳性，CRB-P5~CRB-P6 结果应均为 NDM 耐药基因阳性，CRB-P7~CRB-P8 结果应均为 OXA-48 耐药基因阳性，CRB-P3~CRB-P4、CRB-P9~CRB-P10 检测结果应均为阴性。

②检测阴性参考品 CRB-N1~CRB-N10，结果应均为阴性。

③检测检出限参考品 CRB-S 的系列稀释样品，CRB-S（1×10^4 CFU/mL）~CRB-S（1×10^2CFU/mL）结果应均为 KPC 耐药基因阳性，CRB-S（10CFU/mL）~CRB-S（1CFU/mL）结果可为 KPC 耐药基因阳性或阴性。

④检测重复性参考品 CRB-R 的稀释样品，结果应均为阴性。

2．最低检测限：500 copies/mL。

3．精密度：批内/批间、日内/日间、操作者内/操作者间、实验室内/实验室间各靶标 Ct 值变异系数（CV）均不大于 5.0%。

4．企业参考品符合率：阳性参考品、阴性参考品符合率均为 100%。

5．特异性：本试剂盒不与如下所示细菌产生交叉反应：不产碳青霉烯耐药基因的细菌，如大肠埃希菌、粪肠球菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、阴沟肠杆菌、产酸克雷伯菌、鲍曼不动杆菌、弗氏柠檬酸杆菌、奇异变形杆菌、艰难梭菌、屎肠球菌、嗜麦芽窄食单胞菌、产气肠杆菌、摩氏摩根菌、白色念珠菌、嗜肺军团菌、金黄色葡萄球菌、脑膜炎奈瑟菌、肺炎链球菌、沙门氏菌；产 ESBLs 的肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、奇异变形杆菌、产酸克雷伯菌、阴沟肠杆菌。不与如下所示其他碳青霉烯耐药基因产生交叉反应：SME、NMC、IMI、GES、VIM、IMP、OXA-24、OXA-51、OXA-58。

6．干扰物质：含粘蛋白（≤0.9mg/mL）标本或含 5%血液标本对本试剂盒无显著干扰；亚胺培南（≤39mg/L）、美罗培南（≤10mg/L）、多粘菌素（≤8mg/L）、万古霉素（≤30mg/L）、阿米卡星（≤38mg/L）、氨曲南（≤49mg/L）、头孢拉定（≤18mg/L）、头孢曲松（≤9.9mg/L）、头孢吡肟（≤32.4mg/L）、氨苄西林（≤12mg/L）、环丙沙星（≤2.56mg/L）、左氧氟沙星（≤3.06mg/L）、三唑巴坦（≤1.3mg/L）、利福平（≤9mg/L）、舒巴坦（≤43mg/L）、胆酸盐（≤0.9%）、消化酶（≤1.25%）均对本试剂盒无显著干扰。

7．包容性：本试剂盒检测国内不同来源的靶标耐药基因 KPC（KPC-2、KPC-3、KPC-12、KPC-15、KPC-21、KPC-33、KPC-71、KPC-90、KPC-116、KPC-134、KPC-135、KPC-147）、NDM（NDM-1、NDM-4、NDM-5、NDM-6、NDM-7、NDM-9、NDM-14、NDM-36、NDM-37、NDM-41）、OXA-23 和 OXA-48，检出能力均符合要求。

8．临床性能：在四家临床机构完成 1356 例样本的临床试验，与测序法相比：OXA-48 基因阳性符合率为 100%，阴性符合率为 99.37%，总符合率为 99.41%；NDM 基因阳性符合率为 100%，阴性符合率为 98.87%，总符合率为 98.97%；KPC 基因阳性符合率为 100%，阴性符合率为 98.27%，总符合率为 98.53%；OXA-23 基因阳性符合率为 100%，阴性符合率为 97.09%，总符合率为 97.57%。

【注意事项】

1．检测前必须仔细阅读本说明书，并严格按照要求进行操作。

2．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。

3．本试剂盒检测的病原体核酸为 DNA，操作过程中使用的所有

耗材应不含脱氧核糖核酸酶（DNase）和核糖核酸酶（RNase）污染。

4. 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》（卫办医政发〔2010〕194 号或现行有效版本）等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。
5. 实验操作必须严格分区，各区域使用的仪器、设备、耗材和工作服必须专用，不得交叉使用，避免污染。
6. 各组分使用前应室温融化，充分振荡混匀，瞬间离心后使用。
7. 反应液分装时应避免产生气泡，上机前注意检查各反应管是否盖紧。
8. 实验结束后，应及时清理台面，并用 10%次氯酸钠、75%酒精和紫外灯等措施进行消毒。
9. 试剂盒不含有人源或动物源性物质，试剂盒的待测样本应视为具有传染性，实验室所有操作应符合《病原微生物实验室生物安全通用准则》；医疗废弃物处理应按照《医疗废弃物管理条例》进行管理。
10. 产品性能仅针对声称的适用样本类型及【样本要求】项下说明的样本采集和处理方法进行了验证，其他样本类型或样本采集、处理方法不能保证产品性能。

【参考文献】

[1] 贾雪洋,任红宇,聂旭冬等.下呼吸道感染病原体检测方法研究进展[J].中国人兽共患病学报,2019,35(03):263-270.

[2] 杨启文,吴安华,胡必杰等.临床重要耐药菌感染传播防控策略专家共识[J].中国感染控制杂志,2021,20(01):1-14.

[3] 喻华,徐雪松,李敏等.肠杆菌目细菌碳青霉烯酶的实验室检测和临床报告规范专家共识[J].中国感染与化疗杂志,2020,20(06):671-680.

【基本信息】

注册人/生产企业名称：上海伯杰医疗科技股份有限公司

住所：上海市奉贤区沪杭公路 1588 号 3 号楼 1302、1303、1304、1305、1306、1307、1309 室

联系方式：

售后服务单位名称：

联系方式：

生产地址：上海市奉贤区沪杭公路 1588 号 3 号楼 502 室、604 室、1003 室、1302 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】

【说明书批准日期/生效日期及修改日期】