

YY

中华人民共和国医药行业标准

YY/T XXXXX—XXXX

结核分枝杆菌复合群及耐药基因突变 检测试剂盒

Mycobacterium tuberculosis complex and drug resistance gene mutation detection kit

（征求意见稿）

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

国家药品监督管理局 发布

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

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专利的责任。

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件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/TC136）归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

结核分枝杆菌复合群及耐药基因突变检测试剂盒

1 范围

本文件规定了结核分枝杆菌复合群及耐药基因突变检测试剂盒的要求、标识、标签和使用说明、包装、运输和贮存，描述了相应的试验方法。

本文件适用于基于核酸扩增检测原理，对人体痰液、舌拭子、肺泡灌洗液等临床样本或培养物样本中的结核分枝杆菌复合群和（或）结核分枝杆菌复合群耐药基因突变进行定性检测的试剂盒。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 包装储运图形符号标志

GB/T 29790 即时检验 质量和能力的要求

GB/T 29791.1 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

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

GB/T 29791.1界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

结核分枝杆菌复合群 *mycobacterium tuberculosis complex*; MTBC

一组基因组高度同源、可引起结核病的分枝杆菌。包括结核分枝杆菌、牛分枝杆菌、非洲分枝杆菌、田鼠分枝杆菌和羊分枝杆菌等。

3.2

结核分枝杆菌复合群耐药基因突变

结核分枝杆菌基因组特定区域发生的，可导致对利福平、异烟肼、乙胺丁醇、吡嗪酰胺、链霉素、喹诺酮类等多种抗结核药物产生表型耐药的核苷酸序列插入缺失或变异。

3.3

即时检验 *Point-of-Care Testing*; POCT

又称“床旁检验”或“近患检验”，是指在患者附近或其所在地进行的、其结果可能导致患者的处置发生改变的检验。

3.4

核酸即时检验试剂盒 *nucleic acid POCT kit*

基于核酸扩增检测原理的POCT试剂盒。

3.5

携带污染 *carryover contamination*

核酸即时检验试剂盒检测过程中，高浓度阳性样本（或高拷贝扩增产物）被带入后续阴性或低浓度样本测试中，导致阴性或低浓度样本出现非自身来源的核酸检出、产生假阳性或检测结果（如Ct值）异常等的污染现象。

3.6

检测失败率 detection failure rate

试剂盒在规定操作流程、标准设备工况下，因非样本阴阳性本身原因，出现仪器报错、流程中断、信号异常、质控失效、无法出具有效判读结果等情况的总检测次数，占全部有效上机检测次数的百分比。

4 要求

4.1 结核分枝杆菌复合群核酸检测试剂盒要求

4.1.1 外观

外观应符合如下要求：

- a) 试剂盒应符合制造商规定的外观要求；
- b) 试剂盒应组分齐全，包装外观清洁、无泄漏、无破损；标志、标签字迹清楚。

4.1.2 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，并对核酸提取性能进行验证；
- b) 样本需要提取，但不含有核酸提取组分的试剂盒，由制造商说明经过验证后推荐配套使用的商品化核酸提取/纯化试剂盒的制造商、产品名称以及产品货号、医疗器械备案编号等详细信息；
- c) 样本无需提取，直接进行检测的试剂盒，制造商应能提供充分证据，以证明其抗干扰性。

4.1.3 内标和（或）对照

制造商应对试剂盒的检测结果建立适宜的质量控制程序，宜根据其产品工艺特点，在反应体系中合理设置阳性对照、阴性对照和（或）内标，对照和（或）内标宜与样本同等对待。

4.1.4 阳性参考品符合率

用国家阳性参考品或经标化的企业阳性参考品进行检测，结果应均为结核分枝杆菌复合群阳性，且与声称的结核分枝杆菌复合群类型一致（如适用）。

经标化的企业阳性参考品符合以下要求：

- a) 阳性参考品应包含试剂盒检测范围内的结核分枝杆菌复合群；
- b) 阳性参考品原料应使用菌株培养物；
- c) 阳性参考品应设置不同浓度水平；
- d) 样本类型包含痰液的试剂盒，宜包含以痰液或模拟痰液为基质的阳性参考品；
- e) 制备时应采用不影响试剂盒检测结果的灭活方式。

4.1.5 阴性参考品符合率

用国家阴性参考品或经标化的企业阴性参考品进行检测，结果应均为结核分枝杆菌复合群阴性。

经标化的企业阴性参考品符合以下要求：

- a) 阴性参考品应纳入不在试剂盒检测范围内、易引起相同或相似的临床症状、种属相近、采样部位正常寄生或易并发的其他病原体；
- b) 阴性参考品可包括但不限于非结核分枝杆菌（NTM），及其他口腔、呼吸道和胸腔常见共生病原体；
- c) 建议在病原体感染的医学相关水平进行验证，病毒浓度不低于 1×10^5 PFU（空斑形成单位）/mL或 1×10^6 copies/mL，细菌或者真菌浓度不低于 1×10^6 CFU（菌落形成单位）/mL或 1×10^6 copies/mL；
- d) 样本类型包含痰液的试剂盒，宜包含以痰液或模拟痰液为基质的阴性参考品；
- e) 制备时应采用不影响试剂盒检测结果的灭活方式。

4.1.6 检出限

用国家检出限参考品或用经标化的企业检出限参考品进行检测，结果应符合试剂盒声称的相应要求。经标化的企业检出限参考品符合以下要求：

- a) 检出限参考品至少包含结核分枝杆菌和牛分枝杆菌（如适用），并明确菌株的来源、基因特性、浓度和制备方法等信息；
- b) 检出限参考品原料应使用菌株培养物；
- c) 检出限参考品浓度单位可使用U/mL、IU/mL、CFU（菌落形成单位）/mL、个菌/mL或copies/mL，并宜溯源至国际标准品；
- d) 制备时应采用不影响试剂盒检测结果的灭活方式。

4.1.7 批内重复性

用非弱阳性浓度的国家重复性参考品或经标化的企业重复性参考品进行检测，结果应均为结核分枝杆菌复合群阳性，且检测结果的变异系数（CV，%）应不大于5.0%（如适用）；参考品为弱阳性浓度时，其检测结果的变异系数（CV，%）应不大于10.0%（如适用）。

经标化的企业重复性参考品符合以下要求：

- a) 重复性参考品原料应使用菌株培养物；
- b) 应至少设置弱阳性、中阳性两个浓度水平，弱阳性应使用1.5倍~4倍检出限浓度；
- c) 制备时应采用不影响试剂盒检测结果的灭活方式。

4.1.8 批间重复性

用国家重复性参考品或经标化的企业重复性参考品对三个批次试剂盒进行检测，结果应均为结核分枝杆菌复合群阳性，检测结果的变异系数（CV，%）应不大于10.0%（如适用）。仅适用于核酸即时检验试剂盒。

经标化的企业重复性参考品符合以下要求：

- a) 重复性参考品原料应使用菌株培养物；
- b) 重复性参考品应使用1.5倍~4倍检出限浓度；
- c) 制备时应采用不影响试剂盒检测结果的灭活方式。

4.1.9 携带污染

结果应为阴性（仅适用于核酸即时检验试剂盒）。

4.1.10 检测失败率

应不高于2%（仅适用于核酸即时检验试剂盒）。

4.1.11 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：制造商应规定试剂盒的有效期。在制造商规定的储存条件下，取临近效期或效期后一定时间内的试剂盒，检测外观、阳性参考品符合率、阴性参考品符合率、检出限、批内重复性，结果应符合4.1.1、4.1.4~4.1.7相应要求；

b) 热稳定性：在制造商规定的热稳定试验条件下，将试剂盒放置一定时间，检测外观、阳性参考品符合率、阴性参考品符合率、检出限、批内重复性，结果应符合4.1.1、4.1.4~4.1.7相应要求。

注1：热稳定性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）方法的任意组合，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；

注3：一般地，效期为1年时选择不超过1个月的产品，效期为半年时选择不超过半个月的产品，以此类推，但如超过规定时间，产品符合要求时也可以接受。

4.2 结核分枝杆菌复合群耐药基因突变检测试剂盒要求

4.2.1 外观

外观应符合如下要求：

- a) 试剂盒应符合制造商规定的外观要求；
- b) 试剂盒应组分齐全，包装外观清洁、无泄漏、无破损；标志、标签字迹清楚。

4.2.2 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，并对核酸提取性能进行验证；
- b) 样本需要提取，但不含有核酸提取组分的试剂盒，由制造商说明经过验证后推荐配套使用的商品化核酸提取/纯化试剂盒的制造商、产品名称以及产品货号、医疗器械备案编号等详细信息；
- c) 样本无需提取，直接进行检测的试剂盒，制造商应能提供充分证据，以证明其抗干扰性。

4.2.3 内标和（或）对照

制造商应对试剂盒的检测结果建立适宜的质量控制程序，宜根据其产品工艺特点，在反应体系中合理设置阳性对照、阴性对照和（或）内标，对照和（或）内标宜与样本同等对待。

4.2.4 阳性参考品符合率

用国家耐药参考品或经标化的企业耐药参考品进行检测，在试剂盒检测范围内，检测结果应为相应药物耐药或相应突变位点阳性，并与理论耐药突变类型一致（如适用）。

经标化的企业耐药参考品符合以下要求：

- a) 耐药参考品应包含试剂盒声称能够检测的全部耐药突变位点。对于因某段核酸区域的突变导致对某种药物耐药，试剂盒无法明确具体突变类型时，耐药参考品应包含导致相应药物耐药的常见突变位点；
- b) 常见突变位点的耐药参考品原料应使用菌株培养物，其他突变类型的耐药参考品可采用含有相应突变的核酸（如结核分枝杆菌基因组DNA或质粒）；
- c) 根据试剂盒检测原理，同一耐药参考品可考虑包含2个或以上试剂盒检测范围内的耐药突变位点；
- d) 耐药参考品应设置不同浓度水平；
- e) 样本类型包含痰液的试剂盒，应包含以痰液或模拟痰液为基质的耐药参考品；
- f) 制备时应采用不影响试剂盒检测结果的灭活方式。

4.2.5 阴性参考品符合率

用国家敏感参考品或经标化的企业敏感参考品进行检测，检测结果应均为相应药物敏感。

经标化的企业敏感参考品符合以下要求：

- a) 敏感参考品应包括对试剂盒检测范围内药物敏感的结核分枝杆菌复合群菌株，或申报产品声称的其他无关突变类型的菌株；
- b) 建议在细菌感染的医学相关水平进行验证，浓度不低于 1×10^6 CFU（菌落形成单位）/mL或 1×10^6 copies/mL；
- c) 样本类型包含痰液的试剂盒，应包含以痰液或模拟痰液为基质的敏感参考品；
- d) 制备时应采用不影响试剂盒检测结果的灭活方式。

4.2.6 检出限

用国家检出限参考品或经标化的企业检出限参考品进行检测，结果应符合试剂盒声称的相应要求。经标化的企业检出限参考品符合以下要求：

- a) 检出限参考品应包含试剂盒检测范围内的所有突变类型，并明确样本的来源、基因型耐药特征、浓度、制备方法等信息；对于因某段核酸区域的突变导致对某种药物耐药，试剂盒无法明确具体突变类型时，检出限参考品应包含导致相应药物耐药的常见突变类型；
- b) 常见突变类型的检出限参考品原料应使用菌株培养物，其他突变类型的检出限参考品可采用含有相应突变的核酸（如结核分枝杆菌基因组DNA或质粒）；
- c) 检出限参考品浓度单位可使用U/mL、IU/mL、CFU（菌落形成单位）/mL、个菌/mL或copies/mL；
- d) 应分别对100%耐药比例下检出限参考品的最低检测浓度，以及不同浓度下的耐药突变比例检测能力进行评估；
- e) 制备时应采用不影响试剂盒检测结果的灭活方式。

4.2.7 批内重复性

用非弱阳性浓度的国家重复性参考品或经标化的企业重复性参考品进行检测,在试剂盒检测范围内,检测结果应为相应药物耐药或相应突变位点阳性,并与理论耐药突变类型一致(如适用),且检测结果的变异系数(CV,%)应不大于5.0%(如适用);参考品为弱阳性浓度时,检测结果的变异系数(CV,%)应不大于10.0%(如适用)。

经标化的企业重复性参考品符合以下要求:

- a) 重复性参考品应包含试剂盒声称的所有突变类型,并明确样本的来源、基因型耐药特征、浓度、制备方法等信息;对于因某段核酸区域的突变导致对某种药物耐药,试剂盒无法明确具体突变类型时,重复性参考品应包含导致相应药物耐药的常见突变类型;
- b) 常见突变类型的重复性参考品原料应使用菌株培养物,其他突变类型的重复性参考品可采用含有相应突变的核酸(如结核分枝杆菌基因组DNA或质粒);
- c) 应至少设置弱阳性、中阳性两个浓度水平,弱阳性应使用1.5倍~4倍检出限浓度;
- d) 制备时应采用不影响试剂盒检测结果的灭活方式。

4.2.8 批间重复性

用国家重复性参考品或经标化的企业重复性参考品对三个批次试剂盒进行检测,在试剂盒检测范围内,检测结果应为相应药物耐药或相应突变位点阳性,并与理论耐药突变类型一致(如适用),且检测结果的变异系数(CV,%)应不大于10.0%(如适用)。仅适用于核酸即时检验试剂盒。

经标化的企业重复性参考品符合以下要求:

- a) 重复性参考品应包含试剂盒声称的所有突变类型,并明确样本的来源、基因型耐药特征、浓度、制备方法等信息;对于因某段核酸区域的突变导致对某种药物耐药,试剂盒无法明确具体突变类型时,重复性参考品应包含导致相应药物耐药的常见突变类型;
- b) 常见突变类型的重复性参考品原料应使用菌株培养物,其他突变类型的重复性参考品可采用含有相应突变的核酸(如结核分枝杆菌基因组DNA或质粒);
- c) 重复性参考品应使用1.5倍~4倍检出限浓度;
- d) 制备时应采用不影响试剂盒检测结果的灭活方式。

4.2.9 携带污染

结果应为阴性(仅适用于核酸即时检验试剂盒)。

4.2.10 检测失败率

应不高于2%(仅适用于核酸即时检验试剂盒)。

4.2.11 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: 制造商应规定试剂盒的有效期。在制造商规定的储存条件下,取临近效期或效期后一定时间内的试剂盒,检测外观、阳性参考品符合率、阴性参考品符合率、检出限、批内重复性,结果应符合4.2.1、4.2.4~4.2.7相应要求;

b) 热稳定性: 在制造商规定的热稳定试验条件下,将试剂盒放置一定时间,检测外观、阳性参考品符合率、阴性参考品符合率、检出限、批内重复性,结果应符合4.2.1、4.2.4~4.2.7相应要求。

注1: 热稳定性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)方法的任意组合,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。

注3: 一般地,效期为1年时选择不超过1个月的产品,效期为半年时选择不超过半个月的产品,以此类推,但如超过规定时间,产品符合要求时也可以接受。

5 试验方法

5.1 结核分枝杆菌复合群核酸检测试剂盒试验方法

5.1.1 外观

在自然光下以正常视力或矫正视力目视检查,判定结果是否符合4.1.1的要求。

5.1.2 核酸提取功能

查阅制造商提供的资料。适用时，按照制造商提供的方法进行试验，判定结果是否符合4.1.2的要求。

5.1.3 内标和（或）对照

查阅制造商提供的资料。适用时，按照制造商提供的方法进行试验，判定结果是否符合4.1.3的要求。

5.1.4 阳性参考品符合率

用国家阳性参考品或经标化的企业阳性参考品进行检测，按产品说明书进行操作，判定结果是否符合4.1.4的要求。

5.1.5 阴性参考品符合率

用国家阴性参考品或经标化的企业阴性参考品进行检测，按产品说明书进行操作，判定结果是否符合4.1.5的要求。

5.1.6 检出限

用国家检出限参考品或经标化的企业检出限参考品进行检测，按产品说明书进行操作，判定结果是否符合4.1.6的要求。

5.1.7 批内重复性

取同一批号试剂盒，检测国家重复性参考品或经标化的企业重复性参考品，重复检测10次，计算10次检测Ct值（或其他检测值）的平均值 $\bar{x}$ 和标准差SD，按公式（1）计算变异系数CV，判定结果是否符合4.1.7的要求。

$$CV = SD/\bar{x} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

式中：
CV——变异系数；
SD——检测结果的标准差；
 $\bar{x}$ ——检测结果的平均值。

5.1.8 批间重复性

分别用3个批次的试剂盒，检测国家重复性参考品或经标化的企业重复性参考品，各重复检测10次，计算30次检测Ct值（或其他检测值）的平均值 $\bar{x}$ 和标准差SD，按公式（1）计算变异系数CV，判定结果是否符合4.1.8的要求。

5.1.9 携带污染

取强阳性（不低于 10^6 copies/mL）及阴性参考品，按“阳性-阴性”的顺序重复检测5个循环，判定阴性样本结果是否符合4.1.9的要求。

5.1.10 检测失败率

汇总5.1.4—5.1.9所有性能检测结果，总检测次数不少于50次，按公式（2）计算检测失败率，判定结果是否符合4.1.10的要求。如检测次数不足50次，应补充检测至总检测次数达50次。

$$\text{检测失败率} = n/N \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

式中：
 n ——因仪器报错、流程中断、信号异常、质控失效、无法出具有效判读结果等情况导致的检测失败次数；
 N ——全部有效上机检测次数，应不少于50次。

5.1.11 稳定性

可选用以下方法进行验证：

a) 效期稳定性：取临近效期或效期后一定时间内的试剂盒，按产品说明书进行操作，判定结果是否符合4.1.11 a) 的要求。

b) 热稳定性：将试剂盒在一定温度条件下放置一定时间，按产品说明书进行操作，判定结果是否符合4.1.11 b) 的要求。

5.2 结核分枝杆菌复合群耐药基因突变检测试剂盒试验方法

5.2.1 外观

在自然光下以正常视力或矫正视力目视检查，判定结果是否符合4.2.1的要求。

5.2.2 核酸提取功能

查阅制造商提供的资料。适用时，按照制造商提供的方法进行试验，判定结果是否符合4.2.2的要求。

5.2.3 内标和（或）对照

查阅制造商提供的资料。适用时，按照制造商提供的方法进行试验，判定结果是否符合4.2.3的要求。

5.2.4 阳性参考品符合率

用国家阳性参考品或经标化的企业阳性参考品进行检测，按产品说明书进行操作，判定结果是否符合4.2.4的要求。

5.2.5 阴性参考品符合率

用国家阴性参考品或经标化的企业阴性参考品进行检测，按产品说明书进行操作，判定结果是否符合4.2.5的要求。

5.2.6 检出限

用国家检出限参考品或经标化的企业检出限参考品进行检测，按产品说明书进行操作，判定结果是否符合4.2.6的要求。

5.2.7 批内重复性

取同一批号试剂盒，检测国家重复性参考品或经标化的企业重复性参考品，重复检测10次，计算10次检测Ct值（或其他检测值）的平均值 $\bar{x}$ 和标准差SD，按公式（1）计算变异系数CV，判定结果是否符合4.2.7的要求。

5.2.8 批间重复性

分别用3个批次的试剂盒，检测国家重复性参考品或经标化的企业重复性参考品，各重复检测10次，计算30次检测Ct值（或其他检测值）的平均值 $\bar{x}$ 和标准差SD，按公式（1）计算变异系数CV，判定结果是否符合4.2.8的要求。

5.2.9 携带污染

取强阳性（不低于 10^6 copies/mL）及阴性参考品，按“阳性-阴性”的顺序重复检测5个循环，判定阴性样本结果是否符合4.2.9的要求。

5.2.10 检测失败率

汇总5.2.4—5.2.9所有性能检测结果，总检测次数不少于50次，按公式（2）计算检测失败率，判定结果是否符合4.2.10的要求。如检测次数不足50次，应补充检测至总检测次数达50次。

5.2.11 稳定性

可选用以下方法进行验证：

a) 效期稳定性：取临近效期或效期后一定时间内的试剂盒，按产品说明书进行操作，判定结果是否符合5.2.11 a) 的要求。

b) 热稳定性：将试剂盒在一定温度条件下放置一定时间，按产品说明书进行操作，判定结果是否符合5.2.11 b) 的要求。

6 标识、标签和使用说明

标识、标签和使用说明应符合GB/T 29791.2的规定。

7 包装、运输和贮存

7.1 包装

包装储运图形符号标志应符合GB/T 191的规定。包装容器应保证密封性良好，完整，无泄露，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。

参 考 文 献

- [1] GB/T 21415-2025 体外诊断医疗器械 建立校准品、正确度控制物质和人体样品赋值的计量溯源性要求
 - [2] YY/T 1182-2020 核酸扩增检测用试剂（盒）
 - [3] YY/T 1824-2021 EB病毒核酸检测试剂盒（荧光PCR法）
 - [4] 国家药品监督管理局医疗器械技术审评中心 结核分枝杆菌复合群核酸检测试剂注册技术审查指导原则（2025年修订版）
 - [5] 国家药品监督管理局 结核分枝杆菌复合群耐药基因突变检测试剂注册技术审查指导原则（2017年第25号）
 - [6] GBZ 43281-2023 即时检验（POCT）设备监督员和操作员指南
 - [7] CLSI POCT15 Point-of-Care Testing for Infectious Diseases
-