



中华人民共和国医药行业标准

YY/T XXXXX—XXXX

支原体培养药敏试剂盒

Mycoplasma culture drug sensitive kit

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

国家食品药品监督管理总局 发布

目 次

前言.....II

1 范围..... 1

2 规范性引用文件..... 1

3 术语和定义..... 1

4 要求..... 1

5 试验方法..... 4

6 标签和使用说明书..... 5

7 包装、运输、贮存..... 5

附录 A..... 6

参考文献..... 7

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

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这些专利的责任。

本标准由国家食品药品监督管理总局提出。

本标准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。

本标准起草单位： **

本标准主要起草人： **

支原体培养药敏试剂盒

1 范围

本标准规定了支原体培养药敏试剂盒的要求、试验方法、标签、使用说明书、包装、运输和贮存。

本标准适用于基于生化反应引起变色的解脲脲原体（*Ureaplasma Urealyticum*, UU）、人型支原体（*Mycoplasma Hominis*, MH）和肺炎支原体（*Mycoplasma Pneumoniae*, MP）培养药敏试剂盒（包括单纯的培养鉴定试剂盒，以下统称：试剂盒）。本标准中4.4和4.6项不适用于单纯的培养试剂盒。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是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/T191 包装储运图示标志

GB/T 29791.2-2013 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

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 最低抑菌浓度（minimum inhibitory concentration, MIC）

在琼脂或肉汤稀释药物敏感性试验中抑制微生物可见生长的某种抗微生物药物的最低浓度。

3.2 菌落形成单位（colony forming unit, CFU）

在活菌培养计数时，由单个菌体或聚集成团的多个菌体在固体培养基上生长繁殖所形成的集落，以其表达活菌的数量。

3.3 颜色变化单位（colour change unit, CCU）

能引起培养基变色的最小接种量，以其表达微生物的相对含量。

4 要求

4.1 外观

试剂盒应组分齐全，内外包装均应完整，标签清晰，液态试剂应均匀、无沉淀、澄清、无渗漏，冻干组分外观符合制造商规定的性状，溶解后应澄清。

4.2 培养基 pH

应符合制造商声称的 pH 值要求。

4.3 生长性能

接种相应质控菌株，使其培养液中的质控菌株浓度为 $10^4\sim 10^5$ CFU/mL（或CCU/mL），检测结果应为阳性。

表1 试剂盒接种相应的质控菌株

试剂盒	质控菌株
UU检测试剂盒	UU（ATCC 33175）
MH检测试剂盒	MH（ATCC 23114）
MP检测试剂盒	MP（ATCC 29342）

注1：按照制造商说明书规定的方法进行阴阳性判定。

4.4 药敏符合率

对表2涉及的抗生素，接种相应质控菌株，使其培养液中的质控菌株浓度为 $10^4\sim 10^5$ CFU/mL（或CCU/mL），计算其MIC范围，结果应与表2中标示的MIC范围有交叉。

对表2未涉及的抗生素，接种相应质控菌株，使其培养液中的质控菌株浓度为 $10^4\sim 10^5$ CFU/mL（或CCU/mL），计算其MIC范围，结果应符合制造商的要求。

表2 UU、MH和MP对应的部分抗生素MIC要求

抗生素	UU（ATCC 33175） （ $\mu\text{g/ml}$ ）	MH（ATCC 23114） （ $\mu\text{g/ml}$ ）	MP(ATCC 29342) （ $\mu\text{g/ml}$ ）
红霉素	1-8	-	0.004-0.03
克林霉素	-	0.03-0.25	-
左氧氟沙星	0.5-2	-	0.12-1
莫西沙星	0.5-2	0.015-0.12	0.03-0.25
泰利霉素	0.12-1	-	-
四环素	-	-	0.06-0.5
加替沙星	-	0.015-0.12	-
阿奇霉素	-	-	≤ 0.06

4.5 特异性

按照表3接种特异性质控菌株，检测结果应为阴性。

表3 特异性质控菌株检测方法

试剂盒	质控菌株	接种浓度	接种量
UU检测 试剂盒	大肠埃希菌（ATCC 25922） 金黄色葡萄球菌（ATCC 29213）	10^8 CFU/mL	10 μ L
	白色念珠菌（ATCC 10231）	10^6 CFU/mL	
	人型支原体（ATCC 23114） 肺炎支原体（ATCC 29342）	培养液中的浓度为 $10^4\sim 10^5$ CFU/mL（或 CCU/mL）	—

MH检测 试剂盒	大肠埃希菌（ATCC 25922） 金黄色葡萄球菌（ATCC 29213）	10^8 CFU/mL	10 μ L
	白色念珠菌（ATCC 10231）	10^6 CFU/mL	
	解脲脲原体（ATCC 33175） 肺炎支原体（ATCC 29342）	培养液中的浓度为 $10^4 \sim 10^5$ CFU/mL（或 CCU/mL）	—
MP检测 试剂盒	肺炎链球菌（ATCC 49619） 金黄色葡萄球菌（ATCC 29213）	10^8 CFU/mL	10 μ L
	白色念珠菌（ATCC 10231）	10^6 CFU/mL	
	解脲脲原体（ATCC 33175） 人型支原体（ATCC 23114）	培养液中的浓度为 $10^4 \sim 10^5$ CFU/mL（或 CCU/mL）	—
UU/MH 检测试剂 盒	大肠埃希菌（ATCC 25922） 金黄色葡萄球菌（ATCC 29213）	10^8 CFU/mL	10 μ L
	白色念珠菌（ATCC 10231）	10^6 CFU/mL	
	肺炎支原体（ATCC 29342）	培养液中的浓度为 $10^4 \sim 10^5$ CFU/mL（或 CCU/mL）	—

注1：按照制造商说明书规定的方法进行阴阳性判定。

4.6 重复性

4.6.1 批内重复性

对同一批试剂盒，选择并接种表1相应的质控菌株，使其培养液中的质控菌株浓度为 $10^4 \sim 10^5$ CFU/ml（或CCU/ml），重复检测10次，生长性能检测结果和每种抗菌药物药敏结果的一致性均应不低于80%。

4.6.2 批间重复性

对三批试剂盒，选择并接种表1相应的质控菌株，使其培养液中的质控菌株浓度为 $10^4 \sim 10^5$ CFU/ml（或CCU/ml），每批重复检测10次，生长性能检测结果和每种抗菌药物药敏结果的一致性均应不低于80%。

4.7 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

制造商应规定产品的有效期。取到效期后一定时间内的产品进行检测，应符合 4.2~4.5 和 4.6.1 的要求；

b) 热稳定性

试剂盒按制造商规定的加速破坏条件处理后，进行检测，应符合 4.2~4.5 和 4.6.1 的要求；

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热稳定性研究数据建立的推导公式。

注2：一般地，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。

注3：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，以保证在有效期内产品性能符合标准要求。

5 试验方法

5.1 外观

采用目测法，结果应符合4.1的要求。

5.2 培养基 pH

用适宜的pH计测定，结果符合4.2的要求。

5.3 生长性能

按附录A实验方法进行，接种相应质控菌株，按照制造商说明书规定的条件进行培养，检测结果应符合4.3的要求。

5.4 药敏符合率

接种相应质控菌株，按照制造商说明书规定的条件进行检测，结果应符合 4.4 的要求。

5.5 特异性

接种特异性质控菌株，按照制造商说明书规定的条件进行培养，结果应符合4.5的要求。

5.6 重复性

5.6.1 批内重复性

对同一批试剂盒，选择并接种相应质控菌株，使其培养液中的质控菌株浓度为 $10^4 \sim 10^5$ CCU/mL（或CFU/mL），重复检测10次，药敏结果应符合4.6.1的要求。

5.6.2 批间重复性

对三批试剂盒，选择并接种相应质控菌株，使其培养液中的质控菌株浓度为 $10^4 \sim 10^5$ CCU/mL（或CFU/mL），重复检测 10 次，药敏结果应符合 4.6.2 的要求。

5.7 稳定性

5.7.1 效期稳定性

取到效期后一定时间内的试剂盒按照5.2~5.5、5.6.1方法进行检测，应符合4.7a)的要求。

5.7.2 热稳定性试验

取有效期内试剂盒根据制造商声称的热稳定性条件，按照5.2~5.5、5.6.1方法进行检测，应符合4.7b)的要求。

6 标签和使用说明书

应符合 GB/T 29791.2的规定。

7 包装、运输、贮存

7.1 包装

包装储运图示标志应符合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，应防止重物堆压，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。

附 录 A
(资料性附录)
支原体生长实验方法

A.1 质控菌株

解脲脲原体 (Ureaplasma Urealyticum) (ATCC 33175)

人型支原体 (Mycoplasma Hominis) (ATCC 23114)

肺炎支原体 (Mycoplasma Pneumonie) (ATCC 29342)

生长试验采用上述菌株。所用的菌株传代次数不得超过 5 代 (从菌种保存中心获得的冷冻干燥菌种为第 0 代), 并采用适宜的菌种保藏技术, 以保证试验菌株的生物学特性。

在同一生物安全区内只能同时操作 1 个菌株。

A.2 方法

A.2.1 无菌操作要求

生长试验应严格遵守无菌操作, 防止微生物污染。

稀释液、培养基、实验器具等灭菌时, 应按照《中华人民共和国药典》中灭菌法的要求, 采用验证合格的灭菌程序灭菌。

A.2.2 菌种复苏

开启质控菌株菌种, 分别接种至适量相应培养基, 35℃~37℃培养至相应支原体培养基中指示剂变色。

A.2.3 菌种传代

取适量上述复苏后的质控菌株的新鲜培养物, 分别接种至相应支原体培养基, 置 35℃~37℃培养至相应支原体培养基中指示剂变色。

A.2.4 菌种增菌培养

取适量上述传代后的质控菌株的新鲜培养物, 分别接种至相应支原体培养基, 置 35℃~37℃培养至相应支原体培养基中指示剂变色。将变色后培养基加入保护剂进行分装, 分装后试剂进行冷冻干燥, 对干燥后菌株进行抽样计数, 计数后菌株严格按照要求存放。

A.2.5 菌悬液制备

将上述增菌培养冻干后的质控菌株分别用 1mL 蒸馏水或去离子水溶解, 根据 A.2.4 的计数结果, 用蒸馏水或去离子水稀释至 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL (或 CCU/mL), 稀释后 0.5h 内使用。

A.2.6 接种培养

将上述准备好的菌悬液按照制造商的试剂盒说明书进行接种, 接种后置 35℃~37℃活化, 解脲脲原体活化 1h, 人型支原体和肺炎支原体活化 2h, 使其质控菌株在培养液中的浓度为 $10^4 \sim 10^5$ CFU/mL (或 CCU/mL), 再按照制造商的要求进行培养或做药敏试验。

参 考 文 献

- [1] GB/T 1.1 2009 标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写
 - [2] GB/T 3358.1-2009 统计学词汇及符号 第1部分：一般统计术语与用于概率的术语
 - [3] GB/T 9969-2008 工业产品使用说明书
 - [4] GB/T 21415-2008 体外诊断医疗器械—生物样品中量的测量—校准品和控制物质赋值的计量学溯源性
 - [5] YY/T 0316-2016 医疗器械 风险管理对医疗器械的应用
 - [6] JJF1001-2011 通用计量术语及定义技术规范
 - [7] 医疗器械说明书和标签管理规定
 - [8] 全国临床检验操作规范（第4版）中华人民共和国卫生部医政司 人民卫生出版社
 - [9] CLSI M23-ED4 Development of In Vitro Susceptibility Testing Criteria and Quality Control Parameters, 4th Edition
 - [10] CLSI M43-A Vol.31 No.19 Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing for Human Mycoplasmas, 1st Edition
 - [11] CLSI M52-ED1 Verification of Commercial Microbial Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing Systems, 1st Edition
 - [12] CLSI M100-S27 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 27th Edition
-

《支原体培养药敏试剂盒》标准编制说明

一、工作简况

1、任务来源：国家食品药品监督管理总局发出的《总局办公厅关于印发 2017 年医疗器械行业标准制修订项目的通知》（食药监办械管[2017]94 号）项目编号为 I2017073-T-ZJY。

2、工作过程：本标准于 2017 年 3 月形成工作组草案，2017 年 4 月 6 日在北京召开了行标启动会，6 月 2 日召开标准研讨会，针对工作组草案和验证方案进行了讨论。会后启动国内外企业对标准进行了验证，并形成征求意见稿。

二、标准编制原则和确定标准主要内容的论据

1、标准制定的意义、原则

解脲支原体（*Ureaplasma urealyticum*，UU）和人型支原体（*Mycoplasma hominis*,MH）是人类泌尿生殖道最常见的寄生菌之一，它与新生儿疾病及成人的泌尿生殖系统疾病有关。UU 和 MH 是性传播疾病的重要病原体，可引起非淋病性尿道炎，宫颈炎、盆腔炎、新生儿肺炎、脑膜炎，还可引起不孕、流产、早产、低体重儿。现已发现 UU 感染所致的泌尿生殖系统感染在非淋菌性尿道炎（NGU）的发病率中占第一位。肺炎支原体能通过其顶端结构黏附在宿主细胞表面，并伸出微管插入胞内吸取营养，损伤细胞膜，继而释放出核酸酶、过氧化氢等引起细胞的溶解，上皮细胞的肿胀与坏死。临床症状较轻甚至根本无症状，主要经飞沫传播，潜伏期 2~3 周，发病率以青少年最高。由于临床抗生素的滥用，使支原体耐药菌株日益增多。因此，

对支原体感染早期诊断、正确诊断具有重要临床意义。

目前国内该类产品企业标准参差不齐，行业标准的制定将有助于提高并统一标准，使不同医院同项目检测具有可比性，减少不同医院的重复检验。

2、本标准性能指标制定依据，对于有争议指标的处理及验证情况。

本标准由中国食品药品检定研究院负责起草。在标准起草过程中充分调研了全国主要生产企业的生产和临床使用情况。本标准在相关技术指标的确定参考了目前市场上国内外厂家相关产品的说明书和性能评估资料，并结合临床要求制定。本标准的编号格式是按照GB/T 1.1-2009 标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写的相关规定起草的。规范性技术要素内容是根据GB/T 1.2-2002 标准化工作导则 第2部分：标准中规范性技术要素内容的确定方法确定的。本标准在制定过程中，为了充分验证标准各条款的可操作性和合理性，制定了科学的验证方案，选择目前拥有注册文号的产品进行验证。

要说明的几点：

1、针对菌落计数采用CFU还是CCU，经讨论：a) 在实际应用过程中采用CCU更方便，但应提供CFU和CCU之间转换关系的验证数据；b) 明确CCU的概念；

2、接种浓度的定义应与CLSI里的要求保持一致，即该浓度为反应孔里的终浓度。

3、对质控菌株有限定范围，并且这类质控菌株可溯源。可参考CLSI和欧盟相关资料。

4、“4.4药敏符合率”中需要检测的抗生素，原则上应至少包含CLSI里提到的大环内酯类、四环素类及喹诺酮类这3类抗生素，每类抗生素至少包含一种药物；对于CLSI里有规定或者明确有折点的，药敏检测结果应符合规定，并用敏感、中介和耐药报告结果；对于没有规定折点的抗生素，建议报MIC值。

5、对于“4.5重复性”，专家建议：规定接种菌复苏的培养时间；应同时验证敏感菌和耐药菌，对验证结果的要求应描述细致，并且不能出现重大错误；重复10次，至少应9次结果一致，或者仅有微小差异；重复性应考核培养鉴定孔、计数孔和药敏结果三个指标。

三、主要实验（或验证）的分析、综述报告、技术经济论证、预期的经济效果

经验证，行标中外观、培养基 PH、生长性能、药敏符合率、特异性、重复性盒稳定性等指标均基本可达到标准要求，可操作性强，指标设置科学合理，能够满足临床使用的要求。

四、采用国际标准和国外先进标准的程度，以及与国际、国外同类标准水平的对比情况，或与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况。

目前国际上没有相关产品的官方标准，在标准制定过程中，参考了国外先进试剂企业的产品标准。

五、与有关的现行法律、法规和强制性国家标准的关系。

本标准引用了 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和 GB/T 191 包装储运图示标志两个标准。

六、重大分歧意见的处理经过和依据。

无。

七、行业标准作为强制性行业标准或推荐性行业标准的建议。

该标准申报时为推荐性标准，同时，由于诊断试剂产品的技术发展日新月异，方法学的进步可能会带来相应产品技术指标的提高，制造商在制定产品标准的过程中应参考该标准，同时，鼓励大家通过不断完善产品，不断提高产品的性能。

八、贯彻行业标准的要求和措施建议（包括组织措施、技术措施、过渡办法等内容）

建议在本行业标准发布后一年内进行宣贯，宣贯对象是企业、医学实验室、省市药局等相关部门。

九、废止现行有关标准的建议

无

十、其他应予说明的事项。

无

标准起草工作组

2017 年 7 月

