

· 论 著 ·

病原菌多重核酸检测试剂盒分析性能质量评价研究

刘东来, 周海卫, 沈舒, 许四宏

【摘要】 目的 了解我国病原菌多重核酸检测试剂盒分析性能的现状, 特别是检出限性能的基本情况, 为相关研发企业和医疗机构使用者提供参考。方法 根据体外诊断试剂行业标准《细菌和真菌感染多重核酸检测试剂盒(标准号 YY/T 1725-2020)》, 使用“34种细菌和真菌感染多重核酸检测试剂国家参考品(批号 370026-201801)”对10种不同检测技术原理的病原菌多重核酸检测试剂盒的分析性能进行评估, 包括阳性符合率、阴性符合率、重复性及检出限等, 并按照国家参考品的质量标准对评价结果进行统计分析。结果 10款试剂盒中包括4款呼吸道感染试剂盒、3款中枢神经系统感染试剂盒及3款血流感染试剂盒, 检测范围或病原谱覆盖8种革兰阳性细菌、14种革兰阴性细菌及10种真菌和非典型病原体。各试剂盒的阳性符合率、阴性符合率、重复性及检出限等分析性能均符合国家参考品的质量标准。呼吸道、中枢神经系统及血流感染试剂盒病原谱及检出限性能差异较大, 检出限的中位数分别为 5×10^3 CFU/ml、 1×10^3 CFU/ml及 1×10^6 CFU/ml; 各试剂盒病原谱中分布和出现频率较高的6种病原菌检出限中位值分别为 5×10^2 CFU/ml(肺炎链球菌)、 3×10^3 CFU/ml(金黄色葡萄球菌的)、 1×10^3 CFU/ml(流感嗜血杆菌)、 5×10^4 CFU/ml(铜绿假单胞菌)、 3×10^6 CFU/ml(鲍曼不动杆菌)及 5×10^4 CFU/ml(大肠埃希菌)。结论 我国已经进入体外诊断试剂注册阶段的病原菌多重核酸检测试剂盒均具有较好的准确性、特异性及重复性。同时, 研发企业应注意结合临床具体的需求, 设计合理的试剂盒病原谱, 并持续优化检出限性能。

【关键词】 病原菌; 多重核酸检测; 参考品; 检出限

【中国图书资料分类号】 R446.1; R373

【文献标志码】 A

【文章编号】 1007-8134(2022)03-0214-06

DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2022.03.006

Quality evaluation study of the analytical performance of multiplex nucleic acid detection kits for pathogenic microorganisms

LIU Dong-lai, ZHOU Hai-wei, SHEN Shu, XU Si-hong*

Division II of In Vitro Diagnostics for Infectious Diseases, Institute for In Vitro Diagnostics Control, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China

LIU Dong-lai and ZHOU Hai-wei are the first authors who contributed equally to the article

*Corresponding author, E-mail: xushong@nifdc.org.cn

【Abstract】 Objective Understand the current update in the analytical performance of multiplex nucleic acid detection kits for pathogenic microorganisms in China, especially the basic situation of detection limit, and provide a reference to users of related enterprises and medical institutions. **Methods** The analytical performance of the multiplex nucleic acid detection kits of 10 different detection technology principles has been evaluated, according to the *in vitro* diagnostic reagent industry standard of “Multiplex Nucleic Acid Detection Kit for Infection of Microorganisms (YY/T 1725-2020)” and “National Reference Panel for Multiplex Nucleic Acid Assay for Identification of Infection of 34 Microorganisms (370026-201801)”. It includes positive coincidence rate, negative coincidence rate, repeatability and limit of detection (LOD). Besides, the evaluation results were summarized and analyzed according to the quality standard of the national reference panel. **Results** The 10 kits included 4 respiratory infection kits, 3 central nervous system infection kits, and 3 bloodstream infection kits, and the detection range or pathogenic microorganism spectrum covered 8 Gram-positive bacteria, 14 Gram-negative bacteria, and 10 fungi and atypical pathogens. The positive coincidence rate, negative coincidence rate, repeatability, and LOD of each kit were all in line with the quality standard of the national reference panel. Furthermore, the 6 pathogens with high distribution and frequency in each kit were *Streptococcus pneumoniae* (median detection limit 5×10^2 CFU/ml), *Staphylococcus aureus* (median detection limit 3×10^3 CFU/ml), *Haemophilus influenzae* (median detection limit 1×10^3 CFU/ml), *Pseudomonas aeruginosa* (median detection limit 5×10^4 CFU/ml), *Acinetobacter baumannii* (median detection limit 3×10^6 CFU/ml) and *Escherichia coli* (median detection limit 5×10^4 CFU/ml). **Conclusions** The multiplex nucleic acid detection kits for pathogenic microorganisms have high accuracy, specificity, and repeatability, which have entered the registration stage of *in vitro* diagnostics in China. Meanwhile, the relevant research and development enterprises should pay attention to combining clinical needs and design a reasonable kit pathogen spectrum and optimize LOD performance.

【Key words】 pathogenic microorganism; multiplex nucleic acid assay; reference panel; limit

病原菌引起的呼吸道、中枢神经系统、血流、胃肠道及生殖道等感染性疾病具有发病急、进展快

等特点, 且临床发病率和病死率较高, 对人类健康构成严重威胁。新型冠状病毒肺炎 (coronavirus disease 2019, COVID-19) 疫情发生以来, 临床继发性病原菌合并感染更是会严重威胁 COVID-19 患者的生命^[1-2]。迅速确定感染病原体对于患者的治疗及预后十分关键。目前临床传统的病原菌检测方法

【基金项目】 “十三五” 国家科技重大专项 (2018ZX10102001)

【作者单位】 北京 100050, 中国食品药品检定研究院体外诊断试剂检定所传染病诊断试剂二室 (刘东来、周海卫、沈舒、许四宏)

【通信作者】 许四宏, E-mail: xushong@nifdc.org.cn

前两位作者对本文有同等贡献, 均为第一作者

仍以培养及表型鉴定为主，分离培养虽然是病原学诊断的“金标准”，但因其检测周期长、操作繁琐及敏感性低等，已无法满足临床诊治的需求。与之相比，分子诊断技术迅速发展，在突发性感染的评估、感染早期的发现、监测及病原菌耐药基因分析等领域发挥越来越重要的作用^[3-7]。

近年来逐渐发展的病原菌多重核酸检测技术，即在一个核酸反应体系中同时对多个靶标病原菌进行检测，更具有操作简便、覆盖病原菌谱广、能够分辨混合感染等优势，正受到越来越多的关注和应用。目前，美国FDA已经批准了10余款病原菌多重核酸检测试剂盒，覆盖荧光定量PCR、熔解曲线、恒温扩增及微阵列核酸芯片等技术原理；我国药监部门也批准了3款试剂盒^[8-9]。然而，多重核酸检测技术仍存在一些局限和挑战。例如，多重反应体系研发难度较大、试剂盒特异度和灵敏度可能会低于单一靶向反应体系、试验操作较为繁琐及检测成本较高等；另外，相关试剂盒在检测技术的选择、检测范围或病原谱的设计及检出限性能的优化等方面也面临诸多挑战。因此，为保证病原菌多重核酸检测试剂盒的质量，应特别重视相关产品的质量控制及评价研究^[10]。

2018年至今，仅在中国食品药品检定研究院完成注册检验的病原菌多重核酸检测试剂盒就有近20款，行业爆发式发展的态势已然初现。为全面了解我国相关产品分析性能的基本现状，针对10款进入体外诊断试剂注册阶段的病原菌多重核酸检测试剂盒的部分分析性能，包括阳性符合率、阴性符合率、重复性及检出限性能进行了质量评价研究。

1 材料与方法

1.1 评价方案 评价采用的体外诊断试剂行业标准《细菌和真菌感染多重核酸检测试剂盒（标准号YY/T 1725-2020）》由本项目组牵头制定并发布，标准基于“34种细菌和真菌感染多重核酸检测试剂国家参考品（批号370026-201801）”，对相关试剂盒的要求、试验方法及标签和使用说明书等内容进行了规定^[10-12]。

上述评价采用的国家参考品由本项目组研制并提供，参考品由34种具有特定浓度（CFU/ml）的病原菌组成，包括12株革兰阳性细菌（肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌、无乳链球菌、单核细胞增多性李斯特菌、屎肠球菌、粪肠球菌、表皮葡萄球菌、化脓链球菌、藤黄微球菌、马红球菌、格氏李斯特菌、缓症链球菌）、16株革兰阴性细菌（脑膜炎奈瑟菌、流感嗜血杆菌、嗜肺军团菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、大肠埃希菌、产酸克雷伯菌、阴沟肠杆菌、奇异变形杆菌、粘质沙雷氏菌、干燥奈瑟氏菌、荧光假单胞菌、嗜水气单胞菌、琼氏不动杆菌、副流感嗜血杆菌）及6株念珠菌（热带念珠菌、光滑念珠菌、白色念珠菌、近平滑念珠菌、克柔念珠菌、葡萄牙念珠菌）^[10]。

1.2 病原菌多重核酸检测试剂盒 进行分析性能质量评价研究的10款病原菌多重核酸检测试剂盒由7家企业[广州万孚生物技术股份有限公司、苏州创澜生物科技有限公司、华大生物科技（武汉）有限公司、梅里埃诊断产品（上海）有限公司、湖南圣湘生物科技有限公司、百康芯（天津）生物科技有限公司、上海捷诺生物科技有限公司]提供，见表1。

表1 病原菌多重核酸检测试剂盒

Table 1 Multiplex nucleic acid detection kits for pathogenic microorganisms

感染类型	试剂盒编号	试剂盒名称	检测原理	多重数量(实现方式)	POCT	自动化
呼吸道感染	A	呼吸道病原体核酸检测试剂盒(PCR-荧光探针法)	荧光定量PCR	14重(2~4靶/管×6管)*	否	提取-检测-判读
	B	七项呼吸道病原菌核酸检测试剂盒(多重荧光PCR法)	荧光定量PCR+熔解曲线	7重(7靶/管)	否	提取-检测-判读
	C	呼吸道病原菌谱核酸检测试剂盒(恒温扩增芯片法)	环介导恒温扩增+微流控芯片	15重(1靶/孔×15孔)	是	检测-判读
	D	呼吸道病原体多重核酸检测试剂盒(恒温扩增芯片法)	环介导恒温扩增+微流控芯片	7重(1靶/孔×7孔)	是	检测-判读
中枢神经系统感染	E	中枢神经系统感染病原体核酸检测试剂盒(联合探针锚定聚合测序法)	宏基因组高通量测序	6重(6靶/管)*	否	检测-判读
	F	十八项中枢神经感染病原体核酸检测试剂盒(荧光PCR法)	巢式PCR+熔解曲线	18重(6或12靶/管)*	否	检测
	G	脑炎/脑膜炎多重病原体核酸联合检测试剂盒(封闭巢式多重PCR熔解曲线法)	巢式PCR+熔解曲线+微阵列芯片	14重(14靶/管)*	是	全流程
血流感染	H	革兰阳性菌和耐药基因联合检测试剂(微阵列芯片法)	扩增子拯救多重PCR+微阵列芯片	8重(8靶/管)	是	全流程
	I	革兰阴性菌和耐药基因联合检测试剂(微阵列芯片法)	扩增子拯救多重PCR+微阵列芯片	5重(5靶/管)	是	全流程
	J	血培养病原体及耐药基因检测试剂盒(封闭巢式多重PCR熔解曲线法)	巢式PCR+熔解曲线+微阵列芯片	22重(22靶/管)	是	全流程

注：*。试剂盒A、E、F和G同时检测病原菌和病毒；POCT. 即时检验

续表 2

病原菌名称	病原菌分类	试剂盒									
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
副流感嗜血杆菌	G(-)										
百日咳杆菌*	G(-)	√	√	√							
嗜麦芽窄食单胞菌*	G(-)			√							
卡他莫拉菌*	G(-)				√						
肺炎支原体*	MP	√		√	√						
肺炎衣原体*	CP	√		√	√						
烟曲霉*	F			√							
热带念珠菌	F			√							√
光滑念珠菌	F			√							√
白色念珠菌	F			√							√
近平滑念珠菌	F										√
克柔念珠菌	F										√
葡萄牙念珠菌	F										
新生隐球菌*	F						√	√			
格特隐球菌*	F						√	√			

注：* 国家参考品中未覆盖的病原菌；G (+), 革兰阳性细菌；G (-), 革兰阴性细菌；F, 真菌；MP, 肺炎支原体；CP, 肺炎衣原体；√, 该菌在病原菌谱中

2 结 果

使用参考品评价阳性和阴性符合率即重复性, 结果表明病原菌浓度 $\geq 1 \times 10^5$ CFU/ml 时, 在试剂盒检测范围内的病原菌均能检出并鉴定为正确的种属, 检测范围外病原菌均未检出, 表明试剂盒 A ~ J 具有较好的准确性和特异性; 病原菌浓度 \leq 检出限浓度的 5 倍时, 在试剂盒检测范围内的病原菌 10 次重复检测均能检出并鉴定为正确的种属, 表明试剂盒 A ~ J 具有较好的重复性。

使用参考品评价检出限, 试剂盒 A ~ J 检测范围内的病原菌的检出限性能差异较大, 从 1 CFU/ml ~ 8.5×10^5 CFU/ml, 以下按照 4 种不同因素进行分类分析。①按呼吸道、中枢神经系统及血流 3 种感染类型分析试剂盒的病原菌谱检出限性能, 中位值 (最小值, 最大值) 分别为 5×10^3 CFU/ml (15 CFU/ml, 5×10^4 CFU/ml)、 1×10^3 CFU/ml (1 CFU/ml, 6×10^3 CFU/ml) 及 1×10^6 CFU/ml (2×10^3 CFU/ml, 8.5×10^7 CFU/ml)。

②按革兰阳性和阴性细菌及真菌 3 种病原菌种类分析, 检出限的中位值均为 5×10^4 CFU/ml。③分析病原菌谱中分布和出现频率较高的 6 种菌的检出限, 肺炎链球菌为 5×10^2 CFU/ml (15 CFU/ml, 5×10^5 CFU/ml)、金黄色葡萄球菌为 3×10^3 CFU/ml (5×10^2 CFU/ml, 2.5×10^6 CFU/ml)、流感嗜血杆菌为 1×10^3 CFU/ml (6×10^2 CFU/ml, 1×10^6 CFU/ml)、铜绿假单胞菌为 5×10^4 CFU/ml (1×10^2 CFU/ml, 1×10^6 CFU/ml)、鲍曼不动杆菌为 3×10^6 CFU/ml (5×10^2 CFU/ml, 1×10^7 CFU/ml) 及大肠埃希菌为 5×10^4 CFU/ml (1 CFU/ml, 3×10^7 CFU/ml)。④按不同检测原理分析, 荧光定量 PCR 为 1×10^3 CFU/ml (1 CFU/ml, 6×10^3 CFU/ml)、巢式 PCR 为 1×10^5 CFU/ml (1×10^2 CFU/ml, 8.5×10^7 CFU/ml)、扩增子拯救多重 PCR 为 2×10^6 CFU/ml (5×10^5 CFU/ml, 5×10^6 CFU/ml)、恒温扩增为 5×10^4 CFU/ml (5×10^2 CFU/ml, 5×10^4 CFU/ml)、高通量测序为 5×10^2 CFU/ml (1×10^2 CFU/ml, 5×10^2 CFU/ml)。试剂盒检出限性能分析情况见图 1。

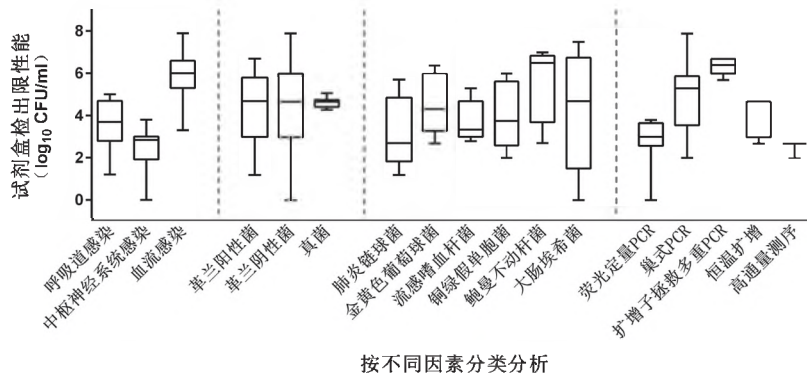


图 1 病原菌多重核酸检测试剂盒检出限性能的分析

注：柱状图中间的短横线表示检出限的中位值；柱状图两端分别表示检出限的最大值和最小值；各试剂盒病的检出限性能取 \log_{10} 值进行统计分析
Figure 1 Analysis of limit of detection performance of multiplex nucleic acid detection kits for pathogenic microorganisms

3 讨 论

自 COVID-19 疫情以来, 分子诊断技术在临床感染的诊断、疗效及预后评估等领域得到越来越多的重视。病原菌引起的感染性疾病, 特别是不明原因感染, 给人类生命健康带来严重威胁^[17]。随着分子诊断技术的发展及检测成本的下降, 多重核酸检测技术的应用日益广泛, 传统病原菌检测技术相比具有更好的时效性、准确性以及灵敏度, 使病原菌的快速精准诊断不断创新和发展。近年来, 美国 FDA 批准了 10 余个病原菌多重核酸检测试剂盒, 并先后制定公布了 4 个用于规范此类试剂盒质量相关指导原则^[13-16]。本项目组于 2018 年, 先后研制了“34 种细菌和真菌感染多重核酸检测试剂国家参考品(批号 370026-201801)”, 并牵头起草了《细菌和真菌感染多重核酸检测试剂盒(标准号 YY/T 1725-2020)》体外诊断试剂行业标准, 从实物标准和文字标准两方面建立了较为全面的质量控制与评价体系, 有助于促进我国相关行业的健康快速发展, 以及保证相关试剂盒的质量^[10-12]。

病原菌多重核酸检测试剂盒的检测原理及技术组合繁多。本研究中的 10 款试剂盒涵盖了 8 种核酸检测原理及 7 种技术组合(见表 1), 因此在产品的设计开发、性能验证及确认过程中需要严格的优化及测试, 才能使各种技术的组合达到性能最优配置。一般而言, 核酸扩增反应体系中引物和探针的数量越多, 即检测的病原菌数量越多, 以及使用的技术组合越复杂, 产品开发的难度越高^[18]。例如, 试剂盒 F、G 和 J 分别为单管检测 12 种、14 种和 22 种病原体, 其产品开发的难度远高于单管检测 10 种以下病原体; 试剂盒 B 为单管检测 7 种病原体, 但在一个荧光通道中分别使用荧光定量 PCR 和熔解曲线 2 种技术分别检测 2 种病原体, 因此其产品开发的难度也高于普通荧光定量 PCR 试剂盒; 试剂盒 C 和 D 应用微流控技术, 将多个单重反应体系叠加从而实现多重核酸检测, 但其使用的环介导恒温扩增技术仍须注意检出限和稳定性的优化, 同时微流控芯片的大规模制造也需注意严格控制不良品率^[19]。

病原菌多重核酸检测试剂盒的操作复杂程度、检测时间及成本控制各有不同, 检测的操作步骤一般分为样本前处理、核酸提取纯化或裂解、靶标基因核酸序列扩增、扩增子检测及结果报告, 不同试剂盒检测流程的自动化、时间及成本也各不相同, 是影响其临床普及应用的重要因素。例

如, 为提高灵敏度和特异性所选择的巢式 PCR 技术, 不仅需要 2 轮 PCR 操作, 更容易因其扩增子浓度极高而造成实验室气溶胶污染及假阳性结果; 而基于微流控技术“样本进、结果出”的全自动 POCT 试剂盒(试剂盒 G~J), 则能很好地避免污染(见表 1), 还具有操作容易、检测时间较短等优势, 但其检测成本要高于手工操作的 PCR 试剂盒。核酸提取过程较易实现自动化, 但由于不同种类病原体(病毒和病原菌)的核酸提取难易程度不同, 仍须进行优化及验证, 本研究中同时检测病毒和病原菌的 4 款试剂盒(试剂盒 A、E、F 及 G)中有 2 款未选择自动化核酸提取流程(见表 1)。试剂盒 F 的结果判读过程为非自动化, 需要检测人员将阳性结果的 T_m 值与 18 个病原体的熔解曲线 T_m 值范围逐一比对后进行判读, 不仅影响检测时间, 还容易导致检测效率较低且易出错。基于宏基因组高通量测序技术原理的试剂盒 E, 操作步骤繁琐、所需测序时间较长且自动化程度低, 相比 PCR 和恒温扩增等试剂盒不仅有较长的检测时间和较高的检测成本, 还可能由于复杂的手工操作导致检测系统整体的稳定性受影响。

病原菌多重核酸检测试剂盒的病原谱及检出限性能与应用场景密切相关。呼吸道感染检测试剂盒的病原菌谱, 革兰阴性菌占大多数, 而中枢神经系统感染和血流感染检测试剂盒的病原菌谱中, 革兰阴性和革兰阳性菌的占比则差别不大(见表 2)。由于病原菌在不同临床感染样本中的浓度不同, 相应试剂盒的检出限性能也不同。例如, 脑脊液样本一般比较干净, 因此中枢神经系统感染检测试剂盒(试剂盒 E~G)的检出限较低, 有助于更灵敏地检测到病原菌; 血培养阳性样本中病原菌的浓度一般均较高, 对相应试剂盒(试剂盒 H~J)的检出限要求不高, 因此血流感染检测试剂盒在优化时可能会更侧重提高特异性, 即在反应体系中存在极高浓度核酸的情况下应避免发生非特异性扩增; 呼吸道样本中杂质较多且存在定植菌, 因此相应试剂盒(试剂盒 A~D)的检出限处于前两类试剂盒之间, 通过设计较为均衡的检出限, 既能实现较好的检测灵敏度, 又有助于区分致病菌和定植菌。

本研究使用国家参考品在实验室内对 10 款适用于呼吸道感染、中枢神经系统感染及血流感染临床诊断且已经进入体外诊断试剂注册阶段的病原菌多重核酸检测试剂盒的分析性能进行评价,

并重点按照不同影响因素对其检出限性能进行了深入分析。后续,相关试剂盒还将通过开展严格的临床试验来评价其临床性能,从而最终验证其性能能否满足临床使用需求。本研究结果提示,不同病原菌多重核酸检测试剂盒的技术原理、靶标病原菌数量、自动化程度及操作复杂程度等各不相同;此外,适用于不同临床应用场景的试剂盒,其病原菌谱的设计和检出限性能的优化也各不相同。上述质量评价结果及分析有助于相关研发企业和医疗机构使用者深入了解我国病原菌多重核酸检测试剂盒分析性能的现状。

【参考文献】

[1] 胡明,李绪言,邱海波,等.新型冠状病毒肺炎患者继发细菌感染防治的体会与建议[J].中华重症医学电子杂志,2020,6(2):230-232. DOI: 10.3877/cma.j.issn.2096-1537.2020.02.026.

[2] 刘伟,李若瑜.对新型冠状病毒肺炎继发真菌感染的思考[J].微生物与感染,2020,67(1):58-61. DOI: 10.3969/j.issn.1673-6184.2020.01.011.

[3] 曹清.分子诊断检测在儿童感染性疾病的临床应用价值及卫生经济学分析[J].中华医学信息导报,2021,36(1):21. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1000-8039.2021.01.134.

[4] 吕晶南,余方友.分子生物学技术在感染性疾病诊断中的应用进展[J].临床检验杂志,2021,39(2):81-85. DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2021.02.01.

[5] 干驰,莫茜,陶悦.PCR技术在病原菌诊断中的研究进展[J].中国实验诊断学,2020,24(4):149-153. DOI: 10.3969/j.issn.1007-4287.2020.04.047.

[6] 金君,孙仁华,呼邦传.血流感染的分子诊断研究进展[J].中国现代医生,2020,58(36):182-187.

[7] 张培金,唐丽玲,钱丽华,等.碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌临床分布及其耐药特征[J].传染病信息,2021,34(2):165-168. DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2021.02.017.

[8] Food and Drug Administration. Nucleic acid based tests-multiplex panel [EB/OL]. (2021-08-20) [2020-02-09]. <https://www.fda.gov/MedicalDevices/ProductsandMedicalProcedures/InVitroDiagnostics/ucm330711.htm>.

[9] 国家药品监督管理局.医疗器械查询[EB/OL].(2021-08-20) [2020-02-09]. <https://www.nmpa.gov.cn/ylqx/index.html>.

[10] 刘东来,周海卫,石大伟,等.细菌感染多重核酸检测试剂

参考品的建立[J].传染病信息,2018,31(3):23-28. DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2021.02.017.

[11] 国家药品监督管理局.YY/T 1725-2020,细菌和真菌感染多重核酸检测试剂盒[S].北京:中国标准出版社,2020.

[12] 中国食品药品检定研究院.注册检验用体外诊断试剂国家标准品和参考品目录(第五期)[EB/OL].(2019-04-10) [2020-02-09]. <https://www.nifdc.org.cn/nifdc/bshff/bzhwzh/bzwztzgg/20190410150800480.html>.

[13] Food and Drug Administration. Class II special controls guidance document respiratory viral panel multiplex nucleic acid assay [EB/OL]. (2009-10-09) [2020-02-09]. <https://www.fda.gov/downloads/medicaldevices/deviceregulationandguidance/guidancedocuments/ucm180324.pdf>.

[14] Food and Drug Administration. Highly multiplexed microbiological medical countermeasure *in vitro* nucleic acid based diagnostic devices [EB/OL]. (2014-08-27) [2020-02-09]. <https://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/UCM327294.pdf>.

[15] Food and Drug Administration. Class II special controls guideline: gastrointestinal microorganism multiplex nucleic acid-based assays for detection and identification of microorganisms and toxin genes from human stool specimens [EB/OL]. (2015-11-02) [2020-02-09]. <https://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/UCM470559.pdf>.

[16] Food and Drug Administration. Class II special controls guideline: multiplex nucleic acid assay for identification of microorganisms and resistance markers from positive blood cultures [EB/OL]. (2015-05-27) [2020-02-09]. <https://www.fda.gov/ucm/groups/fdagov-public/@fdagov-meddev-gen/documents/document/ucm448520.pdf>.

[17] 焦艳梅,揣征然,赵雅琳,等.2020年全球传染病重要疫情事件回顾[J].传染病信息,2021,34(1):1-14. DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2021.01.002.

[18] 刘东来,周海卫,王佑春,等.新型冠状病毒核酸检测试剂的发展现状[J].中华实验和临床病毒学杂志,2020,34(6):582-587. DOI: 10.3760/cma.j.cn112866-20200630-00202.

[19] Reyes DR, Heeren HV, Guha S, *et al*. Accelerating innovation and commercialization through standardization of microfluidic-based medical devices [J]. Lab on a Chip, 2021, 21(1):9-21. DOI: 10.1039/D0LC00963F.

(2021-22-25 收稿 2022-03-24 修回)
(本文编辑 赵雅琳)