受理号：CSZ2500147

体外诊断试剂产品注册技术审评报告

产品中文名称：阴道炎病原体多重核酸检测试剂盒（PCR-反向点杂交法）

产品管理类别：第三类

申请人名称：广州和实生物技术有限公司

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.....14

基本信息

一、申请人名称

广州和实生物技术有限公司

二、申请人住所

广州高新技术产业开发区科学城开源大道 11 号 A8 栋第四层 B 单元

三、生产地址

广州高新技术产业开发区科学城开源大道 11 号 A8 栋第四层 B 单元;广州高新技术产业开发区科学城开源大道 11 号 C5 栋 701 室

技术审评概述

一、产品概述

（一）产品主要组成成分

试剂盒主要组成见表1。

表1 主要组成成分

组分名称		主要组成成分
阴道炎多重PCR试剂	阴道炎多重反应管	特异性引物、Taq酶、UDG酶、dNTP
	Buffer	Tris，甲酰胺
	阳性质控品	含Garv菌及含人DNA培养物
	阴性质控品	含人DNA培养物
反向点杂交试剂	杂交液Ⅰ浓缩液	SDS，SSC
	杂交液ⅠⅠ浓缩液	SDS，SSC
	溶液Ⅰ	链霉抗生物素蛋白(POD)
	溶液Ⅱ浓缩液	柠檬酸钠
	溶液Ⅲ	TMB
	溶液Ⅳ浓缩液	过氧化氢
	阴道炎多重杂交膜条	尼龙膜，探针

备注：不同批号试剂盒的以上成分不可以互换使用。

（二）产品预期用途

本产品用于体外定性检测人阴道拭子样本中的阴道加德纳菌、白色念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌、克柔念珠菌、近平滑念珠菌和阴道毛滴虫的核酸。

本产品用于生殖道相关病原体感染的辅助诊断。

本试剂盒检测结果仅供临床参考，不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

24 反应/盒；48 反应/盒；96 反应/盒。

（四）产品检验原理

本试剂盒对多重 PCR 技术与反向点杂交技术进行联用，以 7 种阴道炎病原体的保守特异性片段（不超过 200bp 序列）为靶区域,并设计了人β-actin 基因引物探针作为内参对实验过程加以监控。配备提取试剂、核酸扩增试剂和反向点杂交试剂，在同一管扩增体系中实现对未知样本的检测。

多重 PCR 技术原理：在同一 PCR 反应体系里同时加上 7 种不同阴道炎病原体的特异性引物，结合 DNA 聚合酶实现 PCR 扩增，是一种在同一管扩增体系中能同时扩增出多个核酸片段的 PCR 反应。

反向点杂交原理：将 7 种不同阴道炎病原体的特异性探针和内标探针包被在尼龙膜的不同区域制备特异性识别膜条。通过生物素标记的引物进行靶片段扩增，扩增产物和膜条上的特异性探针进行液相杂交，杂交反应结束后经过洗涤确保靶标中

的特异性片段和特异性探针结合；最后通过显色反应，对显色结果进行分析，从而对样本中的 7 种阴道炎病原体进行核酸检测。

本试剂盒包含用于检测和鉴别具有阴道炎感染体征和症状患者的阴道拭子中的 7 种不同阴道炎病原体核酸所需的试剂。试剂盒还包含阴性质控品和阳性质控品，用于对核酸提取、PCR 和反向点杂交等整个检测过程进行监控。

二、临床前研究概述

（一）主要原材料

1.主要原材料的选择

本产品制备过程中主要原材料包括引物、探针、dNTPs、DNA 聚合酶、UDG 酶、链霉抗生物素蛋白(POD)等。

主要原材料 DNA 聚合酶和 UDG 酶为企业自制，其余主要原材料均为外购。申请人对主要原材料进行了供应商的选择研究，通过功能性试验，筛选出最佳原材料和供应商，制定了各主要原材料的质量标准并经检验合格。

2.企业参考品和对照品的设置情况

本产品企业参考品包括阳性参考品、阴性参考品、最低检测限参考品和精密度参考品。

其中阳性参考品 14 份，由试剂盒检测范围内的病原体培

养物经临床阴性样本稀释至不同浓度水平组成。阴性参考品 7 份，由试剂盒检测范围外的病原体经临床阴性样本稀释组成。最低检测限参考品 7 份，来源同阳性参考品，经临床阴性样本通过稀释组成。精密度参考品 3 份，来源同阳性参考品，通过混合、经临床阴性样本梯度稀释组成。

设置了阴性质控品和阳性质控品。其中阳性质控品含人 DNA 的细胞培养物和阴道加德纳菌，阴性质控品含人 DNA 的细胞培养物。用于检测过程中试剂和设备的质量控制。

（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，确定了最佳的生产工艺。

申请人对引物、探针、酶、dNTPs 等浓度和体积进行优化，并对反应条件进行优化，包括退火温度、退火时间和变性时间等进行了研究，同时对样本核酸提取试剂和样本用量等研究，最终确定了最佳反应体系。

（三）分析性能评估

本产品分析性能评估内容主要包括：核酸提取性能、准确度、精密度、分析特异性、最低检测限和包容性等。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采用手工杂交方法及在不同适用机型上进行的分析性能评估资料。

在核酸提取性能研究中，申请人评估了核酸提取试剂的提取浓度、纯度和提取效率等性能，结果表明配套使用的核酸提取试剂的提取性能符合要求。

在准确性研究中，申请人使用三批次试剂盒，检测企业参考品和临床样本，三批试剂对临床样本及企业参考品的检测结果的符合率良好。

在最低检测限研究中，申请人使用三批试剂对试剂盒检测范围内病原体样本进行最低检出限研究，将不低于95%阳性检出率的最低浓度水平作为最低检出限，并进行最低检出限验证。最终确定阴道加德纳菌（Garv）最低检出限为2.50×10^{3} copies/mL，1.5×10^{3}CFU/mL；白假丝酵母（C.alb）最低检出限为5.15×10^{3} copies/mL，2×10^{4} CFU/mL；热带假丝酵母（C.tro）最低检出限为1.81×10^{2} copies/mL，5×10^{2} CFU/mL；光滑假丝酵母（C.gla）最低检出限为3.20×10^{2} copies/mL，5×10^{2}CFU/mL；克柔假丝酵母（C.kru）最低检出限为1.15×10^{3} copies/mL，2×10^{3}CFU/mL；近平滑假丝酵母（C.par）最低检出限为5.21×10^{3} copies/mL，4×10^{4} CFU/mL；阴道毛滴虫（Trv）最低检出限为1.16×10^{2} copies/mL，100 个/mL。

在精密度研究中，申请人采用三批试剂对中强阳性临床样本、临界阳性临床样本和阴性临床样本分别进行试验日内/间

、批次内/间、不同操作者间、不同地点间、不同仪器间精密度及再现性精密度研究。结果显示，试剂盒精密度符合要求。

分析特异性研究包括交叉反应研究、干扰物质研究和竞争性干扰研究。

在交叉反应研究中，申请人采用三批次试剂盒，对试剂盒检测范围外的病原体进行交叉反应试验。结果显示，试剂盒与以下交叉反应物在1×10^{6} copies/mL浓度水平无交叉反应：鲍氏不动杆菌、醋酸钙不动杆菌、空肠弯曲菌、生殖支原体、人（型）支原体、小肠结肠炎耶尔森（氏）菌、沙眼衣原体、淋病奈瑟氏菌、大肠埃希菌、绿脓假单胞菌（绿脓杆菌）、金黄色葡萄球菌、无乳链球菌、解脲支原体、B族链球菌、粪肠球菌、咽峡炎链球菌、肺炎克雷伯菌、梅毒螺旋体、普雷沃菌属、乙型链球菌、HIV病毒病原体；与以下交叉反应物在1×10^{5}copies/mL浓度水平上无交叉反应：单纯疱疹病毒1、单纯疱疹病毒2、腺病毒、巨细胞病毒、人乳头瘤病毒（6型、11型、16型、18型）病原体。

在干扰物质研究中，申请人采用三批试剂对样本中可能存在的干扰物质进行了研究，结果显示，全血（1.25% v/v）、5%阿昔洛韦乳膏（3.1μL/mL）、润滑剂（12.5μL/mL）、克霉唑阴道乳膏（2%）、硝酸咪康唑乳膏（4%）、甲硝唑凝胶（

0.75%）、克林霉素磷酸酯阴道凝胶（2%）、头孢呋辛酯片（0.2mg/mL）、左氧氟沙星（0.14mg/mL）、硫酸卡那霉素注射液（0.3mg/mL），以上干扰物质在低于上述浓度水平下对试剂盒检测结果无明显影响。

在竞争性干扰研究中，申请人采用三批试剂，使用一种病原体为检测限浓度与一种或多种其他病原体为高浓度（2×10^5copies/mL）混合后进行检测，结果表明对检测限浓度附近的病原靶标检测结果均无影响。

在包容性研究中，申请人采用三批试剂，分别对 7 个具有不同时间和 14 个具有区域不同特征性来源的阴道拭子样本进行最低检测限（每个样本重复检测 20 次）和重复性（每个样本重复检测 10 次）验证，检测结果均符合要求。

（四）阳性判断值研究

申请人对427例阴道拭子样本进行检测，检测结果与一代测序检测结果进行比对，统计分析结果显示阴阳性符合率均为100%。阳性判断值为在IC点有蓝色圆点信号的前提下，膜条中每一个数字所在区域表示相应的阴道炎病原体，显色反应结束后根据数字所在区域蓝色圆点的有无判断具体的阴道病原体，即蓝色圆点显现的位置判定为相应的阴道炎病原体核酸阳性。

（五）稳定性研究

申请人对本产品的稳定性研究包括实时稳定性、使用稳定性、运输稳定性及样本稳定性研究。

实时稳定性研究：采用三批次试剂盒在预期储存条件下，保存0个月、3个月、6个月、9个月、10个月，每到一个时间节点使用企业参考品对试剂盒的性能进行检测，结果显示试剂盒在2～8℃下可保存9个月。

此外，申请人对样本稳定性进行研究，研究结果支持产品说明书声称。

三、临床评价概述

申请人在中山大学孙逸仙纪念医院、广州医科大学附属第二医院、成都市第五人民医院、西电集团医院和徐州市贾汪区人民医院共5家临床机构完成了临床试验。临床试验包括以下三方面。

第一，采用试验体外诊断试剂与一代测序法进行比较研究，确认本产品的临床性能。临床试验入组受试者主要为具有阴道炎等相关症状或体征的疑似患者。样本类型为阴道拭子。临床试验共纳入1779例样本，试验结果显示：针对阴道加德纳菌，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为99.11%（

95%CI：97.74%，99.65%），阴性符合率为100%（95%CI：99.71%，100%）；针对白色念珠菌，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为99.69%（95%CI：98.25%，99.94%），阴性符合率为100%（95%CI：99.74%，100%）；针对热带念珠菌，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为100%（95%CI：97.21%，100%），阴性符合率为100%（95%CI：99.77%，100%）;针对光滑念珠菌，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为100%（95%CI：97.61%，100%），阴性符合率为100%（95%CI：99.76%，100%）；针对克柔念珠菌，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为100%（95%CI：96.95%，100%），阴性符合率为100%（95%CI：99.77%，100%）；针对近平滑念珠菌，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为100%（95%CI：97%，100%），阴性符合率为100%（95%CI：99.77%，100%）；针对阴道毛滴虫，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为99.58%（95%CI：97.68%，99.93%），阴性符合率为99.81%（95%CI：99.43%，99.93%）。

第二，采用试验体外诊断试剂与培养鉴定法进行比较研究，确认本产品的临床性能。临床试验共纳入625例样本。试验结果显示：针对白色念珠菌，试验体外诊断试剂与对比方法比

较的阳性符合率为100%（95%CI：97.02%，100%），阴性符合率为99.6%（95%CI：98.55%，99.89%）；针对热带念珠菌，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为100%（95%CI：95.36%，100%），阴性符合率为99.82%（95%CI：98.97%，99.97%）；针对光滑念珠菌，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为98.8%（95%CI：93.49%，99.79%），阴性符合率为99.63%（95%CI：98.66%，99.9%）；针对克柔念珠菌，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为100%（95%CI：95.31%，100%），阴性符合率为99.63%（95%CI：98.68%，99.9%）；针对近平滑念珠菌，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为100%（95%CI：95.36%，100%），阴性符合率为99.82%（95%CI：98.97%，99.97%）。

第三，针对阴道加德纳菌和阴道毛滴虫两种病原体，采用试验体外诊断试剂与已上市同类产品进行比较研究，确认本产品的临床性能。临床试验共纳入274例样本，试验结果显示：针对阴道加德纳菌，试验体外诊断试剂与对比试剂的阳性符合率为100%（95%CI：96.15%，100%），阴性符合率为100%（95%CI：97.89%，100%）；针对阴道毛滴虫，试验体外诊断试剂与对比试剂比较的阳性符合率为96.91%（95%CI：91.3%，98.94%），阴性符合率为99.44%（95%CI：96.87%，99.9%）。

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

申请人对已知危险进行风险评价，按照风险可接受准则判断每个危险的风险是否达到可接受水平，经综合评价，目前认为该产品的受益大于风险，但为保证产品使用安全，基于对主要剩余风险的考虑，已对产品说明书中的风险提示进行了更新。具体如下：

1.本产品用于体外定性检测人阴道拭子样本中的阴道加德纳菌、白色念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌、克柔念珠菌、近平滑念珠菌和阴道毛滴虫的核酸。

本产品用于生殖道相关病原体感染的辅助诊断。

本试剂盒检测结果仅供临床参考，不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。

2.产品说明书中介绍了该产品检验方法的局限性及使用中的注意事项。

附件：产品说明书

【产品名称】

通用名称：阴道炎病原体多重核酸检测试剂盒（PCR-反向点杂交法）

【包装规格】

24 反应/盒；48 反应/盒；96 反应/盒

【预期用途】

本产品用于体外定性检测人阴道拭子样本中的阴道加德纳菌、白色念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌、克柔念珠菌、近平滑念珠菌和阴道毛滴虫的核酸。

本产品用于生殖道相关病原体感染的辅助诊断。

本试剂盒检测结果仅供临床参考，不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。

细菌性阴道感染（Bacterial vaginosis，BV）是以阴道内正常产生过氧化氢的乳杆菌减少或消失，而以兼性厌氧菌及厌氧菌（如 Garv）增多导致的阴道感染。BV 相关的并发症较多，可引起盆腔炎症性疾病、妇科手术后感染及不孕症。妊娠期合并 BV 可引起流产、早产、胎膜早破、绒毛膜羊膜炎、新生儿感染、产褥感染等不良妊娠结局。BV 也会增加性传播病原体感染的风险，如 HPV、HIV、淋病奈瑟菌、沙眼衣原体和单纯疱疹病毒 2 型等。BV 的诊断目前主要根据 Amsel 临床诊断标准、革兰染色 Nugent 评分诊断标准、分子诊断及功能学检测。

外阴阴道假丝酵母菌感染（Vulvovaginal Candidiasis，VVC）是由假丝酵母菌引起的机会性真菌感染，为一种常见的妇产科感染性疾病。假丝酵母菌是阴道的条件致病菌，在微生态平衡状态下通常不致病，一旦这种平衡被某种或多种因素打破后，阴道菌群互相制约作用消失，致使假丝酵母菌得以繁殖，并由孢子相转变为菌丝相，侵袭破坏阴道粘膜，产生相应的临床症状，如白带增多、外阴瘙痒、灼痛、性交痛以及尿痛等。目前实验室诊断方法有悬滴、涂片法、培养法。

阴道毛滴虫感染（Trichomoniasis）是由阴道毛滴虫（Trv）感染所致。阴道毛滴虫病可导致不良生殖健康结局，包括子宫颈病变、子宫切除术后残端蜂窝织炎或脓肿、盆腔炎症性疾病、不孕症、增加 HIV 感染易感性、增加子宫颈癌风险，尤其是阴道毛滴虫与 HPV 共同感染时子宫颈癌风险的增加更明显。阴道毛滴虫病还可能增加精神疾病风险，特别是治疗困难的阴道毛滴虫病患者精神疾病风险更高。阴道毛滴虫病患者妊娠期早产、胎膜早破、低出生体重儿、新生儿滴虫感染和新生儿死亡发生率增高。常用的实验室检查方法包括显微镜检查法、培养法、抗原检测、核酸检测。

阴性结果不能排除阴道病原体感染，也不应作为治疗或制定其他患者管理决策的唯一依据。

阳性结果不能排除检测指标外细菌感染或其他病毒混合感染情况。

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。

该试剂盒检测的阴道感染病原体的种类如下：

类型	序号	检测靶标
细菌性阴道感染（Bacterial vaginosis，BV）	1	阴道加德纳菌（Gardnerella vaginalis，Garv）
外阴阴道假丝酵母菌感染（Vulvovaginal Candidiasis，VVC）	2	白假丝酵母（白色念珠菌）（Candida albicans，C.alb）
	3	热带假丝酵母（热带念珠菌）（Candida tropicalis，C.tro）
	4	光滑假丝酵母（光滑念珠菌）（Candida glabrata，C.gla）
	5	克柔假丝酵母（克柔念珠菌）（Candida krusei，C.kru）
	6	近平滑假丝酵母（近平滑念珠菌）（Candida parapsilosis，C.par）
阴道毛滴虫感染（Trichomoniasis）	7	阴道毛滴虫（Trichomonas vaginalis，Trv）

【检验原理】

本试剂盒对多重 PCR 技术与反向点杂交技术进行联用，以 7 种阴道炎病原体的保守特异性片段（不超过 200bp 序列）为靶区域，并设计了人 β-actin 基因引物探针作为内参对实验过程加以监控。配备提取试剂、核酸扩增试剂和反向点杂交试剂，在同一管扩增体系中实现对未知样本的检测。

多重 PCR 技术原理：在同一 PCR 反应体系里同时加上 7 种不同阴道炎病原体的特异性引物，结合 DNA 聚合酶实现 PCR 扩增，是一种在同一管扩增体系中能同时扩增出多个核酸片段的 PCR 反应。

反向点杂交原理：将 7 种不同阴道炎病原体的特异性探针和内标探针包被在尼龙膜的不同区域制备特异性识别膜条。通过生物素标记的引物进行靶片段扩增，扩增产物和膜条上的特异性探针进行液相杂交，杂交反应结束后经过洗涤确保靶标中的特异性片段和特异性探针结合；最后通过显色反应，对显色结果进行分析，从而对样本中的 7 种阴道炎病原体进行核酸检测。

本试剂盒包含用于检测和鉴别具有阴道炎感染体征和症状患者的阴道拭子中的 7 种不同阴道炎病原体核酸所需的试剂。试剂盒还包含阴性质控品和阳性质控品，用于对核酸提取、PCR 和反向点杂交等整个检测过程进行监控。

【主要组成成分】

（1）24 反应/盒

组分名称		规格	数量	主要组成成分
阴道炎多重 PCR 试剂	阴道炎多重反应管	1 人份/管	24	特异性引物、Taq 酶、UDG 酶、dNTP
	Buffer	800μL/管	1	Tris，甲酰胺
	阳性质控品	/	1	含 Garv 菌及含人 DNA 培养物
	阴性质控品	/	1	含人 DNA 培养物
反向点杂交试剂	杂交液 I 浓缩液	50mL/瓶	1	SDS，SSC
	杂交液 II 浓缩液	50mL/瓶	2	SDS，SSC
	溶液Ⅰ	220μL/管	1	链霉抗生物素蛋白(POD)
	溶液Ⅱ浓缩液	50mL/瓶	1	柠檬酸钠
	溶液Ⅲ	22mL/瓶	1	TMB
	溶液Ⅳ浓缩液	100μL/管	1	过氧化氢
	阴道炎多重杂交膜条	24 人份/袋	1	尼龙膜，探针

（2）48 反应/盒

组分名称		规格	数量	主要组成成分
阴道炎多重 PCR 试剂	阴道炎多重反应管	1 人份/管	48	特异性引物、Taq 酶、UDG 酶、dNTP
	Buffer	1600μL/管	1	Tris，甲酰胺
	阳性质控品	/	1	含 Garv 菌及含人 DNA 培养物
	阴性质控品	/	1	含人 DNA 培养物
反向点杂交试剂	杂交液 I 浓缩液	50mL/瓶	2	SDS，SSC
	杂交液 II 浓缩液	50mL/瓶	4	SDS，SSC
	溶液Ⅰ	220μL/管	2	链霉抗生物素蛋白(POD)
	溶液Ⅱ浓缩液	50mL/瓶	2	柠檬酸钠
	溶液Ⅲ	22mL/瓶	2	TMB
	溶液Ⅳ浓缩液	100μL/管	2	过氧化氢
	阴道炎多重杂交膜条	24 人份/袋	2	尼龙膜，探针

（3）96 反应/盒

组分名称		规格	数量	主要组成成分
阴道炎多重 PCR 试剂	阴道炎多重反应管	1 人份/管	96	特异性引物、Taq 酶、UDG 酶、dNTP
	Buffer	1600μL/管	2	Tris，甲酰胺
	阳性质控品	/	1	含 Garv 菌及含人 DNA 培养物

	阴性质控品	/	1	含人 DNA 培养物
反向点杂交试剂	杂交液 I 浓缩液	50mL/瓶	4	SDS，SSC
	杂交液 II 浓缩液	50mL/瓶	8	SDS，SSC
	溶液 I	220μL/管	4	链霉抗生物素蛋白(POD)
	溶液 II 浓缩液	50mL/瓶	4	柠檬酸钠
	溶液III	22mL/瓶	4	TMB
	溶液Ⅳ浓缩液	100μL/管	4	过氧化氢
	阴道炎多重杂交膜条	24 人份/袋	4	尼龙膜，探针

注：1.不同批号试剂盒的以上成分不可以互换使用。

2.试剂盒组分中的阴道炎多重反应管为冻干品，阳性质控品和阴性质控品为玻璃化后的透明胶状。

3.本试剂盒组分不包含配套的样本采集设备、纯化水、生理盐水等。

4.可使用配套核酸提取或纯化试剂盒（广州和实生物技术有限公司，粤穗械备 20230740 号）。

【储存条件及有效期】

储存条件：试剂盒保存于 2-8℃，有效期 9 个月。

产品生产日期及有效期：详见产品标签。

【适用仪器】

1、PCR 扩增仪（型号：Hema9600）、恒温振荡水槽（型号：DKZ-2）

2、自动核酸分子杂交仪（型号：4800，广州和实生物技术有限公司，粤械注准 20222221721）

3、全自动核酸提取扩增杂交仪（型号：ACME3200，广州和实生物技术有限公司，粤械注准 20232222131）

【样本要求】

1. 适用样本类型：阴道拭子。
2. 样品采集要求：取材前 24h 禁止性交、盆浴、阴道灌洗和局部上药等。
3. 样本采集方法：取膀胱截石位，将窥器（如需）以少量生理盐水润滑后放入阴道内，以一次性使用无菌拭子从阴道上 1/3 侧壁刮取分泌物，置于无菌拭子套管中密闭送检。
4. 采集拭子：一次性使用无菌拭子。拭子头材质为脱脂棉、聚酯纤维材质的植绒拭子。拭子杆材质为竹签和塑料材质。
5. 样本的保存：

样本采集后为干拭子状态，样本采集后应立即送检。如不能马上检测，样本放置在 2～8℃冰箱中保存不超过 3 天，在-25～-15℃冰箱中保存不超过 6 个月，在-25～-15℃条件下冻融次数不超过 8 次。

【检验方法】

一、样本处理和核酸提取：

1. 质控品处理

本试剂盒中的阴性质控品参与提取，用于对环境进行监控；阳性质控品参与提取，用于 PCR 检测试剂的质控。将阴性质控品、阳性质控品分别加入 500μL 生理盐水，充分震荡混匀，备用。

2. 样本处理

往样本收集管中加入 2 mL 生理盐水，充分震荡混匀，作为待测样本备用。

3. 核酸提取

质控品和样本提取需搭配使用核酸提取或纯化试剂盒(广州和实生物技术有限公司,粤穗械备 20230740 号)，按其说明书操作进行核酸提取。其中预分装板样本用量 200μL，洗脱体积 100μL；预分装条样本用量 300μL，洗脱体积 90μL。

二、多重 PCR 与反向点杂交操作：

1. 检测反应管处理

从试剂盒中取出阴道炎多重反应管（使用铝箔袋包装），避免粉末粘在管盖上。再将其置于 PCR 管冰架上，小心揭开管盖。

2. 加样

往上述反应管中分别加入提取后的待测核酸样本 20 μL 和 Buffer 30μL。

在 PCR 扩增仪上进行扩增。

3. PCR 扩增

将加样后的反应管放入 PCR 仪器样本槽内。

PCR 反应条件程序设置如下：

程序	温度	时间	循环数
程序 1	37℃	3 分钟	1
程序 2	95℃	5 分钟	1
程序 3	95℃	20 秒	45
	55℃	40 秒	
程序 4	70℃	7 分钟	1
反应体积 50μL，保存文件，运行。			

4. 杂交操作

4.1 试剂配制

4.1.1 杂交试剂的配制

试剂名称	数量规格	配置方式	备注	配制后名称
杂交液 I 浓缩液	1 瓶（50mL）浓缩液	加 200 mL 纯化水稀释	在低温出现结晶时需先预热再稀释	杂交液 I
杂交液 II 浓缩液	2 瓶（50mL）浓缩液	每瓶加 200 mL 纯化水稀释	在低温出现结晶时需先预热再稀释	杂交液 II
溶液 II 浓缩液	1 瓶（50mL）浓缩液	加 200 mL 纯化水稀释	在低温出现结晶时需先预热再稀释	溶液 II
溶液Ⅳ浓缩液	1 管（100μL）浓缩液	每管加 900μL 纯化水稀释	/	溶液Ⅳ

4.1.2 结合液的配制（根据实际用量配制，现配现用）

膜条数(张)	42℃的杂交液 II（mL）	溶液 I （μL）
1～3	10	10
4～5	30	30

4.1.3 显色液的配制（根据实际用量配制，现配现用）

膜条人份数	溶液 II（mL）	溶液III（mL）	溶液Ⅳ（μL）
1～3	10	1	5
4～5	20	2	10

4.2 杂交

4.2.1 产物处理

4.2.1.1 打开电热恒温振荡水槽，待温度稳定后用温度计校正摇床温度至 42℃；

4.2.1.2 将 PCR 扩增产物置于 98℃ 8 分钟，使产物变性，后立即置于冰水混合物中 2 分钟以上，30 分钟以下（使用前应一直放置于冰水混合物中）；

4.2.1.3 镊子夹取阴道炎多重杂交膜条，并在膜条边缘的编号区编上待检样本号；

4.2.1.4 取 N 个 15mL 离心管，置于离心管架中，然后将每张膜条分别放入一支 15mL 离心管中，加入约 8mL 预热后的杂交液 I，备用；

4.2.1.5 将 PCR 扩增产物加入对应编号的 15mL 离心管中，盖紧管盖；并将离心管平放入 42℃水浴摇床中，低速转动（100～150 转/分）杂交 1 小时；

4.2.1.6 将杂交液 II 放入水浴摇床中预热至 42℃，备用。

4.2.2 结合

4.2.2.1 弃杂交液 I，将膜条转入 50mL 离心管中，5 张膜条/管；

4.2.2.2 加入现配的结合液，放入 42℃水浴摇床中，低速转动（100～150rpm）结合 10 分钟。

注：杂交液 I 需先预热至 42℃，每管一次最多放入 5 张膜条。

4.2.3 洗膜

弃结合液，取出阴道炎多重杂交膜条，转入 50mL 离心管中，按下表比例加入预热至 42℃的杂交液 II，置 42℃水浴摇床中，低速转动（100～150rpm）洗膜 10 分钟。

膜条数(张)	42℃的杂交液 II（mL）
1～3	20
4～5	30

4.2.4 显色

4.2.4.1 弃杂交液 II，取出阴道炎多重杂交膜条，转入 50mL 离心管中，加入现配的显色液（具体配制见 4.1 中“显色液的配制”）；

4.2.4.2 在 20～25℃中轻摇、避光显色 10 分钟；

4.2.4.3 取出膜条放入 20mL 纯化水中，终止显色 2 分钟，用吸水纸吸去膜条表面水分，进行分析判断。

4.2.4.4 试验结束后，将膜条放入斑点自动扫描判读仪，读取结果并照相保存。

三、自动核酸分子杂交仪（型号：4800，广州和实生物技术有限公司，粤械注准 20222221721）操作：

1. 将杂交液 I、结合液、杂交液 II、显色液和纯化水，放入对应的试剂瓶(标记为 A 液、B 液、C 液、D 液、E 液)中。

2. 将 PCR 扩增产物 98℃变性 8 分钟，立即置于冰水混合物中 2 分钟以上，30 分钟以下（使用前应一直放置于冰水混合物中）。

3. 膜条编号（中性笔或铅笔），放入对应反应槽中。

4. 打开杂交仪电源开关，取出所有试剂管道，运行清洗阀，排空管道后把管道插入对应试剂瓶中。

5. 选择“M1-M12”中所需要的程序（数字代表实验列数），点击确定运行程序。

6. 仪器自动添加 A 液，加完 A 液后，手动点击“暂停”，按膜条编号对应顺序加入 PCR 产物（全量），点击“继续”仪器继续完成后续所有实验操作。

7. 若实验过程中出现问题，点击“暂停”，点击“复位”，再点击“清洗”清洗样品槽，然后点击“抽水”。排空液体，待完成清洗及排空后重新开始实验。

8. 试验结束后，将膜条放入斑点自动扫描判读仪，读取结果并照相保存。

9. 设备清洗及保养详见全自动核酸分子杂交仪操作说明书。

四、全自动核酸提取扩增杂交仪（型号：ACME3200，广州和实生物技术有限公司，粤械注准 20232222131）操作：

1. 取出核酸提取试剂盒里面的预分装反应条（广州和实生物技术有限公司），小心撕开铝膜，放置在一体化核酸仪的相应位置；

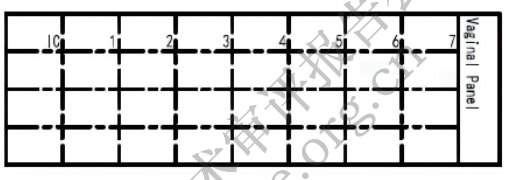
2. 从试剂盒中取出阴道炎多重反应管（使用铝箔袋包装），避免粉末粘在管盖上，放置在一体化核酸仪的相应位置；

3. 颠倒采集后的样本运输管进行快速混合，然后取临床样本转移到预分装反应条的样本孔或仪器自动取样。用户在系统用户界面点击启动，开始进行自动化的核酸制备、多重 PCR 和反向点杂交。该平台可全自动完成样本制备、扩增和反向点杂交检测。详细操作步骤请参阅全自动核酸提取扩增杂交仪操作手册。

【阳性判断值】

在 IC 点有蓝色圆点信号的前提下，膜条中每一个数字所在区域表示相应的阴道炎病原体，显色反应结束后根据数字所在区域蓝色圆点的有无判断具体的阴道炎病原体，即蓝色圆点显现的位置判定为相应的阴道炎病原体核酸阳性。

阴道炎多重杂交膜条示意图如下图所示：



阴道炎多重杂交膜条上数字对应的阴道炎病原体名称如下图所示:

膜条上数字编号	对应的阴道炎病原体
1	阴道加德纳菌（Garv）

2	白假丝酵母（C.alb）
3	热带假丝酵母（C.tro）
4	光滑假丝酵母（C.gla）
5	克柔假丝酵母（C.kru）
6	近平滑假丝酵母（C.par）
7	阴道毛滴虫（Trv）

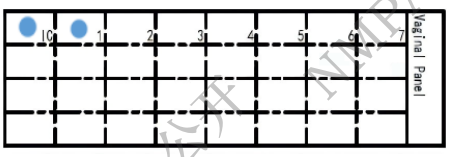
整张膜条最右侧 “Vaginal Panel”字母表示膜条用于阴道炎项目检测，膜条包括 IC 点在内共 8 个显色圆点所在区域，其中 IC 点为内参点（第一排左起第一位），其余各点代表 7 种阴道炎病原体。

质量控制：试剂盒各质控品必须在同一次实验中同时达到以下要求，否则本次实验无效，需重新进行。

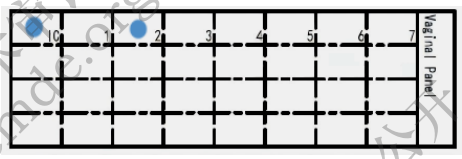
样品名称	显色结果	结果与解释
阴性质控品	IC 点有蓝色圆点信号，其他位点无蓝色圆点信号	阴性
阳性质控品	IC 点、1 号位点有蓝色圆点信号，其他位点无蓝色圆点信号	阳性

【检验结果的解释】

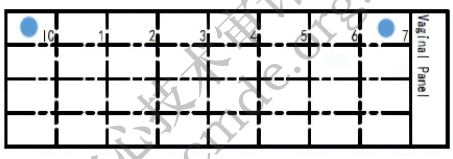
1. 检测结果阳性的，表明该样本有相应的阴道炎病原体的核酸存在，检测结果阴性并不能排除样本含有阴道炎病原体，表明所检测样本不含有病原体浓度或含有病原体浓度低于本试剂盒检测下限。
2. 检测过程中如果膜条出现多个阳性点，代表不同阴道炎病原体混合感染。
3. 如果临床样本 IC 点和其他位点均为阴性，则建议重新取样。
4. 如果临床样本 IC 点阴性，其他位点有蓝色圆点显色信号，为正常现象（采样时病毒载量大，取得的细胞核少的情况），可判断为相应位点病原体阳性。
5. 常见型别结果示意图：



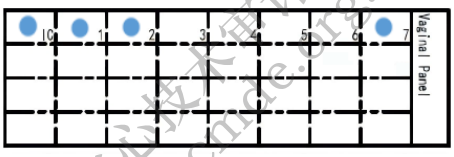
阴道加德纳菌阳性结果图



白假丝酵母阳性结果图

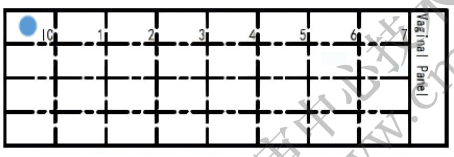


阴道毛滴虫阳性结果图

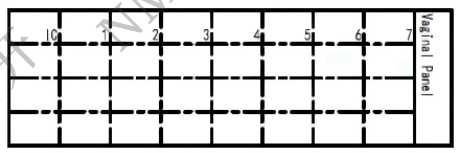


阴道加德纳菌、白假丝酵母、阴道毛滴虫阳性结果图

2）临床阴性结果示意图：



正常临床阴性结果



异常临床阴性结果

【检验方法的局限性】

1. 本试剂盒只能提示是否存在阴道炎病原体感染，检测结果仅供体外诊断使用和临床参考，不能单独作为诊断和治疗依据。
2. 样本检测结果和样本收集、处理、运送及保存质量有关，其中任何失误都将可能导致检测结果不准确。试剂运输，保存不当或者试剂配制不准确引起的试剂效能下降，也会导致检测结果不准确。
3. 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、保存和处理方法进行了验证，其他样本类型或样本采集、保存、处理方法无法保证产品性能。
4. 实验室环境污染、试剂污染、样本交叉污染，都可能出现假阳性结果。
5. PCR 试验或与测试相关的试验，需要有相关资质或熟悉相关技术的人操作。
6. 若病原体水平低于检出限，则可能得出假阴性结果。
7. 不合理的样本采集、转运及核酸提取均有可能导致假阴性结果。
8. 阴性结果不能排除无本试剂盒的阴道炎病原体感染，也不应作为治疗或影响其他患者管理决策的唯一依据。检测结果应结合临床病史、流行病学数据和其它临床数据评估病人情况。
9. 病原体核酸可能在体内持续存留，这与病原体活性无关。检出分析物靶标并不意味着相应病原体具有传染性，或者该病原体是引发临床症状的病原体。
10. 本检测试剂盒仅经过用于人源样本材料的评价。
11. 如果病原体在靶区域发生突变，则可能无法检出病原体核酸或出现难以预测的结果。
12. 阳性和阴性预测值与流行率高度相关。该性能可能随流行率和检测人群的不同而有所变化。
13. 本检测试剂盒不能排除其他细菌性、真菌性、病毒性或寄生虫病原病原体引起的疾病。

14. 仅评价了所列干扰物质的影响，未注明物质产生的干扰可能会导致错误结果。

15. 与阴道病原体（本文所述病原体除外）的交叉反应可能会导致错误结果。

16. 如果患者最近服用过阴道炎治疗药物或益生菌，可能会得到不准确的阳性或阴性结果。

17. 不同病程不同阶段样本的阳性率不一致。

【产品性能指标】

1. 准确度：

1.1 企业参考品：检测企业阳性参考品 14 份，阳性符合率为 100%；企业阴性参考品 7 份，阴性符合率为 100%。

1.2 临床样本：检测不同的阳性/阴性临床样本、标准菌株、临床分离株和临床上常见的混合感染样本（BV+VVC、VVC+毛滴虫、BV+VVC+毛滴虫、AV+BV、AV+毛滴虫、AV+VVC、GBS+毛滴虫、BV+毛滴虫），进行阳性符合率和阴性符合率验证，结果符合接受标准。

2. 最低检测限：本试剂盒对 7 种阴道炎病原体可检出的最低检测限（LoD）详见下表。

序号	病原体名称	LOD	LOD
1	阴道加德纳菌（Garv）	1.5×10^3CFU/mL	2.50×10^3 copies/mL
2	白假丝酵母（C.alb）	2×10^4CFU/mL	5.15×10^3 copies/mL
3	热带假丝酵母（C.tro）	5×10^2CFU/mL	1.81×10^2 copies/mL
4	光滑假丝酵母（C.gla）	5×10^2CFU/mL	3.20×10^2 copies/mL
5	克柔假丝酵母（C.kru）	2×10^3CFU/mL	1.15×10^3 copies/mL
6	近平滑假丝酵母（C.par）	4×10^4CFU/mL	5.21×10^3 copies/mL
7	阴道毛滴虫（Trv）	100 个/mL	1.16×10^2 copies/mL

3. 交叉反应：检测鲍氏不动杆菌、醋酸钙不动杆菌、空肠弯曲菌、生殖支原体、人（型）支原体、小肠结肠炎耶尔森（氏）菌、沙眼衣原体、淋病奈瑟氏菌、大肠埃希菌、绿脓假单胞菌（绿脓杆菌）、金黄色葡萄球菌、无乳链球菌、解脲支原体、B 族链球菌、粪肠球菌、咽峡炎链球菌、肺炎克雷伯菌、梅毒螺旋体、普雷沃菌属/纤毛菌属、乙型链球菌、HIV 病毒病原体，检测结果表明本试剂盒与以上物质在 1×10^6copies/mL 浓度水平无交叉反应；检测单纯疱疹病毒 1、单纯疱疹病毒 2、腺病毒、巨细胞病毒、人乳头瘤病毒（6 型、11 型、16 型、18 型）病原体，检测结果表明本试剂盒与以上物质在 1×10^5copies/mL 浓度水平上无交叉反应。

4. 干扰物质：全血（1.25% v/v）、5%阿昔洛韦乳膏（3.1 μL/mL）、润滑剂（12.5 μL/mL）、克霉唑阴道乳膏（2%）、硝酸咪康唑乳膏（4%）、甲硝唑凝胶（0.75%）、克林霉素磷酸酯阴道凝胶（2%）、头孢呋辛酯片（0.2mg/mL）、左氧氟沙星（0.14mg/mL）、硫酸卡那霉素注射液（0.3mg/mL），以上物质在低于上述水平条件下不干扰试剂盒的检测结果。

5. 竞争性干扰：试剂盒所检测病原体之间进行竞争干扰性能分析评估，当一种病原体在检测限浓度附近，而其他病原体为高浓度（细菌、真菌感染水平 2×10^5copies/mL）时，对检测限浓度附近的病原靶标检测结果均无影响，试剂盒各检测靶标之间不会产生竞争干扰。

6. 精密度：

6.1 精密度参考品：对精密度参考品进行 10 次重复检测，结果为相应病原体阴阳性，符合标准。

6.2 临床样本精密度评价：使用强阳性、临界阳和阴性样本三种浓度水平的临床样本，进行日内/日间、批内/批间、不同操作者间、不同仪器间、不同地点间精密度评价，检测结果阴性样本的阴性结果符合率为 100%，临界阳性样本的阳性检出率为 100%，阳性样本的阳性检出率为 100%。（95%CI：）

7. 临床试验：

7.1 与一代测序法的比较研究：共纳入 1779 例样本，针对阴道加德纳菌，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为 99.11%，阴性符合率为 100%；针对白色念珠菌，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为 99.69%，阴性符合率为 100%；针对热带念珠菌，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为 100%，阴性符合率为 100%）；针对光滑念珠菌，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为 100%，阴性符合率为 100%；针对克柔念珠菌，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为 100%，阴性符合率为 100%；针对近平滑念珠菌，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为 100%，阴性符合率为 100%；针对阴道毛滴虫，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为 99.58%，阴性符合率为 99.81%。

7.2 与培养鉴定法的比较研究：共纳入 625 例样本，针对白色念珠菌，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为 100%，阴性符合率为 99.6%；针对热带念珠菌，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为 100%，阴性符合率为 99.82%；针对光滑念珠菌，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为 98.8%，阴性符合率为 99.63%；针对克柔念珠菌，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为 100%，阴性符合率为 99.63%；针对近平滑念珠菌，试验体外诊断试剂与对比方法比较的阳性符合率为 100%，阴性符合率为 99.82%。
7.3 与已上市产品的比较研究：共纳入 274 例样本，针对阴道加德纳菌，试验体外诊断试剂与对比试剂的阳性符合率为 100%，阴性符合率为 100%；针对阴道毛滴虫，试验体外诊断试剂与对比试剂比较的阳性符合率为 96.91%，阴性符合率为 99.44%。

【注意事项】

1. 本实验前请仔细阅读本说明书。
2. 为了避免样本中任何潜在的生物危险，检测样本含有传染性物质，避免接触到皮肤和粘膜；样本处理必须在可防止气雾外流的生物安全柜中操作，实验过程中穿防护服，带一次性手套，使用自卸管移液器；样本制备区所用过的试管、吸头需置入盛有消毒剂的容器，并与废弃物一起灭菌后方可丢弃；样本操作和处理均需符合相关法规要求：卫生部《微生物生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》。
3. 本试剂盒内的阳性质控品应视为具有传染性物质，操作和处理均需符合相关法规要求：卫生部《微生物生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》。
4. 实验室管理应严格按照 PCR 基因扩增实验室的管理规范，实验人员必须进行专业培训，实验过程严格分区进行（试剂准备区、标本制备区、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，各区各阶段用品不能交叉使用；使用经高压灭菌的一次性离心管和吸头或购买无 DNA 酶、RNA 酶的离心管和吸头。
5. 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。
6. 遵照实验室管理规范，包括推荐在处理不同患者样本时更换手套，以避免样本间交叉污染或导致试剂污染。
7. 试剂盒中组分需在效期内使用，不使用本试剂盒提供的组分进行实验将可能导致错误结果。
8. 样本采集和处理程序需进行专门的培训和指导。
9. 正确的样本采集、储存和运输是获取准确结果的基本条件。
10. 请勿使用反应管损坏的检测盒。
11. 如果检测盒潮湿或密封盖已破损，请勿使用。
12. 对每次实验进行质量控制。
13. 杂交全过程需避免用手接触膜条，应用镊子夹取膜条边角进行操作。避免划破膜条，并用铅笔在边角标记。油性笔标记会影响信号分析的准确性。
14. 如果显色反应控制点颜色显得较浅，可以适当延长显色时间 3～5 分钟。
15. 反应结束后，膜条进行扫描时务必先用吸水纸吸干表面水分，并且平整地放到扫描仪上。在图片预览时膜条上不出现水渍和皱褶现象，否则会影响信号分析结果的准确性。
16. 实验完毕用 10%次氯酸或 75%酒精处理工作台和移液器，并用紫外线灯照射 20-30 分钟。

【参考文献】

1. Hainer BL, Gibson MV. Vaginitis: Diagnosis and Treatment. Am Fam Physician. 2011 Apr 1;83(7):807-815.
2. Granato PA. Vaginitis: Clinical and Laboratory Aspects for Diagnosis. Clin Microbiol Newsletter. 2010 Aug 1,(15): 111-116.
3. Onderdonk AB, Delaney ML, Fichorova RN. The Human Microbiome during Bacterial Vaginosis. Clin Microbiol Rev. 2016 Apr;29(2):223-38. doi: 10.1128/CMR.00075-15.
4. Cherpes TL, Meyn LA, Krohn MA, Lurie JG, Hillier SL. Association between acquisition of herpes simplex virus type 2 in women and bacterial vaginosis. Clin Infect Dis. 2003 Aug 1;37(3):319-325.
5. Işik G, Demirezen, Dönmez HG, Beksaç MS. Bacterial vaginosis in association with spontaneous abortion and recurrent pregnancy losses. J Cytol. 2016 Jul-Sep;33(3):135-140.
6. Donders GG, Van Calsteren K, Bellen G, et al. Predictive value for preterm birth of abnormal vaginal flora, bacterial vaginosis and aerobic vaginitis during the first trimester of pregnancy. BJOG. 2009 Sep;116(10):1315-24.
7. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KCS, Eschenbach DA, Holmes KK. Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria and epidemiologic associations. Am J Med. 1983 74:14–22.

8. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of Diagnosing Bacterial Vaginosis Is Improved by a Standardized Method of Gram Stain Interpretation. J Clin Microbiol. Feb 1991, 29(2): 297-301.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13. Wayne, PA.
10. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health. 2009. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL).
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2011. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5. Villanova,PA.

【基本信息】

注册人/生产企业名称：广州和实生物技术有限公司

住所：广州高新技术产业开发区科学城开源大道 11 号 A8 栋第四层 B 单元

联系方式：

网址：

售后服务单位名称：

生产地址：广州高新技术产业开发区科学城开源大道 11 号 A8 栋第四层 B 单元；广州高新技术产业开发区科学城开源大道 11 号 C5 栋 701 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】