

新型冠状病毒核酸快速检测临床规范化应用专家共识

中国医学装备协会基因检测分会 中国医学装备协会现场快速检测(POCT)装备技术分会 国家医学检验临床医学研究中心 国家卫生健康委能力建设和继续教育中心 检验医学专家委员会分子学组 北京市医学检验质量控制和改进中心

通信作者:李金明,Email:jmli@nccl.org.cn;王清涛,Email:wqt36@163.com

【摘要】 在新型冠状病毒肺炎防控工作中,为缩短检测时间,减少实验过程中所需的辅助仪器设备、降低对实验室空间大小的要求,临床上开始出现向即时检测(POCT)发展的新型冠状病毒核酸检测方法。由于这些方法尚未达到理想的POCT要求,本共识暂时以行业内普遍使用的“快速检测”来描述。为规范新型冠状病毒核酸快速检测的临床应用,中国医学装备协会基因检测分会、中国医学装备协会现场快速检测(POCT)装备技术分会、国家医学检验临床医学研究中心、国家卫生健康委能力建设和继续教育中心检验医学专家委员会分子学组和北京市医学检验质量控制和改进中心制定该共识。该共识中的声明内容包括实验室总体要求、标本的采集、运送和保存、标准操作程序及性能验证、室内质量控制、室间质量评价、结果分析和报告、实验室安全管理等。

【关键词】 新型冠状病毒; 快速核酸检测; 质量控制; 生物安全

基金项目:国家重点研发计划(2020YFC0848000);北京市临床重点专科卓越项目基金(2020)

Chinese expert consensus on the rapid nucleic acid testing of 2019-nCoV

China Association of Medical Equipment of Genetic Testing, China Association of Medical Equipment of Point of Care Testing (POCT) Equipment Technology Branch, National Clinical Research Center for Clinical Laboratory, Molecular Group of Laboratory Medicine Expert Committee of National Health Commission Capacity Building and Continuing Education Center, Beijing Medical Laboratory Quality Control and Improvement Center

Corresponding author: Li Jinming, Email: jmli@nccl.org.cn; Wang Qingtao, Email: wqt36@163.com

【Abstract】 In order to achieve fast turnaround time, reduce the instruments and workplace requirement, newly developed point-of-care nucleic acid testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) is increasingly used for the purpose of prevention and control of COVID-19. Since the methods used now have not met the requirements for point-of-care testing (POCT), these methods are temporarily named as "rapid nucleic acid testing" in this consensus. To standardize the clinical application of rapid nucleic acid testing of 2019-nCoV, experts from China Association of Medical Equipment of Genetic Testing, China Association of Medical Equipment of Point of Care Testing (POCT), National Clinical Research Center for Clinical Laboratory, Molecular Group of Laboratory Medicine Expert Committee of National Health Commission Capacity Building and Continuing Education Center, Beijing Medical Laboratory Quality Control and Improvement Center jointly developed this expert consensus, which provides the consensus recommendations for "rapid nucleic acid testing" in clinical laboratories, including general laboratory requirements, specimen collection, transportation and storage, standard operating procedures, verification, internal quality control,

DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20210425-00266

收稿日期 2021-04-25 本文编辑 干岭

引用本文:中国医学装备协会基因检测分会,中国医学装备协会现场快速检测(POCT)装备技术分会,国家医学检验临床医学研究中心,等.新型冠状病毒核酸快速检测临床规范化应用专家共识[J].中华检验医学杂志,2021,44(8):698-702. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20210425-00266.



external quality assessment, result analysis and reporting, as well as laboratory safety management.

【Key words】 2019-nCoV; Rapid nucleic acid testing; Quality control; Biosafety

Fund programs: National Key Research and Development Program of China (2020YFC0848000); Beijing Key Clinical Speciality Excellence Project (2020)

核酸检测是新型冠状病毒肺炎(COVID-19)患者确诊、临床治疗效果评估、发生疫情时人群筛查及流行病学调查的重要手段^[1]。即时检验(point-of-care testing, POCT)是在采样现场进行的、利用便携式分析仪器及配套试剂快速得到检测结果的一种检测方式^[2]。因此,最理想的核酸 POCT 检测应可以实现取样后,直接在同一封闭的便携式、一体化仪器上完成检测,操作简便,且样本检测全过程所需时间明显短于常规新型冠状病毒(2019 novel coronavirus, 2019-nCoV)核酸检测。在 COVID-19 防控工作中,为缩短检测时间,减少实验过程中所需的辅助仪器设备、降低对实验室空间大小的要求,临床上开始出现向 POCT 发展的 2019-nCoV 核酸检测方法,尽管由于技术发展的限制,尚未达到上述理想的情况,但与常规 2019-nCoV 核酸检测方法相比,具有两个方面的特点。一是检测速度的提高,主要通过以下 3 种方式来实现:(1)简化操作流程:①自动化代替手工操作,即将核酸提取、核酸检测等过程自动化且一体化,从而减少手工操作;②采用操作步骤更少的方法,如将核酸提取从磁珠法改为一步法,简化核酸提取操作流程。(2)缩短反应时间:通过优化核酸扩增反应体系,可缩短逆转录以及扩增反应时间。(3)减少标本等候时间:①标本随时上机,随到随测;②减少检测通量,即每次检测的样本数减少至 1~16 个样本。二是检测设备一体化或者小型化(部分检测系统为便携式)。一体化可以减少实验过程中所需的辅助仪器设备,检测设备小型化(部分检测系统为便携式)则降低了对实验室空间大小的要求。

由于目前的检测方法尚未达到理想的 POCT 要求,本共识暂时以行业内普遍使用的“快速检测”来描述这部分检测方法。快速检测一定程度上缩短了检测时间,减少实验过程中所需的辅助仪器设备、降低对实验室空间大小要求,但同时也给临床实验室使用带来了一些新的问题,如是否需要基因扩增检测实验室,是否需要专业人员操作,操作者是否需要生物安全防护等。为规范 2019-nCoV 核酸快速检测的临床应用,保障临床实验室检测质量

和生物安全,基于当前 2019-nCoV 核酸快速检测的临床应用现状,中国医学装备协会基因检测分会、中国医学装备协会现场快速检测(POCT)装备技术分会、国家医学检验临床医学研究中心、国家卫生健康委能力建设和继续教育中心检验医学专家委员会分子学组和北京市医学检验质量控制和改进中心牵头起草了 2019-nCoV 核酸快速检测临床规范化应用专家共识。本共识中的声明内容为专家讨论并推荐的要点。

一、2019-nCoV 核酸快速检测的定义

本共识适用于开展 2019-nCoV 核酸快速检测的医疗机构实验室。在现阶段,本共识适用的 2019-nCoV 核酸快速检测为:相对于常规的 2019-nCoV 核酸检测,样本检测全过程所需时间明显缩短,且仪器小型化(部分检测系统实现便携式),具有或不具有核酸提取、扩增检测一体化的特点。2019-nCoV 核酸快速检测是常规检测的补充,在因特定原因需尽快获得检测结果、待检人群数量较少、实验室空间场地限制的情况下,可考虑采用快速检测。不建议用于临床疑似病例的确诊、确诊人群(确诊病例、出院后以及无症状感染者)的管理、高风险人群(如密切接触者、来自疾病高风险国家和地区人群)的主动检测;由于通量较小,也不建议用于大规模人群筛查。

其他 2019-nCoV 核酸检测,其规范化按照《医疗机构临床基因扩增实验室管理办法》^[3]以及《医疗机构新型冠状病毒核酸检测工作手册(试行第二版)》^[4]进行,不在本共识讨论的范围。此外,本共识未明确的要求,也均参照上述文件的要求。

二、实验室总体要求

开展 2019-nCoV 核酸快速检测的实验室应当依据《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》,通过省级卫生行政部门审核合格后方可开展检测。实验室所在医疗机构应同时具备开展常规 2019-nCoV 核酸检测的能力和资质。

1. 实验室环境:实验室需根据所使用的快速检测平台、工作量、工作流程进行实验室分区。原则上实验室应当设置以下区域:试剂储存和准备区、标本制备区、扩增和产物分析区。这 3 个区域

在物理空间上是完全相互独立的,不能有空气的直接相通。此外,实验室需有良好的通风,建议实验室各区内的通风换气 >12 次/h^[5]。

当使用核酸提取和扩增检测一体化的快速检测平台时,标本制备区、扩增和产物分析区可合并。如果从实验室收到标本到核酸提取前,需要多次的开盖处理,如标本分装、标本热灭活、标本和核酸提取液预混合等,且每日检测标本量较多的情况下,仍应设置 3 个区域,即试剂储存和准备区、标本制备区、扩增和产物分析区。如果实验室房间有限,可以在 1 个具有良好通风的房间内放置 1 套能够实现 3 个区域功能的设备装置的 PCR 快检工作站,该装置的 3 个功能区域应为 3 个具有足够摆放相应功能区的仪器设备的空间,其中 1 个应为类似 1 台洁净工作台的试剂准备区,第 2 个为具有 A2 型二级生物安全柜功能的标本制备区(30% 外排至室外),第 3 个为空气完全直接外排至室外的类似通风橱(不要求大的风力,定向气流即可)功能的扩增区。3 个功能区域各自有独立的通风系统,相互之间不能有空气直接相通。

建议 1 核酸提取和扩增检测一体化的快速检测平台,标本制备区、扩增和产物分析区可合并。但如涉及多次开盖操作,且标本量较大时,仍需设置 3 个物理分隔的区域。实验室应有良好的通风。

2. 试剂耗材:实验室应使用国家药品监督管理局批准的高灵敏(检测限 ≤ 500 拷贝/ml)检测试剂^[4]。快速检测试剂如简化核酸提取过程,例如使用一步法等,核酸提取效率、提取纯度等均会受到标本采样管中标本保存液成分的影响,从而影响快速检测的性能^[6]。快速检测试剂厂家必须提供整个快速检测系统(包括推荐的含特定保存液的标本采样管、核酸提取试剂以及核酸检测试剂)的分析性能,包括但不限于检测限和精密度等。实验室应选择快速检测试剂厂家推荐的标本采样管,如果使用其他采样管,必须先进行性能确认,评价其不影响系统的检测性能后,方可使用。

建议 2 快速检测试剂必须提供整个快速检测系统(包括标本采样管、核酸提取试剂以及核酸检测试剂)的分析性能。实验室应选择快速检测试剂说明书中推荐的标本采样管。

3. 仪器设备:实验室应当根据检测系统的要求,配备开展 2019-nCoV 核酸快速检测所需的仪器设备,主要包括保存试剂和标本的冰箱、加样器、病毒灭活设备(适用时,如水浴锅等)、生物安全柜、离

离心机、可移动紫外灯、核酸快速检测设备、不间断电源或备用电源等。现阶段的快速检测,均需对标本采样管开盖然后进行加样操作,因此,实验室必须配备生物安全柜。

试剂厂家应提供其试剂配套的快速检测仪器维护和校准的详细说明文件或标准操作程序,特别是小型化(或便携式)检测仪器,需说明移动后是否需要重新校准、对快速检测系统重新进行性能验证,如需要,需提供相应程序。实验室应建立包括核酸快速检测仪器在内的主要仪器设备使用、维护和校准程序,并在日常工作中按照程序进行维护和定期校准,以保证仪器设备的正常运行。仪器设备维护和校准应保存相应记录。

建议 3 实验室应当配备包括生物安全柜在内的开展 2019-nCoV 核酸快速检测所需的仪器设备。试剂厂家应提供其试剂配套的快速检测仪器的维护和校准详细说明文件,特别是小型化(或便携式)检测仪器移动后的校准程序和/或对检测系统重新进行性能验证的程序。实验室应建立核酸快速检测设备使用、维护和校准程序,并在日常工作中按照程序进行维护和定期校准,以保证仪器设备的正常运行。

4. 人员要求:尽管核酸提取、扩增检测一体化的快速检测平台操作简单,但实验全过程仍然涉及核酸检测“防污染”、性能验证、仪器设备维护、室内质量控制、结果分析和报告、实验室生物安全等多个方面,核酸快速检测实验室人员仍然需要通过临床基因扩增检测实验室上岗培训,取得相应的资质,且经过 2019-nCoV 核酸快速检测的基本培训和工作能力的评估后方可上岗。

建议 4 核酸快速检测实验室人员需要通过临床基因扩增检测实验室上岗培训,取得相应的资质,且经过 2019-nCoV 核酸快速检测的基本培训和工作能力的评估后持证上岗。

三、标本的采集、运送和保存

2019-nCoV 核酸快速检测应在本医疗机构设置的采样点进行标本采集,单采单检。标本采集后送至本医疗机构的实验室检测,不推荐长途运输或者外送检测。

具体标本采集、运送和保存的要求按照《医疗机构新型冠状病毒核酸检测工作手册(试行第二版)》进行。

建议 5 2019-nCoV 核酸快速检测应在本医疗机构设置的采样点进行标本采集,单采单检。标



本采集后,只能送至本医疗机构的实验室检测,不推荐长途运输或者外送检测。

四、标准操作程序及性能验证

实验室应根据试剂说明书,建立包含检测全过程的标准操作程序,包括但不限于标本采集、运送、保存、标本前处理、核酸提取(适用时)、扩增检测、结果报告和解释、仪器设备维护、室内质量控制和复检流程等。

在开展临床检测前,实验室应对整个快速检测系统(其包括推荐的标本采样管、核酸提取试剂以及核酸检测试剂和扩增仪等)进行性能验证,验证所用标本的保存液应当与推荐的标本采样管中的保存液相同,如果是核酸提取和扩增检测非一体化的平台,应使用试剂盒推荐的核酸提取试剂。

性能验证可以使用已知浓度的包装有相应病毒 RNA 序列的假病毒阳性质控品和阴性临床标本。性能指标包括但不限于检测限和精密度^[4]。快速检测通量较小,如果实验室配备多个快速检测仪器,精密度应包括同一台仪器同一操作人员不同检测批的重复性、同一操作人员使用不同批号试剂在不同仪器上检测的再现性和同一台仪器不同操作人员间的再现性。实验室还应比较快速检测试剂和实验室正在使用的常规核酸检测试剂检测限的差异。具体可采用 2 种试剂推荐的标本采样管中的保存液,对阳性质控品分别进行梯度稀释,每个梯度重复不少于 5 次,进行核酸提取和检测,以 100% 检出的最低浓度为检测限。

建议 6 实验室应根据试剂说明书,建立检测操作全过程的标准操作程序。在开展临床检测前,实验室应对整个快速检测系统(包括推荐的标本采样管、核酸提取试剂以及核酸检测试剂)进行性能验证。性能指标包括但不限于检测限和精密度(重复性和再现性)。如果实验室配备多个快速检测仪器,实验室应评价不同仪器间的再现性。

五、室内质量控制和室间质量评价

实验室应进行室内质量控制。室内质控品应包括阴性质控品(生理盐水)和弱阳性质控品(第三方质控品,浓度可为检测限的 1.5~3 倍)^[4]。每次开机先检测弱阳性质控品和阴性质控品,质控合格后,开始进行临床标本检测,开机检测达到 24 h,或者未达到 24 h 但连续检测标本数达到 50 个,均应再次检测弱阳性质控品,以监测是否在控。

实验室应常态化参加国家级或省级临床检验中心组织的 2019-nCoV 核酸快速检测室间质量评价。

不按要求参加室间质评的,或室间质评结果不合格的,或检测质量问题突出的,不得开展检测。

建议 7 实验室应进行室内质量控制。每次开机先检测弱阳性和阴性质控品,质控合格后,开始临床检测,开机检测达到 24 h,或者未达到 24 h 但连续检测标本数达到 50 个,均应再次检测弱阳性质控品。实验室应常态化参加国家级或省级临床检验中心组织的 2019-nCoV 核酸快速检测室间质量评价。

六、结果分析和报告

实验室应根据试剂说明书进行结果分析和解释。对于自动报告结果并能显示原始扩增曲线的快速检测设备,同时应结合原始扩增曲线进行综合判断。实验室务必对整个快速检测系统(其包括推荐的标本采样管、核酸提取试剂以及核酸检测试剂和扩增仪等)进行性能验证,在性能验证结果表明快速检测系统检测限 ≤ 500 拷贝/ml 的情况下,检测结果为阴性,可以直接报告阴性结果。检测结果为阳性,应使用另外 1~2 种更为灵敏(最好为扩增不同靶区域的常规核酸检测试剂),例如快速检测试剂靶区域为开放读码框 1ab(open reading frame, ORF1ab)和核壳蛋白(nucleoprotein, N)编码基因,可以采用检测 ORF1ab、N 和包膜蛋白(envelope protein, E)编码基因或检测 ORF1ab、N 编码基因的常规核酸检测试剂对原始样本进行复检。必要时可对患者重新采样进行复核检测,复核阳性方可报告结果。

建议 8 实验室根据试剂说明书进行结果分析和解释。实验室对整个快速检测系统性能验证表明检测限符合 ≤ 500 拷贝/ml 要求的情况下,当快速检测结果为阴性,可以直接报告阴性结果。结果为阳性,应使用另外 1~2 种更为灵敏且扩增不同靶区域的常规核酸检测试剂对原始样本进行复检,复核阳性方可报告结果。

七、实验室安全管理

现阶段的快速检测,均需对标本采样管开盖后进行加样操作,因此,2019-nCoV 核酸快速检测需在生物安全二级实验室进行。根据快速检测平台的不同,开盖次数、灭活以及检测流程的复杂性也有较大不同,实验室人员应在生物安全风险评估的基础上,采取适当的个体防护措施,包括手套、口罩和隔离衣等^[4]。

建议 9 2019-nCoV 核酸快速检测需在生物安全二级实验室进行。实验室人员应在生物安全

风险评估的基础上,采取适当的个体防护措施,包括手套、口罩和隔离衣等。

本共识重点对 2019-nCoV 核酸快速检测与常规核酸检测不同的或者实验室有困惑的关键环节进行了阐述。本共识将适时修订,以满足临床规范化应用的需求。

执笔人:张瑞(国家卫生健康委临床检验中心),韩晓旭(国家医学检验临床医学研究中心),樊高威(首都医科大学附属北京朝阳医院检验科),李金明(国家卫生健康委临床检验中心)

专家组成员(以姓氏拼音为序):曹永彤(中日友好医院检验科),陈发林(福建省临床检验中心 福建省立医院检验科),崔丽艳(北京大学第三医院检验科),樊高威(首都医科大学附属北京朝阳医院检验科),符生苗(海南省临床检验中心 海南医学院附属海南医院重点实验室),高春芳(上海东方肝胆外科医院检验科),关明(复旦大学附属华山医院检验科),韩晓旭(国家医学检验临床医学研究中心),韩艳秋(内蒙古医科大学附属血液内科),胡敏(中南大学湘雅二院检验科),黄杰(中国食品药品检定研究院体外诊断试剂检定所),贾玫(北京大学附属人民医院检验科),贾淑芹(北京大学肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所分子诊断中心),姜晓峰(哈尔滨医科大学附属第四医院检验科),蒋黎(四川省医学科学院 四川省人民医院检验科),李金明(国家卫生健康委临床检验中心),李艳(武汉大学人民医院检验医学中心),酆卫星(浙江省临床检验中心),廖璞(重庆市临床检验中心 中国科学院大学重庆医院/重庆市人民医院检验科),刘文恩(中南大学湘雅医院检验科),刘晓春(广西壮族自治区临床检验中心),娄金丽(首都医科大学附属北京佑安医院临检中心),卢志明(山东省临床检验中心 山东省立医院东院检验科),鲁辛辛(首都医科大学附属北京同仁医院检验科),罗招凡(中山大学附属第七医院检验科),明亮(河南省临床检验中心 郑州大学第一附属医院检验科),朴文花(宁夏回族自治区临检中心 宁夏回族自治区人民医院临床医学检验诊断中心),沈佐君(安徽省立医院科研处),孙鹭(云南省临床检验中心 云南省第一人民医院检验科),陶志华(浙江大学医学院附属第二医院检验科),王华梁(上海市临床检验中心),王培昌(首都医科大学附属北京宣武医院检验科),王清涛(北京市临床检验中心 首都医科大学附属北京朝阳医院检验科),魏莲花(甘肃省人民医院检验科 甘肃省临床检验中心),吴文娟(同济大学附属东方医院南

院医学检验科),谢小兵(湖南中医药大学第一附属医院医学检验与病理中心),岳育红(北京市临床检验中心 首都医科大学附属北京朝阳医院检验科),张瑞(国家卫生健康委临床检验中心),张义(山东大学齐鲁医院检验科),赵建宏(河北医科大学医学技术学院/河北省临床检验中心),郑磊(南方医科大学南方医院检验医学科),周洲(中国医学科学院阜外医院实验诊断中心),祝卫平(湖北省临床检验中心),邹伟民(广东省临床检验中心)

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

志谢 蒋析文(中山大学达安基因股份有限公司),唐瑶(圣湘生物科技股份有限公司),林艺志(杭州优思达生物技术有限公司),冯慧颖[卡尤迪生物技术(北京)有限公司],赵百慧(上海伯杰医疗科技有限公司),谢清华(山东博科生物产业有限公司),杨梅芳(中山大学达安基因股份有限公司),邓中平(圣湘生物科技股份有限公司),周艳琼(杭州优思达生物技术有限公司),杨坤[卡尤迪生物技术(北京)有限公司],李春燕(上海伯杰医疗科技有限公司),焦体磊(山东博科生物产业有限公司)提供的技术方面的支持

参 考 文 献

- [1] 董召刚,邹明瑾,张义. 新型冠状病毒肺炎核酸检测现状及研究进展[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(4): 386-390. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20200226-00128.
- [2] Nelson PP, Rath BA, Fragkou PC, et al. Current and future point-of-care tests for emerging and new respiratory viruses and future perspectives[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020, 10:181. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00181.
- [3] 中华人民共和国卫生部办公厅. 卫办医政发[2010]194号 医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法[S/OL]. (2010-12-06). <https://www.nccl.org.cn/showRuleDetail?code=07&id=15>.
- [4] 国务院应对新型冠状病毒肺炎疫情联防联控机制医疗救治组. 关于印发医疗机构新型冠状病毒核酸检测工作手册(试行 第二版)的通知(联防联控机制医疗发〔2020〕313号)[S/OL]. (2020-12-28). <http://www.nhc.gov.cn/cms-search/xxgk/getManuscriptXxgk.htm?id=b89bcd0813da41788688eb14787b3c72>.
- [5] Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for environment infection control in health-care facilities[S/OL]. (2019-07-22). <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/environmental/background/air.html#c3>.
- [6] Mancini F, Barbanti F, Scaturro M, et al. Laboratory management for SARS-CoV-2 detection: a user-friendly combination of the heat treatment approach and rt-Real-time PCR testing[J]. Emerg Microbes Infect, 2020, 9(1):1393-1396. DOI: 10.1080/22221751.2020.1775500.