

- [7] 钱静娟, 黄利华, 钟亚君, 等. 传染病医院艾滋病职业暴露监测分析与防控策略[J]. 护理管理杂志, 2015, 15(4): 269-270.
- [8] 方旭, 栗蕴. 实习医学生血源性病原体职业暴露调查[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(2): 405-406.
- [9] 程科萍, 王少康, 孙桂菊, 等. 医护人员锐器伤的调查分析与防护对策[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(2): 321-323.
- [10] 国家卫生健康委办公厅, 国家中医药管理局办公室. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)[J]. 中国感染控制杂志, 2020, 19(2): 192-195.
- [11] 国家卫生健康委办公厅. 关于加强疫情期间医用防护用品管理工作的通知: 国卫办医函[2020]98号[EB/OL]. (2020-02-03) [2021-02-14]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7659/202002/039b10b649c444d7b39ad8a8b62e1c60.shtml>
- [12] 国家卫生健康委办公厅. 关于进一步加强疫情期间医用防护服严格分级分区使用管理的通知: 国卫办医函[2020]118号[EB/OL]. (2020-02-08) [2021-02-14]. [http://www.gov.cn/zhengcezhengceku/2020-02/09/content\\_5476396.htm](http://www.gov.cn/zhengcezhengceku/2020-02/09/content_5476396.htm).
- [13] 周秋明, 尹丹萍, 白凤佳, 等. 某三甲医院医务人员血源性职业暴露危险因素分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(18): 4290-4293.
- [14] STRAUSS K. Risk of needlestick injury from injecting needles[J]. Nurs Times, 2012, 108(40): 12-16.
- [15] BLACK L, PARKER G, JAGGER J. Chinks in the armor: activation patterns of hollow-bore safety-engineered sharp devices[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2012, 33(8): 842-844.

(收稿日期: 2021-09-23 修回日期: 2022-01-21)

## 管理 · 教学

## 多套仪器组成的新型冠状病毒核酸检测系统的性能验证方案设计<sup>\*</sup>

轩乾坤, 温冬华, 李广波, 郭文正, 杨思敏, 羽晓瑜<sup>△</sup>

同济大学附属东方医院南院检验科, 上海 200123

**摘要:**为新型冠状病毒核酸检测实验室提供适用于多台核酸提取仪和多台荧光定量 PCR 仪组成的检测系统的性能验证方案。本研究以配置 4 台核酸提取仪和 4 台荧光定量 PCR 仪的新型冠状病毒核酸检测系统为例, 验证参数包括方法符合率、精密度和检出限, 设计出三套性能验证方案。经过对三套性能验证方案的比较分析, 笔者认为方案三最优, 其方案是首先在 1 台核酸提取仪上提取核酸, 分别在 4 台荧光定量 PCR 仪上进行扩增检测, 以验证 4 台荧光定量 PCR 仪的性能, 然后分别在 4 台核酸提取仪上提取核酸, 在同一台荧光定量 PCR 仪上扩增检测, 以验证 4 台核酸提取仪的性能, 达到了 16 套组合检测系统的验证效果, 保证了新型冠状病毒核酸检测的质量, 试剂消耗和时间成本适中, 可以有效、经济、快速地评估各性能参数是否符合厂商的声明。

**关键词:**新型冠状病毒核酸; 核酸提取仪; 荧光定量 PCR 仪; 性能验证

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2022.07.028

**文章编号:**1673-4130(2022)07-0894-03

**中图法分类号:**R446.5

**文献标志码:**B

新型冠状病毒肺炎(COVID-19)正在全世界范围内暴发, 实验室核酸检测结果是 COVID-19 诊断的重要依据。《新型冠状病毒肺炎防控方案(第八版)》及其附件 10《新冠病毒样本采集和检测技术指南》<sup>[1]</sup>指出: 新型冠状病毒的病原学检查应对其进行核酸检测<sup>[2-7]</sup>, 现国内各医学实验室基本采用实时荧光定量 PCR 来进行检测。党中央、国务院高度重视新型冠状病毒核酸检测工作, 中央应对新型冠状病毒感染肺炎疫情工作领导小组会议作出部署, 要求着力提升新型冠状病毒核酸检测能力, 尽力扩大检测范围, 要求加强各地实验室建设, 使其具备开展新型冠状病毒核酸检测的能力<sup>[8-10]</sup>。故全国各三级医院、传染病专

科医院、县(区)级及以上疾控机构、海关等实验室均安装了多台核酸提取仪和多台实时荧光定量 PCR 仪, 可以多台仪器同时工作以完成新冠病毒核酸检测工作。

《医学实验室质量和能力认可准则(ISO15189: 2012)》和《新型冠状病毒肺炎防控方案(第八版)》的附件 10《新冠病毒样本采集和检测技术指南》均要求, 实验室应对检测系统(包括核酸提取试剂、核酸提取仪、核酸扩增试剂和荧光定量 PCR 仪)进行性能验证, 以确定检验程序的性能特征是否符合厂商声明<sup>[1,11-12]</sup>。现通用的新型冠状病毒核酸检测均包括核酸提取和 PCR 扩增两个过程, 其核酸提取试剂和核

\* 基金项目: 上海市公共卫生体系建设三年行动计划(2020—2022 年)(GWV-10.1-XK04)。

△ 通信作者, E-mail: flyyuxx@163.com。

本文引用格式: 轩乾坤, 温冬华, 李广波, 等. 多套仪器组成的新型冠状病毒核酸检测系统的性能验证方案设计[J]. 国际检验医学杂志,

酸扩增试剂均是固定配套使用,为单一因素,而核酸提取仪和荧光定量 PCR 仪均有多台,并且存在随机组合的工作模式。现有文献报道的性能验证方案均是针对单套检测系统或不同试剂检测性能的比较<sup>[13-18]</sup>,因而对于多套检测系统进行性能验证方案设计,选择最好的方案,对保证检测质量,提高临床工作效率,降低消耗,具有重要意义。根据中国合格评定国家认可委员会(CNAS)2019 年 2 月 15 日发布并实施的《分子诊断检验程序性能验证指南》<sup>[19]</sup>,针对临床工作中新型冠状病毒核酸在多台核酸提取仪和荧光定量 PCR 仪上提取和检测的情况,笔者制定出三套性能验证方案,现报道如下。

## 1 仪器与试剂

此次性能验证方案以 4 台核酸提取仪和 4 台荧光定量 PCR 仪为例来设计,4 台核酸提取仪分别命名为核酸提取仪 A、核酸提取仪 B、核酸提取仪 C、核酸提取仪 D;4 台荧光定量 PCR 仪分别命名为荧光定量 PCR 仪 1、荧光定量 PCR 仪 2、荧光定量 PCR 仪 3、荧光定量 PCR 仪 4;使用配套的核酸提取试剂和扩增试剂。

## 2 性能验证参数

**2.1 方法符合率** 选取阴性标本 5 例和阳性样本(宜包含弱阳性的标本)10 例,与参比方法进行比较,计算其符合率,应符合厂商试剂盒说明书中声明的标准。

## 2.2 精密度

**2.2.1 批内精密度** 取 2 份标本,1 份阴性,1 份弱阳性,两份标本各重复检测 20 次,记录阳性标本的 CT 值,并计算其变异系数(CV),应符合厂商试剂盒说明书中声明的标准。

**2.2.2 批间精密度** 取 2 份标本,1 份阴性,1 份弱阳性,两份标本每天各重复检测 4 次,连续检测 5 d,共计 20 次,记录阳性标本的 CT 值,并计算其 CV,应符合厂商试剂盒说明书中声明的标准。

**2.3 检出限** 使用定值标准物质的标本,梯度稀释至厂家声明的检出限浓度,重复测定 5 次,必须 100% 检出靶核酸。

## 3 设计的三套性能验证方案

**3.1 方案一** 将 1 台核酸提取仪和 1 台荧光定量 PCR 仪绑定在一起作为一套系统,共验证 4 套检测系统的方法符合率、精密度和检出限,见图 1。

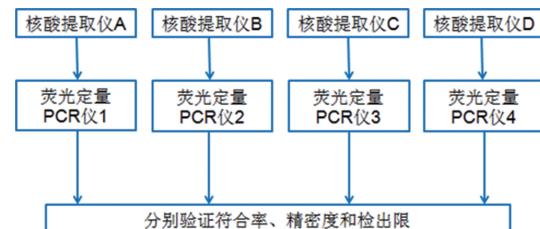


图 1 性能验证方案一流程图

**3.2 方案二** 按照排列组合的原理,将 4 台核酸提取仪和 4 台荧光定量 PCR 仪的 16 种组合形式均做一次性能验证,共验证 16 套检测系统的方法符合率、精密度和检出限,见图 2。

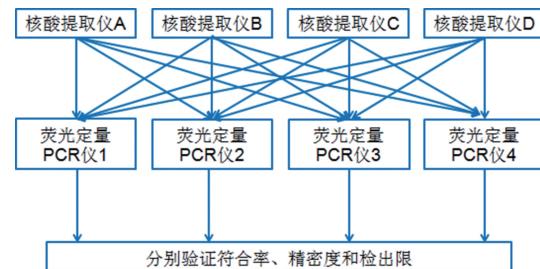


图 2 性能验证方案二流程图

**3.3 方案三** (1)在核酸提取仪 A 上提取核酸后,分别在荧光定量 PCR 仪 1、荧光定量 PCR 仪 2、荧光定量 PCR 仪 3 和荧光定量 PCR 仪 4 上扩增检测,主要验证 4 台荧光定量 PCR 仪的方法符合率、精密度和检出限;(2)在核酸提取仪 A、核酸提取仪 B、核酸提取仪 C、核酸提取仪 D 上分别提取核酸后,均在荧光定量 PCR 仪 1 上扩增检测,主要验证 4 台核酸提取仪的方法符合率、精密度和检出限。见图 3。

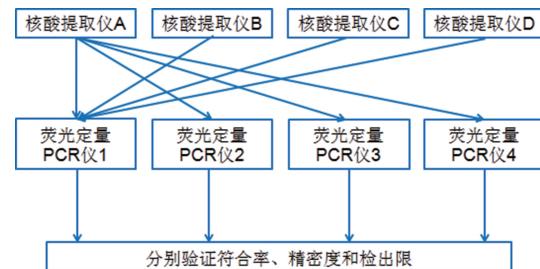


图 3 性能验证方案三流程图

## 4 三套方案的比较

对三套性能验证方案进行比较,见表 1、2。

表 1 三套性能验证方案的比较

验证方案	标本量	核酸提取次数	PCR 扩增次数	提取试剂消耗(人份)	扩增试剂消耗(人份)	检测系统验证套数
方案一	105	20	20	492	492	4
方案二	105	90	90	1 680	1 680	16
方案三	105	35	35	735	735	16

注:标本量共 105 份,包括方法符合率验证标本 15 份,精密度验证标本 80 份,检出限验证标本 5 份,阴性质控品 3 份,阳性质控品 2 份。

表 2 三套性能验证方案优缺点比较

验证方案	优点	缺点	结论
方案一	检测系统性能验证套数少,省时省力	实际新冠核酸检测效率低,当标本量激增时,会出现在未经过性能验证的系统上做检测的情况,检测结果质量不能保证	不推荐
方案二	性能验证全面,对 16 种组合的检测系统均进行了验证	试剂消耗量比较大,性能验证的工作量大,时间长	不推荐
方案三	达到了 16 套检测系统的验证效果,可以保证新型冠状病毒核酸检测的质量,试剂消耗和时间成本适中	—	优选

注:—表示无该项。

## 5 小 结

目前通用的新型冠状病毒核酸检测流程均包括核酸提取和 PCR 扩增两个步骤,检测系统包括核酸提取试剂、核酸提取仪、核酸扩增试剂和荧光定量 PCR 仪四个部分,在进行性能验证时,应确保覆盖到所有部分;而在实际性能验证工作中,对核酸提取仪的验证往往被忽略。核酸提取仪有分液、加热、磁吸、震荡和排风等功能,在核酸提取过程中,这些功能对提高核酸提取效率有非常重要的作用,工作人员在做性能验证时应引起重视。本课题组根据核酸提取仪和荧光定量 PCR 仪的不同组合,设计出了三套性能验证方案。

以配置 4 台核酸提取仪和 4 台荧光定量 PCR 仪为例,通过对三套性能验证方案的比较分析,笔者认为方案三最优。首先,在 1 台核酸提取仪上提取核酸,分别在 4 台荧光定量 PCR 仪上扩增检测,验证了 4 台荧光定量 PCR 仪的性能;然后,分别在 4 台核酸提取仪上提取核酸,在同一台荧光定量 PCR 仪上扩增检测,验证了 4 台核酸提取仪的性能;达到了 16 套组合检测系统的验证效果,保证了新型冠状病毒核酸检测的质量,试剂消耗和时间成本适中,可以有效、经济、快速地评估各性能参数是否符合厂商的声明。该性能验证方案可以推广,供其他实验室参考。

## 参考文献

- [1] 国务院应对新型冠状病毒肺炎疫情联防联控机制综合组. 新型冠状病毒肺炎防控方案(第八版)[EB/OL]. (2021-05-14) [2021-08-07]. [http://www.gov.cn/xinwen/2021-05/14/content\\_5606469.htm](http://www.gov.cn/xinwen/2021-05/14/content_5606469.htm).
- [2] 王振飞,武颖彩,牟永平,等.分子诊断技术在防控新型冠状病毒肺炎中的应用[J].重庆医学,2020,49(17):2811-2815.
- [3] 黄斐,张春燕,潘柏申,等.SARS-CoV-2 核酸检测技术进展及应用[J].检验医学,2021,36(4):462-466.
- [4] 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.
- [5] 李雪,刘佳,李伯安.2019 新型冠状病毒的研究进展和实验室检测[J].中华检验医学杂志,2020,43(4):368-372.
- [6] 许金和,王水良,张胜行,等.新型冠状病毒核酸检测方法[J].国际检验医学杂志,2020,41(17):2138-2142.
- [7] 毛佳泉,鲁彦,寇炜.新型冠状病毒实验室特异性检测技术研究进展[J].检验医学与临床,2020,17(23):3526-3529.
- [8] 潘柏申,尚红.建设一批适合于大规模紧急公共卫生事件时使用的“平战”结合的检验医学部门[J].中华检验医学杂志,2020,43(7):683-686.
- [9] 吴文娟,李敏,汤一苇,等.从重大突发公共卫生事件看医院检验科在国家公共卫生体系建设中的定位与作用[J].中华检验医学杂志,2020,43(8):776-779.
- [10] 赵鹏南,夏欣一,王智华,等.新型冠状病毒肺炎疫情下新建传染病医院应急检验保障体系的建设[J].中华检验医学杂志,2020,43(11):1118-1123.
- [11] 中国合格评定国家认可委员会.医学实验室质量和能力认可准则(ISO15189:2012, IDT):CNAS-CL02[S].北京:中国合格评定国家认可委员会,2013.
- [12] 肖林林,魏取好,刘维薇.临床分子检验项目的检验程序验证与确认[J].中华检验医学杂志,2019,42(7):503-506.
- [13] 郭元元,王昆,张宇,等.6 种国产新型冠状病毒核酸检测试剂检测性能比较与分析[J].重庆医学,2020,49(15):2435-2439.
- [14] 陈建波,杨勇,李慧源,等.4 种 SARS-CoV-2 核酸检测试剂盒测定结果分析[J].检验医学,2021,36(4):396-399.
- [15] 熊丹,阚丽娟,王萌萌,等.七种国产新型冠状病毒核酸检测试剂盒的一致性和检出能力评价研究[J].中华检验医学杂志,2020,43(8):787-793.
- [16] 李广波,轩乾坤,羽晓瑜,等.呼吸道合胞病毒核酸分型检测性能验证[J].重庆医学,2020,49(6):910-913.
- [17] 张云丽,王鑫,邵玲,等.1 种新型冠状病毒核酸检测试剂的性能验证[J].临床检验杂志,2020,38(11):827-830.
- [18] 李婧,李林静,刘转,等.CYP2C19 基因多态性检测的临床实验室性能验证[J].临床检验杂志,2021,39(3):237-240.
- [19] 中国合格评定国家认可委员会.2019 分子诊断检验程序性能验证指南:CNAS-GL039[S].北京:中国合格评定国家认可委员会,2019.

(收稿日期:2021-09-12 修回日期:2021-12-28)