中国出入境检验检疫协会团体标准

《快速核酸检测仪检测技术规范》

（征求意见稿）

编制说明

标准起草组

二〇二三年十二月

《快速核酸检测仪检测技术规范》
团体标准编制说明

一、背景简况及任务来源

在新冠等传染病传播愈发严重的情况下，我国公共卫生安全等领域面临巨大挑战。一方面新发传染病频频出现，如“SRAS”、“新冠”（2019 novel coronavirus，2019-nCoV）等，截至 2022 年 8 月，全球新冠确诊病例达到 584620586 例，死亡病例达到 6416906 例。另一方面，局部空间人口密度增加和人口流动性增强使得公共卫生问题的扩散速度更快，尤其是现实存在和潜在的各种突发性事件、重大疾病、食品药品质量安全问题等。

核酸检测是发现新冠病毒感染者的关键技术手段，对于及时发现传染源、降低疫情扩散风险、落实“早发现”具有重要意义。2020 年 7 月 2 日国务院在《关于进一步加快提高医疗机构新冠病毒核酸检测能力的通知》中明确提出对于发热门诊患者的核酸检测，要在 6 小时内报告结果，争取缩短至 4 小时；2020 年 8 月 27 日国务院联防联控机制印发《进一步推进新冠病毒核酸检测能力建设工作方案》中要求到 2020 年底前，所有二级综合医院需具备核酸采样和检测能力；2021 年 2 月 19 日国务院在《关于印发全员新型冠状病毒核酸检测组织实施指南的通知》中要求：提升核酸筛查能力，各省市需具备 500 万以下人口城市 2 天内完成核算筛查，500 万以上人口城市 3-5 天完成全部核酸筛查能力。2021 年 5 月 7 日中央应对新冠肺炎疫情工作领导小组会议中要求：要进一步集中力量重点攻关，加快提高核酸检测能力，尤其是推进检测时间短、且无需实验室的核酸快速检测设备生产扩能。5 月 23 日召开的全国政协十三届三次会议科协、科技界委员联组会中，李克强总理提及新冠病毒核酸检测技术，鼓励科学家们要尽快研发出无需实验室环境、检测时间更短、手段更便捷、准确率更高、更安全的核酸检测迭代技术。

即时检验（point-of-care testing，POCT）是在采样现场进行的、利用快速核酸检测仪及配套试剂快速得到检测结果的一种检测方式。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。在检测中实现了取样后，直接在同一封闭的便携式、一体化的快速核酸检测仪器上完成检测，操作简便，且样本检测全过程所需时间明显短于常规新冠核酸检测。随着核酸快速检测的发展，在后疫情时代，除了新型冠状病毒的快速检测，对于多种呼吸道传染病的快速鉴别也成为了卫生健康领域日益关注的热点，快速核酸检测是未来核酸检测的发展方向之一。

相对于传统的聚合酶链式反应（Polymerase Chain Reaction，PCR）基因扩增仪，快速核酸检测

仪有下列特点：第一，核酸扩增原理不尽相同。目前主流设备扩增原理并不局限于 PCR 扩增，还包括恒等温扩增方法和微流控方法。即使是以传统 PCR 方法为基础原理的机型，也在扩增中缩短了反应时间，通过优化扩增体系，在变温过程中实现核酸的扩增；第二，核酸提取与扩增检测一体化。为了缩短实验时间，突破使用场景限制，目前快速核酸检测仪的设计均为核酸提取、核酸扩增与结果读取全自动一体化，这与传统 PCR 仪仅进行核酸扩增大为不同；第三，检测速度提高。与传统 PCR 仪一个完整的扩增需要 90-120min 不同，快速核酸检测仪从样本进到结果出仅需要 30 分钟左右，这需要机器的升降温速率非常快，远超以往的 PCR 仪；第四，快速核酸检测仪为了减少样本的等候时间，实现样本随到随检，实现了检测模块的独立性。一台机器不同检测单元间互不干扰，独立升降温和读取数据，这与传统 PCR 仪 96 孔同时工作有根本的区别。《新型冠状病毒核酸快速检测临床规范化应用专家共识》对核酸快速检测仪设备校准的要求如下：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对仪器进行重新校准、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。实验室应建立核酸快速检测仪的使用、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。快速核酸检测仪对特定基因进行扩增需多次循环，每一循环包括高温变性、低温退火、中温延伸三步反应精密的温度控制，温度对 DNA 片段的复制质量起到了举足轻重的作用。温度控制的准确性将直接影响基因扩增和检测的效率及准确度，温度不均匀性会造成“假阴性”结果的出现，因此快速核酸检测仪的温度校准需要满足非常严格的要求。

确保快速核酸检测仪性能可靠、结果准确是保障公共卫生安全等领域的基础，是当前面临新冠疫情阻击战的应急需求，也是未来更好应对其他公共安全事件的重要保障，同时增强具有自主知识产权的国产设备的国际竞争力。

而现状是，在快速核酸检测仪面世近三年后，各实验室对于快速核酸检测仪的检测还停留在性能验证和依赖厂商的售后服务。但性能验证仅能表明一次实验的成功与否，对于硬件部分到底是哪些部分出现了问题并不能进行甄别，厂商的售后仅仅是使用各厂家的自制工装，按照各企业内部的标准进行检测，检测标准无法统一且检测器根本无法溯源。究其原因，是由于在现阶段快速核酸检测仪的相关检测规范缺失，而快速核酸检测仪的自身特点使得现有的 PCR 仪检测规范并不适用于快速核酸检测仪，首先，现有 PCR 仪的检测规范是基于传统 PCR 仪制定的，而快速核酸检测仪在原理上与传统 PCR 仪并不完全相同；第二，与传统 PCR 仪的 96 孔板设计不同，快速核酸检测仪单孔位温度控制，传统的温场检测此时不再适用；第三，快速核酸检测仪集核酸提取与核酸检测与一体，相较于传统 PCR 仪，它的孔位更大，且根据其原理形状各异，部分机型同一孔位上中下三个位置温度都有不同，这是传统 PCR 仪所没有的，因此对于同一孔位不同位置的温度检定需要重新考虑。

新冠疫情出现至今，快速核酸检测仪在全国各医院发热门诊、疾控部门、边检海关等系统已经

装机超 3000 台，本地区超过 100 台，疫情的三年中，快速核酸检测仪作为普通核酸检测的有力补充，发挥了巨大作用。而且由于快速核酸检测仪均装配于疫情防控第一线，开机检测的频繁程度远超普通 PCR 仪。对于它的质量控制仅靠仪器验证是远远不够的，急需出台规范对它的检测要求进行统一，对它的温度检测手段进行明确，以便在疫情防控和后疫情时代对于其他传染病的防控中发挥更大的作用。因此，我们向中国出入境检验建议协会提出编制快速核酸检测仪检测技术规范。

为贯彻落实中国出入境检验检疫协会立项团体标准的精神，按照《中国出入境检验检疫协会团体标准管理办法》之规定，我们中检西南计量有限公司及时向协会提报了《快速核酸检测仪检测技术规范》的制订申请，同时利用现有的检测仪器进行了认真的实验与准备，并初步进入了规范的编写阶段。经中国出入境检验检疫协会专家评议，2023 年 3 月 1 日下发了《中国出入境检验检疫协会关于批准《加压流体萃取仪检测技术规范》等 7 项团体标准立项的通知》，其中批准了我单位关于起草《快速核酸检测仪检测技术规范》的申请（立项号：P/CIQA-138-2023）。自 3 月 1 日接到协会通知后，我们立即组织成立了由本单位中检西南计量有限公司牵头的起草组，很快就进入实质性的编制中，目前已完成编制说明、征求意见稿等附件。

2022 年 11 月，标准起草组召开了团标的启动会仪，形成了团标制定方案，正式启动了团标的制定和编写工作。

2023 年 1～8 月，标准起草组按照标准启动会制定的方案进行信息收集和调研、标准方法参数的实验优化及技术论证等团标制定工作，在此基础上编写了团标文本和编制说明的讨论稿。

2023 年 9 月~12 月，开始实验室间比对验证工作，结果均满足方法验证的相关要求。验证结果表明本团标建立的检测方法达到了预期的检测技术要求，物理性能要求及检测性能要求满足日常检测的要求。

二、标准编制原则和标准核心技术内容

1 标准编制原则

本标准的征求意见稿的编写要求、构成、格式、用语等，均按照标准化导则 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准文件的结构和起草规则》、GB/T 20001.4-2015《标准编写规则 第 4 部分：试验方法标准》的规则要求进行编写。

本标准方法以参照采用国内外有关文献为基础，经研究、改进和验证后制定的，规范化、标准化水平较高。

2 标准核心技术内容

本文件规定了快速核酸检测仪的术语、分类和方法原理、仪器组成及性能、实验室要求、样本处理、分析步骤及方法、质量控制和结果报告。

本文件适用于将核酸释放、纯化、基因扩增步骤一体化运行，基于等温及控温基因扩增技术的

快速核酸检测仪的快速核酸检测仪。

核心技术内容包括：术语和定义、快速核酸检测仪分类和方法原理、快速核酸检测仪仪器要求、实验室要求、样品处理、分析步骤及方法、质量控制、结果报告及注意事项。并给出了仪器性能验证要求及方法。

三、如果是修订标准，应增列新旧标准水平的对比

不是修订标准

四、主要试验 （或验证）的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效果

4.1 方法简介

4.1.1 物理性能验证

表 1 快速核酸检测仪物理性能验证项目

物理性能验证项目 设备类型	基于实时荧光 PCR 技术	基于等温扩增技术
温度偏差	+	+
温度波动度	−	+
平均升温速率	+	+
平均降温速率	+	−
平均温度过冲量	+	+
温度持续时间准确性	+	+
注：+表示验证项目，-表示非验证项目		

验证设备：温度数据采集仪：可测量温度范围0 ℃～120 ℃，分辨率0.01℃，最大允许误差在±0.1℃范围内，采集频率不小于每秒十次。

将快速核酸检测仪测量标准放置于快速核酸检测仪中，独立控温快速核酸检测仪可逐个对反应模块校准或同时对多个反应模块分别校准，参照图1所示。非独立控温的快速核酸检测仪作为一个整体进行校准，以16通道快速核酸检测仪为例，测量点分布遵循均匀分布的原则，可参照图2所示，每增加8通道可增加2个测量点。

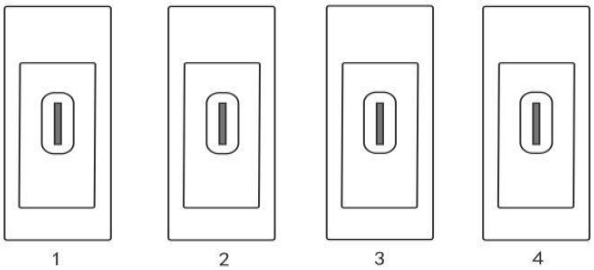

图 1 独立控温快速核酸检测仪测量点分布示意图

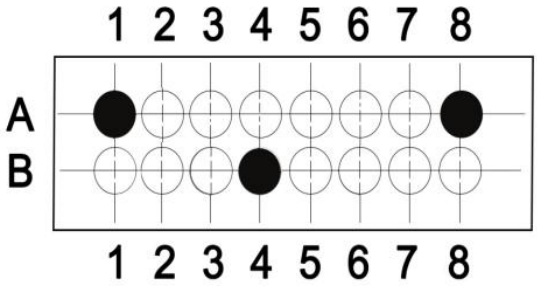

图 2 非独立控温的快速核酸检测仪测量点分布示意图

根据被测快速核酸检测仪的说明书设定控温程序，如表2所示。将无线温度数据采集仪置入样品槽中，设置采样间隔为0.1s，启动温度测量标准，采集并记录整个循环程序温度数据。

表 2 基于荧光 PCR 原理的快速核酸检测仪控温程序

步骤	设定温度点	设定温度持续时间	循环数
1	50℃	30s	×1
2	90℃	30s	×1
3	40℃	30s	×6
4	95℃	30s	
5	70℃	30s	×1
6	60℃	30s	×1
7	40℃	30s	×1

注:当仪器温控模块为分区设置，各独立控温区域单独测试，孔位分布均按上述要求执行。

表 3 基于等温扩增技术快速核酸检测仪控温程序

设定温区	设定温度点	设定温度持续时间
上温区	95℃	10min
中温区	67℃	10min
下温区	58℃	10min

温度偏差的计算

基于实时荧光 PCR 技术快速核酸检测仪温度达到设定温度 10s 后开始读取测量值，读取 10s，均匀读取 20 组数据；基于等温扩增技术快速核酸检测仪温度达到设定温度 2min 后开始读取测量值，读取 5min，均匀读取 30 组数据，温度偏差的计算按照公式（4.1）（4.2）分别计算：

$$\Delta t_{max} = t_{max} - t_s \quad (4.1)$$

$$\Delta t_{min} = t_{min} - t_s \quad (4.2)$$

式中：

Δt_{max} ——温度上偏差，℃；

Δt_{min}——温度下偏差，℃；

t_{max}——各测量点规定时间内测量的最高温度，℃。

t_{min}——各测量点规定时间内测量的最低温度，℃。

t_s——设备设定温度，℃。

温度波动度的计算

基于等温扩增技术快速核酸检测仪温度达到设定温度 2min 后开始读取测量值，读取 5min，均匀读取 30 组数据，各测量点最高温度与最低温度值差值的一半，冠以“±”号，取全部测量点中变化量的最大值作为温度波动度的校准结果，计算按照公式（4.3）计算：

$$\Delta t_f = \pm\, max\,[\,(t_{jmax} - t_{jmin})/2 \quad (4.3)$$

式中：

Δt_f——温度波动度，℃；

t_{jmax}——测量点 j 实测最高温度，℃；

t_{jmin}——测量点 j 实测最低温度，℃。

平均升温速率的计算

基于实时荧光 PCR 技术快速核酸检测仪在设置程序步骤 3-4 循环 6 次的过程中，取前 5 次仪器从 40℃升温至 95℃循环时（如图 3 所示），截从（50±0.5）℃瞬时升温至（90±0.5）℃瞬时的温度曲线计算升温速率，平均升温速率的计算按照公式（4.4）（4.5）计算：

$$\overline{V_u} = \frac{1}{m}\sum_{j=1}^{m} V_{uj} \tag{4.4}$$

$$V_u = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n} \frac{t_{bi}-t_{ai}}{\tau_{\hbar i}} \tag{4.5}$$

式中：

$\overline{V_u}$——平均升温速率，℃/s ；

V_{uj}——第j个测量点升温速率，℃/s ；

V_u——升温速率，℃/s ；

n——累积循环次数，按本规范程序取前 5 次；

t_{ai}——（50±0.5）℃温度点第i次测量值，℃；

t_{bi}——（90±0.5）℃温度点第i次测量值，℃；

$\tau_{\hbar i}$——从t_{ai}到达t_{bi}的时间，s。

m——测量点数量。

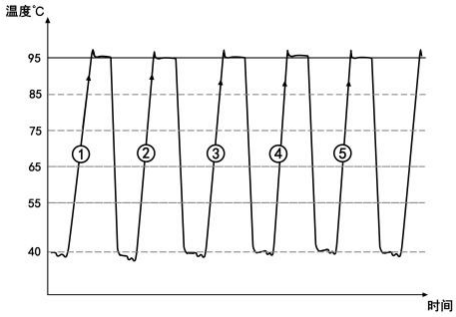

图 3　实时荧光 PCR 技术平均升温速率步骤 3-4 循环取前 5 次

基于等温扩增技术快速核酸检测仪取从常温状态升温至 95℃，截从最接近 50℃瞬时升温至最接近 90℃瞬时的温度曲线计算升温速率（如图 4 所示），平均升温速率的计算按照公式（4.6）计算：

$$\overline{V_u} = \frac{1}{m}\sum_{i=1}^{m} \frac{(t_{bi}-t_{ai})}{\tau_{\hbar i}} \tag{4.6}$$

式中：

$\overline{V_u}$——平均升温速率，℃/s ；

t_{ai}——最接近 50℃温度点第i个测量点测量值，℃；

t_{bi}——最接近 90℃温度点第i个测量点测量值，℃；

$\tau_{\hbar i}$——从t_{ai}到达t_{bi}的时间，s。

m——测量点数量。

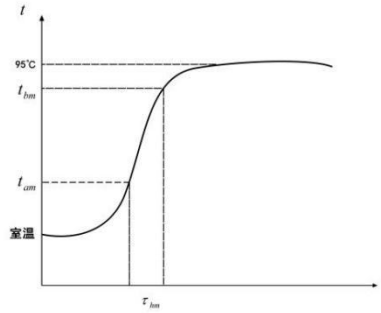

图 4 等温扩增技术平均升温速率截取示意图

平均降温速率的计算

基于实时荧光 PCR 技术快速核酸检测仪在设置程序步骤 3-4 循环过程中，仪器从 95℃降温至 40℃循环一共 5 次（如下图 5 所示），截取仪器各循环从（90±0.5）℃降温至（50±0.5）℃的温度曲线计算降温速率，平均降温速率的计算按照公式（4.7）（4.8）计算：

$$\overline{V_d} = \frac{1}{m}\sum_{j=1}^{m} V_{dj} \tag{4.7}$$

$$V_d = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n} \frac{(t_{bi}-t_{ai})}{\tau_{di}} \tag{4.8}$$

式中：

$\overline{V_d}$——平均降温速率，℃/s ；

V_{dj}——第 j 个测量点降温速率，℃/s ；

V_d——降温速率，℃/s ；

n——累积循环次数，按本规范程序取全部 5 次降温段；

t_{ai}——（50±0.5）℃温度点第i次测量值，℃；

t_{bi}——（90±0.5）℃温度点第i次测量值，℃；

τ_{di}——从t_{bi}到达t_{ai}的时间，s。

m——测量点数量。

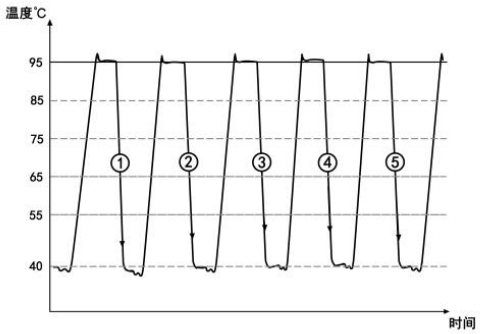

图 5 实时荧光 PCR 技术平均降温速率步骤 3-4 循环取 5 次

平均温度过冲量的计算

基于实时荧光PCR技术快速核酸检测仪温度过冲量以设备温度从40℃升温至设定温度95℃时，实测温度值超出设定温度的值。平均温度过冲量计算按照公式（4.9）分别计算：

$$\overline{\Delta t} = \frac{1}{m}\sum_{j=1}^{m}\sum (t_{jmax} - t_s) \tag{4.9}$$

式中：

$\overline{\Delta t}$——平均温度过冲量，℃；

t_s——设定温度值，95℃；

t_{jmax}——第 j 个测量点6次测得的最大过冲温度值，℃；

m——测量点数量。

基于等温扩增技术快速核酸检测仪温度过冲量以设备温度从室温升温至设定温度95℃，实测温度超出设定温度的值。平均温度过冲量计算按照公式（4.10）分别计算：

$$\overline{\Delta t} = \frac{1}{m}\sum_{j=1}^{m}\sum (t_{jmax} - t_s) \tag{4.10}$$

式中：

$\overline{\Delta t}$——平均温度过冲量，℃；

t_s——设定温度值，95℃；

t_{jmax}——第 j 个测量点测得的最大过冲温度值，℃；

m——测量点数量。

温度持续时间相对误差的计算

温度持续时间相对误差按照公式（4.11）计算：

$$\Delta\tau = \frac{\tau_s - \tau_c}{\tau_c} \times 100\% \tag{4.11}$$

式中：

$\Delta\tau$——温度持续时间相对误差，%；

τ_c——实测温度持续时间，s；

τ_s——设定温度持续时间，s 。

4.1.2 检测性能验证

（1）阳性符合率

将阳性质控品或标准品放入到快速核酸检测仪及配套试剂盒中，根据程序进行检测，通过检测结果的Ct值，判断目标通道是否均有阳性扩增，是否均为阳性。

（2）阴性符合率

将阴性质控品或生理盐水放入到快速核酸检测仪及配套试剂盒中，根据程序进行检测，通过检测结果的Ct值，判断目标通道是否均有阳性扩增，是否均为阴性。

（3）检出限的检查

将标准物质稀释到设备宣称的检出限（参照配套使用的核酸检测试剂盒说明书，比如500 copies/mL)作为样本，对同一模块或通道进行2次检测，分别记录ORFlab基因和N基因的扩增结果，与设备宣称的检出限进行比较。

多模块或多通道的快速核酸检测仪可以根据用户要求进行。

（4）样本检测重复性

样本检测重复性用变异系数表示。将标准物质稀释到高于检出限的一定浓度（比如1000 copies/mL）作为样本，对同一模块或通道进行6次或6次以上重复性检测，分别记录ORFlab基因和N基因的Ct值。按照公式（4.12）计算。

$$\mathrm{CV} = \frac{\mathrm{SD}}{\overline{\mathrm{M}}} \times 100\% \qquad (4.12)$$

式中：CV ——变异系数

SD —— 标准差

$\overline{\mathrm{M}}$—— 测量结果的平均值

多模块或多通道的快速核酸检测仪可以根据用户要求进行。

（5） 特异性

应验证与检测对象可能存在交叉反应的核酸物质对检测的影响。包括与被检测对象核酸序列具有同源性、易引起相同或相似临床症状的病原体核酸等。对于报告具体基因型的检测方法，应在待测核酸浓度水平验证其它基因型对待测核酸测定的影响。

4.2 预期的社会经济效益

本规范更加严谨完善，便于现场操作，完全适用于快速核酸检测仪的检测，弥补全球校准市场的空白，具有较为深远的社会影响力。同时本装备可用于医院所使用的快速核酸检测仪物理性能与检测性能的验评，保障医院所使用的快速核酸检测仪的性能可靠性和实验准确性，为其提供技术支持，产生较为深远的社会经济效益。

五、是否填补标准空白

是。

六、采用国际标准的程度

至本标准编制之日，尚未发与其相关的国际标准。

七、与有关的现行法律、法规的关系

本标准与现行的标准没有重复，也符合现行的法律、法规的要求及规定。

八、技术要求不低于强制性国家标准相关要求的说明

至本标准编制之日，尚未发与其相关的强制性国家标准。

九、技术要求高于推荐性标准相关要求的情况

至本标准编制之日，尚未发与其相关的推荐性国家标准、行业标准。

十、其他应又予说明的事项

无。