



新冠病毒核酸检测实验室存在问题及解决对策

上海市临床检验中心 肖艳群

2022.1.25

新冠病毒核酸检测相关技术规范

◆ 国家

- 医疗机构新型冠状病毒核酸检测工作手册（试行第二版） 联防联控机制医疗发〔2020〕313号
- 新冠病毒肺炎防控方案（第八版）附件10《新冠病毒样本采集和检测技术指南》
联防联控机制医疗发〔2021〕51号

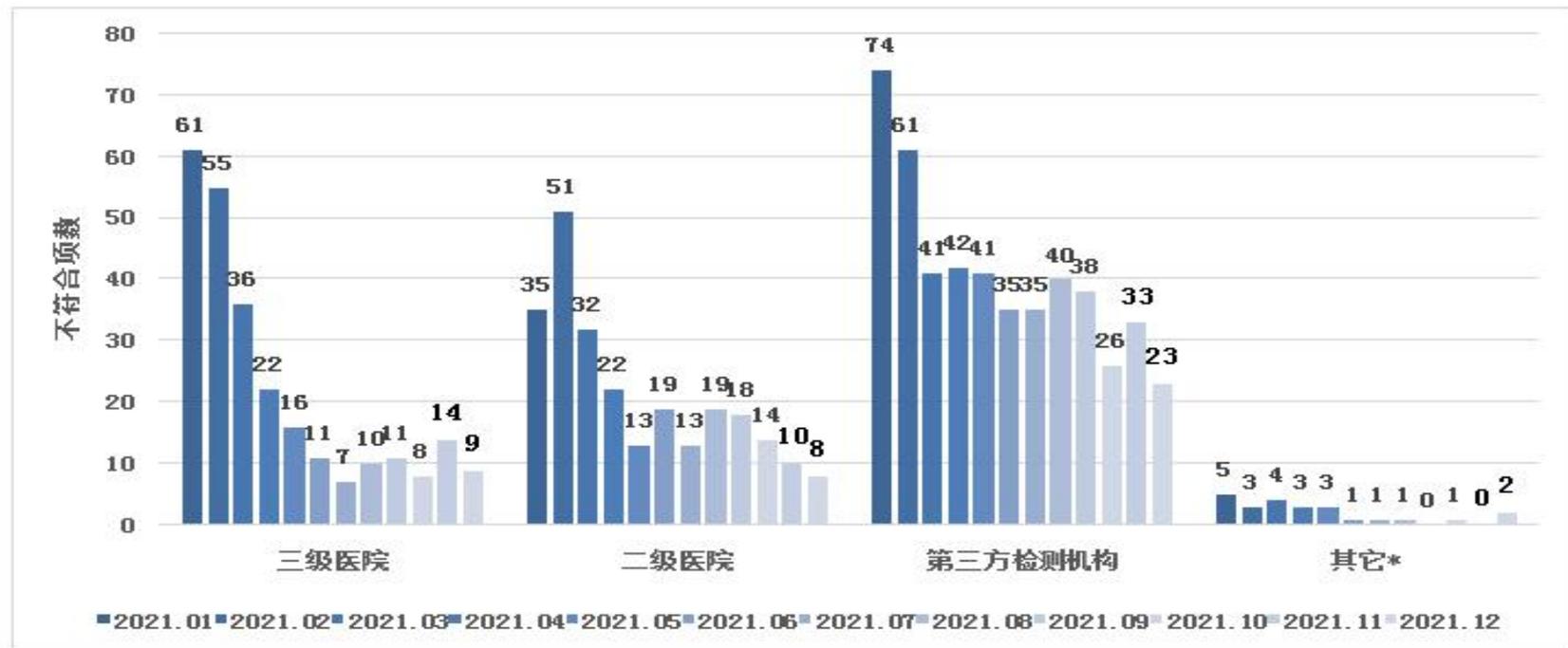
◆ 上海

- 上海市医疗机构开展新型冠状病毒核酸检测质量管理规范
- 关于提升新冠病毒核酸检测质量的要求
- 关于进一步加强本市新冠病毒核酸检测工作管理的通知（沪卫医便函[2021]10号）

上海开展新冠病毒核酸检测医疗机构分布 (截止2021.12.31)

医疗机构分类	数量 (家)
三级医院	57
二级医院	42
第三方检测机构	44
其它医疗机构	5
疾控机构	17
合计	165

2021年各医疗机构不符合项数量趋势图



各医疗机构主要问题情况及其占比表（2021年12月）

问题类别	三级医院	二级医院	第三方检验机构	其它	合计
	问题项数(占比)	问题项数(占比)	问题项数(占比)	问题项数(占比)	问题项数(占比)
摄像头安装不到位	2 (20.0%)	3 (30.0%)	3 (30.0%)	2 (20.0%)	10 (23.8%)
室内质控设置不规范或失控后未见失控分析及纠正措施	3 (33.3%)	3 (33.3%)	3 (33.3%)	0 (0)	9 (21.4%)
试剂批间差验证不规范	0 (0)	0 (0)	4 (100%)	0 (0)	4 (9.5%)
不同检测系统未进行比对或比对不合理	0 (0)	0 (0)	4 (100%)	0 (0)	4 (9.5%)
标准操作规程未及时更新或内容不完善	3 (75.0%)	0 (0)	1 (25.0%)	0 (0)	4 (9.5%)
实验室缺失温度计或者温、湿度记录不全	0 (0)	0 (0)	3 (100%)	0 (0)	3 (7.1%)
其他（复检流程不规范、仪器标签不清晰或不能提供校准报告、移液器使用不规范、消毒液配置没有记录等）	1 (12.5%)	2 (25.0%)	5 (62.5%)	0 (0)	8 (19.0%)

问题1-检测人员操作不规范

- ✓ 移液器吸液后未丢弃枪头而平放移液器
- ✓ 使用后的吸头洒落，并未及时处理
- ✓ 丢弃Tip头时移液器接触其他废弃物
- ✓ 分装好反应液的八联管均未封盖而较长时间放于二区生物安全柜内
- ✓ 核酸提取物未及时封盖
- ✓ 阳性质控品稀释未在生物安全柜内操作
- ✓ 、



核酸检测规范操作



◆加强人员培训

◆严格执行各个区域的操作规程

✓试剂储存和准备区：贮存试剂制备、试剂分装和扩增反应混合液制备，消耗品贮存和准备。

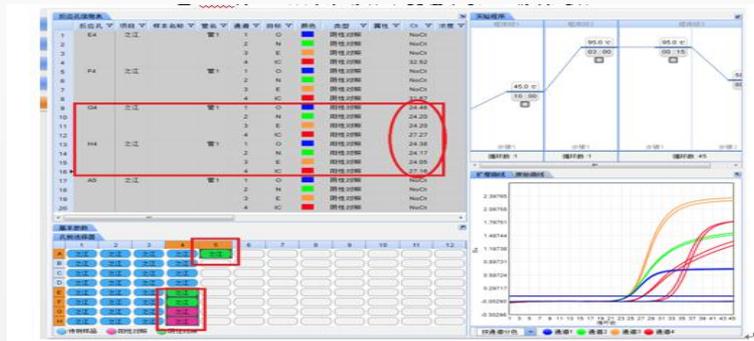
✓标本制备区：转运桶开启，核酸提取及其加入至扩增反应管等。打开标本采集管加样及核酸加至PCR扩增反应体系中必须在生物安全柜内完成。产生气溶胶的操作尽量在生物安全柜内完成。

混采样本应充分混匀。核酸提取完成后，立即将提取物封盖处理。

✓扩增和产物分析区：核酸扩增和产物分析。扩增完成后反应管不可开盖，直接放于垃圾袋中，封好袋口，不可高压，按一般医疗废物转移出实验室处理。

问题2-室内质控设置及操作不规范

- ✓ 室内质控品浓度过高
- ✓ 未随机放置
- ✓ 部分批次不参与核酸提取
- ✓ 失控未及时分析原因



粉色为弱阳性质控，室内质控浓度较高

项目	单位	2131-3	2132-3
1 ORF1ab (CT值)	/	0.00	0.00
2 ORF1ab (定性)	/	-	-
3 N基因 (CT值)	/	0.00	0.00
4 N基因 (定性)	/	-	-
5 E基因 (CT值)	/		
6 E基因 (定性)	/		
7 SARS-cov-2 (定性)	/	-	-



室内质控要求



◆常规检测

- 每板检测2份弱阳性质控品（第三方）、3份阴性质控品
- 随机放在临床标本中，参与从提取到扩增全过程
- 弱阳性质控品浓度宜为检测限的1.5-3倍

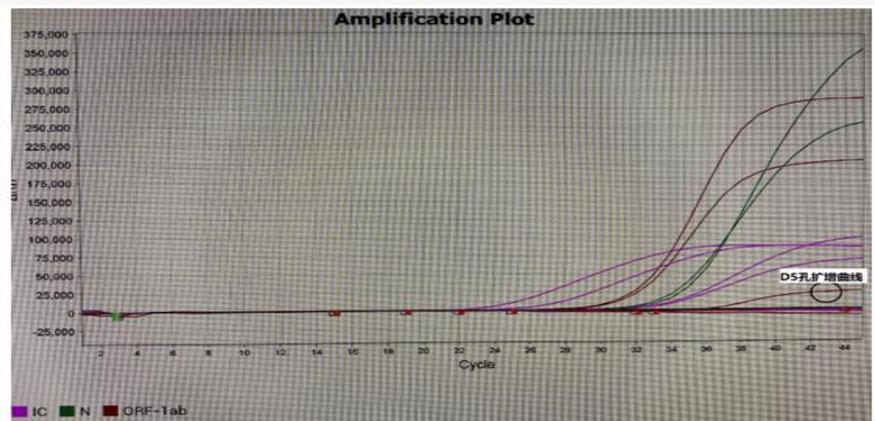
◆快检

- 每次开机均以弱阳性及阴性质控品质控、连续检测标本数达到50个或开机达到24小时后，弱阳性质控品再次质控
- 阴性质控：生理盐水
- 弱阳性质控：第三方，浓度宜为检测限的1.5-3倍

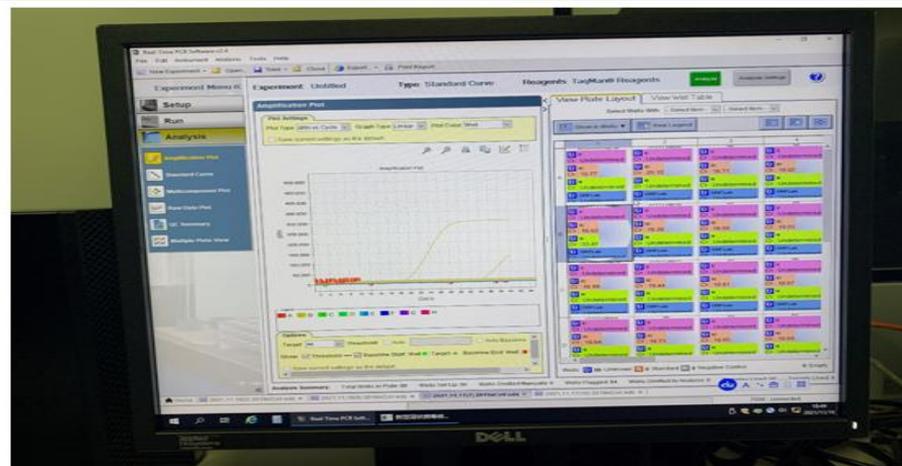
问题3-结果分析流程不规范

✓ 选择“自动”模式设置阈值线，存在漏检风险

✓ 灰区样本结果处理流程不规范



试验结果	结果判断
ORF1ab 基因、N 基因和 E 基因有两个或两个以上 (+)	2019-nCoV 阳性
仅 ORF1ab 基因 (+)	重复扩增仍为阳性，则 2019-nCoV 阳性
仅 N 基因或 E 基因 (+)	2019-nCoV 阴性
ORF1ab 基因、N 基因和 E 基因均为 (-)	2019-nCoV 阴性



问题4-可疑样本结果复检流程不规范

- ◆ 初检和复检均使用同一试剂品牌，未按照规定采用另一种试剂进行复检
- ◆ 复检使用初检提取的核酸，未按照要求采用原始样本进行复检

结果处理及复检要求



◆ 结果判读及处理：严格按照试剂说明书要求执行

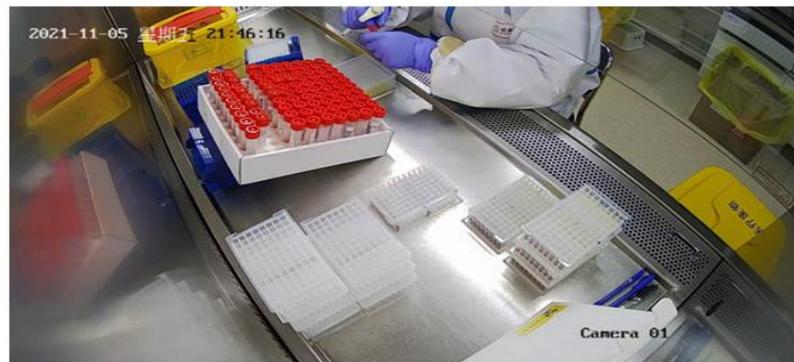
◆ 阳性结果复检。一旦出现阳性结果，需采用另外一到两种更为灵敏且扩增不同区域的核酸检测试剂对原始标本进行复检，复核阳性方可报出。

可疑阳性样本结果分析

- ✓ 疫苗接种点污染？
- ✓ 阳性质控品污染？
- ✓ 真阳性？

问题5-摄像设施安装不到位

- ◆ 安装位置不能清楚录制加样等关键过程
- ◆ 无法调取监控录像



注意事项1-采样

- ◆ 采样点及采样时机
- ◆ 标本类型：集中隔离人员采集鼻咽拭子
- ◆ 采样管选择：20合 1、 10合 1、 5合 1、 单采
- ◆ 物表：避免2次消毒

注意事项2-检测系统选择

- ◆ 常规检测系统
 - ✓ 提取仪和扩增仪要求。核酸提取试剂应与核酸提取仪配套使用，选用扩增检测试剂盒指定的核酸提取试剂和扩增仪
 - ✓ 试剂要求。试剂要与检测仪器相匹配。选用至少包含针对新冠病毒ORF1ab和N基因区域的试剂，检测限 ≤ 500 拷贝/mL。
- ◆ 快检系统
 - ✓ 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。
 - ✓ 快检试剂+ABI7500 扩增仪不属于快检系统

注意事项3-接收集中隔离点样本检测实验室

- ◆ 对集中隔离人员，要通过鼻咽拭子采集上呼吸道标本
- ◆ 选择检测限 ≤ 500 拷贝/ml的试剂。原则上，提取试剂、提取仪、扩增试剂和扩增仪应当配套使用，并在检测前进行性能验证
- ◆ 鼓励在两个以上检测机构通过不同设备和试剂，对集中隔离人员的样本进行平行检测，进一步提高检测结果的准确性
- ◆ 入境人员要采用检测限 ≤ 500 拷贝/ml和双靶区域以上的试剂进行检测，以降低因试剂灵敏度不足或病毒变异可能造成的漏检风险

注意事项4-核酸检测安全管理

- ◆ 标本安全管理
- ◆ 实验室检测安全管理
- ◆ 核酸提取和检测安全要求
- ◆ 实验结束后清洁要求

实验室清洁

实验室空气

每次检测完毕，应进行紫外消毒至少2h以上

工作台面、地面

每天试验后使用0.2%含氯消毒剂或75%酒精进行台面、地面清洁。垃圾桶及垃圾袋应喷洒0.2%含氯消毒剂

生物安全柜

每天试验后用75%酒精对试管架、实验台面、移液器进行擦拭。紫外照射30min

转运容器

转运及存放标本的容器使用前后用0.2%含氯消毒剂或75%酒精擦拭或喷洒

核酸提取仪

每天实验后紫外照射至少30min

注意事项5-方舱实验室资质

- ◆ 验收
- ◆ 流程参照PCR实验室验收申请

上海市临床检验中心
SHANGHAI CENTER FOR CLINICAL LABORATORY

首页 关于我们 新闻中心 业务管理 科研教育 行政

您的位置：医疗技术评估

申请

PCR实验室验收申请

分子诊断新技术评估申请

实验室换证申请

新冠核酸检测条件认定申请

大规模新冠病毒核酸检测实验室条件认定申请

规范操作建议

1. 采样要规范，鼻咽两部位
2. 人员要有证，培训要经常
3. 提取要及时，柜子防污染
4. 扩增要及时，加盖防污染
5. 质控阴和阳，阴性不起峰，阳性要弱小，失控要处理
6. 曲线每个查，判读要精准，疑似先复核
7. 仪器要校准，报告要合格
8. 试剂要配套，批间要验证
9. 环境要清洁，紫外加通风
10. 操作要规范，成败看细节
11. 领导要重视，配置要到位

谢谢