



# 中华人民共和国国家标准

GB/TXXXXX—XXXX/ISO/TS 5798:2022

## 体外诊断检验系统 核酸扩增法检测 新型冠状病毒的要求和建议

In vitro diagnostic test systems — Requirements and recommendations for detection  
of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) by nucleic acid  
amplification methods

(ISO/TS 5798:2022, IDT)

征求意见稿

2024 年 07 月 30 日

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

国家市场监督管理总局 发布  
国家标准化管理委员会

目 次

前言..... II

引言..... III

1 范围..... 1

2 规范性引用文件..... 1

3 术语和定义..... 1

4 概述..... 6

5 实验室要求..... 10

6 设计和开发..... 12

7 检测性能验证..... 27

8 临床中心确认..... 29

9 设计转移..... 30

10 实验室执行和应用及结果报告..... 30

11 质量保证..... 32

附录 A（资料性）核酸扩增技术..... 34

参考文献..... 37

## 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件等同采用ISO/TS 5798:2022。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件由全国医用临床检验实验室和体外诊断系统标准化技术委员会（SAC/TC 136）归口。

本文件起草单位：。

本文件主要起草人：。

## 引 言

严重急性呼吸综合征冠状病毒2（SARS-CoV-2）是已知的第七种感染人类的 $\beta$ 属冠状病毒。由SARS-CoV-2引起的疾病被世界卫生组织（WHO）指定为2019冠状病毒传染病（COVID-19）。COVID-19的临床管理以及SARS-CoV-2感染和传播的控制需要有效和高效的体外诊断。合理设计、开发和建立基于核酸扩增检测方法的高质量的SARS-CoV-2诊断方法对于确保COVID-19感染控制至关重要。

本标准是基于核酸扩增法检测SARS-CoV-2的检验系统，主要是用于医学实验室的体外诊断医疗器械，在正常使用的情况下可准确检测出人体标本中的SARS-CoV-2核酸。

本标准的主要目的是为体外诊断开发人员、制造商、客户或其他利益相关者在设计开发和常规应用过程中提供SARS-CoV-2核酸扩增方法质量实践考虑的要求和建议。本标准同时涵盖实验室自建检测（laboratory developed test, LDT）的质量实践考虑的要求和建议。

本标准对核酸扩增法检测SARS-CoV-2的通用技术进行了说明，核酸扩增检测（Nucleic Acid Amplification Test, NAAT）包括PCR技术以及其他基于扩增的技术，例如但不限于逆转录实时定量PCR（Reverse Transcription qPCR, RT-qPCR）。核酸扩增检测的结果受整个诊断流程的所有步骤包括检验前（标本的采集、处理等）、检验中、检验后的影响，因此，本标准提供了设计、开发、实施和使用SARS-CoV-2 核酸扩增检测检验时整个诊断工作流程所有关键方面的要求和建议。

# 体外诊断检验系统 核酸扩增法检测新型冠状病毒的要求和建议

## 1 范围

本文件对核酸扩增检测SARS-CoV-2分析测试的设计、开发、验证、确认和实施提出要求和建议。  
本文件涉及人体标本的检验前、检验和检验后过程步骤。

本文件适用于医学实验室。本文件也供体外诊断开发人员、制造商以及支持SARS-CoV-2研究和诊断的机构和组织使用。

本文件不适用于环境样品。

## 2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

ISO和IEC维护的用于标准化的术语数据库如下：

— ISO在线浏览平台：<https://www.ISO.org/obp>

— IEC 电子百科：<https://www.electropedia.org/>

### 3.1

严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 /新型冠状病毒 severe acute respiratory syndrome coronavirus 2

SARS-CoV-2

引起新型冠状病毒感染疾病（COVID-19）的病毒。

### 3.2

标本 specimen

原始样品 primary sample

为检验、研究或分析一种或多种量或特性而取出的认为可代表全部的一独立部分的体液、呼出气、毛发或组织等。

注1：全球协调工作组（GHTF）在其协调指导文件中用“specimen”表示医学实验室检验用生物源样品。

注2：在某些国家，使用术语“标本”代替原始样品（或其子样品），是准备送至实验室或实验室收到的供检验的样品。

[来源：GB/T 22576.1—2018<sup>[1]</sup>，有修改]

### 3.3

样品 sample

取自原始样品（3.2）一部分或多部分。

示例：取自一较大体积血清的一定体积血清。

[来源：GB/T 22576.1—2018<sup>[1]</sup>。

### 3.4

逆转录 reverse transcription

RT

在适当的条件下,利用与一个或多个寡核苷酸引物相关联的逆转录酶的酶活性,从RNA(3.20)模板(3.22)合成互补DNA[cDNA(3.6)]的过程。

[来源:ISO 16577:2016, 3.180<sup>[8]</sup>, 有修改]

### 3.5

**脱氧核糖核酸 deoxyribonucleic acid**

**DNA**

以双链(dsDNA)或单链(ssDNA)形式存在的脱氧核糖核苷酸聚合物。

[来源:ISO 22174:2005, 3.1.2<sup>[9]</sup>]

### 3.6

**互补DNA complementary DNA**

**cDNA**

在逆转录酶存在下合成的与给定的RNA(3.20)互补的单链DNA(3.5),作为DNA扩增的模板(3.22)。

[来源:GB/T 42077—2022<sup>[2]</sup>]

### 3.7

**分析特异性 analytical specificity**

测量系统的能力,用指定的测量程序,对一个或多个被测量给出的测量结果互不依赖也不依赖于接受测量的系统中的任何其它量。

注:缺乏特异性可被称为分析干扰(见GB/T 29791.1—2013<sup>[3]</sup>)。

[来源:GB/T 29791.1—2013<sup>[3]</sup>]

### 3.8

**检出限 limit of detection**

**LOD**

由给定测量程序得到的测得量值,对于此值,在给定声称物质中存在某成分的误判概率为0.05时,声称不存在该成分的误判概率为0.05。

[来源:ISO/IEC GUIDE 99:2007, 2.18<sup>[10]</sup>, 有修改]

### 3.9

**验证 verification**

为给定项目满足规定要求提供客观证据。

[来源:ISO/IEC GUIDE 99:2007, 2.44<sup>[10]</sup>, 有修改]

### 3.10

**确认 validation**

通过提供客观证据,对规定预期用途或应用要求已得到满足的认定。

注:“已确认”一词用于表明相应的状态。

[来源:ISO 9000:2015, 3.8.13<sup>[11]</sup>, 有修改]

### 3.11

**扩增子 amplicon**

通过DNA扩增技术产生的特定DNA(3.5)片段,如聚合酶链反应(PCR)(3.12)。

[来源:ISO 13495:2013, 3.3.1<sup>[12]</sup>]

### 3.12

**聚合酶链式反应 polymerase chain reaction**

**PCR**

体外扩增DNA(3.5)或RNA(3.20)的酶促反应过程。

[来源:ISO 22174:2005, 3.4.1<sup>[9]</sup>, 有修改]

## 3.13

**参考物质 reference material**

指定特性足够均匀和稳定，已被证明适合在测量过程中或名义特性检验中预期应用的物质。

[来源：ISO/IEC GUIDE 99:2007, 5.13<sup>[10]</sup>，有修改]

## 3.14

**假病毒 pseudo-virus**

逆转录病毒病毒或病毒样颗粒，可以整合另一种病毒的包膜糖蛋白，形成具有外源病毒包膜的病毒，基因组保留了逆转录病毒本身的特征。

## 3.15

**数字PCR digital PCR****dPCR**

将核酸模板（3.22）分布在多个名义上等体积的反应单元，每个反应单元中包含或不包含模板，对靶序列进行PCR扩增并对检测特定的PCR产物，从而给出目标模板阳性和阴性信号反应单元计数的过程。

注1：假设在分割/反应单元分配过程中，核酸靶序列是随机且独立地分布在各个反应单元中。

注2：阳性分割/反应单元分配和阴性分割/反应单元分配的计数通常在热循环反应后对PCR产物的终点检测，也有一些dPCR平台可以对PCR产物进行实时qPCR监测。

[来源：GB/T 42077—2022<sup>[2]</sup>]

## 3.16

**实时定量定量PCR quantitative real-time PCR****qPCR**

将特定的DNA或RNA片段体外扩增与扩增过程中特定PCR产物检测和定量相结合的酶反应过程。

注：当PCR反应进行特定DNA序列的复制时，形成的荧光标志发出的荧光与存在的DNA量成正比（理论上可以通过反向计算来推断PCR开始前存在于样品中的特定DNA的原始量）。

[来源：GB/T 42077—2022<sup>[2]</sup>，有修改]

## 3.17

**定量循环 quantification cycle** **$C_q$** 

实时定量定量PCR（qPCR）（3.16）的循环数，在该循环中，反应产生的荧光超越特定阈值水平，在该阈值水平下信号能与背景水平区分开。

注1：定量循环是一个通用术语，包括循环值（ $C_t$ ）、交叉点（ $C_p$ ）、出峰点和所有其他仪器上提及的用于量化qPCR分析中靶序列浓度的循环的特定术语。

注2：定量循环是基于应用于所有样品的阈值，或对于每个样品信号的回归分析。

注3：循环阈值是一种重现性较差的度量，在比较试剂盒性能时不宜使用。

注4：基于实验室的考虑有时会导致选择循环数的临界值。选择临界值时，宜避免对可用检出限（LOD）产生不利影响。

注5： $C_q$ 不适用于数字PCR和等温扩增方法。

[来源：GB/T 42077—2022<sup>[2]</sup>，有修改]

## 3.18

**临床特异性 clinical specificity****诊断特异性 diagnostic specificity**

体外诊断检验程序可以识别特定疾病或状态相关的目标标志物不存在的能力。

注1：在目标标志物已知不存在的样品（3.3）中也定义为阴性百分数。

注2：临床特异性以百分分数表达（数值分数乘以100）。以 $100 \times \text{真阴性值数}(\text{TN}) / (\text{真阴性值数}(\text{TN}) + \text{假阳性值数}(\text{FP}))$ 的和来计算,或 $100 \times \text{TN} / (\text{TN} + \text{FP})$ 。此计算基于从每个对象中只取出一个样品（3.3）的研究设计。

注3：目标状况由独立于被考察检验程序的标准定义。

[来源：GB/T 29791.1—2013<sup>[3]</sup>]

### 3. 19

**临床灵敏度 clinical sensitivity**

**诊断灵敏度 diagnostic sensitivity**

体外诊断检验程序可以识别与特定疾病或状态相关的目标标志物存在的能力。

注1：在目标标志物已知存在的样品（3.3）中也定义为阳性百分数。

注2：诊断灵敏度以百分分数表达（数值分数乘以100）。以 $100 \times \text{真阳性值数}(\text{TP}) / (\text{真阳性值数}(\text{TP}) + \text{假阴性值数}(\text{FN}))$ 的和来计算,或 $100 \times \text{TP} / (\text{TP} + \text{FN})$ 。此计算基于从每个对象中只取一个样品（3.3）的研究设计。

注3：目标状态由独立于被考察检验程序的标准定义。

[来源：GB/T 29791.1—2013<sup>[3]</sup>]

### 3. 20

**核糖核酸 ribonucleic acid**

**RNA**

以双链或单链的形式存在的核糖核苷酸聚合物。

[来源：ISO 22174:2005, 3.1.3<sup>[9]</sup>]

### 3. 21

**校准物 calibrator**

用于校准的测量标准。

[来源：GB/T 42077—2022<sup>[2]</sup>，有修改]。

### 3. 22

**模板 template**

DNA（3.5）或RNA（3.21）链，规定新合成DNA或RNA链的碱基序列，该两条链互补。

[来源：ISO 16577:2016, 3.206<sup>[8]</sup>]

### 3. 23

**唾液 saliva**

**全唾液 whole saliva**

口腔生物液，主要由三大唾液腺（腮腺、下颌下腺和舌下腺）和口腔中的唾液腺分泌物组成。

[来源：ISO 4307:2021, 3.15<sup>[13]</sup>]

### 3. 24

**逆转录聚合酶链式反应 reverse transcription polymerase chain reaction; RT-PCR**

结合RT（3.4）和PCR（3.12）的过程，通过扩增cDNA（3.6）靶标作为检测RNA（3.20）模板（3.22）的途径。

注1：这可以使用不同形式进行。一种流行的方法使用实时荧光定量PCR仪器，同时进行PCR和分析；这被描述为逆转录定量PCR[RT-dPCR（3.16）]

注2：改编自GB/T 42077—2022<sup>[2]</sup>

### 3. 25

**体外诊断医疗器械 in vitro diagnostic medical device**

**IVD医疗器械 IVD medical device**



单独或组合使用，被制造商预期用于人体标本体外检验的器械，检验单纯或主要以提供诊断、监测或相容性信息为目的，器械包括试剂、校准物、控制物质、样品容器、软件和相关的仪器或装置或其它物品。

[来源：GB/T 21415—2008<sup>[4]</sup>]

### 3.26

#### 检验前过程 pre-examination processes

包括患者准备和识别、原始标本采集、运送和实验室内传递以及分离RNA的过程。

注1：分析前和检验前是同义词。

注2：改编自GB/T 22576.1—2018<sup>[1]</sup>

### 3.27

#### 定量限 limit of quantification

##### LQ

在方法规定的实验条件下，能够以合理的统计确定性一致地测量的在规定基质（3.31）中的相关分析物的最低浓度或含量。

注：通常用信号或测量（真）值表示，该值将产生具有特定相对标准偏差（RSD）的估计值。

[来源：ISO 16577:2016, 3.91<sup>[8]</sup>]

### 3.28

#### 阳性PCR对照 positive PCR control

特征明确的阳性样品（3.3）材料的可靠来源，含有用于PCR（3.12）的完整靶核酸序列。

[来源：ISO 16577:2016, 3.150<sup>[8]</sup>，有修改—删除注]

### 3.29

#### 内部抑制性对照 internal inhibition control

并通过添加DNA（3.5）或引物，在目标片段扩增反应中获得的作为内部控制的材料。

注1：此材料明确不同于目标片段。

注2：改编自ISO 16577:2016, 3.82<sup>[8]</sup>。

### 3.30

#### 实验室自建检测 laboratory developed test

##### LDT

在一个单独实验室内开发（或变更）和使用，以对样品（3.3）进行检测，其结果预期用于辅助临床诊断或做出相关临床管理决策的试验。

注1：内部检测/LDT在投入使用前需要对其预期用途进行确认。

注2：改编自GB/T 39367.1—2020<sup>[5]</sup>。

### 3.31

#### 基质 matrix

一个物质系统中除分析物之外的所有成分

[来源：GB/T 19702—2021<sup>[6]</sup>]

### 3.32

#### 基质效应 matrix effect

独立于分析物存在的对测量和测得的量值产生影响的样品（3.3）特性。

[来源：GB/T 19703—2020<sup>[7]</sup>，有修改]

### 3.33

#### 无模板对照 no template control

##### NTC

包含除提取检测样品（3.3）模板（3.22）核酸以外所有试剂的对照反应。

[来源：GB/T 42077—2022<sup>[2]</sup>]

### 3.34

环介导等温扩增 loop mediated isothermal amplification

LAMP

利用两个或三个独特设计的引物组和具有高链置换活性的聚合酶实现等温DNA（3.5）扩增的策略。

[来源：ISO 16577:2016, 3.94<sup>[8]</sup>]

## 4 概述

### 4.1 SARS-CoV-2

#### 4.1.1 通用要求

采用核酸扩增测试进行 SARS-CoV-2 分子检测的过程通常包括检验前和检验步骤。检验前步骤包括临床标本的采集、运输、储存、样品裂解以及核酸提取和富集。检验步骤包括逆转录（cDNA 合成）和适宜的扩增方法。此外，还包括废弃物管理和测试结果报告等检验后处理步骤。

基于核酸扩增的检测过程，其质量属性包括但不限于：适宜提取程序的性能评估、满足最低测试标准的测试试剂评估、全面的分析特异性评估、检出限（Limit of Detection, LOD）评估以及试剂稳定性评估。

评价上述质量属性的技术流程如图 1 所示，涵盖了全过程评估及关键分析性能评估。

注：对于仅使用一种核酸提取方法或当提取方法是工作流程不可分割的一部分时，对核酸提取部分的质量评估并非必要。

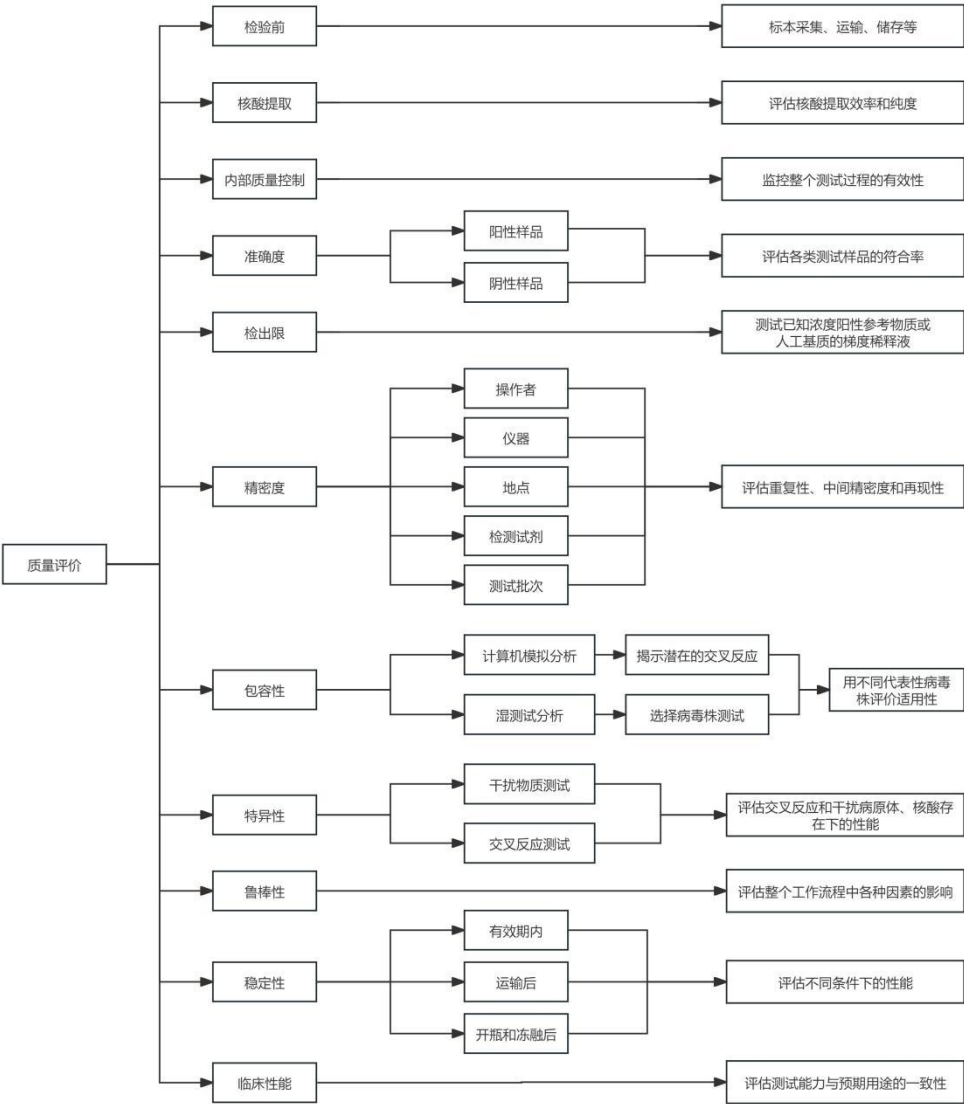


图 1 基于核酸扩增测试的 SARS-CoV-2 检测方法质量评价流程

4.1.2 检验前

针对 SARS-CoV-2 的检测，在检验前工作过程中，宜考虑以下通用注意事项：

- a) 宜使用适当的个人防护装备（Personal Protective Equipment，PPE）。
- b) 标本类型的选择：鉴于 SARS-CoV-2 主要感染呼吸系统，标本类型的选择宜参考与 SARS-CoV-2 相关暴露或感染的特征来确定。
- c) 标本采集：根据选择的标本类型，宜按照标准化采样要求采集临床标本。
- d) 标本包装：标本包装宜考虑适当的生物安全措施。
- e) 标本运输与储存：在运输和储存过程中，宜考虑对病毒核酸降解的影响。
- f) SARS-CoV-2 的灭活：在实验室进行测试前，所有标本的初步处理（灭活前）宜在验证过的生物安全柜（Biosafety Cabinet，BSC）或一级防护装置中进行。若初步处理步骤涉及对原始标本的操作（例如，用灭活试剂稀释），宜将这些步骤纳入验证和确认。

注：有关检验前参数的更多详细信息，可参见 6.5.1。

### 4.1.3 检验概述

#### 4.1.3.1 通用要求

在进行 SARS-CoV-2 核酸的实验室测试时，宜考虑以下通用注意事项：

- a) 所有检验宜使用适当的个人防护装备。
- b) 所有活动宜使用独立设备、一次性用品或两者兼用，以避免交叉污染。
- c) 样品提取、反应试剂配制和扩增子处理宜在独立的实验室房间内进行。  
使用商业化可获得的检测试剂，闭管方法和自动化仪器，可在一定程度上降低对独立房间数量的要求。全自动方法只需要一个房间或实验室专用区域仅使用基于商业化可获得的检测试剂盒。闭管方法是在一个试管中进行扩增和分析的方法，无需转移 PCR 产物作进一步分析。
- d) 除非用于扩增后的步骤，否则宜尽量避免打开管盖。
- e) 为防止交叉污染，建议避免在不同工作区域间移动仪器或共用设备。
- f) 对于采用传统核酸扩增技术的检测方法，在进行测试时宜严格遵守核酸扩增实验室的分区要求。
- g) 可在反应体系中加入脱氧尿苷三磷酸（Deoxyuridine Triphosphate, dUTP）和尿嘧啶-DNA 糖基化酶（Uracil-DNA Glycosylase, UDG），以消除扩增子污染。
- h) 在样品测试期间，宜考虑废弃物的临时储存和处置。
- i) 如需保存标本以备后续使用（例如，保存有价值的生物材料等），可能考虑建立生物标本库相关基础设施。关于生物标本库的质量和能力的更多信息，可参见 ISO 20387<sup>[4]</sup>。
- j) 实验室宜始终建立信息系统，用于收集、处理、记录、报告、储存或检索检验和检验前数据及相关信息。

#### 4.1.3.2 计量可追溯性

检测试剂性能的设计输入特征宜使用已建立的参考物质进行验证。参考物质宜可溯源至已验证的新型冠状病毒参考物质（例如，世界卫生组织（WHO）关于 SARS-CoV-2 的标准品）或适当的等效物，或者检测试剂宜根据外部质量保证方案对检测进行验证。参考物质宜妥善储存及处理，对于商业化可获得的参考物质，宜按照供应商的说明进行操作。不同来源的参考物质应具有定量可追溯性，即不同来源的参考物质的测试结果宜一致。关于计量可追溯性的更多信息，参见 GB/T 21415—2008<sup>[4]</sup>。

实验室可根据以下要求，自行制备用于试剂的可行性研究和使用的参考物质（内部参考物质）：

- a) 可用于制备参考物质的材料包括与测试样品同类或具有相同成分的物质，以及灭活的新型冠状病毒或假病毒；
- b) 灭活病毒或制备的假病毒在使用前，宜先采用数字 PCR（digital PCR, dPCR）等已经验证的定量方法的参考测量程序进行浓度测定，以确保结果的准确性。

自制的参考物质的储存条件和储存时间宜予以明确和验证，以避免目标核酸的损失。此过程可使用数字 PCR 或实时定量 PCR（quantitative PCR, qPCR）进行。参考物质宜储存在适当的温度下，若为商业化可获得的，则宜在供应商指定的温度下储存，并在有效期内使用，否则可能影响测试结果。

#### 4.1.3.3 阳性阈值

对于基于 PCR 的核酸扩增方法，阳性阈值指的是用作判定目标核酸是否存在的临界  $C_q$  值，它定义

了哪些测量结果报告为“检出”，哪些报告为“未检出”。合理设置阳性阈值对于确定检验方法的临床特异性和临床灵敏度至关重要。确认增强的扩增信号可用于结果的解释。 $C_q$ 值宜与扩增曲线的形态相匹配。设计良好且经优化的 SARS-CoV-2 PCR，在 SARS-CoV-2 RNA 不存在时不宜产生  $C_q$  信号。用于区分阴性和阳性结果的  $C_q$  判断值均宜经过临床标本验证。

高  $C_q$  值常用于排除可因病毒载量过低或非特异性扩增引起的非常弱的信号。然而，除非结果经过协调（例如，使用经认证的参考物质），否则不同实验室获得的  $C_q$  值之间不宜直接比较。

#### 4.1.3.4 包装

无论是商业化获得的还是实验室自制的试剂盒，实验室宜在包装完好且标识清晰（例如，产品名称、批号、组分、有效期、储存条件）的情况下使用。

#### 4.1.3.5 说明书（Instructions for Use, IFU）

无论是商业化获得的还是实验室自制的试剂盒，其说明书宜详细说明预期用途和使用的操作步骤。说明书的内容宜包括目标用户、适用范围、测试结果的解释、操作步骤和注意事项。

#### 4.1.4 检验后

由于 SARS-CoV-2 具有致病性，在任何情况下均应遵循适当的生物风险管理程序，并宜在实验室测试后妥善执行以下步骤：

- a) 剩余临床标本的保存和处理；
- b) 扩增后废弃样品的处置；
- c) 实验室测试后提供适当的测试报告：测试报告宜至少包含以下信息：标本的基本信息、测试标本类型、测试方法、标本采集时间、储存和运输时间及条件、报告出具时间、测试结果判定与解释信息、结果审核和授权发布人员的信息；
- d) 实验室的清洁和消毒，包括使用过的房间和设备；
- e) 扩增后产物的储存和处理。

有关生物风险管理的更多指南，可参见 ISO 35001<sup>[15]</sup>。

### 4.2 核酸扩增方法

#### 4.2.1 逆转录实时定量 PCR（Reverse Transcription qPCR, RT-qPCR）

RT-qPCR 是一种测试 SARS-CoV-2 RNA 的方法，它结合了逆转录（Reverse Transcription, RT）与实时定量 PCR（quantitative PCR, qPCR），在用户完成校准步骤后能够实现 RNA 的检测与定量。在此过程中，RNA 序列首先经逆转录合成互补 DNA（complementary DNA, cDNA），在此基础上进行 qPCR 反应。在每个循环后，对 qPCR 扩增的 cDNA 进行测量（通常采用荧光读数）。荧光可能通过非特异性嵌合染料或含有荧光基团的特异性寡核苷酸杂交探针来引入。后者由于引入了第三条寡核苷酸，从而进一步增强了分析特异性，因此在 SARS-CoV-2 的测试中更为常用。

目前，最常用的 SARS-CoV-2 核酸检测方法是水解荧光探针技术（其中包含荧光基团和淬灭基团）。诊断用 RT-qPCR 的常见靶标为 SARS-CoV-2 基因组的 ORF1ab、RdRp、S、E 或 N 基因（见图 2）。使用 RT-qPCR 技术检测 SARS-CoV-2 核酸需要实时定量 PCR 仪器。

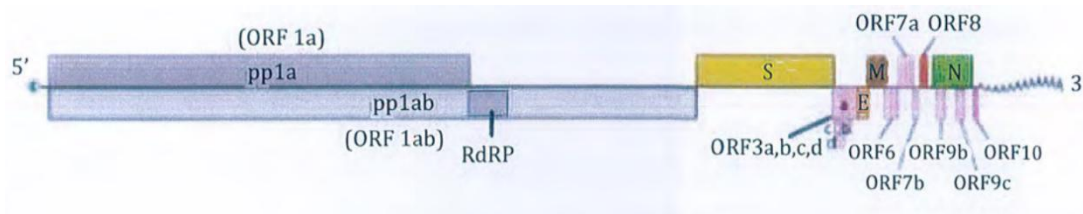


图 2 SARS-CoV-2 基因组

如果标本中存在 SARS-CoV-2 的 cDNA，引物和探针将特异性地结合到目标区域，并生成新的核酸序列，该序列由分别结合在相隔大约 60 至 150 个碱基的互补 DNA 链上的相应引物所启动。互补分子被合成，聚合酶的外切酶活性会消化水解探针，从而将荧光基团与同样连接在探针上的淬灭基团分离。荧光基团从它的淬灭基团释放后，就可以检测到荧光信号。随着反应循环次数的增加，样品中标记目标核酸序列的浓度增加，荧光信号也随之增强。荧光监测系统检测到荧光信号的增强，即表明样品中检测到 SARS-CoV-2 核酸序列。在 RT-qPCR 反应中添加已知浓度的参考校准物，根据各标准品梯度所设的标准曲线，可建立  $C_q$  值与校准物拷贝数之间的关系，SARS-CoV-2 核酸可被定量。

#### 4.2.2 逆转录数字 PCR (RT-dPCR)

RT-dPCR 使用与 RT-qPCR 相同的试剂，但采用极限稀释、终点 PCR 和泊松统计方法，无需使用校准物。模板在极限稀释条件下随机分布到各自的反应分区（通过油包水液滴或预制微孔板实现）中，使每个分区中不含模板或含有一个或多个模板。每个反应分区内均进行扩增直至终点，然后计数确定阳性分区的数量和比例，并通过泊松分布模型估算浓度。在该反应中，定量结果受扩增效率低下和样品中可存在的扩增抑制剂的影响较小，即减少了重复性和再现性误差引起的偏差。在该过程中，反应体系可被分为数万个纳升级别的分区。该技术已用于临床样本中绝对病毒载量的分析，并证明具有高度的再现性。

关于数字 PCR 使用的更多指南，可参见 GB/T 42077—2022<sup>[2]</sup>。

#### 4.2.3 等温扩增方法

尽管基于 PCR 的方法广泛用于 SARS-CoV-2 的确认性诊断，等温扩增方法为检测 SARS-CoV-2 和识别感染患者提供了一种替代方案。等温扩增方法可无需昂贵的热循环设备，常与采用新型检测方法（如 CRISPR 或 DNA 测序）的其他诊断解决方案联合使用。

等温扩增方法的实例可参见附录 A。读者宜查阅已发表的文献，以确定最适合其预期用途的方法，并了解其潜在的优点和局限性。

## 5 实验室要求

### 5.1 通用要求

进行 SARS-CoV-2 核酸检测的实验室宜考虑生物风险和生物安全等级、实验室设置、设备使用 and 人员防护的相关要求。例如，实验室设备包括仪器的硬件和软件、检测系统和实验室信息系统。

实验室宜了解与标本采集和使用相关的国家、地区和国际伦理要求、法律和法规。

实验室即使是出于质量控制的目的使用来自患者的标本时也应考虑本条款中的注意事项。

### 5.2 生物安全要求

### 5.2.1 实验区域

SARS-CoV-2 的安全检测需要在实验室中设计一个防止气溶胶污染的工作区。可以考虑使用合适的生物安全柜（BSCs）和独立的专用工作区。用于 SARS-CoV-2 病毒 NAAT 的实验室宜设置合适的生物安全等级，建议至少为 2 级生物安全实验室。此外，实验室至少宜有三个独立的区域用于 SARS-CoV-2 的 NAAT，分别用于试剂制备、样品处理、NAAT。

### 5.2.2 风险管控

实验室宜进行本地风险评估，以确保其有能力通过适当的风险控制措施安全地进行预期的检测。宜评估实验室团队处理 SARS-CoV-2 标本相关的感染风险，以检查工作程序产生的潜在风险。宜对所有工作程序、实验室设备和工作环境进行彻底的风险评估。产生气溶胶的步骤（混匀和加样步骤）宜在生物安全柜（BSCs）中进行。

尽管常规 RNA 提取试剂盒的外部裂解缓冲液可能在没有加热或其他额外手段的情况下有效地灭活 SARS-CoV-2。但在实验操作过程中，任何已知或可能被生物制剂污染的表面或材料都宜进行正确消毒，以将感染风险降至最低。在进行所有的操作时宜尽量减少气溶胶和飞沫的产生。实验室工作宜配备适当的个人防护装备。正确穿戴和脱下个人防护装备以及手卫生的能力对于控制感染至关重要。

分析可能含有 SARS-CoV-2 活病毒的样品的人员宜了解处理这些样品的管理和法规。

所有已识别的潜在危害的剩余风险等级宜在可接受的范围内。

关于生物风险管理的进一步指导可详见 ISO 3500。

### 5.2.3 个人防护装备

SARS-CoV-2 具有高度传染性。实验室工作人员宜穿戴与风险等级相匹配的个人防护装备，如防护服、手套（覆盖整个手）和鞋套。强烈推荐佩戴面罩和适当的口罩以及护目镜。呼吸道防护对于处理疑似 SARS-CoV-2 标本尤为重要，尤其是在进行可能产生气溶胶和飞沫的操作时。相关人员宜了解当地处理废弃物以及穿脱防护装备的生物安全要求。

注 1：医学实验室生物风险管理和安全操作的指导可详见 ISO 15190<sup>[16]</sup>和 ISO 35001<sup>[15]</sup>。

《世界卫生组织实验室生物安全手册》中提供了更多信息，宜定期查阅世界卫生组织或美国疾病控制和预防中心网站上有关 SARS-CoV-2 的最新生物安全信息。

注 2：医用口罩抗合成血渗透性的试验方法可详见 ISO 22609<sup>[17]</sup>。

## 5.3 实验室建设一般要求

实验室建设宜遵循单向工作流程，以减少污染发生的机会。样品制备区的材料、用品或设备不宜带入试剂准备区。同样，扩增和产物检测区中的任何物品都不宜带入样品制备区或试剂制备区。更多信息详见 GB/T 39367.1—2020。

应用这些建议时宜考虑到效益风险分析后的实验室设备和设施。

## 5.4 仪器

当在相应的核酸扩增方法中使用 SARS-CoV-2 核酸检测试剂时，制造商和仪器型号之间的差异可导致检测条件和扩增效率的差异。如果使用说明书（IFU）中有规定和声明，则宜使用各种仪器验证试剂对多种型号仪器的适用性。

## 5.5 实验室人员

临床实验室操作人员宜接受包括 SARS-CoV-2 的检测方法和程序、NAAT、体外诊断程序、适用的实验室信息系统和结果解释相关标准操作程序（SOP）的培训，尤其是关于 SARS-CoV-2 的高传染性。此外，宜酌情开展有关生物安全和分子生物学实验室管理相关知识的专门培训，包括 SARS-CoV-2 标本的处理、个人防护设备的正确使用（穿上和脱下）。

## 6 设计和开发

### 6.1 客户、患者和利益相关方的需求

客户、患者和利益相关方的需求根据预期用途进行定义和记录。收集、记录这些需求和要求对于后续定义设计输入规范至关重要。呼吸道标本中 SARS-CoV-2 RNA 诊断检测的目的、益处和用途在于能够支持临床、感染控制或公共卫生管理做出决策，以及以政策为导向的监测目的。目标人群包括个人初级护理或住院患者、卫生保健机构中的弱势群体、社区中需要检测、跟踪和隔离的高危人群，以及没有呼吸道感染迹象或症状的人群（例如监测劳动力或学校人群）。

除了实时应用于医疗或公共卫生病例管理和传播控制外，病毒检测还可用于以政策为导向的监测目的，以监测感染和疾病的发病率和流行情况。这种应用包括在社区、初级护理或住院患者群体中进行流行病学调查和哨点监测计划。

SARS-CoV-2 诊断检测的标本可以从上呼吸道（如鼻咽拭子、口咽拭子、唾液）或下呼吸道（如痰液、气管抽吸物、支气管肺泡灌洗液（BAL））采集。通过比较 RT-PCR 检测的准确性数据，可以发现临床检测的灵敏度和 LOD 可能会因标本类型和疾病进程不同而有差异。制造商宜明确预期用途中的适用标本类型，更多需要提供的信息见 6.5.1。

### 6.2 分析检测的预期用途

专用的 SARS-CoV-2 分析检测的预期用途取决于客户和利益相关方的需求和要求。呼吸道标本中 SARS-CoV-2 RNA 的分析检测可为临床治疗、感染控制或公共卫生管理的决策提供支持。对出现类似 COVID-19 症状的患者进行 SARS-CoV-2 检测，这对于医疗机构的患者护理、分诊和隔离至关重要。

此外，SARS-CoV-2 检测还可用于筛查密切接触者是否存在无症状感染和相关疾病，作为接触者追踪或疫情调查的一部分。有关预期用途，宜查阅制造商和供应商提供的说明书。

另外，分析检测的快速性和易用性也是两个重要考虑因素。可以在患者床旁进行的检测称为床旁检测（POCT）。

### 6.3 机构指南策略

#### 6.3.1 实验室自建检测（LDTs）与体外诊断医疗器械（IVD 医疗器械）

实验室自建检测（LDTs）是非商业性质的体外测试方法，是按照质量保证体系（基于国际临床实



实验室质量标准)进行内部性能验证和确认后,按照科学合理的方案在实验室进行的。针对 SARS-CoV-2 病毒 RNA 的 RT-PCR 检测方法经常与其他各种基于 RNA 的体外检测方法一起用于 SARS-CoV-2 疑似病例的诊断(见附录 A)。这些 PCR 检测可以通过使用机械分子平台实现自动化,以实现临床标本的高通量批量处理。

体外诊断医疗器械的“预期用途”是指根据制造商在标签、说明书和宣传材料上提供的资料,按照预期使用该器械。

### 6.3.2 应急审批

有关当局宜确定分析检测紧急使用的授权标准,这些检测通常缺乏必要的政府、监管、机构批准和许可,或此类产品供应不足。为应对与 SARS-CoV-2 相关的卫生保健工作,寻求相关当局(如世卫组织、美国食品和药物管理局(FDA))应急审批的制造商宜在向市场提供产品以供紧急使用之前评估这些标准。

## 6.4 临床策略

对整体临床需求和利益相关方要求的评估对于确定和开发预期用途非常重要。良好的实验室规范会产生准确的检测结果,这对于确保实验室检测有利于公共卫生应对非常重要。

面对大面积的社区传播,实验室宜为大幅增加的 SARS-CoV-2 检测标本数量做好准备。宜调查检测受限因素,并确定优先次序,以确保利用现有资源最大程度上减少传播对公共卫生产生的影响。

为了遏制 SARS-CoV-2 的传播,宜采取一系列行动来扩大检测能力,并确保国内和国际的检测质量,包括:

- a) 评估全国检测策略中的共同方法(例如,单个样本或样本池检测);
- b) 讨论最佳行动方案并制定关于性能评价和合格评定的检测指南;
- c) 提供参考物质、经认证的标准物质、质量控制物质或研究级物质以及用于器械比较的常用方法;
- d) 测试性能的信息共享;
- e) 与行业和国家主管当局进一步交流;
- f) 确保标签使用正确,测试设备可正常识别;
- g) 供需协调。

## 6.5 设计和开发策划

### 6.5.1 SARS-CoV-2 呼吸道标本检测的预检

#### 6.5.1.1 概述

本章节重点关注 SARS-CoV-2 病毒主要侵犯部位——呼吸道。SARS-CoV-2 检测中,呼吸道标本包括鼻咽拭子、咽(口咽)拭子、上鼻甲及中鼻甲拭子、痰液、支气管/肺泡灌洗液和唾液标本。正确的标本处理方法对标本的完整性以及定性和/或定量核酸检测的准确性至关重要。标本收集应遵循适当的生物安全指南,同时需注意相关潜在干扰物质(例如鼻腔或其他药物)的信息。在检测之前,应妥善收集、运输和储存标本。如果预计标本运输到实验室的时间需延长,则应使用可稳定保存病毒 RNA 的采样装

置来采集标本。样品处理不当可导致核酸降解和检测结果呈假阴性（CLSI-MM13A）<sup>[28]</sup>。需对实验室人员进行培训，确保待测样品的完整性。

#### 6.5.1.2 标本采集

正确采集呼吸道标本会极大影响病毒载量的检测，且在感染过程中，病毒载量会发生显著变化。因此，为提高核酸检测的灵敏度，在标本采集时必须确保采集到被 SARS-CoV-2 感染的呼吸道液体和上皮细胞，以捕获更多的病毒 RNA。同样重要的是，采集呼吸道标本的人员必须经过良好的培训，确保采样能准确地反应采样部位的状态。详尽的呼吸道采样记录很复杂，在需要快速确定潜在的 SARS-CoV-2 阳性病例时，可参考其他病毒病原体（如流感、麻疹）的现有资料提供有关最佳拭子或其他采样系统的有用信息。

建议提供采集标本的随附信息，例如患者人口统计资料、住院患者或门诊患者、采集日期和时间，以便跟踪结果呈阳性的患者。这些数据宜记录在实验室信息系统中，有助于支持制定隔离方案并协助公共卫生人员追踪可能与阳性结果患者有过接触的其他人。标本采集还宜考虑标本类型、所需数量、容器、标本可接收标准、运输、储存条件和储存时间，以及尽量减少核酸降解或污染的因素。

在门诊场景下，有数据表明，相比标准涤纶拭子，植绒尼龙拭子通过液体吸收和上皮细胞粘附的方式来收集病原体，临床灵敏度最佳。在最近的研究中，鼻咽拭子显示出最佳的临床灵敏度（90%至 95%）和良好的特异性，但这些研究通常没有很好地标准化且受到许多变量的影响。口咽（咽喉）标本的临床灵敏度可能较低（80%至 90%），这取决于采样技术和标准化。如由于各种原因无法采集鼻咽标本时，鼻-中鼻甲混合标本、咽拭子标本（如适用）、抽吸标本也可以实现较高的病毒回收率，漱口后采集唾液标本也是有效的。病毒定量回收率标准宜考虑检测结果的预期用途。

注：一项 Meta 分析纳入了 3000 多名患者的标本（鼻咽拭子、口咽拭子和痰液），研究显示痰液具有最佳的临床灵敏度，鼻咽拭子次之，最后是口咽拭子。

由于标本质量的重要性，宜始终开展标本采集培训。CLSI MM13-A<sup>[28]</sup>可以作为培训的参考材料。

采集标本之前，宜将识别标本来源和患者的信息（例如条形码）贴于采样管。不同标本类型的采集宜遵照相应的标准程序。推荐的采样方法详见本文件 6.5.1.3。

#### 6.5.1.3 标本类型

##### 6.5.1.3.1 鼻咽拭子

采样人员宜轻轻托起受试者的头部，一手握住拭子，将拭子插入鼻孔，然后沿下鼻道底部缓慢向后推拭子。由于鼻道弯曲，宜避免用力过猛，以防外伤性出血。当拭子尖端到达鼻咽腔后壁时，宜轻轻旋转拭子（如出现反射性咳嗽宜暂停旋转）。拭子宜始终缓慢取出，以避免拭子在鼻腔内折断。将拭子尖端浸入病毒转运介质或等效的稳定溶液中。在折断点处，折断拭子，弃去尾部，拧紧管帽。如有需要，可将鼻咽拭子和咽拭子放在同一管运输介质中。

##### 6.5.1.3.2 咽（口咽）拭子

患者宜微微抬头，张大嘴巴，说“啊”，露出双侧咽扁桃体。强烈建议用拭子在双侧扁桃体柱上来

回轻轻摩擦至少三次，避免接触舌头、牙齿和牙龈。然后将拭子尖端浸入病毒运输介质中。

#### 6.5.1.3.3 鼻拭子

经验证的前鼻拭子可用于 SARS-CoV-2 检测，但建议不要单独使用此采样方法。如采集标本的人员未经过良好的培训，无法确保至少对两个鼻孔进行采样且收集足够的液体和细胞，在筛查场景下中可能更频繁地出现假阴性病例。如果无法进行鼻咽拭子检测，则可选择进行咽拭子和鼻拭子的混合检测。

鼻-中鼻甲标本较前鼻拭子具有更高的临床灵敏度。宜将拭子插入鼻孔至中鼻甲，旋转数次，持续 10 秒至 15 秒，然后在另一个鼻孔中以相同的拭子重复此步骤，最后将拭子尖端浸入病毒运输介质中。针对一些 SARS-CoV-2 流行且缺乏受过培训的采样人员的地区，只要在检测试剂盒中提供明确的采集说明，就可以使用鼻拭子自行采样，以减少假阴性检测结果的可能性。

#### 6.5.1.3.4 上呼吸道（唾液）冲洗液和唾液

最近的数据表明，呼吸道冲洗液可以为实时定量 PCR 检测提供足够的样品，此类样品有时被称为“漱口液”样品。现有证据表明，此采样方式可用于门诊患者和儿童的自主采样，至少针对此类人群可作为具有同等临床灵敏度的鼻咽标本的替代方法。其他数据表明，直接采集唾液并不如鼻咽拭子采集标本有效。

唾液中含有微生物和外来物质（如食物残渣），使得患者和采集对象的唾液组成更加复杂和独特，造成了 SARS-CoV-2 降解以及在检验前工作流程中病毒 RNA 拷贝数损失的风险，可能会影响检验结果。因此，在检验前过程中保证 SARS-CoV-2 RNA 拷贝数的稳定性是检测唾液标本的重要前提。

研究初步表明，在没有漱口的情况下直接将唾液吐入采集装置也可用于更大规模的筛查，尤其适用于低年龄段的组别。因此，用装有 SARS-CoV-2 RNA 稳定溶液的装置保存唾液标本可能是一种合适的解决方案。强烈建议在 SARS-CoV-2 检测试剂的开发过程中选定、验证和确认检验前的流程步骤，包括但不限于唾液采集装置的选择、标本采集、标本运输至检测实验室、实验室内标本的转运、标本储存时间和条件以及 SARS-CoV-2 RNA 的分离提取。

#### 6.5.1.3.5 呼吸道抽吸液

带采集头的导管宜与负压泵一起使用，从鼻咽部吸出粘液或从气管吸出呼吸道分泌物。将采集头插入鼻腔或气管内，然后施加负压，并通过旋转移动缓慢抽出导管。带有拇指孔的软导管可用于控制导管底部的吸力。样品保存介质用于收集吸出的粘液，然后宜用 3mL 采样溶液冲洗采集器一次（儿科导管可与 50mL 注射器连接）。采集的样品量宜为 2mL 至 3mL。

#### 6.5.1.3.6 深咳痰

在采集痰标本之前，建议确定患者是否能够配合深度咳痰，指导患者用生理盐水漱口 2 次至 3 次（佩戴假牙者宜先摘掉假牙）。要求患者深咳后，将咳出的痰液转移到采集器（管）中，采集的样品量宜为 2mL 至 3mL，同时宜避免采集到唾液。

#### 6.5.1.3.7 支气管灌洗液

采集器头经鼻孔或气管窝插入气管（约 30cm 深）。注入 5mL 生理盐水后，打开负压，然后旋转

采集器头，缓慢退出气管。将吸出的粘液收集在病毒运输介质或等效的稳定溶液中，并用生理盐水冲洗收集器一次（儿科导管可与 50mL 注射器连接）。采集的样品量宜为 2mL 至 3mL。

#### 6.5.1.3.8 肺泡灌洗液

局部麻醉后，经口或鼻，再经咽，将纤维支气管镜插入右肺中叶或左肺舌段气管。将其顶部楔入支气管开口后，经气管活检孔缓慢加入无菌生理盐水，每次 30mL 至 50mL，总量为 100mL 至 250mL，不宜超过 300mL。立即用适当的负压（一般推荐 100 mmHg，相当于 13.3 kPa）吸出肺泡灌洗液，总回收率宜≥30%。回收液中含有终末支气管和肺泡的分泌物约 10mL。弃去可能被污染的分泌物，宜将剩余部分保存于 2mL 至 3mL 病毒运输介质或等效的稳定溶液中。

#### 6.5.1.3.9 混合呼吸道标本

如需在低流行率人群中进行高通量 SARS-CoV-2 检测，呼吸道混合筛查标本有助于提升标本的检测通量，从而提高人群流转率和病例报告效率。为此，需反复强调上述正确采集标本的重要性。现有证据表明，当被检测人群中疾病流行率较低（ $5\% \leq \text{流行率} < 10\%$ ）且标本数量少于 10 个时，混合标本检测可能是最有效的方法，并可能将检测通量提高 5 倍。根据检测策略，最好在提取每个原始标本后（以避免交叉污染）再进行混合检测。当样品池中的病毒 RNA 浓度较低时，假阴性的风险显著增加。在这些人群中，大约可将 5 个样品混合，如果是阴性的，都可以被认为是阴性的，并报告为未检测到。如果样品池呈阳性，则宜在报告前对该样品池中的单个样品重新进行检测。

可以从单个标本采集设备或同一设备中的标本池中收集 5 至 10 个呼吸道标本。如果明确整个标本池为阴性（根据 RT-qPCR 检测结果），则可将池中的单个结果报告为未检测到病毒。如果有迹象表明标本池中的一个或多个样品呈阳性，则需要重复检测来自该标本池中的单个患者标本以确认阳性标本，这导致该标本池单个阳性结果延迟报告。此类技术宜进行验证和临床确认，以确保池内和池间样品进行同样的 RT-qPCR 检测，并且保证同一检测池中的单个样品可报告一致的检测结果。

#### 6.5.1.3.10 呼吸道标本采集的备选方法

本标准当前发布版本的编写是基于上述采样方法，这些方法已开展相关临床研究进行验证和确认，能够满足从上述已确认的采样部位中收集 SARS-CoV-2 的预期用途。随着检验前技术的发展，未来可能采用更能为特定群体（如儿童）接受的替代方法进行采样。这些检验前技术经过验证后，再由制造商确认其预期用途并应用于同行评审的研究，如经证明具有较高的临床灵敏度和特异性后，可接受作为常规的使用方法。

#### 6.5.1.3.11 其他标本类型

据报道，从 COVID-19 患者收集的其他标本或样品类型（如血浆、尿液和粪便）含有可被检测的 SARS-CoV-2 RNA，尽管一些用于 SARS-CoV-2 检测口腔外标本的准确性受到质疑。如果实验室将这类标本纳入其诊断流程，标本采集宜采用常规做法，并将疑似或确诊病例通知实验室。实验室设备产生的污水可以有效识别该环境中的 SARS-CoV-2 病毒，特别是在长期使用的设备。

注：定期（在处理前）检查废水或污水是否含有 SARS-CoV-2 RNA，可提供有用的预警信息，识别各种环境（如住

宅、人员集中的地方）中潜在的感染风险或病毒突变株传播增加的情况。

#### 6.5.1.3.12 感染期间的采集周期

对于不同标本类型的检测，表 1 给出了采集时间（在感染过程中）。

表 1 建议的采集时间

标本类型	建议采集时间
鼻咽拭子 咽（口咽）拭子 上鼻甲及中鼻甲拭子 上呼吸道（唾液）冲洗液	这类标本均为上呼吸道标本，建议在早期感染时进行检测，尤其适用于无症状 或轻度病例。
呼吸道抽吸液 深咳痰 支气管灌洗液 肺泡灌洗液	如在 COVID-19 病程后期、住院患者或上呼吸道采样阴性且临床疑似 COVID-19 的患者，建议采集下呼吸道标本。
血液（血浆）	建议在出现症状后七天内采集有明显急性期感染的患者的血液标本。对慢性感染或严重疾病患者应进行血浆检测，以评估疾病严重程度并监测治疗反应。
结膜拭子	出现眼部感染症状的疑似 SARS-CoV-2 病例，建议采集结膜拭子。

#### 6.5.1.4 运输

除非制造商说明书中另有规定，在稳定溶液中保存的标本需经过不同运输条件和存储时间的验证。如无法满足标本的运输条件，宜在采集后 2 至 4 小时内送到实验室进行检测。如运输时间可能超过 4 小时，宜将标本放入病毒运输介质或等效的稳定溶液中。如未进行不同的验证，应酌情放置在冷冻凝胶包装上或放置于 2°C 至 8°C（冷藏）下运输到实验室。如偏远地区交付延迟超过 3 天~4 天，在没有进行验证的情况下，宜将标本于-70°C 冷冻保存。如上述条件无法满足，可将标本保存在-20°C。在标本运输过程中，宜尽量避免反复冻融，防止病毒核酸降解。

现有的标本采集运输管 RNA 的稳定性数据表明，SARS-CoV-2 RNA 具有良好的长期稳定性。最新的数据表明，在各种基质（如裂解缓冲液和缓冲盐水）中保存的 SARS-CoV-2 RNA，4°C 下可保存 48 小时至一周不会发生降解，冷冻温度下可保存数月。

境内标本运输宜符合适用的所在国家的法规。国际运输可能含有 SARS-CoV-2 病毒的标本时，宜符合《联合国示范条例》等，以及根据其所采用的运输方式适用的任何其他条例。更多信息可参见 WHO

指导文件。

所有在实验室内部和实验室之间运输的材料都宜放置在二次包装中,以最大限度地减少破损或泄漏的可能性。从生物安全柜(BSC)取出的标本宜进行表面消毒。可参考 WHO 生物安全系列视频。

疑似或确诊 COVID-19 病例的患者标本在用于诊断或研究目的时,宜以 UN3373 “生物物质 B 类”进行运输。病毒培养物或分离物宜以 A 类 UN2814 “影响人类的感染性物质”进行运输。所有运输的标本(无论属于 UN3373 或 UN2814)都宜如本子条款中引用的文件中所述,具备适当的包装、标签和说明文件。

#### 6.5.1.5 标本接收和保存

实验室标本接收人员宜接受适当的培训,并具备处理容器损坏和样品泄漏等紧急情况的能力。收到标本后,运输箱在打开前宜用消毒剂消毒,二次密封塑料袋也宜消毒。宜在生物安全柜(BSC)中打开二级密封塑料袋以取出标本。宜核实标本的姓名、性别、年龄、编号、检测项目、标本的状态和标本的异常情况。所有信息宜记录在实验室信息系统中。

标本宜储存在具有足够牢固性、完整性和容量容器中,正确地盖上盖子或塞子防止泄漏。宜尽可能使用外包装不含任何生物材料的塑料容器。容器宜始终贴上正确的标签和标记以便于识别,并相应地记录于实验室系统。容器材质宜适用于其所存储的标本类型。储存标本前,无论何时进行灭活步骤,都宜对灭活方法进行验证。如果没有关于储存条件的使用说明书或建议,则宜将标本储存在适当的条件下或  $-70^{\circ}\text{C}$  下。提取后的核酸应储存在适当的验证条件下,如无适用规范,则宜储存在  $-70^{\circ}\text{C}$  或更低的温度下。

#### 6.5.1.6 存档

##### 6.5.1.6.1 信息归档

收到标本后,宜及时对标本信息进行记录和归档。这些信息宜记录在实验室信息系统中,其内容宜包括但不限于:

- a) 唯一的实验室标识;
- b) 患者个人信息(至少两个标识符,包括姓名、唯一医疗编号、出生日期);
- c) 标本信息(来源包括,例如拭子类型、采样日期、样本量(如必要)、样本状态是用于筛查还是用于临床诊断);
- d) 临床信息(如临床症状、流行病学信息)。

归档的信息宜始终妥善保存,最大限度地减少损坏,保护其机密性并防止丢失。

##### 6.5.1.6.2 标本或样品存档

应提供有关标本采集装置和样品储存装置的信息,无论它们是稳定还是灭活病毒标本或样品。这对于回顾性分析,例如测序(允许病毒培养)以及储存的生物安全措施(另见 6.5.1.4)都很重要。

##### 6.5.1.7 标本处理(包括 RNA 分离)

通常在逆转录和 PCR 检测之前需要提取和分离病毒 RNA。此过程通常使 RNA 溶液浓缩提高了病毒浓度,潜在地提升了分析特异性和检出限(LOD)。提取是纯化的关键步骤,特别是去除了可能中

断反应并导致假阴性结果的 PCR 抑制剂。

注：测定核酸总浓度和评估核酸质量的通用方法可参照 GB/T 42077—2022<sup>[2]</sup>。

为验证整个程序的性能，宜将该程序（如提取效率、试剂、PCR 性能）与用于从类似标本或样品中提取病毒 RNA 的其他现有检测方法进行比较，以确保基于 PCR 的后续检测顺利进行。这宜包括使用系列稀释方法确定检出限（LOD），必要时确定定量限（LOQ），还包括比较不同提取方法对分析灵敏度的影响。

对于包含核酸提取组分的试剂盒，产品说明书宜提供核酸提取的操作指导，并说明核酸提取效率的验证方法。例如，宜说明样品提取过程中已知的干扰因素及其对后续扩增过程可能产生的影响。

目前也有不含核酸提取组分的检测方法。对于此类检测，应给用户提提供操作方法，产品说明书应充分描述或指定合适的提取程序（试剂盒），并明确核酸提取效率和预期的分析性能。

直接扩增的试剂盒可以在没有单独提取步骤的情况下使用（样品直接添加到反应中）。

核酸提取效率可按照相关的 ISO 标准进行评价，如 ISO 20184 系列<sup>[18]</sup>、ISO 20186 系列<sup>[19]</sup>。核酸提取和纯度的评估宜通过在模拟临床标本的标本基质中使用灭活的 SARS-CoV-2 来进行检测。

在实验室中提取的样品处理宜严格按照器械说明书进行，以确保所声称的性能和质量。宜特别注意以下几点：

- a) 核酸提取过程中，试剂、样品正确的温度和体积对提取效率和后续 PCR 检测的性能非常重要。宜采用推荐的核酸提取方法，并严格按照制造商说明书操作。
- b) 宜按照制造商的说明书进行反应混合物的制备和程序设置。否则有可能对测试的性能产生影响，并可能在测试中产生非预期结果。
- c) 负责结果解释的技术人员宜接受培训，以便正确进行结果判读，根据需要校准结果或按照制造商的说明处理任何复杂情况。

此外，操作人员宜避免任何可能导致核酸降解的因素（例如，长时间暴露在环境温度下，手直接接触标本导致酶失活）。除非制造商说明书明确要求不同的温度，通常建议将反应组分放在碎冰上。

## 6.5.2 检验设计规范（分析测试规范）

### 6.5.2.1 定性和定量试验

#### 6.5.2.1.1 定性检测

定性检测适用于只需要对样品进行阴性或阳性测定而不需要测量病毒载量的情况。不需要使用已知浓度梯度的参考物质来绘制标准曲线，只需要最终的信号强度，并且获得的结果可以是样品的阴性或阳性描述。适用于疑似感染者的筛查和检测。

实时定量 PCR（qPCR）和等温扩增常用于定性评估。等温扩增方法见附录 A。读者宜查阅已发表的文献以确定最适合的方法，包括其预期用途的潜在优势和局限性。

#### 6.5.2.1.2 定量检测

定量检测适用于需要测量样品中的病毒载量的情况。对于实时定量 PCR（qPCR）检测，宜始终使用已知浓度梯度的参考物质绘制标准曲线。同时，宜始终实时记录样品的荧光信号强度，以便对指数增长期的荧光信号进行定量分析。获得的结果是明确的值，例如病毒载量。适用于观察治疗效果或疾病进

展，确定疾病严重程度及科学研究。

实时定量 PCR（qPCR）和数字 PCR（dPCR）适用于定量评估。等温扩增方法见附录 A。读者宜查阅已发表的文献，以确定最适合的方法，包括其预期用途的潜在优势和局限性。

#### 6.5.2.2 核酸扩增技术的选择

实验室宜根据检测要求和环境选择合适的扩增技术。在逆转录过程（见 4.2.1）完成之后，每种扩增技术的特点如下：

a) 实时定量 PCR（qPCR）适用于需要对样品进行定性评估或定量的情况。始终建议提供荧光定量 PCR 仪器和稳定的能源供应。qPCR 具有高分析灵敏度和高通量，操作简单，但反应时间相对较长。

b) 数字 PCR（dPCR）适用于需要对样品进行绝对定量的情况。由于 dPCR 只需要很小的样品量，因此也适用于珍贵的样品或核酸降解严重的样品。始终建议提供分析和读取样品的专用 dPCR 仪器、反应芯片或液滴发生器以及稳定的能源供应。尽管 LOD 较低，但通量取决于特定的仪器系统。另外，操作比较复杂，反应时间也相对较长。

c) 等温扩增适用于需要对样品进行定性评估的情况。不一定需要热循环器和稳定的能源供应。它具有低 LOD、低通量、反应时间短、操作方便等特点。

#### 6.5.2.3 质量控制和材料

##### 6.5.2.3.1 材料和环境控制

IVD 试剂声称的储存及运输的条件和时间宜根据稳定性研究的证据来确定。建议按照制造商的说明保存样品和基于 RNA 的校准物材料，如果没有提供说明，则在 -18℃ 或 -70℃ 下分别保存不超过一周或六个月。

除非另有说明，所有使用的试剂宜不含 DNase 或 RNase。

应按适用的要求和实验室标准进行所有试剂的处理、储存、运输或处置。应记录到达日期和开封日期。

所有实验室配制的试剂宜在试剂上标明名称、浓度、配制日期和储存条件。

必要时，试剂宜在生产后通过高压灭菌进行灭菌。对于不能高压灭菌的试剂，建议使用过滤灭菌。

宜避免反复冻融试剂。解冻时，试剂宜始终保持在冰上。宜根据说明书中描述的关键性能指标或经实验室充分验证后确定冻融周期。

提取的 RNA 和相关的校准物材料易于降解，因此宜立即进行核酸扩增检测，除非已进行单独验证过。

实验用水宜具备检验所需的性能（如无干扰化合物、无核酸酶水、离子含量低）。

##### 6.5.2.3.2 质量控制设置

始终建议使用对照品来监测所开发方法的性能，并最好在每次扩增和检测进行质量控制。应始终使用阴性对照来监测整个过程中是否存在污染，使用阳性 PCR 对照来监测检测性能。建议采用内部抑制对照来监测标本采集、处理、RNA 分离和 RT-qPCR 过程。如果无法在每次检测使用对照品（如 POC 系统，每次检测单一样本），应在更换试剂批次时进行检测，或者在预先确定的时间间隔内（如每天或每周）进行对照品检测。



#### 6.5.2.4 性能参数

需要评估的性能参数包括但不限于阳性判断值的确认、较低 LOD 的确认以及在不同仪器系统或型号中的适用性（如有）。稳定性参数包括但不限于样品稳定性评价和试剂稳定性评价。

应采用适当的评估方法（如 ROC 曲线），通过测试一定数量的已知临床诊断结果的样品来确认诊断性能。经确认的诊断性能应通过一定数量已知临床诊断结果的样品对感染检测的验证。

在确定阳性判断值后，建议使用已知 SARS-CoV-2 浓度的参考物质确认试剂盒的最低检测浓度，以评估试剂盒的较低 LOD。更多信息可参见 7.2.2。

如果试剂盒适用于不同的仪器系统，如不同厂家的 qPCR 仪器和核酸提取方法，建议评估不同的型号并评价其等效性。有关样品和试剂稳定性评估的更多信息，可参见 6.5.2.9。

ISO/TS 16393 提供了开发定性（二分类算法）PCR 检测方法的指南<sup>[20]</sup>。

#### 6.5.2.5 正确度（可靠性、准确度、基质效应）

实验室宜在一定的时间范围内分散展开检测，以反映平常实验室条件下的检测性能。

正确度研究应根据统计建议和 GB/T 22576.1—2018<sup>[1]</sup>进行。

检测样品量的选择应综合考虑所建立方法的复杂性和精密度要求、数据分析的统计方案和可接受的统计置信水平。建议测试的样品不少于 20 个。

在准确度研究期间，除非另有说明，否则应包括设计输入规格中规定的所有测试标本和样品类型（如咽拭子、鼻拭子、肺泡灌洗液、痰液、全血、粪便、肛门拭子）。如果无法获得临床标本和样品，可使用模拟样品。模拟样品应由 SARS-CoV-2 阴性样品基质和适当的 SARS-CoV-2 靶标（如含有内部参考序列或 SARS-CoV-2 靶标序列的假病毒）组成，可自行制备或从商业渠道获取。

为了确定测试的准确度，实验室应以图形和统计方式解释获得的数据。

数据分析和比较应包括使用相关的散点图和回归分析，并说明 95% 置信区间的计算方法。

#### 6.5.2.6 精密度（重复性、中间精密度、再现性）

始终建议对影响检测精密度的主要变量进行评估，包括检测试剂（包括核酸提取组分）、分析仪、操作人员、位置、检测轮次等因素。

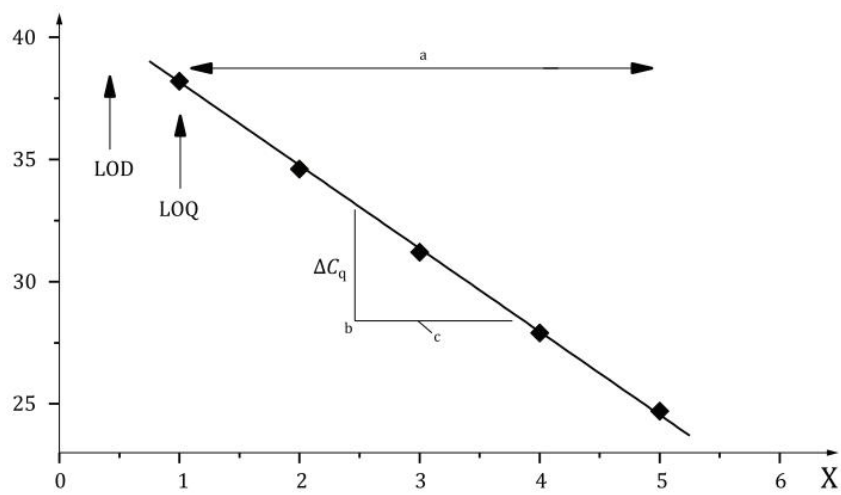
如适用，精密度研究宜测试重复性、中间精密度和再现性（见 6.6.7）。

用于精密度评价的样品测试可以包括标准品、质量控制材料、能力验证样品或足够数量的患者标本以完成研究。例如，用预先测量的特征值足够均匀和稳定的材料制备的加标样品就可用于这一目的。这些材料可以在扩增前加进样品（包括患者标本或提取的核酸样品），也可以在扩增前同时加到这两种材料中（如果这两种材料的扩增情况可以区分）。在监测精密度评估测试的所有过程中，即从提取核酸到检测的步骤中，宜考虑使用单一的加标材料。样品选择宜至少包含三个水平：阴性样品、接近 LOD 的阳性样品和阳性样品（中等或强）。宜根据产品特性设定适当的精密度要求。

测试精密度宜按照不精密度的统计测量来表示，例如标准偏差（SD）。

#### 6.5.2.7 分析测试的性能

分析检测的性能由几个参数来表征。宜使用可溯源的阳性标准品的稀释系列来测量响应曲线，以评估这些参数。图 3 显示了一个采用 qPCR 技术进行检测的测量示例。



标引序号说明：  
X— $\log_{10}$  浓度；  
LOD—检出限；  
LOQ—定量限；  
a—线性范围；  
b—灵敏度；  
c— $\Delta\log_{10}$ （浓度）。

图 3 qPCR 检测的响应曲线示意图

LOQ 是在分析测试规定的实验条件下，能够以合理的统计确定性一致地测量的最低浓度。LOQ 设定了线性范围的下限。灵敏度是线性范围内的斜率。如果斜率为负，则宜报告斜率的绝对值作为灵敏度。灵敏度研究中至少宜包括三种不同的浓度。

宜利用试剂盒从标本制备、核酸提取到检测所声称每种临床标本类型或基质的整个检测程序来确定检测的 LOD。LOD 设定了工作范围（即测量范围）的下限。灵敏度出现显著异常的浓度即为工作范围的上限。

宜使用临床相关型菌株的代表性 SARS-CoV-2 样本来确定 LOD。LOD 还应使用其他不同的 SARS-CoV-2 菌株（包括遗传变异）的样本进行验证。

如果适用于多种标本类型基质，例如痰液、肺泡灌洗液、鼻咽拭子，建议对每种声称的标本类型分别进行 LOD 研究，因为采样和提取效率的变化会影响 LOD，另有理由除外。

6.5.2.8 特异性干扰

通过测试干扰物质和潜在的交叉反应微生物来评估分析特异性。

对于常规 PCR 检测试剂或具有既定提取方法的试剂，在应用于测试新病原体之前，干扰物质的影

响通常已经为人所知。然而，可以测试它们对潜在交叉反应生物体的特异性。对于其他核酸扩增检测产品，如等温扩增或采用新的提取方法，则宜始终对潜在的干扰进行评估。

潜在干扰物质包括但不限于血凝块、鼻腔喷雾剂（苯福林、羟甲唑啉、含防腐剂的氯化钠）、鼻用药物（倍氯米松、地塞米松、氟尼缩松、曲安奈德、布地奈德、莫米松、氟替卡松）、抗过敏药物（盐酸组胺）、抗病毒药物（ $\alpha$ -干扰素、扎那米韦、利巴韦林、奥司他韦、帕拉米韦、洛匹那韦、利托那韦、阿比多尔）、抗菌药物（左氧氟沙星、阿奇霉素、头孢曲松，美罗培南，妥布霉素）和人类基因组 DNA 和 RNA。

建议对干扰样本重复进行 3 次检测，以避免单次检测造成的随机误差。在进行病原体交叉反应研究时，建议将培养分离物混入样本缓冲液中制备测试样本，以避免直接使用病原体培养物。

宜通过测试评估病原体的交叉反应。在不能进行湿试验的情况下，宜进行生信分析（使用生物信息学来辅助实验设计和/或预测性能），以评估试验微生物与检测试剂盒引物和探针之间的同源性。分析宜尽可能包括每种生物体的所有测试病原体的多个代表性菌株。建议参考本款中的 a) 至 e)。

如果生信分析结果显示交叉反应微生物与分析测试引物和探针之间的同源性 $\geq 80\%$ ，应采取以下措施：

- a) 宜在 SARS-CoV-2 与测试引物和探针具有同源性的微生物之间进行微生物干扰研究；或
- b) 作为微生物干扰研究的替代方案，宜进行合理性研究以确定为什么（例如，预混液中包含的引物和探针的数量）设备的性能不会受到与测试引物和探针具有 $\geq 80\%$ 同源性的微生物的影响；或
- c) 宜解释为什么生信分析结果与临床无关（例如，MERS-CoV 的低流行率）。

应通过生信分析结果和湿试验对邻近物种和菌株以及对感染症状与 COVID-19 发病时观察到的症状相似的生物体进行检测。测试生物和菌株宜包括但不限于下列所列的微生物和菌株。

在 SARS-CoV-2 检测中，为避免已知阴性标本出现假阳性或已知阳性标本出现假阴性，以下病原体 and 核酸可作为交叉反应性检测的示例：

- a) 地方性人类冠状病毒（HKU1、OC43、NL63 和 229E）、SARS 冠状病毒和 MERS 冠状病毒；
- b) 其他呼吸道病毒，如 H1N1（新型 H1N1 流感病毒（2009）、季节性 H1N1 流感病毒）、H3N2、H5N1、H7N9，乙型流感 Yamagata 系、Victoria 系，呼吸道合胞病毒 RSV-A 和 RSV-B，副流感病毒 PIV-1、PIV-2 和 PIV-3、鼻病毒 HRV-A、HRV-B、HRV-C、腺病毒 Adv1、Adv2、Adv3、Adv4、Adv5、Adv7、Adv55，肠道病毒 A、B、C、D 组、人偏肺病毒；
- c) EB 病毒、麻疹病毒、人巨细胞病毒、轮状病毒、诺如病毒、腮腺炎病毒；
- d) 肺炎支原体、肺炎衣原体、军团菌、百日咳杆菌、流感嗜血杆菌、金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、化脓性链球菌、肺炎克雷伯菌、结核分枝杆菌；
- e) 烟曲霉、白色念珠菌、光滑念珠菌、新生隐球菌；

此信息适用于制造商或 LDTs（实验室自建检测），宜在技术交流中明确。

#### 6.5.2.9 生产力（如速度、危害）

SARS-CoV-2 核酸检测体外诊断设备的生产企业应满足与其他 IVD 生产商相同的要求，包括但不限于工厂生产环境、设施设备、生产管理、质量控制体系、风险管理体系、生产能力等。

工厂的生产环境、设施和设备、生产管理和质量控制系统应符合国际质量标准，如 ISO 13485<sup>[21]</sup>

或国家特定标准，如中国 GMP、美国 QSR（21 CFR 820）、日本厚生劳动省第 169 号条例。

### 6.5.3 设计风险管理

设计风险分析应具体说明如何降低所开发的检测方法无法检测到 SARS-CoV-2 突变株的风险。典型的 PCR 检测方法设计开始于独特区域（特征）的计算（生信分析）识别，以支持引物和探针序列的结合，进行靶标特异性扩增，以检测靶标生物体的存在。在此步骤之后，使用逆转录 RNA 对引物和探针进行湿法实验室测试，并对选定的检测方法进行性能优化。此外，建议在预定的临床基质中对检测方法进行广泛测试，以评估检测参数，如 LOD、临床灵敏度和特异性。使用一组目标菌株（包容性）、近缘菌株（排他性）和基质相关生物（背景）通过实验确定检测方法的临床灵敏度和特异性。检测性能也宜始终在检测特异性基质（即呼吸道拭子、痰液和唾液）中进行测量。通常情况下，检测方法是使用当时可用的一组基因组或基因序列进行设计，然后通过目标生物体的所有可用标本中验证特征的存在（包容性），并在许多不含靶标的其他标本中验证特征的缺失（排他性和基质）。检测试剂盒通常是使用当时可用的所有序列进行设计，然而这在产品应用过程中可能会发生变化（参见 10.1）。

注 1：生信分析核苷酸识别匹配的验证，称为包容性分析，来源于美国食品药品监督管理局（FDA）和欧盟委员会（European Commission）制定的 SARS-CoV-2 诊断分析性能标准。

注 2：此信息适用于制造商或 LDTs（实验室自建检测），明确于技术规范中。

## 6.6 试剂和方法的优化

### 6.6.1 SARS-CoV-2 靶标序列的选择

建议使用 WHO 或其他可靠来源（例如：GISAID）公布的 SARS-CoV-2 基因序列进行检测靶标区域的确定以及检测引物的开发。

自主选择检测靶标区域的实验室，宜定期与序列数据库进行比对，以确定是否需要修改或变更。对于选定的 SARS-CoV-2 靶标区域，宜充分验证其特异性，包括对比分析同源物种之间的差异。

注：这些建议适用于制造商或 LDTs，但技术通告中不包含此内容。

### 6.6.2 关注变异株（VOCs）对 SARS-CoV-2 NAAT 质量的潜在影响

基于已知的流行变异株遗传学特性（基因序列），通过对比新序列与引物探针序列的差异，确定可能产生的影响。在设计测试阶段未知的变异株需要在临床阶段单独验证（参见 10.1）。虽然引物探针结合区的序列变异可能不会产生任何影响，但引物探针在设计时通常不会有意引入序列错配，而识别出这种变异表明可能需要重新设计方案（选择另一序列保守的基因区域，或在检测方法中加入简并以兼容多种基因序列）。序列变异可能会降低试剂性能或导致分子检测失败，从而产生假阴性结果。针对多个基因区域的测试（通常采用多重模式）可减少因特定基因区域变化而导致的假阴性结果。然而，在同一突变株中序列变异可能具有累积性，开发人员应认识到这种序列变异可能会影响试剂测试性能。此外，若把 SARS 分子诊断纳入测试多种可能病原体的试验中（如包括流感亚型和呼吸道合胞病毒在内的呼吸道

病毒组合），那么针对同一病毒多个区域进行检测的能力可能会受到限制。

开发人员宜监测试剂使用区域的流行变异株与引物探针序列的匹配性。若发现新变异株会影响检测性能，开发人员宜提醒试剂使用人员注意此风险。这些信息确定与传达的紧迫性与 SARS-CoV-2 疫情尤为相关，因为最准确地使用诊断试剂能有助于及时有效地控制疫情。若在特定区域迅速传播的新 VOCs 影响试剂检测性能，则会延缓干预措施的实施，从而降低阻止疫情传播的能力。

注：引物探针序列只是成功测试方案的一部分，因此许多 IVD 制造商选择公开引物探针序列，这样可以更广泛、更迅速地确定特定序列变异对诊断测试可能产生的影响。

### 6.6.3 扩增方法的选择

根据实验室环境、条件和设施的匹配程度，宜选择适合实验室的扩增方法，包括但不限于荧光 PCR、dPCR、等温扩增及其他扩增方法。

### 6.6.4 引物的设计和选择

推荐使用 WHO 公开的引物序列进行测试。

对于确定和选择 SARS-CoV-2 靶标区域进行试验设计的实验室，宜筛选所选靶标区域的扩增引物，并考虑引物长度、GC 含量和熔解曲线设计参数，以获得最佳退火效果且避免形成引物二聚体。

注：这些建议适用于制造商或 LDTs。

### 6.6.5 反应体系的优化

在反应体系开发时，宜通过试验对体系中各 PCR 组分（包括但不限于扩增酶、试剂和引物）进行研究，确定最佳的组分配方。此外，对于所选的扩增程序，宜充分考虑扩增效率和稳定性，确定高效的扩增反应条件。

注：这些建议适用于制造商或 LDTs。

### 6.6.6 阳性判断值的确定

阳性判断值宜根据预期用途确定，并将其作为鉴定样本的界值，以表明是否存在某种特定的疾病、状况或待测物。

用于确定阳性判断值的样本宜选用临床样本。样本宜选择不同靶标浓度，包括阴性、临界阳性以及强阳性。此外，阳性判断值宜使用多批次试剂验证。

这些建议适用于制造商和 LDTs。用户宜注意国家或地方上可能适用的伦理要求，尤其是在使用临床样本评估测试方法或分析的准确性时。

注 1：阳性判断值定义了哪些测量结果报告为阳性，哪些测量结果报告为阴性。

注 2：接近阳性判断值的测量结果可能视为不确定结果。

注 3：阳性判断值的选择决定了检验的临床特异性和临床敏感性。

注 4：对于基于荧光 PCR 法的新新型冠状病毒核酸检测试剂，阳性判断值一般为该试剂检测病毒核酸阳性的 Ct 值。

可采用 ROC 曲线分析建立检测病毒靶基因的阳性判断值，其中状态变量为样品对应受试者的新冠病毒感染临床诊断结果、或监管机构批准上市的对比试剂的样品检测结果（阳性和阴性分别赋值为“1”和“0”），检验变量为本研究试剂的样品检测结果（Ct 值，分析时对无 Ct 值的未检出结果赋值为最大循环 Ct 值），采用专业统计分析软件（如 SPSS）绘制 ROC 曲线并计算 ROC 曲线下面积（AUC），分析 ROC 曲线不同断点的敏感性和特异性，选择约登指数（Youden Index，敏感性+特异性-1）最大时对应的检验变量 Ct 值作为本研究试剂的阳性判断值，此时试剂可以达到同时兼具高敏感性和高特异性的诊断性能，从而提高新型冠状病毒阴阳性区分的准确性。

阳性判断值宜根据相关的功效和方差系数的特定置信区间确定。

## 6.6.7 测试设计的验证和确认

### 6.6.7.1 概述

在开发 SARS-CoV-2 核酸检测试剂盒的过程中，试剂盒的性能和稳定性参数宜根据预先确定的验证和确认方案进行评估。为确保测试结果的准确性，宜选择预期适用人群的临床标本进行 SARS-CoV-2 的检测，并根据研究要求选择适当数量的样本进行检测（参见 6.5.2.5）。

精密度验证研究宜统计分析间和分析内的变异，然后将其合并，能确定检测的整体变异情况（参见 6.5.2.6）。重复性宜在短时间内于相同实验室、相同操作人员、相同设备上对相同方法的同一测试项目（如标本基质、模拟样本、人工基质）进行重复测试。建议按照设计输入规定的验证方案，在规定时间内进行重复性测试。也能称为“批内精密度”、“分析内精密度”或“测定内精密度”。

必要时，宜按照验证方案所述，在较长的时间内于相同实验室，相同操作人员、相同设备上对相同方法的同一测试项目（如标本基质、模拟样本、人工基质）进行重复测试，以评估中间精密度。

再现性宜通过不同操作人员和不同设备对相同方法的同一测试项目（如标本基质、模拟样本、人工基质）进行重复测试。也可称为“实验室间再现性”。

分析特异性验证宜考虑使用最高临床相关生物水平的测试标本（6.5.2.8）。测试样本能通过临床阴性标本基质中添加培养分离物或添加经官方认证方法确认为阳性的其他临床标本制备获得。交叉反应宜采用临床感染中医学相关水平的微生物浓度进行验证。

### 6.6.7.2 试剂稳定性

稳定性研究宜用于试剂或 LDT 试剂有效期的确认。研究宜确保试剂在声称的有效期内符合声称的性能指标。

试剂宜置于真实或模拟运输条件下进行效期研究。研究的条件宜包括试剂在运输和储存过程中可能暴露的极端条件（如温度、湿度、振动、压力）。

试剂紧急使用时，由于时间有限，并非所有研究都能完成。宜制定研究完成的计划，确保产品上市

后能继续进行稳定性研究。

在实际操作中，宜使用已知分析物浓度的参考物质进行稳定性试验。

试剂宜参考 ISO 23640<sup>[22]</sup>确定有效期。建议试剂在声称的运输条件下，在运输前后对参考物质进行测试，以评估试剂在运输后的稳定性。

试剂在使用过程中可能会经历多次冻融，宜测定试剂的冻融稳定性。建议使用经过反复冻融的试剂对参考物质进行测试，以确定不影响试剂性能的情况下可允许的最大冻融次数。试剂经过不同时间、不同储存和运输条件后宜对试剂性能进行评估，同时还宜充分考虑客户端的运输路线、工具和转运方式对试剂稳定性的影响。

### 6.6.7.3 内部试剂的可行性研究

开发 LDT 的规划阶段应通常包括设计阶段和可行性测试阶段。在可行性阶段，宜收集初步性能数据，然后根据 GB/T 39367.1—2020<sup>[5]</sup>中的描述，利用故障排除和优化流程来确定性能指标，并制定有用的验证程序。

### 6.6.7.4 诊断准确性和验证

制造商宜评估 SARS-CoV-2 NAAT 能为医疗和公共卫生决策提供哪些信息，以及如何验证和确认检测性能指标是否符合该目标。检测性能指标包括但不限于检出限、分析特异性、可报告范围、稳健性、干扰物质、临床灵敏度和临床特异性。

在进行全面临床验证之前，宜对制造商的数据进行审查，以评估分子检测试剂盒是否符合监管当局根据特定程序的紧急授权使用。

## 7 检测性能验证

### 7.1 总则

检测性能验证是认定、证实监管机构批准的体外诊断试剂的性能（例如 FDA 批准或通过的，或 CE 认证的）可用于临床使用的过程。在实施性能验证前，宜充分考虑实验室环境、设施和当地的质量管理体系是否满足检测要求。

注：GB/T 39367.1—2020 附录 B 中提供了有关应用基于核酸扩增的检验程序验证的更多信息。

性能验证宜在实施 SARS-CoV-2 病毒核酸检测的实验室中进行。如果经过验证的分析方法被转移到其他实验室进行，则建议要确定环境的改变并未影响到该种检测方法的相关性能特征。

对于已获批的体外诊断试剂，对其验证的目的是确认试剂或者产品功能符合所描述的关键性能特征，从而证明在终端用户使用时的环境适用性。

对于性能验证的评估包括但不限于准确度，灵敏度，分析特异性，检出限和精密度。用于性能验证的样本类型可以是临床样本或者人工模拟的样本（需考虑基质效应的影响）。在验证精密度的过程中，

测试样本宜至少包含阴性、弱阳性、中阳性或强阳性三个浓度。相关指标的性能验证方法见 6.5.2。

## 7.2 分析性能特征的确认

### 7.2.1 准确度

理想情况下，宜使用临床标本或者已知检验结果的样本来评估检测方法或检测的准确度。对于定性检测方法，即与阴性和阳性样本的一致率，宜从潜在的定量结果评估准确度，并根据定量方法的特定检测范围进行总结。

对于覆盖多种样本类型的检测方法，宜同时包括所有类型的测试样本。在无法获得临床样本的情况下，可以选择非靶标的临床样本或者人工模拟样本作为稀释基质，然后加入已知浓度的目标区域的假病毒来进行检测。

准确度检测宜考虑测试样本量的选择和准确性结果的确定（见 6.5.2.5）。测试样本的数量宜足以确保统计分析具有可接受的置信度。建议测试不少于 20 例样本，通常是 40 到 50 例或更多样本。用于评估测试方法或测定准确度的临床样本的用户宜了解国家或地方管辖范围内的必要伦理要求。

### 7.2.2 检出限

除非另有说明，否则从宜标本制备、核酸提取到检测每种临床样本类型和声称的基质的整个检测系统来确定检出限。如果由于所需的生物安全级别而无法使用细胞培养的病毒，则可以使用各种市售产品来确定检出限。

为了确保统计有效性，建议使用足够大量的样本基质来汇集单个阴性供体样本，以生成足够大体积的均质基质。或者如果人工基质被证明它的性能与患者临床基质相同的前提下，也可以使用人工基质。

宜使用足够多的样本进行检出限确认以具有统计有效性，包括模板对照（或阴性对照）和已知的低浓度样本。有关核酸扩增测试统计分析的更多信息，请参见 GB/T 42077—2022<sup>[2]</sup>。

性能参数在不断发展，因此，测试提供者宜了解并及时跟进当地主管部门提出的建议。

每一种声称的样本类型都宜确定检出限。宜用 copies/ml 或者 IU/ml 来报告检出限，除非另有说明， $C_q$ （ $C_t$  或者  $C_p$ ）不宜用于报告检出限。

注：这些建议适用于制造商或者实验室开发测试。检出限、分析特异性、鲁棒性、临床性能可被系统性的评估并纳入数据表中。

### 7.2.3 包容性

包容性宜在可能的情况下进行体外分析和湿实验分析。体外分析宜涵盖来自 GenBank 或 GISAID 序列数据库等处的多种代表性菌株。如果体外分析显示出其他潜在的交叉反应物，强烈推荐仔细审查比对，并根据同源区段和错配的位置，确定是否可能存在额外的交叉反应性或干扰性或两者都可能存在，从而可能影响特异性。

湿试验分析宜使用不同来源的代表性 SARS-CoV-2 样本。所选菌株宜在接近检出限的浓度下进行测试。宜确保可准确检测出不同来源的所有菌株。



### 7.2.4 特异性

特异性宜通过测试来进行评估，其中包括存在干扰物质以及与常见呼吸道病原体的交叉反应。检测 SARS-CoV-2 核酸，干扰物质包括由采样用品和样本状态本身引入的干扰（包括各种潜在药物的干扰）。

有关干扰物质和交叉反应病原体的详细信息，请参阅 6.5.2.8。

### 7.2.5 稳健性

宜对可能影响检测性能和稳定性的各种因素进行评估。宜考虑标本类型、运输培养基品牌、试剂体积、污染物、仪器、操作温度等因素的影响。对这些因素的探索将确保检测性能可承受可能面临的挑战，并宜记录下来供用户考虑和评估。

测试的稳健性宜充分考虑不同扩增方法检测时的影响因素。

稳健性研究旨在通过在压力条件下挑战系统，以识别潜在缺陷并确定产品的稳健性。

宜评估以下因素对预期结果的影响：样本和试剂体积、操作温度和处理温度。

对于新仪器的使用，宜验证与 IVD 试剂的兼容性，并宜考虑以下因素：耐用性（包括来自其他仪器的振动影响）、环境污染物（如灰尘、湿气、霉菌）对设备（如光学器件）的影响、电源波动的影响。

理想情况下宜调查研究样本量对所有声称的标本类型的影响。

## 7.3 临床证据

临床评估是对从研究中产生的数据进行评估和分析，以验证产品的临床预期用途，并验证临床性能。临床证据是临床数据及其评估的综合信息。制造商宜具备支持其临床声明的临床证据。

一般而言，临床性能理想情况下宜针对每种声称的临床标本类型进行评估。标本宜以盲法进行测试，例如将阳性和阴性样本混合并对最终用户进行盲测，其他比对方法测试结果也宜对最终用户保持盲态。

在临床评估中，宜选择天然临床标本进行测试。宜避免从同一人多次取样。理想情况下，宜测试预期标本。如果无法进行前瞻性研究，一个替代方法可能是测试回顾性收集的患者标本，并附带基本信息，例如标本采集日期、症状发作日期（如有且已知），用于识别新冠病毒（SARS-CoV-2）阳性标本的测试。

临床标本的测试数量宜满足基本的统计要求，并宜与参考方法进行比较，计算一致性百分比，以评估产品的临床性能。

## 8 临床中心确认

### 8.1 一般意见

当实验室使用内部开发的检测试剂或改良的商品化 IVD 核酸检测试剂盒（例如，修改使用条件或测试说明书外标本类型）进行 SARS-CoV-2 核酸检测时，宜始终验证其分析测试的性能以及确认其预期用途是否适合临床患者。实验室宜评估 SARS-CoV-2 NAA 能为医疗和公共卫生政策决定提供的信息（见 6.6.7.4）

注：GB/T 39367.1—2020<sup>[5]</sup>附录 B 中提供了更多关于应用基于核酸扩增的检查程序的试剂确认信息。

性能验证的目的是评估该检测试剂是否能满足相应的临床应用,即评估该检测试剂是否能满足预期临床使用需求。

## 8.2 预期用途的声明

预期用途宜综合考虑以下因素来确定,包括但不限于:

- a) 检测的目的、获益和使用(例如筛查或诊断);结果是否为定性、半定量或定量;
- b) 目标人群;
- c) 标本类型;
- d) 采样和处理程序;
- e) 标本接收和拒收的标准。

## 8.3 检测临床标本或样本的性能

宜根据预期用途对已知检查结果的临床标本或样本进行测试,以评估测试结果是否与 SARS-CoV-2 感染或未感染相关,以及该方法产生这些结果的一致性。

鉴于病毒进化过程中可能存在的突变风险,宜重新评估该检测试剂。与其他病原体一样, SARS-CoV-2 基因变异毒株在时空分布上有所不同,可能会影响 NAAT 试剂的性能。由此产生的表型变化可能导致感染过程中病毒载量或嗜性的差异,这可能会对诊断管道产生有利或有害的影响。因此,宜将病毒突变株的影响作为试剂日常评估的一部分进行监测。此外,作为直接测量遗传物质 NAAT 流程的最终步骤,任何引物或探针结合位点发生的突变也会影响检测性能。重新评估宜包含与人类、冠状病毒科其他成员以及其他呼吸道病原体的基因序列的模拟交叉反应。

一般来说,每种声明的临床标本类型的临床表现都应进行评估,试剂开发人员应建立相应的统计分析方法来描述结果。

临床样本量的选择宜符合基本的统计要求,临床性能宜符合预定的采纳标准。宜描述临床试验中包括的个体数量和基本分析。

## 9 设计转移

每个组织都应制定设计转移程序,并进行相关记录,以确保设计输出能够正确地转化为生产规范,并且能够持续地生产出符合要求的产品。在成为最终的生产规范之前,应验证设计开发输出是否与制造和生产能力相适应,包括组分和物质的可用性、所需的生产设备、操作人员的培训等。

建议将设计转移活动中的每一个具体过程都转化为与产品实现相关的设计需求。

## 10 实验室执行和应用及结果报告

## 10.1 实验室执行和应用

一旦确认和验证过程完成后，所有的检测均宜形成作业指导书和在实验室质量管理体系下进行。若病毒进化过程中出现突变风险，宜重新评估这些检测方法。和任何病原体一样，SARS-CoV-2 的基因变异株（VOCs）会随着时间和地理位置的不同而出现，并影响基于 NAAT 检测方法的性能。由此产生的表型变化可能导致感染过程中的病毒载量或亲嗜性出现差异，这对于诊断流程来说可能是有利的，也可能是有害的。因此，宜将 VOCs 的监测作为常规检测评价的一部分。此外，由于 NAAT 检测的最后一步是直接测量遗传物质，因此任何发生在引物或探针结合位点的基因突变也会影响临床标本的检测结果。宜重新评估与人类基因、冠状病毒科其他成员基因以及其他呼吸道病毒或细菌的交叉反应性。

注：基于核酸扩增检测方法确认和验证的进一步信息，请参见 GB/T 39367.1—2020 附录 B。

宜为检测方法的日常操作编制一套完整的 SOP（标准操作规程）。

当实验室对体外诊断试剂的检测程序进行更改时，在将其用于常规检测之前，宜全面确认试剂的性能。

如果要对已确认过的检测程序进行更改，则宜在实验开始前确认更改后的程序。

在检测开始之前，实验室宜制定定期的质量控制程序。

在新程序实施之前，实验室宜完成相关人员的培训和能力评估。

宜为临床医生和其他实验室用户提供充分的咨询服务，以便其了解新引入的用于医学诊断的检测方法。

## 10.2 结果的报告和解读

宜实施适当的程序，以确保结果报告的及时性和数据维护的可靠性。定量分子诊断的结果通常宜以每单位体积（如收集的标本、运输基质或体液的体积）的拷贝数（例如国际单位拷贝）的形式报告。

宜报告方法的检测范围，并明确所用单位（包括分母，如：基因拷贝数、国际单位、每毫升样本、微升提取物）。

示例：“未检测到”或“低于检出限”。

虽然定量指标对于 SARS-CoV-2 NAAT 检测试剂的开发、优化和持续性能监测很有用，但是就特定量值的 SARS-CoV-2 RNA 而言，其实际临床价值仍不明确。在管理患者时，宜谨慎使用基于拷贝数（基因拷贝数，国际单位）的定量测量。此外，由于同一  $C_q$ （ $C_t$  或  $C_p$ ）值在不同实验室之间的差异可能达到 1000 倍以上，因此该单位不适用于对个体患者进行分层或作为其他体外诊断试验分析目标设定的参考。

定性检测结果不宜表述为“阳性”或“阴性”，而宜表述为“检测到”或“未检测到”。实验室应始终实施并维护一份书面程序，用于检测结果的解读，确保在结果发布之前，已有合格人员对结果进行了审核和批准。实验室宜始终具有数据分析工具和参数的标准化程序。对于不确定的检测结果，实验室宜建立一个程序，以相同或其他方法重新检测，或要求额外或不同的标本。此外，检出限、检测方法的阳性判断

值以及临床表现都是结果解读时需要考虑的因素。

对于定量分析，实验室宜通过设定一系列的检测限值（如阳性判断值、线性有效范围、检出限和定量限），以便于对结果进行临床解读。实验室宜为所有对患者管理决策有显著影响的检测项目设定关键结果。当获得此类结果时，宜通过报告流程通知相关临床人员。

在制造商允许的情况下，相关人员宜按照制造商的说明书对体外诊断分析结果进行解读。可通过调整 PCR 阳性阈值，以减少噪声信号导致的假阳性结果。

所有结果报告宜提供与检测方法有关的检测限值的相关解读和说明。

SARS-CoV-2 的阳性检测结果宜向公共卫生当局报告。

## 11 质量保证

### 11.1 性能监测

监测测试过程质量和性能的基本组成部分包括对已知阳性和阴性对照品和参考品的测试。对照品和参考品的日常测试宜向制造商 IFU 进行咨询，例如检测哪些和检测频率。

试剂确认中使用的所有材料都宜根据既定的国际标准品或参考品进行校准。当使用此类标准品或参考品时，校准品和对照材料值宜具有计量可追溯性。此外，宜根据国家标准或其他鉴定标准和方法对 SARS-CoV-2 的性能监测进行评估，例如，建议使用世卫组织 SARS-CoV-2 NAAT 的国际标准参考品用于此评估测试。

当使用此类国际标准或参考材料时，校准器和控制材料值应具有计量可追溯性。无论在确认或评估测试时是否有参考品，每种参考品的测试结果都宜符合阴性或无模板对照（NTC）或阳性参考品的预设规范。

阴性对照宜始终与经过相同提取和制备过程的所测试样品一起使用。建议包括多个阴性对照，其制备过程宜与测试样品的制备过程穿插进行，以估计分析流程中污染水平。

阴性对照宜始终包含以下内容：

- a) 无模板对照，不含核酸模板仅含有水或缓冲液，用于检测 RT-gPCR 反应中的污染。
- b) 提取空白对照，仅包含水或缓冲液而非测试样品，与测试样品一起进行制备和处理过程以检测提取阶段的污染。
- c) RT(-)对照，其中包含阳性样本但不添加反转录酶或无反转录步骤，以评估核酸的反转录反应（用于 RNA 测定）<sup>[2]</sup>

方法学的精度宜通过测试国家或国际参考品进行评估，精度结果宜符合预设的要求。商品化试剂盒的精度分析也可以使用制造商提供的精度参考品进行评估。

数字 PCR 不需要上述参考品也可以提供绝对定量结果，因次可以促进测定基因组拷贝的可追溯性。

### 11.2 设计变更，包括分析测试的优化

ISO组织宜具有明文记录的设计变更控制流程，确定并审查变更对产品功能和性能、可用性、安全性和适用法规要求以及预期用途的重要性，以及相应地审查变更对产品成份、正在生产或已经交付的产品、风险管理的输入或输出以及产品交付过程的影响。在变更实施之前，宜审查、验证和确认变更申请（如适用）。宜生成设计变更记录，以记录设计变更的实施情况。在设计变更完成后，宜保留设计开发变更记录和变更申请，并向利益相关者和受影响的患者明确传达设计变更。

### 11.3 室间比对

作为持续质量保证计划的一部分，实验室宜定期参与适当的外部质量评估。

在没有外部比对方案的情况下，实验室宜定期开展内部能力测试方案。

更多指导参见GB/T 22576.1—2018<sup>[1]</sup>。

在参与比对之前，实验室宜仔细评估外部质量评估方案的范围和目标，以及方案中使用的定性和定量方法。

内部组织或外部能力测试方案应至少每年实施一次。宜通过订购外部质量评估或能力测试计划，每年至少实施两次实验室间比对程序，以生成基线数据用于监测测试性能的变化，第一年（或第二年）宜进行三次或更多次。外部质量控制品宜在与患者标本或样本相同的流程中进行测试，并包含在相同的测试批次中（如适用），但不宜放在同一个试管中。

从外部质控品中获得的数据宜进行统计学评估，以监测测试性能随时间的变化

附录 A

(资料性)

核酸扩增技术

核酸扩增技术介绍见表 A.1。

表 A.1—核酸扩增技术

核酸扩增检测方法名称	缩写术语 <sup>a</sup>	方案介绍	检测方法在新冠检测中的应用案例
聚合酶链式反应	(RT)PCR	RT-PCR 使用特异性结合靶序列的两种寡核苷酸引物和起始 DNA 聚合酶来产生一个双链扩增子分子，该分子是 SARS-CoV-2 RNA 序列靶标的双链 DNA 拷贝。扩增子的产生是通过改变温度来变性、退火和延伸引物而实现的。温度变化的重复循环使扩增子指数式扩增产生足够多的 DNA 以供检测。RT 在 PCR 之前进行，以生成 PCR 检测所需的互补 DNA 序列。	温度循环后通常使用凝胶电泳进行检测。联合 PCR 杂交应用于 SARS-CoV-2 的诊断方案有： <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33486074/">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33486074/</a>
实时定量聚合酶链式反应	(RT)qPCR	RT-qPCR 使用一种既能循环温度又能测量反应过程中扩增子产生的仪器进行。这通常是通过荧光 DNA 结合染料或特定标记的寡核苷酸探针来实现的。RNA 的测定可以通过将逆转录酶和 PCR 在单管反应中结合（一	添加特异性结合扩增子的荧光标记寡核苷酸探针是 RT-qPCR 和 RT-dPCR 检测分析中最常用的策略。这种方式还提供了额外的特异性。

		步法 RT-qPCR) 来实现, 减少了人工时间, 使实验自动化。RT-qPCR 是检测 SARS-CoV-2 RNA 的主要方法。	
数字聚合酶链式反应	(RT)dPCR	RT-dPCR 是在成千上万次亚纳升反应 (称为分区) 中对模板进行有限稀释, 从而使某些反应不含任何物质。qPCR 检测策略通常用于区分阳性和阴性分区。	
环介导等温扩增	(RT)LAMP	RT-LAMP 使用 4-6 种引物来起始 DNA 聚合酶, 同时取代现有的互补链, 使其可用于进一步结合其他引物。内部引物用于结合和起始 DNA 合成, 同时在 5' 端也包含一段序列, 该序列与引物下游的序列互补。因此当形成单链分子时, 由于上游引物形成发夹而引发链置换。环引物与发夹结构结合, 可以加快这一过程。RT-LAMP 方法将两个步骤合并为一个反应。与 PCR 不同, LAMP 可在恒温进行。	比色法 (Colorimetric) ( <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33098427/">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33098427/</a> ) 测序法 (Sequencing) ( <a href="https://doi.org/10.1128/JCM.03271-20">https://doi.org/10.1128/JCM.03271-20</a> ) CRISPR <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33741959/">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33741959/</a>
重组酶聚合酶扩增	(RT)RPA	RT-RPA 采用与 PCR 相似的启动策略, 但应温度为恒温, 使用蛋白混合物 (包括重组酶、DNA 聚合酶和单链结合蛋白) 来支持引物结合、延伸和 DNA 链分离。	比色法 (Colorimetric) CRISPR ( <a href="https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acssensors.0c02365">https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acssensors.0c02365</a> )
转录介导的扩增	TMA	TMA 的工作原理是使用 RT 引物, 使用含有 RNA 聚合酶结合位点的引物直接检测 RNA。TMA 结合了 RNA 聚合酶和逆转录酶, 产生目标序列的 RNA 扩增子。	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7944800">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7944800</a>
转录逆转录协同反应	TRC	TRC 采用与 TMA 相似的方法, 但结合了剪刀引物来选	<a href="https://link.springer.com/article/10.1007/s10096-021-">https://link.springer.com/article/10.1007/s10096-021-</a>

		择目标区域的末端。	04193-7
切口酶扩增反应	(RT)NEAR	NEAR 使用两种引物结合了缺口酶和 DNA 聚合酶，持续产生由缺口酶提供的 3'端引导的 DNA。	<a href="https://jcm.asm.org/content/58/8/e00760-20">https://jcm.asm.org/content/58/8/e00760-20</a>
<sup>a</sup> 如果 RT 在一种方法之前，这表明所讨论的方法已经开发用于检测 DNA，并且需要额外的酶促步骤（逆转录酶）将 SARS-CoV-2 RNA 基因组转化为互补 DNA（cDNA）以供所讨论的方法检测。			



## 参 考 文 献

- [1] GB/T 22576.1—2018 医学实验室 质量和能力的要求 第1部分：通用要求
- [2] GB/T 42077—2022 生物技术 核酸靶序列定量方法的性能评价要求 qPCR法和dPCR法
- [3] GB/T 29791.1—2013 体外诊断医疗器械 制造商提供的信息（标示） 第1部分：术语、定义和通用要求
- [4] GB/T 21415—2008 体外诊断医疗器械 生物样品中量的测量 校准品和控制物质赋值的计算学溯源性
- [5] GB/T 39367.1—2020 体外诊断检验系统 病原微生物检测和鉴定用核酸定性体外检验程序 第1部分：通用要求、术语和定义
- [6] GB/T 19702—2021 体外诊断医疗器械 生物源性样品中量的测量 参考测量程序的表述和内容的要求
- [7] GB/T 19703—2020 体外诊断医疗器械 生物源性样品中量的测量 有证参考物质及支持文件内容的要求
- [8] ISO 16577:2016 Molecular biomarker analysis — Terms and definitions
- [9] ISO 22174:2005 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens — General requirements and definitions
- [10] ISO/IEC GUIDE 99:2007 International vocabulary of metrology — Basic and general concepts and associated terms
- [11] ISO 9000:2015 Quality management systems — Fundamentals and vocabulary
- [12] ISO 13495:2013 Foodstuffs — Principles of selection and criteria of validation for varietal identification methods using specific nucleic acid
- [13] ISO 4307:2021 Molecular in vitro diagnostic examinations — Specifications for pre-examination processes for saliva — Isolated human DNA
- [14] ISO 20387 Biotechnology — Biobanking — General requirements for biobanking
- [15] ISO 35001 Biorisk management for laboratories and other related organisations
- [16] ISO 15190 Medical laboratories — Requirements for safety
- [17] ISO 22609 Clothing for protection against infectious agents — Medical face masks — Test method for resistance against penetration by synthetic blood (fixed volume, horizontally projected)
- [18] ISO 20184 (all parts) Molecular in vitro diagnostic examinations — Specifications for pre-examination processes for frozen tissue
- [19] ISO 20186 (all parts) Molecular in vitro diagnostic examinations — Specifications for pre-examination processes for venous whole blood
- [20] ISO/TS 16393 Molecular biomarker analysis — Determination of the performance characteristics of qualitative measurement methods and validation of methods
- [21] ISO 13485 Medical devices — Quality management systems — Requirements for regulatory purposes
- [22] ISO 23640 In vitro diagnostic medical devices — Evaluation of stability of in vitro diagnostic reagents