

ICS 75.160.10

CCS A50/64

# 团体标准

T/CIQA 123—2025

## 快速核酸检测仪检测技术规程

Technical specification for rapid testing of nucleic acid detector

2025-06-12 发布

2025-06-12 实施

中国出入境检验检疫协会 发布

## 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。

本文件由中国出入境检验检疫协会综合质量服务标准化技术委员会（CIQA/TC12）提出并归口。

本文件起草单位：中检西南计量有限公司、北京林电伟业电子有限公司、中国海关科学技术研究中心、昆明市妇幼保健院、云南大学附属医院、昆明市第一人民医院、国家粮食和物资储备局科学研究院、北京市朝阳区疾病预防控制中心、中国测试技术研究院、中国农业大学、北京卡尤迪生物科技股份有限公司、云南省第一人民医院。

本文件主要起草人：蔡黎虹、谢潇、朱娟、祝天宇、王鸿鹏、李衍、王翠珏、刘鑫、张弈、卢德玮、刘立芳、尹利民、张钰、崔华、刘洁、张炜、万正军、肖新清、李晨、陈思。

本文件知识产权归中国出入境检验检疫协会所有。任何单位或个人未经许可，不得以营利为目的，印制、出版、翻译、转发或复制全文或部分文字。

# 快速核酸检测仪检测技术规程

## 1. 范围

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、结果报告及生物安全要求。

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使用及性能测定。

## 2. 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 35542 Taq DNA聚合酶

GB/T 41407 微流控芯片核酸恒温扩增仪技术要求

GB/T 42753 实时荧光定量PCR仪性能评价通则

JJF 1527 聚合酶链反应分析仪校准规范

YY 0648 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 第2-101部分：体外诊断（IVD）医用设备的专用要求

YY/T 1173 聚合酶链反应分析仪

## 3. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

快速核酸检测仪 rapid testing of nucleic acid detector

基于聚合酶链反应技术或等温核酸扩增技术，快速、自动、整合从细胞裂解、核酸提取扩增到产物分析的全部测定步骤，降低检测复杂性，检测时间一般少于1h的一体化快速核酸检测设备。

### 3.2

聚合酶链反应 polymerase chain reaction

基于聚合酶链式反应原理，通过温度变化循环程序进行靶核酸片段的体外扩增，同时对循环过程中荧光信号进行实时采集和处理，定量或定性分析靶核酸片段的过

### 3.3

等温核酸扩增 thermostatic nucleic acid amplification

在目标基因的特定区域设计特异性引物，并使用链置换DNA聚合酶在恒温条件下保温数十分钟以实现核酸扩增的方法。包括环介导等温扩增反应、链置换扩增反应、核酸序列依赖性扩增和交叉引物扩增反应等方法。

### 3.4

#### 微流控芯片 microfluidic chip

以硅、玻璃、金属材料、高分子聚合物等材料为芯片基材，利用微纳加工、精密注塑等加工技术加工而成的生物芯片。

注：包括一个或多个微管道、微阀、微反应池等功能单元，能够完成芯片内液体流动的精确操控，从而实现某种特定的生化反应功能。

[来源：GB/T 41407-2022, 3.3]

## 4. 分类和方法原理

快速核酸检测仪可根据检测中核酸提取和扩增是否在同一体系进行和核酸检测中温度变化方式进行分类：

根据检测中核酸提取和扩增的集成形式分为：

——提取扩增一体式：提取扩增一体化快速核酸检测仪利用一步法免提取核酸释放剂，将核酸提取和扩增在同一体系中进行，实现边扩增边提取。

——提取扩增分开式：扩增提取分开进行的快速核酸检测仪，先在核酸提取模块进行核酸提取，后通过重力作用或离心等手段将提取的核酸自动加入扩增体系完成核酸的扩增和检测。

根据核酸扩增方式分为：

——变温型核酸扩增：变温型核酸扩增仪利用PCR原理进行核酸扩增。

——等温型核酸扩增：等温型核酸扩增仪通过等温扩增原理进行核酸扩增。

## 5. 仪器

### 5.1 仪器组成

快速核酸检测仪包括硬件结构、软件、配套试剂和耗材。

### 5.2 仪器性能

5.2.1 使用快速核酸检测仪进行快速核酸检测前，应对仪器及配套试剂进行性能验证，性能验证的结果应满足附录A的要求。

5.2.2 应根据快速核酸检测试剂说明书存储和处理检测试剂。

## 6 实验室要求

快速核酸检测仪使用首先需评估生物因子的危害程度，实验室在符合生物安全要求的条件下方可开展检测。对于核酸提取和扩增检测一体化的快速核酸检测仪，样本制备区、扩增

和产物分析区应合并。但如涉及多次开盖操作，且样本量较大时，仍需设置3个物理分隔的区域。实验室应具有良好的通风。

## 7 样品处理

### 7.1 样本类型

快速核酸检测应根据所需检测的病原体选择适宜样本类型：

a) 如呼吸道病原体应选择上呼吸道标本，包括口咽拭子、鼻咽拭子、鼻咽吸取物、鼻腔洗液和咽洗液等；或下呼吸道样本主要有痰、气管吸取物、支气管镜检查获得的标本，包括肺泡灌洗液和保护性毛刷标本等。

b) 其它部位病原体的检测应——选择血液、胸腔积液、脑脊液、宫颈标本、组织或局灶穿刺物等标本。

### 7.2 样本类型选择

根据快速核酸检测仪配套试剂盒的要求选择合适的核酸检测标本类型，对于非试剂盒指定适宜的标本类型，应提前对试剂盒进行适用性评估和性能验证。

### 7.3 样本采集和预处理

7.3.1 快速核酸检测如使用一步法核酸提取，标本采样管中保存液成分会影响提取和扩增效率，导致检测灵敏度下降，因此应使用试剂厂家配套的采样容器和保存液进行标本采集。配套采样容器和保存液使用前应进行性能验证。

7.3.2 快速核酸检测各类标本的采集方法和常规核酸检测要求一致。

7.3.3 标本采集方法和标本类型的选择、标本的稳定性、运输温度和时间、接收标准、保存条件应严格遵循产品说明书规定。

## 8 分析步骤及方法

实验室应根据仪器和试剂说明书进行检测全过程的标准操作。

——开机检查仪器状态；

——根据相应的检测项目设定程序；

——样本的前处理。

根据不同的仪器的要求进行样本的前处理，部分机型只需将样本加入即可开始检测，如需在上机前单独进行样本裂解后加样，应根据病原体类型进行相应的人员防护和实验室设置。

——结果判断。将样本按要求加入检测体系中即可上机检测，依据设定好的程序进行反应，反应结束后直接进行结果判断。

## 9 质量控制

### 9.1 室内质量控制

实验室应进行室内质量控制。每次开机先测试弱阳性（防止假阴性）和阴性质控品（监测污染），质控合格后，开始临床检测，开机检测达到24h，或未达到24h但连续检测样本数达到50个，均应再次检测弱阳性质控品。

## 9.2 室间质量控制

实验室应参加国家级或省级临床检验中心组织的快速核酸检测室间质量评价。若开展的项目尚无相关的室间质量评价活动，可采用实验室比对的方式进行室间质量控制。

## 10 结果报告

10.1 实验室应根据快速试剂说明书进行结果分析和解释。快速核酸检测仪会提供明确的阴性、阳性或无效结果，但对于自动报告结果并能显示原始扩增曲线的快速核酸检测仪，应结合原始扩增曲线、熔解曲线等后台数据进行综合判断。

10.2 在快速核酸检测系统（包括采样管、核酸提取试剂以及核酸检测试剂和扩增仪等）性能验证结果表明快速核酸检测仪检测限 $\leq 500$ 拷贝/mL的情况下，检测结果为阴性，可直接出具阴性报告，报告应注明“快速核酸检测”。检测结果为阳性，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。必要时可重新采样复核检测。

10.3 结果报告应准确、及时和信息完整。

10.4 结果报告应满足实验室管理的其他相关规定要求。

## 11 生物安全要求

11.1 快速核酸检测仪检测方法主要应用于发热门诊、急诊、移动实验室和某些特定病区实验室，首先应评估生物因子的危害程度，在符合生物安全的条件下方可开展工作。

11.2 应在符合国家和地方生物安全法规，以及医院感染条例的前提下开展快速核酸检测。

11.3 快速核酸检测在标准采集以及样本加入试剂卡/盒环节，操作者会直接接触患者和样本，仍存在病原体暴露风险。应严格按照说明书推荐方法操作，以降低气溶胶的形成、溢出和暴露风险。保证有传染风险的标本前处理的生物安全。

11.4 检测人员需按照生物安全实验室的防护要求正确穿戴个人防护用品。

11.5 阳性样本废弃物需灭菌后按照生物安全要求处理。

## 附录 A 快速核酸检测仪性能要求及验证方法

(规范性附录)

A.1 快速核酸检测仪性能指标应满足表 A.1 所示。

表 A.1 快速核酸检测仪物理性能指标

|          |                     |  |
|----------|---------------------|--|
| 物理性能要求   | 项目                  | 技术指标   |
|          | 温度偏差                | $\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$                            |
|          | 温度波动度(基于等温扩增技术)     | $\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$                            |
|          | 平均升温速率              | 变温型: $\geq 1.5\text{ }^{\circ}\text{C/s}$ ;<br>等温型: 参考厂家技术要求 |
|          | 平均降温速率(基于实时荧光PCR技术) | $\geq 1.5\text{ }^{\circ}\text{C/s}$                         |
|          | 平均温度过冲量             | $\leq 1\text{ }^{\circ}\text{C}$                             |
|          | 温度持续时间相对偏差          | $\pm 10\%$   |
| 检测性能验证要求 | 阳性符合率               | 100%   |
|          | 阴性符合率               | 100%   |
|          | 检出限                 | 符合配套试剂盒宣称检出限   |
|          | 样本检测重复性             | $\leq 5\%$   |
|          | 特异性                 | 检测系统与其他病毒或细菌等其它病原体和人体基因组DNA无交叉反应                             |

## A.2 性能验证方法

## A.2.1 物理性能验证

变温型和等温型的快速核酸检测仪物理性能验证项目应按照表 A.2 选择。

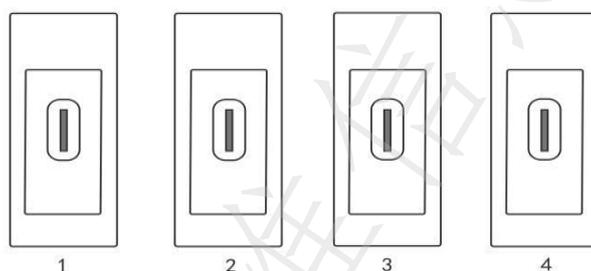
表 A.2 快速核酸检测仪物理性能验证项目

| 物理性能验证项目<br>设备类型 | 变温型 | 等温型 |
|------------------|-----|-----|
| 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          | +   | +   |

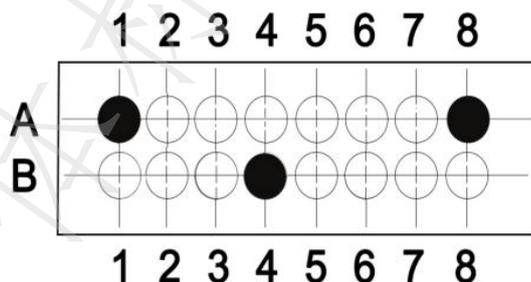
|                    |   |   |
|--------------------|---|---|
| 温度持续时间准确性          | + | + |
| 注：+表示验证项目，-表示非验证项目 |   |   |

验证设备：无线温度数据采集仪：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A.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A.2所示，每增加8通道至少增加2个测量点。



图A.1 独立控温快速核酸检测仪测量点分布示意图



图A.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A.3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A.3 变温型快速核酸检测仪性能验证控温程序

| 步骤 | 设定温度点<br>(℃) | 设定温度持续时间<br>(s) | 循环数 |
|----|--------------|-----------------|-----|
| 1  | 50           | 30              | ×1  |
| 2  | 90           | 30              | ×1  |
| 3  | 40           | 30              | ×6  |

|   |    |    |    |
|---|----|----|----|
| 4 | 95 | 30 |    |
| 5 | 70 | 30 | ×1 |
| 6 | 60 | 30 | ×1 |
| 7 | 40 | 30 | ×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A.4 等温型快速核酸检测仪性能验证控温程序

| 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    |

#### A.2.1.1 温度偏差的计算

变温型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;等温型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 (A.1) (A.1) 分别计算:

$$\Delta t_{max} = t_{max} - t_s \quad (A.1)$$

$$\Delta t_{min} = t_{min} - t_s \quad (A.2)$$

式中:

$\Delta t_{max}$  ——温度上偏差,℃;

$\Delta t_{min}$  ——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,℃。

#### A.2.1.2 温度波动度的计算

等温型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 (A.3) 计算:

$$\Delta t_f = \pm \max [(t_{jmax} - t_{jmin})/2] \quad (A.3)$$

式中:

$\Delta t_f$ ——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，℃。

### A. 2. 1. 3 平均升温速率的计算

变温型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 A. 4 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（A. 4）（A. 5）计算：

$$\bar{V}_u = \frac{1}{m} \sum_{j=1}^m V_{uj} \quad (\text{A. 4})$$

$$V_u = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{t_{bi} - t_{ai}}{\tau_{hi}} \quad (\text{A. 5})$$

式中：

$\bar{V}_u$ ——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，℃；

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

$m$ ——测量点数量。

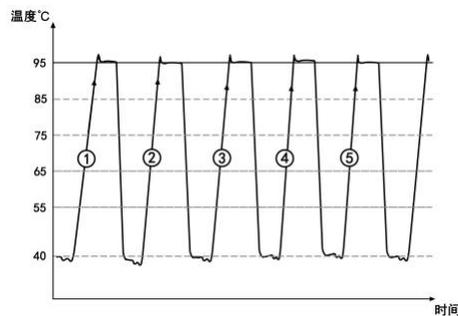


图 A. 3 变温型快速核酸检测仪平均升温速率步骤 3-4 循环取前 5 次

等温型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 A. 5 所示），平均升温速率的计算按照公式（A. 6）计算：

$$\overline{V}_u = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m \frac{(t_{bi} - t_{ai})}{\tau_{hi}} \quad (\text{A. 6})$$

式中：

$\overline{V}_u$ ——平均升温速率， $^{\circ}\text{C}/\text{s}$ ；

$t_{ai}$ ——最接近  $50^{\circ}\text{C}$  温度点第  $i$  个测量点测量值， $^{\circ}\text{C}$ ；

$t_{bi}$ ——最接近  $90^{\circ}\text{C}$  温度点第  $i$  个测量点测量值， $^{\circ}\text{C}$ ；

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

$m$ ——测量点数量。

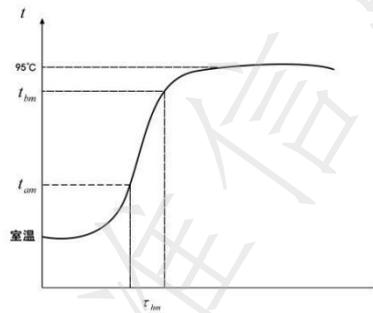


图 A.5 等温型快速核酸检测仪平均升温速率截取示意图

#### A. 2. 1. 4 平均降温速率的计算

变温型快速核酸检测仪在设置程序步骤 3-4 循环过程中，仪器从  $95^{\circ}\text{C}$  降温至  $40^{\circ}\text{C}$  循环一共 5 次（如图 A.6 所示），截取仪器各循环从  $(90 \pm 0.5)^{\circ}\text{C}$  降温至  $(50 \pm 0.5)^{\circ}\text{C}$  的温度曲线计算降温速率，平均降温速率的计算按照公式 (A.7) (A.8) 计算：

$$\overline{V}_d = \frac{1}{m} \sum_{j=1}^m V_{dj} \quad (\text{A. 7})$$

$$V_d = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(t_{bi} - t_{ai})}{\tau_{di}} \quad (\text{A. 8})$$

式中：

$\overline{V}_d$ ——平均降温速率， $^{\circ}\text{C}/\text{s}$ ；

$V_{dj}$ ——第  $j$  个测量点降温速率， $^{\circ}\text{C}/\text{s}$ ；

$V_d$ ——降温速率， $^{\circ}\text{C}/\text{s}$ ；

$n$ ——累积循环次数，按本规范程序取全部 5 次降温段；

$t_{ai}$ —— $(50 \pm 0.5)^{\circ}\text{C}$  温度点第  $i$  次测量值， $^{\circ}\text{C}$ ；

$t_{bi}$ —— $(90 \pm 0.5)^{\circ}\text{C}$  温度点第  $i$  次测量值， $^{\circ}\text{C}$ ；

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

$m$ ——测量点数量。

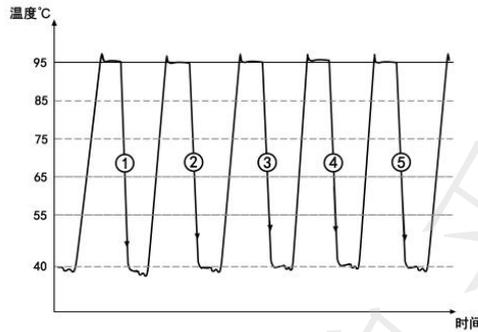


图 A.6 变温型快速核酸检测仪平均降温速率步骤 3-4 循环取 5 次

#### A. 2. 1. 5 平均温度过冲量的计算

变温型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 (A. 9) 分别计算：

$$\overline{\Delta t} = \frac{1}{m} \sum_{j=1}^m \sum (t_{jmax} - t_s) \quad (\text{A. 9})$$

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。

等温型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 (A. 10) 分别计算：

$$\overline{\Delta t} = \frac{1}{m} \sum_{j=1}^m (t_{jmax} - t_s) \quad (\text{A. 10})$$

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。

#### A. 2. 1. 6 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 (A. 11) 计算：

$$\Delta \tau = \frac{\tau_s - \tau_c}{\tau_c} \times 100\% \quad (\text{A. 11})$$

式中：

$\Delta\tau$ ——温度持续时间相对误差，%；

$\tau_c$ ——实测温度持续时间，s；

$\tau_s$ ——设定温度持续时间，s。

## A.2.2 检测性能验证

### A.2.2.1 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。

### A.2.2.2 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。

### A.2.2.3 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ORF1ab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。

### A.2.2.4 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ORF1ab基因和N基因的Ct值。按照公式（A.12）计算。

$$CV = \frac{SD}{\bar{M}} \times 100\% \quad (\text{A.12})$$

式中：CV——变异系数

SD——标准差

$\bar{M}$ ——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。

### A.2.2.5 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。

全国团体标准信息平台