

把好防疫第一关，提高新冠病毒核酸检测能力

新冠病毒核酸检测混检混采检测技术规范

中国科学技术大学附属第一医院（安徽省立医院）

沈佐君

主要内容

- 一、国家和地方对新冠病毒核酸检测混检、混采要求
- 二、新冠病毒核酸筛查稀释混样检测技术指引---知悉
- 三、新冠病毒核酸10合1混采检测技术规范---悉知
- 四、个人体会---分享交流

一、国家和地方对新冠病毒核酸检测混检、混采要求

国务院应对新型冠状病毒肺炎 疫情联防联控机制（医疗救治组）

联防联控机制医疗发〔2020〕277号

关于印发新冠病毒核酸筛查稀释混样检测 技术指引的通知

各省、自治区、直辖市及新疆生产建设兵团应对新冠肺炎疫情联防联控机制（领导小组、指挥部）：

为指导各医疗机构做好新冠病毒核酸检测工作，我们总结了湖北省、武汉市核酸检测实践经验，组织制定了《新冠病毒核酸筛查稀释混样检测技术指引》（可在我委官网“医政医管”栏目下载）。现印发给你们，供在新冠病毒核酸大样本应急筛查中参考使用。

国务院应对新型冠状病毒肺炎
疫情联防联控机制医疗救治组

（代章）

2020年7月21日

安徽省新型冠状病毒感染肺炎疫情防控应急综合指挥部办公室

皖疫控办〔2020〕468号

转发关于印发新冠病毒核酸筛查 稀释混样检测技术指引的通知

各市疫情防控应急综合指挥部，省属各医院，省疾控中心，省临床检验中心：

现将国务院应对新型冠状病毒肺炎疫情联防联控机制医疗救治组《关于印发新冠病毒核酸筛查稀释混样检测技术指引的通知》（联防联控机制医疗发〔2020〕277号）转发给你们，并提出以下要求，请一并抓好贯彻落实。

一、明确适用对象。新冠病毒核酸筛查稀释混样检测技术仅适用于大人群样本的筛查，混检样本原则上不超过5个，且筛查

安徽省新冠肺炎疫情防控应急综合指挥部办公室

2020年7月30日

办公室



国务院应对新型冠状病毒肺炎疫情联防联控机制（医疗救治组）

联防联控机制医疗发〔2020〕352号

关于印发新冠病毒核酸10合1混采检测技术规范的通知

各省、自治区、直辖市及新疆生产建设兵团应对新冠肺炎疫情联防联控机制（领导小组、指挥部）：

为指导各地做好新冠病毒混采检测工作，进一步提升新冠病毒核酸检测能力和效率，落实“四早”要求，有效满足疫情常态化防控需求，我们组织制定了《新冠病毒核酸10合1混采检测技术规范》。现印发给你们，供参考使用。

国务院应对新型冠状病毒肺炎疫情
联防联控机制医疗救治组

（代章）

2020年8月17日



安徽省新型冠状病毒感染肺炎疫情防控应急综合指挥部办公室

皖疫控办〔2020〕522号

转发关于印发新冠病毒核酸10合1 混采检测技术规范的通知

各市疫情防控应急综合指挥部，省属各医院，省疾控中心，省临床检验中心：

现将国务院应对新型冠状病毒肺炎疫情联防联控机制医疗救治组《关于印发新冠病毒核酸10合1混采检测技术规范的通知》（联防联控机制医疗发〔2020〕352号）转发给你们，并提出以下要求，请一并抓好贯彻落实。

一、明确适用对象。新冠病毒核酸10合1混采检测技术仅适用于感染率低的人群，不适用于医疗机构发热门诊、急诊患者和感染率高的人群。

安徽省新冠肺炎疫情防控应急综合指挥部办公室

2020年8月25日



医政医管局

主站首页

| 首页

| 最新信息

| 政策文件

| 工作动态

| 关于我们

| 专题专栏

通知公告

您现在所在位置: [首页](#) > [最新信息](#) > [医疗与护理](#) > [通知公告](#)

关于加强外送样本新冠病毒核酸检测质量管理工作的通知

发布时间: 2020-11-09 来源: 医政医管局



联防联控机制医疗发〔2020〕306号

各省、自治区、直辖市及新疆生产建设兵团应对新冠肺炎疫情联防联控机制（领导小组、指挥部）：

在新冠病毒疫情防控工作，一些地方通过购买服务的方式，将采集的样本外送至检测机构进行检测，以满足疫情防控需求。为切实加强样本外送检测管理，有效保证检测质量，现提出以下工作要求：

一、严格选择外送检测机构。各地在开展疫情防控工作中，需将采集样本外送进行核酸检测时，尤其是对集中隔离点、定点医院人员进行外送核酸检测时，要严格选择检测机构。要查看实验室资

二、新冠病毒核酸筛查稀释混样检测技术指引

一、适用对象

新型冠状病毒核酸筛查稀释混样技术（以下简称稀释混样）**仅适用于大人群样本的筛查**，稀释混样检测结果不作为最终确诊依据。**在人群总体阳性率较低（低于0.1%）**时更为适宜。以下人群不建议采用稀释混样检测：

（一）**重点区域人群**（近期有疫情发生的小区含确诊病例和无症状感染者、老旧小区、人口密集小区、流动人口聚集区和近期离省外出人群）、其他不适合稀释混样检测的人群；

（二）**医疗机构就诊患者**。

二、实验室条件

(一) 根据《病原微生物实验室生物安全管理条例》(国务院424号令), 具备在设区的**市级人民政府卫生健康主管部门备案的生物安全二级及以上实验室**。

(二) 根据《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》(卫办医政发〔2010〕194号), 具备经过**省级卫生健康行政部门审核备案的临床基因扩增检验实验室**。

(三) 医学检验实验室(常称为第三方实验室)应当符合《医学检验实验室基本标准(试行)》《医学检验实验室管理规范(试行)》等要求。

三、生物安全要求

根据《国家卫生健康委办公厅关于医疗机构开展新型冠状病毒核酸检测有关要求的通知》（国卫办医函〔2020〕53号）和《新型冠状病毒实验室生物安全指南（第二版）》的有关要求，**采样和实验室检测人员应采用生物安全三级实验室级别的个人防护**。检测工作完成后，**废弃物**严格按照文件要求处理，**不得保存样本**。

四、操作流程

(一) 材料准备。

1. 采样管。常规采样管，推荐含病毒保存液1~2ml的标准采样管。
2. 咽拭子。
3. 振荡器。
4. 其他开展核酸检测的常规物质准备。

(二) 采样与混合。

1. 咽拭子采样方法。被采集人员头部微仰，采样者将拭子越过舌根，在被采集者两侧咽扁桃体稍微用力来回擦拭至少3次，将拭子头浸入含1~3ml病毒保存液（也可使用等渗盐溶液、组织培养液或磷酸盐缓冲液）的管中，尾部弃去，旋紧管盖。

2. 样本混合。将采集的数个样本（原则上不超过5个）各取200ul进行充分混合，形成混合待检样本。

（三）核酸检测。

核酸提取与检测过程按有关实验室常规标准操作流程进行。每一次上样扩增中，80个加样孔用于加入混合样本（如5混1，总计 80×5 个单样本）；10个加样孔用于单样本（单样本来自上述 80×5 个原液的随机样本）。

（四）阳性结果判断与重测。

1. 检测结果先按照各检测试剂盒使用说明书的要求，对被检测基因位点逐一判定，出现任一位点阳性或能测出Ct值的混合样本，均作为重测对象。

2. 混合样本检出Ct值，其所有的单个原液样本需重新取样，按照常规方法进行单样本核酸检测。

3. 单样本检出阳性，其所在混合样本要全部按常规方法进行单样本核酸检测。

五、质量控制

(一) 室内质控。每批上样检测应当在剩余加样孔中设置1个弱阳性质控样本和三个阴性质控样本（2份生理盐水和1份阴性混合样本）。3份阴性质控样本随机放在临床样本中间。弱阳性质控测定为阳性，3个阴性质控全部测定为阴性，视为在控。反之，则为失控，不可发出报告，应分析原因，必要时重新检测样本。

(二) 室间质评。实验室应参加省级及以上临床检验中心组织的室间质量评价（EQA）活动，按照活动要求完成质评物接收、储存、检测和回报检测结果等工作。

六、注意事项

（一）注意避免采样过程中的交叉污染，落实一人一消毒；混样室在每进行一批样本稀释混样操作后，应进行消毒处理。

（二）拭子应完全浸润在病毒保存液中，样本在混合前后充分震荡（在振荡器上振荡30秒）。

（三）**稀释混样检测必须提取核酸，禁用“一步法”。**

（四）**建议对试剂检测灵敏度进行评估，应选择灵敏度较高的检测试剂。**

（五）稀释混样检测的阴性样本按每批次扩增留取一份阴性样本备查。

三、新冠病毒核酸10合1混采检测技术规范

(本次培训重点掌握)

为落实国务院应对新冠病毒感染肺炎疫情联防联控机制《关于做好新冠肺炎疫情常态化防控工作的指导意见》（国发明电〔2020〕14号）以及《关于加快推进新冠病毒核酸检测的实施意见》（联防联控机制综发〔2020〕181号）有关要求，指导各地新冠病毒混采检测工作，进一步提升核酸检测能力和效率，针对新冠病毒核酸10合1混采检测（10-in-1 test）技术（指将采集自10人的10支拭子集合于1个采集管中进行核酸检测的方法），制定本规范。

一、样本采集耗材规格

(一) 病毒采集管

管帽和管体应当为聚丙烯材质，螺旋口可密封，松紧适度。管体透明，可视度好。试管外径 (14.8 ± 0.2) mm \times (100.5 ± 0.4) mm, 管帽外径 (15.8 ± 0.15) mm, 高度 (12.5 ± 0.5) mm。容量企业定标10 ml, 内含6ml胍盐或其他有效病毒灭活剂的保存液。保存液应当带有易于观察、辨识的颜色（如粉红色），并保持一定的流动性，方便取样。

(二) 采集拭子

宜选用聚酯、尼龙等非棉质、非藻酸钙材质的拭子，且柄部为非木质材料。折断点位于距拭子头顶端3cm左右，易于折断。

二、采集地点要求

选择空旷、通风良好的场地作为大规模人群筛查集中采集地点。根据原有场地条件，划分为等候区、采集区、缓冲区和临时隔离区，有效分散待检人员密度。应当设置急救设备备用。

（一）等候区

设置人行通道，同时设置一米线保证等候人员的防护安全。根据天气条件配备保温、降温，遮阳、遮雨等设施。老年人、儿童、孕妇和其他行动不便者优先采集。

咽拭子标本采集处

采集处入口



采集处出口



（二）采集区

根据气候条件，配备帐篷、冷/暖风扇、适量桌椅，保证医护人员在相对舒适环境下工作。配备采集用消毒用品、拭子、病毒采集管，并应当为受检人员准备纸巾、呕吐袋和口罩备用。标本如无法及时运送至实验室，需准备4℃冰箱或低温保存箱暂存。应当制定防止病原微生物扩散和感染的应急预案。

（三）缓冲区

空间应当相对密闭，可供采集人员更换个人防护装备，放置与采样点规模相匹配的防护用品、采集用消毒用品、拭子和采集管，户外消杀设备。

（四）临时隔离区

用于暂时隔离在采集过程中发现的疑似患者或高危人群。

三、采集流程

(一) 标识及信息登记

1. 登记流程。工作人员在采集前分配10个受检者为一组，采集前收集并登记受检者相关信息（包括姓名、性别、身份证号、联系电话、采集地点、采集日期和时间），按照组别进行采集管编号。

2. 登记要求。推荐使用身份证读卡器、二维码条码等信息化手段关联受检者信息，提高信息读取效率和准确性。如不具备信息化条件，应当提前登记《新冠病毒核酸10合1混采检测登记表》（见附件，以下简称混采登记表）。纸质登记表随标本送检前应当备份存档于采集点所在社区，便于及时追溯受检者。



（二）采集方法

被采集人员头部微仰，嘴张大，发“啊”音，露出两侧咽扁桃体，采集人员将拭子越过被采集人员舌根，在两侧咽扁桃体稍微用力来回擦拭至少3次，然后在咽后壁上下擦拭至少3次。操作完毕后，将拭子头置入管中、拭子折断点置于管口处，稍用力折断使拭子头落入采集管的液体中，弃去折断后的拭子杆，旋紧管盖，将采集管置于稳定的置物架上。每例采集后采集人员均应进行手消毒。

（三）混合拭子

依照上述采集方法依次采集其余9支拭子，将完成采集的拭子放入同一采集管中，动作轻柔，避免气溶胶产生。连续采集10支拭子以后，旋紧管盖，防止溢洒。如采集管内拭子不足10支，应做好特殊标记并记录。

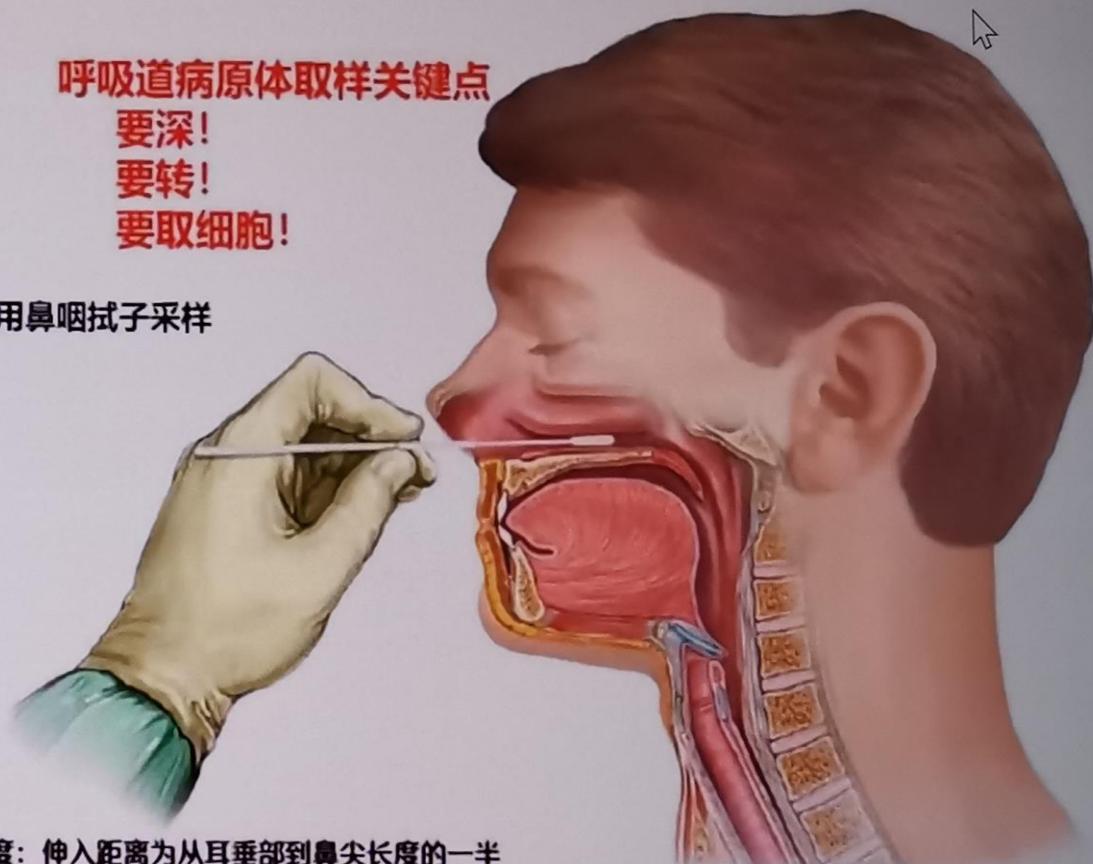
标本采集：鼻咽拭子

对于疑似新型冠状病毒感染患者早期或与确诊患者有密切接触史者或康复期患者，
建议**首选**鼻咽拭子标本

呼吸道病原体取样关键点

要深！
要转！
要取细胞！

使用鼻咽拭子采样



深度：伸入距离为从耳垂部到鼻尖长度的一半
转动：转动10-15秒，才能取到鼻咽部的细胞

武汉大学人民医院 HUBEI GENERAL HOSPITAL

关键点：“要深、要转、要取细胞”，“要深”即深入距离从耳垂部位到鼻尖长度的一半，“要转”即转动10~15秒，大约转动约4~5圈，“要取细胞”即取鼻咽部的细胞

标本采集：口咽拭子

对于疑似新型冠状病毒感染患者早期或与确诊患者有密切接触史者或康复期患者，可以采集口咽拭子标本



口咽拭子采样时，取样关键点为用拭子擦拭双侧咽扁桃体及咽后壁3~5次

为提高检出阳性率，可同时采用鼻咽拭子和口咽拭子采样，采样后放入同一管细胞保存液或病毒灭活保存液中

标本采集：痰液

- 对于疑似新型冠状病毒感染患者早期或与确诊患者、有密切接触史者，必要时建议采用痰液标本，痰液标本应该取患者深咳的痰液
- 对于无痰液的受检者，可采集其清晨第一口痰

标本采集：肛拭子

- 将棉签在生理盐水中浸湿，将其插入肛门**2-3**厘米，自肛门周围皱襞处拭取，或在肛门口内轻轻旋转涂擦，然后将其插入**含有病毒采样管或细胞保存液中**（切勿插入培养基中），折断多余的棉签后旋紧盖子

四、标本送检

(一) 核对信息

核对采集管标签与混采登记表信息，确保准确完整，编号一致。

(二) 标本放置要求

将核对后的采集管放入透明塑料密封袋（一层容器）中并封严袋口，用**75%乙醇喷洒**密封袋外部。将密封袋放入**二层容器**（可选内配适量吸湿材料的包装盒或双层医用垃圾袋），密封后用**75%乙醇喷洒**消毒。将二层容器放入具有“生物危害”标识的专用标本转运箱（推荐使用符合《危险品航空安全运输技术细则》A类物品运输UN2814标准的转运箱），**二层容器和转运箱之间应当放置降温凝胶冰袋**。二层容器应当固定在转运箱中，保持标本直立。**密封转运箱后，使用75%乙醇喷洒消毒，转运箱表面洁净无污染。**

(三) 标本转运要求

标准转运箱应当由专门标本运送人员负责运送。标本应当在采集后**2—4小时**内送至实验室。混采登记表放入独立密封袋，随转运箱一同转运。不能立即送检的，应当配备专门的冰箱或冷藏箱保存，并做好标本接收、保存登记。**标本采集后24小时内可置于4℃保存。**

五、实验室接收

(一) 标本签收

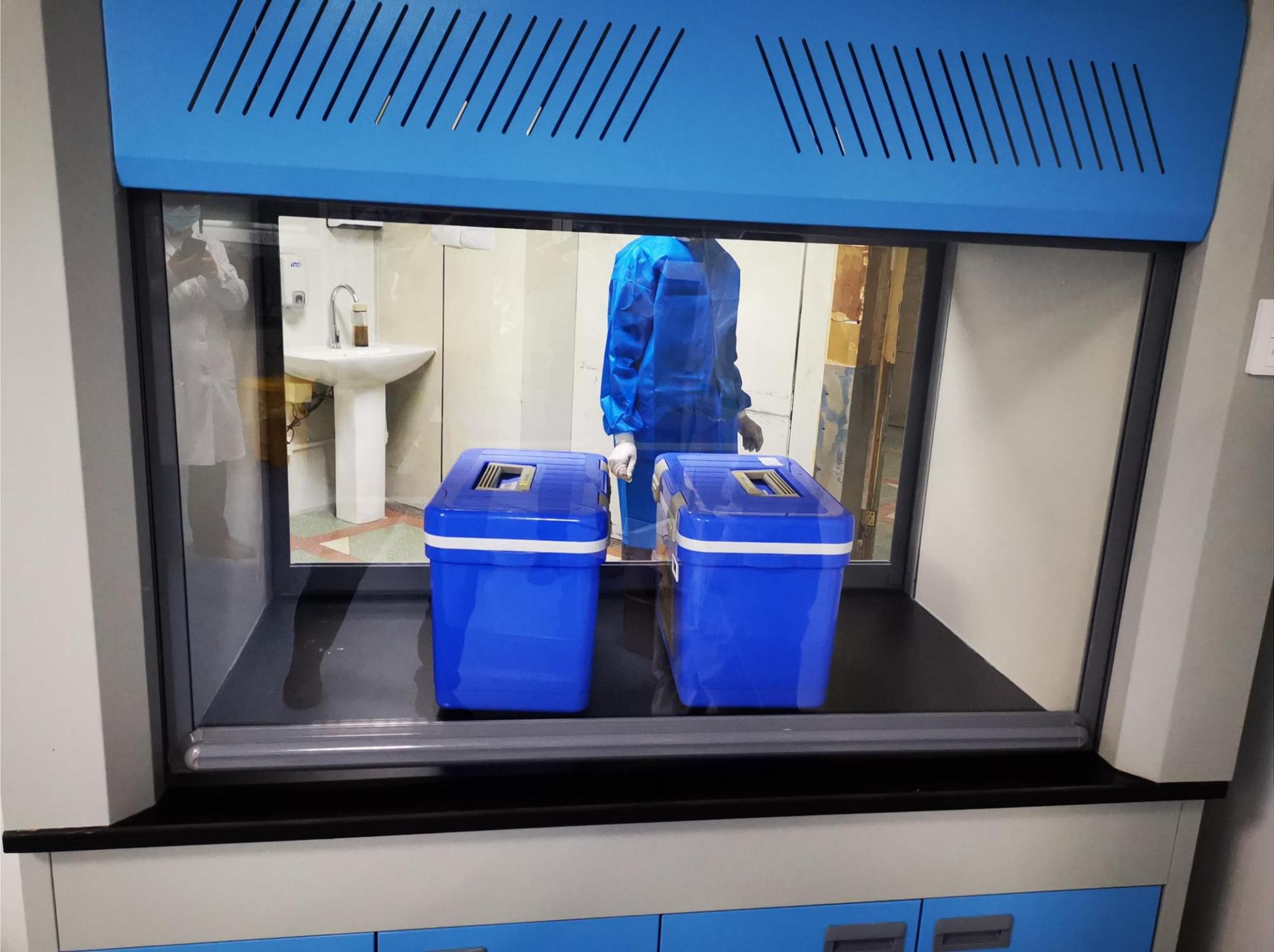
运送和接收人员应当对标本进行**双签收**。接收人员检查混采登记表是否填写完整，被检者信息是否可追溯，转运箱、二层容器有无破损。

(二) 标本打开

应当在生物安全二级实验室核心区打开转运箱，取出二层容器。在生物安全柜中打开二层容器，用**75%乙醇喷洒**或擦拭消毒后，取出密封袋，用**75%乙醇试剂喷洒**或擦拭消毒，并检查是否密封完好。

(三) 标本检查

核对采集管标签与混采登记表信息是否一致。取出采集管，检查管壁是否有破损、管口渗漏等，确认无破损、渗漏后用75%乙醇喷洒或擦拭消毒。如有破损、渗漏，应当立即停止操作，用吸水纸覆盖后使用0.55%含氯消毒剂进行消毒处理，做好不合格登记后销毁。





(四) 标本保存

不能及时检测的标本放入专用冰箱保存。24小时内检测的标本可置于4℃保存。24小时内无法检测的标本应当置于-70℃或以下温度保存。如无-70℃保存条件，则于-20℃暂存。避免标本反复冻融。设立专库或专柜保存标本，双人双锁管理。

(五) 转运容器移出

使用后的二层容器内外壁经**75%乙醇擦拭**消毒后移出生物安全柜，实验结束后使用**紫外灯照射**消毒。

六、标本检测与质量控制

(一) 标本检测

实验室接收标本后，**应当立即进行检测**。检测前进行**充分震荡洗脱**，之后进行核酸提取及扩增实验。推荐选用包含针对新冠病毒开放读码框1ab (open reading frame 1ab, **ORF1ab**) 和核壳蛋白 (nucleocapsid protein, **N**) 基因区域的试剂。

- * 若使用核酸提取仪，核酸提取试剂应与核酸提取仪配套使用。
- * 扩增试剂盒应当选用国家药品监督管理局批准带有注册文号的试剂盒。
- * 建议选择检测限低、灵敏度高的检测试剂盒。

（二）检测质控

每批检测至少有1份弱阳性质控品（第三方质控品，通常为检出限的3倍左右）、2份阴性质控品（试剂盒自带阴性质控品）和1份空白对照品（生理盐水或焦碳酸二乙酯处理水）。空白对照品应当开盖放置在提取仪或操作台面上过夜，用于环境污染评估。质控品随机放在临床标本中，参与从提取到扩增的全过程。

（三）质控结果

弱阳性质控品测定为阳性，阴性质控品全部测定为阴性，视为在控。反之，则为失控，不可出具检测报告，应立即分析原因，必要时重新检测标本。

七、检验结果处理

新冠病毒核酸定性检测报告应当包括检测结果（检出/阳性、未检出/阴性）、方法学、检出限等。

（一）结果判断

依据所用扩增试剂说明书，判断检测结果为未检出/阴性或者检出/阳性。**若结果处于灰区，建议作为混采阳性结果进行复核。**

（二）阳性结果复核

1. 混采检测结果为阳性、灰区或单个靶标阳性，通知相关部门对该混采管的10个受试者暂时单独隔离，并重新采集单管拭子进行复核。
2. 复核单管核酸检测如均为阴性，则按照阴性结果回报。暂时隔离人员即解除隔离；如检测结果阳性，按程序上报。

八、检测后样本处理

检测后的标本应当尽快就地销毁，做好高压灭菌质量监控和消毒、销毁记录。

九、技术人员基本要求

采样人员和检测人员要求应满足《医疗机构新型冠状病毒核酸检测工作手册（试行）》要求。

十、生物安全防护

（一）标本采集和运送人员

对于采集低风险区域人群的采集者，采用二级生物安全防护。包括：一次性帽子、医用防护口罩（N95）、手套（必要时双层）、护目镜/面屏、隔离衣，鞋套（必要时）。标本运送人员采用一级生物安全防护，包括：医用外科口罩、乳胶手套、工作服，可戴医用防护帽。

（二）标本接收和检测人员

标本接收人员应当为核酸检测实验室经生物安全防护培训的指定人员，采用二级以上生物安全防护。生物安全防护标准可根据所从事工作的危险性进行区分。进行试剂准备和核酸扩增的工作人员采用二级防护。处理标本的人员必须严格遵照三级防护标准，包括：医用防护口罩或N95、单或双层乳胶手套（条件许可，可以不同颜色）、面屏、护目镜、工作服外防护服、单或双层医用防护帽，手卫生。必要时双层口罩（外医用防护口罩，内N95）。

附件：新冠病毒核酸10合1混采检测登记表

采集地点：
送检时间：

采集日期：
接收人：

送样人：
接收时间：

送样人联系电话：

采集管 编号	序号	姓名	性别	年龄	身份证号	联系电话	采集时间	是否去 过高风险 地区	是否 发热	实验室 编号	检测 结果
	1										
	2										
	3										
	4										
	5										
	6										
	7										
	8										
	9										
	10										

注：送检时间，接收时间格式为XX月XX日XX时，采集时间格式为XX时；检测结果如为ORF1ab或N基因单独阳性，需详细列出。

四、个人体会

一、人员的培训和储备

二、仪器设备的选择

三、试剂耗材的选择：

1、基因靶点的考量；

2、内部对照（管家基因的设置）；

3、检测灵敏度；

4、抗干扰能力

四、耗材的选择：采样管的匹配

常规检测报告：4-6小时

急诊检测报告：？ 夜班，快检

报告解读

- 新冠检测技术指南中判定标准（第七版）
- 检测试剂盒说明书判定标准（Ct值、内标）

新型冠状病毒感染的肺炎实验室 检测技术指南

二、新型冠状病毒的实验室检测

新型冠状病毒感染的常规检测方法为实时荧光RT-PCR。任何新型冠状病毒的检测都必须在具备条件的实验室由经过相关技术安全培训的人员进行操作。本指南中的核酸检测方法主要针对新型冠状病毒基因组中开放读码框1ab (open reading frame 1ab, ORF1ab) 和核壳蛋白 (nucleocapsid protein, N)。

实验室确认阳性病例需满足以下两个条件中的一个：

1. 同一份标本中新型冠状病毒2个靶标 (ORF1ab、N) 实时荧光RT-PCR检测结果均为阳性。如果出现单个靶标阳性的检测结果，则需要重新采样，重新检测。如果仍然为单靶标阳性，判定为阳性。

2. 两种标本实时荧光RT-PCR同时出现单靶标阳性，或同种类型标本两次采样检测中均出现单个靶标阳性的检测结果，可判定为阳性。

核酸检测结果阴性不能排除新型冠状病毒感染，需要排除可能产生假阴性的因素，包括：样本质量差，比如口咽等部位的呼吸道样本；样本收集的过早或过晚；没有正确的保存、运输和处理样本；技术本身存在的原因，如病毒变异、PCR抑制等。

谢 谢!

zuojunshen@ustc.edu.com