

ICS 11.100

CCS C 44



# 团体标准

T/CEATEC XXX—2025

## 儿童感染性疾病病原分子快速诊断技术规范与临床应用指南

Technical specifications and clinical application guidelines for rapid molecular diagnosis of pathogens in children with infectious diseases

2025-X-XX 发布

2025-X-XX 实施

中国欧洲经济技术合作协会 发布

# 目 次

前言 .....	II
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 术语和定义 .....	1
4 技术要求 .....	2
4.1 检测技术分类及性能指标 .....	2
4.2 仪器设备要求 .....	2
4.3 试剂要求 .....	2
5 实验室建设与管理 .....	3
5.1 实验室分区要求 .....	3
5.2 人员要求 .....	3
5.3 环境控制 .....	3
5.4 生物安全管理 .....	3
6 检测流程 .....	3
6.1 样本采集与转运 .....	3
6.2 核酸提取 .....	4
6.3 扩增与检测 .....	4
6.4 结果判读 .....	4
7 质量控制 .....	4
7.1 室内质控 .....	4
7.2 室间质评 .....	5
7.3 结果互认 .....	5
8 临床应用与结果解读 .....	5
8.1 适用场景分级 .....	5
8.2 常见感染应用 .....	5
8.3 特殊人群应用 .....	6
8.4 报告规范 .....	6
9 安全与应急管理 .....	6
9.1 试剂安全 .....	6
9.2 设备安全 .....	6
9.3 应急处置 .....	6

## 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。

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。

本文件由中国欧洲经济技术合作协会提出并归口。

本文件起草单位：。

本文件主要起草人：。

本文件为首次编制。

# 儿童感染性疾病病原分子快速诊断技术规范与临床应用指南

## 1 范围

本文件规定了儿童感染性疾病病原分子快速诊断与临床应用的技术要求、实验室建设与管理、检测流程、质量控制、临床应用与结果判读、安全与应急管理。

本文件适用于各级医疗机构开展儿童感染性疾病病原分子快速诊断工作。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 19489 实验室 生物安全通用要求

GB/T 22576.1 医学实验室 质量和能力的要求 第1部分:通用要求

GB/T 25915.1 洁净室及相关受控环境 第1部分:按粒子浓度划分空气洁净度等级

WS/T 230 实时荧光聚合酶链反应临床实验室应用指南

WS/T 641 临床检验定量测定室内质量控制

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**病原分子快速诊断** rapid molecular diagnosis of pathogens

采用分子生物学技术，在≤60分钟内完成病原体核酸提取、扩增及检测，实现病原学快速确诊的检测方法。

### 3.2

**分析灵敏度** analytical sensitivity

检测系统能够检出目标病原体的最低浓度或拷贝数，以95%检出率对应的最低浓度表（ $LOD_{95\%}$ ）。

### 3.3

**分析特异性** analytical specificity

检测系统在存在非目标病原体或干扰物质时，准确识别目标病原体的能力，无交叉反应或非特异性扩增。

### 3.4

**临床灵敏度** clinical sensitivity

在临床样本中，检测系统正确识别阳性样本的比例，计算公式为真阳性数/（真阳性数+假阴性数）×100%。

### 3.5

**临床特异性** clinical specificity

在临床样本中，检测系统正确识别阴性样本的比例，计算公式为真阴性数/（真阴性数+假阳性数）×100%。

### 3.6

#### 多重感染检测 multiple infection detection

同一检测体系同时检测两种及以上目标病原体的检测模式。

## 4 技术要求

### 4.1 检测技术分类及性能指标

#### 4.1.1 技术类型及适用场景

常见的技术类型及适用场景应满足表1的要求。

表1 技术类型及适用场景

技术类型	核心原理	检测时间 (min)	适用场景	适用病原体
等温扩增技术 (LAMP/RPA)	恒定温度(60~65℃) 下核酸扩增	20~40	基层医疗机构、现场 检测	流感病毒、诺如病毒、肺炎 支原体
微流控芯片技术	芯片集成提取-扩增-检 测流程	≤30	急诊、发热门诊	呼吸道合胞病毒、轮状病毒、 金黄色葡萄球菌
数字 PCR 技术	微滴分割实现绝对定量	30~50	低载量病原体、耐药 基因检测	结核分枝杆菌、多重耐药菌
CRISPR-Cas 系统	靶向切割结合荧光报告	≤40	病原体亚型鉴别、多 重感染	新冠病毒变异株、腺病毒血 清型

#### 4.1.2 核心性能要求

应满足以下要求：

a) 分析灵敏度：呼吸道病原体 $\geq 10^3$ copies/mL，消化道病原体 $\geq 10^3$ copies/mL，血流感染病原体 $\geq 10^2$ copies/mL；

b) 分析特异性：与非目标病原体交叉反应率 $\leq 0.5\%$ ，对常见干扰物（血红蛋白 $\leq 0.5$ mg/mL、黏蛋白 $\leq 20\%$ ）无影响；

c) 精密度：同一批次检测 CV 值 $\leq 5\%$ ，不同批次检测 CV 值 $\leq 8\%$ ；

d) 样本兼容性：支持咽拭子、鼻咽拭子、痰液、粪便、全血等儿童常见样本类型，全血样本无需离心预处理；

e) 检测通道： $\geq 4$ 个，支持同时检测至少3种目标病原体及1个内标。

### 4.2 仪器设备要求

应满足以下要求：

a) 温控精度： $\pm 0.3^\circ\text{C}$ ，温度均一性 $\leq 0.5^\circ\text{C}$ （96孔板）；

b) 检测仪器：具备荧光信号采集功能，检测通道波长范围覆盖450nm~650nm；

c) POCT 设备：满足 CLIA-waived 认证标准，配备条码扫描和 LIS 接口；

d) 环境适应性：工作温度 $10^\circ\text{C} \sim 30^\circ\text{C}$ ，相对湿度20%~80%，无冷凝水产生；

e) 数据存储：支持 $\geq 10$ 万条检测数据存储，保存时间 $\geq 2$ 年。

### 4.3 试剂要求

应满足以下要求：

a) 核酸提取试剂：提取效率 $\geq 90\%$ ，交叉污染率 $\leq 0.1\%$ ，支持原始管上样；

b) 扩增试剂： $-20^\circ\text{C}$ 储存有效期 $\geq 12$ 个月， $2^\circ\text{C} \sim 8^\circ\text{C}$ 运输稳定性 $\geq 7$ 天；

c) 质控品：包含阳性对照、阴性对照及内标，阳性对照浓度为 $\text{LOD}_{95\%}$ 的5~10倍；

d) 抑制剂耐受：可耐受样本中常见抑制剂（如肝素、EDTA、胆红素等）。

## 5 实验室建设与管理

### 5.1 实验室分区要求

必须设置试剂准备区、样本处理区和扩增区，各区采用物理屏障隔离，配备独立通风系统，且应满足以下要求：

- a) 气压梯度：试剂准备区正压（相对走廊+5Pa），样本处理区常压，扩增区负压（相对缓冲间-5Pa）；
- b) 空气洁净度：大于 0.5 μm 的粒子数每立方米不超过 3520 个（ISO 5 级，符合 GB/T 25915.1 的规定），扩增区每周进行气溶胶沉降菌检测，培养皿（90mm 直径）的菌落数限值为 ≤4 CFU；
- c) 区域标识：各区墙面粘贴明显标识，设备、耗材标注专属区域，禁止跨区混用。

### 5.2 人员要求

应满足以下要求：

- a) 操作人员：具备医学检验相关专业大专及以上学历，经专项培训并考核合格后方可上岗；
- b) 培训内容：包括技术原理、操作流程、质量控制、生物安全等，每年再培训不少于 8 学时；
- c) 授权管理：建立操作人员授权清单，明确操作权限，定期评估操作能力。

### 5.3 环境控制

应满足以下要求：

- a) 温湿度：实验区温度维持 18℃~25℃，相对湿度 30%~60%，配备双探头记录仪 24 小时监控；
- b) 清洁消毒：每日实验结束后用 1%次氯酸溶液擦拭台面，紫外线照射 30min；每周进行一次全面清洁消毒；
- c) 废物处理：含扩增产物的废液经 10%次氯酸钠浸泡 30min 后再高压灭菌，锐器放入防刺穿容器单独收集。

### 5.4 生物安全管理

应满足以下要求：

- a) 生物安全级别：至少符合 GB 19489 二级生物安全实验室要求；
- b) 个人防护：样本处理时佩戴 N95 口罩、护目镜、双层手套及防护服，手套每操作 10 个样本更换一次；
- c) 感染控制：发生样本泄漏时，立即用吸水纸覆盖并倒入适量 1%次氯酸溶液，作用 30min 后清理；
- d) 应急处置：制定生物安全应急预案，每年至少开展 1 次应急演练。

## 6 检测流程

### 6.1 样本采集与转运

#### 6.1.1 采集要求

样本采集应符合表 2 的要求。

表 2 样本采集要求

样本类型	采集方法	采集量	保存条件	保存时限
咽拭子	用无菌拭子擦拭双侧咽扁桃体及咽后壁	1 支拭子	2℃~8℃	≤72 小时
鼻咽拭子	拭子插入鼻腔 10min~15cm，旋转 3 圈后取出	1 支拭子	2℃~8℃	≤72 小时
痰液	无菌容器收集深部痰液	≥1mL	2℃~8℃	≤24 小时
粪便	无菌容器收集新鲜粪便	≥0.5g	2℃~8℃	≤48 小时
全血	EDTA 抗凝管采集静脉血	≥2mL	2℃~8℃	≤24 小时

### 6.1.2 转运要求

应满足以下要求：

- 样本装入密封袋，袋内放置吸水纸，外部贴好标识（患者信息、样本类型、采集时间）；
- 转运温度 2℃~8℃，避免冷冻或剧烈震荡，转运时间≤4 小时；
- 疑似烈性传染病样本按 A 类感染性物质转运，符合 WHO《感染性物质运输指南》。

### 6.2 核酸提取

应满足以下要求：

- 提取方法：采用全自动封闭式提取仪，支持批量处理，每批次≤32 个样本；
- 提取参数：裂解温度 95℃，裂解时间 5min~10min，洗脱体积 50 μL~100 μL；
- 质量控制：每批次提取加入提取质控品，监控提取效率，内标 Ct 值波动范围≤2 个循环；
- 防污染措施：使用带滤芯吸头，提取过程中避免气溶胶产生，每完成一批次清洁工作台。

### 6.3 扩增与检测

应满足以下要求：

- 反应体系：20 μL~50 μL，其中模板核酸加入量 5 μL~10 μL，应按照试剂说明书操作；
- 扩增程序：等温扩增 60℃~65℃，20min~40min；荧光 PCR 按试剂说明书设定退火温度和循环数；
- 检测监控：实时监控扩增曲线，观察基线稳定性和扩增特异性，无异常扩增曲线应重新检测；
- 设备校准：每月对仪器进行温度校准，每季度进行荧光强度校准，记录校准结果。

### 6.4 结果判读

#### 6.4.1 判读标准

检测结果判读应符合表 3 的要求。

表 3 判读标准

结果类型	判读条件	结果报告
阳性	扩增曲线出现明显 S 型，Ct 值≤Cut-off 值，内标 Ct 值在有效范围内	检出目标病原体
阴性	无扩增曲线或 Ct 值>Cut-off 值，内标 Ct 值在有效范围内	未检出目标病原体
无效	内标未扩增或扩增曲线异常	检测无效，建议重新采样检测

#### 6.4.2 Cut-off 值确定

应满足以下要求：

- 由实验室根据试剂说明书，通过至少 20 份阳性样本和 50 份阴性样本验证确定；
- Cut-off 值设定应满足临床灵敏度≥95%，临床特异性≥98%；
- 定期（每 6 个月）验证 Cut-off 值的有效性，当试剂批次更换或仪器维修后应重新验证。

## 7 质量控制

### 7.1 室内质控

#### 7.1.1 质控品设置

每日检测前运行阴/阳性质控品，检测量超过 50 份时增加中间批次质控。

#### 7.1.2 质控频率

每批次检测均应包含质控品，连续检测时每 4 小时更换一次质控品。

#### 7.1.3 失控判定

阳性质控品未检出、阴性质控品出现扩增、内标失效均判定为失控。

#### 7.1.4 失控处理

立即暂停检测，按复测-更换试剂/耗材-设备维护三级排查，记录根本原因，启动纠正预防措施（CAPA）。

### 7.1.5 趋势分析

采用 L-J 质控图进行趋势分析，每月计算 CV 值，与厂家声明比对，CV 值超出厂家范围应查找原因，室内质评结果应符合 WS/T 641 要求。

## 7.2 室间质评

### 7.2.1 参与要求

每年至少参加 2 次 CNAS 认可的室间质评（如国家临检中心项目），涵盖所有检测项目。

### 7.2.2 检测流程

质评样本与临床样本同批检测，禁止特殊处理或重复检测，双人复核结果后上报。

### 7.2.3 结果要求

室间质评结果应符合 WS/T 230 要求，合格率 $\geq$ 90%。

### 7.2.4 整改措施

收到不合格报告后 15 个工作日内完成根本原因分析，制定改进措施，暂停该项目临床检测直至整改验证通过。

### 7.2.5 替代方案

未开展室间质评的项目，每季度进行实验室间比对（至少 3 家同平台实验室），采用 Bland-Altman 分析法评估偏倚。

## 7.3 结果互认

### 7.3.1 互认条件

实验室通过 GB/T 22576.1 认可，室间质评连续 2 次合格，检测系统符合本文件技术要求。

### 7.3.2 互认范围

在相同检测系统、相同试剂批次条件下获得的检测结果可互认。

### 7.3.3 数据传输

通过 LIS 系统实现检测结果标准化传输，包含患者信息、检测项目、结果、质控状态等元数据。

## 8 临床应用与结果解读

### 8.1 适用场景分级

应按照以下规定进行分级：

a) A 级（急诊抢救场景）：检测时间 $\leq$ 30min，适用于脓毒症、脑膜炎等危急重症，优先保障检测时效性；

b) B 级（门急诊筛查场景）：40min 内出具结果，支持每小时 $\geq$ 8 样本批量检测，适用于流感季发热门诊分流；

c) C 级（住院监测场景）：配备数据管理系统，每周开展 2 次质控，适用于长期住院患者多重耐药菌监测；

d) D 级（基层初筛场景）：设备操作简单，适合社区卫生服务中心开展结核分枝杆菌等筛查。

### 8.2 常见感染应用

#### 8.2.1 呼吸道感染

应按照以下规定进行：

a) 检测病原体：流感病毒（甲/乙）、呼吸道合胞病毒、腺病毒、肺炎支原体、衣原体等；

b) 临床应用：发热伴呼吸道症状患者，尤其是 $\leq$ 5 岁儿童，发病 72 小时内检测可指导抗病毒治疗；

c) 结果解读：阳性结果结合临床症状确诊，阴性结果不能排除感染（可能为检测窗口期或非目标病原体感染）。

#### 8.2.2 消化道感染

应按照以下规定进行：

a) 检测病原体：诺如病毒、轮状病毒、沙门菌、志贺菌、致病性大肠杆菌等；

b) 临床应用：急性腹泻爆发疫情调查，急诊腹泻病因筛查，检测灵敏度应达到  $10^3$  copies/mL 以上；

c) 结果解读：诺如病毒/轮状病毒阳性可直接确诊，细菌阳性应结合菌落计数和临床症状判断是否为致病菌。

### 8.2.3 血流感染

应按照以下规定进行：

a) 检测病原体：金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、肺炎克雷伯菌、念珠菌等；

b) 临床应用：疑似脓毒症儿童，全血样本直接检测，无需培养，缩短确诊时间；

c) 结果解读：阳性结果应立即启动针对性抗感染治疗，阴性结果建议 48 小时后复查。

## 8.3 特殊人群应用

### 8.3.1 新生儿

样本优先选择脐血或足跟血，检测系统应支持微量样本 ( $\geq 50 \mu\text{L}$ ) 检测。

### 8.3.2 免疫低下儿童

采用高灵敏度检测方法（如数字 PCR）， $\text{LOD}_{95\%} \leq 10^2$  copies/mL。

### 8.3.3 多重感染儿童

采用多重检测 panel，同时检测至少 5 种常见病原体，避免漏诊。

## 8.4 报告规范

### 8.4.1 报告内容

包含患者基本信息、样本信息、检测项目、结果、Ct 值、质控状态、报告时间、检测者、审核者等。

### 8.4.2 报告时限

A 级场景  $\leq 30$  分钟，B 级场景  $\leq 40$  分钟，C 级场景  $\leq 60$  分钟，D 级场景  $\leq 60$  分钟。

### 8.4.3 结果注释

注明检测方法学局限性，提示“本结果仅对送检样本负责，应结合临床症状综合判断”。

## 9 安全与应急管理

### 9.1 试剂安全

#### 9.1.1 化学安全

试剂中含有的酸碱物质、荧光染料等应妥善保管，避免直接接触皮肤和黏膜。

#### 9.1.2 储存安全

试剂按要求温度储存，避免阳光直射，易燃易爆试剂单独存放。

#### 9.1.3 过期处理

过期试剂按医疗废物处理，不得使用或随意丢弃。

### 9.2 设备安全

#### 9.2.1 用电安全

仪器设备接地良好，电源线无破损，避免湿手操作电器。

#### 9.2.2 维护安全

设备维修前应切断电源，等待仪器冷却后进行，由专业人员操作。

#### 9.2.3 故障处理

设备出现故障立即停止使用，张贴故障标识，联系维修人员，记录故障情况。

### 9.3 应急处置

#### 9.3.1 样本泄漏

少量泄漏 ( $\leq 1\text{mL}$ ) 用吸水纸覆盖，倒入 1% 次氯酸溶液作用 30 分钟后清理；大量泄漏 ( $> 1\text{mL}$ ) 启动应急程序，疏散人员，封闭区域，专业人员处理。

### 9.3.2 人员暴露

皮肤接触样本后立即用肥皂水冲洗 15 分钟；黏膜接触后用生理盐水冲洗 15 分钟；发生针刺伤立即挤压伤口，用碘伏消毒，上报医院感染管理部门。

### 9.3.3 火灾应急

实验室配备干粉灭火器，操作人员应掌握使用方法，火灾发生时立即切断电源，疏散人员，拨打火警电话。

---