



全国新型冠状病毒核酸检测 室间质量评价结果报告

二〇二〇年三月

国家卫生健康委临床检验中心

全国新型冠状病毒核酸检测 室间质量评价结果报告

核酸检测是新型冠状病毒肺炎（Corona Virus Disease 2019, COVID-19）确诊的重要手段。为了解我国新型冠状病毒（2019 novel coronavirus, 2019-nCoV；国际病毒分类委员会将 2019-nCoV 命名为 SARS-CoV-2）核酸检测的开展现状及质量状况，帮助临床实验室发现检测中存在的问题并进行改进，使得核酸检测在疾病防控工作中更好地得到应用，国家卫生健康委临床检验中心（以下简称“临检中心”）于 2020 年 3 月 16 日~24 日开展了 2019-nCoV 核酸检测室间质量评价，要求各实验室使用日常所用试剂和程序进行检测并回报检测结果。本次质评具体情况如下。

一、样本情况

1. 样本简介 本次共发放 12 个质评样本，编号分别为 202001、202002、202003、202004、202005、202006、202007、202008、202009、202010、202011、202012。本次质评样本均为国家卫生健康委临床检验中心制备，为基因工程方法制备的噬菌体病毒样颗粒模拟样本，无生物传染危险性。

12 个质评样本中，进行统计的样本为 10 个，分别为 202001、202002、202004、202005、202006、202007、202008、202010、202011、202012。

2. 预期结果 本次质评样本预期结果和详细信息见表 1。

表 1. 2020 年全国新型冠状病毒核酸检测
室间质量评价样本信息

样本号	2019-nCoV 结果	成分	浓度(copies/mL)
2020001	阴性	SARS	3.0×10^6
2020002	阳性	2019-nCoV	640
2020004	阳性	2019-nCoV	3.2×10^3
2020005	阴性	PBS	
2020006	阴性	NL63	1.6×10^6

2020007	阴性	HKU1	9.4×10^5
		229E	2.7×10^6
2020008	阳性	2019-nCoV	1.6×10^4
2020010	阳性	2019-nCoV	128
2020011	阳性	2019-nCoV	8.0×10^4
2020012	阴性	MERS	1.0×10^4
		OC43	1.0×10^6

注：浓度（copies/mL）采用数字 PCR 定量。

二、检测项目和要求

1. 本次室间质量评价的检测项目是新型冠状病毒核酸定性检测。
2. 本次室间质量评价在向每个参加实验室发送检测样品的同时，附有给实验室的“全国新型冠状病毒核酸检测室间质量评价活动安排及注意事项”和“全国新型冠状病毒核酸检测室间质量评价结果回报表”。

三、实验室回报结果情况

本次共计 1296 家实验室报名，考虑到物流邮寄、自建方法信息的完整性等因素，实际接受报名实验室数共计 889 家，包括疾病预防控制中心、二级或三级公立医疗机构（含综合医院、专科医疗机构、妇幼保健机构）、独立医学实验室、海关所属国际旅行卫生保健中心、试剂研发厂家、科研院所等，共覆盖全国 31 个省份（含自治区、直辖市），具体见表 2。

本次共计收到 855 家实验室的结果，其中有效结果的实验室数为 844 家（即回报结果完整、在截止日期内回报的结果），采用单试剂检测的实验室 759 家，采用两种或两种以上试剂检测的实验室 85 家，不同试剂检测结果 931 份。

表2. 参加实验室分布情况

省份	实验室数
----	------

安徽	23
北京	59
福建	35
甘肃	10
广东	89
广西	11
贵州	10
海南	4
河北	35
河南	30
黑龙江	7
湖北	37
湖南	44
吉林	23
江苏	80
江西	16
辽宁	11
内蒙古	11
宁夏	3
青海	3
山东	57
山西	18
陕西	38
上海	43
四川	35
天津	14
西藏	1
新疆	7
云南	20

浙江	73
重庆	42
总计	889

四、评价原则

“新型冠状病毒核酸检测”室间质量评价的评价原则如下：

1. 假阴性结果：500 个 copies/mL 以上浓度的 2019-nCoV 样本均要求检出，包括 202002、202004、202008 和 202011，未检出为假阴性结果。

2. 假阳性结果：2019-nCoV 阴性样本，包括其它冠状病毒阳性样本，均应报告 2019-nCoV 阴性。报告 2019-nCoV 阳性为假阳性结果。

3. PT 成绩计算： 202010 号样本不计分。

202001、202002、202004、202005、202006、202007、202008、202011、202012 号样本均要求与 2019-nCoV 预期结果相符，完全相符判定为实验室合格；否则，为不合格。采用两种试剂检测的实验室，以最终结果判定实验室成绩是否合格（不单独评价各试剂检测结果）。

五、 PT 成绩情况

PT 成绩合格的实验室，发放定性质评合格证书，证书上显示“质评样本检测所用的试剂”；**双试剂检测的实验室，**仅显示检测结果正确的“质评样本检测所用的试剂”。PT 成绩不合格的实验室，发放质评参加证书；无效结果，不评价，不发放证书。

本次质评中，共计收到 844 家实验室的有效结果（即回报结果完整、在截止日期内回报的结果），其中合格实验室 701 家（83.1%），不合格实验室 143 家（16.9%）。

六、结果统计

(一) 各样本总体符合率和复检率

表 3. 各样本总体符合率和复检率

样本号	2019-nCoV 结果	成分	浓度(copies/mL)	符合率 (符合结果数/回 报结果数)	复检率 (复检结果数/回 报结果数)
2020001	阴性	SARS	3.0×10^6	98.1% (913/931)	13.0% (121/931)
2020002	阳性	2019-nCoV	640	84.9% (790/931)	30.7% (286/931)
2020004	阳性	2019-nCoV	3.2×10^3	94.6% (881/931)	18.0% (168/931)
2020005	阴性	PBS	/	99.5% (926/931)	1.4% (13/931)
2020006	阴性	NL63	1.6×10^6	99.7% (928/931)	7.7% (72/931)

2020007	阴性	HKU1	9.4×10^5	99.4%	4.8%
		229E	2.7×10^6	(925/931)	(45/931)
2020008	阳性	2019-nCoV	1.6×10^4	98.8%	9.1%
				(920/931)	(85/931)
2020010	阳性	2019-nCoV	128	0.6%	/
				(6/931)	
2020011	阳性	2019-nCoV	8.0×10^4	97.3%	5.9%
				(906/931)	(55/931)
2020012	阴性	MERS	1.0×10^4	98.8%	12.2%
		OC43	1.0×10^6	(920/931)	(114/931)

(二) 实验室使用试剂方法情况

1. 提取方法

实验室使用的提取方法包括手工-柱提取法、自动化仪器-柱提取法、手工-磁珠提取法、自动化仪器-磁珠提取法和裂解法。

2. 提取试剂

提取试剂种类较多，来源的试剂厂家包括：国家药品监督管理局（NMPA）批准的新型冠状病毒检测试剂配套的核酸提取试剂，

如北京卓诚惠生生物科技股份有限公司、华大生物科技（武汉）有限公司、迈克生物科技股份有限公司、上海伯杰医疗科技有限公司、上海复星长征医学科学有限公司、上海捷诺生物科技有限公司、上海之江生物科技有限公司、圣湘生物科技股份有限公司、中山大学达安基因股份有限公司；以及其它核酸提取试剂，试剂来源如：罗氏诊断产品(上海)有限公司、上海浩源生物科技有限公司、凯杰企业管理(上海)有限公司、南京中科拜尔医学技术有限公司、广州瑞能医学科技有限公司、广东和信健康科技有限公司、天根生化科技（北京）有限公司、宁波海尔施基因科技有限公司、深圳市汇研科创生物科技有限公司、苏州天隆生物科技有限公司、广州奕昕生物科技有限公司、宝日医生物技术(北京)有限公司、厦门安普利生物工程有限公司、艾康生物技术(杭州)有限公司、厦门致善生物科技股份有限公司、广州美基生物科技有限公司、江苏默乐生物科技股份有限公司、上海科华生物工程股份有限公司、重庆中元生物技术有限公司、赛默飞世尔科技(中国)有限公司、上海星耀医学科技发展有限公司、济凡生物科技(常州)有限公司、洛阳爱森生物科技有限公司、泰普生物科学（中国）有限公司、广州和实生物技术有限公司、山东见微生物科技有限公司、杭州博日科技有限公司、北京康为世纪生物技术有限公司、南京诺唯赞生物技术有限公司、北京金麦格生物技术有限公司等。

3. 检测方法

实验室使用的方法包括实时荧光 RT-PCR、PCR-基因芯片、PCR-飞行时间质谱、转录介导的恒温扩增、数字 PCR 和高通量测序方法（包括宏基因组测序）。

4. 检测试剂

(1) NMPA 批准试剂（按厂家拼音首字母顺序排序）

北京卓诚惠生生物科技股份有限公司、华大生物科技（武汉）有限公司、迈克生物科技股份有限公司、上海伯杰医疗科技有限公司、上海复星长征医学科学有限公司、上海捷诺生物科技有限公司、上海之江生物科技有限公司、圣湘生物科技股份有限公司、中山

大学达安基因股份有限公司。

(2) 自建方法（按厂家拼音首字母顺序排序）

未获得 NMPA 批准的均属于自建方法，其中未批准的商品化试剂包括：安徽鼎晶生物科技有限公司、北京爱普益生物科技有限公司、北京贝尔生物工程股份有限公司、北京博晖创新生物技术股份有限公司、北京金豪制药股份有限公司、北京毅新博创生物科技有限公司、潮州凯普生物化学有限公司、珀金埃尔默医学诊断产品（上海）有限公司、江苏硕世生物科技股份有限公司、江苏医联生物科技有限公司、苏州天隆生物科技有限公司、陕西佰美基因股份有限公司、上海辉睿生物科技有限公司、上海仁度生物科技有限公司、深圳市普瑞康生物技术有限公司、深圳生科原生物股份有限公司、武汉中帜生物科技股份有限公司、厦门安普利生物工程股份有限公司、卡尤迪生物科技（北京）有限公司等；此外，还包括 32 家不同实验室自建方法（实验室自行配制）。

(三) 各样本不同方法检测结果符合率和复检率

不同方法对 202011、202008、202004 和 202002 号样本的符合率和复检率见表 4。

表4. 各阳性样本不同方法检测结果符合率和复检率

方法名称	回报结果数	202011 80000 copies/mL		202008 16000 copies/mL		202004 3200 copies/mL		202002 640 copies/mL	
		符合率	复检率	符合率	复检率	符合率	复检率	符合率	复检率

实时荧光 RT-PCR	908	97.4% (884/908)	5.9% (54/908)	98.8% (897/908)	9.3% (84/908)	95.2% (864/908)	18.3% (166/908)	85.1% (773/908)	31.2% (283/908)
转录介导的恒温扩增	5	100.0% (5/5)	0	100.0% (5/5)	0	100.0% (5/5)	20.0% (1/5)	60.0% (3/5)	40.0% (2/5)
高通量测序	10	90.0% (9/10)	10.0% (1/10)	100.0% (10/10)	10.0% (1/10)	80.0% (8/10)	10.0% (1/10)	90.0% (9/10)	10.0% (1/10)
PCR-飞行时间质谱	3	100.0% (3/3)	0	100.0% (3/3)	0	100.0% (3/3)	0	100.0% (3/3)	0
PCR-基因芯片	5	100.0% (5/5)	0	100.0% (5/5)	0	20.0% (1/5)	0	40.0% (2/5)	0

注：实验室基本上都使用实时荧光 RT-PCR 方法，其它方法由于回报结果少，100%符合也不能说明该方法具有优越性。

表5. 各阴性样本不同方法检测结果符合率和复检率

方法名称	回报结果数	202001 SARS		202005 PBS		202006 NL63		202007 HKU1/229E		202012 MERS/OC43	
		符合率	复检率	符合率	复检率	符合率	复检率	符合率	复检率	符合率	复检率
实时荧光 RT-PCR	908	98.3%	13.0%	99.7%	1.3%	99.9%	7.6%	99.6%	4.8%	98.8%	12.2%

		(893/908)	(118/908)	(905/908)	(12/908)	(907/908)	(69/908)	(904/908)	(44/908)	(897/908)	(111/908)
转录介导的恒温扩增	5	100% (5/5)	40.0% (2/5)	100% (5/5)	0	100% (5/5)	40.0% (2/5)	100% (5/5)	0	100% (5/5)	40.0% (2/5)
高通量测序	10	100% (10/10)	10.0% (1/10)	100% (10/10)	10.0% (1/10)	100% (10/10)	10.0% (1/10)	100% (10/10)	10.0% (1/10)	100% (10/10)	10.0% (1/10)
PCR-飞行时间质谱	3	66.7% (2/3)	0	100% (3/3)	0	100% (3/3)	0	100% (3/3)	0	100% (3/3)	0
PCR-基因芯片	5	60.0% (3/5)	0	60.0% (3/5)	0	60.0% (3/5)	0	60.0% (3/5)	0	100% (5/5)	0

注：核酸检测的假阳性通常由于标本间交叉污染和实验室扩增产物遗留污染，但也可能是由特定试剂引物探针本身的特异性问题所致。

（四）各样本不同试剂检测结果符合率和复检率

1. 阳性样本检测结果的符合率和复检率

不同试剂对 202011、202008、202004 和 202002 号样本的符合率和复检率见表 6，202010 号样本（128 copies/mL）共计 6 家实验室检出，2 家为圣湘生物、2 家为达安基因、2 家为自建方法（实时荧光 PCR、数字 PCR 法各 1 家）。

表6. 各阳性样本不同试剂检测结果符合率和复检率

试剂厂家	检测下限 (copies/mL)	回 报 结 果 数	202011 80000 copies/mL		202008 16000 copies/mL		202004 3200 copies/mL		202002 640 copies/mL	
			符合率	复检率	符合率	复检率	符合率	复检率	符合率	复检率
NMPA 批准试剂										
所有厂家	100-1000	823	97.2% (800/823)	5.2% (43/823)	98.9% (814/823)	7.9% (65/823)	95.4% (785/823)	16.8% (138/823)	85.9% (707/823)	29.6% (244/823)
北京卓诚 惠生	200	20	100% (20/20)	5.0% (1/20)	100% (20/20)	10.0% (2/20)	90.0% (18/20)	25.0% (5/20)	75.0% (15/20)	30.0% (6/20)
华大生物	100	34	97.1% (33/34)	0	100% (34/34)	0	100 % (34/34)	0	97.1% (33/34)	11.8% (4/34)
迈克生物	1000	1	100% (1/1)	0	100% (1/1)	0	100% (1/1)	0	100% (1/1)	0
上海伯杰	1000	104	97.1% (101/104)	11.5% (12/104)	97.1% (101/104)	24.0% (25/104)	88.5% (92/104)	41.3% (43/104)	76.9% (80/104)	50.0% (52/104)
上海复星	300	4	100%	0	75.0%	0	75.0%	0	100%	25.0%

			(4/4)		(3/4)		(3/4)		(4/4)	(1/4)
上海捷诺	500	12	91.7% (11/12)	33.3% (4/12)	100% (12/12)	33.3% (4/12)	58.3% (7/12)	41.7% (5/12)	58.3% (7/12)	41.7% (5/12)
上海之江	1000	166	98.2% (163/166)	3.0% (5/166)	98.2% (163/166)	4.2% (7/166)	92.8% (154/166)	9.6% (16/166)	74.1% (123/166)	19.3% (32/166)
圣湘生物	200	258	97.3% (251/258)	5.4% (14/258)	100% (258/258)	7.0% (18/258)	100% (258/258)	11.2% (29/258)	96.9% (250/258)	15.5% (40/258)
中山达安	500	224	96.4% (216/224)	3.1% (7/224)	99.1% (222/224)	4.0% (9/224)	97.3% (218/224)	17.9% (40/224)	86.6% (194/224)	46.4% (104/224)
自建方法										
所有厂家	10-1000	108	98.1% (106/108)	11.1% (12/108)	98.1% (106/108)	18.5% (20/108)	88.9% (96/108)	27.8% (30/108)	76.9% (83/108)	38.9% (42/108)
潮州凯普	1000	12	100% (12/12)	0	100% (12/12)	8.3% (1/12)	100% (12/12)	16.7% (2/12)	100% (12/12)	75.0% (9/12)
江苏硕世	1000	33	100% (33/33)	27.3% (9/33)	100% (33/33)	39.4% (13/33)	90.9% (30/33)	39.4% (13/33)	60.6% (20/33)	39.4% (13/33)

苏州天隆	500	4	75.0% (3/4)	0	75.0% (3/4)	25.0% 1/4	75.0% (3/4)	50.0% (2/4)	75.0% (3/4)	75.0% (3/4)
自建方法 (商品化,≤3家)	30-1000	27	100% (27/27)	3.7% (1/27)	100% (27/27)	11.1% (3/27)	92.6% (25/27)	25.9% (7/27)	74.1% (20/27)	33.3% (9/27)
自建方法 (未注明厂家)	10-1000	22	100% (22/22)	4.5% (1/22)	95.5% (21/22)	4.5% (1/22)	81.8% (18/22)	22.7% (5/22)	86.4% (19/22)	31.8% (7/22)
自建方法 (NGS)	100/未评价	10	90.0% (9/10)	10.0% (1/10)	100% (10/10)	10.0% (1/10)	80.0% (8/10)	10.0% (1/10)	90.0% (9/10)	10.0% (1/10)

2. 阴性样本检测结果的符合率和复检率

不同试剂对阴性样本检测结果的符合率和复检率见表 7。

表7. 各阴性样本不同试剂检测结果符合率和复检率

试剂厂家	回报结果数	202001 SARS	202005 PBS	202006 NL63	202007 HKU1/229E	202012 MERS/OC43
------	-------	----------------	---------------	----------------	---------------------	---------------------

		符合率	复检率	符合率	复检率	符合率	复检率	符合率	复检率	符合率	复检率
NMPA 批准试剂											
所有厂家	823	98.5% (811/823)	13.9% (114/823)	99.9% (822/823)	1.2% (10/823)	99.9% (822/823)	8.0% (66/823)	99.8% (821/823)	5.0% (41/823)	99.0% (815/823)	12.8% (105/823)
北京卓诚 惠生	20	100% (20/20)	5.0% (1/20)	100% (20/20)	0 (0/20)	100% (20/20)	0 (0/20)	100% (20/20)	0 (0/20)	100% (20/20)	0 (0/20)
华大生物	34	100% (34/34)	0 (0/34)	97.1% (33/34)	2.9% (1/34)	100% (34/34)	0 (0/34)	97.1% (33/34)	0 (0/34)	100% (34/34)	2.9% (1/34)
迈克生物	1	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)	0 (0/1)	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)	0 (0/1)	100% (1/1)	100% (1/1)
上海伯杰	104	100% (104/104)	1.9% (2/104)	100% (104/104)	1.9% (2/104)	100% (104/104)	1.9% (2/104)	100% (104/104)	2.9% (3/104)	100% (104/104)	1.9% (2/104)
上海复星	4	100% (4/4)	0 (0/4)	100% (4/4)	0 (0/4)	100% (4/4)	0 (0/4)	100% (4/4)	0 (0/4)	100% (4/4)	0 (0/4)
上海捷诺	12	100% (12/12)	8.3% (1/12)	100% (12/12)	8.3% (1/12)	100% (12/12)	8.3% (1/12)	100% (12/12)	8.3% (1/12)	100% (12/12)	8.3% (1/12)

上海之江	166	92.8% (154/166)	61.4% (102/166)	100% (166/166)	0	99.4% (165/166)	34.3% (57/166)	99.4% (165/166)	18.1% (30/166)	97.6% (162/166)	54.8% (91/166)
圣湘生物	258	100% (258/258)	1.2% (3/258)	100% (258/258)	0.8% (2/258)	100% (258/258)	0.4% (1/258)	100% (258/258)	1.2% (3/258)	98.8% (255/258)	1.2% (3/258)
中山达安	224	100% (224/224)	1.8% (4/224)	100% (224/224)	1.8% (4/224)	100% (224/224)	1.8% (4/224)	100% (224/224)	1.8% (4/224)	99.6% (223/224)	2.7% (6/224)
自建方法											
所有试剂	108	94.4% (102/108)	6.5% (7/108)	96.3% (104/108)	2.8% (3/108)	98.1% (106/108)	5.6% (6/108)	96.3% (104/108)	3.7% (4/108)	97.2% (105/108)	8.3% (9/108)
潮州凯普	12	100% (12/12)	0	100% (12/12)	0	100% (12/12)	0	100% (12/12)	0	100% (12/12)	0
江苏硕世	33	100% (33/33)	3.0% (1/33)	100% (33/33)	3.0% (1/33)	100% (33/33)	3.0% (1/33)	100% (33/33)	6.1% (2/33)	100% (33/33)	3.0% (1/33)
苏州天隆	4	100% (4/4)	0	100% (4/4)	0	100% (4/4)	0	100% (4/4)	0	100% (4/4)	0
自建方法 (商品)	27	92.6% (25/27)	11.1% (3/27)	100% (27/27)	0	100% (27/27)	7.4% (2/27)	96.3% (26/27)	0	96.3% (26/27)	11.1% (3/27)

化,≤3 家)											
自建方法 (未注明 厂家)	22	81.8% (18/22)	9.1% (2/22)	81.8% (18/29)	4.5% (1/22)	90.9% (20/22)	9.1% (2/22)	86.4% (19/22)	4.5% (1/22)	90.9% (20/22)	18.2% (4/22)
自建方法 (NGS)	10	100% (10/10)	10.0% (1/10)	100% (10/10)	10.0% (1/10)	100% (10/10)	10.0% (1/10)	100% (10/10)	10.0% (1/10)	100% (10/10)	10.0% (1/10)

注：核酸检测的假阳性通常由于标本间交叉污染和实验室扩增产物遗留污染，但也可能是由特定试剂引物探针本身的特异性问题所致。

3. 不同试剂厂家阳性结果的各靶区域检测情况

202011、202008、202004 和 202002 号样本，不同试剂厂家（回报结果数>10），各靶区域检测情况（初检结果）见表 8~表 11。

表 8. 不同试剂厂家阳性结果的变异系数(202011, 回报结果数>10)

试剂厂家	ORF (Ct 值)			ORF (定性)	N (Ct 值)			N (定性)	E (Ct 值)			E (定性)
	均值	SD	CV(%)	阳性率	均值	SD	CV(%)	阳性率	均值	SD	CV(%)	阳性率
北京卓诚惠生	35.8	2.6	7.3	100% (20/20)	32.1	3.0	9.3	100% (20/20)	33.2	1.3	3.9	60.0% (12/20)

华大生物	31.0	1.5	4.8	97.1% (33/34)								
上海伯杰	34.1	1.6	4.7	90.4% (94/104)	32.7	1.7	5.2	97.1% (101/104)				
上海捷诺	33.0	3.7	11.2	50.0% (6/12)	33.6	2.0	6.0	83.3% (10/12)				
上海之江	34.8	2.0	5.7	98.2% (163/166)	36.4	2.1	5.8	21.1% (35/166)	33.4	2.2	6.6	95.8% (159/166)
圣湘生物	34.8	3.2	9.2	81.4% (210/258)	32.2	3.2	9.9	96.5% (249/258)				
中山达安	35.2	2.4	6.8	93.8% (210/224)	33.8	2.1	6.2	93.8% (210/224)				
潮州凯普	37.2	1.2	3.2	100% (12/12)	33.2	1.5	4.5	100% (12/12)				
江苏硕世	34.9	2.2	6.3	90.9% (30/33)	32.5	2.4	7.4	100% (33/33)	34.6	2.6	7.5	100% (4/4)

表 9. 不同试剂厂家阳性结果的变异系数(202008, 回报结果数>10)

试剂厂家	ORF (Ct 值)			ORF (定性)	N (Ct 值)			N (定性)	E (Ct 值)			E (定性)
	均值	SD	CV(%)	阳性率	均值	SD	CV(%)	阳性率	均值	SD	CV(%)	阳性率
北京卓诚惠生	36.4	1.6	4.4	65.0% (13/20)	34.1	2.3	6.7	100% (20/20)	34.0	2.8	8.2	65.0% (13/20)
华大生物	33.0	1.6	4.8	97.1% (33/34)								
上海伯杰	35.4	2.4	6.8	79.8% (83/104)	34.3	1.4	4.1	99.0% (103/104)				
上海捷诺	34.8	2.0	5.7	50% (6/12)	34.0	1.2	3.5	83.3% (10/12)				
上海之江	36.0	1.6	4.4	97.0% (161/166)	37.7	2.2	5.8	22.9% (38/166)	34.6	1.9	5.5	95.8% (159/166)
圣湘生物	36.0	3.2	8.9	78.3% (202/258)	33.2	3.2	9.6	99.2% (256/258)				

中山达安	36.6	2.1	5.7	93.3% (209/224)	35.0	3.6	10.2	96.9% (217/224)				
潮州凯普	37.7	0.8	2.1	91.7% (11/12)	34.4	1.3	3.8	100% (12/12)				
江苏硕世	36.0	2.4	6.7	81.8% (27/33)	34.0	2.1	6.2	100% (33/33)	36.6	1.5	4.1	75.0% (3/4)

表 10. 不同试剂厂家阳性结果的变异系数(202004, 回报结果数>10)

试剂厂家	ORF (Ct 值)			ORF (定性)	N (Ct 值)			N (定性)	E (Ct 值)			E (定性)
	均值	SD	CV(%)	阳性率	均值	SD	CV(%)	阳性率	均值	SD	CV(%)	阳性率
北京卓诚惠生	35.8	1.7	4.7	35.0% (7/20)	35.0	2.2	6.3	85.0% (17/20)	36.2	1.2	3.3	66.7% (8/20)
华大生物	34.6	1.8	5.2	98.0% (33/34)								
上海伯杰	36.0	1.4	3.9	49.0%	35.8	1.3	3.6	91.4%				

				(51/104)				(95/104)				
上海捷诺	40.2	4.5	11.2	16.2% (2/12)	36.0	1.9	5.3	58.3% (7/12)				
上海之江	37.0	1.7	4.6	88.6% (147/166)	38.6	1.9	5.0	18.1% (30/166)	35.7	2.2	6.2	86.1% (143/166)
圣湘生物	36.9	2.2	6.0	57.0% (147/258)	35.5	2.3	6.5	98.8% (255/258)				
中山达安	38.1	1.6	4.2	77.2% (173/224)	36.9	1.9	5.1	93.3% (209/224)				
潮州凯普	39.1	0.4	1.0	66.7% (8/12)	36.8	0.8	2.2	91.7% (11/12)				
江苏硕世	36.8	1.5	4.1	48.5% (16/33)	35.8	2.2	6.1	90.9% (30/33)	37.3	0.4	1.1	75.0% (3/4)

表 11. 不同试剂厂家阳性结果的变异系数(202002, 回报结果数>10)

试剂厂家	ORF (Ct 值)	ORF (定性)	N (Ct 值)	N (定性)	E (Ct 值)	E (定性)
------	------------	----------	----------	--------	----------	--------

	均值	SD	CV(%)	阳性率	均值	SD	CV(%)	阳性率	均值	SD	CV(%)	阳性率
北京卓诚惠生	37.6	2.0	5.3	20.0% (4/20)	35.9	2.5	7.0	75.0% (15/20)	36.4	2.1	5.8	45.0% (9/20)
华大生物	36.2	2.2	6.1	94.1% (32/34)								
上海伯杰	36.2	1.7	4.7	29.8% (31/104)	36.4	1.2	3.3	81.7% (85/104)				
上海捷诺	37.1	0	0	8.3% (1/12)	36.5	1.8	4.9	58.3% (7/12)				
上海之江	37.5	1.8	4.8	70.5% (117/166)	38.5	2.5	6.5	11.4% (19/166)	35.9	2.4	6.7	49.40% (82/166)
圣湘生物	37.4	2.0	5.3	43.8% (113/258)	36.4	2.4	6.6	96.1% (248/258)				
中山达安	38.2	1.7	4.4	46.0% (103/224)	37.6	1.8	4.8	73.2% (164/224)				
潮州凯普	40.2	0	0	8.3% (1/12)	37.6	1.2	3.2	100% (12/12)				

江苏硕世	36.0	2.9	8.0	39.4% (13/33)	37.3	1.6	4.3	51.5% (17/33)				
------	------	-----	-----	------------------	------	-----	-----	------------------	--	--	--	--

七、对本次室间质评的说明

本次“全国新型冠状病毒核酸检测室间质量评价”主要评价实验室对2019-nCoV核酸检测的能力，重点考察实验室检测的分析性能，包括分析敏感性和分析特异性。

室间质评采用基因工程方法建立的噬菌体病毒样颗粒模拟样本（本实验室制备），无生物传染危险性。该样本适用于NMPA批准的新型冠状病毒核酸检测试剂，19种未批准的商品化试剂和32家不同实验室自建方法。

本次质评，共计844家实验室回报有效结果，实验室总体检测情况良好，合格实验室701家（83.1%）。同时也反映出一些问题，具体如下。

（一）假阴性结果

本次质评含有5份阳性样本，分别为 8×10^4 copies/mL， 1.6×10^4 copies/mL， 3.2×10^3 copies/mL，640 copies/mL和128 copies/mL。临床研究表明，呼吸道和非呼吸道样本中新型冠状病毒载量平均为 3.21×10^4 copies/mL（ $2.21 \times 10^2 \sim 4.71 \times 10^5$ copies/mL），呼吸道样本中新型冠状病毒载量平均为 4.33×10^4 copies/mL^[1]。另一研究表明，痰液样本浓度较高（中位数 7.52×10^5 copies/mL），咽拭子样本浓度较低（中位数 7.99×10^4 copies/mL）^[2]。由于能获取痰液的患者有限，临床上鼻咽拭子采样更为普遍。因此，本质评样本基本符合临床样本中病毒载量的情况。

本次质评要求实验室能够检出 8×10^4 copies/mL， 1.6×10^4 copies/mL， 3.2×10^3 copies/mL，640 copies/mL四个浓度水平的样本。各临床实验室在 1.6×10^4 copies/mL以上浓度水平，符合率均可以达到97%以上，主要的问题存在于对 3.2×10^3 copies/mL和640 copies/mL两个弱阳性样本检出能力。导致检测假阴性的原因涉及核酸提取和检测两个过程。

1. 核酸提取试剂

尽管实验室一般会很关注检测试剂的性能，但实际上核酸提取试剂的质量也是检测成功的关键环节之一。本次质评中实验室使用的核酸提取方法包括手工-柱提取法、手工-磁珠提取法、自动化仪器-柱提取法、自动化仪器-磁珠提取法和一步法等，各实验室使用的核酸提取试剂种类超过40种。

各检测试剂均存在与多个核酸提取试剂搭配使用的情况。以使用“中山大学达安基因股份有限公司核酸检测试剂”的224家实验室为例，涉及多达23种不同

厂家、不同原理的核酸提取试剂，来源于圣湘生物、志昂生物、罗氏、达安基因、南京中科拜尔、广州瑞能、广东和信、深圳汇研科创、中元生物、江苏硕世、广州奕昕、上海之江、艾康生物、厦门致善、上海科华、西安天隆、常州济凡、洛阳爱森、泰普生物、Genolution、美基、QIAamp、康为世纪等厂家。各核酸提取试剂的磁珠吸附效率、用于核酸提取的样本量、洗脱体积也各有不同。以磁珠法提取为例，提取试剂 A 用于核酸提取的样本量是 200 μ L，洗脱体积为 30 μ L；提取试剂 B 用于核酸提取的样本量是 200 μ L，洗脱体积为 100 μ L，因此，即使两种提取试剂磁珠吸附效率相同，试剂 A 提取核酸浓度有可能是试剂 B 的 3 倍。在质评中，还有个别实验室使用丙型肝炎病毒提取试剂盒、血液组织细胞核酸提取试剂盒等进行新型冠状病毒核酸的提取。**核酸检测从提取到完成扩增检测是一个体系，但是如此多的核酸提取试剂，各种不同的操作程序，各实验室的检测体系实际上并不相同。因此，即使采用同一核酸检测试剂，但由于核酸提取试剂的不同，检测的分析敏感性也必然会存在差异。**

相同核酸提取纯化试剂，各实验室的检测程序也有所不同。使用“中山大学达安基因股份有限公司核酸检测试剂”的 224 家实验室，58 家使用配套的“达安基因核酸提取纯化试剂”，各实验室使用的核酸提取的样本量均为 200 μ L，但洗脱体积包括 40、50、60、80、90 和 100 μ L 等。

2. 核酸检测

(1) 实验室：各实验室人员提取的操作能力存在差异，个别实验室所有阳性样本均未检出。造成这一结果的主要原因，很可能是人员操作的问题，当然也不排除核酸提取试剂某一批次质量存在问题的可能性。部分实验室尽管检出阳性样本，但是从报告的 Ct 值来看，实际上也存在较大差异。以浓度最高的 202011 样本为例，对 ORF 区和 N 区检测的变异系数分别为 3.2%~11.2%，4.5%~9.9%。以使用圣湘生物试剂的实验室为例，N 区检测 Ct 值最小为 29.6，最大为 39.9。不同操作人员能力和仪器设备状态可能是影响结果的重要因素之一。如，有实验室初检 ORF 区的 Ct 值为 39，复检为 32，原因为第二次检测为更有经验的操作人员进行，且更换了一台实时荧光定量 PCR 仪。说明两次结果的明显差异，很可能是由于人员操作能力不同和仪器设备的状态有关。实验室应切实加强人员培训和仪器设备的日常维护和定期校准。

一些实验室在检测过程中缺乏质量控制。例如，少数实验室认为阳性结果应该与试剂盒阳性对照检测的 Ct 值相似，并且认为试剂盒阴阳性对照正常，实验结果一定正常，但是试剂盒中的阳性对照，多为较强的样本，而且多不需要提取，直接加入反应体系扩增，无法监测实验室核酸提取环节的有效性。实验室在检测过程中没有使用弱阳性样本进行室内质控，也导致无法保证对弱阳性样本检测结果的可靠性。

一些实验室对单靶标阳性样本解读的能力不足，这部分实验室多开展临床检测时间不长，或者地区流行率低，日常检出阳性样本数极少。实验室在检测质评样本时遇到一定比例单靶标阳性的结果（以 N 区单靶标居多），部分实验室不清楚单靶标如何进行判读，甚至认为单靶标是异常结果。使用相同试剂的实验室对单靶标的处理方式也不同。以使用上海伯杰试剂的实验室为例，实验室使用的复检规则有三种情况：双靶标均阳性、复检后单靶标结果和初检一致、ORF1ab 或 N 区阳性。对于单靶标阳性的样本来说，判读规则不同，必然造成对单靶标阳性结果判读（阴性/阳性）的差异，这也是造成本次质评中假阴性结果的原因之一。国家卫生健康委发布的“新型冠状病毒肺炎实验室检测技术指南”（第五版）中指出：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^[3]。但是当试剂盒说明书的判定规则和指南存在不一致的情况，实验室对如何进行单靶标判读存在困惑。

2. 核酸检测试剂：97.5%（908/931）的回报结果使用实时荧光 PCR 法，各试剂的分析敏感性存在差异。 NMPA 批准的试剂各阳性样本（ 8×10^4 copies/mL， 1.6×10^4 copies/mL， 3.2×10^3 copies/mL，640 copies/mL）检测的符合率总体好于使用自建方法的实验室。各检测试剂宣称的分析性能有所不同，从回报结果数>10 份的试剂来看，北京卓诚惠生、华大生物、上海伯杰、上海捷诺、上海之江、圣湘生物和中山达安宣称的分析敏感性分别为 200、100、1000、500、1000、200 和 500 copies/mL，使用这些试剂的试剂对 3200 copies/mL 浓度样本检测的符合率分别为 90%（18/20），100%（34/34），88.5%（92/104），58.3%（7/12），92.8%（154/166），100%（258/258），97.3%（218/224）；对 640 copies/mL 浓度样本检测的符合率分别为 75.0%（15/20），97.1%（33/34），76.9%（80/104），58.3%（7/12），74.1%（123/166），96.9%（250/258），86.6%（194/224）。未获得 NMPA 批准的

试剂使用实验室数相对较少，部分自建方法没有进行分析性能的评价。

各试剂不同靶区域的敏感性也存在差异。本次质评样本为 ORF 区和 N 区连接在一起的病毒样颗粒，因此 ORF 和 N 区的数量是完全一致的，但是试剂对两个区域检测的阳性率差异明显。以回报结果数>10 份的试剂来看，总的来说，N 区的阳性率高于 ORF 区，样本越弱，这一现象越显著。以上海伯杰为例，各阳性样本（ 8×10^4 copies/mL， 1.6×10^4 copies/mL， 3.2×10^3 copies/mL，640 copies/mL）N 区阳性率分别为 97.1%（101/104）、99.0%（103/104）、91.4%（95/104）和 81.7%（85/104）；ORF 区阳性率分别为 90.4%（94/104）、79.8%（83/104）、49.0%（51/104）和 29.8%（31/104）。其它各试剂均有不同程度的 N 区更敏感的现象。

目前各试剂有单靶标、双靶标和三靶标检测的方式，表 12 中列出室间质评中报告的 NMPA 批准试剂检测靶区域和判读的标准。其中，华大生物为单靶标检测；上海伯杰、上海捷诺、湖南圣湘和达安基均为双靶标检测；北京卓诚惠生、迈克生物、上海复星和上海之江为三靶标检测。判定规则方面，以三靶标检测试剂为例，有的试剂要求其中两个靶基因同时阳性才能判定阳性；有的试剂要求其中两个靶基因同时阳性（其中 ORF1ab 必须为阳性）才能判定阳性；有的试剂要求初检两个靶基因同时阳性（其中 ORF1ab 必须为阳性）才能判定阳性，但是复检如果 ORF1ab 单独阳性也可以判定阳性，如果 ORF1ab 为阴性，即使 N 和 E 均为阳性，也不能判定 2019-nCoV 阳性。靶标数量和判定规则和试剂建立时方法学总体设计（包括引物、探针和检测区域）的选择有关，尽管不能一概而论哪种方式最为合适，但是试剂厂家应该建立在一定的科学和实验数据的基础上，建立试剂方法。**在疫情初期临床病例数不足，方法设计尚无法进行充分的验证。但是在现阶段，试剂厂家应该已有一定数量的临床数据，用来论证一些方法设计的依据是否科学。**比如，要求两个靶基因同时阳性，那么单个靶基因阳性的样本，其中假阳性的比例有多少？造成假阳性的原因是什么？单靶标阳性必须要复检一致，才能判定阳性，那么如果不复检，会造成假阳性的比例有多少？造成假阳性的原因是什么？双靶标或者三靶标检测的作用，主要是为了提高检测的敏感性还是特异性？是否存在多引物探针之间的竞争或者干扰？单靶标阳性的原因是什么？

表 12. 室间质评中报告的 NMPA 批准试剂检测靶区域和判读标准（按厂家拼音首字母顺序排序）

试剂名称	阳性判断标准			阴性判断标准	可疑判断标准	复检规则
	ORF1ab	N 区	E 区			
北京卓诚惠生	ORF1ab、N、E 其中 2 个或 3 个(+)			一个靶基因 (+) 或三靶均 (-)	靶基因 38< Ct 值 <40（双靶阳性无 需复检）	Ct 值<40，且具有 S 型扩增 曲线，则靶基因为阳性； Ct 值≥40，则靶基因为阴性。
华大生物	(+)	无	无	ORF1ab (-)	Ct 值>38，且有明 显的 S 型扩增曲线	若复检结果一致，判为阳性； 若复检检测曲线不呈 S 曲线或 无 Ct 值，且内参 Ct 值≤32，判 为阴性。
迈克生物	ORF1ab(+)且 N、E 至少一个(+)			三靶均 (-)	仅有 ORF1ab 基因 阳性；仅 N 或/和 E 阳性。	ORF1ab 为(+)且 E 基因和/或 N 基因(+), 则判为 2019-nCoV 阳性；否则为“可疑”。
上海伯杰	(+)	(+)	无	双靶均 (-)	ORF1ab 和 N 基因 单靶点阳性	痰液标本若复测后，ORF1ab 和 N 基因均为阳性则结果判读为 阳性，否则为阴性；口咽拭子

						和鼻咽拭子，建议采集痰液标本进行复测，ORF1ab 和 N 基因均为阳性则结果判读为阳性，否则为阴性
上海复星	ORF1ab、N、E 其中 2 个或 3 个(+)			三靶均 (-)	仅有 ORF1ab 基因阳性	复检结果一致判为阳性，复检均为阴性，判为阴性。
上海捷诺	(+)	(+)	无	双靶均 (-)	靶基因 37 ≤ Ct 值 < 40; ORF1ab 和 N 基因单靶点阳性	靶基因重新检测为 < 37，则为阳性，否则为阴性；至少一个基因为阳性，则判为阳性
上海之江	ORF1ab (+) 且 N、E 至少一个 (+)			三靶均 (-)	仅 ORF1ab 基因阳性；仅 N 基因或 E 基因阳性，ORF1ab 阴性	ORF1ab 重复阳性，判为阳性；若 E 基因阳性或 N 基因阳性，ORF1ab 基因阴性时，重复测定后为阳性，则可能是其他近源的冠状病毒。
湖南圣湘	ORF1ab 或 N (+)		无	双靶均 (-)	无	无
中山达安	(+)	(+)	无	双靶均 (-)	ORF1ab 和 N 基因单靶点阳性	复检结果一致判为阳性，复检均为阴性，判为阴性。

（二）假阳性结果

本次质评含有 5 份 2019-nCoV 阴性样本，分别为 2020001（SARS），2020005（PBS），2020006（NL63），2020007（HKU1 和 229E）以及 202012（MERS 和 OC43），主要考核检测的特异性以及是否存在实验室污染（扩增产物遗留污染和操作造成标本间交叉污染）。2020001、2020005、2020006、2020007 和 202012 的符合率分别为 98.1% (913/931)、99.5% (926/931)、99.7% (928/931)、99.4% (925/931) 和 98.8% (920/931)。

从质评结果来看，假阳性率较低，出现 2 例或 2 例以上假阳性的实验室共 7 家（0.8%，7/844）。实验室污染（扩增产物遗留污染和标本间交叉污染）在少数实验室存在。部分试剂存在和其它冠状病毒的交叉反应。202001（SARS）号样本，一共出现 18 例假阳性结果，其中 66.7%（12/18）来自使用上海之江试剂的实验室，例如某实验室使用 P20200301 批号的试剂，ORF 和 N 区的 Ct 值分别达到 29.6 和 29.9，为较强阳性。此外，22.2%（4/18）来自于自建方法实验室，11.1%（2/18）来自使用未批准的商品化试剂实验室，由于这部分实验室较少，且某些方法未报告数值，不能确定假阳性来自于试剂盒交叉反应或者实验室污染。NL63、HKU1、229E 等冠状病毒未发现交叉反应。

综上所述，我国目前临床实验室对 2019-nCoV 核酸检测能力较强，同时也存在需要改进的方面，建议各试剂厂家根据目前临床应用情况，总结临床性能的数据；自建方法应加强对试剂性能的评价；临床实验室在开展检测前或更换试剂批号时，应进行性能验证，以发现不同试剂批号存在的差异以及验证实验室检测能力；临床实验室应使用参与核酸提取过程的弱阳性样本和多份（如 3 份）阴性样本，进行室内质量控制，以有效监测实验室对弱阳性样本的检测能力和实验室污染；临床实验室人员应加强实验操作和结果解读能力的人员培训。

全国新型冠状病毒核酸检测室间质评证书将于 2020 年 4 月 2 日前发放

（物流：顺丰），不接受电话成绩查询。感谢您对我们工作的支持！

参考文献:

1. Chan JF, Yip CC, To KK, et al. Improved molecular diagnosis of COVID-19 by the novel, highly sensitive and specific COVID-19-RdRp/Hel real-time reverse transcription-polymerase chain reaction assay validated in vitro and with clinical specimens. *Journal of clinical microbiology*. 2020 Mar 4. doi: 10.1128/jcm.00310-20.
2. Pan Y, Zhang D, Yang P, et al. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *The Lancet Infectious diseases*. 2020 Feb 24. doi: 10.1016/s1473-3099(20)30113-4.
3. 中华人民共和国卫生健康委员会. 国家卫生健康委办公厅关于印发新型冠状病毒肺炎防控方案(第五版)的通知. 国卫办疾控函(2020)156号. [EB/OL]. (2020-02-21)