

JJF(闽)1158—2024

JJF

福建省地方计量技术规范

JJF(闽)1158—2024

快速核酸检测仪校准规范

Calibration Specification for Rapid Nucleic Acid Detector

2024-05-30 发布

2024-08-30 实施

福建省市场监督管理局 发布

快速核酸检测仪校准规范

Calibration Specification for Rapid Nucleic
Acid Detector

JJF (闽) 1158—2024

归口单位：福建省市场监督管理局
主要起草单位：漳州市计量所
福建省计量科学研究院
参加起草单位：杭州优思达生物技术有限公司

本规范委托福建省计量规范技术委员会负责解释

本规范主要起草人：

刘艺专（漳州市计量所）

刘 萍（福建省计量科学研究院）

谢晓梅（漳州市计量所）

参加起草人：

苏黎丽（福建省计量科学研究院）

刘林斌（漳州市计量所）

林艺志（杭州优思达生物技术有限公司）

福建省计量规范技术委员会

目 录

引言	(II)
1 范围	(1)
2 引用文件	(1)
3 术语	(1)
3.1 核酸	(1)
3.2 温度偏差	(1)
3.3 温度波动度	(1)
3.4 平均升温速率	(1)
3.5 平均降温速率	(1)
3.6 温度持续时间	(1)
3.7 样本检出限	(1)
3.8 样本检测重复性	(1)
4 概述	(2)
5 计量特性	(2)
6 校准条件	(2)
6.1 环境条件	(2)
6.2 测量标准及其它设备	(2)
7 校准项目和校准方法	(3)
7.1 校准项目	(3)
7.2 温度校准方法	(3)
7.3 样本校准方法	(5)
8 校准结果表达	(5)
9 校准时间间隔	(6)
附录 A 标准物质的准备及稀释配制 (示例)	(7)
附录 B 快速核酸检测仪校准记录 (式样)	(8)
附录 C 快速核酸检测仪校准证书内页 (式样)	(10)
附录 D 快速核酸检测仪温度偏差校准结果不确定度评定 (示例)	(11)

引 言

本规范是以 JJF1001-2011《通用计量术语及定义》、JJF1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》和 JJF1071-2010《国家计量校准规范编写规则》为基础性系列规范进行编写。

本规范参考 JJF 1265-2022《生物计量术语及定义》、JJF 1527-2015《聚合酶链反应分析仪校准规范》、YY/T 1173-2010《聚合酶链反应分析仪》编制而成。

本规范为首次制定。

福建省计量规范技术委员会

快速核酸检测仪校准规范

1 范围

本规范适用于恒温基因扩增技术的快速核酸检测仪的校准，其他类似设备也可参照本规范进行校准。

2 引用文件

本规范引用下列文件：

JJF 1265—2022 生物计量术语及定义

JJF 1527—2015 聚合酶链反应分析仪校准规范

YYT 1173—2010 聚合酶链反应分析仪

凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本规范；凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本规范。

3 术语

3.1 核酸 nucleic acid

脱氧核糖核酸（DNA）和核糖核酸（RNA）的总称。由核苷酸或脱氧核苷酸通过3'，5' - 磷酸二酯键连接而成的一类生物大分子。

3.2 温度偏差 temperature deviation

恒温状态下模块内实测温度平均值与设定温度之差。

3.3 温度波动度 temperature fluctuation

恒温状态下模块内实测温度随时间的变化量。

3.4 平均升温速率 mean heating rate

升温过程中模块单位时间内上升的平均温度值。

3.5 平均降温速率 mean cooling rate

降温过程中模块单位时间内下降的平均温度值。

3.6 温度持续时间 temperature duration

恒温过程中模块内维持温度的时间。

3.7 样本检出限 limit of detection

将标准物质稀释到被校准快速核酸检测仪宣称的检出限作为样本，可检出待测物质的最小浓度或最小量。

3.8 样本检测重复性 sample detection reproducibility

对同一检测孔在同一样本条件下重复检测，其检测值的一致性。

4 概述

快速核酸检测仪是基于恒温基因扩增技术，将核酸提取、扩增和检测整合于一体，短时间内完成核酸检测的仪器。其主要由驱动部件（包含传动和热循环部件及光电部件）、翻盖部件和软件（控制与数据处理软件）等部分组成，需与专用的核酸检测试剂盒配套使用。图 1 为快速核酸检测仪的组成原理图。

快速核酸检测仪可以有 2 个、4 个、8 个、16 个独立通道。

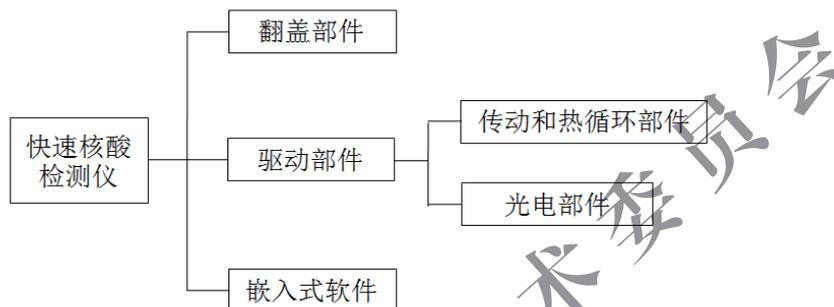


图 1 快速核酸检测仪组成原理图

5 计量特性

快速核酸检测仪计量特性见表 1。

表 1 快速核酸检测仪计量特性

项 目	技 术 要 求
温度偏差	$\leq \pm 0.5^{\circ}\text{C}$
温度波动度	$\leq \pm 0.5^{\circ}\text{C}$
平均升温速率	$\geq 0.5^{\circ}\text{C}/\text{s}$
平均降温速率	$\geq 0.5^{\circ}\text{C}/\text{s}$
温度持续时间偏差	不超过 $\pm 10\%$
样本检出限	\leq 试剂盒声明的检出限
样本检测重复性	$\leq 10\%$

注：以上技术要求不用于合格性判别，仅供参考。

6 校准条件

6.1 环境条件

温度： $(10 \sim 30)^{\circ}\text{C}$ ；

湿度： $\leq 80\%RH$ 。

6.2 测量标准及其它设备

测量标准及其它设备见表 2。

表 2 测量标准及其他设备技术要求

序号	设备名称	测量范围	技术要求	备注
1	温度校准装置	(0 ~ 120) °C	分辨力: 不低于 0.01 °C 最大允许误差: ±0.1 °C 采样时间间隔 ≤ 0.1s	也可使用满足要求的其他测量标准
2	标准物质	核糖核酸标准物质 质粒 DNA 标准物质 假病毒核酸标准物质	有证标准物质 相对扩展不确定度 ≤ 20%	用于检测其他病原体可采用相应的有证标准物质
3	电子天平	≥ 1g	分度值 0.01mg 检定合格	/
4	移液器	2μL、10μL、100μL、 200μL、1000μL、 5000μL	检定合格	/

7 校准项目和校准方法

7.1 校准项目

温度偏差、温度波动度、平均升温速率、平均降温速率、温度持续时间偏差、检出限、样本检测重复性。

7.2 温度校准方法

将温度校准装置的传感器放入被校准快速核酸检测仪检测孔中，根据说明书设定控温程序，启动温度校准装置进行校准，自动采集并记录整个循环程序温度数据。

7.2.1 温度偏差

温度偏差按式 (1) 和式 (2) 计算：

$$\Delta T_d = \bar{T}_c - T_s \quad (1)$$

$$\bar{T}_c = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n T_i \quad (2)$$

式中：

ΔT_d ——被校准快速核酸检测仪模块的温度偏差，°C；

\bar{T}_c ——被校准快速核酸检测仪模块温度实测值的平均值，°C；

T_s ——模块的设定温度，°C；

T_i ——模块第 i 次的温度测量值，°C；

n ——测量次数。

7.2.2 温度波动度

温度波动度的计算按式 (3) 计算:

$$\Delta T_f = \pm \frac{1}{2}(T_{\max} - T_{\min}) \quad (3)$$

式中:

ΔT_f ——温度波动度, °C;

T_{\max} ——模块恒温时间内实测最高温度, °C;

T_{\min} ——模块恒温时间内实测最低温度, °C。

7.2.3 平均升温速率

仪器从 40°C 升至 95°C 循环时, 截取仪器各循环从 50°C 至 90°C 的温度曲线计算升温速率, 平均升温速率按式 (4) 和式 (5) 计算:

$$\overline{V_{ui}} = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m V_{ui} \quad (4)$$

$$V_{ui} = \frac{(T_B - T_A)}{t} \quad (5)$$

式中:

$\overline{V_{ui}}$ ——平均升温速率, °C/s;

V_{ui} ——第 i 个循环升温速率, °C/s;

m ——累积循环数;

T_A ——50°C 温度点测量值, °C;

T_B ——90°C 温度点测量值, °C;

t ——从 T_A 到达 T_B 的时间, s。

7.2.4 平均降温速率

仪器从 95°C 降温至 40°C 循环时, 截取仪器各循环从 90°C 瞬时降温至 50°C 瞬时的温度曲线计算降温速率, 平均降温速率按式 (6) 和式 (7) 计算:

$$\overline{V_{di}} = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m V_{di} \quad (6)$$

$$V_{di} = \frac{(T_B - T_A)}{t} \quad (7)$$

式中:

$\overline{V_{di}}$ ——平均降温速率, °C/s;

V_{di} ——第 i 个循环降温速率, °C/s;

m ——累积循环数;

T_A ——50°C 温度点测量值, °C;

T_B ——90°C 温度点测量值, °C;

t ——从 T_B 到达 T_A 的时间, s。

7.2.5 温度持续时间偏差

温度持续时间偏差按式 (8) 计算:

$$\Delta t = \frac{t_c - t_s}{t_s} \times 100\% \quad (8)$$

式中:

Δt ——温度持续时间偏差, %;

t_c ——实测的温度持续时间, s;

t_s ——设定的温度持续时间, s。

7.3 样本校准方法

7.3.1 样本检出限

将标准物质稀释 (按照附录 A 配制) 到被校准设备宣称的检出限 (参照配套使用的核酸检测试剂盒说明书) 作为样本, 对同一模块或通道进行 3 次检测, 分别记录扩增结果, 与被校准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选择模块或通道进行。

7.3.2 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设备宣称的检出限的一定浓度作为样本, 对同一模块或通道进行 6 次或 10 次重复性检测, 分别记录阈值循环数 Ct 值, 计算 Ct 值的平均值 M 和标准差 SD , 按式 (9) 计算样本检测重复性。

$$CV = \frac{SD}{M} \times 100\% \quad (9)$$

式中:

CV ——样本检测重复性, %;

SD ——Ct 值的标准差;

M ——Ct 值的平均值。

8 校准结果表达

经校准的被校准快速核酸检测仪出具校准证书。校准结果应在校准证书上反映。校准证书应至少包括以下信息:

- a) 标题, 如“校准证书”;
- b) 实验室名称和地址;
- c) 进行校准的地点;
- d) 证书的唯一性标识 (如编号), 每页及总页数的标识;
- e) 送校单位的名称和地址;

- f) 被校对象的描述和明确标识;
- g) 进行校准的日期, 如果与校准结果的有效性和应用有关时, 应说明被校对象的接收日期;
- h) 如果与校准结果的有效性和应用有关时, 应进行说明;
- i) 校准所依据的技术规范的标识, 包括名称和代号;
- j) 本次校准所用测量标准的溯源性及有效性说明;
- k) 校准环境的描述;
- l) 校准结果及其测量不确定度的说明;
- m) 对校准规范的偏离的说明;
- n) 校准证书签发人的签名或等效标识, 以及签发日期;
- o) 校准结果仅对被校对象有效的声明;
- p) 未经实验室书面批准, 不得部分复制证书的声明。

9 校准时间间隔

复校间隔时间的长短是由快速核酸检测仪的使用情况、使用者、仪器本身质量等因素所决定, 送校单位可根据实际使用情况确定复校时间间隔。建议复校间隔时间为一年。

附录 A

标准物质的准备及稀释配制 (示例)

A.1 准备工作

A.1.1 新型冠状病毒核糖核酸基因组标准物质, 其 N 基因原液浓度为 1.8×10^4 copies/ μL , 将该标准物质从 -20°C 冰箱中取出, 置冰上溶解, 室温平衡 30min 后待用。

A.1.2 稀释用水为符合 GB/T 6682-2008 规定的一级水, 待用。

A.1.3 电子天平提前开机预热。

A.1.4 专用的快速核酸检测仪检测管, 待用。

A.2 稀释配制

用移液器将待用的浓度为 1.8×10^4 copies/ μL 的标准物质取出, 用电子天平称量 10mg 放入专用的快速核酸检测仪检测管, 加入待用的一级水 170mg, 稀释成浓度为 1000copies/ μL 的检测样本。详细稀释配制方法见表 A.1, 其中 S_0 为浓度为 1.8×10^4 copies/ μL 的标准物质, S_1 、 S_2 、 S_3 、 S_4 、 S_5 为 S_0 稀释后的样本, 样本配制后要充分震荡混匀。

表 A.1 标准物质稀释配制

单位: mg

项 目	S_0	H_2O	终浓度 (copies/ μL)
S_1	10	170	1000
S_2	10	350	500
S_3	10	440	400
S_4	10	890	200
S_5	10	1790	100

A.3 其它类型的标准物质可参照此方法进行稀释配制。

附录 B

快速核酸检测仪校准记录 (式样)

送校单位							
样 品	名 称				型号规格		
	生产厂家				出厂编号		
标准器	名称 / 型号	编 号	测量范围	不确定度 / 准确度等级 / 最大允许误差	溯源机构 / 证书编号	有效期至	
环境温度		℃	相对湿度	%	校准地点		
技术依据							
1、温度偏差							
温度设定值 /℃	实测温度值 /℃					平均值 /℃	温度偏差 /℃
2、温度波动度							
温度值 /℃		测量值 /℃					
T_{\max}							
T_{\min}							
ΔT_f							
3、平均升温速率							
温度设定值 /℃	1	2	3	4	5	6	
时间 /s							
升温速率 (℃/s)							
平均升温速率 (℃/s)							

4、平均降温速率								
温度设定值 / $^{\circ}\text{C}$	1	2	3	4	5	6		
时间 /s								
降温速率 ($^{\circ}\text{C}/\text{s}$)								
平均降温速率 ($^{\circ}\text{C}/\text{s}$)								
5、温度持续时间偏差								
时 刻								
t_s /s								
t_c /s								
Δt /%								
6、样本检出限								
样本浓度 (copies/ μL)	扩 增 结 果				结 果			
7、样本检测重复性								
样本浓度 (copies/ μL)	Ct 值					平均值	标准差	样本检测重复性 /%
记录编号				证书编号				
校准人	校准日期		核验人		核验日期			

附录 C

快速核酸检测仪校准证书内页 (式样)

校准项目	校准结果
温度偏差 /°C	
温度波动度 /°C	
平均升温速率 (°C /s)	
平均降温速率 (°C /s)	
温度持续时间偏差 /%	
样本检出限	
样本检测重复性 /%	

温度偏差的校准结果不确定度 $U =$ °C, ($k=2$)。

附录 D

快速核酸检测仪温度偏差校准结果不确定度评定 (示例)

D.1 被校对象

快速核酸检测仪，分辨力：0.1℃，校准温度点为：40.0℃、50.0℃、60.0℃、70.0℃、90.0℃、95.0℃。

D.2 测量标准

温度校准装置，测量范围（0 ~ 120）℃，分辨力：0.01℃，其扩展不确定度 $U=0.07^\circ\text{C}$ ($k=2$)。

D.3 测量模型

$$\Delta T_d = \bar{T}_c - T_s \quad (\text{D.1})$$

$$\bar{T}_c = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n T_i \quad (\text{D.2})$$

式中：

ΔT_d ——被校准快速核酸检测仪模块的温度偏差，℃；

\bar{T}_c ——被校准快速核酸检测仪模块温度实测值的平均值，℃；

T_s ——模块的设定温度，℃；

T_i ——模块第*i*次的温度测量值，℃；

n ——测量次数。

D.4 标准不确定度分量来源与评定

不确定度来源：被校对象的测量重复性、测量标准、设定温度的分辨力。

D.4.1 被校对象的测量重复性引入的标准不确定度分量 u_1

在各个温度点采集数据见表 D.1。

表 D.1 测量重复性数据

单位：℃

设定温度	实测温度	s	u_1
40.0	39.18、39.11、39.31、39.28、39.11、39.18、39.23、39.16、 39.23、39.09、39.05、39.15、39.28、39.22、39.25	0.1	0.1

表 D.1 测量重复性数据 (续)

设定温度	实测温度	s	u_1
50.0	49.35、49.38、49.47、49.50、49.46、49.44、49.50、49.46、 49.35、49.43、49.37、49.46、49.44、49.46、49.37	0.1	0.1
60.0	59.55、59.56、59.58、59.64、59.72、59.63、59.60、59.66、 59.62、59.63、59.64、59.61、59.53、59.68、59.54	0.1	0.1
70.0	69.65、69.80、69.75、69.82、69.90、69.82、69.67、69.74、 69.71、69.77、69.93、69.81、69.64、69.77、69.64	0.1	0.1
90.0	89.76、89.97、89.84、90.08、90.20、89.98、89.81、89.96、 89.80、89.93、90.19、89.94、89.73、89.93、89.67	0.2	0.2
95.0	94.60、94.86、94.69、94.94、95.11、94.84、94.65、94.83、 94.60、94.76、95.08、94.75、94.61、94.80、94.51	0.2	0.2

依据式：

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

可得测量重复性引入的标准不确定度分量 $u_1 = s$ ，见表 D.1。

D.4.2 测量标准引入的标准不确定度分量 u_2

由温度校准装置溯源证书可知其扩展不确定度 $U=0.07^\circ\text{C}$ ， $k=2$ ，则有：

$$u_2 = 0.07 / 2 = 0.04^\circ\text{C}$$

D.4.3 设定温度分辨力引入的标准不确定度分量 u_3

快速核酸检测仪的设定温度分辨力为 0.1°C ，则不确定度区间半宽为 0.05°C ，按均匀分布，则有：

$$u_3 = 0.05 / \sqrt{3} = 0.03^\circ\text{C}$$

D.5 合成标准不确定度计算

D.5.1 灵敏系数

$$c_1 = \frac{\partial \Delta T_d}{\partial T_c} = 1, \quad c_2 = \frac{\partial \Delta T_d}{\partial T_s} = -1$$

D.5.2 标准不确定度分量汇总表见表 D.2。

表 D.2 标准不确定度分量汇总表

标准不确定度分量 $u(x_i)$	不确定度来源	标准不确定度 / $^{\circ}\text{C}$
u_1	被校对象的测量重复性	见表 D.1
u_2	测量标准	0.04
u_3	设定温度分辨力	0.03

D.5.3 合成标准不确定度

$$u_c = \sqrt{c_1^2(u_1^2 + u_2^2) + c_2^2 u_3^2}$$

计算可得合成标准不确定度，见表 D.3。

表 D.3 合成标准不确定度汇总表

单位： $^{\circ}\text{C}$

设定温度	40	50	60	70	90	95
u_c	0.12	0.12	0.12	0.12	0.21	0.21

D.6 扩展不确定度计算

取包含因子 $k=2$ ，则扩展不确定度为 $U=ku_c$ ，见表 D.4。

表 D.4 扩展不确定度汇总表

单位： $^{\circ}\text{C}$

设定温度	40	50	60	70	90	95
U	0.3	0.3	0.3	0.3	0.5	0.5

D.7 校准结果及其表示

快速核酸检测仪在 95°C 时的温度偏差为 -0.24°C ，则其校准结果为

$$\Delta T_d = -0.24^{\circ}\text{C}, U = 0.5^{\circ}\text{C}, k=2。$$