DB61

陕 西 省 地 方 标 准

DB 61/T 1520—2021

实时荧光定量 PCR 分析仪性能评价规范

Evaluation specification for performance of real-time fluorescent quantitative
Polymerase-Chain- Reaction analyzer

2021 - 12 - 17 发布

2022 - 01 - 17 实施

陕西省市场监督管理局

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
5 试验方法.....	3
6 评价规则.....	13
参考文献.....	15

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。

本文件由陕西省市场监督管理局提出并归口。

本文件起草单位：西北国家计量测试中心办公室、西安天隆科技有限公司、陕西国华现代测控技术有限公司、陕西省疾病预防控制中心、陕西科仪阳光检测技术服务有限公司、陕西省计量科学研究院、西安计量技术研究院、西安市质量与标准化研究院、北京林电伟业电子有限公司、陕西省建筑科学研究院。

本文件主要起草人：陈瑛、彭年才、胡畅、陈琛、田真、余鹏博、李天来、张莉、龚大江、李姣姣、杨嘉泉、李征、张仁、杨悦、李元沉、马腾、武文昀、李磊

本文件由西北国家计量测试中心负责解释。

本文件首次发布。

联系信息如下：

单位：西北国家计量测试中心办公室

地址：陕西省西安市咸宁西路30号

电话：029-83218679

邮编：710004

实时荧光定量 PCR 分析仪性能评价规范

1 范围

本文件规定了实时荧光定量PCR分析仪（以下简称RT-PCR仪）的术语定义、技术要求、试验方法和评价规则。

本文件适用于RT-PCR仪性能的检测和评价。

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 4793.1 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 第1部分：通用要求

GB 4793.6 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 第6部分：实验室用材料加热设备的特殊要求

GB 4793.9 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 第9部分：实验室用分析和其他目的自动和半自动设备的特殊要求

GB/T 14710 医用电器环境要求及试验方法

GB/T 18268.1 测量、控制和实验室用的电设备 电磁兼容性要求 第1部分：通用要求

GB/T 18268.26 测量、控制和实验室用的电设备 电磁兼容性要求 第26部分：特殊要求 体外诊断(IVD)医疗设备

JJF 1101 环境试验设备温度、湿度参数校准规范

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

JJF 1101、YY/T 1173界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

实时荧光定量PCR仪 real-time PCR systems

由实时荧光检测系统，温控系统，数据分析系统组成，用来监测PCR反应过程的实时荧光随循环数的变化，并通过数据分析对检测样本进行定量分析。

3.2

控温模块 temperature control module

通过感温元件、导热材料、恒温块等完成RT-PCR仪加热、制冷功能的物理组件。

3.3

热盖 hot lid

具有加热功能，防止蒸发的水汽在RT-PCR仪管盖上凝结的装置。

3.4

荧光干扰 fluorescence crosstalk

RT-PCR仪对某一荧光通道进行荧光检测时，相邻或相近荧光通道也会检测到一定的荧光强度。

4 技术要求

4.1 温度

4.1.1 升温速率

升温速率技术要求见表1。

表1 升温速率技术要求

序号	项目	要求
1	平均升温速率	50℃~90℃，≥1.5℃/s
2	最大瞬时升温速率	50℃~90℃，≥2.5℃/s

4.1.2 降温速率

降温速率技术要求见表2。

表2 降温速率技术要求

序号	项目	要求
1	平均降温速率	90℃~50℃，≥1.5℃/s
2	最大瞬时降温速率	90℃~50℃，≥2.0℃/s

4.1.3 控温模块温度示值误差

控温模块0点温度测得值与设定值差值的绝对值不大于0.5℃。

4.1.4 控温模块温度波动度

控温模块0点温度波动度不大于±0.3℃。

4.1.5 温度均匀度

控温模块各检测孔间温度差值不大于1.0℃。

4.1.6 温度持续时间相对误差

温度持续时间与设定温度持续时间的相对误差不大于±5%。

4.1.7 热盖温度示值误差

热盖温度测得值与设定值差值的绝对值不大于3.0℃。

4.1.8 热盖温度波动度

热盖温度波动度不大于 ± 3.0 °C。

4.2 荧光强度

4.2.1 荧光强度重复性

荧光强度的重复性不大于1.5 %。

4.2.2 荧光检测精密度

用高、中、低三种浓度的荧光染料进行试验，每种浓度下检测结果的精密度不大于5 %。

4.2.3 荧光线性

对系列稀释荧光染料物质的样本（至少5个梯度）进行检测，各浓度荧光测得值与稀释比例的线性回归系数 r 不小于0.990。

4.3 样本检测

4.3.1 样本检测重复性

对高、中、低浓度核酸样本或有证标准物质进行检测，重复性应不大于3 %。

4.3.2 样本线性

对系列稀释梯度浓度的样本（至少5个梯度）进行检测，各浓度Ct值与浓度对数值的线性回归系数 r 绝对值应不小于0.990。

4.3.3 不同通道荧光干扰

进行RT-PCR试验结果分析，其他通道荧光涨幅不高于目标通道试验结果的自动分析阈值。

4.4 电气安全

电气安全应符合GB 4793.1、GB 4793.6、GB 4793.9及YY 0648的要求。

4.5 环境

应符合GB/T 14710的要求。

4.6 电磁兼容

应符合GB/T 18268.1及GB/T 18268.26的要求。

5 试验方法

5.1 温度

5.1.1 检测点的选择

控温模块温度检测点按表3进行选择。热盖温度检测点应选择在热盖中心点。

表 3 控温模块温度检测点选择要求

内容	要求
检测点数量	≥6 个，且不少于总检测孔数的 12 %。
特征要求	可以区分多控温模块的，检测点应包含每个控温模块内距离其中心点最近的孔位（O 点）及最远的孔位（F 点）。 无法区分多控温模块的，检测点应包括离 PCR 管放置区中心最近的孔位（O 点）和最远的孔位（F 点）。
分布要求	整个控温模块的检测点尽可能保持均匀分布，不包括 O 点和 F 点。

5.1.2 温度控制程序的设定

温度控制程序按表4要求进行设定。

表 4 RT-PCR 仪温度控制标准程序表

阶段	步骤	控温模块			热盖温度
		设定温度范围	设定温度持续时间	循环数	设定温度范围
I	1	(50±0.5) °C	≥1.5min	≥6 次	(105±6) °C
	2	(90±0.5) °C			
II	1	(55±5) °C			
	2	(72±5) °C			
	3	(95±5) °C			

5.1.3 测量设备的选择

温度测量设备可选用多通道温度显示仪表或多路温度测量装置，传感器宜选用高精度热敏电阻或四线制铂电阻温度计，温度测量设备温度传感器的数量应满足检测布点要求，能与RT-PCR仪孔板接触良好，各通道应采用同种型号规格的温度传感器。温度测量设备的技术指标应满足以下要求：

- 测量范围：（0~120）°C；
- 分辨力：0.01°C；
- 最大允许误差：±0.17°C；
- 温度采样频率：≥2Hz。

5.1.4 升温速率

5.1.4.1 平均升温速率

按5.1.2表4设定温控程序，记录“阶段 I”的升温过程中各检测孔的温度数据。在50°C±0.5°C内取任意温度点，记为 $T_{U1,i}$ ，在90°C±0.5°C内取任意温度点，记为 $T_{U2,i}$ ，从 $T_{U1,i}$ 到达 $T_{U2,i}$ 的时间记为 $t_{U,i}$ ，

按公式(1)计算每个检测孔平均升温速率 V_{UTj} 。除第1个循环外连续检测 $n \geq 5$ 个循环,每个控温模块的每个循环下平均升温速率均应符合表1的要求。

$$V_{UTj} = \frac{T_{U2,i} - T_{U1,i}}{t_{Uj}} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

V_{UTj} ——在某一循环的升温过程中,待测模块内第*i*个检测孔的平均升温速率, °C/s;

$T_{U1,i}$ ——在某一循环的升温过程中,待测模块内第*i*个检测孔的在 $50^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 内任意温度点, °C;

$T_{U2,i}$ ——在某一循环的升温过程中,待测模块内第*i*个检测孔的在 $90^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 内任意温度点, °C;

t_{Uj} ——某一循环的升温过程中,待测模块内第*i*个检测孔从 $T_{U1,i}$ 到达 $T_{U2,i}$ 的时间, s。

5.1.4.2 最大瞬时升温速率

按5.1.2表4设定温控程序,记录扫描温度从 $50^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 升至 $90^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 过程中,各检测孔相邻两个温度采集点在一个温度采集时间间隔内 Δt 的温度变化,取其中最大值 ΔT_{Umax} ,按照公式(2)计算最大瞬时升温速率 V_{Umax} 。除第1个循环外连续检测 $n \geq 5$ 个循环,每个控温模块的每个循环下最大瞬时升温速率均应符合表1的要求。

$$V_{Umax} = \frac{|\Delta T_{Umax}|}{\Delta t} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

V_{Umax} ——在某一循环的升温过程中,待测模块内所有检测孔最大瞬时升温速率, °C/s;

ΔT_{Umax} ——在某一循环的升温过程中,待测模块内所有检测孔的采集数据中,相邻两个温度采集点温度变化最大值, °C;

Δt ——温度采集时间间隔, s。

5.1.5 降温速率

5.1.5.1 平均降温速率

按5.1.2表4设定温控程序,记录“阶段I”的降温过程中各检测孔的温度数据。在 $90^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 内取任意温度点,记为 T_{D1j} ,在 $50^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 内取任意温度点,记为 T_{D2j} ,从 T_{D1j} 到达 T_{D2j} 的时间记为 t_{Dj} ,

按公式（3）计算各检测孔的平均降温速率 $V_{DT,j}$ 。除第1个循环外连续检测 $n \geq 5$ 个循环，每个控温模块的每个循环下平均降温速率均应符合表2的要求。

$$V_{DT,j} = \frac{|T_{D2,j} - T_{D1,j}|}{t_{D,j}} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

$V_{DT,j}$ ——在某一循环的降温过程中，待测模块内第*i*个检测孔的平均降温速率，℃/s；

$T_{D1,j}$ ——在某一循环的降温过程中，待测模块内第*i*个检测孔的在 $90^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 内任意温度点，℃；

$T_{D2,j}$ ——在某一循环的降温过程中，待测模块内第*i*个检测孔的在 $50^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 内任意温度点，℃；

$t_{D,j}$ ——某一循环的降温过程中，待测模块内第*i*个检测孔从 $T_{D1,i}$ 到达 $T_{D2,i}$ 的时间，s。

5.1.5.2 最大瞬时降温速率

按5.1.2表4设定温控程序，记录扫描温度从 $90^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 降至 $50^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 过程中，各检测孔相邻两个温度采集点在一个温度采集时间间隔 Δt 内的温度变化（ Δt 应不大于0.5s并尽可能足够小），取其中最大值（ $\Delta T_{D,max}$ ），按照公式(4)计算最大瞬时降温速率。除第1个循环外连续检测 $n \geq 5$ 个循环，每个控温模块的每个循环下最大瞬时降温速率均应符合表2的要求。

$$V_{D,max} = \frac{|\Delta T_{D,max}|}{\Delta t} \dots\dots\dots (4)$$

式中：

$V_{D,max}$ ——在某一循环的升温过程中，待测模块内所有检测孔最大瞬时升温速率，℃/s；

$\Delta T_{D,max}$ ——在某一循环的升温过程中，待测模块内所有检测孔的采集数据中，相邻两个温度采集点温度变化最大值，℃；

Δt ——温度采集时间间隔，s。

5.1.6 控温模块温度示值误差

按5.1.2表4设定温控程序，采集“阶段II”要求的温度测试数据。每个温控模块每个循环的中心点检测孔（O点）温度分别到达 $(55 \pm 5)^\circ\text{C}$ 、 $(72 \pm 5)^\circ\text{C}$ 、 $(95 \pm 5)^\circ\text{C}$ 三个温度设定值后，记录20s~60s内O点的所有温度测得值为有效温度测量值。按公式（5）计算其平均值 $\bar{T}_O$ ，按公式（6）计算模块温度示值误差 ΔT_{OD} 。除第1个循环外连续检测 $n \geq 5$ 个循环，每个检测点的温度示值误差均应符合4.1.3的要求。

$$\bar{T}_0 = \frac{\sum_{i=1}^m T_{0j}}{m} \dots\dots\dots (5)$$

式中：

$\bar{T}_0$ ——在某一循环的某个设定温度下，待测模块O点的有效温度测量值的平均值，℃；

T_{0j} ——在某一循环的某个设定温度下，待测模块O点的有效温度测量值，℃

m ——在某一循环的某个设定温度下，待测模块O点的有效温度测量值的总数。

$$\Delta T_{0D} = T_{0s} - \bar{T}_0 \dots\dots\dots (6)$$

式中：

ΔT_{0D} ——在某一循环的某个设定温度下，某一温度设定值的温度示值误差，℃；

$\bar{T}_0$ ——在某一循环的某个设定温度下，待测模块O点的有效温度测量值的平均值，℃；

$T_{0,s}$ ——在某一循环的某个设定温度下，待测模块O点的温度设定值，℃。

1.1.1 控温模块温度波动度

按5.1.2表4设定温控程序，采集“阶段II”要求的温度测试数据。每个温控模块每个循环的中心点检测孔（O点）温度分别到达 $(55 \pm 5)^\circ\text{C}$ 、 $(72 \pm 5)^\circ\text{C}$ 、 $(95 \pm 5)^\circ\text{C}$ 三个温度设定值后，记录20s~60s内O点的所有温度测得值为有效温度测量值。按公式（7）计算模块温度波动度 ΔT_0 ，除第1个循环外连续检测 $n \geq 5$ 个循环，每个控温模块的每个循环下每个温度设定值的温度波动度均应符合4.1.4的要求。

$$\Delta T_0 = \pm \frac{(T_{0\max} - T_{0\min})}{2} \dots\dots\dots (7)$$

式中：

ΔT_0 ——在某一循环的某个温度下，待测模块的温度波动度，冠以“±”号，℃；

$T_{0\max}$ ——在某一循环的某个设定温度下，待测模块O点的有效温度测量值的最大值，℃；

$T_{0\min}$ ——在某一循环的某个设定温度下，待测模块O点的有效温度测量值的最小值，℃。

5.1.7 温度均匀度

按5.1.2表4设定温控程序，采集“阶段II”要求的温度测试数据。每个温控模块每个循环的每个检测孔温度分别到达 $(55 \pm 5)^\circ\text{C}$ 、 $(72 \pm 5)^\circ\text{C}$ 、 $(95 \pm 5)^\circ\text{C}$ 三个温度设定值后，记录第70s时所有检测点的读数为有效温度测量值。按公式（8）计算模块温度均匀度 ΔT ，除第1个循环外连续检测 $n \geq 5$ 个循环，每个循环下每个温度设定值的温度均匀度均应符合4.1.5的要求。

$$\Delta T = T_{\max} - T_{\min} \dots\dots\dots (8)$$

式中:

ΔT ——在某一循环的某个设定温度下, 待检仪器的温度均匀性, °C;

$T_{\max}$ ——在某一循环的某个设定温度下, 所有检测点的有效温度测量值的最大值, °C;

$T_{\min}$ ——在某一循环的某个设定温度下, 所有检测点的有效温度测量值的最小值, °C。

1.1.2 温度持续时间相对误差

按5.1.2表4设定温控程序, 采集“阶段II, 步骤3”实时温度测试数据。以95°C±0.5°C为计时参考点, 自每个温控模块每次循环中心点检测孔(O点)显示温度首次到达计时参考点时开始计时, 至末次到达计时参考点时结束, 记录时间为 t 作为恒温时间实测值 t_i 。除第1个循环外连续检测 $n \geq 5$ 个循环, 按公式(9)计算连续 n 个循环恒温时间实测值的平均值, 按公式(10)计算相对误差, 每个控温模块的温度持续时间相对误差均应符合4.1.6的要求。

$$\bar{t} = \frac{\sum_{i=1}^n t_i}{n} \dots\dots\dots (9)$$

式中:

$\bar{t}$ ——待测模块连续 n 个循环恒温时间实测值的平均值, s;

t_i ——待测模块的某一循环下恒温时间实测值, s;

n ——循环次数。

$$\delta = \frac{\bar{t} - t_s}{t_s} \times 100\% \dots\dots\dots (10)$$

式中:

δ ——某一模块温度持续时间相对误差, %;

$\bar{t}$ ——连续 n 个循环恒温时间实测值的平均值, s;

t_s ——设定温度持续时间, s。

1.1.3 热盖温度示值误差

按5.1.2表4设定温控程序, 采集热盖温度测试点的实时温度测试数据。当热盖温度到达(105±6)°C设定值后, 记录2min~10min内所有温度测得值为有效温度测量值。按公式(11)计算其均值 $\bar{T}_c$ 。按公式(12)计算热盖温度示值误差 ΔT_{CD} , 其结果应符合4.1.7的要求。

$$\bar{T}_c = \frac{\sum_{i=1}^m T_{c,i}}{m} \dots\dots\dots (11)$$

式中：

$\bar{T}_c$ ——热盖温度达到设定值，有效温度测量值的平均值，℃；

$T_{c,i}$ ——热盖温度达到设定值，有效温度测量值，℃

m ——热盖温度达到设定值，有效温度测量值总数。

$$\Delta T_{cD} = \bar{T}_c - T_{cS} \dots\dots\dots (12)$$

式中：

ΔT_{cD} ——热盖温度示值误差，℃；

$\bar{T}_c$ ——热盖温度达到设定值，有效温度测量值的平均值，℃；

T_{cS} ——热盖的温度设定值，℃。

5.1.8 热盖温度波动度

按5.1.2表4设定温控程序，采集热盖温度测试点的实时温度测试数据。当热盖温度到达 $(105 \pm 6)^\circ\text{C}$ 设定值后，记录2min~10min内所有温度测得值的最大值 $T_{c, \max}$ 和最小值 $T_{c, \min}$ ，按公式（13）计算热盖温度波动度，其结果应符合4.1.8的要求。

$$\Delta T_c = \pm \frac{(T_{c, \max} - T_{c, \min})}{2} \dots\dots\dots (13)$$

式中：

ΔT_c ——热盖温度波动度，冠以“±”号，℃；

$T_{c, \max}$ ——热盖温度达到设定值，2min~10min内所有温度测得值的最大值，℃；

$T_{c, \min}$ ——热盖温度达到设定值，2min~10min内所有温度测得值的最小值，℃。

5.2 荧光强度

5.2.1 荧光强度重复性

在仪器测定范围内，随机选取 $n(n \geq 1)$ 个通道，每个通道随机选取1个检测孔，分别配置各通道高、中、低三种浓度的校准荧光染料，每种检测10次，光学系统收集目标通道的数据。按公式（14）计算荧光强度重复性。每个通道高、中、低三种浓度的荧光强度重复性均应符合4.2.1的要求。

$$CV_{FR} = \frac{s(x_{FR,i})}{\bar{x}_{FR}} \times 100\% = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{10} (x_{FR,i} - \bar{x}_{FR})^2}{9}}}{\bar{x}_{FR}} \times 100\% \dots\dots\dots (14)$$

式中:

CV_{FR} ——某一通道的某一浓度下荧光强度重复性;

$s(x_{FR,i})$ ——某一通道的某一浓度下10次荧光重复测量结果的实验标准差;

$\bar{x}_{FR}$ ——某一通道的某一浓度下10次荧光重复测量结果的平均值;

$x_{FR,i}$ ——某一通道的某一浓度下荧光测量结果。

5.2.2 荧光检测精密度

在仪器测定范围内, 随机选取 $n(n \geq 1)$ 个通道, 每个通道随机选取 $m(m \geq 10)$ 个检测孔(孔位数不足10个时, 则进行全部孔位检测), 分别配置各通道高、中、低三种浓度的校准荧光染料, 每种浓度检测1次, 光学系统收集目标通道的数据。按公式(15)计算荧光强度的变异系数作为荧光强度精密度, 每个通道高、中、低三种浓度的荧光强度精密度均应符合4.2.2的要求。

$$CV_{FS} = \frac{s(x_{FS,i})}{\bar{x}_{FS}} \times 100\% = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (x_{FS,i} - \bar{x}_{FS})^2}{(m-1)}}}{\bar{x}_{FS}} \times 100\% \dots\dots\dots (15)$$

式中:

CV_{FS} ——荧光强度精密度;

$s_p(x_{FS,i})$ ——实验标准差。

$x_{FS,i}$ ——某一通道的某一浓度下第*i*个检测孔的荧光测量结果;

$\bar{x}_{FS}$ ——某一通道的某一浓度下所有检测孔荧光测量结果的平均值;

m ——选取的检测孔总数。

5.2.3 荧光线性

在仪器测定范围内, 随机选取 $n(n \geq 1)$ 个通道, 将已知浓度的校准荧光染料溶液梯度稀释后(至少稀释5个梯度, $m \geq 5$)进行检测, 每一浓度梯度平行测试3孔, 光学系统收集目标通道的数据。按公式(16)计算某一通道某一梯度下3个检测孔荧光测量结果的平均值 $y_{FR,i}$, 按公式(17)某一通道所有梯度下所有检测孔荧光测量结果的平均值 $\bar{y}_{FR}$, 按公式(18)计算线性相关系数 r 作为荧光线性结果, 每个通道荧光线性结果均应符合4.2.3的要求。

$$y_{FR,j} = \frac{\sum_{j=1}^3 y_{FR,j}}{3} \dots\dots\dots (16)$$

式中：

$y_{FR,i}$ ——某一通道某一梯度下3个检测孔荧光测量结果的平均值；

$y_{FR,j}$ ——某一通道某一梯度下第j个检测孔荧光测量结果。

$$\bar{y}_{FR} = \frac{\sum_{i=1}^m y_{FR,i}}{m} \dots\dots\dots (17)$$

式中：

$\bar{y}_{FR}$ ——某一通道所有梯度下所有检测孔荧光测量结果的平均值；

$y_{FR,i}$ ——某一通道某一梯度下3个检测孔荧光测量结果的平均值；

m ——稀释梯度数

$$r_{FR} = \frac{\sum_{i=1}^m (x_{FR,i} - \bar{x}_{FR,i})(y_{FR,i} - \bar{y}_{FR})}{\sqrt{\sum_{i=1}^m (x_{FR,i} - \bar{x}_{FR,i})^2 \sum_{i=1}^m (y_{FR,i} - \bar{y}_{FR})^2}} \dots\dots\dots (18)$$

式中：

r_{FR} ——某一通道荧光线性相关系数；

$x_{FR,i}$ ——某一通道某一浓度梯度下校准荧光染料标准值；

$\bar{x}_{FR,i}$ ——某一通道所有浓度梯度下校准荧光染料标准值的平均值；

$y_{FR,i}$ ——某一通道某一梯度下3个检测孔荧光测量结果的平均值；

$\bar{y}_{FR}$ ——某一通道所有梯度下所有检测孔荧光测量结果的平均值；

m ——稀释梯度数

5.3 样本检测

5.3.1 检测样本的技术要求

检测样本可采用已知浓度的核酸样本或有证标准物质。若使用有证标准物质（如：质粒DNA标准物质、核糖核酸标准物质），则其技术要求如下：

a) 拷贝数 ≥ 109 copies/ μ L；

b) 相对扩展不确定度 $U_{rel} \leq 6\%$, $k=2$ 。

5.3.2 样本检测重复性

在仪器测定范围内，随机选取 $n(n \geq 1)$ 个通道，将已知浓度核酸样本或有证标准物质等倍数地稀释为高、中、低三种浓度的待检样本，选用生产企业规定的试剂盒进行检测。对每个通道下的每种浓度待检样本，随机选取 10 个检测孔同时进行检测。按公式 (19) 计算某一通道在某浓度下样本检测重复性。每个通道高，中，低三种浓度的样本检测重复性均应符合 4.3.1 的要求。

$$CV_{SR} = \frac{s(x_{SR,j})}{\bar{x}_{SR}} \times 100\% = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{10} (x_{SR,i} - \bar{x}_{SR})^2}{10-1}}}{\frac{\sum_{i=1}^{10} x_{SR,i}}{10}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (19)$$

式中：

CV_{SR} —— 某一通道在某浓度下样本检测重复性；

$s(x_{SR,i})$ —— 某一通道的某一浓度下核酸样本或有证标准物质 10 次重复测量结果的实验标准差。

$\bar{x}_{SR}$ —— 某一通道的某一浓度下核酸样本或有证标准物质 10 次重复测量结果的平均值。

$x_{SR,j}$ —— 某一通道的某一浓度下的第 i 次核酸样本测量结果；

5.3.3 样本线性

在仪器测定范围内，随机选取 $n(n \geq 1)$ 个通道，将已知浓度核酸样本或有证标准物质按照 10 倍或 5 倍梯度稀释后（至少稀释 5 个梯度， $m \geq 5$ ）进行检测。对每个通道下的每种浓度待检样本，随机地选取 3 个检测孔同时进行检测。按公式 (20) 计算某一通道某一梯度下 3 个检测孔核酸样本或有证标准物质测量结果的平均值，按公式 (21) 计算某一通道所有梯度下所有检测孔核酸样本或有证标准物质测量结果的平均值，按公式 (22) 计算线性相关系数作为样本线性，每个通道的样本线性均应符合 4.3.2 的要求。

$$y_{SR,i} = \frac{\sum_{j=1}^3 y_{SR,j}}{3} \quad \dots\dots\dots (20)$$

式中：

$y_{SR,i}$ —— 某一通道某一梯度下 3 个检测孔核酸样本或有证标准物质测量结果的平均值；

$y_{SR,j}$ —— 某一通道某一梯度下第 i 个检测孔核酸样本或有证标准物质测量结果。

$$\bar{y}_{SR} = \frac{\sum_{i=1}^m y_{SR,i}}{m} \quad \dots\dots\dots (21)$$

式中：

$\bar{y}_{SR}$ ——某一通道所有梯度下所有检测孔核酸样本或有证标准物质测量结果的平均值；

$y_{SR,j}$ ——某一通道某一梯度下3个检测孔核酸样本或有证标准物质测量结果的平均值。

$$r_{SR} = \frac{\sum_{i=1}^m (x_{SR,i} - \bar{x}_{SR})(y_{SR,i} - \bar{y}_{SR})}{\sqrt{\sum_{i=1}^m (x_{SR,i} - \bar{x}_{SR})^2 \sum_{i=1}^m (y_{SR,i} - \bar{y}_{SR})^2}} \dots\dots\dots (22)$$

式中：

r_{SR} ——某一通道样本线性；

$x_{SR,j}$ ——某一通道某一梯度下核酸样本或有证标准物质标准值；

$\bar{x}_{SR}$ ——某一通道所有梯度下核酸样本或有证标准物质标准值的平均值；

$y_{SR,j}$ ——某一通道某一梯度下3个检测孔核酸样本或有证标准物质测量结果的平均值；

$\bar{y}_{SR}$ ——某一通道所有梯度下所有检测孔核酸样本或有证标准物质测量结果的平均值；

m ——稀释梯度数

5.3.4 不同通道荧光干扰

5.3.4.1 随机选取 $n(n \geq 2)$ 个通道进行检测，选用生产企业规定的试剂盒进行不同通道荧光干扰试验。收集所有通道的数据，结果应符合 4.3.3 的要求。

5.3.4.2 软件具有通道荧光串扰修正功能或颜色补偿功能的，在修正后或补偿后，结果应符合 4.3.3 的要求。

5.4 电气安全

按GB 4793.1、GB 4793.6、GB 4793.9和YY 0648规定的方法进行测试，结果应符合4.4的要求。

5.5 环境

按GB/T 14710.11规定的方法进行测试，结果应符合4.5的要求。

5.6 电磁兼容

按GB/T 18268.1及GB/T 18268.26规定的方法进行测试，结果应符合4.6的要求。

6 评价规则

6.1 的型式评价应符合 4 的全部技术要求，出厂评价应符合 4.1~4.5 全部技术要求。使用中评价应符合 4.1~4.3 全部技术要求。

参 考 文 献

- [1] YY/T 1173—2010 聚合酶链反应分析仪
 - [2] JJF 1527—2015 聚合酶链反应分析仪校准规范
 - [3] JJF (浙) 1124—2016 基因扩增仪（聚合酶链反应分析仪）校准规范
 - [4] JJF 1821—2020 聚合酶链反应分析仪温度校准装置校准规范
-