JJF

北京市地方计量技术规范

JJF（京）137-2024

快速核酸检测仪校准规范

Calibration Specification for Rapid Nucleic Acid Detectors

2024-05-16 发布　　2024-07-01 实施

北京市市场监督管理局 发布

快速核酸检测仪校准规范

Calibration Specification for Rapid Nucleic Acid Detectors

JJF（京）137-2024

归 口 单 位：北京市市场监督管理局

主要起草单位：北京市计量检测科学研究院

参加起草单位：北京林电伟业电子技术有限公司

中国海关科学技术研究中心

本规范委托北京市计量检测科学研究院负责解释

本规范主要起草人：

李　冉（北京市计量检测科学研究院）

梁　亮（北京市计量检测科学研究院）

孟　雪（北京市计量检测科学研究院）

参加起草人：

赵雨佳（北京市计量检测科学研究院）

林　青（北京市计量检测科学研究院）

祝天宇（北京林电伟业电子技术有限公司）

王艺凯（中国海关科学技术研究中心）

目　录

引　言 ..... （Ⅱ）
1　范围 ..... （1）
2　引用文件 ..... （1）
3　术语和计量单位 ..... （1）
3.1 阈值循环数 ..... （1）
3.2 等温扩增技术 ..... （1）
3.3 拷贝数 ..... （2）
3.4 平均升温速率 ..... （2）
4　概述 ..... （2）
5　计量特性 ..... （2）
6　校准条件 ..... （3）
6.1 环境条件 ..... （3）
6.2 测量标准及其他设备 ..... （3）
7　校准项目和校准方法 ..... （3）
7.1 校准前准备 ..... （3）
7.2 校准方法 ..... （4）
8　校准结果表达 ..... （9）
9　复校时间间隔 ..... （10）
附录 A 校准记录格式（推荐） ..... （11）
附录 B 校准证书内页格式（推荐） ..... （15）
附录 C 温度偏差校准结果不确定度评定示例 ..... （16）

引　言

JJF 1071－2010《国家计量校准规范编写规则》、JJF 1001－2011《通用计量术语及定义》、JJF 1059.1－2012《测量不确定度评定与表示》共同构成支撑本规范制订工作的基础性系列规范。

本规范为首次发布。

核酸检测仪校准规范

1 范围

本规范适用于将核酸提取和扩增检测功能一体化、基于控温基因扩增技术的快速核酸检测仪的校准。

2 引用文件

本规范引用了下列文件：

JJF 1007—2007 温度计量名词术语及定义

JJF 1101—2019 环境试验设备温度、湿度参数校准规范

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

JJF 1817—2020 核酸分析仪校准规范

JJF 1821—2020 聚合酶链反应分析仪温度校准装置校准规范

YY/T 1173—2010 聚合酶链反应分析仪

DB32/T 3762—2020 新型冠状病毒检测技术规范

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 术语和计量单位

JJF 1265—2022、YY/T 1173—2010、DB32/T 3762—2020中界定的以下术语和定义适用于本规范。

3.1 阈值循环数 cycle threshold

实时检测扩增过程中，反应管内的荧光信号到达指数扩增时经历的循环周期数。主要的计算方式是以扩增过程前（3～15）个循环的荧光值的10倍标准差为阈值，当荧光值超过阈值时的循环数则为阈值循环数（Ct）。

[来源：YY/T 1173—2010，3.15，有修改]

3.2 等温扩增技术 isothermal amplification technology

反应过程始终维持在恒定的温度下，通过添加不同活性的酶和各自特异性引物来达到快速核酸扩增目的技术。

[来源：DB32/T 3762－2020，3.1，有修改]

3.3 拷贝数 copy number

特定基因在某一生物体基因组中所含的个数以及每个生物细胞中所具有的转录物（RNA）个数，以copies表示。

[来源：JJF1265－2022，4.41，有修改]

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度数，以℃/s表示。

[来源：YY/T 1173－2010，3.4]

4 概述

快速核酸检测仪（以下简称检测仪）是基于实时荧光 PCR 技术或等温扩增技术的小型化科学仪器，将核酸提取和扩增整合到一个设备，在短时间内完成对核酸的扩增检测。检测仪主要由反应模块、光源模块、磁导模块、加热模块、光电检测系统、显示模块等部分组成，需与专用的核酸检测试剂盒配套使用。

5 计量特性

检测仪计量特性见表 1。

表 1 检测仪计量特性

校准项目		计量特性	
		基于实时荧光 PCR 技术	基于等温扩增技术
温度偏差		±0.5℃	±0.5℃
温度波动度		——	±0.5℃
平均升温速率		≥1.5℃/s	≥1.5℃/s
平均降温速率		≥1.5℃/s	——
温度均匀度	独立控温	——	——
	非独立控温	≤3℃	≤3℃
平均温度过冲量		≤5℃	≤5℃
样本检测重复性		≤30%	≤30%

注：

1 “——”表示不适用；

2 以上计量特性要求仅供参考，不作为判定依据。

6 校准条件

6.1 环境条件

6.1.1 温度：（15～30）℃。

6.1.2 相对湿度：≤85 %。

6.2 测量标准及其他设备

6.2.1 温度测量仪

测量范围：（0～120）℃，分辨力不低于 0.01 ℃，最大允许误差：±0.1 ℃，采样间隔不大于 0.1 s。

6.2.2 核酸标准物质

应使用国家有证标准物质。包括：新型冠状病毒核酸标准物质或其他病原体标准物质，相对不确定度不大于 20%（k=2）。

6.2.3 移液器

2.5μL、10μL、100μL、200μL、1000μL、5000μL，各 1 支。

7 校准项目和校准方法

7.1 校准前准备

7.1.1 测量点位置和数量

将温度测量仪的温度传感器放置于检测仪加热模块设定孔中。按图 1 所示，独立控温检测仪逐个对加热模块或同时对多个加热模块进行检测；按图 2 所示，非独立控温的检测仪加热模块作为一个整体进行校准，以 16 通道检测仪为例，均匀选择测量点，每增加 8 通道可增加 2 个测量点。

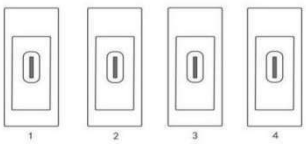


图 1 独立控温测量点分布示意图

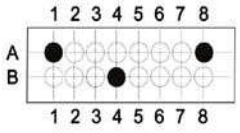


图 2 非独立控温测量点分布示意图

7.1.2 测量程序

根据检测仪说明书设定控温程序，基于实时荧光 PCR 技术和基于等温扩增技术的

检测仪控温程序设置可参考表 3 和表 4，也可根据用户要求设置控温程序。基于实时荧光 PCR 技术检测仪设置采样间隔为 100 ms，基于等温扩增技术检测仪设置采样间隔为 10 s，进行数据记录。

表 3 基于实时荧光 PCR 技术快速核酸检测仪控温程序

步骤	设定温度点	设定温度持续时间	循环次数
1	50℃	30 s	1
2	90℃	30 s	1
3	40℃	30 s	6
4	95℃	30 s	6
5	70℃	30 s	1
6	60℃	30 s	1
7	40℃	30 s	1

表 4 基于等温扩增技术快速核酸检测仪控温程序

温区	设定温度点	设定温度持续时间
上温区	95℃	10 min
中温区	67℃	10 min
下温区	58℃	10 min

7.2 校准方法

7.2.1 温度偏差

基于实时荧光 PCR 技术的检测仪，待温度达到稳定后，开始读取温度测量仪显示测量值，均匀读取 20 组数据；基于等温扩增技术快速核酸检测仪，待温度达到设定温度 2 min 后，开始读取温度测量仪显示测量值，均匀读取 30 组数据，温度偏差按式（1）和（2）分别计算：

$$\Delta T_{\max} = T_{\max} - T_s \quad (1)$$

$$\Delta T_{\min} = T_{\min} - T_s \quad (2)$$

式中：

$\Delta T_{\max}$——最高温度与设定值的偏差，℃；

$\Delta T_{\min}$——最低温度与设定值的偏差，℃；

$T_{\max}$——各测量点测得的最高温度值，℃；

$T_{\min}$——各测量点测得的最低温度值，℃；

T_s——温度设定值，℃。

7.2.2 温度波动度

基于等温扩增技术的检测仪温度达到设定温度 2 min 后，开始读取温度测量仪显示测量值，均匀读取 30 组数据，温度波动度按式（3）计算：

$$\Delta T_f = \max[\frac{(T_{j\max} - T_{j\min})}{2}] \quad (3)$$

式中：

ΔT_f——温度波动度，℃；

j——第 j 个测量点；

$T_{j\max}$——测量点 j 实测最高温度，℃；

$T_{j\min}$——测量点 j 实测最低温度，℃。

7.2.3 平均升温速率

基于实时荧光 PCR 技术的检测仪在设置程序步骤（3～4）循环 6 次的过程中，从前 5 次循环中截取检测仪从 40℃升温至 95℃时的温度数据（图 3），在（50±0.5）℃升温至（90±0.5）℃的温度范围内计算平均升温速率，按式（4）和（5）计算：

$$\overline{V_u} = \frac{1}{m}\sum_{j=1}^{m} V_{uj} \quad (4)$$

$$V_u = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}\frac{(T_{bi} - T_{ai})}{t_{hi}} \quad (5)$$

式中：

$\overline{V_u}$——平均升温速率，℃/s；

m——测量点数量；

j——第 j 个测量点；

V_{uj}——第 j 个测量点升温速率，℃/s；

V_u——升温速率，℃/s；

n ——循环次数，n=5；

T_{ai}——（50±0.5）℃温度点第 i 次测量值，℃；

T_{bi}——（90±0.5）℃温度点第 i 次测量值，℃；

t_{hi}——从T_{ai}到达T_{bi}的时间，s。

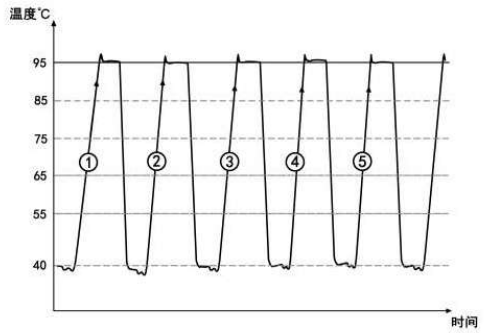


图 3　实时荧光 PCR 技术平均升温速率示意图

基于等温扩增技术的检测仪从常温状态升温至 95℃，截取（50±0.5）℃升温至（90±0.5）℃的温度范围内计算升温速率（图 4），按式（6）计算：

$$\overline{V_u} = \frac{1}{m}\sum_{i=1}^{m}\frac{(T_{bi}-T_{ai})}{t_{hi}} \qquad (6)$$

式中：

$\overline{V_u}$——平均升温速率，℃/s；

m——循环次数；

i——第 i 个测量点；

T_{ai}——第 i 个测量点测得的最接近 50℃的温度值，℃；

T_{bi}——第 i 个测量点测得的最接近 90℃的温度值，℃；

t_{hi}——从T_{ai}到达T_{bi}的时间，s。

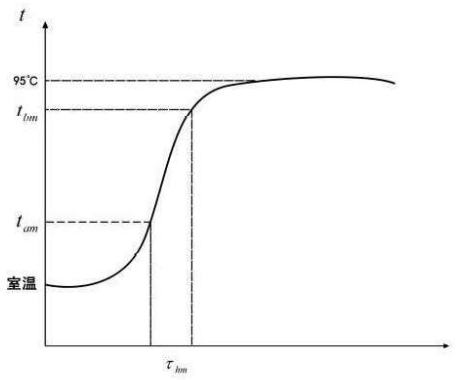


图 4 等温扩增技术平均升温速率截取示意图

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：https://d.book118.com/498071015016006114