

国家计量技术规范规程制修订

《恒温扩增核酸分析仪校准规范》

实验报告

上海市计量测试技术研究院

2023年02月

实验报告

1、实验目的

验证《恒温扩增核酸分析仪校准规范》的适用性和可行性。

2、实验地点

分别在上海伯杰医疗科技股份有限公司、上海仁度生物科技有限公司、上海国际旅行卫生保健中心（上海海关口岸门诊部）、上海速创诊断产品有限公司和杭州优思达生物技术有限公司 5 家实验单位对伯杰公司的 BG-Nova-X8；仁度公司的 AutoSAT；速创公司的 MA3000 型；优思达公司的 UC0108 和 UC0116 型等 12 台仪器进行了实验验证。

3、环境条件

温度：（15~30）℃；相对湿度：20%~85%；供电电源：电压（220±22）V，频率（50±1）Hz；附近无影响仪器正常工作的电磁场及机械振动；仪器接地良好；仪器开机后预热时间不少于 10min。

4、实验仪器与实验设计

目前恒温扩增核酸分析仪仪器更新迭代很快，在验证实验中重点考察了近五年来拿到医疗器械注册证的仪器，选择了伯杰公司的 BG-Nova-X8；仁度公司的 AutoSAT；速创公司的 MA3000 型等进行实验验证，累计收集了 10 台仪器的数据。采用计量校准后的校准设备对恒温扩增核酸分析仪的温度示值误差、温度均匀度、温度稳定性、平均升温速率、样本检测重复性、样本检测线性、样本最低检测限、光强度检测重复性和光强度线性按照校准规范的规定程序进行实验验证分析。

5、校准用仪器及试剂

数字温度计，经计量校准温度扩展不确定度 $\leq 0.1^{\circ}\text{C}$ ， $(k=2)$ ；分析天平，天平准确度为 D 级，分度值不大于 0.1 mg；新型冠状病毒体外转录 RNA 标准物质（低浓度），GBW(E)091111；霍乱弧菌 ompW 基因质粒标准物质，GBW 09850；FAM，CAS 号：92557-80-7。

6、实验结果

6.1 伯杰医疗的 BG-Nova-X8 验证实验

客户名称	上海伯杰医疗科技股份有限公司
客户地址	上海市奉贤区沪杭公路 1588 号凤创谷生物科技楼 3 号楼 10 楼
仪器名称	恒温核酸扩增检测分析仪
生产厂商	上海伯杰医疗科技股份有限公司
型号/规格	BG-Nova-X8
仪器编号	BGX8ZC2022070
试剂盒	新型冠状病毒 2019-nCoV 核酸检测试剂盒（恒温 CRISPR 法）
温度	22.2 °C
相对湿度	60.1%RH
校准日期	2022 年 11 月 29 日

主要测量设备

名称/型号	编号	测量范围/准确度	证书编号/有效期
数字温度计	21070020	(-30~200) °C/ $U=0.1^{\circ}\text{C}$, ($k=2$)	2022E11-10-389510200 1/2024-06-09
新型冠状病毒体外转录 RNA 标准物质（低浓度）	GBW(E)0911 11	N: $3.6 \times 10^6 \text{copies}/\mu\text{L}$ $/U_{\text{rel}}=15\%$, ($k=2$) ; E: $5.2 \times 10^5 \text{copies}/\mu\text{L}$ $/U_{\text{rel}}=10\%$, ($k=2$) ; ORF1ab: $3.0 \times 10^5 \text{copies}/\mu\text{L}$ $/U_{\text{rel}}=17\%$, ($k=2$) ;	H2212014-106/2022-12-09

6.1.1 温度示值误差和温度均匀度

温度 (°C)	温度测量值 (°C)							平均值 (°C)	示值误差 (°C)
	1	2	3	4	5	6	7		
42	41.7	41.6	41.6	41.6	41.6	/	/	41.6	0.4

扩展不确定度(k=2)(°C)	0.11	均匀度(°C)	0.1
-----------------	------	---------	-----

6.1.2 温度稳定性

温度 (°C)	时间 (min)										ΔT_w (°C)	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
42	41.7	41.7	41.6	41.6	41.6	41.6	41.6	41.6	41.6	41.6	41.6	±0.05

6.1.3 平均升温速率

$$T_A = 30 \text{ } ^\circ\text{C}, \quad T_B = 42 \text{ } ^\circ\text{C}, \quad t_1 = 30.07 \text{ s.}$$

6.1.4 样本检测重复性

浓度 (copies/ μL)	1	2	3	4	5	6
3.79×10^3	阳	阳	阳	阳	阳	阳
重复性	/					

6.1.5 样本检测线性

浓度 (copies/ μL)	重复一	重复二	重复三	平均值
3.79×10^4	/	/	/	/
3.79×10^3	/	/	/	/
3.79×10^2	/	/	/	/
3.79×10^1	/	/	/	/
3.79×10^0	/	/	/	/
样本检测线性系数	/			

6.1.6 样本最低检测限

浓度 (copies/ μL)	检测结果					
	1	2	3	4	5	6

0.4	阳	阳	阳	阳	阳	阳
-----	---	---	---	---	---	---

6.1.7 光强度检测重复性

	测量值						重复性
光强度	32150	32868	32840	32871	33963	33629	1.96%

6.1.8 光强度检测线性

浓度浓度 (mg/g)	重复一	重复二	重复三	平均值
1×10^{-5}	32150	32868	32840	32619.33
0.8×10^{-5}	26953	28023	26961	27312.33
0.6×10^{-5}	20290	21092	20982	20788.00
0.4×10^{-5}	14873	14678	16888	15479.67
0.2×10^{-5}	7939	9186	9623	8916.00
光强度线性系数	0.9993			

6.2 伯杰医疗的 BG-Nova-X8 验证实验

客户名称	上海伯杰医疗科技股份有限公司
客户地址	上海市奉贤区沪杭公路 1588 号凤创谷生物科技楼 3 号楼 10 楼
仪器名称	恒温核酸扩增检测分析仪
生产厂商	上海伯杰医疗科技股份有限公司
型号/规格	BG-Nova-X8
仪器编号	BGX8ZC2021009
试剂盒	新型冠状病毒 2019-nCoV 核酸检测试剂盒（恒温扩增法）
温度	22.2°C
相对湿度	60.1%RH
校准日期	2022 年 11 月 29 日

主要测量设备

名称/型号	编号	测量范围/准确度	证书编号/有效期
-------	----	----------	----------

数字温度计	21070020	$(-30\sim 200)^{\circ}\text{C}/U=0.1^{\circ}\text{C}$, ($k=2$)	2022E11-10-389510200 1/2024-06-09
新型冠状病毒体外转录 RNA 标准物质 (低浓度)	GBW(E)09111 1	N: $3.6\times 10^6\text{copies}/\mu\text{L}$ $/U_{\text{rel}}=15\%$, ($k=2$) ; E: $5.2\times 10^5\text{copies}/\mu\text{L}$ $/U_{\text{rel}}=10\%$, ($k=2$) ; ORF1ab: $3.0\times 10^5\text{copies}/\mu\text{L}$ $/U_{\text{rel}}=17\%$, ($k=2$) ;	H2212014-106/2022-12-09

6.2.1 温度示值误差和温度均匀度

温度 ($^{\circ}\text{C}$)	温度测量值 ($^{\circ}\text{C}$)							平均值 ($^{\circ}\text{C}$)	示值 误差 ($^{\circ}\text{C}$)
	1	2	3	4	5	6	7		
42	42.2	42.2	42.1	42.1	42.1	/	/	42.1	-0.1
扩展不确定度($k=2$)($^{\circ}\text{C}$)				0.11	均匀度($^{\circ}\text{C}$)			0.1	

6.2.2 温度稳定性

温度($^{\circ}\text{C}$)	时间 (min)										ΔT_w ($^{\circ}\text{C}$)
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
42	42.2	42.1	42.1	42.1	42.0	42.0	41.9	41.9	41.9	41.9	± 0.15

6.2.3 平均升温速率

$$T_A = 30^{\circ}\text{C}, \quad T_B = 42^{\circ}\text{C}, \quad t_1 = 33.69\text{ s}.$$

6.2.4 样本检测重复性

浓度 (copies/ μL)	指数级扩增拐点时间 (min)					
	1	2	3	4	5	6

3.79*10 ³	8.23	8.28	7.11	8.29	8.32	7.51
重复性	6.50%					

6.2.5 样本检测线性

浓度 (copies/μL)	指数级扩增拐点时间 (min)			
	重复一	重复二	重复三	平均值
3.79*10 ⁴	7.05	7.15	8.15	7.45
3.79*10 ³	8.29	8.32	7.51	8.04
3.79*10 ²	9.15	9.20	9.15	9.17
3.79*10 ¹	9.33	8.03	9.33	9.33
3.79*10 ⁰	10.28	10.21	10.50	10.33
样本检测线性系数	0.9837			

6.2.6 样本最低检测限

浓度 (copies/μL)	指数级扩增拐点时间 (min)					
	1	2	3	4	5	6
0.2	12.62	12.32	12.31	13.47	11.74	11.58

6.2.7 光强度检测重复性

	测量值						重复性
光强度	40089	39996	39704	39112	39392	41242	1.86%

6.2.8 光强度检测线性

浓度 (mg/g)	重复一	重复二	重复三	平均值
1*10 ⁽⁻⁵⁾	40089	39996	39704	39929.67
0.8*10 ⁽⁻⁵⁾	33553	31685	31322	32186.67
0.6*10 ⁽⁻⁵⁾	24709	24563	24129	24467.00
0.4*10 ⁽⁻⁵⁾	16595	16589	17420	16868.00
0.2*10 ⁽⁻⁵⁾	9551	8293	8518	8787.33
光强度线性系数	0.99994			

6.3 仁度的 BG-Nova-X8 验证实验

客户名称	上海仁度生物科技有限公司
客户地址	上海市浦东新区瑞庆路 590 号上海张江现代医疗器械园 B 区 7 幢 301
仪器名称	全自动核酸检测分析系统
生产厂商	上海仁度生物科技有限公司
型号/规格	AutoSAT
仪器编号	3010163
试剂盒	通用型甲型流感病毒核酸检测试剂盒 (RNA 恒温扩增)
温度	22.5 °C
相对湿度	60.1%
校准日期	2022 年 11 月 11 日

主要测量设备

名称/型号	编号	测量范围/准确度	证书编号/有效期
数字温度计	21070020	(-30~200) °C/ $U=0.1^{\circ}\text{C}$, ($k=2$)	2022E11-10-389510200 1/2024-06-09
甲型流感病毒 H1N1 型灭活病 毒标准物质	SNM0042	952copies/ μL $/U_{\text{rel}}=15\%$	221031/2023-10-31

6.3.1 温度示值误差和温度均匀度

温度 (°C)	温度测量值 (°C)							平均值 (°C)	示值 误差 (°C)
	1	2	3	4	5	6	7		
42	42.0	42.0	42.0	42.0	42.0	/	/	42.0	0.0
扩展不确定度($k=2$)(°C)				0.10	均匀度(°C)			0.0	

6.3.2 温度稳定性

温度 (°C)	时间 (min)										ΔT_w (°C)	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
42	42.0	42.0	42.0	42.0	42.0	42.0	42.0	42.0	42.0	42.0	42.0	±0.00

6.3.3 平均升温速率

$$T_A = 30 \text{ } ^\circ\text{C}, \quad T_B = 42 \text{ } ^\circ\text{C}, \quad t_1 = 482.37\text{s}.$$

6.3.4 样本检测重复性

浓度 (copies/ μL)	指数级扩增拐点时间 (min)					
	1	2	3	4	5	6
9.52	16.9	16.9	16.8	15.5	16.1	16.8
重复性	3.49%					

6.3.5 样本检测线性

浓度 (copies/ μL)	指数级扩增拐点时间 (min)			
	重复一	重复二	重复三	平均值
95.2	14.5	14.6	14.7	14.60
31.7	15.7	15.5	15.3	15.50
10.6	15.3	16	16.3	15.83
3.53	17.5	17.3	16.8	17.20
1.18	18.5	18.7	18.9	18.70
样本检测线性系数	0.9757			

6.3.6 样本最低检测限

浓度 (copies/ μL)	指数级扩增拐点时间 (min)					
	1	2	3	4	5	6
0.5	18.3	19.6	18.7	17.9	18.9	19

6.3.7 光强度检测重复性

	测量值						重复性
光强度	5049	5009	5108	5148	5247	5306	2.22%

6.3.8 光强度检测线性

浓度浓度 (mg/g)	重复一	重复二	重复三	平均值
0.001	9306	9345	9444	9365.00
0.0005	5049	5009	5108	5055.33
0.00025	2534	2534	2574	2547.33
0.000125	1306	1326	1346	1326.00
0.0000625	693	712	712	705.67
光强度线性系数	0.9993			

6.4 海关自研微流控恒温荧光扩增仪验证实验

客户名称	上海国际旅行卫生保健中心（上海海关口岸门诊部）
客户地址	上海市长宁区金浜路 15 号一号楼二楼
仪器名称	微流控恒温荧光扩增仪
生产厂商	上海国际旅行卫生保健中心（上海海关口岸门诊部）
型号/规格	2019YFC0810903-1.0
仪器编号	无编号
试剂盒	结核分歧杆菌等温扩增试剂盒
温度	19.7°C
相对湿度	40.3%RH
校准日期	2023.02.21

主要测量设备

名称/型号	编号	测量范围/准确度	证书编号/有效期
数字温度计	21070020	$(-30\sim 200)^{\circ}\text{C}/U=0.1^{\circ}\text{C}$, ($k=2$)	2022E11-10-389510200 1/2024-06-09
结核分枝杆菌 IS6110 基因检测 质粒 DNA 标准物质	GBW(E)09092 4	$U_{rel}=6.2\%(k=2)$	H2206141-030/2023-06- 13

6.4.1 温度示值误差和温度均匀度

温度 (°C)	温度测量值 (°C)							平均值 (°C)	示值 误差 (°C)
	1	2	3	4	5	6	7		
67	71.8	71.8	71.9	/	/	/	/	71.8	-7.83
扩展不确定度(k=2)(°C)				0.12	均匀度(°C)				0.1

6.4.2 温度稳定性

温度 (°C)	时间 (min)										ΔT_w (°C)
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
67	71.8	71.8	71.9	71.9	72.0	72.0	72.1	72.2	72.3	72.3	0.25

6.4.3 平均升温速率

$$T_A = 60 \text{ } ^\circ\text{C}, \quad T_B = 72 \text{ } ^\circ\text{C}, \quad t_1 = 754.21 \text{ } .$$

6.4.4 样本检测重复性

检测浓度	1	2	3	4	5	6
/	阳	阴	阳	阳	阴	阴
重复性	/					

6.4.5 样本检测线性

浓度	重复一	重复二	重复三	平均值
/	/	/	/	/
/	/	/	/	/
/	/	/	/	/
/	/	/	/	/
/	/	/	/	/
样本检测线性系数	/			

6.4.6 样本最低检测限

浓度 (copies/ μ L)	指数级扩增拐点时间 (min)					
	1	2	3	4	5	6
/	/	/	/	/	/	/

6.4.7 光强度检测重复性

	测量值						重复性
光强度	26459	26992	28199	27877	32391	35256	11.86%

6.4.8 光强度检测线性

浓度 (ng/g)	重复一	重复二	重复三	平均值
200	2839	4063	3517	3473.00
400	9854	9611	11511	10325.33
600	18061	16876	18130	17689.00
800	23602	19968	26272	23280.67
1000	26459	26992	28199	27216.67
光强度线性系数	0.9986			

6.5 速创的 MA3000 验证实验

客户名称	上海速创诊断产品有限公司
客户地址	上海市浦东新区紫萍路 908 弄 1 号楼 3 层
仪器名称	全自动恒温核酸扩增分析仪
生产厂商	上海速创诊断产品有限公司
型号/规格	MA 3000
仪器编号	SC-RD-076-04
温度	19.4°C
相对湿度	64.3%RH
校准日期	2022.09.27

主要测量设备

名称/型号	编号	测量范围/准确度	证书编号/有效期
数字温度计	21070020	$(-30\sim 200)^\circ\text{C}/U=0.1^\circ\text{C}$, ($k=2$)	2022E11-10-389510200 1/2024-06-09
霍乱弧菌 ompW 基因质 粒标准物质	GBW 09850	$74.2\times 10^{-3}\text{ mg/g}$ $2.15\times 10^{10}\text{ copies}/\mu\text{L}$ $/U_{\text{rel}}=4.8\%(k=2)$	H2111011-31/2022-11-0 1

6.5.1 温度示值误差和温度均匀度

温度 ($^\circ\text{C}$)	温度测量值 ($^\circ\text{C}$)							平均值 ($^\circ\text{C}$)	示值 误差 ($^\circ\text{C}$)
	1	2	3	4	5	6	7		
63	63.5	63.5	63.4	/	/	/	/	63.5	-0.5
扩展不确定度($k=2$)($^\circ\text{C}$)				0.12	均匀度($^\circ\text{C}$)			0.10	

6.5.2 温度稳定性

温度 ($^\circ\text{C}$)	时间 (min)										ΔT_w ($^\circ\text{C}$)
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
63	63.9	63.8	63.8	63.7	63.5	63.6	63.5	63.5	63.4	63.4	± 0.25

6.5.3 平均升温速率

$$T_A = 45^\circ\text{C}, \quad T_B = 60^\circ\text{C}, \quad t_1 = 18.66\text{s}。$$

6.5.4 样本检测重复性

浓度 (copies/ μL)	指数级扩增拐点时间 (min)					
	1	2	3	4	5	6
215000	7.08	6.9	7.16	7.21	7.07	7.33
重复性	1.81%					

6.5.5 样本检测线性

浓度 (copies/ μ L)	指数级扩增拐点时间 (min)			
	重复一	重复二	重复三	平均值
21500000	5.07	5.01	5.04	5.04
2150000	5.87	5.99	5.82	5.89
215000	7.08	6.9	7.16	7.05
2150	8.89	8.6	8.55	8.68
215	10.92	9.74	9.93	10.20
样本检测线性系数	0.9956			

6.5.6 样本最低检测限

浓度 (copies/ μ L)	指数级扩增拐点时间 (min)					
	1	2	3	4	5	6
5	21.34	20.52	22.16	20.82	20.28	21.64

6.5.7 光强度检测重复性

	测量值						重复性
光强度	6699	6765	6738	6042	6060	6003	6.01%

6.5.8 光强度检测线性

浓度 (ng/g)	重复一	重复二	重复三	平均值
100	8217	8127	8154	8166.00
80	6699	6657	6738	6698.00
60	5184	5274	5106	5188.00
40	3930	3927	3954	3937.00
20	2535	2523	2523	2527.00
光强度线性系数	0.9995			

6.6 速创的 MA3000 验证实验

客户名称	上海速创诊断产品有限公司
客户地址	上海市浦东新区紫萍路 908 弄 1 号楼 3 层

仪器名称	全自动恒温核酸扩增分析仪
生产厂商	上海速创诊断产品有限公司
型号/规格	MA 3000
仪器编号	SC-RD-076-15
温度	19.4°C
相对湿度	64.3%RH
校准日期	2022.09.27

主要测量设备

名称/型号	编号	测量范围/准确度	证书编号/有效期
数字温度计	21070020	(-30~200) °C/ $U=0.1^{\circ}\text{C}$, ($k=2$)	2022E11-10-389510200 1/2024-06-09
霍乱弧菌 ompW 基因质 粒标准物质	GBW 09850	74.2×10^{-3} mg/g 2.15×10^{10} copies/ μL $/U_{\text{rel}}=4.8\%(k=2)$	H2111011-31/2022-11-0 1

6.6.1 温度示值误差和温度均匀度

温度 (°C)	温度测量值 (°C)							平均值 (°C)	示值 误差 (°C)
	1	2	3	4	5	6	7		
63	62.8	62.8	62.7	/	/	/	/	62.8	0.2
扩展不确定度($k=2$)(°C)				0.12	均匀度(°C)				0.1

6.6.2 温度稳定性

温度 (°C)	时间 (min)										ΔT_w (°C)
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
63	63.1	63.0	62.8	62.8	62.9	62.8	62.8	62.8	62.8	62.7	± 0.20

6.8.3 平均升温速率

$$T_A = 45 \text{ } ^\circ\text{C}, \quad T_B = 60 \text{ } ^\circ\text{C}, \quad t_1 = 17.06 \text{ } .$$

6.6.4 样本检测重复性

浓度 (copies/ μL)	指数级扩增拐点时间 (min)					
	1	2	3	4	5	6
215000	7.87	8.08	8.24	7.81	8.06	7.83
重复性	1.76%					

6.6.5 样本检测线性

浓度 (copies/ μL)	指数级扩增拐点时间 (min)			
	重复一	重复二	重复三	平均值
21500000	5.63	5.62	5.42	5.56
2150000	6.69	6.81	6.69	6.73
215000	7.87	8.08	8.24	8.06
2150	8.67	8.84	8.55	8.69
215	10.02	10.05	9.89	9.99
样本检测线性系数	0.9738			

6.6.6 样本最低检测限

浓度 (copies/ μL)	指数级扩增拐点时间 (min)					
	1	2	3	4	5	6
5	22.46	21.37	23.55	21.84	22.93	20.88

6.6.7 光强度检测重复性

	测量值						重复性
光强度	6048	6150	6126	5883	5892	5847	2.23%

6.6.8 光强度检测线性

浓度 (ng/g)	重复一	重复二	重复三	平均值
100	7485	7461	7482	7476.00
80	6048	6019	6126	6064.33

60	4641	4743	4563	4649.00
40	3426	3435	3456	3439.00
20	2061	2046	2028	2045.00
光强度线性系数	0.99965			

6.7 速创的 MA3000 验证实验

客户名称	上海速创诊断产品有限公司
客户地址	上海市浦东新区紫萍路 908 弄 1 号楼 3 层
仪器名称	全自动恒温核酸扩增分析仪
生产厂商	上海速创诊断产品有限公司
型号/规格	MA 3000
仪器编号	SC-RD-076-16
温度	19.4°C
相对湿度	64.3%RH
校准日期	2022.09.27

主要测量设备

名称/型号	编号	测量范围/准确度	证书编号/有效期
数字温度计	21070020	(-30~200) °C/ $U=0.1^{\circ}\text{C}$, ($k=2$)	2022E11-10-389510200 1/2024-06-09
霍乱弧菌 ompW 基因质 粒标准物质	GBW 09850	$74.2 \times 10^{-3} \text{ mg/g}$ $2.15 \times 10^{10} \text{ copies}/\mu\text{L}$ $/U_{\text{rel}}=4.8\%(k=2)$	H2111011-31/2022-11-0 1

6.7.1 温度示值误差和温度均匀度

温度 (°C)	温度测量值 (°C)							平均值 (°C)	示值 误差 (°C)
	1	2	3	4	5	6	7		
63	63.2	63.1	63.1	/	/	/	/	63.1	-0.1
扩展不确定度($k=2$)(°C)				0.12	均匀度(°C)			0.1	

6.7.2 温度稳定性

温度 (°C)	时间 (min)										ΔT_w (°C)
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
63	63.6	63.5	63.3	63.2	63.1	63.1	63.0	62.9	62.9	62.8	±0.40

6.7.3 平均升温速率

$$T_A = 45 \text{ } ^\circ\text{C}, \quad T_B = 60 \text{ } ^\circ\text{C}, \quad t_1 = 20.71 \text{ } ^\circ$$

6.7.4 样本检测重复性

浓度 (copies/ μL)	指数级扩增拐点时间 (min)					
	1	2	3	4	5	6
215000	8.76	8.75	8.86	8.56	8.49	8.35
重复性	1.26%					

6.7.5 样本检测线性

浓度 (copies/ μL)	指数级扩增拐点时间 (min)			
	重复一	重复二	重复三	平均值
21500000	6.83	6.98	6.96	6.92
2150000	7.79	7.92	7.74	7.82
215000	8.76	8.75	8.86	8.79
2150	8.72	8.52	8.48	8.57
215	10.09	9.82	10.06	9.99
样本检测线性系数	0.9085			

6.7.6 样本最低检测限

浓度 (copies/ μL)	指数级扩增拐点时间 (min)					
	1	2	3	4	5	6
5	21.23	23.51	20.71	22.97	22.32	24.61

6.7.7 光强度检测重复性

	测量值						重复性
光强度	5283	5376	5346	5130	5145	5103	2.28%

6.7.8 光强度检测线性

浓度(ng/g)	重复一	重复二	重复三	平均值
100	6534	6513	6540	6529.00
80	5283	5265	5346	5298.00
60	4062	4128	4008	4066.00
40	2994	2994	3009	2999.00
20	1782	1767	1758	1769.00
光强度线性系数	0.9997			

6.8 速创的 MA3000 验证实验

客户名称	上海速创诊断产品有限公司
客户地址	上海市浦东新区紫萍路 908 弄 1 号楼 3 层
仪器名称	全自动恒温核酸扩增分析仪
生产厂商	上海速创诊断产品有限公司
型号/规格	MA 3000
仪器编号	SC-RD-076-05
温度	20.4°C
相对湿度	50.4%RH
校准日期	2023.02.25

主要测量设备

名称/型号	编号	测量范围/准确度	证书编号/有效期
数字温度计	21070020	(-30~200) °C/ $U=0.1^{\circ}\text{C}$, ($k=2$)	2022E11-10-389510200 1/2024-06-09
霍乱弧菌 ompW 基因质 粒标准物质	GBW 09850	$74.2 \times 10^{-3} \text{ mg/g}$ $2.15 \times 10^{10} \text{ copies}/\mu\text{L}$ $/U_{\text{rel}}=4.8\%(k=2)$	H2302161-015/2024-02- 16

6.8.1 温度示值误差和温度均匀度

温度 (°C)	温度测量值 (°C)							平均值 (°C)	示值 误差 (°C)
	1	2	3	4	5	6	7		
63	63.0	62.9	63.0	/	/	/	/	63.0	0.0
扩展不确定度(k=2)(°C)				0.12	均匀度(°C)			0.1	

6.8.2 温度稳定性

温度 (°C)	时间 (min)										ΔT_w (°C)
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
63	63.3	63.2	63.1	63.0	63.0	63.0	62.9	63.0	62.8	62.9	± 0.25

6.8.3 平均升温速率

$$T_A = 45 \text{ } ^\circ\text{C}, \quad T_B = 60 \text{ } ^\circ\text{C}, \quad t_1 = 17.12 \text{ } .$$

6.8.4 样本检测重复性

浓度 (copies/ μL)	指数级扩增拐点时间 (min)					
	1	2	3	4	5	6
215000	8.46	8.61	8.95	8.61	8.53	8.50
重复性	0.67%					

6.8.5 样本检测线性

浓度 (copies/ μL)	指数级扩增拐点时间 (min)			
	重复一	重复二	重复三	平均值
21500000	6.94	6.72	6.46	6.71
2150000	7.32	7.39	6.95	7.22
215000	8.46	8.61	8.95	8.67
2150	9.15	9.82	10.33	9.77
215	12.08	11.30	11.72	11.70

样本检测线性系数	0.9797
----------	--------

6.8.6 样本最低检测限

浓度 (copies/ μ L)	指数级扩增拐点时间 (min)					
	1	2	3	4	5	6
5	22.81	22.74	19.45	20.91	21.22	23.57

6.8.7 光强度检测重复性

光强度	测量值						重复性
	6048	6099	6072	5988	5994	5916	
							1.11%

6.8.8 光强度检测线性

浓度(ng/g)	重复一	重复二	重复三	平均值
100	7461	7404	7467	7444.00
80	6048	6015	6072	6045.00
60	4470	4674	4350	4498.00
40	3399	3414	3420	3411.00
20	2043	2031	2025	2033.00
光强度线性系数	0.9987			

6.9 速创的 MA3000 验证实验

客户名称	上海速创诊断产品有限公司
客户地址	上海市浦东新区紫萍路 908 弄 1 号楼 3 层
仪器名称	全自动恒温核酸扩增分析仪
生产厂商	上海速创诊断产品有限公司
型号/规格	MA 3000
仪器编号	SC-RD-076-06
温度	20.4°C
相对湿度	50.4%RH

校准日期	2023.02.25
------	------------

主要测量设备

名称/型号	编号	测量范围/准确度	证书编号/有效期
数字温度计	21070020	$(-30\sim 200)^\circ\text{C}/U=0.1^\circ\text{C}$, ($k=2$)	2022E11-10-389510200 1/2024-06-09
霍乱弧菌 ompW 基因质 粒标准物质	GBW 09850	$74.2\times 10^{-3}\text{ mg/g}$ $2.15\times 10^{10}\text{ copies}/\mu\text{L}$ $/U_{\text{rel}}=4.8\%(k=2)$	H2302161-015/2024-02- 16

6.9.1 温度示值误差和温度均匀度

温度 ($^\circ\text{C}$)	温度测量值 ($^\circ\text{C}$)							平均值 ($^\circ\text{C}$)	示值 误差 ($^\circ\text{C}$)
	1	2	3	4	5	6	7		
63	62.8	62.7	62.8	/	/	/	/	62.8	0.2
扩展不确定度($k=2$)($^\circ\text{C}$)				0.12	均匀度($^\circ\text{C}$)				0.1

6.9.2 温度稳定性

温度 ($^\circ\text{C}$)	时间 (min)										ΔT_w ($^\circ\text{C}$)
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
63	63.0	63.0	62.9	62.9	62.9	62.8	62.7	62.8	62.8	62.8	± 0.1 5

6.9.3 平均升温速率

$$T_A = 45 \text{ }^\circ\text{C}, \quad T_B = 60 \text{ }^\circ\text{C}, \quad t_1 = 18.95 \text{ }^\circ\text{C}.$$

6.9.4 样本检测重复性

浓度 (copies/ μL)	指数级扩增拐点时间 (min)					
	1	2	3	4	5	6

215000	8.37	8.54	8.44	8.45	9.55	8.98
重复性	6.12%					

6.9.5 样本检测线性

浓度 (copies/ μ L)	指数级扩增拐点时间 (min)			
	重复一	重复二	重复三	平均值
21500000	6.51	6.48	6.42	6.47
2150000	7.35	7.17	7.14	7.22
215000	8.37	8.54	8.44	8.45
2150	10.78	10.35	10.37	10.50
215	12.25	10.60	11.37	11.41
样本检测线性系数	0.9987			

6.9.6 样本最低检测限

浓度 (copies/ μ L)	指数级扩增拐点时间 (min)					
	1	2	3	4	5	6
5	22.89	19.95	21.05	23.35	24.61	20.23

6.9.7 光强度检测重复性

	测量值						重复性
光强度	6114	6159	6102	5367	5394	5331	7.27%

6.9.8 光强度检测线性

浓度	重复一	重复二	重复三	平均值
100	7587	7614	7602	7601.00
80	6114	6093	6102	6103.00
60	4344	4470	4215	4343.00
40	3189	3180	3174	3181.00
20	1896	1860	1881	1879.00
光强度线性系数	0.9973			

6.10 速创的 MA3000 验证实验

63	62.3	62.1	62.0	62.0	62.1	62	62.1	62.0	62.0	62.0	±0.15
----	------	------	------	------	------	----	------	------	------	------	-------

6.10.3 平均升温速率

$$T_A = 45 \text{ } ^\circ\text{C}, \quad T_B = 60 \text{ } ^\circ\text{C}, \quad t_1 = 17.41 \text{ } .$$

6.10.4 样本检测重复性

浓度 (copies/ μL)	指数级扩增拐点时间 (min)					
	1	2	3	4	5	6
215000	7.51	7.37	7.29	7.49	7.26	7.16
重复性	2.32%					

6.10.5 样本检测线性

浓度 (copies/ μL)	指数级扩增拐点时间 (min)			
	重复一	重复二	重复三	平均值
21500000	5.31	5.39	5.45	5.38
2150000	6.38	6.33	6.32	6.34
215000	7.51	7.37	7.29	7.39
2150	8.56	8.61	8.6	8.59
215	9.98	10.26	10.93	10.39
样本检测线性系数	0.9864			

6.10.6 样本最低检测限

浓度 (copies/ μL)	指数级扩增拐点时间 (min)					
	1	2	3	4	5	6
5	20.36	21.44	20.35	24.34	23.5	21.52

6.10.7 光强度检测重复性

	测量值						重复性
光强度	6600	6645	6654	6606	6594	6546	0.59%

6.10.8 光强度检测线性

浓度(ng/g)	重复一	重复二	重复三	平均值
100	8094	8148	8133	8125.00
80	6600	6574	6654	6609.33
60	4836	5151	4710	4899.00
40	3726	3753	3765	3748.00
20	2217	2196	2208	2207.00
光强度线性系数	0.9985			

6.11 优思达的 UC0108 验证实验

客户名称	杭州优思达生物技术有限公司
客户地址	浙江省杭州市滨江区创智街 1688 号金盛科技园 4 幢 2 楼优思达
仪器名称	核酸扩增检测分析仪（多通道）
生产厂商	杭州优思达生物技术有限公司
型号/规格	UC0108
仪器编号	210422110050A
试剂盒	新型冠状病毒 2019-nCoV 核酸检测试剂盒(恒温扩增-实时荧光法)
温度	22.5 °C
相对湿度	60.1%
校准日期	2023 年 01 月 16 日

主要测量设备

名称/型号	编号	测量范围/准确度	证书编号/有效期
数字温度计	21070020	(-30~200)°C/ $U=0.1^{\circ}\text{C}$, ($k=2$)	2022E11-10-389510200 1/2024-06-09
新型冠状病毒体外转录 RNA 标准物质(低浓度)	GBW(E)09111 1	N: $3.6 \times 10^6 \text{copies}/\mu\text{L}$ $/U_{\text{rel}}=15\%$, ($k=2$) ; E: $5.2 \times 10^5 \text{copies}/\mu\text{L}$ $/U_{\text{rel}}=10\%$, ($k=2$) ; ORF1ab: $3.0 \times 10^5 \text{copies}/\mu\text{L}$ $/U_{\text{rel}}=17\%$, ($k=2$) ;	H2212014-104/2022-12-09

6.11.1 温度示值误差和温度均匀度

温度 (°C)	温度测量值 (°C)							平均值 (°C)	示值 误差 (°C)
	1	2	3	4	5	6	7		
40	40.3	40.7	40.4					40.5	-0.5
扩展不确定度(k=2)(°C)				0.30	均匀度(°C)				0.4

6.11.2 温度稳定性

温度 (°C)	时间 (min)										ΔT_w (°C)	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
40	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	±0.00

6.11.3 平均升温速率

$$T_A = 40 \text{ } ^\circ\text{C}, \quad T_B = 70 \text{ } ^\circ\text{C}, \quad t_1 = 54\text{s} \text{ } .$$

6.11.4 样本检测重复性

浓度 (copies/ μL)	1	2	3	4	5	6
137	6.00	6.33	5.67	6.33	6.17	6.17
重复性	4.07%					

6.11.5 样本检测线性

浓度 (copies/ μL)	重复一	重复二	重复三	平均值
3330	3.67	3.33	3.50	3.50
1110	4.00	3.67	3.83	3.83
370	4.67	4.50	4.33	4.50
123	5.33	5.00	5.17	5.17
41.1	5.67	5.00	5.50	5.39
样本检测线性系数	0.9879			

6.11.6 样本最低检测限

浓度 (copies/ μ L)	检测结果					
	1	2	3	4	5	6
5.08	6.67	6.33	6.67	6.83	8.83	6.83

6.11.7 光强度检测重复性

	测量值						重复性
光强度	12667	12686	12686	12670	12670	12674	0.244%

6.11.8 光强度检测线性

浓度	重复一	重复二	重复三	平均值
0.071 μ M	11447.9	11464.05	13709.55	12207.2
0.061 μ M	10331.25	10364.2	12940.5	11212.0
0.051 μ M	9007.5	9137.4	11143.3	9762.7
0.036 μ M	7197.2	7530.9	9380.6	8036.2
0.026 μ M	6122.7	6438.65	7981.25	6847.53
光强度线性系数	0.9991			

6.12 优思达的 UC0116 验证实验

客户名称	杭州优思达生物技术有限公司
客户地址	浙江省杭州市滨江区创智街 1688 号金盛科技园 4 幢 2 楼优思达
仪器名称	核酸扩增检测分析仪（多通道）
生产厂商	杭州优思达生物技术有限公司
型号/规格	UC0116
仪器编号	210522110035A
试剂盒	新型冠状病毒 2019-nCoV 核酸检测试剂盒(恒温扩增-实时荧光法)
温度	22.5 $^{\circ}$ C

相对湿度	60.1%
校准日期	2023年01月16日

主要测量设备

名称/型号	编号	测量范围/准确度	证书编号/有效期
数字温度计	21070020	$(-30\sim 200)^{\circ}\text{C}/U=0.1^{\circ}\text{C}$, ($k=2$)	2022E11-10-389510200 1/2024-06-09
新型冠状病毒体外转录 RNA 标准物质 (低浓度)	GBW(E)09111 1	N: $3.6\times 10^6\text{copies}/\mu\text{L}$ $/U_{\text{rel}}=15\%$, ($k=2$) ; E: $5.2\times 10^5\text{copies}/\mu\text{L}$ $/U_{\text{rel}}=10\%$, ($k=2$) ; ORF1ab: $3.0\times 10^5\text{copies}/\mu\text{L}$ $/U_{\text{rel}}=17\%$, ($k=2$) ;	H2212014-103/2022-12-09

6.12.1 温度示值误差和温度均匀度

温度 ($^{\circ}\text{C}$)	温度测量值 ($^{\circ}\text{C}$)							平均值 ($^{\circ}\text{C}$)	示值 误差 ($^{\circ}\text{C}$)
	1	2	3	4	5	6	7		
40	40.7	40.4	40.6	40.5	40.4			40.5	-0.5
扩展不确定度($k=2$)($^{\circ}\text{C}$)				0.18	均匀度($^{\circ}\text{C}$)			0.3	

6.12.2 温度稳定性

温度 ($^{\circ}\text{C}$)	时间 (min)										ΔT_w ($^{\circ}\text{C}$)	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
40	40.6	40.6	40.6	40.6	40.6	40.6	40.6	40.6	40.6	40.6	40.6	± 0.00

6.12.3 平均升温速率

$$T_A = 40 \text{ } ^{\circ}\text{C}, \quad T_B = 70 \text{ } ^{\circ}\text{C}, \quad t_1 = 46\text{s} \text{ } .$$

6.12.4 样本检测重复性

浓度 (copies/ μ L)	1	2	3	4	5	6
137	5.67	6.33	5.67	6.50	6.00	5.67
重复性	6.18%					

6.12.5 样本检测线性

浓度 (copies/ μ L)	重复一	重复二	重复三	平均值
3330	3.33	4.17	3.83	3.78
1110	4.33	4.17	4.50	4.33
370	5.00	4.67	4.33	4.67
123	6.00	5.00	4.67	5.22
41.1	6.00	5.83	5.17	5.67
样本检测线性系数	0.9980			

6.12.6 样本最低检测限

浓度 (copies/ μ L)	检测结果					
	1	2	3	4	5	6
5.08	7.33	6.50	6.83	7.67	7.33	6.50

6.12.7 光强度检测重复性

	测量值						重复性
光强度	14288	14288	14209	14209	14132	14132	0.417%

6.12.8 光强度检测线性

浓度	重复一	重复二	重复三	平均值
0.071 μ M	28705.9	28520.05	28204.7	28476.88
0.061 μ M	26201.15	25844.95	26066.1	26037.4
0.051 μ M	23656.9	23128.6	22881.75	23222.41
0.036 μ M	20088.9	18748.4	19048.85	19295.38

0.026 μ M	17690	16537.4	16484.45	16903.95
光强度线性系数	0.9997			

7、实验结论

通过对伯杰公司的 BG-Nova-X8; 仁度公司的 AutoSAT; 速创公司的 MA3000 型; 优思达公司的 UC0108 和 UC0116 型等 12 台仪器进行实验验证。结果证明编写组制定的《恒温扩增核酸分析仪校准规范》能够很好的评价和反映出恒温扩增核酸分析仪的温度示值误差、温度均匀度、温度稳定性、平均升温速率、样本检测重复性、样本最低检测限、光强度检测重复性和光强度线性; 由于恒温扩增核酸分析仪绝大部分用来定性检测, 并且通过实验发现各家仪器样本检测线性不佳, 因此选用样本最低检测限而不用样本线性来评价仪器性能。

《恒温扩增核酸分析仪校准规范》起草小组

2023 年 02 月