



中华人民共和国国家计量技术规范

JJF ××××—202×

成像式微孔板检测系统校准规范

Calibration Specification of Imaging Multi-Mode Systems

(征求意见稿)

本稿完成日期：2026-08-30

202X-XX-XX 发布

202X-XX-XX 实施

国家市场监督管理总局 发布

成像式微孔板检测系统校准 规范

JJF XXXX—202X

Calibration Specification of Imaging
Multi-Mode Systems

归口单位：全国生物计量技术委员会

主要起草单位：XXXXXX

XXXXXX

XXXXXX

XXXXXX

本规范委托全国生物计量技术委员会负责解释。

商务印书馆

本规范主要起草人：

XXX (XXXXXX)

XXX (XXXXXX)

XXX (XXXXXX)

XXX (XXXXXX)

全国生物计量技术委员会

南语中心办公室

目 录

引言	(II)
1 范围	(1)
2 引用文件	(1)
3 术语	(1)
3.1 成像式微孔板检测系统	(1)
4 概述	(1)
5 计量特性	(1)
6 校准条件	(2)
6.1 环境条件	(2)
6.2 校准用标准物质	(2)
7 校准项目和校准方法	(2)
7.1 荧光斑点计数示值相对误差	(2)
7.2 重复性	(3)
8 校准结果表达	(3)
8.1 校准结果处理	(3)
8.2 校准结果的测量不确定度	(3)
9 复校时间间隔	(3)
附录 A	(4)
附录 B	(5)
附录 C	(6)
附录 D	(7)

引 言

JJF 1071《国家计量校准规范编写规则》、JJF 1001《通用计量术语及定义》和 JJF 1059.1《测量不确定度评定与表示》共同构成支撑本规范制定工作的基础性系列规范。校准方法及计量特性等主要参考了 JJG 2035-2023《斑点酶联免疫分析仪校准规范》。

本规范为首次发布。

全国生物计量技术委员会

前言中心办公室

成像式微孔板检测系统校准规范

1 范围

本规范适用于各类成像式微孔板检测系统中荧光成像模块的校准。

2 引用文件

本规范引用了下列文件：

ANSI/SLAS 4-2004 微孔反应板. 井位置 (Microplates - Well Positions)

GB/T 32267-2015 分析仪器性能测定术语

注：凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本大纲；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 成像式微孔板检测系统 imaging microplate detection systems

成像式微孔板检测系统是将全自动显微成像系统与传统的微孔板检测系统整合一体，兼具酶联免疫斑点（Elispot）和荧光免疫斑点（FluoroSpot）双重分析功能的自动成像计数分析系统。

4 概述

成像式微孔板检测系统将荧光和高对比度明场成像与传统的多功能检测相结合。通过内置的荧光显微镜简单快速成像，不论是聚焦、LED 强度还是曝光均可全自动完成。其微孔板检测模块包含了基于滤光片的高灵敏度荧光检测系统可以完成荧光强度检测，兼容 6-384 孔板，根据检测信号的强度阈值来挑选出目标孔进行成像。通过图像采集与分析计算得出检测结果，提供孔板检测定量数据。

5 计量特性

成像式微孔板检测系统各项计量性能指标见表 1。

表 1 成像式微孔板检测系统的主要计量特性指标

计量特性	计量特性指标
计数示值相对误差	±5%
重复性	≤2.0%
注： 1 r 为线性相关系数。 2 以上技术指标不用于合格判别，仅供参考。	

6 校准条件

6.1 环境条件：

6.1.1 环境温度：（15～30）℃。

6.1.2 相对湿度：不大于 85%。

注：若制造商为设备规定了工作温、湿度范围，则应在制造商规定的温湿度范围内试验。

6.2 校准用标准物质

成像式微孔板检测系统校准用标准物质应采用国家有证标准物质，技术要求如下：孔板中间设置 4 个标准计数孔，每一个标准计数孔分别含有 50 个、100 个、200 个、466 个模拟荧光斑点（位置分布可参考附录 A 所示），相对扩展不确定度应优于 3.0%（ $k=2$ ）。

7 校准项目和校准方法

校准前按照检测系统使用说明书进行调试，将校准用标准板放入检测系统微孔板仓并调节参数，使焦面能够清晰拍摄孔内画面。

7.1 计数示值相对误差

使用成像式微孔板检测系统进行荧光成像，对其四个标准孔内数量不同的荧光斑点进行拍照并计数，重复测量 3 次，根据式（1）计算每孔荧光斑点个数测量值和标准值之间的示值相对误差。

$$\Delta N_{r,i} = \frac{\bar{N}_i - N_{s,i}}{N_{s,i}} \times 100\% \quad (1)$$

式中：

$\Delta N_{r,i}$ ——第 i 孔内计数示值误差，%；

$\bar{N}_i$ ——第 i 孔内荧光点个数测量平均值，个；

$N_{s,i}$ ——第 i 孔内荧光点个数标准值，个。

7.2 重复性

将模拟荧光点标准板放置在微孔板仓内，对模拟荧光计数标准物质标准值为 200 的标准计数孔连续拍照并计数 6 次，按式（2）计算荧光点个数测量相对标准偏差，作为检测系统的重复性表征。

$$RSD = \frac{1}{\bar{N}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^6 (N_i - \bar{N})^2}{6 - 1}} \times 100\% \quad (2)$$

式中：

RSD——相对标准偏差，%；

N_i ——第 i 次荧光点个数测量的结果，个；

$\bar{N}$ ——6 次荧光点个数测量结果平均值，个；

i ——测量序号。

8 校准结果表达

8.1 校准结果处理

经校准后的成像式微孔板检测系统应核发校准证书，校准证书应符合 JJF 1071-2010 中 5.12 的要求，并给出各校准项目名称和测量结果以及扩展不确定度。校准原始记录格式（推荐性表格）见附录 B，校准证书内页格式（推荐性表格）见附录 C。

8.2 校准结果的测量不确定度

成像式微孔板检测系统的测量不确定度按 JJF 1059.1-2012 的要求评定，校准结果测量不确定度评定示例见附录 D。

9 复校时间间隔

复校时间间隔的长短是由仪器的使用情况、使用者、仪器本身质量等诸因素所决定的，送校单位可根据实际使用情况自主决定复校时间间隔，建议不超过 1 年。

附录 A

成像式微孔板检测系统校准用标准物质组成示意图

成像式微孔板检测系统校准用标准物质外形参照标准 96 孔微孔反应板，尺寸与标准 96 孔板一致，长为 12.7 厘米，宽为 8.5 厘米，高为 1.3 厘米，其他组件包括荧光聚合物薄膜、带有已知数量微孔的筛板、反射膜、密封膜。装配方式自下而上分别为筛板、荧光聚合物薄膜、反射膜和密封膜（图 A.1）。

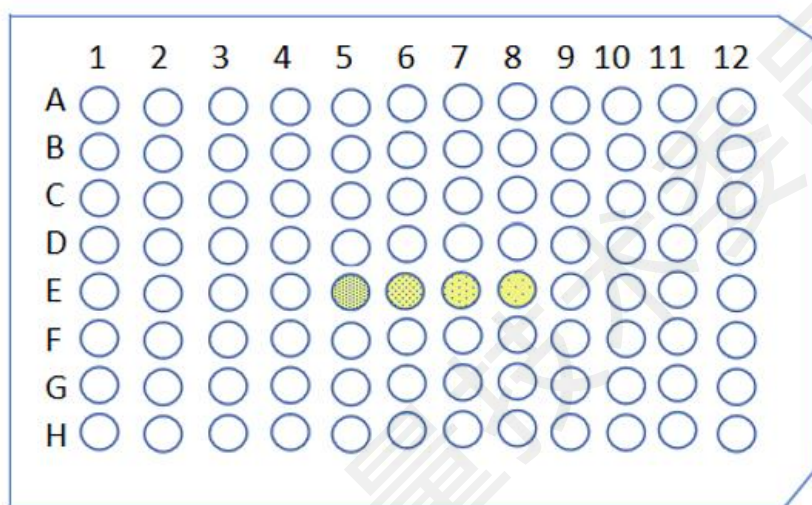


图 A.1 成像式微孔板检测系统校准用标准物质示意图

模拟荧光斑点采用 AutoCAD 设计刻蚀在金属筛板上，直径为 $(100 \pm 10) \mu\text{m}$ ，均匀分布在 E5、E6、E7、E8 孔内（位置编号参考 ANSI/SLAS 4-2004）量值为 (466 ± 4) 个、 (200 ± 2) 个、 (100 ± 1) 个、 (50 ± 1) 个 ($k=2$)，如图 A.2 所示。

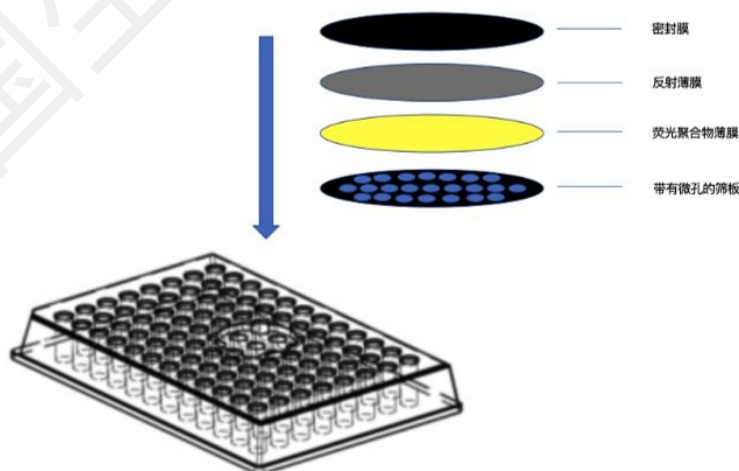


图 A.2 成像式微孔板检测系统校准用标准板的结构示意图

附录 B

校准原始记录格式

(推荐性表格)

器具名称			客户名称					
型号/规格			客户地址					
出厂编号			制造厂商					
环境温度	℃		相对湿度	%				
大气压			校准日期	年 月 日				
校准员			核验员					
校准地点								
校准依据								
标准器及配套设备								
名称/型号	编 号	测量范围	不确定度或准确度等级 或最大允许误差	证书编号/有 效期至	溯源机构名称			
1、外观检查:								
2、计数示值相对误差								
孔位	测量值/个			平均值/个	计数示值相对 误差%			
	1	2	3					
4、重复性								
标准值	1	2	3	4	5	6	平均值	重复性%
200								
结果/说明:								

附录 C

校准证书（内页）格式

（推荐性表格）

序号	校准项目	校准结果
1	计数示值相对误差	
2	重复性	

校准员：_____ 核验员：_____

附录 D

计数示值相对误差测量不确定度评定示例

D.1 测量模型

$$\Delta N_r = \frac{\bar{N} - N_s}{N_s} \times 100\% \quad (\text{D.1})$$

式中：

ΔN_r ——荧光斑点计数示值相对误差，%；

$\bar{N}$ ——荧光斑点个数测量平均值，个；

N_s ——荧光斑点个数标准值，个。

D.2 合成标准不确定度计算公式

成像式微孔板检测系统测量重复性引入的不确定度 $u(\bar{N})$ ，模拟荧光斑点计数标准物质引入的不确定度 $u(N_s)$ 之间不相关，所以标准不确定度可按式（D.2）得到：

$$u_c = \sqrt{\left(\frac{1}{N_s}\right)^2 u^2(\bar{N}) + \left(-\frac{\bar{N}}{N_s^2}\right)^2 u^2(N_s)} \quad (\text{D.2})$$

D.3 不确定度来源

D.3.1 重复性引入的不确定度 $u(\bar{N})$ 。

D.3.2 标准物质引入的不确定度 $u(N_s)$ 。

D.4 不确定度分量的计算

D.4.1 重复性引入的不确定度 $u(\bar{N})$

对模拟斑点计数标准物质中的同一孔位，重复进行 6 次测量，考察测量方法由重复性引入的实验标准偏差，检测数据及计算结果见表 D.1。

表D.1 斑点计数的6次测量结果 单位：个

标准值 N_s	测量值						实验标准偏差 s
466	465	467	466	464	464	467	1.38
200	199	199	201	199	200	200	0.82
100	100	100	100	99	99	102	1.10
50	50	50	51	51	50	49	0.75

斑点计数示值误差的实际校准工作中,以3次测量平均值为测量结果计算示值误差,因此斑点计数示值误差校准中测量重复性引入的不确定度计算见公式(D.3),计算结果见表D.2。

$$u(\bar{N}) = \frac{s}{\sqrt{3}} \quad (\text{D.3})$$

表 D.2 斑点计数示值误差校准中重复性引入的不确定度

单位: 个

标准值 N_s	测量值			平均值 $\bar{N}$	$u(\bar{N})$
466	465	467	466	466	0.58
200	199	199	201	200	0.67
100	100	100	100	100	0.33
50	50	50	51	50	0.33

D.4.2 标准物质引入的不确定度 $u(N_s)$

根据成像式微孔板检测系统校准用标准物质证书提供的扩展不确定度 U_s 和包含因子 k_s ,按照公式(D.4)计算,计算结果见表D.3。

$$u(N_s) = \frac{U_s}{k_s} \quad (\text{D.4})$$

表 D.3 标准物质引入的不确定度

单位: 个

标准值 N_s	扩展不确定度 U_s	包含因子 k_s	$u(N_s)$
466	4	2	2
200	2	2	1
100	1	2	0.5
50	1	2	0.5

D.5 标准不确定度一览表

标准不确定度见表D.4。

表 D.4 标准不确定度一览表

标准值 N_s / 个	$u(\bar{N})$ / 个	灵敏系数 $\frac{1}{N_s}$	$u(N_s)$ / 个	灵敏系数 $-\frac{\bar{N}}{N_s^2}$
466	0.58	0.002	2	-0.0021
200	0.67	0.005	1	-0.0050
100	0.33	0.01	0.5	-0.0100
50	0.33	0.02	0.5	-0.0201

D.6 合成标准不确定度

以标准值 50 为例，按照公式 (D.2) 进行计算合成标准不确定度 u_c ，其他计算结果见表 D.5。

$$u_c = \sqrt{\left(\frac{1}{N_s}\right)^2 u^2(\bar{N}) + \left(-\frac{\bar{N}}{N_s^2}\right)^2 u^2(N_s)} = \sqrt{\left(\frac{1}{50}\right)^2 \times 0.33^2 + (-0.0201)^2 \times 0.5^2} = 1.2\%$$

D.7 扩展不确定度

取 $k=2$ ，则检测系统荧光斑点计数示值误差的扩展不确定度计算见公式 (D.5)，计算结果见表 D.5。

$$U = 2u_c \quad (D.5)$$

表 D.5 合成标准不确定度和扩展不确定度

单位：个

标准值 N_s	$u_c/\%$	$U/\%$
466	0.45	0.89
200	0.60	1.2
100	0.60	1.2
50	1.2	2.4