

国家计量技术规范

《单分子免疫分析仪校准规范》

（征求意见稿）

编制说明

2026 年 9 月

一、任务来源

《单分子免疫分析仪校准规范》为国家计量技术规范制定项目，已列入国家市场监督管理总局计量技术规范制修订计划（计划编号：市监计量发 024]40 号），由全国生物计量技术委员会归口。

主要起草单位：中国计量科学研究院。

参加起草单位：广东省计量科学研究院、深圳中国计量科学研究院技术创新研究院、江苏省计量科学研究院、中国药品检定研究院。

起草小组于 2024 年组建，承担本规范的资料调研、草案起草、验证实验、征求意见与报审等工作。本规范为首次制定。

二、编制背景与必要性

本部分说明单分子免疫分析技术的产生背景、临床应用需求、产业与计量现状，并据此论证制定本规范的必要性。

2.1 单分子免疫分析技术及其特点

免疫分析是临床检验与生命科学研究中应用最广泛的定量分析技术之一。传统免疫分析（如酶联免疫吸附试验、化学发光免疫分析）以测量大量免疫复合物产生的宏观信号强度实现定量，其检测灵敏度通常处于 ng/mL 至数十 pg/mL 水平，难以满足超低丰度标志物的定量需求。

单分子免疫分析技术改变了上述信号获取方式。其基本思路是：以捕获抗体将目标抗原结合于固相载体（磁珠、微孔或流道内壁），再与带酶或荧光基团标记的检测抗体形成免疫复合物；随后通过空间离散使每个反应单元内至多容纳一个免疫复合物，或使免疫复合物在流路中逐个通过检测窗口；对离散后的单个免疫复合物逐一激发、成像或计数，以阳性事件的比例和数量实现“数字化”定量。由于实现了对分子个体的离散识别与统计，该类技术的检测灵敏度可达飞克级（ fg/mL ），较传统免疫分析方法提高约 1000 倍。

按信号离散与读取方式，目前主流技术路线包括落孔成像、干涉反射成像、单分子荧光/发光成像和单分子荧光流式计数等。不同技术路线在光路结构、微

孔或流道形式、信号读出方式上差异明显，但共同特征是以"单个免疫复合物事件"作为计数的基本单位。

2.2 临床与科研应用需求

单分子免疫分析技术的价值集中体现在血浆、血清、脑脊液等生物样本中低丰度蛋白标志物的定量上。受血脑屏障阻隔，脑源性蛋白标志物在外周血中的浓度通常仅为脑脊液中的数十分之一至数百分之一，磷酸化 Tau 蛋白等标志物在血液中更处于 fg/mL 量级。传统方法在这一浓度区间无法给出可靠结果，而单分子免疫分析使"一管血"完成神经退行性疾病相关标志物定量成为可能。

在临床应用方面，阿尔茨海默病的病理改变在症状出现前数年甚至十余年即已开始，早诊早治是疾病防治的关键；而传统诊断高度依赖有创的脑脊液穿刺或成本高、可及性有限的 PET 影像。单分子免疫分析可在血液中定量 p-tau181、p-tau217、A β 42/A β 40 比值、神经丝轻链蛋白（NfL）、胶质纤维酸性蛋白（GFAP）等标志物，为疾病早期筛查、分型与疗效监测提供了新的技术手段。此外，该类技术还广泛用于心血管疾病标志物、肿瘤标志物、细胞因子与感染标志物检测，以及神经科学研究、药物开发与疗效评估等领域。

2.3 产业现状与计量需求

近年来，单分子免疫分析仪在国内外均进入快速发展和装机增长阶段。国外以 Quanterix 的 HD-X 系列、Merck 的 SMCxPRO 与 Erenna 等机型为代表；国内彩科生物、苏州宇测、英诺特生物等企业相继推出国产机型。国家重点研发计划相关重点专项也持续支持单分子免疫检测关键技术的攻关。仪器保有量快速增长，随之而来的是量值准确性与结果可比性的迫切需求。

从计量角度看，该类仪器具有三个显著特点：一是被测对象浓度极低，加液体积、流速、温育温度等基础参数的微小偏差会以相同或放大的比例传导至最终浓度结果；二是仪器与配套试剂盒、校准品、质控品构成一个完整的测量系统，最终结果的准确度取决于整个溯源链的完整性；三是目前尚无针对该类仪器的计量校准规范，仪器性能评价主要依赖厂商自检、出厂检验或试剂盒说明书，校准项目、校准方法与量值溯源途径均不统一，不同实验室、不同机型之间的结果缺乏可比性。

2.4 制定本规范的必要性

综上所述，制定《单分子免疫分析仪校准规范》的必要性主要体现在：

1. 为单分子免疫分析仪提供统一、可操作的校准项目与校准方法，解决"校准什么、怎么校准"的问题；
2. 以可直接溯源至 SI 单位制的基础物理量（质量、时间、温度）为测量基础，建立加液体积、流速、温育温度等关键参数的溯源途径；
3. 通过"分析项目示值相对误差"等整体性校准项目，揭示仪器与配套试剂系统在量值溯源链中存在的问题，落实 ISO 17511:2020 对体外诊断测量量值溯源性的要求；
4. 为仪器生产企业改进产品、为医疗机构与实验室评价仪器状态、为计量技术机构开展校准服务提供技术依据。

三、编制依据与编制原则

本部分列出本规范编制所依据的主要文件，并说明编制过程中遵循的基本原则。

3.1 编制依据

本规范按照 JJF 1071—2010《国家计量校准规范编写规则》规定的结构和编写要求起草，主要依据文件包括：

序号	文件编号	文件名称
1	JJF 1071—2010	国家计量校准规范编写规则
2	JJF 1001—2011	通用计量术语及定义
3	JJF 1059.1—2012	测量不确定度评定与表示
4	JJF 1265—2022	生物计量术语及定义
5	JJF 1530—2015	凝胶成像系统校准规范

6	JJF 1076—2020	数字式温湿度计校准规范
7	JJG 646—2006	移液器检定规程
8	GB/T 6682—2008	分析实验室用水规格和试验方法
9	YY/T 1155—2019	全自动发光免疫分析仪
10	ISO 17511:2020	In vitro diagnostic medical devices — Requirements for establishing metrological traceability of values assigned to calibrators, trueness control materials and human samples

其中，JJF 1071—2010、JJF 1001—2011 和 JJF 1059.1—2012 共同构成支撑本规范制定工作的基础性系列规范；计量特性指标与校准方法的确定主要参考了 YY/T 1155—2019、JJF 1530—2015 和 GB/T 6682—2008。

3.2 编制原则

- 合法性原则：**符合《中华人民共和国计量法》及其实施细则的规定，符合国家计量技术规范的编写规则。
- 科学性原则：**计量特性项目的选择以仪器的测量原理和误差传递路径分析为基础；指标的确定以验证实验实测数据为主要依据，兼顾现有主流机型的实际计量性能水平。
- 可操作性原则：**校准方法应在实际机型上能够顺利实施，所需测量标准及其他设备、标准物质、试剂与纯水等应易于获得且成本可控。
- 通用性原则：**规范应覆盖不同技术原理（落孔成像、干涉反射成像、单分子荧光/发光成像、单分子荧光流式计数）和不同自动化程度（全自动、半自动）的机型，避免绑定单一厂商的技术方案。
- 国际接轨原则：**在整体定量能力的校准与溯源表述上，与 ISO 17511:2020 关于体外诊断量值溯源性的要求相衔接。

四、编制过程

本部分说明本规范自前期调研至形成征求意见稿的编制过程及各阶段的主要工作。

4.1 前期调研

起草小组系统调研了国内外单分子免疫分析仪的技术原理、机型构成、关键性能参数与临床应用情况，收集并分析了国内外相关标准规范、检定规程与校准规范，以及国内外关于单分子免疫分析方法标准化与量值溯源的研究文献。

4.2 规范草案起草

在调研基础上，起草小组按 JJF 1071—2010 规定的框架确定本规范的章节结构，明确范围、引用文件、术语和定义、概述、计量特性、校准条件、校准项目和校准方法、校准结果表达、复校时间间隔等章节内容，并同步起草了纯水密度表、校准记录及校准证书格式、四项示值误差测量不确定度评定示例等附录，形成规范草案。

4.3 验证实验

为考核规范所确定的校准项目、校准条件与校准方法的科学性、合理性与可操作性，并为各项计量特性指标的确定提供实测数据支撑，起草小组组织在 5 台典型单分子免疫分析仪上开展了验证实验，覆盖落孔成像（Quanterix HD-X、彩科 AXL-3000）、单分子荧光/发光成像（格物 Inspirer DX）、干涉反射成像（Merck SMCxPRO）、单分子荧光流式计数（Merck Erenna）等不同技术路线以及全自动、半自动两种类型，完成了规范表 1 所列 9 项计量特性、第 7 章 6 个校准项目的全部测量，并单独开展了加液体积示值相对误差与流速示值相对误差的不确定度评定。验证实验情况详见本说明第六部分。

4.4 征求意见稿形成与征求意见

起草小组根据验证实验结果对计量特性指标与校准方法作了完善，形成《单分子免疫分析仪校准规范》（征求意见稿）及本编制说明，报全国生物计

量技术委员会后向有关单位与专家征求意见。征求意见结束后，起草小组将对反馈意见逐条汇总处理，形成送审稿。

五、主要技术内容的说明

本部分按规范章节顺序，逐项说明主要技术内容的确定依据与处理理由，是本编制说明的核心部分。

5.1 关于范围（第 1 章）

本规范适用于落孔成像、干涉反射成像、单分子荧光/发光成像、单分子荧光流式计数原理的半自动和全自动单分子免疫分析仪（以下简称“分析仪”）的校准。

范围按“技术原理 + 自动化程度”两个维度界定，目的是尽可能覆盖目前市场上已有的机型，同时避免因绑定单一技术路线而限制规范的适用性。对于暂未列入上述四种原理、但同样采用对单个免疫复合物进行离散识别与统计实现定量的新型装置，可在具备相应技术条件后通过修订予以纳入。

本规范不适用于不具备定量报告功能的单分子检测装置，也不适用于分析仪临床诊断性能的评价。前者是指仅能给出定性或半定量结果的检测装置，其输出不具备计量校准所要求量的属性；后者涉及诊断灵敏度、特异性、cut-off 值等临床性能指标，属于医疗器械注册检验与临床评价的范畴，不属于计量校准规范的调整对象。

5.2 关于引用文件（第 2 章）

本规范将 JJF 1001《通用计量术语及定义》、JJF 1265《生物计量术语及定义》和 GB/T 6682—2008《分析实验室用水规格和试验方法》列为引用文件。前两份文件是本规范术语体系的基础，其界定的一般性术语和生物计量术语适用于本规范；GB/T 6682—2008 因规范正文在纯水要求（6.6、7.1、7.2）中直接引用其一级水规定，按注日期引用方式列入。

其余与本规范编制密切相关的文件（JJF 1071—2010、JJF 1059.1—2012、JJF 1530—2015、JJF 1076—2020、JJG 646—2006、YY/T 1155—2019、ISO

17511:2020 以及相关文献)列入参考文献,主要考虑到规范正文未直接引用其具体条文,而仅是在指标水平、方法思路予以参考,列入参考文献更符合计量技术规范编写惯例。

5.3 关于术语和定义(第3章)

由于 JJF 1001—2011 与 JJF 1265—2022 中均未涵盖单分子免疫分析相关的专门术语,本规范补充定义了 2 条术语。

3.1 单分子免疫分析,定义为基于免疫亲和结合原理,通过对单个免疫复合物进行离散检测与统计,以实现目标分析物定量的高灵敏度分析方法;3.2 单分子免疫分析仪,定义为基于单分子免疫分析原理,通过对待测样本中的单个免疫复合物进行离散化、识别与统计,以实现目标分析物高灵敏度定量的自动化分析设备。两条术语界定了本规范的适用对象与校准对象。关于全自动型与半自动型的区分,在第 4 章概述中予以说明:全自动型集成样本处理、试剂分配、免疫反应、信号检测与数据分析等全部流程,半自动型通常仅完成最终的信号检测与数据分析,前序步骤需依赖手工操作或外部设备。作出该区分意义在于:半自动机型不具备部分功能模块,相应计量特性无法校准,需要在规范正文与校准记录中作出说明(见第 7 章、附录 B)。

本规范未对各项计量特性单独设立术语条目,各校准项目的测量对象与定义边界通过第 7 章相应条款直接给出,以避免在校准结果表述中出现歧义。例如温度示值误差在第 7.3 中明确为分析仪温控区域温度设定值与温度计实测温度平均值之差,从而把校准对象限定在温育(孵育)单元而非仪器其他温区。

5.4 关于概述(第4章)

第 4 章概要说明了分析仪的工作原理、功能模块构成与应用领域,编写时重点把握两点:一是按"捕获—成复合物—空间离散—逐个激发与计数—统计定量"的顺序描述测量原理,使后续校准项目的物理意义有据可循;二是按样本处理模块、反应与温育模块、流体控制模块、信号生成与探测模块、数据处理与分析模块划分仪器构成,并说明各模块的功能,为第 7 章校准项目的设置提供依据——加液体积项目对应样本处理模块与流体控制模块的液体分配功能,流速项目对应流体控制模块的流动控制功能,温度项目对应反应与温育模块的恒

温功能，检测器重复性与图像分辨力项目对应信号生成与探测模块，分析项目示值相对误差与重复性项目则是对上述模块在整机层面的综合考核。

5.5 关于计量特性（第 5 章、表 1）

本规范共规定 9 项计量特性。考虑到本规范的性质是"校准规范"而非"产品标准"，表 1 以注的形式明确了两条处理原则：一是"适用时，进行该项目的校准"，二是"指标不用于合格性判定"。前者解决不同原理、不同自动化程度机型功能模块不齐全的问题；后者明确表 1 所列指标是为校准结果的分析与使用提供参考水平，而非判定仪器合格与否的判据，这与近年来国家计量校准规范"重校准、轻判定"的编写思路一致。表 1 规定的计量特性及其指标如下：

序号	计量特性	计量特性指标
1	加液体积示值相对误差	20 μL : $\pm 4\%$; 100 μL : $\pm 1.5\%$
2	加液体积重复性	20 μL : $\leq 6\%$; 100 μL : $\leq 2\%$
3	流速示值相对误差	不规定指标
4	流速重复性	$\leq 5\%$
5	温度示值误差	$\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$
6	检测器重复性	$\leq 5\%$
7	图像分辨力	不规定指标
8	分析项目示值相对误差	不规定指标
9	分析项目重复性	$\leq 15\%$

各项计量特性及其指标确定的主要考虑如下。

5.5.1 加液体积示值相对误差和重复性

单分子免疫分析的最终结果由单个免疫复合物事件的计数比例换算得到，加注体积的偏差会以近乎相同的比例传导至最终浓度结果，因此加液体积是该类仪器最基础、最关键的计量特性之一。

在指标形式上，采用分校准点给出限值的方式，取 20 μL 与 100 μL 两个体积点：小体积点考察加液系统在接近其分辨与稳定极限时的能力，且更接近样本针与试剂针在部分机型上的常规工作体积；大体积点考察常规工作体积下的准确性。两个体积点分别覆盖仪器的不同工作区间，避免以单一点位评价整个量程。

在限值水平上，主要参考 JJG 646—2006 对移液器容量允差的要求以及 YY/T 1155—2019 对加样准确性的要求，并结合验证实验实测数据确定。实测结果表明：HD-X 分析仪样本针 10 μL 点示值相对误差为 3.2%、试剂针 10 μL 点为 4.2%，100 μL 点分别为 1.0% 和 0.4%；彩科 AXL-3000 分析仪 20 μL 点为 -1.2%；格物 Inspirer DX 分析仪 20 μL 点为 -2.9%、150 μL 点为 -3.0%。综合实测偏差水平，20 μL 点限值取 $\pm 4\%$ ，与实测最大偏差 4.2%（HD-X 试剂针 10 μL 点）基本相当，其余各点均留有裕量；100 μL 点限值取 $\pm 1.5\%$ ，实测最大偏差为 1.0%，裕量较为充分。

在重复性限值上，20 μL 点取 $\leq 6\%$ 、100 μL 点取 $\leq 2\%$ 。实测重复性分别为：HD-X 样本针 10 μL 点 2.6%、试剂针 10 μL 点 2.7%、100 μL 点 1.0% 和 0.4%；彩科 AXL-3000 20 μL 点 0.6%；格物 Inspirer DX 20 μL 点 3.4%、150 μL 点 0.3%。

考虑到不同机型样本针与试剂针的常规加注体积差异较大，表 1 以注的形式明确“加液体积可根据仪器调整，应具有代表性或典型性”，即允许校准机构根据被校机型的实际工作体积设定校准点，但所选点位应能代表仪器的典型使用工况。

5.5.2 流速示值相对误差和重复性

流速示值相对误差反映分析仪流路系统在设定流速下实际流速与设定流速的偏差。本规范对该项**不规定指标**，只规定校准方法，并要求在校准证书中给出校准结果及其测量不确定度。主要考虑是：目前只有 Erenna 一种型号仪器，

并且已经被市场淘汰，测试数据缺乏代表性。不同技术原理机型的流路设计与流量量程差异极大，单分子荧光流式计数类机型存在持续流动的工作模式，而落孔成像类机型多为间歇式加注、并无“持续流速”的概念；即便同为流式机型，其工作流速也可相差数倍。在此情况下给出统一的限值既缺乏科学依据，也不具可比性。验证实验中，Erenna 分析仪在设定流速 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ 、收集时间 1 min 条件下示值相对误差为 -21.8%，该偏差主要反映机型流速控制方式与设定方式之间的差异，属于“校准应当发现并如实给出”的量，而不宜据此判定仪器不合格。

流速重复性反映流路系统在相同测量条件下连续多次测得流速之间的一致程度，与机型原理无关，具备横向可比性，因此规定限值 $\leq 5\%$ 。实测 Erenna 分析仪流速重复性为 4.5%，裕量较小；起草小组认为该指标反映的是流路稳定性这一固有特性，5% 的限值与常用液体输送系统的稳定性水平相适应，暂维持该限值，并建议在后续验证中补充更多机型的实测数据。

5.5.3 温度示值误差

免疫反应中抗原抗体结合动力学与酶催化反应速率对温度较为敏感，温育（孵育）温度的准确与否直接影响反应效率与测量结果的一致性，因此将温度示值误差列为计量特性项目。指标取 $\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，主要参考 YY/T 1155—2019 及常见恒温孵育设备的技术要求，同时与常用温度计的测量能力相匹配。

实测结果表明：HD-X 分析仪反应区在 30.0 $^{\circ}\text{C}$ 设定条件下，三个测量位置的示值误差分别为 0 $^{\circ}\text{C}$ 、+0.1 $^{\circ}\text{C}$ 和 -0.1 $^{\circ}\text{C}$ ；彩科 AXL-3000 分析仪在 4.0 $^{\circ}\text{C}$ 设定条件下示值误差为 -0.1 $^{\circ}\text{C}$ 。实测偏差均在 $\pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以内，相对于 $\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的限值裕量充分，说明限值的设置与当前主流机型的实际控温水平相适应。

5.5.4 检测器重复性

检测器重复性反映光学检测系统（激发光源、光学通路、探测器及信号处理电路）在相同测量条件下对同一样品连续多次测得荧光强度或图像灰度值之间的一致程度，是决定单分子事件计数可靠性的基础指标。指标取 $\leq 5\%$ 。

实测结果分为两类：SMCxPRO 分析仪三个通道的 RSD 分别为 0.2%、0.3% 和 0.3%，表现出很高的短期稳定性；HD-X 分析仪在高信号水平（AEB

均值 2.885) 下 RSD 为 3.2%，在低信号水平 (AEB 均值 0.148) 下 RSD 为 6.0%。低信号水平下待测信号本身很低，信号计数服从泊松统计分布，其固有涨落占比较高，RSD 相应增大属于正常现象。

起草小组经讨论认为，不宜为迁就单一机型在接近检出限的极端低信号水平下的表现而放宽限值，故将检测器重复性限值定为 $\leq 5\%$ ，该限值可覆盖常规工作信号水平；对低信号水平下略超限值的情形，按表 1 注"指标不用于合格性判定"处理，必要时可在校准证书中同时给出测量时的信号水平，便于使用方结合自身工作浓度区间判断。

5.5.5 图像分辨力

图像分辨力反映成像系统对空间细节的分辨能力，直接影响单个免疫复合物在图像中的分离与计数效果。本规范对该项**不规定指标**，只规定校准方法（导出分析图像后按像素读出分辨力）。

主要考虑是：图像分辨力主要由成像物镜数值孔径、探测器像元尺寸与阵列规模等固有参数决定，机型间差异较大（验证实验中格物分析仪为 2048×2048、16 bit）；不同原理机型对"分辨力"的描述方式与量纲不完全可比，目前也缺少公认的判读标准与量值溯源途径。因此本规范以给出可复现的读数方法为主，不设定限值，使用方可结合自身判读需求使用该结果。

5.5.6 分析项目示值相对误差和重复性

分析项目示值相对误差的定义是分析仪测量具有互换性的分析项目有证标准物质所得结果的平均值与标准物质认定值之差，以相对值表示。该项以有证标准物质为被测对象，是对分析仪整体定量能力的考核。

本规范对该项**不规定指标**。主要考虑是：目前国际国内有证标准物质匮乏，研制难度大，项目标准化工作滞后。该项结果同时受分析仪本身、配套试剂盒、校准品、质控品以及标准物质与样本基质之间的互换性、样本稀释倍数等多种因素影响，并非仪器固有特性的单一反映。验证实验结果表明：彩科 AXL-3000 分析仪两次实验的示值相对误差分别为 -41.6% 和 -35.1%（对应样本稀释倍数分别为 6.35 和 12.71），HD-X 分析仪为 -68.9%，格物 Inspirer DX 分析仪

第一次未测出有效结果、第二次为 -4.3%；同期分析项目重复性为 3.4%、10.8%（彩科 AXL-3000）、8.3%（HD-X）和 2.1%（格物 Inspirer DX）。

上述偏差量级主要反映标准物质与试剂盒校准品之间的量值差异以及样本稀释过程引入的偏差。按 ISO 17511:2020 关于建立校准品、正确度控制品和人体样品赋值的计量溯源性的要求，这类偏差可通过校准识别仪器量值溯源链中存在的问题，为实验室与生产企业改进溯源链提供依据，而不宜直接作为判定仪器合格与否的判据。因此本规范规定校准方法并要求给出示值误差及其测量不确定度，不规定指标。

分析项目重复性反映分析仪与配套试剂系统在给定浓度水平下的测量精密度，指标取 $\leq 15\%$ 。实测值为 3.4%、10.8%（彩科 AXL-3000）、8.3%（HD-X）和 2.1%（格物 Inspirer DX）。考虑到体外诊断试剂盒精密度通常以 $CV \leq 15\%$ 作为对重复性的通用要求，且本项包含仪器与试剂的共同贡献，限值取 $\leq 15\%$ 具有合理性。

5.5.7 关于表 1 的注

表 1 共设三条注：

- 注“*适用时，进行该项目的校准”，对应半自动机型或功能模块不齐全的机型，允许按实际配置情况选择校准项目；
- 注“**指标不用于合格性判定”，是全表的总括性说明，明确表 1 所列指标的性质；
- 注“***加液体积可根据仪器调整，应具有代表性或典型性”，赋予校准机构按被校机型实际工作体积设定校准点的灵活性。

5.6 关于校准条件（第 6 章）

环境条件（6.1） 规定环境温度（15~35）℃、相对湿度不大于 80%、具备良好的防尘措施、分析仪远离振动和电磁干扰源。该范围与体外诊断分析仪器的常规使用环境要求一致，也与本规范温度计量特性的量值区间相匹配。考虑到部分机型对使用环境有更严格的产品规定，6.1 以注的形式明确“上述条件与制造商的产品规定不一致时，以产品规定为准”。

电子天平（6.2） 规定分度值不高于 **0.1 mg**。加液体积按"称量质量—密度换算"的方式测量，**20 μL** 纯水的质量约为 **20 mg**，选用 **0.1 mg** 分度值的天平，可使天平分辨力与准确度对测量结果的贡献远小于被测量的允差，符合测量设备按其最大允许误差的 **1/3~1/10** 选择的一般原则，同时也为更小体积校准点留出余量。

温度计（6.3） 规定测量范围（**10~50**）℃、最大允许误差不超过 ± 0.1 °C。该范围可覆盖常见温育温度（如 **37** °C）与部分机型的低温温区； ± 0.1 °C 的最大允许误差为温度示值误差限值 ± 1 °C 的 **1/10**，满足测量设备的选择要求。

秒表（6.4） 规定分度值不大于 **0.1 s**、间隔一天的最大允许误差不超过 ± 0.5 s。流速按"单位时间内流出的液体质量"计算，时间测量的相对贡献应远小于流速允差，故对秒表的准确度提出相应要求。

标准物质（6.5） 规定应使用具有互换性的分析项目有证标准物质，相对扩展不确定度不大于 **20%**（ $k=2$ ）。验证实验中所用脑脊液 **Aβ42** 有证标准物质的相对扩展不确定度为 **14.8%~15.6%**，**20%** 的上限既覆盖了现有可用标准物质的水平，也为后续国产标准物质的纳入预留了空间。

其他（6.6） 包括配套体外诊断试剂盒、校准品、质控品，符合 GB/T 6682—2008 一级水要求的纯水，以及用于称量加液体积和收集流动相的带盖容器、样品管等。规定使用带盖容器是为了抑制微体积水样的挥发损失，这是保证称量法准确度的关键措施。

5.7 关于校准项目和校准方法（第 7 章）

本规范共设 6 个校准项目，对应 9 项计量特性：7.1 加液体积示值相对误差和重复性、7.2 流速示值相对误差和重复性、7.3 温度示值误差、7.4 检测器重复性、7.5 图像分辨力、7.6 分析项目示值相对误差和重复性。

校准方法的总体思路是：尽可能以可直接溯源至 SI 单位制的基础物理量（质量、时间、温度）作为测量基础，通过"质量—密度—体积"的换算实现加液体积与流速的量值溯源，而不依赖仪器自带的校准功能或自检功能，以保证校准结果的独立性与溯源性。

校准前检查与准备（第 7 章引言段） 规定了外观与运动部件检查、铭牌与软件版本记录、开机预热与自检、环境条件记录、纯水质量要求（符合 GB/T 6682—2008 一级水、使用前平衡至室温并超声脱气）、首次使用或长期停用仪器的模拟检测程序确认等。其中“超声脱气”是为消除水中溶解气体在流路内形成气泡、影响体积与流速测量的准确性。引言段同时明确：对于仅具备部分功能模块的分析仪，相应计量特性可不进行校准，但应在校准记录和校准证书中予以说明，这一处理与表 1 注* 相呼应。

加液体积（7.1） 采用称量法：在电子天平上称量合适容器的质量并放置到分析仪中，控制加液针加注预设体积、平衡至室温并超声脱气的纯水，立即称量质量；同时用温度计测量纯水温度，据附录 A 查得对应密度，按式（1）计算加液体积；重复测量 6 次，其中后 3 次数据用于计算示值误差，分别按式（2）、式（3）计算每个体积校准点的示值误差和重复性。

关于“后 3 次数据用于计算示值误差”的处理：前 3 次测量作为预加注，用于排出流路中的气泡、使加液系统进入稳定的充液状态，并消除容器壁挂液等系统性影响，使参与示值误差计算的数据更接近仪器的稳定工作状态。重复性则按 6 次测量的全部数据计算，以完整反映连续加注的一致性。

流速（7.2） 同样采用称量法：先通过分析仪注入或冲洗功能使系统中充满纯水，并将温度计插入流动相内测量纯水温度；再针对不同机型给出两种收集方式：一是直接以带盖容器收集规定时间内流出的液体并称量；二是当流出液体不易收集时（如机型直接从样品管吸取、无独立排液口），将纯水作为样品加注到样品管，称量吸取前后的质量差计算流速。两种方式在原理上等效，均为质量法与密度换算，扩大了方法的适用范围。设定流速取 100 $\mu\text{L}/\text{min}$ 、收集时间取 10 min，同时允许“根据相应分析仪进行适当调整”，兼顾了方法的规范性与灵活性。测量 6 次，后 3 次数据用于计算示值误差，分别按式（4）、式（5）、式（6）计算流速、流速示值相对误差和流速重复性。

温度（7.3） 规定待分析仪温度达到设定温度且稳定后，将温度计探头放到分析仪温控区域中心位置，每 2 min 记录一次测试点温度，连续测量 3 次，按式（7）计算温度示值误差。间隔 2 min 连续记录的方式可有效抑制温控系统的周期性波动对测量结果的影响，取 3 次测量的平均值作为测量结果。

检测器重复性（7.4） 规定用分析仪重复测量检测器评价用质控品 6 次，获得荧光强度或对应图像的灰度值，按式（8）计算检测器重复性，以相对标准偏差表示。允许以“荧光强度或图像灰度值”作为被测量，使方法可同时适用于输出模拟量信号的机型和输出图像信号的机型。

图像分辨力（7.5） 规定采用分析仪分别分析标准物质或质控品，将得到的图像导出后，用软件读出以像素计算的图像分辨力。方法简单、可复现，不需要额外的测量标准。

分析项目示值相对误差和重复性（7.6） 规定示值相对误差校准时采用分析仪检测具有互换性的标准物质 3 次，按式（9）计算示值相对误差；重复性评价时采用分析仪检测标准物质或分析项目质控品 6 次，按式（10）计算重复性。

5.8 关于校准结果表达（第 8 章）

经校准的分析仪应核发校准证书。第 8 章分两节作出规定：8.1 校准结果处理，明确校准证书应符合 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，推荐格式见附录 B；8.2 校准结果的测量不确定度，明确校准结果的测量不确定度按 JJF 1059.1—2012 的要求评定，评定示例见附录 C～附录 F。

据此，加液体积示值相对误差、流速示值相对误差、温度示值误差和分析项目示值相对误差四项均应给出测量不确定度，分别与附录 C～附录 F 的评定示例相对应。

5.9 关于复校时间间隔（第 9 章）

复校时间间隔的长短由仪器的使用情况、使用者、仪器本身质量等诸多因素决定，本规范不作强制性规定，由送校单位根据实际使用情况自主决定，仅建议不超过 1 年。作出该建议的主要考虑是：单分子免疫分析仪多用于痕量与超痕量检测，使用频次、试剂批次及流路状态变化较快，1 年的复校周期与国内实验室的常规计量管理实践相适应；同时校准所用有证标准物质本身存在有效期，过长的复校间隔可能导致溯源依据失效。

5.10 关于附录

附录 A（纯水密度表）给出 1990 年国际温标下 15 °C~35 °C、步长 0.1 °C 的纯水密度数据，温度区间与 6.1 规定的环境温度范围相适应，可覆盖校准时的实际水温。附录 A 是附录 C~附录 F 不确定度评定中密度换算的数据来源。

附录 B（校准记录及校准证书的内容及格式）给出推荐的校准记录格式（表 B.1）和校准证书内页格式（表 B.2）。表 B.1 涵盖被校分析仪基本信息、校准时的环境条件、所用测量标准及其他设备信息，以及各校准项目的原始测量数据、计算过程和校准结果；表 B.2 按 9 项计量特性列出校准结果的表达形式。

附录 C~附录 F（测量不确定度评定）分别针对加液体积示值相对误差、流速示值相对误差、温度示值误差和分析项目示值相对误差，按 JJF 1059.1—2012 的要求给出完整的评定示例，包括测量方法、测量模型、方差与灵敏系数、不确定度来源分析、标准不确定度分量的计算、合成标准不确定度和扩展不确定度。各附录均以一次典型校准的实测数据为例（如加液体积附录以设定值 20 μL、后 3 次测量结果的平均值参与计算为例），便于校准人员参照执行。

六、验证实验情况

本部分汇总验证实验的目的、对象与条件、结果、指标对照情况及验证结论，作为计量特性指标确定与规范文本技术条件论证的实测依据。

6.1 实验目的

为验证《单分子免疫分析仪校准规范（征求意见稿）》所确定的计量特性项目、校准条件、校准项目和校准方法的科学性、合理性与可操作性，并为各计量特性指标的确定提供实测数据支撑，起草小组在多家单位的典型机型上开展了验证实验，重点考核：规范规定的校准项目及其校准方法是否可在实际机型上顺利实施；各项计量特性指标与当前主流机型的实际计量性能水平是否相适应；规定的测量标准及其他设备、标准物质、试剂与纯水等配置要求是否具备现实可行性。

6.2 实验对象与条件

验证实验依据《单分子免疫分析仪校准规范（征求意见稿）》和 JJF 1059.1—2012 实施，覆盖 5 台不同技术路线、不同自动化程度的单分子免疫分析仪，见表 2。

表 2 验证实验用单分子免疫分析仪

序号	仪器名称	型号	生产单位	自动化程度	本次实验覆盖项目
1	全自动单分子免疫分析仪	HD-X	Quanterix	全自动	加液体积示值相对误差与重复性（样本针、试剂针）、温度示值误差（反应区）、检测器重复性、分析项目重复性
2	自动化单分子免疫检测仪	AXL-3000	彩科生物	全自动	加液体积示值相对误差与重复性、温度示值误差、分析项目示值相对误差与重复性
3	单分子免疫分析仪	Inspire r DX	格物	全自动	加液体积示值相对误差与重复性、图像分辨力与信噪比、分析项目示值相对误差与重复性
4	单分子免疫分析仪	SMCx PRO	Merck	半自动	检测器重复性、分析项目示值相对误差和重复性
5	单分子免疫分析仪	Erenna	Merck	半自动	流速示值相对误差和重复性、检测器重复性

实验用测量标准及其他设备按规范 6.2~6.6 的要求配置，主要包括电子天平、温度计、秒表、脑脊液中 A β 42 有证标准物质（ERM-DA480/IFCC、ERM-DA481/IFCC、ERM-DA482/IFCC，认定值分别为 0.45 $\mu\text{g/L}$ 、0.72 $\mu\text{g/L}$ 、1.22 $\mu\text{g/L}$ ，相对扩展不确定度分别为 15.6%、15.3%、14.8%），以及配套试剂盒、校准品、质控品与符合 GB/T 6682—2008 一级水要求的纯水等。所有分析仪测

试时的环境条件均处于规范 6.1 规定的环境温度（15~35）℃、相对湿度不大于 80% 的范围之内。

6.3 实验结果

加液体积示值相对误差和重复性 在 HD-X、彩科、格物三台分析仪上完成测定，结果汇总见表 3。

表 3 加液体积示值相对误差和重复性实测结果汇总

机型	加液通道与体积点	测量平均值	示值误差	重复性
HD-X	样本针 10 μL	9.69 μL	3.2%	2.6%
HD-X	样本针 100 μL	99.03 μL	1.0%	1.0%
HD-X	试剂针 10 μL	9.6 μL	4.2%	2.7%
HD-X	试剂针 100 μL	99.57 μL	0.4%	0.4%
彩科 AXL-3000	20 μL	20.23 μL	-1.2%	0.6%
格物 Inspirer DX	20 μL	20.60 μL	-2.9%	3.4%
格物 Inspirer DX	150 μL	154.58 μL	-3.0%	0.3%

流速示值相对误差和重复性 在 Merck 的 Erenna 分析仪上完成测定（设定流速 10 μL/min、收集时间 1 min），测得流速示值相对误差为 -21.8%、流速重复性为 4.5%。

温度示值误差 在 HD-X 与彩科 AXL-3000 分析仪上完成测定：HD-X 分析仪反应区在设定 30.0 °C 条件下，三个测量位置的示值误差分别为 0 °C、

+0.1 °C 和 -0.1 °C；彩科 AXL-3000 分析仪在设定 4.0 °C 条件下示值误差为 -0.1 °C。

检测器重复性 在 Merck 的 SMCxPRO 与 Quantarix 的 HD-X 分析仪上完成测定：SMCxPRO 三个通道的 RSD 分别为 0.2%、0.3% 和 0.3%；HD-X 分析仪在高信号水平（AEB 均值 2.885）下 RSD 为 3.2%，在低信号水平（AEB 均值 0.148）下 RSD 为 6.0%。

图像分辨力 在格物 Inspirer DX 分析仪上完成测定，分析结果图像的分辨力为 2048×2048、16 bit。

分析项目示值相对误差和重复性 在 HD-X、彩科 AXL-3000 和格物三台分析仪上完成测定：彩科 AXL-3000 两次实验的示值相对误差分别为 -41.6% 和 -35.1%，对应重复性为 3.4% 和 10.8%；HD-X 分析仪示值相对误差为 -68.9%，重复性为 8.3%；格物 Inspirer DX 分析仪第一次分析未测出有效结果，第二次分析示值相对误差为 -4.3%，重复性为 2.1%。

6.4 计量特性指标与实测结果对照

表 4 计量特性指标与验证实验结果对照

计量特性	表 1 规定的指标	本次实测结果（机型 / 条件）	对照结论
加液体积示值相对误差	20 μL：±4%；100 μL：±1.5%	20 μL：-1.2%（彩科）、-2.9%（格物）；100 μL：1.0%、0.4%（HD-X 样本针、试剂针）	符合；20 μL 校准点裕量最小
加液体积重复性	20 μL：≤6%；100 μL：≤2%	20 μL：0.6%、3.4%；100 μL：1.0%、0.4%	符合
流速示值相对误差	不规定指标	-21.8%（Erenna）	与规范处理一致

流速重复性	≤5%	4.5% (Erenna)	符合, 裕量较小
温度示值误差	±1 °C	0 °C 、 +0.1 °C 、 -0.1 °C (HD-X , 30 °C) ; -0.1 °C (彩科, 4 °C)	符合, 裕量充分
检测器重复性	≤5%	0.18% ~ 0.3% (SMCxPRO) ; 3.2% 、 6.0% (HD- X 高、低信号水平)	高信号水平符合; 低 信号水平为 6.0% , 略超限值 (按表 1 注不作合格性判定)
图像分辨力	不规定指标	2048×2048 、 16 bit (格物)	与规范处理一致
分析项目示值相对误差	不规定指标	-41.6% 、 -35.1% (彩科); -68.9% (HD-X); 格物第 一次未测出有效结 果, 第二次 -4.3% 。	与规范处理一致
分析项目重复性	≤15%	3.4% 、 10.8% (彩 科); 8.3% (HD- X); 2.1% (格 物)	符合

6.5 验证结论

本次验证实验在 Quanterix HD-X、彩科 AXL-3000、格物 Inspirer DX、Merck SMCxPRO 和 Merck Erenna 共 5 台单分子免疫分析仪上完成, 覆盖落孔成像 (Quanterix HD-X、彩科 AXL-3000)、单分子荧光/发光成像 (格物 Inspirer DX)、干涉反射成像 (Merck SMCxPRO)、单分子荧光流式计数 (Merck Erenna) 等不同成像原理以及全自动、半自动两种类型, 完成了规范表 1 所列 9 项计量特性、第 7 章 6 个校准项目的全部测量。验证结果表明:

1. 规范所确定的校准项目设置合理，校准方法科学、可操作，可在不同原理、不同自动化程度的机型上顺利实施；
2. 规范规定的校准条件与测量标准及其他设备的配置要求具备现实可行性，所需设备与标准物质均可获得；
3. 除检测器重复性在低信号水平（AEB 均值约 0.15）下实测 6.0% 略超 $\leq 5\%$ 的限值外，其余各项计量特性的实测结果均满足表 1 的要求，且多数留有较充分的裕量。低信号水平下的偏离已通过表 1 注“指标不用于合格性判定”予以说明，不构成对本规范的实质性影响；
4. 对流速示值相对误差、图像分辨力、分析项目示值相对误差三项不规范指标的处理，与验证实验中反映出的机型差异情况相符。

综上，本次验证实验表明《单分子免疫分析仪校准规范（征求意见稿）》所确定的校准项目与校准方法经实测检验是合理、可行的，规范文本具备提交审查的技术条件。

七、与有关法律法规、标准和规范的关系

本部分说明本规范与有关法律法规、标准和其他计量技术规范的关系，以明确其定位与效力。

1. **与《中华人民共和国计量法》及其实施细则的关系：**本规范属国家计量技术规范（JJF 系列），与计量法确立的量值统一与溯源制度相配套，供法定计量技术机构、第三方校准实验室和仪器使用单位对单分子免疫分析仪开展校准，不作为强制性要求。
2. **与 YY/T 1155—2019《全自动发光免疫分析仪》的关系：**后者是面向产品注册与检验的医药行业标准，规定产品的技术要求与试验方法，其中部分指标带有合格判定性质；本规范面向计量校准，规定的是校准项目、校准方法、计量特性参考指标和不确定度评定方法，并明确“指标不用于合格性判定”。两者定位不同、互为补充，不构成重复或冲突。
3. **与 JJF 1530—2015《凝胶成像系统校准规范》的关系：**本规范在图像分辨力等成像相关项目的表述方式上参考了该规范，但因单分子免疫分析仪的成像对象、判读方式与凝胶成像系统差异较大，未直接引用其指标。

4. 与 JJG 646—2006《移液器检定规程》、GB/T 6682—2008《分析实验室用水规格和试验方法》的关系：本规范加液体积项目的测量方法与指标水平、纯水质量要求分别参考了上述两份文件。
5. 与 ISO 17511:2020 的关系：分析项目示值相对误差项目的设置及其结果表述，与 ISO 17511:2020 关于建立校准品、正确度控制品和人体样品赋值的计量溯源性的要求相衔接，用于揭示体外诊断测量系统中量值溯源链可能存在的问题。
6. 与医疗器械监管要求的关系：本规范不涉及医疗器械注册、生产许可与临床性能评价等内容，相关要求由国家药品监督管理部门发布的法规文件与产品标准规定。

八、重大分歧意见的处理

起草过程中，起草小组对若干技术问题存在不同意见，处理情况如下。

1. "分析项目示值相对误差"是否规定指标。部分意见认为应给出限值以便使用方直接判定。经讨论认为，该项结果主要受标准物质数量限制、现有检测项目标准化水平、试剂盒与标准物质之间的量值差异、样本基质互换性以及样本稀释过程的共同影响，并非仪器固有特性的单一反映，规定限值容易造成误判，故最终对该项不规定指标，仅要求给出校准结果与测量不确定度。
2. "检测器重复性"限值是否由 $\leq 5\%$ 放宽。验证实验中 HD-X 分析仪在低信号水平（AEB 均值约 0.15）下实测 RSD 为 6.0%。经讨论认为，低信号水平下信号计数服从泊松统计，其固有涨落本身较大，不宜为迁就单一机型在接近检出限工况下的表现而放宽限值，故维持 $\leq 5\%$ ，并通过表 1 注明指标不用于合格性判定。
3. "流速示值相对误差"是否规定指标。因目前市场上唯一流式原理的单分子免疫分析仪（Erenna）已经停产，仪器数量有限并缺少维护，数据不具有代表性。同时，不同原理机型在流路结构与流速量程上差异过大，给出统一限值缺乏可比性，最终不规定指标。
4. "图像信噪比"是否列为校准项目。部分意见希望对图像质量作更全面的考核。经讨论认为，实际图片中存在过曝光的区域，同时图像信噪比的量化

判读方式与判据尚未统一，目前缺少公认的溯源途径，故本稿暂未列入，作为后续研究方向。

上述意见的处理结果将在征求意见阶段进一步听取各方意见后确定。

九、贯彻实施建议

为使本规范发布后能够顺利实施，提出以下建议。

1. **宣贯培训：**建议由归口单位全国生物计量技术委员会组织本规范的宣贯与培训，重点面向省级计量技术机构、第三方校准实验室和体外诊断仪器生产企业，明确校准项目、校准方法与结果表述要求。
2. **配套模板：**建议各校准机构依据本规范附录 B 编制本单位的校准记录与校准证书模板，并在校准业务信息系统中固化，减少人为记录差错，同时便于各机构间的结果比对。
3. **标准物质供给：**建议推动脑脊液与血液中 A β 42、p-tau、NfL、GFAP 等标志物有证标准物质的研制与供给，重点提高标准物质在真实样本基质中的互换性；6.5 中“相对扩展不确定度不大于 20%（k=2）”的上限为国产标准物质的纳入预留了空间。
4. **与产品检验衔接：**建议仪器生产企业在新产品注册检验、出厂检验与型式评价中参照本规范的校准项目与方法，实现产品检验与计量校准的衔接，形成完整的产品质量与计量保障链条。
5. **校准机构质量控制：**建议校准机构在实施本规范时同步建立相应的质量控制程序，包括重复测量、期间核查和人员比对等，并将校准结果的测量不确定度纳入结果报告。
6. **数据积累与规范修订：**建议在规范实施过程中持续收集不同原理、不同厂商机型的校准数据，为计量特性指标的修订与完善积累依据。

十、其他需要说明的事项

无。

十一、起草小组

起草单位：中国计量科学研究院

参加起草单位：广东省计量科学研究院、深圳中国计量科学研究院技术创新研究院、江苏省计量科学研究院、中国药品检定研究院

二〇二六年九月

参考文献

1. JJF 1071—2010 国家计量校准规范编写规则
2. JJF 1001—2011 通用计量术语及定义
3. JJF 1059.1—2012 测量不确定度评定与表示
4. JJF 1265—2022 生物计量术语及定义
5. JJF 1530—2015 凝胶成像系统校准规范
6. JJF 1076—2020 数字式温湿度计校准规范
7. JJG 646—2006 移液器检定规程
8. GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法
9. YY/T 1155—2019 全自动发光免疫分析仪
10. ISO 17511:2020 In vitro diagnostic medical devices — Requirements for establishing metrological traceability of values assigned to calibrators, trueness control materials and human samples
11. Rissin D M, Kan C W, Campbell T G, et al. Single-molecule enzyme-linked immunosorbent assay detects serum proteins at subfemtomolar concentrations[J]. Nature Biotechnology, 2010, 28(6): 595-599.
12. Wilson D H, Rissin D M, Kan C W, et al. The Simoa HD-1 analyzer: a novel fully automated digital immunoassay analyzer with single-molecule sensitivity and multiplexing[J]. Journal of Laboratory Automation, 2016, 21(4): 533-547.
13. Andreasson U, Kuhlmann J, Pannee J, et al. Commutability of the certified reference materials for the standardization of β -amyloid 1-42 in cerebrospinal fluid in 8 clinical laboratories and 8 analytical platforms[J]. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2018, 56(12): 2058-2066.
14. Boulo S, Kuhlmann J, Andreasson U, et al. First amyloid β 1-42 certified reference material for re-calibrating commercial immunoassays[J]. Alzheimer's & Dementia, 2020, 16(11): 1493-1503.
15. 全国科学技术名词审定委员会. 化学名词（第二版）[M]. 北京: 科学出版社, 2016.