



中华人民共和国国家计量技术规范

JJF ××××—202×

单分子免疫分析仪校准规范

Calibration Specification for Single Molecule Immunoassay Analyzers

(征求意见稿)

本稿完成日期：2026-09-14

20××-××-××发布

20××-××-××实施

国家市场监督管理总局 发布

单分子免疫分析仪校准规范

Calibration Specification for Single Molecule

JJF ××××—202×

Immunoassay Analyzers

归口单位：全国生物计量技术委员会

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

规范委托全国生物计量技术委员会负责解释

本规范主要起草人：

参加起草人：

全国生物计量技术委员会

目 录

引言	(III)
1 范围	(1)
2 引用文件	(1)
3 术语和定义	(1)
4 概述	(3)
5 计量特性	(3)
6 校准条件	(4)
7 校准项目和校准方法	(5)
7.1 加液体积示值相对误差和重复性	(5)
7.2 流速示值相对误差和重复性	(6)
7.3 温度示值误差	(7)
7.4 检测器重复性	(8)
7.5 图像分辨力	(8)
7.6 分析项目示值相对误差和重复性	(8)
8 校准结果表达	(9)
9 复校时间间隔	(10)
附录 A 1990 年国际温标纯水密度表	(11)
附录 B 校准记录及校准证书的内容及格式	(12)
附录 C 加液体积示值相对误差测量结果的不确定度评定	(16)
附录 D 流速示值相对误差测量结果的不确定度评定	(20)
附录 E 温度示值误差测量结果的不确定度评定	(24)
附录 F 分析项目示值相对误差测量结果的不确定度评定	(27)
参考文献	(30)

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。本规范校准方法及计量特性等主要参考了 YY/T 1155—2019《全自动发光免疫分析仪》、JJF 1530—2015《凝胶成像系统校准规范》、GB/T 6682—2008《分析实验室用水规格和试验方法》。

本规范为首次发布。

单分子免疫分析仪校准规范

1 范围

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。

本规范不适用于不具备定量报告功能的单分子检测装置的校准以及分析仪临床诊断性能的评价。

2 引用文件

JJF 1001 通用计量术语及定义

JJF 1265 生物计量术语及定义

GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法

注：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 术语和定义

JJF 1001、JJF 1265 中界定的及以下术语和定义适用于本规范。

3.1 单分子免疫分析 single molecule immunoassay

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 single molecule immunoassay analyzer

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。

4 概述

分析仪通常以样品中的目标抗原为检测对象，先通过捕获抗体将其结合在固相载体

如磁珠、微孔或流道内壁上，再与带有酶或荧光基团标记的检测抗体形成免疫复合物。依据落孔成像、干涉反射成像、单分子荧光成像、单分子荧光流式计数等不同原理，将单个免疫复合物事件转化为可测量的荧光或化学发光等物理信号，通过对单个免疫复合物信号的独立识别与统计，获得样品中目标抗原的浓度，具有极高的检测灵敏度。分析仪可用于血清、血浆、脑脊液等生物样品中各类低丰度标志物的定量检测，应用领域涵盖疾病早期诊断与筛查、神经科学研究、药物开发与疗效评估、炎症与免疫学研究以及病原体检测等。

分析仪通常由一系列高度协同的功能模块构成，包括样本处理模块、反应与温育模块、流体控制模块、信号生成与探测模块和数据处理与分析模块等。根据操作流程的自动化程度，分析仪可分为全自动型与半自动型。

5 计量特性

分析仪计量特性见表 1。

表 1 分析仪的计量特性

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

注：

* 适用时，进行该项目的校准。

** 指标不用于合格性判定。

*** 加液体积可根据仪器调整，应具有代表性或典型性。

6 校准条件

6.1 环境条件

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。

注：上述条件与制造商的产品规定不一致时，以产品规定为准。

6.2 电子天平：分度值不高于 0.1 mg，①级。

6.3 温度计：测量范围（10~50）℃，最大允许误差不超过 ± 0.1 ℃。

6.4 秒表：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。

6.5 标准物质：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%（ $k=2$ ）。

6.6 其他：配套体外诊断试剂盒、校准品、质控品；符合 GB/T 6682—2008 的一级水；用于称量加液体积和收集流动相的带盖容器、样品管等。

7 校准项目和校准方法

校准前检查分析仪外观是否完好，各运动部件是否平稳，有无影响正常工作的机械损伤；仪器铭牌、型号、出厂编号及软件版本号应清晰可辨并予以记录。分析仪应按制造商规定的方式开机预热至稳定状态；具有自检功能的，应自检合格。校准的环境条件应符合 6.1 的要求，并在校准记录中记录校准时的环境温度和相对湿度。校准用纯水使用前应平衡至室温并超声脱气。首次使用或长期停用的分析仪，应先运行一次完整的模拟检测程序，确认流路系统、加液系统、温控系统和光学检测系统工作正常后再进行校准。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。

7.1 加液体积示值相对误差和重复性

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，立即在电子天平上称量质量；同时用温度计测量纯水温度 T 并从附录 A 中查找到对应的密度，根据式（1）计算加液体积，重复上述测量 6 次，

其中后 3 次数据用于计算示值相对误差，分别根据式（2）和（3）计算每个体积校准点的加液体积示值相对误差和重复性。

$$V = \frac{m - m_0}{\rho} \quad (1)$$

式中： V ——加液体积， μL 。

m ——容器和纯水的总质量， mg 。

m_0 ——容器质量， mg 。

ρ ——温度为 T 时水的密度， g/mL 。

$$\Delta V = \frac{V_0 - \bar{V}}{\bar{V}} \times 100\% \quad (2)$$

式中： V_0 ——加液体积设定值， μL 。

$\bar{V}$ ——加液体积测量平均值， μL 。

ΔV ——加液体积示值相对误差， $\%$ 。

$$RSD_V = \frac{1}{\bar{V}} \times \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^6 (V_i - \bar{V})^2}{(n-1)}} \times 100\% \quad (3)$$

式中： RSD_V ——加液体积重复性， $\%$ 。

V_i ——第 i 次加液体积测量值， μL 。

$\bar{V}$ ——6 次加液体积测量平均值， μL 。

n ——测量次数， $n=6$ 。

7.2 流速示值相对误差和重复性

采用平衡至室温并超声脱气的纯水作为流动相，通过分析仪注入或冲洗功能，使系

统中充满纯水。将温度计插入流动相内，测量纯水温度。设定流速为 100 $\mu\text{L}/\text{min}$ 或根据相应分析仪进行适当调整。待流速稳定后，用合适体积并称重后的带盖容器收集规定时间内（10 min 或根据相应分析仪进行适当调整）流出的液体并称量带盖容器和液体的总质量。当流出液体不易收集时，可将纯水作为样品加注到样品管中，称量带盖样品管与纯水的总质量，设定流速为 100 $\mu\text{L}/\text{min}$ 或根据相应分析仪进行适当调整，吸取规定时间（10 min 或根据相应分析仪进行适当调整）的样品，进样停止后再次称量带盖样品管与纯水总质量。

重复上述操作 6 次，其中后 3 次数据用于计算流速示值相对误差。按照式（4）计算流速，再分别按照式（5）和（6）计算流速示值相对误差和重复性。

$$F = \frac{|m - m_0|}{\rho(T)t} \quad (4)$$

式中： F ——流速测量值， $\mu\text{L}/\text{min}$ 。

m ——测量收集停止后容器质量， mg 。

m_0 ——测量开始时容器质量， mg 。

$\rho(T)$ ——温度为 T 时的纯水密度， mg/mL 。

t ——测量时间， min 。

$$\Delta F = \frac{F_0 - \bar{F}}{\bar{F}} \times 100\% \quad (5)$$

式中： ΔF ——流速示值相对误差， $\%$ 。

F_0 ——流速设定值， $\mu\text{L}/\text{min}$ 。

$\bar{F}$ ——第 i 次流速测量值， $\mu\text{L}/\text{min}$ 。

$$RSD_F = \frac{1}{\bar{F}} \times \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (F_i - \bar{F})^2}{(n-1)}} \times 100\% \quad (6)$$

式中： RSD_F ——流速重复性，%。

F_i ——第 i 次流速测量值， $\mu\text{L}/\text{min}$ 。

$\bar{F}$ ——流速测量平均值， $\mu\text{L}/\text{min}$ 。

7.3 温度示值误差

待分析仪温度到达设定温度且稳定后，将温度计的探头放到分析仪温控区域中心位置，每 2 min 记录测试点温度一次，连续测量 3 次。根据公式（7）计算温度示值相对误差。

$$\Delta T = T_0 - \bar{T} \quad (7)$$

式中： ΔT ——温度示值误差， $^{\circ}\text{C}$ 。

T_0 ——温度设定值， $^{\circ}\text{C}$ 。

$\bar{T}$ ——温度测量平均值， $^{\circ}\text{C}$ 。

7.4 检测器重复性

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，根据公式（8）计算检测器重复性。

$$RSD_I = \frac{1}{\bar{I}} \times \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (I_i - \bar{I})^2}{(n-1)}} \times 100\% \quad (8)$$

式中： RSD_I ——检测器重复性，%。

I_i ——第 i 次荧光强度或图像灰度测量值，无量纲。

$\bar{I}$ ——荧光强度或图像灰度测量平均值，无量纲。

7.5 图像分辨力

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。

7.6 分析项目示值相对误差和重复性

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，根据（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，根据（10）计算重复性。

$$\Delta c = \frac{\bar{c} - c_0}{c_0} \times 100\% \quad (9)$$

式中： Δc ——分析项目示值相对误差，%。

c_0 ——标准物质的认定值。

$\bar{c}$ ——第 i 次标准物质测量值。

$$RSD_c = \frac{1}{\bar{c}} \times \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (c_i - \bar{c})^2}{(n-1)}} \times 100\% \quad (10)$$

式中： RSD_c ——分析项目重复性，%。

c_i ——第 i 次标准物质测量值。

$\bar{c}$ ——标准物质测量平均值。

8 校准结果表达

8.1 校准结果处理

经校准后的分析仪应核发校准证书，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，其推荐格式见附录 B。

8.2 校准结果的测量不确定度

分析仪校准结果的测量不确定度按 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 C～附录 F。

9 复校时间间隔

由于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，因此，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。

全国生物计量技术委员会

附录 A

1990 年国际温标纯水密度表 (g/mL)

$T_{90}(^{\circ}\text{C})$	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
15	0.999099	0.999084	0.999069	0.999053	0.999038	0.999022	0.999006	0.998991	0.998975	0.998959
16	0.998943	0.998926	0.998910	0.998893	0.998876	0.998860	0.998843	0.998826	0.998809	0.998792
17	0.998774	0.998757	0.998739	0.998722	0.998704	0.998686	0.998668	0.998650	0.998632	0.998613
18	0.998595	0.998576	0.998557	0.998539	0.998520	0.998501	0.998482	0.998463	0.998443	0.998424
19	0.998404	0.998385	0.998365	0.998345	0.998325	0.998305	0.998285	0.998265	0.998244	0.998224
20	0.998203	0.998182	0.998162	0.998141	0.998120	0.998099	0.998077	0.998056	0.998035	0.998013
21	0.997991	0.997970	0.997948	0.997926	0.997904	0.997882	0.997859	0.997837	0.997815	0.997792
22	0.997769	0.997747	0.997724	0.997701	0.997678	0.997655	0.997631	0.997608	0.997584	0.997561
23	0.997537	0.997513	0.997490	0.997466	0.997442	0.997417	0.997393	0.997369	0.997344	0.997320
24	0.997295	0.997270	0.997246	0.997221	0.997195	0.997170	0.997145	0.997120	0.997094	0.997069
25	0.997043	0.997018	0.996992	0.996966	0.996940	0.996914	0.996888	0.996861	0.996835	0.996809
26	0.996782	0.996755	0.996729	0.996702	0.996675	0.996648	0.996621	0.996594	0.996566	0.996539
27	0.996511	0.996484	0.996456	0.996428	0.996401	0.996373	0.996344	0.996316	0.996288	0.996260
28	0.996231	0.996203	0.996174	0.996146	0.996117	0.996088	0.996059	0.996030	0.996001	0.995972
29	0.995943	0.995913	0.995884	0.995854	0.995825	0.995795	0.995765	0.995735	0.995705	0.995675
30	0.995645	0.995615	0.995584	0.995554	0.995523	0.995493	0.995462	0.995431	0.995401	0.995370
31	0.995339	0.995307	0.995276	0.995245	0.995214	0.995182	0.995151	0.995119	0.995087	0.995055
32	0.995024	0.994992	0.994960	0.994927	0.994895	0.994863	0.994831	0.994798	0.994766	0.994733
33	0.994700	0.994667	0.994635	0.994602	0.994569	0.994535	0.994502	0.994469	0.994436	0.994402
34	0.994369	0.994335	0.994301	0.994267	0.994234	0.994200	0.994166	0.994132	0.994098	0.994063
35	0.994029	0.993994	0.993960	0.993925	0.993891	0.993856	0.993821	0.993786	0.993751	0.993716

附录 B

校准记录及校准证书的内容及格式

校准记录中应记载被校分析仪的基本信息、校准时的环境条件、所用测量标准及其他设备的信息，以及各校准项目的原始测量数据、计算过程和校准结果。推荐的校准记录格式见表 B.1。

表 B.1 校准记录格式

校 准 记 录							
共 页，第 页							
仪器名称		型号					
制造厂商		出厂编号					
委托单位	名称		联系人				
	地址		电话				
温湿度		校准日期					
记录编号		证书编号					
校准员		核验员					
一、加液体积示值相对误差和重复性(纯水温度：_____℃ 纯水密度：_____g/mL)							
设定体积		1	2	3	4	5	6
() μL	纯水质量 mg						
	体积 μL						
	平均体积 μL						
	加液体积 示值相对误差%					不确定度：	
	加液体积 重复性%						
() μL	纯水质量 mg						
	体积 μL						
	平均体积 μL						

	加液体积 示值相对误差%		不确定度:
	加液体积 重复性%		

二、流速示值相对误差和重复性（纯水温度：_____℃ 纯水密度：_____g/mL）

设定流速		1	2	3	4	5	6
100 μL/min	收集前容器质量 mg						
	收集后容器质量 mg						
	纯水质量 mg						
	体积 μL						
	收集时间 min						
	流速示值相对误差%				不确定度：		
	流速重复性%						

三、温度示值误差 °C

设定温度	测量 1	测量 2	测量 3	平均值	示值误差	不确定度

四、检测器重复性

荧光强度或灰度值	平均值	RSD
测量 1		
测量 2		
测量 3		
测量 4		
测量 5		
测量 6		

五、图像分辨力

图像分辨力	
-------	--

六、分析项目示值相对误差和重复性

标准物质认定值						
测量值	1	2	3	4	5	6
测量平均值	/					
示值相对误差%				不确定度:		
重复性%						

校准证书中应列出各计量特性的校准结果，推荐的校准证书内页格式见表 B.2。

表 B.2 校准证书内页格式

校 准 证 书		
		共 页，第 页
序号	校准项目	校准结果
1	加液体积示值相对误差	
2	加液体积重复性	
3	流速示值相对误差	
4	流速重复性	
5	温度示值误差	
6	检测器重复性	
7	图像分辨力	
8	分析项目示值相对误差	
9	分析项目重复性	

- 1.加液体积示值相对误差测量不确定度：
- 2.流速示值相对误差测量不确定度：
- 3.温度示值误差测量不确定度：
- 4.分析项目检测示值相对误差测量不确定度：

校准员：_____

核验员：_____

附录 C

加液体积示值相对误差测量结果的不确定度评定

C.1 测量方法

采用分析天平称量加注纯水的质量，根据相应温度下纯水的密度计算出加液体积，并与设定体积进行比较。

C.2 测量模型

加液体积示值相对误差可由公式（C.1）给出：

$$\Delta V = \frac{V_0 - \bar{V}}{\bar{V}} \times 100\% \quad (\text{C.1})$$

式中：

V_0 ——加液体积设定值， μL 。

$\bar{V}$ ——加液体积测量平均值， μL 。

ΔV ——加液体积示值相对误差。

C.3 方差和灵敏系数

依据 $u_c^2(y) = \Sigma [\partial f / \partial x_i]^2 u^2(x_i)$ ，有 $u_c^2 = \Sigma c^2(x_i) u^2(x_i)$ ，则由公式(C.1)得：

$$c_{\bar{V}} = \frac{\partial \Delta V}{\partial \bar{V}} = -\frac{V_0}{\bar{V}^2}$$

$$c_{V_0} = \frac{\partial \Delta V}{\partial V_0} = \frac{1}{\bar{V}}$$

$c_{\bar{V}}$ 与 c_{V_0} 不相关，故输出量估计方差的完整表达式应为：

$$u_c^2 = c_{\bar{V}}^2 u_{\bar{V}}^2 + c_{V_0}^2 u_{V_0}^2 \quad (\text{C.2})$$

由式(C.2)可得：

$$u_c = \sqrt{c_{\bar{V}}^2 u_{\bar{V}}^2 + c_{V_0}^2 u_{V_0}^2} \quad (\text{C.3})$$

C.4 不确定度来源

不确定度来源包括：

a) 输入量 $\bar{V}$ 引入的不确定度 $u_{\bar{V}}$ ，包括由加液重复性引入的不确定度 $u_{\bar{V},1}$ 和天平称量

以及密度换算引入的不确定度 $u_{\bar{V},2}$ 。

$$V = \frac{m - m_0}{\rho} \quad (\text{C.4})$$

式中：

V ——加液体积， μL 。

m ——容器和纯水的总质量， mg 。

m_0 ——容器质量， mg 。

ρ ——温度为 t 时水的密度， g/mL 。

根据加液体积计算公式（C.4）可得：

$$u_{\bar{V},2} = \sqrt{\left(\frac{\partial V}{\partial m_0} u_{m_0}\right)^2 + \left(\frac{\partial V}{\partial m} u_m\right)^2 + \left(\frac{\partial V}{\partial \rho} u_\rho\right)^2} = \sqrt{\left(-\frac{1}{\rho} u_{m_0}\right)^2 + \left(\frac{1}{\rho} u_m\right)^2 + \left(-\frac{m - m_0}{\rho^2} u_\rho\right)^2} \quad (\text{C.5})$$

下面以一次分析仪校准为例具体分析其测量不确定度。校准中样本针加液体积的 6 次测定结果分别为 19.9 μL 、20.5 μL 、19.8 μL 、20.2 μL 、20.2 μL 和 20.1 μL ；该分析仪样本针的设定值为 20 μL 。

b) 输入量 V_0 引入的不确定度分量 u_{V_0}

设定体积的不确定度 $u_{V_0} = 0$ 。

C.5 标准不确定度分量计算

C.5.1 测量重复性引入的不确定度分量 $u_{\bar{V},1}$

选定一台分析仪，对样本针加液体积连续测量 10 次得到一组测量值：19.9 μL 、20.5 μL 、19.7 μL 、20.2 μL 、20.2 μL 、20.3 μL 、19.8 μL 、20.2 μL 、20.0 μL 和 20.1 μL 。

则单次测量结果的标准差 $s(x_i)$ ：

$$s(x_i) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \approx 0.245 \mu\text{L}$$

实际校准时在重复性条件下连续测量 3 次，以 3 次测量的算术平均值作为结果，则由测量重复性引入的标准不确定度分量为：

$$u_{\bar{V},1} = s(x_i) / \sqrt{n} = 0.245 \mu\text{L} / \sqrt{3} \approx 0.141 \mu\text{L}$$

C.5.2 天平称量和密度换算引入的不确定度分量 $u_{\bar{V},2}$

由天平称量引入的不确定度分量 u_m 和 u_{m_0} 可以根据天平检定证书提供的不确定度计算：

$$u_m = u_{m_0} = \frac{U}{k} = \frac{0.009}{2} = 0.0045 \text{ mg}$$

密度与水的温度有关，校准时纯水温度为 25.0℃，相应纯水密度为 0.997074 g/mL 将附录 B 中（15~35）℃ 范围内水的密度与温度的关系进行 3 次多项式拟合，得到：

$$\rho = 0.99995 + 4.53088 \times 10^{-5} t - 7.31996 \times 10^{-6} t^2 + 3.41649 \times 10^{-8} t^3$$

根据温度计的校准证书， $U=0.1^\circ\text{C}$ （ $k=2$ ），因此 $u_t=0.05^\circ\text{C}$ ，由温度测量引起的密度的不确定度为：

$$u_\rho = \left(4.53088 \times 10^{-5} + 2 \times 7.31996 \times 10^{-6} \times 25.0 + 3 \times 3.41649 \times 10^{-8} \times 25.0^2 \right) \times 0.05 = 2.4 \times 10^{-5} \text{ g/mL}$$

根据式 C.4 有：

$$u_{\bar{V},2} = \sqrt{\left(-\frac{1}{\rho} u_{m_0} \right)^2 + \left(\frac{1}{\rho} u_m \right)^2 + \left(-\frac{m - m_0}{\rho^2} u_\rho \right)^2} = 0.0064 \mu\text{L}$$

因此，

$$u_{\bar{V}} = \sqrt{u_{\bar{V},1}^2 + u_{\bar{V},2}^2} = 0.141 \mu\text{L}$$

C.5.3 设定体积的不确定度 u_{V_0}

设定体积的不确定度 $u_{V_0}=0$ 。

C.6 合成标准不确定度 u_c

由式(C.3)可得：

$$u_c = \sqrt{c_{\bar{V}}^2 u_{\bar{V}}^2 + c_{V_0}^2 u_{V_0}^2} = c_{\bar{V}} u_{\bar{V}} = \frac{V_0}{\bar{V}^2} u_{\bar{V}} = 0.007$$

C.7 相对扩展不确定度 U_{rel}

取 $k=2$ ，则：

$$U = k \times u_c = 0.014 = 1.4\%$$

全国生物计量技术委员会

附录 D

流速示值相对误差测量结果的不确定度评定

D.1 测量方法

采用分析天平称量一定时间内流过纯水的质量，根据相应温度下纯水的密度计算出加液体积，再根据收集时间计算出流速，并与设定流速进行比较。

D.2 测量模型

流速示值相对误差可由公式 (D.1) 给出：

$$\Delta F = \frac{F_0 - \bar{F}}{\bar{F}} \times 100\% \quad (\text{D.1})$$

式中： ΔF ——流速示值相对误差，%。

F_0 ——流速设定值， $\mu\text{L}/\text{min}$ 。

$\bar{F}$ ——流速测量平均值， $\mu\text{L}/\text{min}$ 。

D.3 方差和灵敏系数

依据 $u_c^2(y) = \Sigma [\partial f / \partial x_i]^2 u^2(x_i)$ ，有 $u_c^2 = \Sigma c^2(x_i) u^2(x_i)$ ，则由公式(D.1)得：

$$c_{\bar{F}} = \frac{\partial \Delta F}{\partial \bar{F}} = -\frac{F_0}{\bar{F}^2}$$

$$c_{F_0} = \frac{\partial \Delta F}{\partial F_0} = \frac{1}{\bar{F}}$$

$c_{\bar{F}}$ 与 c_{F_0} 不相关，故输出量估计方差的完整表达式应为：

$$u_c^2 = c_{\bar{F}}^2 u_{\bar{F}}^2 + c_{F_0}^2 u_{F_0}^2 \quad (\text{D.2})$$

由公式(D.2) 得：

$$u_c = \sqrt{c_F^2 u_F^2 + c_{F_0}^2 u_{F_0}^2} \quad (D.3)$$

D.4 不确定度来源

a) 输入量 $\bar{F}$ 引入的不确定度 $u_{\bar{F}}$ ，包括由流速重复性引入的不确定度 $u_{\bar{F},1}$ 、天平称量以及密度换算引入的不确定度 $u_{\bar{F},2}$ 以及收集时间的不确定度。

$$F = \frac{|m - m_0|}{\rho(T)t} \quad (D.4)$$

式中： F ——流速测量值， $\mu\text{L}/\text{min}$ 。

m ——测量收集停止后容器质量， mg 。

m_0 ——测量开始时容器质量， mg 。

$\rho(T)$ ——温度为 T 时的纯水密度， mg/mL 。

t ——测量时间， min 。

根据流速计算公式 (D.4) 可得：

$$\begin{aligned} u_{\bar{F},2} &= \sqrt{\left(\frac{\partial F}{\partial m_0} u_{m_0}\right)^2 + \left(\frac{\partial F}{\partial m} u_m\right)^2 + \left(\frac{\partial F}{\partial \rho} u_\rho\right)^2 + \left(\frac{\partial F}{\partial t} u_t\right)^2} \\ &= \sqrt{\left(-\frac{1}{\rho t} u_{m_0}\right)^2 + \left(\frac{1}{\rho t} u_m\right)^2 + \left(-\frac{m - m_0}{\rho^2 t} u_\rho\right)^2 + \left(-\frac{m - m_0}{\rho t^2} u_t\right)^2} \end{aligned} \quad (D.5)$$

b) 输入量 F_0 引入的不确定度分量 u_{F_0}

流速设定的不确定度分量 $u_{F_0} = 0$ 。

下面以一次分析仪校准为例具体分析其测量不确定度，设定流速为 $100 \mu\text{L}/\text{min}$ 、收集时间为 10 min ，流速 6 次测定结果分别为 $102 \mu\text{L}/\text{min}$ 、 $105 \mu\text{L}/\text{min}$ 、 $101 \mu\text{L}/\text{min}$ 、 $104 \mu\text{L}/\text{min}$ 、 $102 \mu\text{L}/\text{min}$ 和 $101 \mu\text{L}/\text{min}$ 。

D.5 标准不确定度分量计算

D.5.1 流速测量重复性引入的不确定度分量 $u_{\bar{F},1}$

选定一台分析仪，连续测量流速 10 次，得到一组测量值：102 $\mu\text{L}/\text{min}$ 、105 $\mu\text{L}/\text{min}$ 、101 $\mu\text{L}/\text{min}$ 、104 $\mu\text{L}/\text{min}$ 、102 $\mu\text{L}/\text{min}$ 、101 $\mu\text{L}/\text{min}$ 、103 $\mu\text{L}/\text{min}$ 、99 $\mu\text{L}/\text{min}$ 、101 $\mu\text{L}/\text{min}$ 、103 $\mu\text{L}/\text{min}$ 。

则单次测量结果的标准差 $s(x_i)$ ：

$$s(x_i) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \approx 1.73 \mu\text{L}/\text{min}$$

实际校准时在重复性条件下连续测量 3 次，以 3 次测量的算术平均值作为结果，则由测量重复性引入的标准不确定度分量为：

$$u_{F,1} = s(x_i) / \sqrt{n} = 1.73 / \sqrt{3} = 0.999 \mu\text{L}/\text{min}$$

D.5.2 天平称量和密度换算以及收集时间引入的不确定度分量 $u_{F,2}$

由天平称量引入的不确定度分量 u_m 和 u_{m_0} 可以根据天平计量证书提供的不确定度计算：

$$u_m = u_{m_0} = \frac{U}{k} = \frac{0.009}{2} = 0.0045 \text{ mg}$$

密度与水的温度有关，校准时纯水温度为 25.0 $^{\circ}\text{C}$ ，相应纯水密度为 0.997074 g/mL 将附录 B 中（15~35） $^{\circ}\text{C}$ 范围内水的密度与温度的关系进行 3 次多项式拟合，得到：

$$\rho = 0.99995 + 4.53088 \times 10^{-5} t - 7.31996 \times 10^{-6} t^2 + 3.41649 \times 10^{-8} t^3$$

根据温度计的校准证书， $U=0.1^{\circ}\text{C}$ ($k=2$)，因此 $u_t=0.05^{\circ}\text{C}$ ，由温度测量引起的密度的不确定度为：

$$u_{\rho} = \left(4.53088 \times 10^{-5} + 2 \times 7.31996 \times 10^{-6} \times 25.0 + 3 \times 3.41649 \times 10^{-8} \times 25.0^2 \right) \times 0.05 = 2.4 \times 10^{-5} \text{ g/mL}$$

收集时间由软件自动控制，时间测量的不确定度忽略不计，即 $u_t=0$ 。

根据式 D.4 有：

$$u_{\bar{F},2} = \sqrt{\left(-\frac{1}{\rho t}u_{m_0}\right)^2 + \left(\frac{1}{\rho t}u_m\right)^2 + \left(-\frac{m-m_0}{\rho^2 t}u_\rho\right)^2 + \left(-\frac{m-m_0}{\rho t^2}u_t\right)^2} = 0.00064 \text{ } \mu\text{L/min}$$

因此,

$$u_{\bar{F}} = \sqrt{u_{\bar{F},1}^2 + u_{\bar{F},2}^2} = 1.0 \text{ } \mu\text{L/min}$$

D.5.3 流速设定的不确定度分量 u_{F_0}

流速设定的不确定度分量 $u_{F_0} = 0$ 。

D.6 合成标准不确定度 u_c

由公式 (D.3) 可得:

$$u_c = \sqrt{c_{\bar{F}}^2 u_{\bar{F}}^2 + c_{F_0}^2 u_{F_0}^2} = c_{\bar{F}} u_{\bar{F}} = \frac{F_0}{\bar{F}^2} u_{\bar{F}} = 0.0095 = 0.95\%$$

D.7 扩展不确定度 U

取 $k=2$, 则:

$$U = k \times u_c = 0.019 = 1.9\%$$

附录 E

温度示值误差测量结果的不确定度评定

E.1 测量方法

采用温度计直接测量温育（孵育）单元的温度，并与设定温度进行比较。

E.2 测量模型

温度示值误差可由公式(E.1)给出：

$$\Delta T = T_0 - \bar{T} \quad (\text{E.1})$$

式中： ΔT ——温度示值误差，℃。

T_0 ——温度设定值，℃。

$\bar{T}$ ——温度测量平均值，℃。

E.3 方差和灵敏系数

依据 $u_c^2(y) = \Sigma [\partial f / \partial x_i]^2 u^2(x_i)$ ，有 $u_c^2 = \Sigma c^2(x_i) u^2(x_i)$ ，则由公式(E.1)得：

$$c_{\bar{T}} = \frac{\partial \Delta T}{\partial \bar{T}} = -1$$

$$c_{T_0} = \frac{\partial \Delta T}{\partial T_0} = 1$$

$c_{\bar{T}}$ 与 c_{T_0} 不相关，故输出量估计方差的完整表达式应为：

$$u_c^2 = c_{\bar{T}}^2 u_{\bar{T}}^2 + c_{T_0}^2 u_{T_0}^2 \quad (\text{E.2})$$

由公式(E.2) 得：

$$u_c = \sqrt{c_{\bar{T}}^2 u_{\bar{T}}^2 + c_{T_0}^2 u_{T_0}^2} \quad (\text{E.3})$$

E.4 不确定度来源

a) 输入量 $\bar{T}$ 引入的不确定度 $u_{\bar{T}}$ ，即由温度测量重复性引入的不确定度 $u_{\bar{T},1}$ 、温度计校准的不确定 $u_{\bar{T},2}$ 以及温度计分辨力引入的不确定度 $u_{\bar{T},3}$ 。

b) 输入量 T_0 引入的不确定度 u_{T_0} ，即由设定温度引入的不确定度分量， $u_{T_0} = 0$ 。

E.5 标准不确定度分量计算

E.5.1 温度测量重复性引入的不确定度分量 $u_{\bar{T},1}$

选定一台分析仪，连续测量温度 10 次，得到一组测量值：37.19℃、37.29℃、37.15℃、37.18℃、37.01℃、37.17℃、37.19℃、37.09℃、37.05℃和 37.05℃。

则单次测量结果的标准差 $s(x_i)$ ：

$$s(x_i) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = 0.086^\circ\text{C}$$

实际校准时在重复性条件下连续测量 3 次，以 3 次测量的算术平均值作为结果，则由测量重复性引入的标准不确定度分量为：

$$u_{\bar{T},1} = s(x_i) / \sqrt{n} = 0.086 / \sqrt{3} = 0.050^\circ\text{C}$$

E.5.2 温度计校准引入的不确定度 $u_{\bar{T},2}$

根据温度计的校准证书：

$$u_{\bar{T},2} = \frac{U}{k} = \frac{0.1}{2} = 0.05^\circ\text{C}$$

E.5.3 温度计分辨力引入的不确定度 $u_{\bar{T},3}$

温度计的分辨力为 0.01℃，因此由温度计分辨力引入的不确定度为：

$$u_{\bar{T},3} = \frac{0.01}{2\sqrt{3}} = 0.0029^\circ\text{C}$$

E.5.4 由 $\bar{T}$ 引入的不确定度 $u_{\bar{T}}$

$$u_{\bar{T}} = \sqrt{u_{\bar{T},1}^2 + u_{\bar{T},2}^2 + u_{\bar{T},3}^2} = 0.07^{\circ}\text{C}$$

E.6 合成标准不确定度 u_c

由公式 (E.3) 可得:

$$u_c = \sqrt{c_{\bar{T}}^2 u_{\bar{T}}^2 + c_{F_0}^2 u_{F_0}^2} = c_{\bar{T}} u_{\bar{T}} = u_{\bar{T}} = 0.07^{\circ}\text{C}$$

E.7 扩展不确定度 U

取 $k=2$, 则:

$$U = k \times u_c = 0.14^{\circ}\text{C}$$

附录 F

分析项目示值相对误差测量结果的不确定度评定

F.1 测量方法

采用分析仪测定标准物质并与标准物质的认定值进行比较。

F.2 测量模型

分析项目测量结果示值相对误差可由公式 (F.1) 给出：

$$\Delta c = \frac{\bar{c} - c_0}{c_0} \times 100\% \quad (\text{F.1})$$

式中：

Δc ——分析项目示值相对误差，%。

c_0 ——标准物质的认定值。

$\bar{c}$ ——标准物质测量平均值。

F.3 方差和灵敏系数

依据 $u_c^2(y) = \Sigma [\partial f / \partial x_i]^2 u^2(x_i)$ ，有 $u_c^2 = \Sigma c^2(x_i) u^2(x_i)$ ，则由公式(F.1)得：

$$c_{\bar{c}} = \frac{\partial \Delta c}{\partial \bar{c}} = \frac{1}{c_0}$$

$$c_{c_0} = \frac{\partial \Delta c}{\partial c_0} = -\frac{\bar{c}}{c_0^2}$$

$c_{\bar{c}}$ 与 c_{c_0} 不相关，故输出量估计方差的完整表达式应为：

$$u_c^2 = c_{\bar{c}}^2 u_{\bar{c}}^2 + c_{c_0}^2 u_{c_0}^2 \quad (\text{F.2})$$

由式(F.2)可得：

$$u_c = \sqrt{c_{\bar{c}}^2 u_{\bar{c}}^2 + c_{c_0}^2 u_{c_0}^2} \quad (\text{F.3})$$

F.4 不确定度来源

不确定度来源包括：

a) 输入量 $\bar{c}$ 引入的不确定度 $u_{\bar{c}}$ ，即测量重复性引入的不确定度 $u_{\bar{c},1}$ 以及仪器分辨力

引入的不确定度 $u_{\bar{c},2}$ 。

b) 输入量 c_0 引入的不确定度 u_{c_0} ，即标准物质认定值引入的不确定度。

下面以一次分析仪校准为例具体分析其测量不确定度。对脑脊液中 $A\beta_{42}$ 标准物质重复测量 6 次的结果分别为 1.05 $\mu\text{g/L}$ 、1.12 $\mu\text{g/L}$ 、1.16 $\mu\text{g/L}$ 、1.15 $\mu\text{g/L}$ 、1.27 $\mu\text{g/L}$ 、1.31 $\mu\text{g/L}$ ；该标准物质的认定值为 1.22 $\mu\text{g/L}$ ，其相对扩展不确定度为 14.8% ($k=2$)。

G.5 标准不确定度分量计算

G.5.1 测量重复性引入的不确定度分量 $u_{\bar{c},1}$

选定一台分析仪，对脑脊液中 $A\beta_{42}$ 标准物质重复测量 10 次得到一组测量值：1.05 $\mu\text{g/L}$ 、1.12 $\mu\text{g/L}$ 、1.16 $\mu\text{g/L}$ 、1.15 $\mu\text{g/L}$ 、1.27 $\mu\text{g/L}$ 、1.31 $\mu\text{g/L}$ 、1.36 $\mu\text{g/L}$ 、1.09 $\mu\text{g/L}$ 、1.24 $\mu\text{g/L}$ 和 1.39 $\mu\text{g/L}$ 。

则单次测量结果的标准差 $s(x_i)$ ：

$$s(x_i) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = 0.117 \mu\text{g/L}$$

实际校准时在重复性条件下连续测量 3 次，以 3 次测量的算术平均值作为结果，则由测量重复性引入的标准不确定度分量为：

$$u_{\bar{c},1} = s(x_i) / \sqrt{n} = 0.0676 \mu\text{g/L}$$

F.5.2 分析仪分辨力引入的不确定度分量 $u_{\bar{c},2}$

分析仪检测该临床分析项目时的分辨力为 0.01 $\mu\text{g/L}$ ，因此由分辨力引入的不确定度分量为：

$$u_{\bar{c},2} = \frac{0.01}{2\sqrt{3}} = 0.0029 \mu\text{g/L}$$

F.5.3 由输入量 $\bar{c}$ 引入的不确定度 $u_{\bar{c}}$

$$u_{\bar{c}} = \sqrt{u_{\bar{c},1}^2 + u_{\bar{c},2}^2} = 0.0677 \mu\text{g/L}$$

F.5.4 由输入量 c_0 引入的不确定度 u_{c_0}

$$u_{c_0} = \frac{U}{k} = \frac{0.18}{2} = 0.09 \text{ } \mu\text{g/L}$$

G.6 合成标准不确定度 u_c

由式(G.3)可得：

$$u_c = \sqrt{c_{\bar{c}}^2 u_{\bar{c}}^2 + c_{c_0}^2 u_{c_0}^2} = \sqrt{\left(\frac{1}{1.22} \times 0.0677\right)^2 + \left(\frac{1.214}{1.22} \times 0.09\right)^2} = 0.092$$

G.7 扩展不确定度 U

取 $k=2$ ，则：

$$U = k \times u_c = 0.092 \times 2 = 19\%$$

参考文献

- [1] JJF 1530—2015 凝胶成像系统校准规范
- [2] JJF 1076—2020 数字式温湿度计校准规范
- [3] JJG 646—2006 移液器检定规程
- [4] YY/T 1155—2019 全自动发光免疫分析仪
- [5] ISO 17511:2020 In vitro diagnostic medical devices — Requirements for establishing metrological traceability of values assigned to calibrators, trueness control materials and human samples
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 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.
- [10] 《化学名词》（第二版），全国科学技术名词审定委员会，科学出版社，2016.