

T/GDMDMA

广东省医疗器械管理学会团体标准

T/GDMDMA 0002—2021

呼吸道病毒核酸检测用质控物 通用技术要求

General technical requirements of quality control materials for nucleic acid detection
of respiratory virus

2021 - 05 - 25 发布

2021 - 05 - 25 实施

广东省医疗器械管理学会 发 布

目 次

前 言..... II

1 范围..... 1

2 规范性引用文件..... 1

3 术语和定义..... 2

4 质控物评价要求..... 3

5 质控物评价及统计学分析方法..... 7

附录 A..... 17

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本标准由广东省医疗器械质量监督检验所提出。

本标准由广东省医疗器械管理学会归口。

本标准起草单位：广东省医疗器械质量监督检验所、广州邦德盛生物科技有限公司、广州中医药大学顺德医院。

本标准主要起草人：高旭年、徐建华、潘晓芳、李尔华、姚燕丽、吴淑贤、黄燕虹、曾俏、钟凤然。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准版权归广东省医疗器械管理学会所有。未经事先书面许可，本标准的任何部分不得以任何形式或任何手段进行复制、发行、改编、翻译、汇编或将本标准用于其他任何商业目的等。

呼吸道病毒核酸检测用质控物 通用技术要求

1 范围

本标准规定了呼吸道病毒核酸检测用质控物通用技术要求、评价指标和评价方法等。

本标准适用于呼吸道病毒核酸检测用质控物的性能评价，呼吸道病毒包括：严重急性呼吸系统综合征冠状病毒 2（SARS-CoV-2）、甲型流感病毒（IVA）、乙型流感病毒（IVB）、呼吸道合胞病毒、腺病毒（ADV）、副流感病毒、人冠状病毒等。

本标准不适用于：

- a) 微生物、免疫组化、分子病理学、形态学等检测用的质控物；
- b) 非呼吸道病毒的其它病原体微生物质控物。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 21415-2008 体外诊断医疗器械 生物样品中量的测量校准品和控制物质赋值的计量学溯源性

GB/T 37868-2019 核酸检测试剂盒溯源性技术规范

GB/T 19702-2005 体外诊断医疗器械生物源性样品中量的测量参考测量程序的说明

GB/T 19703-2005 体外诊断医疗器械物源性样本中量的测量参考物质的说明

JJF 1006-1994 一级标准物质技术规范

JJF 1343-2012 标准物质定值的通用原则及统计学原理

JJF 1645-2017 质量控制物质的内部研制

JJF 1005-2016 标准物质常用术语和定义

YY/T 1652-2019 体外诊断试剂用质控物通用技术要求

WS/T 356-2011 基质效应与互通性评估指南

中华人民共和国国务院令 第717号 《中华人民共和国人类遗传资源管理条例》

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 质控物/控制物质 control materials

被其制造商预期用于验证体外诊断医疗器械性能特征的物质、材料或物品。

[YY/T 1652-2019, 定义3.1]

3.2 标准物质(RM) reference material

一种或多种规定特性足够均匀和稳定的材料, 已被确定其符合测量过程的预期用途。

[CNAS-GL017, 定义3.1]

注1: RM是一个通用术语。

注2: 特性可以是定量或定性的(例如: 物质或物种的属性)。

注3: 用途可包括测量系统校准、测量程序评估、给其它材料赋值和质量控制。

注4: 在给定测量中一种RM只能有一种用途。

3.3 有证标准物质(CRM) certified reference material

采用计量学上有效程序测定了一个或多个规定特性值的标准物质/标准样品, 并附有证书提供规定特性值及其不确定度和计量溯源性的陈述。

[CNAS-GL017, 定义3.2]

注: 值的概念包括定性特征如属性或顺序, 该特性的不确定度可用概率来表示。

3.4 定值 characterization

作为研制(生产)程序的一部分, 确定标准物质特性值的过程。

[JJF 1005-2016, 定义3.12]

3.5 不确定度 uncertainty

根据所用到的信息, 表征赋予被测量量值分散性的非负参数。

[JJF 1005-2016, 定义4.15]

注1: 测量不确定度包括由系统影响引起的分量, 如与修正量和测量标准所赋量值有关的分量以及定义的不确定度。

有时对估计的系统影响未作修正, 而是当作不确定度分量处理。

注2: 此参数可以是诸如称为标准测量不确定度的标准偏差(或其特定倍数), 或是说明了包含概率的区间半宽度。

注3: 测量不确定度一般由若干分量组成。其中一些分量可根据一系列测量值的统计分布, 按测量不确定度的A类评定进行评定, 并可用标准偏差表征。而另一些分量则可根据基于经验或其他信息所获得的概率密度函数, 按测量不确定度的B类评定进行评定, 也用标准偏差表征。

注4: 通常, 对于一组给定的信息, 测量不确定度是相应于所赋予被测量的值的。该值的改变将导致相应的不确定度的改变。

3.6 互换性 commutability

T/!! FORMTEXT ¶ GDMDMA[⊥] !! FORMTEXT ¶ 0002[⊥] —!! FORMTEXT ¶ 2021[⊥]

标准物质的特性。将标准物质和能够代替预期测量样品类型的样品均采用不同测量程序测量，该特性由所得测量结果之间数学关系的等效性证明。

[JJF 1005-2016, 定义3.22]

3.7 基质效应 matrix effect

除被测量以外的样品特性，对特定测量程序测定被测量及其测量值的影响。

[GB/T 21415, 定义3.15]

3.8 均匀性 homogeneity

标准物质各指定部分中某个特定特性值的一致性。

[JJF 1005-2016, 定义3.14]

3.9 稳定性 stability

体外诊断医疗器械在制造商规定界限内保持其性能特性的能力。

[YY/T 1652-2019, 定义3.4]

3.10 长期稳定性 long-term stability

标准物质的特性随时间延续的稳定性。

[JJF 1005-2016, 定义3.19]

3.11 运输稳定性 transportation stability

标准物质在运输至标准物质用户的条件和时间段下的稳定性。

[JJF 1005-2016, 定义3.18]

注：运输稳定性曾常被称作“短期稳定性”。

3.12 计量溯源性 metrological traceability

通过具备证明文件的不间断的校准链，将测量结果与参照对象联系起来的测量结果的特性，校准链中的每项校准都会引入测量不确定度。

[JJF 1005-2016, 4.9]

4 质控物评价要求

进行呼吸道病毒核酸检测用质控物评价时，应使用经计量检定或校准的测量仪器进行评价。评价各项指标时，应选择不低于定值方法精密度且具有足够灵敏度的测量方法进行检验。

4.1 原材料要求

4.1.1 主要生物原料选择要求

主要原料的选择要遵循适用性、代表性和易复制性原则。呼吸道病毒质控物的主要原料包括天然材料和人工合成材料。

优先选择收集的天然材料（如临床样本），对于难以在临床或大自然中收集到的、传染风险高的样本，推荐使用人工合成的原料。

4.1.2 天然材料要求

质控物的天然原材料，需要与进行质量控制活动时，被测量的样本来源相符。呼吸道病毒核酸检测用质控物的天然生物原料包括拭子（咽、鼻、眼结膜）、痰液、组织（心、肝、肾、肌肉、睾丸、脑、脾等）、病毒培养液、粪便、血清（浆）、灌洗液（肺泡、支气管）、抽取物（鼻咽、呼吸道）等。

天然材料的获取途径、过程需符合《体外诊断试剂临床研究技术指导原则》的相关规定，并且符合《中华人民共和国人类遗传资源管理条例》（国令第717号）、生物安全及伦理委员会要求。

4.1.3 人工合成材料要求

人工合成的材料包括重组腺病毒、重组慢病毒、装甲RNA、稳定转染细胞系等。在制备时，应符合如下三点要求：

- a) 建议保留核酸序列的完整性，不推荐使用某片段基因作为制备质控物的原料；
- b) 不推荐使用质粒、DNA、RNA作为原料；
- c) 需要进行灭活处理（化学灭活、物理灭活），尽可能确保生物安全性。

4.1.4 基质选择要求

呼吸道病毒质控物的基质应和临床上取样检验的样本保持一致或尽可能接近。

基于呼吸道病毒的传染性，选择基质应符合以下几个原则：

- a) 满足与临床样本间的互换性要求；
- b) 无明显基质效应；
- c) 基质中应包含一定灭活能力的成分；
- d) 针对DNA和RNA的保存，建议分别选择合适的基质。

4.1.5 其它原辅料要求

其它原辅料如冻存管、容量瓶等直接或间接与质控物接触的材料，选用时应遵循以下几个原则：

- a) 无核酸酶（RNase/DNase）、无菌，或选择能承受高温高压，可自行去酶灭菌处理的容器；
- b) 材料对生物分子不能有吸附作用，长期保存不会造成质控物特性量值改变；
- c) 材料必须耐超低温（-80℃），能满足质控物低温保存的环境，其化学性质及物理性质不易发生改变；

- d) 容器的密封性需达到质控物生产企业的要求，质控物基质中若存在表面活性剂、易挥发物质等影响密封性的化学成分，除材料供应商应提供密封性合格报告外，质控物生产企业需对来料自行做密封性检验；
- e) 选用耐低温标签，且放置一段时间后不脱落。

4.2 分装要求

4.2.1 分装操作

分装所用的计量设备应满足精密度要求，需定期进行自我维护，经第三方校准验证并具备有效校准证书；

分装人员应接受生物安全防护培训；

分装过程须依照生物安全2级（BSL2级）或以上标准进行，分装的质控物应视作存在生物风险的样本进行操作，注意生物安全防护。

4.2.2 装量

设置的最小包装单元至少能满足一次基本测试。设置时，液体应不超过容器体积的三分之二，具体装量应在说明书、外包装、内包装上均有注明。

4.3 互换性与基质效应要求

按照 WS/T 356-2011《基质效应与互通性评估指南》的评估方法，使用两种及以上测量程序同时测定质控物和实际临床样本的同一特性量值，并通过统计学方法建立数学关系，两者间的数学关系须达到一致。

在选择临床样本做互换性与基质效应验证时，应选择不同的样本类型，并推荐加入市场上已有的有证参考物质作为检测样本一起进行验证。

4.4 均匀性要求

4.4.1 非定值质控物均匀性要求

非定值质控物的均匀性应符合生产商声称的变异系数（CV值）要求，但变异系数（CV值）不能大于市面上该病原体核酸检测试剂盒重复性声称的变异系数（CV值）。

4.4.2 定值质控物均匀性要求

定值质控物的特性量值在单元内和单元间均需要达到相对一致。使用统计学方法，进行F检验分析后，计算得出的结果应符合生产企业声称的均匀性要求。

生产企业的质控物均匀性应符合企业规定的要求，且不低于国家标准、行业标准的规定。

4.5 稳定性要求

T/!! FORMTEXT ¶ GDMDMA[⊥] !! FORMTEXT ¶ 0002[⊥] —!! FORMTEXT ¶ 2021[⊥]

生产企业的质控物稳定性，在企业声称的效期内保持稳定，选用以下其中一种方案进行验证：

a) 方案一：经典稳定性研究

随着时间推移，在相同的条件下测量同时制备的样品。此方案包括了系统的不稳定性，其研究中可能还包含中间精密度（不同时间的测量条件可能发生变化）。

b) 方案二：同步稳定性研究

将所有样品保存在同样的参考条件下（预期此条件下样品是稳定的），在不同时间将样品放置在所要求的环境条件下保存，将所有取出的样品在重复性条件下进行测试。此方案减少了多个时间点测量的离散性，同步研究通常会引入更小的不确定度。

此方案仅适用同一批次定值，不适用于单个制品。

4.6 溯源性要求

4.6.1 非定值质控物的溯源性要求

非定值质控物不进行赋值，在量值上无溯源性要求，但制备质控物的主要原料应明确来源。

对于天然材料制备的质控物，应明确材料的信息，包括获得时间、获得方式、获得地点等。天然材料中应为单一病原体，建议使用全基因组测序的方法，确定收集到的天然材料中病原体的类型。

对于人工合成材料制备的质控物，其选择的序列应能溯源至国际上公开并被广泛应用的基因序列

注：例如SARS-CoV-2病毒的重组病毒应以NCBI上公布的Genebank Code: MN908947.3作为原序列来设计质控物的序列。

所有用于制备呼吸道病毒核酸检测用质控物的主要原料，均须在进行测序并确认，再投入使用。

4.6.2 定值质控物的溯源性要求

为保证检测结果的准确性和一致性，要求校准常规方法的质控物必须溯源到可能的标准测量程序和/或可能的高一级质控物，使常规的检测系统和参考系统对患者样品的检测得到相同的检测量值。

4.7 特性量值赋值要求

各生产企业可根据自身特点设计质控物的赋值方案。

4.7.1 非定值质控物

非定值质控物不进行赋值，无赋值要求。

测值阴阳性应符合企业声称的要求，阳性非定值质控物应符合企业声称的阳性范围。

4.7.2 定值质控物

根据定值质控物的使用特点，分为单一检测系统定值质控物 and 标准物质：

- a) 单一检测系统定值质控物：指定一种检测系统对质控物进行赋值，这类型质控物仅配套指定的检测系统使用。
- b) 标准物质：无指定检测系统，可选用下列一种方法进行赋值
 - 1) 用高准确度的基准测量方法定值；
 - 2) 若存在两种以上不同原理的已知准确度的可靠赋值方法，可通过两种或多种方法进行赋值；
 - 3) 多个实验室合作赋值。

5 质控物评价及统计学分析方法

5.1 性能评价检测系统的验证

可选择以下任意一种方法进行验证：

- a) 采用市场上已有的有证标准物质，对评价性能的检测系统进行验证；
- b) 采用市场上已有并得到广泛应用的检测同一病原体的检测系统，与评价性能的检测系统进行比对验证。

5.2 性能评价方法

5.2.1 互换性

- a) 准备待评价质控物和不少于20份的临床新鲜样本，浓度在测量程序的测量区间内，并涵盖所有待评价质控物的特性量值。样本类型应包括上呼吸道标本（咽拭子、鼻拭子、鼻咽抽取物），下呼吸道标本（深咳痰液、呼吸道抽取物、支气管灌洗液、肺泡灌洗液、肺组织活检标本），血液，血清，眼结膜标本和大便标本；
- b) 待评价质控物与临床样本同时进行测定，质控物随机分布于临床样本之间。采用评估方法和比对方法分别检测，每个样品测量2次，取平均值；

注：例如评估方法为微滴式数字PCR定量法，比对方法为荧光定量PCR探针法。

- c) 将各样品重复测量的均值作图（使用不同的标记），以评估方法测得的结果为y轴，以比对方法测得的结果为x轴，作回归分析；
- d) 按照线性评估方法检查多项式回归的结果。如果数据多项式回归后不呈一级方程或二级方程，可将数据进行Log值的转换，经转换后进行多项式回归；
- e) 按照下列公式计算一级方程或二级方程的置信区间：

$$\overline{y}_{pred} \pm t(0.975, n-2) S_{y,x} \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(\bar{x}_i - \bar{x})^2}{\sum (\bar{x}_i - \bar{x})^2}} \quad (1)$$

式中：

$\overline{y_{pred}}$ ——根据回归曲线，计算出来的 x 值的 y 值；

n ——临床样本数量；

$S_{y,x}$ ——回归标准误；

$\overline{x}_i$ ——X 轴上第 i 个值（比对方法测定均值）；

$\overline{y}_i$ ——Y 轴上第 i 个值（评估方法测定均值）；

$\overline{x}$ ——所有样本比对方法测定均值的整体均值。

结果分析：

利用以上方程，将比对方法测定均值作为 X 轴，计算每个制备样本的 y 值的置信区间（一般选用 95%），如果评估方法的测定均值落在该区间内，说明该制备样本对评估方法无基质效应，表明该物质在比对方法和评估方法间具有互通性。

5.2.2 均匀性

5.2.2.1 抽样单元数

呼吸道病毒核酸检测用质控物作为均匀性好的样品，假设总体样品数为 N， $N \leq 500$ 时，抽样数量不少于 10 个；当 $N > 500$ 时，抽样数量不少于 15 个。

5.2.2.2 检测方法

随机抽取同批次的 N 个最小包装单元的样品并随机编号 1~N，在检测系统上每个包装单元分别检测 3 次。考虑测量系统随时间等因素引起的随机变异，3 次测量采用不同的顺序进行。

5.2.2.3 结果统计方法

下列两种方法中，非定值质控物建议选择方法 a)，定值质控物建议选择方法 b) 进行均匀性数据统计分析。

- a) 根据 5.2.2.1 方法抽取最小包装单元的质控物，每个样本在检测系统上测定 1 次，根据下列公式计算检测结果的平均值 ($\overline{X}_1$) 和标准差 S_1 ；另用上述取样的质控物中的 1 个样本连续检测三次或以上，计算检测结果的平均值 ($\overline{X}_2$) 和标准差 S_2 ；计算瓶间重复性 CV%；

$$\overline{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (2)$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \overline{X})^2}{n - 1}} \quad (3)$$

$$S_{\text{瓶间}} = \sqrt{S_1^2 - S_2^2} \quad (4)$$

$$CV_{\text{瓶间}}(\%) = \frac{S_{\text{瓶间}}}{\bar{X}_1} \times 100 \quad (5)$$

式中:

$\bar{X}$ ——平均值;

S ——标准差;

n ——测量次数;

x_i ——指定参数第 i 次测量值。

当 $S_1 < S_2$ 时, 令 $CV_{\text{瓶间}}(\%) = 0$ 。

- b) 采用标准差的一致性检验 (F 检验), 是比较两组数据集分散情况是否一致的方法, 即通过统计量 F 值与临界值进行比较判断两组测量数据的标准差之间是否具有显著性差异。

记录检测结果, 对检验中出现的异常值, 在未查明原因前, 不应随意剔除。按照下列几组公式, 进行结果统计。

$$SS_{\text{瓶间}} = \sum_i (x_i - \bar{x})^2 n_i \quad (6)$$

$$SS_{\text{总和}} = \sum_{ij} (x_{ij} - \bar{x})^2 \quad (7)$$

$$SS_{\text{瓶内}} = SS_{\text{总和}} - SS_{\text{瓶间}} \quad (8)$$

$$MS = \frac{SS}{v} \quad (9)$$

$$F = \frac{MS_{\text{瓶间}}}{MS_{\text{瓶内}}} \quad (10)$$

$$n_0 = \frac{1}{a-1} \left[\sum_{i=1}^a n_i - \frac{\sum_{i=1}^a n_i^2}{\sum_{i=1}^a n_i} \right] \quad (11)$$

$$v = a - 1 \quad (12)$$

$$v_2 = N - a \quad (13)$$

$$s_{bb} = \sqrt{\frac{MS_{\text{瓶间}} - MS_{\text{瓶内}}}{n_0}} \quad (14)$$

$$s_r = \sqrt{MS_{\text{瓶内}}} \quad (15)$$

$$CV_{\text{瓶间}} = \frac{s_{bb}}{\bar{x}} \quad (16)$$

式中：

SS ——方差；

v ——自由度；

MS ——均方；

F —— F 检验值；

n_0 ——有效测量次数；

a ——抽取的样品数量；

N ——测试总次数；

s_{bb} ——瓶间标准差；

s_r ——瓶内标准差；

x_i ——每个样品的测量结果；

n_i ——样品 i 重复测量次数；

x_{ij} ——样品 i 的第 j 个结果；

$\bar{x}$ ——总评均值。

结果分析：

当统计结果 $F \leq 1$ 时，以瓶内标准差 s_r 代替 s_{bb} 计算 $CV_{\text{瓶间}}$ 。

当统计结果 $F \leq 10$ 时，检验结果显示瓶间均匀性无显著性差异，可以作为质控物，同时将该不均匀性引起的不确定度作为质控物赋值不确定度的来源。并计算所有测试结果的平均值，计算结果 $CV_{\text{瓶间}}$ 。

当统计结果 $F > 10$ 时，认为瓶间均匀性较差，不宜作为质控物，同时不再计算 $CV_{\text{瓶间}}$ 。

5.2.3 稳定性

5.2.3.1 长期稳定性

a) 检测方法

在预期的效期内，在不同的时间点进行测定，每个时间点随机抽取至少2个最小包装单元，每个重复检测3次，直至超出预期效期后一定时间；

b) 结果统计方法

在不容易定义动力学机理的情况下，稳定性检验基本模型可用公式表示为：

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X \quad (17)$$

式中

β_0, β_1 ——回归系数；

X ——时间；

Y ——质控物候选物的特性值。

对于稳定的质控物， β_0 的期望值为零。

假定有 n 对 X, Y 的观测值 (X_i, Y_i) ，每个模拟直线上的 $\hat{Y}_i$ 表达式为：

$$\hat{Y}_i = \beta_0 + \beta_1 X_i \quad (18)$$

式中：

X_i ——第 i 个时间点；

$\hat{Y}_i$ ——第 i 个时间点对应的质控物候选物的特性值（拟合直线上的对应值）。

通常，由于每个时间点抽取不只一瓶样品、进行重复测量等原因，每个 X_i 会对应多个 Y_i 值；对于趋势分析来说，时间 X_i ，可以使用所有取样单元的均值。

回归参数计算如下，斜率可用下式计算：

$$\beta_1 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2} \quad (19)$$

式中：

X_i ——第 i 个时间点；

Y_i ——第 i 个时间点的观测值；

$\bar{X}$ ——所有时间点的平均值；

$\bar{Y}$ ——所有观测值的平均值。

截距的计算公式：

$$\beta_0 = \bar{Y} - \beta_1 \bar{X} \quad (20)$$

β_1 的标准偏差 $s(\beta_1)$ 由以下公式给出：

$$s(\beta_1) = \frac{s}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}} \quad (21)$$

式中：

s ——直线上每点的标准偏差，按以下公式计算：

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - \beta_0 - \beta_1 X_i)^2}{n - 2} \quad (22)$$

式中：

X_i ——第 i 个时间点；

Y_i ——第 i 个时间点的观测值；

β_0, β_1 ——回归系数；

n ——测量次数。

结果分析：

基于 β_1 的标准偏差，可用 t 检验进行以下判断：用公式 (21) 和合适的 t 因子（自由度等于 $n - 2$ ），可以检测出其显著性。即，若 $|\beta_1| < t_{0.95, n-2} \cdot s(\beta_1)$ ，则表明斜率不显著，没有观察到不稳定性。也可用 F 检验来进行显著性判断。其中自由度为 $n - 2$ ，显著水平 $P = 0.95$ （95%置信水平）的 t 因子数值见下表：

ν	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
$\alpha=0.95$	12.7	4.30	3.18	2.78	2.57	2.45	2.37	2.31	2.26	2.23	2.20

5.2.3.2 短期稳定性

包括反复冻融稳定性评价及模拟运输稳定性评价。

- 反复冻融稳定性：抽取一定量的待评价质控物，反复冻融 N 次后（ N 应根据最小包装单元及最小取样量来决定），以在长期稳定性的环境中保存的待评价质控物作为对照组，进行检测，并进行均值和标准差进行计算，最终用 t 检验分析结果；
- 模拟运输稳定性：选取三个以上不同地区，进行模拟运输，各地区不开箱 24 小时内寄回，记录往返天数，并即时测量箱内温度。同样以在长期稳定性的环境中保存的待评价质控物作为对照组，进行检测，并进行均值和标准差进行计算，最终用 t 检验分析结果。

t 检验方法公式：

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{\frac{s_1^2 + s_2^2}{n}}} \quad (23)$$

式中：

$\bar{x}_1$ ——为对照组质控物的测定均值；

$\bar{x}_2$ ——为稳定期末质控物的测定均值；

s_1 ——为对照组质控物的测定标准差；

s_2 ——为稳定期末质控物的测定标准差；

n ——为测定次数，为保证平均值和标准偏差的准确度， $n \geq 6$ 。

当 $t < t_{0.05(2n-2)}$ 时， $\bar{x}_1$ 和 $\bar{x}_2$ 之间无显著性差异。

5.2.4 溯源性

在以下五个方案中，根据实际情况选择其中一个方案做计量学溯源。

5.2.4.1

方案一：具有一级参考测量程序和一级校准品，在计量学上溯源至SI单位。

5.2.4.2

方案二：无法溯源至SI单位，但具有国际约定参考测量程序（非一级）和国际约定标准品，溯源至国际科学组织、WHO约定参考测量程序。

5.2.4.3

方案三：无法溯源至SI单位，无国际约定校准品，直接溯源至国际约定参考测量程序（非一级）。

5.2.4.4

方案四：无法溯源至SI单位，无国际约定参考测量程序（非一级），但具有国际约定校准品（非一级），溯源至国际约定的赋值方案。

5.2.4.5

方案五：既无国际约定测量程序，也无国际约定校准品，无法溯源至SI单位的，溯源至制造商选定的测量程序。

5.2.5 赋值

定值的测量方法应在理论上和实践上经检验证明是准确可靠的方法。按照实际情况，选用以下任何一种方法对产品进行赋值：

- a) 单一检测系统定值质控物

- 1) 确定好赋值的测量方法后, 根据实际测量情况, 按照5.2.4选定一种溯源方案;
- 2) 选用企业规定的测量方法, 按照自定测量方案进行赋值;
- 3) 每个样品赋值时, 测量单元不少于2个, 每个单元的测量次数不应少于2次。

b) 标准物质

按照JJF 1343-2012中提到的方法, 对此类质控物定值方法的最佳选择取决于可用的分析方法和该标准物质的基体。对于候选物的定值, 通常倾向于采用多种测量方法, 和多个实验室定值。

可选择以下任意一种方法进行定值质控物的赋值:

- 1) 单一实验室采用单一基准方法定值;
- 2) 同一实验室采用两种或更多不同原理的独立参考方法定值;
- 3) 使用一种或多种已证明准确性的方法, 由多个实验室合作定值;
- 4) 利用特定方法进行定值;
- 5) 利用一级标准物质进行比较定值(仅适用于二级标准物质)。

注: 更详细的方法描述请参考JJF 1343-2012内容。

5.2.6 不确定度评定

不确定度的合成包括均匀性、稳定性及赋值过程中产生的不确定度。其中均匀性、稳定性、定值过程测量方法引入的为A类不确定度, 定值过程基于经验或其他信息的概率分布估计的为B类不确定度。

5.2.6.1 均匀性引入的不确定度评定

均匀性引入的不确定度包括试剂盒的精密度, 仪器的精密度和人员操作所引入的不确定度。其中由均匀性产生的标准偏差为:

$$s_{bb}^2 = \frac{s_1^2 - s_2^2}{n} \quad (24)$$

式中:

n ——为组内测量次数。

所以均匀性引入的不确定度为: $u_{bb} = s_{bb}$ 。

当 $s_1^2 < s_2^2$ 时, 均匀性评估的测量方法重复性较差, 则用以下公式计算:

$$s_{bb} = u_{bb} = \sqrt{\frac{s_2^2}{n}} \cdot \sqrt[4]{\frac{2}{v_{s_2}^2}} \quad (25)$$

式中：

s_{bb} ——瓶间标准差；

u_{bb} ——瓶间不均匀性导致的不确定度分量；

s_2^2 ——瓶间均匀性评估中的测量重复性方差；

$\nu_{s_2}^2$ —— s_2^2 的自由度。

5.2.6.2 稳定性引入的不确定度评定

在稳定性判断通过之后，可根据下列公式计算稳定性引入的不确定度：

$$u_s = s(\beta_1) \cdot X \quad (26)$$

式中：

$s(\beta_1)$ ——为斜率的标准差；

X ——为给定的保存期限。

5.2.6.3 赋值引入的不确定度评定

a) 测量精密度引入的不确定度

假设赋值过程中得到 m 组实验数据，单次测量的标准差为 S_m ，通常分为下列两种情况：

情况一：单一实验室单一型号设备方法

由单一实验室采用一种(基准)方法获得的单一值及其附带的不确定度就是质控物的赋值结果。

此时，通常可认为这 m 组数据是等精度的，在剔除离群值后，可按下列公式计算总平均值 $\bar{x}$ ：

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^m \bar{x}_i}{m} \quad (27)$$

则测量精密度引入的不确定度可用下列公式计算得到：

$$u_A = s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (\bar{x}_i - \bar{x})^2}{m(m-1)}} \quad (28)$$

情况二：多个实验室和/或多个型号设备方法

应先通过平均值一致性检验各组数据之间有无系统偏差，如无系统偏差，且证明各组数据之间等精度，可参照情况一计算不确定度。若不等精度，则按加权平均法计算：

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^m W_i \bar{x}_i}{\sum_{i=1}^m W_i} \quad (29)$$

$$u_A = s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m W_i (\bar{x}_i - \bar{\bar{x}})^2}{(m-1) \sum_{i=1}^m W_i}} \quad (30)$$

$$W_i \propto \frac{1}{u_i^2} = \frac{\sqrt{n_i}}{s_i} \quad (31)$$

式中：

W_i ——为第*i*组测量的权；

n_i ——为各组数据数；

u_i ——为各组不确定度。

b) 赋值过程中其它可能影响被测量的因素：

通常情况下估计出某项影响因素的极限值 Δ ，然后根据该影响因素所服从的分布转换成标准差。

此类不确定度，通常为直接引用，可根据下列公式计算：

$$u_B = s = \frac{\Delta}{k} \quad (32)$$

式中：

k ——为包含因子。

由于大部分被测量可视为正态分布或接近正态分布，因此可假定 $k = 2$ 或 $k = 3$ 。

c) 赋值不确定度计算

赋值引入的测量不确定度按下列公式计算：

$$u_{char} = \sqrt{u_A^2 + u_B^2} \quad (33)$$

5.2.6.4 合成不确定度与扩展不确定度

在完成均匀性、稳定性、赋值引起的不确定度评定后，按照下列公式得到质控物合成不确定度：

$$u_{RM} = \sqrt{u_{char}^2 + u_{bb}^2 + u_s^2} \quad (34)$$

质控物扩展不确定度的计算：

$$U = u_{RM} \times k \quad (35)$$

式中：

k ——为扩展因子，一般情况下取2（包含概率为95%）。

附录 A

不确定度评定示例

示例：甲型流感病毒定值质控物不确定度的评定。

此定值物质测量方法采用微滴式数字 PCR 法，作为定值质控品，采用单一实验室单一测量方法进行定值并计算不确定度。

不确定度应包含两类，均匀性、稳定性、定值过程测量方法引入的为 A 类不确定度，定值过程基于经验或其他信息的概率分布估计的为 B 类不确定度。

所以不确定度概括为如下几部分：

- a) 不均匀性引起的不确定度；
- b) 在有效期内的变动所产生的不确定度；
- c) 确定标准值所引起的不确定度（包括：上级标准物质引入的不确定度、上级标物溶解稀释的不确定度分量、工作曲线的变动性和重复性）。

A.1 方案

A.1.1 不均匀性引起的不确定度评定

不均匀性引起的不确定度包括试剂盒的精密度，仪器的精密度和人员操作所引起的不确定度，为 A 类不确定度。

根据次标准物质在均匀性验证试验时所得到的数据和结果统计，根据本标准中的公式(6)~公式(14)、公式(24)计算出标准偏差 s_{bb} 。

根据本标准中的公式(24)、(25)计算均匀性引入的不确定度 u_{bb} 。

A.1.2 在有效期内的变动所产生的不确定度评定

在有效期内的变动所产生的不确定度涵盖了储存温度的变动性对标准品的影响、试剂盒稳定性引入的不确定度和人员操作引起的不确定度，为 A 类不确定度。

在产品进行稳定性考核时，对保存在 $(-20\pm 5)^\circ\text{C}$ 环境中的样本，每个月检测一次。每次检测结束后，对数据进行处理，根据本标准公式(17)~公式(22)计算其斜率、截距和不确定度。暂定产品有效期为 6 个月，则有效期 $t=6$ 个月的稳定性不确定度按照本标准公式(26)计算：

$$u_s = s(\beta_1) \cdot 6 \quad (\text{A.1})$$

式中：

$s(\beta_1)$ ——为斜率的标准差。

A.1.3 定值所引起的不确定度评定

分为下列两种

T/!! FORMTEXT ¶ GDMDMA[⊥] !! FORMTEXT ¶ 0002[⊥] —!! FORMTEXT ¶ 2021[⊥]

- a) 属于本标准 5.2.6.3 中的情况一，使用公式（27）、（28）计算定值重复精密度引入的不确定度 u_A 。
- b) 移液器影响因素引入的不确定度

根据 2 μL 移液器的检定结果，相对标准不确定度为 1.1%，按照均匀分布转化，算得 $u_B = \frac{0.011}{\sqrt{3}} = 0.7\%$

则由定值引起的不确定度按照标准中公式（33）计算得到 u_{char} 。

A.1.4 最终不确定合成

根据标准中的公式（34）、（35）合成不确定度，并计算扩展不确定度，其中 k 取 2。

A.2 检验结果

A.2.1 均匀性结果

表 A.1 方差分析

差异源	SS	MS	F	u_{bb} (copies/μL)
瓶间	2.67E+03	1.91E+02	1.229	3.44
瓶内	4.66E+03	1.55E+02		

A.2.2 稳定性结果

表 A.2 在-20℃保存 8 个月稳定性统计结果

项目	结果
斜率 (β_1)	-0.877
截距 (β_0)	1.97E+02
$s(\beta_1)$	0.982
标准不确定度 u_s (copies/μL)	11.79

A.2.3 定值结果

按狄克逊或格拉布斯从统计上剔除可疑值，计算全部的原始数据的标准偏差即为定值不确定度，即计算全部数据得到 u_A 为 11.06copies/ μL。总评均值即为样本的标准值，即本次定值结果为 2.0×10^2 copies/ μL。

A.3 结果统计

T/!! FORMTEXT ¶ GDMDMA[⊥] !! FORMTEXT ¶ 0002[⊥] —!! FORMTEXT ¶ 2021[⊥]

根据 A.2 的结果，计算得到合成不确定度及扩展不确定度如下：

项目	合成不确定度 (copies/μL)	扩展不确定度 (copies/μL)
甲型流感病毒定值质控物	20.02	40.04

不确定度表示如下：

项目	结果 (copies/μL)
扩展不确定度 U (k=2)	0.4×10^2
标准值	2.0×10^2
标准值±扩展不确定度	$(2.0 \pm 0.4) \times 10^2$

T/!! FORMTEXT ¶ GDMDMA[⊥] !! FORMTEXT ¶ 0002[⊥] —!! FORMTEXT ¶ 2021[⊥]



医课汇
公众号
专业医疗器械资讯平台
WECHAT OF
HLONGMED



hlongmed.com
医疗器械咨询服务
MEDICAL DEVICE
CONSULTING
SERVICES



医课培训平台
医疗器械任职培训
WEB TRAINING
CENTER



医械宝
医疗器械知识平台
KNOWLEDG
ECENTEROF
MEDICAL DEVICE



MDCPP.COM
医械云专业平台
KNOWLEDG
ECENTEROF MEDICAL
DEVICE