



中华人民共和国国家计量技术规范

JJF xxxx—202x

荧光定量聚合酶链反应核酸检测系统分析性能 验证和确认技术规范

Technical specification for analysis performance verification and validation
of real time quantitative polymerase chain reaction nucleic acid detection
system

（征求意见稿）

xxxx - xx - xx 发布

xxxx- xx - xx 实施

国家市场监督管理总局发布

荧光定量聚合酶链反应核酸检测系统分析性能验证和确认技术规范

JJF xxxx—202x

Technical specification for analysis performance verification and validation
of real time quantitative polymerase chain reaction nucleic acid detection
system

归口单位:全国生物计量技术委员会

主要起草单位:

参加起草单位:

本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.....	II
1 范围.....	1
2 引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 概述.....	4
4.1 荧光定量 PCR 核酸检测系统的测量原理.....	4
4.2 检测系统组成.....	4
5 验证和确认的指标.....	4
5.1 定量检测系统性能的确认和验证指标.....	4
5.2 定性检测系统性能的确认和验证指标.....	4
6 工作条件.....	4
6.1 环境条件.....	4
6.2 校准用仪器及试剂.....	5
7 确认与验证时机.....	5
7.1 确认时机.....	5
7.2 验证时机.....	5
8 确认程序.....	6
8.1 定量检测系统.....	6
8.2 定性检测系统.....	12
9 验证程序.....	13
9.1 定量检测系统.....	13
9.2 定性检测系统性能的验证.....	13
10 性能确认/验证结果表达.....	14
11 性能确认/验证时间间隔.....	14
附录 1 定量检测系统性能确认原始记录格式.....	15
附录 2 定性检测系统性能确认原始记录格式.....	20
附录 3 定量检测系统性能验证原始记录格式.....	24
附录 4 定性检测系统性能验证原始记录格式.....	26
参考文献.....	28

引言

JJF 1071《国家计量校准规范编写规则》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。主要性能指标参考了 JJF 1527《聚合酶链式反应分析仪校准规范》、WS/T 420《临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证》、WS/T 492《临床检验定量测定项目精密度与正确度性能验证》、WS/T 514《临床检验方法检出能力的确立和验证》、CNAS-GL037《临床化学定量检验程序性能验证指南》，以及 CNAS-GL039《分子诊断检验程序性能验证指南》中相关内容。

本规范包括了定性和定量检测系统的性能验证和确认两部分内容，用户可根据预期用途进行部分或全部引用。

本规范为首次发布。

荧光定量聚合酶链反应核酸检测系统分析性能验证和确认

技术规范

1 范围

本规范适用于以核酸样品为测量对象的荧光定量聚合酶链反应（以下简称PCR）核酸检测系统的分析性能验证和确认。

2 引用文件

本规范引用了下列文件：

JJF 1527 聚合酶链式反应分析仪校准规范

GB/T37871 核酸检测试剂盒质量评价技术规范

ISO9000-200 质量管理体系-基本原则和术语

WS/T 416 干扰实验指南

WS/T 420 临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证

WS/T 492 临床检验定量测定项目精密度与正确度性能验证

WS/T 505 定性测定性能评价指南

WS/T 514 临床检验方法检出能力的确立和验证

CNAS-GL037 临床化学定量检验程序性能验证指南

CNAS-GL039 分子诊断检验程序性能验证指南

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，其最新版本适用于本规范。

3 术语和定义

3.1 确认 validation

通过提供客观证据对特定的预期使用或应用要求已得到满足的认定。

[ISO9000-2005, 3.8.5]

3.2 验证 verification

通过提供客观证据对规定要求已得到满足的认定。

[ISO9000-2005, 3.8.4]

3.3 测量精密度 measurement precision

精密度

在规定条件下,对同一或类似被测对象重复测量所得示值或测得值间的一致程度。

注:

- 1 测量精密度通常用不精密程度以数字形式表示,如在规定测量条件下的标准偏差、方差或变异系数。
- 2 规定条件科研是重复性测量条件
期间精密度测量条件或复现性测量条件。
- 3 测量精密度用于定义测量重复性、期间精密度或测量复现性。
- 4 “测量精密度”不等同于“测量准确度”。

[JJF 1001, 5.10]

3.5 测量重复性 measurement repeatability

重复性 repeatability

在一组重复性测量条件下的测量精密度。

注:

以前使用“批内精密度”。

[JJF 1001, 5.13]

3.6 期间测量精密度 intermediate measurement precision

在一组期间精密度测量条件下的测量精密度。

[JJF 1001, 5.12]

3.7 测量正确度 measurement trueness, trueness of measurement

正确度 trueness

无穷多次重复测量所得量值的平均值与一个参考量值间的一致程度。

注:

- 1 测量正确度与系统测量误差有关,与随机测量误差无关。
- 2 “测量正确度”不能用“测量准确度”表示,反之亦然。

3 正确度通常以偏倚表示。

[JJF 1001, 5.9]

3.8 测量偏倚 measurement bias

偏倚 bias

系统测量误差的估计值。

[JJF 1001, 5.5]

3.9 检出限 limit of detection

由给定测量程序获得的测得值,其声称的物质成分不存在的误判概率为 β ,声称的物质成分存在的误判概率为 α 。

注:

1 国际理论和应用化学联合会(IUPAC)推荐的 α 和 β 的默认值为 0.05。

2 也被称作检测下限、最小可检测浓度(或值),缩写为 LoD。

[JJF 1001, 7.10]

3.10 定量限 limit of quantitation

给定分析程序能定量检测分析物的最小浓度或量。

[GB/T37871-2019, 3.1.11]

3.11 分析特异性 analytical specificity

一种测量程序只对其旨在测量的可测量进行确认的能力。

[GB/T37871-2019, 3.1.5]

3.12 测量系统的灵敏度 sensitivity of a measuring system 简称灵敏度 (sensitivity)

测量系统的示值变化除以相应的被测量值变化所得的商。

注:

1 测量系统的灵敏度可能与被测量的量值有关。

2 所考虑的被测量值变化必须大于测量系统的分辨力。2 所考虑的被测量值变化必须大于测量系统的分辨力。

[JJF 1001, 7.12]

4 概述

4.1 荧光定量 PCR 核酸检测系统的测量原理

荧光定量 PCR 核酸检测系统利用荧光标记物的信号积累实时监测 PCR 反应中每一个循环扩增产物的量；通过已知量值的工作标准物质建立标准曲线对核酸样品进行定量分析。针对 RNA 定量需要进行逆转录；将 RNA 逆转录为 cDNA，再进行荧光定量 PCR 检测。

4.2 检测系统组成

荧光定量 PCR 检测系统的组成包括荧光定量 PCR 检测试剂、实时荧光定量 PCR 分析仪、测量程序、自动分析软件、关键实验耗材等。该检测系统分为定量检测系统和定性检测系统。

5 验证和确认的指标

5.1 定量检测系统性能的确认和验证指标

5.1.1 确认指标

包括正确度、精密度（含测量重复性和期间精密度）、测量不确定度、分析特异性（含抗干扰能力）、灵敏度、线性范围、定量限、检出限。

5.1.2 验证指标

包括正确度、精密度（含测量重复性和期间精密度）、线性范围。

5.2 定性检测系统性能的确认和验证指标

5.2.1 确认指标

包括准确度、精密度、分析特异性、检出限。

5.2.2 验证指标

包括符合率、精密度、检出限。

6 工作条件

6.1 环境条件

6.1.1 温度：（15~30）℃；

6.1.2 相对湿度：20%~85%；

6.1.3 供电电源：电压（220±22）V，频率（50±1）Hz；

6.1.4 附近无影响仪器正常工作的电磁场及机械振动；

6.1.5 仪器接地良好；

6.1.6 仪器开机后预热时间不少于 10min。

6.2 验证或确认用仪器及试剂

6.2.1 核酸标准物质：应采用经计量行政部门批准发布的核酸标准物质，特性量值满足验证或确认需求。

6.2.2 电子天平：精度≤0.01mg，经计量检定合格。

6.2.3 移液器：规格为 10 μL、100 μL、200 μL、1000 μL。

6.2.4 配制标准物质超纯水：【电阻率不小于 18.2 MΩ·cm (25 °C)】。

7 确认与验证时机

7.1 确认时机

7.1.1 试剂厂商研发的试剂或检测系统在正式投入使用前；

7.1.2 临床实验室自建方法时；

7.1.3 实验室所使用的检测系统与试剂供应商所要求的检测系统不完全一致时；

7.1.4 任何严重影响检测系统分析性能的情况发生后，应在检测系统重新启用前对受影响的性能部分进行确认。影响检测系统分析性能的情况可包括但不限于更换设备型号、更换试剂原材料批号等。

7.2 验证时机

7.2.1 新检测系统常规应用前；

注：新检测系统也包含现用检测系统的任一要素（仪器、试剂等）变更，如试剂升级、仪器更新、校准品溯源性改变等应按照新系统来进行验证。

7.2.2 任何严重影响检测系统分析性能的情况发生后，应在检测系统重新启用前对受影响的性能部分进行验证。影响检测系统分析性能的情况可包括但不限于仪器主要部件故障、仪器搬迁、设施或环境的严重失控、试剂和关键耗材更换等；

7.2.3 常规使用期间，实验室可基于分析系统的稳定性，利用日常工作产生的检验和质控数据，定期对检验程序的分析性能进行评估，应能满足检验结果预期用途的要求。

8 确认程序

8.1 定量检测系统

8.1.1 正确度

应采用偏倚评估、回收试验、与参考方法比对等方式进行正确度确认。

8.1.1.1 偏倚评估

选择合适的核酸定量标准物质，至少包括 2 个浓度水平，代表方法可报告范围中高、低的决定性浓度。每天对每个浓度水平的标准物质重复测定 2 次或以上，连续测定 5 天，记录结果，计算全部结果的均值，并按公式（1）计算偏倚。绝对偏差不超过 0.5 个对数数量级。

$$\text{偏倚} = \text{结果均值} - \text{标准值} \quad (1)$$

8.1.1.2 回收试验

在天然样品中加入不同体积的标准溶液，标准溶液体积应少于总体积的 10%，制备至少 2 个水平的样品（样本终浓度在测量区间内）。每个样品重复测定 3 次或以上，计算结果的均值，按公式（2）计算回收率。回收率在 85%~115% 范围内确认为该检测系统可用于正常检测。

$$R = \frac{C \times (V_0 + V) - C_0 \times V_0}{V \times C_s} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中：R—回收率；

V—加入标准溶液的体积；

V_0 —基础样品的体积；

C—基础样品加入标准溶液后的测定结果的平均值；

C_0 —基础样品的测定结果；

C_s —标准溶液的浓度。

8.1.2 精密度

在重复性条件下，采用核酸标准物质（一般包括高、低两个浓度，其中之一接近决定性水平），连续测定 5 天，每天一个分析批，每批两个浓度水平，每个浓度水平重复测定 5 次。根据公式（3）~（5）计算批内标准差（ S_r ）、批间方差（ S_b^2 ）、实验室内标准差（ S_l ）。如有条件，鼓励实验室采用 6 个月甚至更长时间的测量变异来表示期间精密度。

$$s_r = \sqrt{\frac{\sum_{d=1}^D \sum_{i=1}^n (x_{di} - \bar{x}_d)^2}{D(n-1)}} \quad \dots\dots\dots (3)$$

$$s_b^2 = \frac{\sum_{d=1}^D (\bar{x}_d - \bar{\bar{x}})^2}{D-1} \quad \dots\dots\dots (4)$$

$$s_1 = \sqrt{\frac{n-1}{n} \cdot s_r^2 + s_b^2} \quad \dots\dots\dots (5)$$

式中：

D —天数；

n —每天重复次数；

x_{di} —第 d 天第 i 次重复结果；

$\bar{x}_d$ — d 天所有结果的均值；

$\bar{\bar{x}}$ —所有结果的均值；

S_r —代表测量重复性；

S_1 —代表期间精密度。

8.1.3 测量不确定度

8.1.3.1 实验室内复现性引入的测量不确定度评定

采用室内质控数据按公式 (6) ~ (8) 进行评定。

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad \dots\dots\dots (6)$$

$$u(R_w) = s(R_w) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad \dots\dots\dots (7)$$

$$u_{rel}(R_w) = RSD(R_w) = \frac{s(R_w)}{|\bar{x}|} \times 100 \quad \dots\dots\dots (8)$$

式中：

$\bar{x}$ ：平均值；

x_i ：单个测量值；

n : 测量次数;

$u(R_w)$: 实验室内测量复现性引入的测量不确定度分量;

$s(R_w)$: 实验室内测量复现性;

$RSD(R_w)$: 实验室内相对测量复现性;

$u_{rel}(R_w)$: 实验室内测量复现性引入的相对测量不确定度分量。

8.1.3.2. 偏倚引入的测量不确定度评定

有证标准物质 (CRM) 的标准值用于确定偏倚值。当评定偏倚的不确定度时, 应考虑标准值的扩展不确定度。按以下步骤计算偏倚引入的测量不确定度:

第一步: 计算测量平均值后, 分别按公式 (9) 和 (10) 计算测量平均值和 CRM 标准值间的偏倚量值和相对偏倚量值:

$$b = \bar{x} - C_{ref} \dots\dots\dots (9)$$

$$b_{rel} = \frac{|\bar{x} - C_{ref}|}{C_{ref}} \times 100 \dots\dots\dots (10)$$

式中:

$\bar{x}$: 实验室对 CRM 重复测量的平均值;

C_{ref} : 标准值。

第二步: 分别按公式 (11) 和 (12) 计算重复测量标准物质引入的测量不确定度或相对测量不确定度。

$$\frac{s(R_w)}{\sqrt{n}} = \frac{1}{\sqrt{n}} \times \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\chi_i - \bar{x})^2}{n-1}} \dots\dots\dots (11)$$

$$\frac{RSD(R_w)}{\sqrt{n}} = \frac{s(R_w)}{\sqrt{n} \times |\bar{x}|} \times 100 \dots\dots\dots (12)$$

第三步: 分别按公式 (13)、(14) 计算标准值引入的测量不确定度或相对测量不确定度。

$$u(C_{ref}) = \frac{U(C_{ref})}{k} \dots\dots\dots (13)$$

$$u_{rel}(C_{ref}) = \frac{U(C_{ref})}{k \times C_{ref}} \times 100 \dots\dots\dots (14)$$

式中：

$U(C_{ref})$ ：CRM 标准值的扩展不确定度；

k ：包含因子。

第四步：由偏倚引入的测量不确定度评定有以下 2 种情况：

第一种情况：如果按 GUM 原则，修正了偏倚，则由偏倚引入的测量不确定度按公式（15）计算。相对测量不确定度按公式（16）计算。

$$u_c(bias) = \sqrt{u^2(C_{ref}) + \frac{s^2(R_w)}{n}} \dots\dots\dots (15)$$

$$u_{c\,rel}(bias) = \sqrt{u_{rel}^2(C_{ref}) + \frac{RSD^2(R_w)}{n}} \dots\dots\dots (16)$$

第二种情况：任何对偏移量值的评定都不可避免具有不确定性，在上述情况下，偏移量值对合成不确定度会有所贡献。如不进行修正，则偏移引入的测量不确定度或相对测量不确定度分量按公式（17）和（18）计算。

$$u_c(bias) = \sqrt{u^2(C_{ref}) + \frac{s^2(R_w)}{n} + b^2} \dots\dots\dots (17)$$

$$u_{c\,rel}(bias) = \sqrt{u_{rel}^2(C_{ref}) + \frac{RSD^2(R_w)}{n} + b_{rel}^2} \dots\dots\dots (18)$$

式中：

$u_c(bias)$ ：由偏移引入的测量不确定度；

$u(C_{ref})$ ：标准值（如 CRM 标准值的扩展不确定度、PT 公认值的测量复现性等）引入的测量不确定度；

$s(R_w)$ ：实验室内测量复现性；

n ：对 CRM 重复测量次数；

b ：偏移量值；

$u_{c\,rel}(bias)$ ：偏移引入的相对测量不确定度分量；

$u_{rel}(C_{ref})$ ：标准值（如 CRM 标准值的扩展不确定度、PT 公认值的测量复现

性等)引入的相对测量不确定度;

$RSD(R_w)$: 实验室内相对测量复现性。

b_{rel} : 相对偏移量值。

如果采用的 CRM 不能代表常规样品的基质,应注意观察由不同基质引起的离散度是否包含在 $u^{(bias)}$ 或 $u_{rel}^{(bias)}$ 中。否则,测量不确定度将被低估。若偏移明显超出了测量程序的性能要求,建议应先纠正系统偏倚后按公式(19)和(20)进行计算。

8.1.3.3 合成标准不确定度 u_c 的评定

当采用“自上而下”方法计算测量阶段合成标准不确定度 u_c 时,可采用式(19)计算:

$$u_c = \sqrt{u_c^2(bias) + u^2(R_w)} \dots\dots\dots(19)$$

如果计算相对合成标准不确定度,可用式(20)计算:

$$u_{crel} = \sqrt{u_{crel}^2(bias) + u_{rel}^2(R_w)} \dots\dots\dots(20)$$

8.1.3.4 扩展不确定度 U 的评定

依据 GUM 原则,扩展不确定度 U 是由合成标准不确定度乘以包含因子得到,是使合理赋予被测量的值大部分包含于其中。在大多数情况下,包含因子 k 选择 2,相对应的置信水平约为 95%。

按式(21)计算扩展不确定度。

$$U = k \times u_c \dots\dots\dots(21)$$

式中:

U : 扩展不确定度;

k : 包含因子;

u_c : 测量全过程的合成标准不确定度。

8.1.4 分析特异性

应通过交叉反应和干扰实验进行确认。

8.1.4.1 交叉反应

交叉反应物质包括不含目标序列的核酸样品、分析物的结构类似物、具有同源性序列的核酸片段、检测范围外的型别等。应根据检测系统中包含的试剂类型选择潜在的交叉物质进行确认。

8.1.4.2 干扰实验

根据检测系统中包含的试剂类型和预期用途选择相应的干扰物质，确定干扰物质研究浓度。制备至少 2 个分析物水平（包含弱阳性水平在内）的样品，每个样品实验组和对照组均重复测试 3 次或以上。采用配对比对的方式，比较添加（实验组）与未添加（对照组）相应浓度干扰物质的样品检测结果的差异。如果差异在接受范围内，则认为该浓度的物质不产生干扰。

8.1.5 灵敏度

采用荧光定量 PCR 检测系统同批次分析二个已知浓度水平的样品，每个样品测量 3 次，3 次测定响应信号值代表该物质的响应值，两个样品的响应值差（ ΔCT ）除以样品浓度差即为检测系统的灵敏度。

8.1.6 线性范围

准备包含不同浓度的核酸标准物质，可使用已知浓度的标准物质，或进行 10 倍系列稀释得到不同浓度的标准物质样品。在 PCR 反应结束后，对产生的扩增数据进行分析，将每个样品扩增的 CT 值与标准物质浓度的对数进行线性拟合，绘制标准曲线，确定 PCR 反应检测信号与目标序列浓度之间的线性范围。通常线性范围是指标准曲线的 r^2 值大于 0.98。

8.1.7 检出限

根据 EP17A 采用 Probit 方法进行检出限的确认。将定值标准物质或已知浓度的样品梯度稀释至少 5 个浓度梯度，每个浓度重复检测 3 次，记录 3 次重复均能检出的最低浓度为 C_y 。再将 10 倍 C_y 浓度（标记为 $10C_y$ ）的样本分别稀释至浓度 $10C_y$ 、 $3.16C_y$ 、 C_y 、 $C_y/3.16$ 、 $C_y/10$ ，每个浓度重复检测 10 次，将得到的数据进行 Probit 分析，95% 阳性检出率对应的测量浓度即为检出限。

8.1.8 定量限

将定值标准物质或已知浓度的样品梯度稀释成至少 4 个不同浓度（如涉及不同样品类型，制备过程中应采用相应的阴性基质稀释），每个浓度重复检测 20

次。统计分析每个浓度水平在 20 次重复检测中的阳性检出率及定量检测结果与理论浓度对数的绝对偏差，将多次测量结果的绝对偏差不超过 0.5 个对数数量级的浓度水平作为定量限。

8.2 定性检测系统

8.2.1 准确度

采用确定的阳性和阴性样品，样品数量可根据方法预期目标确定，参照表 1 评估其准确度。将阳性样品和阴性样品进行 PCR 反应，同时检测阳性对照和阴性对照。根据扩增的荧光曲线，确定阳性样品和阴性样品中目标序列存在与否，评估 PCR 检测系统的符合性。阳性样品应该显示出典型 S 型扩增曲线，阴性样品不应该显示典型的 S 型扩增曲线。

表 1 准确度评估表

待评价系统	准确度标准		总数
	阳性	阴性	
阳性	真阳性数 (TP)	假阳性数 (FP)	TP+FP
阴性	假阴性数 (FN)	真阴性数 (TN)	FN+TN
总数	TP+FN	FP+TN	N

$$SE = \frac{TP}{TP+FN} \times 100\% \quad (22)$$

式中：

SE——敏感性；

TP——真阳性数；

FN——假阴性数。

$$SP = \frac{TN}{FP+TN} \times 100\% \quad (23)$$

式中：

SP——特异性；

TN——真阴性数；

FP——假阳性数。

8.2.2 精密度

以检测系统的复现性来确认精密度。由不同操作者进行相同样品的检测，持续 20 天，至少包含 3 个浓度水平：阴性样品、弱阳性样品和阳性样品。3 个样品测量结果的变异应不影响最终结果的判读。

8.2.3 分析特异性

参见 8.1.4

8.2.4 检出限

参见 8.1.7。

9 验证程序

9.1 定量检测系统

9.1.1 正确度

参见 8.1.1。

9.1.2 精密度

参见 8.1.2。

9.1.3 线性范围

参见 8.1.6。

9.2 定性检测系统性能的验证

9.2.1 符合率

采用确定的阴性和阳性样品，或通过与参比方法进行比较。参比方法包括但不限于 ISO15193 认可的方法、金标准方法、行业公认方法、经验证性能符合要求满足临床预期用途的方法（如通过 ISO15189 认可实验室使用的相同检测方法）。

选取阴性样品至少 5 例、阳性样品（应包含弱阳性样品）不少于 10 例。按照检测程序，采用参比方法和候选方法平行检测。将所有结果按下表汇总填表，计算符合率。

表 2 符合率验证

		参比方法		总数
		阳性	阴性	
候选方法	阳性	a	b	a+b
	阴性	c	d	c+d
总数		a+c	b+d	a+b+c+d

$$\text{阳性符合率} = a / (a+c) \times 100\% \quad (24)$$

$$\text{阴性符合率} = d / (b+d) \times 100\% \quad (25)$$

$$\text{总符合率} = (a+d) / (a+b+c+d) \times 100\% \quad (26)$$

9.2.2 精密度

参见 8.1.2。

9.2.3 检出限

使用定值标准物质，梯度稀释至厂家声称的检出限，重复测定 5 次，检测结果应 100% 为阳性。如果不能满足 5 次均为阳性，可在不同批内进行 20 次重复测定（如测定 5 天，每天测定 4 次），检测结果应至少 17 次为阳性。

10 性能确认/验证结果表达

经性能确认/验证后的 PCR 核酸检测系统，出具性能确认/验证报告，报告内需包含确认/验证的原始数据及结论，具体参见附录 1-4。

11 性能确认/验证时间间隔

在检测系统未发生重大变化时，性能确认无需再做。每年定期回顾性能参数，无重大变化时，性能验证可以用回顾性分析来替代。

附录 1 定量检测系统性能确认原始记录格式

项目：				
确认依据：				
1.检测系统概述：				
检测方法		检测日期		
检测设备				
检测试剂				
2. 性能确认指标及记录				
2.1 正确度确认				
(1) 偏倚评估				
样品	样品 A (高值)		样品 B (低值)	
天数	重复 1	重复 2	重复 1	重复 2
1				
2				
3				
4				
5				
均值				
LOG (均值)				
参考值				
LOG (参考值)				
偏倚				
(2) 回收试验				
样品	样品 1 (高值)		样品 2 (低值)	
重复 1				
重复 1				
重复 1				
均值				
R (回收率)				
确认结论：				
2.2 精密度确认				

精密度结果统计表						
	高值样品	浓度	浓度对数值	低值样品	浓度	浓度对数值
第 1 天	重复 1			重复 1		
	重复 2			重复 2		
	重复 3			重复 3		
	重复 4			重复 4		
	重复 5			重复 5		
第 2 天	重复 1			重复 1		
	重复 2			重复 2		
	重复 3			重复 3		
	重复 4			重复 4		
	重复 5			重复 5		
第 3 天	重复 1			重复 1		
	重复 2			重复 2		
	重复 3			重复 3		
	重复 4			重复 4		
	重复 5			重复 5		
第 4 天	重复 1			重复 1		
	重复 2			重复 2		
	重复 3			重复 3		
	重复 4			重复 4		
	重复 5			重复 5		
第 5 天	重复 1			重复 1		
	重复 2			重复 2		
	重复 3			重复 3		
	重复 4			重复 4		
	重复 5			重复 5		
批内标准差 (S_r)						
批间方差 (S_b^2)						
实验室内标准差 (S_l)						
批内精密度 (CV%)						
批间精密度 (CV%)						
实验室内精密度 (CV%)						

确认结论：

2.3 测量不确定度确认

实验室内复现性引入的测量不确定度评定

	样品				
	重复 1	重复 2	重复 3		重复 n
测量浓度					
测量平均值					
RSD(R_w)					
$U_{rel}(R_w)$					

偏倚引入的测量不确定度评定

样品	有证标准物质				
	重复 1	重复 2	重复 3		重复 n
测量浓度					
测量平均值					
偏倚量值 b					
相对偏倚量值 b_{rel}					
$u(R_w)$					
$u_{rel}(R_w)$					
$u(C_{ref})$ (如适用时)					
$u_{rel}(C_{ref})$ (如适用时)					
$u(bias)$ 不确定度 (如适用时)					
$u_{crel}(bias)$ 不确定度分量 (如适用时)					

合成标准不确定度 u_c 和扩展不确定度 U 的评定结果

统计量名称	数值
u_c 合成标准不确定度	
u_{crel} 相对合成标准不确定度	
包含因子 k	
U 扩展不确定度	

确认结论：

2.4 分析特异性确认

交叉反应结果统计表

交叉物质名称	样品类型	终浓度	检测结果（阳性检出次数/总检测次数）		交叉情况
			阴性样品	3×LoD 阳性样品	

干扰试验结果统计表

样本类型	样本浓度	干扰物质浓度	批次 1			批次 2			批次 3		
			Log 平均值	平均值绝对偏差	是否在接收范围	Log 平均值	平均值绝对偏差	是否在接收范围	Log 平均值	平均值绝对偏差	是否在接收范围

确认结论：

2.5 灵敏度确认

样品	样品 1（浓度 C1）	样品 2（浓度 C2）
重复 1		
重复 2		
重复 3		
C1、C2 的响应值差（ ΔCT ）		
灵敏度		

确认结论：

2.6 线性范围确认

样品梯度	梯度 1	梯度 2	梯度 3	梯度 4	梯度 5	梯度 6
重复 1						
重复 2						
重复 3						
均值						
对数值						
理论值						
线性 r^2 值						

确认结论：

2.7 检出限确认

检出限确认统计分析结果

样品浓度	检测阳性数 (n)	总数 (N)	阳性检出率 (%)

确认结论：

2.8 定量限确认

定量限的统计分析结果

样本编号	浓度	重复检测数	阳性数	阳性率	Log 值 ($\bar{X} \pm S$)	最大绝对偏差

确认结论：

3.总结

20

第 2 天-2	重复 1			
	重复 2			
第 3 天-1	重复 1			
	重复 2			
第 3 天-2	重复 1			
	重复 2			
第 4 天-1	重复 1			
	重复 2			
第 4 天-2	重复 1			
	重复 2			
第 5 天-1	重复 1			
	重复 2			
第 5 天-2	重复 1			
	重复 2			
第 6 天-1	重复 1			
	重复 2			
第 6 天-2	重复 1			
	重复 2			
第 7 天-1	重复 1			
	重复 2			
第 7 天-2	重复 1			
	重复 2			
第 8 天-1	重复 1			
	重复 2			
第 8 天-2	重复 1			
	重复 2			
第 9 天-1	重复 1			
	重复 2			
第 9 天-2	重复 1			
	重复 2			
第 10 天-1	重复 1			
	重复 2			
第 10 天-2	重复 1			
	重复 2			
第 11 天-1	重复 1			
	重复 2			
第 11 天-2	重复 1			
	重复 2			
第 12 天-1	重复 1			
	重复 2			
第 12 天-2	重复 1			
	重复 2			
第 13 天-1	重复 1			

	重复 2			
第 13 天-2	重复 1			
	重复 2			
第 14 天-1	重复 1			
	重复 2			
第 14 天-2	重复 1			
	重复 2			
第 15 天-1	重复 1			
	重复 2			
第 15 天-2	重复 1			
	重复 2			
第 16 天-1	重复 1			
	重复 2			
第 16 天-2	重复 1			
	重复 2			
第 17 天-1	重复 1			
	重复 2			
第 17 天-2	重复 1			
	重复 2			
第 18 天-1	重复 1			
	重复 2			
第 18 天-2	重复 1			
	重复 2			
第 19 天-1	重复 1			
	重复 2			
第 19 天-2	重复 1			
	重复 2			
第 20 天-1	重复 1			
	重复 2			
第 20 天-2	重复 1			
	重复 2			
批内标准差 (S_r)	/			
批间方差 (S_{b2})	/			
实验室内标准差 (S_l)	/			
批内精密度 (CV%)	/			
批间精密度 (CV%)	/			
实验室内精密度 (CV%)	/			
确认结论:				
2.3 分析特异性确认				

交叉反应结果统计表

样品名称	样品类型	终浓度	检测结果（阳性检出次数/总检测次数）		交叉情况
			阴性样本	3×LoD 阳性样本	

干扰试验结果统计表

样品类型	样品浓度	干扰物质浓度	批次 1			批次 2			批次 3		
			Log 平均值	平均值绝对偏差	是否抑制在接受范围	Log 平均值	平均值绝对偏差	是否在接受范围	Log 平均值	平均值绝对偏差	是否在接受范围

确认结论：

2.4 检出限确认

检出限确认统计分析结果

样品浓度	检测阳性数（n）	总数（N）	阳性检出率（%）

确认结论：

3.总结

附录 3 定量检测系统性能验证原始记录格式

项目：						
验证依据：						
1.检测系统概述：						
检测方法			检测日期			
检测设备						
检测试剂						
2 性能验证指标及记录						
2.1 正确度验证						
样品	A（高值）			B（低值）		
批次	重复 1	重复 2		重复 1	重复 2	
1						
2						
3						
4						
5						
均值						
LOG（均值）						
参考值						
LOG（参考值）						
偏倚						
验证结论：						
2.2 精密度验证						
精密度结果统计表						
批次	高值样品	浓度 (copies/mL)	对数值	低值样品	浓度 (copies/mL)	对数值
第一批	重复 1			重复 1		
	重复 2			重复 2		
	重复 3			重复 3		
	重复 4			重复 4		
第二批	重复 1			重复 1		
	重复 2			重复 2		
	重复 3			重复 3		
	重复 4			重复 4		
第三批	重复 1			重复 1		
	重复 2			重复 2		
	重复 3			重复 3		

	重复 4			重复 4			
第四批	重复 1			重复 1			
	重复 2			重复 2			
	重复 3			重复 3			
	重复 4			重复 4			
第五批	重复 1			重复 1			
	重复 2			重复 2			
	重复 3			重复 3			
	重复 4			重复 4			
批内标准差 (S_r)							
批间方差(S_b^2)							
实验室内标准 差(S_l)							
批内精密度 (CV%)							
批间精密度 (CV%)							
实验室内精密 度(CV%)							
验证结论:							
2.3 线性验证							
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	
重复 1							
重复 2							
重复 3							
均值							
对数值							
理论值							
偏倚							
验证结论:							
3.总结							

26

		重复 2		重复 2	
		重复 3		重复 3	
		重复 4		重复 4	
	第四批	重复 1		重复 1	
		重复 2		重复 2	
		重复 3		重复 3	
		重复 4		重复 4	
	第五批	重复 1		重复 1	
		重复 2		重复 2	
		重复 3		重复 3	
		重复 4		重复 4	
	批内标准差 (S_r)				
	批间方差 (S_b^2)				
	实验室内标准差 (S_l)				
	批内精密度 (CV%)				
	批间精密度 (CV%)				
实验室内精密度 (CV%)					
验证结论:					
2.3 检出限验证					
重复次数	检测 CT 值		阴/阳性判断		
1					
2					
3					
4					
5					
验证结论:					
3.总结					

参考文献

GUM (Guide to the Uncertainty in Measurement) ISO/IEC Guide 98-3: 2008
《测量不确定度评定与表示》

EP17-A2 Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory
Measurement Procedure; Approved Guideline – Second Edition

《CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE》 Vol. 32 No. 8

全国生物计量技术委员会