

中华人民共和国医药行业标准

YY/T 1173—2010

聚合酶链反应分析仪

Polymerase chain reaction analyzer

2010-12-27 发布

2012-06-01 实施



国家食品药品监督管理局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准是评价聚合酶链反应分析仪产品质量的依据。

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。

本标准由全国医用临床检验实验室和体外诊断系统标准化技术委员会(SAC/TC 136)提出。

本标准由全国医用临床检验实验室和体外诊断系统标准化技术委员会(SAC/TC 136)归口。

本标准起草单位:北京市医疗器械检验所、罗氏诊断产品(上海)有限公司、中山大学达安基因股份有限公司、杭州博日科技有限公司、博奥生物有限公司。

本标准主要起草人:王瑞霞、胡翔华、高旭年、杨宗兵、刘志华、刘豫。

聚合酶链反应分析仪

1 范围

本标准规定了聚合酶链反应分析仪(以下简称 PCR 仪)的术语和定义、分类和命名、要求、试验方法、标志和使用说明书、包装、运输和储存等内容。

本标准适用于对核酸样本进行扩增、检测、分析的 PCR 仪。

2 规范性引用文件

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 191 包装储运图示标志

GB 4793.1 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 第 1 部分:通用要求

GB/T 14710 医用电器环境要求及试验方法

YY/T 0466.1—2009 医疗器械 用于医疗器械标签、标记和提供信息的符号 第 1 部分:通用要求

YY 0648—2008 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 第 2-101 部分:体外诊断(IVD)医用设备的专用要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

聚合酶链反应 **polymerase chain reaction, PCR**

聚合酶链反应或多聚酶链反应是一种对特定的 DNA 或 RNA 片段在体外进行快速扩增的方法,由变性—退火—延伸三个基本反应步骤构成。

3.2

聚合酶链反应分析仪 **polymerase chain reaction analyzer, PCR analyzer**

基于 PCR(聚合酶链反应)技术原理,模拟 DNA 或 RNA 的复制过程,在模板、引物、聚合酶等存在的条件下,特异扩增已知序列,对其进行检测分析的仪器设备。

3.3

最大升温速率 **maximum heating rate**

升温过程中模块单位时间上升的最大温度度数。

3.4

平均升温速率 **mean heating rate**

升温过程中模块单位时间内上升的平均温度度数。

3.5

最大降温速率 **maximum cooling rate**

降温过程中模块单位时间下降的最大温度度数。

3.6

平均降温速率 **mean cooling rate**

降温过程中模块单位时间内下降的平均温度度数。

3.7

模块控温精度 **consistency of thermo control**

同一循环中,恒温计时开始 10 s 内到计时结束之间数据采集仪所记录的最高温度,与数据采集仪所记录的最低温度差值的一半。

3.8

温度准确度 **accuracy of thermo control**

同一循环中,恒温计时开始 10 s 内到计时结束之间,每间隔一定的时间数据采集仪所记录温度的平均值与模块设置温度差值的绝对值。

3.9

模块温度均匀性 **uniformity of thermo control**

模块对应的样本孔之间的温度一致性。

3.10

温度持续时间准确度 **duration accuracy of thermo control**

模块设定恒温时间与数据采集仪所记录恒温(符合温度显示准确度要求时即认为恒温)时间差值的绝对值。

3.11

实时荧光 PCR **real-time polymerase chain reaction PCR**

在 PCR 过程中利用荧光染料释放的荧光能量的变化直接反映出 PCR 扩增产物量的变化,荧光信号变量与扩增产物量成正比,并通过对荧光的采集和分析以达到对原始模板量进行分析的 PCR。

注:在每个循环中监测扩增产物是否可被检测。

3.12

荧光染料 **fluorochrome**

由短波长激发光激发,释放出可见光的试剂。

[YY/T 0639—2008, 定义 3.8]

示例:常见的荧光染料有 FAM、HEX、Texas Red、VIC、Cy3、ROX 等。

3.13

荧光强度检测重复性 **repeatability of fluorescent intensity**

对同一检测孔在同一荧光条件下重复荧光强度检测,其检测值的一致性。

3.14

荧光强度检测精密性 **precision of fluorescent intensity**

对多个检测孔在同一荧光条件下重复荧光强度检测,其检测值的一致性。

3.15

阈值循环数 Ct(Cp) **cycle threshold, crossing point**

实时监测扩增过程中,反应管内的荧光信号到达指数扩增时经历的循环周期数。主要的计算方式是以扩增过程前 3~15 个循环的荧光值的 10 倍标准差为阈值,当荧光值超过阈值时的循环数则为阈值循环数(Ct)。

4 分类和命名

4.1 分类

PCR 仪主要由控制系统、电源系统、温控系统、检测系统、外壳部件等部件组成。

根据控温方式可分为空气驱动循环 PCR 仪、变温金属块 PCR 仪等;根据是否对核酸定量分为普通 PCR 仪和实时荧光 PCR 仪,普通 PCR 仪可分为非梯度 PCR 仪和梯度 PCR 仪,实时荧光 PCR 仪根据采用荧光通道的多少可分为单通道荧光 PCR 仪和多通道荧光 PCR 仪。

4.2 命名

PCR 仪可根据分类不同命名为核酸扩增实时荧光检测系统、实时荧光 PCR 仪、梯度 PCR 仪等。

5 要求

5.1 温度控制

5.1.1 升温速率

应符合 a)和(或)b)的要求:

- a) 平均升温速率:从 50 °C~90 °C,应不小于 1.5 °C/s;
- b) 最大升温速率:从 50 °C~90 °C,应不小于 2.5 °C/s。

5.1.2 降温速率

应符合 a)和(或)b)的要求:

- a) 平均降温速率:从 90 °C~50 °C,应不小于 1.5 °C/s;
- b) 最大降温速率:从 90 °C~50 °C,应不小于 2.0 °C/s。

5.1.3 模块控温精度

应不大于 0.5 °C。

5.1.4 温度准确度

测定值与设置温度差值绝对值应不大于 0.5 °C。

5.1.5 模块温度均匀性

温度差值应在 ± 1 °C 范围内。

5.1.6 温度持续时间准确度

温度持续时间与编制温度时间的相对偏差在 $\pm 5\%$ 范围内。

5.2 荧光强度检测

5.2.1 荧光强度检测重复性

用高、中、低浓度每种校准染料重复检测,其变异系数(CV,%)应不大于 3%。

5.2.2 荧光强度检测精密度

在仪器测定范围内,随机选取 $m(m \geq 10)$ 个检测孔,用高、中、低浓度每种校准染料进行检测,其变异系数(CV,%)应不大于 5%。

5.3 不同通道荧光干扰

其他通道荧光检测强度不高于目标通道荧光阈值。

5.4 样本检测重复性

对高、中、低浓度核酸样本进行检测，Ct 值(或浓度对数值)的 CV 应不大于 3%。

5.5 线性

5.5.1 样本线性

对系列稀释梯度浓度的样本(至少 5 个梯度)进行检测，各浓度 Ct 值与浓度对数值的线性回归系数 r 绝对值应不低于 0.980。

5.5.2 荧光线性

对系列稀释荧光染料物质的样本(至少 5 个梯度)进行检测，各浓度荧光测定值与稀释比例的线性回归系数 r 应不低于 0.990。

5.6 外观

外观应满足以下要求：

- a) 面板上图形符号和文字应准确、清晰、均匀、不得有划痕；
- b) 紧固件连接应牢固可靠，不得有松动；
- c) 运动部件应平稳，不应卡住、突跳及显著空回，键组回跳应灵活。

5.7 电气安全试验

应符合 GB 4793.1 及 YY 0648—2008 中适用条款的要求。

5.8 环境试验

应符合 GB/T 14710 中适用条款的要求。

6 试验方法

6.1 正常工作条件

6.1.1 电源电压：220 V \pm 22 V，50 Hz \pm 1 Hz。

6.1.2 环境温度：15℃ \sim 30℃。

6.1.3 相对湿度：20% \sim 85%。

6.1.4 大气压力：85.0 kPa \sim 106.0 kPa。

6.1.5 使用 PCR 仪适用的试剂盒、校准品及质控物质。

6.1.6 试验之前应按照生产企业的建议对仪器进行校准。

6.1.7 PCR 仪开机后调整，预热 30 min 后进行试验。

6.1.8 使用的测温工具精度不低于 0.01℃。

注：6.1.1 \sim 6.1.4 与生产企业标称的产品规格不一致时，以产品规格为准。

6.2 温度控制

6.2.1 升温速率

6.2.1.1 测温程序编辑

根据生产企业提供的操作方法，编辑并运行一个在 45℃(恒温 2 min)和 95℃(恒温 2 min)之间循

环的文件。将温度传感器的感温头外涂上适量导热介质(例:矿物油或导热硅脂等),放入模块的测试孔(该孔应尽量靠近仪器内部传感器)中,另一端连接数据采集仪。开启数据采集仪,确认仪器工作正常,运行编辑的文件,用数据采集仪记录仪器显示温度到达设定温度,恒温 10 s 后至恒温结束这段时间内的温度变化。

6.2.1.2 平均升温速率

取 $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 范围内一温度点,温度记为 T_A ,取 $90\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 范围内一温度点,温度记为 T_B ,从 T_A 到达 T_B 的时间记为 t ,按照公式(1)计算平均升温速率,结果应符合 5.1.1a) 的要求。

$$V_{\text{升M}} = \frac{T_B - T_A}{t} \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- $V_{\text{升M}}$ ——平均升温速率;
- T_B —— $90\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 范围内任一温度点;
- T_A —— $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 范围内任一温度点;
- t ——从 T_A 到达 T_B 的时间。

6.2.1.3 最大升温速率

设置温度采集时间间隔为 Δt , $\Delta t \leq 1\text{ s}$ 并尽可能足够小,扫描温度从 $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 升至 $90\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 过程中的瞬时最大温度变化(ΔT_{max}),按照公式(2)计算最大升温速率,结果应符合 5.1.1b) 的要求。

$$V_{\text{升max}} = \frac{\Delta T_{\text{max}}}{\Delta t} \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

- $V_{\text{升max}}$ ——最大升温速率;
- ΔT_{max} ——温度从 $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 升至 $90\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 过程中的瞬时最大温度变化;
- Δt ——温度采集时间间隔。

6.2.2 降温速率

6.2.2.1 测温程序的编辑

根据生产企业提供的操作方法,编辑并运行一个在 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ (恒温 2 min) 和 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ (恒温 2 min) 之间循环的文件。将温度传感器的感温头外涂上适量导热介质(例:矿物油或导热硅脂等),放入模块的测试孔(该孔应尽量靠近仪器内部传感器)中,另一端连接数据采集仪。开启数据采集仪,确认仪器工作正常,运行编辑的文件,用数据采集仪记录仪器显示温度到达设定温度,恒温 10 s 后至恒温结束这段时间内的温度变化。

6.2.2.2 平均降温速率

取 $90\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 范围内一温度点,温度记为 T_A ,取 $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 范围内一温度点,温度记为 T_B ,从 T_A 到达 T_B 的时间记为 t ,按照公式(3)计算平均降温速率,结果应符合 5.1.2a) 的相关要求。

$$V_{\text{降M}} = \frac{T_B - T_A}{t} \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中:

- $V_{\text{降M}}$ ——平均降温速率;
- T_B —— $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 范围内任一温度点;

- T_A —— 90℃±0.5℃范围内任一温度点；
- t —— 从 T_A 到达 T_B 的时间。

6.2.2.3 最大降温速率

设置温度采集时间间隔为 Δt , $\Delta t \leq 1$ s 并尽可能足够小, 扫描温度从 90℃±0.5℃降至 50℃±0.5℃过程中的瞬时最大温度变化(ΔT_{\max}), 按照公式(4)计算最大降温速率, 结果应符合 5.1.2b) 的相关要求。

$$V_{\text{降max}} = \frac{\Delta T_{\max}}{\Delta t} \dots\dots\dots (4)$$

式中:

- $V_{\text{降max}}$ —— 最大降温速率;
- ΔT_{\max} —— 温度从 90℃±0.5℃降至 50℃±0.5℃过程中的瞬时最大温度变化;
- Δt —— 温度采集时间间隔。

6.2.3 模块控温精度

根据生产企业提供的操作方法, 编辑并运行一个温度循环文件, 在 55℃±5℃、72℃±5℃、95℃±5℃范围内各取一个温度点, 设置恒温 2 min, 循环次数为 5 次。将温度传感器的感温头外涂上适量导热介质(例: 矿物油或导热硅脂等), 放入模块的测试孔(该孔应尽量靠近仪器内部传感器)中, 另一端连接数据采集仪。开启数据采集仪, 确认仪器工作正常, 运行编辑的文件, 显示温度到达设定温度, 恒温 10 s 后, 计时 30 s, 记录最高温度和最低温度, 二者的差值的一半为 ΔT_i 。连续记录 5 个循环, $\Delta T_i (i=1, 2 \dots 5)$ 的最大值应符合 5.1.3 的要求。

6.2.4 温度准确度

根据生产企业提供的操作方法, 编辑并运行一个温度循环文件, 在 55℃±5℃、72℃±5℃、95℃±5℃范围内各取一个温度点, 设置恒温 2 min。将温度传感器的感温头外涂上适量导热介质(例: 矿物油或导热硅脂等), 放入模块的测试孔(该孔应尽量靠近仪器内部传感器)中, 另一端连接数据采集仪。开启数据采集仪, 确认仪器工作正常, 运行编辑的文件, 显示温度到达设定温度恒温 10 s 后, 计时 60 s, 每 10 s 记录一次温度为 $T_i (i=1, 2 \dots 6)$, 其平均值 T_m 与设定温度的差值应符合 5.1.4 的要求。

6.2.5 模块温度均匀性

根据生产企业提供的操作方法, 编辑并运行一个温度循环文件, 在 55℃±5℃、72℃±5℃、95℃±5℃范围内各取一个温度点, 设置恒温 2 min, 循环次数为 5 次。将温度传感器的感温头外涂上适量导热介质(例: 矿物油或导热硅脂等), 放入模块的测试孔(该孔应尽量靠近仪器内部传感器)中, 另一端连接数据采集仪。开启数据采集仪, 确认仪器工作正常, 运行编辑的文件, 显示温度到达设定温度恒温 10 s 后, 计时 60 s, 记录温度为 $T_i (i=1, 2 \dots n)$, 在模块上随机或均匀选取 $n (n \geq 6)$ 个孔位, 取 T_i 最大值与最小值, 计算各孔位的温度差值 ΔT , 结果应符合 5.1.5 的要求。

6.2.6 温度持续时间准确度

根据生产企业提供的操作方法, 编辑并运行一个在 45℃(恒温时间记为 $t, t \geq 60$ s) 和 95℃(恒温时间记为 $t, t \geq 60$ s) 之间循环的文件。将温度传感器的感温头外涂上适量导热介质(例: 矿物油或导热硅脂等), 放入模块的测试孔(该孔应尽量靠近仪器内部传感器)中, 另一端连接数据采集仪。开启数据采集仪, 确认仪器工作正常, 运行编辑的文件, 以 95℃±0.5℃为计时参考点, 自显示温度首次到达计时参考点, 计时开始, 至末次到达计时参考点结束, 记录时间为 $t_i (i=1, 2 \dots 5)$, 连续记录 5 个循环, 按公式

(5)计算相对偏差,应符合 5.1.6 的要求。

$$\text{相对偏差} = (t_m - t) / t \times 100\% \quad \dots\dots\dots (5)$$

式中:

t_m —— 5 个循环记录时间的平均值;

t —— 编制的恒温时间。

6.3 荧光强度检测

6.3.1 荧光强度检测重复性

在仪器测定范围内,随机选取 $n(n \geq 1)$ 个通道,分别配制各通道的校准荧光染料溶液进行检测,高、中、低浓度每种校准染料各随机选择 1 个检测孔,重复检测 10 次,光学系统收集目标通道的数据。分别计算各浓度校准染料测量结果的平均值 M 和标准差 SD ,根据公式(6)得出变异系数 CV ,结果均应符合 5.2.1 的要求。

$$CV = SD / M \times 100\% \quad \dots\dots\dots (6)$$

式中:

CV —— 变异系数;

SD —— 标准差;

M —— 测量结果的平均值。

6.3.2 荧光强度检测精密度

在仪器测定范围内,随机选取 $n(n \geq 1)$ 个通道,随机选取 $m(m \geq 10)$ 个检测孔。分别配制各通道的校准荧光染料溶液进行检测,高、中、低浓度每种校准染料检测 1 次,光学系统收集目标通道的数据。分别计算各浓度校准染料测量结果的平均值 M 和标准差 SD ,根据公式(9)得出变异系数 CV ,结果均应符合 5.2.2 的要求。

6.4 不同通道荧光干扰

6.4.1 随机选取 $n(n \geq 2)$ 个通道进行检测,分别配制非目标通道的荧光染料溶液,光学系统收集所有通道的数据,结果应符合 5.3 的要求。

6.4.2 软件具有通道荧光串扰修正功能或颜色补偿功能的,在修正后或补偿后,结果应符合 5.3 的要求。

6.5 样本检测重复性

选用生产企业规定的试剂盒对高、中、低浓度核酸样本进行检测,每一浓度重复检测 10 孔,计算其 C_t 值(或浓度对数值)的平均值 M 和标准差 SD ,根据公式(10)得出变异系数 CV ,结果均应符合 5.4 的要求。

6.6 线性

6.6.1 样本线性

将已知浓度核酸样本按照 10 倍或 5 倍数梯度稀释后(至少稀释 5 个梯度),按测试项目选用对应的试剂进行检测,每一浓度梯度平行测试 3 孔,取 C_t 均值与浓度对数值均值计算线性相关系数 r ,结果应符合 5.5.1 的要求。

6.6.2 荧光线性

将已知浓度标准荧光染料梯度稀释后(至少稀释 5 个梯度),每一浓度梯度平行测试 3 孔,取稀释比

例与荧光测定均值计算线性相关系数 r , 结果应符合 5.5.2 的要求。

6.7 外观

目视检查, 应符合 5.6 的规定。

6.8 电气安全试验

按照 GB 4793.1 和 YY 0648—2008 标准规定的方法进行测试, 结果应符合 5.7 的规定。

6.9 环境试验

按照 GB/T 14710 规定的方法进行测试, 结果应符合 5.8 的规定。

7 标识、标签和使用说明书

7.1 概述

标识、标签和使用说明书文字内容必须使用中文, 可以附加其他文种。中文的使用应当符合国家通用的语言文字规范。说明书、标签和包装标识的文字、符号、图形、表格、数字、照片、图片等应当准确、清晰、规范。标识和使用说明书中所使用的符号还需满足 YY/T 0466.1—2009 的要求。

7.2 仪器标识、标签

应至少有下列标识、标签:

- a) 产品名称、型号;
- b) 生产企业名称、地址;
- c) 电源连接条件、输入功率;
- d) 制造日期或者批(编)号。

7.3 包装箱标识、标签

应至少有下列标识、标签:

- a) 产品名称、型号、规格;
- b) 生产企业名称、地址;
- c) 外部尺寸: $L \times B \times H(\text{mm})$;
- d) 毛重或净重(kg);
- e) 有“向上”、“易碎物品”、“怕雨”等按 GB/T 191 规定的储运图示标志;
- f) 贮运条件。

7.4 使用说明书

应至少包括以下内容:

- a) 产品名称、型号、规格;
- b) 生产企业名称、注册地址、生产地址、联系方式及售后服务单位;
- c) 结构特征和工作原理;
- d) 基本参数和性能指标;
- e) 安装和使用说明或者图示;
- f) 使用方法;
- g) 注意事项以及其他需要警示或者提示的内容;

- h) 简单故障排除方法；
- i) 医疗器械标签所用的图形、符号、缩写等内容的解释；
- j) 产品维护和保养方法，特殊储存条件、方法；
- k) 产品标准中规定的应当在说明书中标明的其他内容。

8 包装、运输和贮存

8.1 包装

8.1.1 每台 PCR 仪应有外包装，并能防潮、防震。

8.1.2 随同 PCR 仪的文件

至少应包括：

- a) 检验合格证；
- b) 装箱清单；
- c) 产品使用说明书。

8.1.3 检验合格证

应至少包括以下内容：

- a) 产品的名称、型号；
- b) 生产企业的名称、地址；
- c) 检验员代号；
- d) 检验日期。

8.2 运输

PCR 仪在包装状态下，按订货合同的要求进行运输，在运输过程中必须防止受到剧烈冲击、雨淋和曝晒。

8.3 贮存

经包装后的 PCR 仪应储存在 $-20^{\circ}\text{C}\sim 55^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度不超过 85%，无腐蚀性气体和通风良好的环境中。

参 考 文 献

- [1] YY/T 0316 医疗器械 风险管理对医疗器械的应用
- [2] MM3-P2 Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases; Proposed Guideline—Second Edition, CLSI, 2005
-

中华人民共和国医药
行业标准
聚合酶链反应分析仪
YY/T 1173—2010

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100013)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235

读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 21 千字
2012年2月第一版 2012年2月第一次印刷

*

书号: 155066·2-22836 定价 18.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



YY/T 1173-2010