

ICS

C

# 团 体 标 准

T/GMDMA XXXX—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

(征求意见稿)

20XX - XX - XX 发布

20XX - XX - XX 实施

广东省医疗器械管理学会 发布



# 目 录

1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 质控物评价要求.....	3
4.1 原材料.....	3
4.2 分装要求.....	4
4.3 互换性与基质效应要求.....	5
4.4 均匀性要求.....	5
4.5 稳定性要求.....	5
4.6 溯源性要求.....	5
4.7 特性量值赋值要求.....	6
5 质控物评价及统计学分析方法.....	6
5.1 性能评价检测系统的验证.....	6
5.2 性能评价方法.....	6
5.2.1 互换性.....	6
5.2.2 均匀性.....	7
5.2.3 稳定性.....	9
5.2.4 溯源性.....	11
5.2.5 赋值.....	12
5.2.6 不确定度评定.....	12

## 前 言

本标准编写格式遵循了 GB/T 1.1-2009 给出的规则编写。

本标准由×××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：

本标准主要起草人：

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，呼吸道病毒包括但不限于：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) 用于微生物、免疫组化、分子病理学、形态学等检测用的质控物；
- b) 非呼吸道病毒的其他病原体微生物质控物；
- c) 性状为干粉或固体状的质控物。

## 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 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

GBT 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

GBT19702-2005 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

GBT 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

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

#### 质控物 (control materials)

用于体外诊断的质量控制物质(定值和非定值)，是一种旨在用于医学用途的检测系统中使用的物质、材料、物品或设备，其目的是评价或验证测量精密度、测量准确度、由于试剂或分析仪器的变化检测系

统可能产生的分析偏差等性能特征。质量控制物质(定值和非定值),可用于能力验证、实验室内质量控制。

### 3.2

#### 标准物质(reference material, RM)

具有一种或多种足够均匀和很好确定了特性值,用以校准设备,评价测量方法或给材料赋值的一种材料或物质。

### 3.3

#### 有证标准物质(certified reference material, CRM)

附有证书的标准物质,其一种或多种特性值用建立了溯源性的程序确定,使之可溯源到准确复现的用于表示该特性值的计量单位,而且每一种认定的特性量值都附有给定置信水平的不确定度。

### 3.4

#### 定值 characterization

与标准物质预期用途有关的一个或多个物理、化学、生物或工程技术等方面的特性量值的测定。

### 3.5

#### 不确定度 characterization

与标准物质预期用途有关的一个或多个物理、化学、生物或工程技术等方面的特性量值的测定。

### 3.6

#### 互换性 commutability

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。

[ISO Guide 30 2.1.20]

### 3.7

#### 基质效应 matrix effect

除被测量以外,样品特性对特定测量程序测定被测量及其量值的影响。

[GB/T 21415 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。

### 3.9

#### 稳定性 stability

指定条件下储存时，标准物质在规定时间内保持特性值在一定限度内的特性。

#### 3.9.1

##### 长期稳定性 stability

标准物质的特性随时间延续的稳定性。

#### 3.9.2

##### 运输稳定性 transportation stability

标准物质在运输至用户的条件和时间段下的稳定性。常被称作“短期稳定性”

### 3.10

#### 溯源性 traceability

通过规定一条规定不确定度的不间断的比较链，使测量结果或测量标准的值能够与规定的参考标准联系起来特性。通常与国家测量标准或国际测量标准比较。

## 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和具有足够灵敏度的测量方法进行检验。

### 4.1 原材料

#### 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。

选择原料时应结合质控物使用时测量程序来考虑，质控物应参与到测量整个过程中。所以优选收集的天然材料（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，则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但不限于拭子（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）。

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，并且符合生物安全和伦理委员会要求。

#### 4.1.3 人工合成材料要求

人工合成的材料包括但不限于重组腺病毒、重组慢病毒、装甲RNA、稳定转染细胞系等等。在制备时，应符合如下几点要求：

- ① 宜保留核酸序列的完整性，不宜使用某片段基因作为制备质控物的原料；
- ② 不宜使用质粒、DNA、RNA 作为原料，其制备成质控物后，无法参与整个检测过程的质量控制，且质粒容易造成气溶胶污染；
- ③ 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。例如严重急性呼吸系统综合征冠状病毒2（SARS-CoV-2）质控物的基质，宜选用临床上样本采集管中的样本保存液作为质控物的基质。

基于呼吸道病毒的传染性，选择基质应符合以下几个原则：

- （1）满足与临床样本间的互换性要求；
- （2）无明显基质效应；
- （3）基质中应包含一定灭活能力的成分，如：胍盐；
- （4）针对DNA和RNA的保存，应分别选择合适的基质。

DNA类质控物宜保存于中性偏碱的环境中，RNA类质控物宜保存于中性偏碱的环境中。

#### 4.1.5 其它原辅料要求

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

- （1）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；
- （2）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；
- （3）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发生改变；
- （4）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（如：曲拉通X-100、无水乙醇、碳酸氢根化合物等），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。

### 4.2 分装要求

#### 4.2.1 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 $\frac{2}{3}$ ，具体装量应在说明书、外包装、内包装上均有注明。

#### 4.2.2 分装操作

分装所用的计量设备应满足精度要求，定期进行自我维护，及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。

### 4.3 互换性与基质效应要求

使用两种及以上测量程序同时测定质控物 and 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，并适当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CV值要求，但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不低于国家标准、行业标准的规定，若无也应符合企业规定的要求。

### 4.5 稳定性要求

生产企业的质控物稳定性，在企业声称的效期内保持稳定，选用一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），所以会引起相对较高的不确定度。

#### 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，故而同步研究通常会引入更小的不确定度。

此方案仅适用批定值，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，包括但不限于获得时间、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，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目的序列。

所有用于制备呼吸道病毒核酸检测用质控物的主要原料，均须在进行测序并通过后，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。

##### 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和第三方定值质控物（即有证标准物质）：

（1）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。

（2）第三方定值质控物（有证标准物质）：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可靠的赋值方法，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

可选择以下一种方法进行验证：

- （1）采用市场上已有的同一病原体类型的有证质控物，对评价性能的检测系统进行验证。
- （2）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

（1）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，眼结膜标本和答辩标本。

（2）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。

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。

（3）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，作为回归分析。

（4）按照 EP6（定量测定方法的线性评估）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，经准换后进行多项式回归。

(5) 按照下列公式计算一级方程或二级方程的置信区间：

$$\overline{y_{pred}} \pm t(0.975, n-2) S_{y,x} \sqrt{\left[ \frac{(\overline{x_i} - \overline{x})^2}{\sum (\overline{x_i} - \overline{x})^2} + 1 + \frac{1}{n} \right]}$$

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，计算公式为：

$\overline{x_i}$ —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。

(6) 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液体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（1），定值质控物建议选择方法（2）进行均匀性数据统计分析。

(1) 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%。

$$\overline{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

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

$$S_{\text{瓶间}} = \sqrt{S_1^2 - S_2^2}$$

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

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

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。

(2) 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。

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

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

$$SS_{\text{瓶内}} = SS_{\text{总和}} - SS_{\text{瓶间}}$$

$$MS = \frac{SS}{v}$$

$$F = \frac{MS_{\text{瓶间}}}{MS_{\text{瓶内}}}$$

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

$$v = a - 1$$

$$v_2 = N - a$$

$$s_{bb} = \sqrt{\frac{MS_{\text{瓶间}} - MS_{\text{瓶内}}}{n_0}}$$

$$s_r = \sqrt{MS_{\text{瓶内}}}$$

$$CV_{\text{瓶间}} = \frac{s_{bb}}{\bar{x}}$$

式中：

$SS$ ——方差； $\nu$ ——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

##### (1) 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。

##### (2) 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：

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X$$

式中：

$\beta_0, \beta_1$ ——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， $\beta_0$  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  $\hat{Y}_i$  的表达式为：

$$\hat{Y}_i = \beta_0 + \beta_1 X_i$$

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 会对应多个 值；对于趋势

分析来说，时间  $t$ ，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：

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

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。

截距由下式计算： $\beta_0 = \bar{Y} - \beta_1 \bar{X}$

$\beta_1$  的标准偏差  $s(\beta_1)$  由以下公式给出：

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

式中：

$S$ ——直线上每点的标准偏差，按以下公式计算：

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

式中：

$X_i$ ——第  $i$  个时间点； $Y_i$ ——第  $i$  个时间点的观测值； $\beta_0, \beta_1$ ——回归系数； $n$ ——测量次数。

### (3) 结果分析

基于  $\beta_1$  的标准偏差，可用  $t$ -检验进行以下判断：用公式  $s(\beta_1) = \frac{s}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}}$  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：

$\nu$	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。

(1) 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。

(2) 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：

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

$\bar{x}_1$  - 为新开封/复溶质控物的测定均值；

$\bar{x}_2$  - 为开瓶/复溶稳定期末质控物的测定均值；

$s_1$  - 为新/复溶质控物的测定标准差；

$s_2$  - 为开瓶/复溶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。应先研究测量方法、测量过程和样品处理过程所固有和系统误差和随机误差，如溶解、消化、分离、富集等过程中被测样品的沾污和损失，测量过程中的基体效应等，对测量仪器要定期进行校准，以保证测量结果的溯源性。

## 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，定制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：

$$s_{bb}^2 = \frac{s_1^2 - s_2^2}{n}$$

所以均匀性引入的不确定度为： $u_{bb} = s_{bb}$

其中，n为组内测量次数。

## 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：

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

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

## (1) 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  $S_m$ ，实验数据在剔除离群值后，可按下列公式计算总平均值  $\bar{x}$ ：

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^m \bar{x}_i}{m}$$

则测量精密度引入的不确定度可用下列公式计算得到：

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

(2) 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  $\Delta$ ，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：

$$u_B = s = \frac{\Delta}{k}$$

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  $3$ 。

(3) 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：

$$u_{char} = \sqrt{u_A^2 + u_B^2}$$

#### 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：

$$u_{RM} = \sqrt{u_{char}^2 + u_{bb}^2 + u_s^2}$$

质控物扩展不确定度的计算：

$$U = u_{RM} \times k$$

式中， $k$  为扩展因子，一般情况下取  $2$ （包含概率为  $95\%$ ）。