



中华人民共和国国家计量检定规程

JJG 861—2007

酶标分析仪

ELISA Analytical Instruments

2007-11-21 发布

2008-05-21 实施

国家质量监督检验检疫总局 发布

酶标分析仪检定规程

Verification Regulation of

ELISA Analytical Instruments

JJG 861—2007
代替 JJG 861—1994

本规程经国家质量监督检验检疫总局于 2007 年 11 月 21 日批准，并自 2008 年 5 月 21 日起施行。

归口单位：全国物理化学计量技术委员会

起草单位：中国计量科学研究院

参加起草单位：吉林省计量科学研究院

本规程委托全国物理化学计量技术委员会负责解释

本规程主要起草人：

谢宝民（中国计量科学研究院）

参加起草人：

屈媛玉（吉林省计量科学研究院）

目 录

1 范围	(1)
2 概述	(1)
3 计量性能要求	(1)
4 通用技术要求	(1)
4.1 外观与初步检查	(1)
4.2 绝缘电阻	(2)
5 计量器具控制	(2)
5.1 检定条件	(2)
5.2 检定项目	(3)
5.3 检定方法	(3)
5.4 检定结果的处理	(5)
5.5 检定周期	(5)
附录 A 酶标仪灵敏度溶液标准物质制备方法	(6)
附录 B 检定记录格式	(7)
附录 C 检定证书内页格式	(9)

酶标分析仪检定规程

1 范围

本规程适用于酶标分析仪的首次检定、后续检定和使用中检验。酶标分析仪型式评价和样机试验中有关计量性能试验可参照执行。

2 概述

酶标分析仪（以下简称仪器）是依据酶标记的免疫复合物与酶的相应底物能够产生显色反应，显色程度与被检测样品中待测抗体（或抗原）的含量相关，根据显色物吸光度值确定待测物质含量，不同待测显色物质有其各自的特征吸收谱线，并遵守郎伯-比尔（Lambert-Beer）定律，对待测物质进行定量分析的仪器。Lambert-Beer 定律的表达式如下：

$$A = -\lg T = abc$$

式中：A——物质的吸光度；

T——物质的透射比；

a——物质的吸光系数；

b——光路长度；

c——物质的浓度。

仪器主要由光源系统、单色器系统、样品室、检测器等组成。

仪器类别：

I——单波长/双波长、多通道；

II——单波长、单通道；

III——波长连续可调式、单通道/多通道。

3 计量性能要求

仪器的计量性能要求如表 1 所示。

表 1 仪器计量性能要求

仪器类别	示值稳定性	波长示值误差/nm	波长重复性/nm	吸光度示值误差	吸光度重复性/%	灵敏度 / (L/mg)	通道差异
I	±0.005	±3	±1.5	±0.03	1.0	≥0.01	0.03
II	±0.005	±3	±1.5	±0.03	1.0	≥0.01	—
III	±0.005	±3	±1.5	±0.03	1.0	≥0.01	0.03

4 通用技术要求

4.1 外观与初步检查

- 4.1.1 仪器应有下列标志：名称、型号、编号、制造厂名、出厂日期。
- 4.1.2 仪器应平稳置于水平无震动的工作台上。各调节旋钮、按键和开关均能正常工作。电缆线的接插件应接触良好。
- 4.1.3 样品室应密封良好，无漏光现象。
- 4.1.4 指示器应正常工作，数字显示清晰、完整。
- 4.1.5 运动部分应平稳，不应有卡滞、突跳及显著的空回。
- 4.2 绝缘电阻

仪器在不接地的状态下，试验电压 500 V 时，电源进线与壳体之间的绝缘电阻不小于 20 M Ω 。

5 计量器具控制

计量器具控制包括首次检定、后续检定和使用中检验。

5.1 检定条件

5.1.1 环境条件

仪器检定时环境条件要求如表 2 所示。

表 2 环境条件要求

温度	(15~35)℃	湿度	15%~85%RH
电压	(220±22)V	频率	(50±1)Hz
光线	无强光直射	振动	无振动干扰
噪声	无噪声干扰	磁场	无磁场干扰
电场	无电场干扰		

检定时不得有强气流影响，周围不应有易燃、易爆和腐蚀性气体。

5.1.2 检定设备

仪器检定用设备如表 3 所示。

表 3 仪器检定用设备

序号	名称	规格和技术指标
1	交流电压表	万用表 (4 位半数字)
2	频率表	(45~65)Hz, 0.5 级
3	兆欧表	试验电压 500 V, 1.0 级
4	微孔酶标板	96 孔
5	分光光度计	波长示值误差优于 ±0.5 nm

5.1.3 标准物质

5.1.3.1 标准干涉滤光片

有证标准物质证书中峰值波长标称值为 (405, 450, 492 (或 490), 620 (或 630) ± 2) nm 的标准干涉滤光片^①, 或在仪器使用波长范围内均匀选取的 4 块标准滤光片。

5.1.3.2 光谱中性滤光片

吸光度标称值分别为 0.2, 0.5, 1.0, 1.5 (不确定度 ≤ 0.01)^②。

5.1.3.3 酶标分析仪用灵敏度溶液标准物质 (不确定度 $\leq 5\%$)^②。

5.2 检定项目

表 4 检定项目

检定项目	首次检定	后续检定	使用中检验
外观检查	+	+	—
示值稳定性	+	+	+
波长示值误差	+	—	—
波长重复性	+	—	—
吸光度示值误差	+	+	+
吸光度重复性	+	+	+
灵敏度	+	+	—
通道差异	+	+	+
绝缘电阻	+	—	—

注: 1 “+”为需检项目, “—”为不需检项目。
2 经过维修后可能对仪器有较大影响时, 其后续检定按首次检定进行。

5.3 检定方法

5.3.1 外观与初步检查按 4.1 的要求进行。检定前仪器应预热 20 min。

5.3.2 示值稳定性的检定

选用 492 nm 波长或仪器特有的专一波长, 将吸光度标称值 1.0 的光谱中性滤光片, 平放在微孔酶标板的空板架上, 以空气为参比, 测量并记录仪器的初始示值, 5 min 后记录仪器示值一次, 10 min 后再次记录仪器示值。求出后两次吸光度示值的最大值, 各类仪器按公式 (1) 计算示值稳定性 r :

$$r = A_{\text{最大}} - A_{\text{初始}} \quad (1)$$

式中: $A_{\text{初始}}$ 和 $A_{\text{最大}}$ ——仪器吸光度初始值和最大值。

5.3.3 波长示值误差和波长重复性的检定

5.3.3.1 对 III 类仪器, 用峰值波长为 405, 450, 492, 620 nm 的 4 片标准干涉滤光片或在仪器使用波长范围内均匀选取的 4 块标准滤光片, 分别置于仪器出光孔前或平放在微孔酶标板的某一位置 (标准干涉滤光片平面需与入射光束垂直), 自短波向长波逐点测出滤光片的波长——吸光度示值 (例如: 测量峰值波长 405 nm 标准干涉滤光片时, 将波长调到低于标准波长 20 nm 即 385 nm, 然后, 以 1 nm 的改变幅度测量至高于标准

① 标准干涉滤光片需在波长示值误差优于 ± 0.5 nm 的分光光度计上定值。

② 应使用经国家计量行政部门批准颁布的标准物质。

波长 20 nm 即 425 nm), 求出相应的峰值波长 λ_i 。重复测量 3 次, 取其平均值。测得波长平均值与标准波长之差为波长示值误差, 按公式 (2) 计算波长示值误差 $\Delta\lambda$, 其最大值与最小值之差为波长重复性 δ_λ 。用同样的方法检定其他 3 点。仪器波长示值误差和波长重复性结果的报告, 应以每个波长 (405, 450, 492, 620 nm) 或仪器特有的专一波长下, 通过测量、计算得到的波长示值误差和波长重复性给出。

$$\Delta\lambda = \frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 \lambda_i - \lambda_s \quad (2)$$

式中: λ_i ——第 i 次波峰测量值;

λ_s ——波长标准值。

$$\delta_\lambda = \lambda_{\max} - \lambda_{\min} \quad (3)$$

式中: λ_{\max} ——测得波长示值的最大值;

λ_{\min} ——测得波长示值的最小值。

5.3.3.2 对 I、II 类仪器使用波长示值误差优于 $\pm 0.5\text{nm}$ 的分光光度计检定仪器所附干涉滤光片在各标称波长下的透射比 (干涉滤光片平面需与入射光束垂直), 绘制波长-透射比特性曲线 (如图 1 所示)。干涉滤光片峰值波长误差计算公式为:

$$\Delta\lambda = \lambda_m - \lambda \quad (4)$$

式中: λ ——滤光片峰值波长标称值;

λ_m ——峰值透射比 T_m 对应的波长。

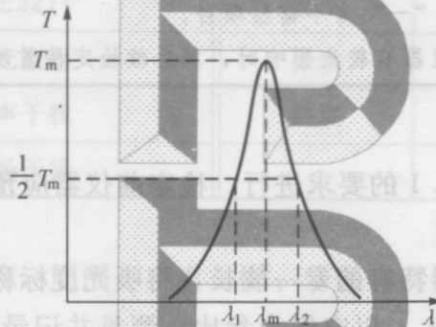


图 1 波长-透射比特性曲线

5.3.4 吸光度示值误差的检定

5.3.4.1 依次选用 405, 450, 492, 620 nm 波长或仪器特有的专一波长, 将吸光度标称值分别为 0.2, 0.5, 1.0, 1.5 的四块光谱中性滤光片同时平放在微孔酶标板的空板架上, 以空气为参比, 连续测量 3 次, 依次记录仪器示值, 并计算平均值。

5.3.4.2 对于吸收池固定的仪器, 先用空吸收池调整仪器零点, 再将光谱中性滤光片放入样品室中, 连续测量 3 次, 记录仪器示值, 并计算平均值。

5.3.4.3 吸光度示值误差 ΔA 按公式 (5) 计算:

$$\Delta A = \frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 A_i - A_s \quad (5)$$

式中: A_i ——第 i 次测量的吸光度值;

A_s ——吸光度标准值。

仪器吸光度示值误差结果的报告,以每个波长(405, 450, 492, 620 nm)或仪器特有的专一波长下,通过测量、计算得到的吸光度示值误差最大值给出。

5.3.5 吸光度重复性的检定

选用 450 nm 波长或仪器特有的专一波长,将吸光度标称值为 0.5 或 1.0 的光谱中性滤光片平放在微孔酶标板的空板架上,以空气为参比,于固定的某一孔位重复测量 6 次,记录仪器示值,并计算平均值,按公式(6)计算 RSD 值,以实验结果的相对标准偏差值(RSD 值)表示仪器的吸光度重复性:

$$RSD = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}{\bar{x}} \times 100\% \quad (6)$$

式中: x_i ——第 i 次测量的结果;

\bar{x} —— n 次测量结果的吸光度平均值;

n ——测量次数。

5.3.6 灵敏度的检定

选用 450 nm 波长或仪器特有的专一波长,使用量程适合并经检定合格的 A 级加样器,在未包被抗原或抗体的微孔酶标板的某一孔中加入 350 μ L 浓度值为 5 mg/L 的酶标分析用灵敏度溶液标准物质,测量吸光度值。

5.3.7 通道差异的检定

对 I、III 类仪器,选用 450 nm 波长或仪器特有的专一波长,将吸光度标称值为 1.0 的光谱中性滤光片平放在微孔酶标板的空板架上,先后置于多个通道的相应位置(例如:对于 8 通道仪器可从 A1~H1 或 A2~H2 作为起始位置),以空气为参比,测量并记录每一通道的至少 6 次吸光度值(例如 A 通道可测量 A1~A6 或 A2~A7),多个通道的差异结果报告用全部测量数据的极差值表示,按公式(7)计算通道差异 δ_A :

$$\delta_A = A_{\max} - A_{\min} \quad (7)$$

式中: A_{\max} ——多个通道中测量结果的吸光度最大值;

A_{\min} ——多个通道中测量结果的吸光度最小值;

δ_A ——通道差异。

5.3.8 绝缘电阻的检定

用 500 V 兆欧表,测量仪器电源进线端与机壳(或接地端子)间的绝缘电阻。

5.4 检定结果的处理

5.4.1 以上检定的各项数据均需记录在检定记录纸上,其中有关项目的结果应填写完整或注明在检定证书或检定结果通知书上。

5.4.2 按本规程检定合格的仪器,发给检定证书;不合格的仪器,发给检定结果通知书,并注明不合格项目的数据。

5.5 检定周期

检定周期一般不超过 1 年,在此期间仪器经修理或对测量结果有疑问时,应及时检定。

附录 A

酶标仪灵敏度溶液标准物质制备方法

酶标仪灵敏度溶液标准物质采用重铬酸钾纯物质配制成质量浓度为 5 mg/L 的溶液标准物质，以 0.05 mol/L 硫酸为基体。

A.1 0.05 mol/L 硫酸溶液的配制

在 500 mL 烧杯中加入 400 mL 蒸馏水，用移液管吸取 2.7 mL 浓硫酸加入烧杯中，搅拌均匀后放入 1000 mL 容量瓶中，用蒸馏水稀释至刻度线，摇匀备用。

A.2 含铬量 5 mg/L 重铬酸钾溶液标准物质的配制

A.2.1 在分析天平上准确称取 0.2829 g 重铬酸钾，置于 100 mL 烧杯中，用 0.05 mol/L 硫酸溶液溶解后，移入 500 mL 容量瓶中，用少量 0.05 mol/L 硫酸溶液洗烧杯若干次，洗液放入容量瓶中，用 0.05 mol/L 硫酸溶液稀释至刻度线，摇匀备用，此溶液浓度为 200 mg/L。

A.2.2 用移液管吸取质量浓度为 200 mg/L 的重铬酸钾溶液 2.5 mL 放入 100 mL 容量瓶中，用 0.05 mol/L 硫酸溶液稀释至刻度线，摇匀，此溶液质量浓度为 5 mg/L，即检定酶标仪灵敏度的溶液标准物质。

附录 B

检定记录格式

送检单位		标准器名称	
地 址		标准器证书号	
电 话		不确定度(或准确度)	
仪器名称		标准器有效期至	
仪器型号		温 度/℃	
制 造 厂		相对湿度/%RH	
出厂编号		大气压/kPa	
检 定 员		核 验 员	
检定日期		证书编号	

一、外观：

二、示值稳定性：

	A_{max}	A_{min}	A_{10min}
r			

三、波长示值误差和波长重复性：

λ_i /nm	λ_i /nm			$\frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 \lambda_i$ /nm	$\Delta\lambda$ /nm	δ_i /nm

四、吸光度示值误差：

波长/nm	滤光片标称值 A	A_i	A_i			\bar{A}	ΔA
			1	2	3		
405	0.2						
	0.5						
	1.0						
	1.5						

附录 A

表 (续)

林采刚

波长/nm	滤光片标称值 A	A _s	A _i			\bar{A}	ΔA
			1	2	3		
450	0.2						
	0.5						
	1.0						
	1.5						
492	0.2						
	0.5						
	1.0						
	1.5						
620	0.2						
	0.5						
	1.0						
	1.5						

五、吸光度重复性:

n	1	2	3	4	5	6	\bar{x}	RSD
x _i								

六、灵敏度: _____ L/mg

七、通道差异:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

通道差异 δ_A = _____

八、绝缘电阻: _____ MΩ

附录 C

检定证书内页格式

检定结果

一、外观

二、示值稳定性

三、波长示值误差

四、波长重复性

五、吸光度示值误差

六、吸光度重复性

七、灵敏度

八、通道差异

九、绝缘电阻

备注：

中华人民共和国
国家计量检定规程

酶标分析仪

JJG 861—2007

国家质量监督检验检疫总局发布

*

中国计量出版社出版

北京和平里西街甲2号

邮政编码 100013

电话 (010)64275360

<http://www.zgjl.com.cn>

北京市迪鑫印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

版权所有 不得翻印

*

880 mm×1230 mm 16开本 印张1 字数13千字

2008年3月第1版 2008年3月第1次印刷

印数1—1 000

统一书号 155026—2318 定价: 24.00元