

# 团 体 标 准

T/SZAS 41—2021

---

## 深孔板性能验证

Performance verification of deep well plate

2021 - 11 - 02 发布

2021 - 11 - 03 实施

---

深圳市标准化协会 发布



## 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。

本文件由深圳华大医学检验实验室提出。

本文件由深圳市标准化协会归口。

本文件起草单位：深圳华大医学检验实验室、深圳华大基因股份有限公司、BGI HEALTH (HK) CO., LTD、惠州帝恩科技有限公司、生工生物工程（上海）股份有限公司、杭州爱津生物技术有限公司、苏州亚通生物医疗科技有限公司、无锡国盛生物工程有限公司、广东蓝光智能科技有限公司、苏州晨旭生物科技有限公司、永岳医疗科技（昆山）有限公司、嘉兴凯实生物科技股份有限公司、浙江博毓生物科技有限公司、安徽博日生物科技有限公司、杭州博日科技股份有限公司、苏州康容生物医疗科技有限公司、苏州赛普生物科技有限公司、无锡耐思生命科技股份有限公司。

本文件主要起草人：葛建敬、阳晶晶、周国英、郑利兵、初腾、余满江、颜佳、戴良、兰建波、顾锋、张善海、施蔡雷、陈英、赵守立、张胜有、杜伟、乔明、魏鹏飞、吴平、唐美芳、张红云、曾昊、史文琳、邱婷、吴昊。

本文件首次发布。

# 深孔板性能验证

## 1 范围

本文件规定了深孔板的分类、性能要求、验证方法、验证规则。

本文件适用于核酸提取相关的深孔板制造商和使用深孔板进行核酸提取相关检测的各类检测机构。

## 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。

GB/T 2828.1-2012 计数抽样检验程序 第1部分：按接收质量限（AQL）检索的逐批检验抽样计划

GB/T 14233.1-2008 医用输液、输血、注射器具检验方法 第1部分：化学分析方法

GB 18280.2-2015 医疗保健产品灭菌 辐射 第2部分：建立灭菌剂量（ISO 11137-2:2006, IDT）

GB/T 19495.4-2018 转基因产品检测 实时荧光定性聚合酶链式反应（PCR）检测方法

GB/T 37874-2019 核酸提取纯化方法评价通则

YY/T 0681.11-2014 无菌医疗器械包装试验方法 第11部分：目力检测医用包装密封完整性

DB 61/T 1205-2018 全自动核酸提取与反应体系构建系统

ANSI/SBS 1-2004 微孔板基板面尺寸

ANSI/SBS 2-2004 微孔板高度尺寸

ANSI/SBS 4-2004 微孔板孔位置

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**深孔板 deep well plate**

在普通微孔板的外观尺寸基础上，保持长、宽符合SBS国际规范的同时，增加孔的深度，以此达到增加每个孔的容积的目的，其主要作为参与核酸提取过程中的承载物。

### 3.2

**核酸提取仪 nucleic acid extraction device**

应用配套的核酸提取试剂和耗材，自动完成核酸提取的设备。

### 3.3

**温度准确度 temperature accuracy**

温度到达设定温度后，实际温度测定值与设置温度差值的绝对值。

[来源：DB 61/T 1205-2018，第3.4条]

### 3.4

**实时荧光定量聚合酶链式反应 real-time quantitative PCR; QPCR**

基于PCR（聚合酶链式反应）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，并根据PCR过程中荧光染料释放的荧光强度的变化对扩增产物进行定量分析。

### 3.5

**Ct 值 cycle threshold**

每个管内荧光信号达到设定的阈值时所经历的循环数。

### 3.5

#### 目力检测 visual inspection

在540 lx光照度的白光或日光下，以30 cm-45 cm目力距离进行检测。

### 3.6

#### 温度均匀性 temperature uniformity

温度到达设定温度后，深孔板不同位置的温度一致性。

### 3.7

#### 核糖核酸酶 ribonuclease; RNase

水解核糖核酸（RNA）中磷酸二酯键，生成寡核苷酸或单核苷酸的核酸酶。

[来源：GB/T 34223-2017，第3.1条]

### 3.8

#### 脱氧核糖核酸酶 deoxyribonuclease; DNase

水解脱氧核糖核酸（DNA）中磷酸二酯键，生成寡核苷酸或单核苷酸的核酸酶。

[来源：GB/T 34223-2017，第3.2条]

## 4 深孔板的分类

### 4.1 按产品规格分类

按产品规格可分为0.12 mL、1.0 mL、1.6 mL和2.2 mL。

### 4.2 按产品孔数分类

按孔数可分为24孔、48孔、96孔和384孔。

### 4.3 按产品孔底形状分类

按孔底形状分为U型和V型。

### 4.4 按产品孔型分类

按孔型可分为圆孔型和方孔型。

## 5 要求

### 5.1 外观

5.1.1 毛刺/飞边：深孔板孔口表面不得有长于 0.05 mm 的飞边，孔底不得有长于 0.1 mm 的飞边，孔内任何部位均不得有飞边。

5.1.2 破损：深孔板任何部位不得有破损、小孔、缩水、缺料、多料、断裂情况，孔体内壁不允许有划痕。

5.1.3 气泡：深孔板的管锥部分不得有气泡和流痕，非功能区板面外径 0.5 mm 的气泡小于 3 个，裙边外径 2.0 mm 的气泡小于 2 个。

5.1.4 油污：无油污、机油物质污染，如有黑点应在 45 cm 距离处目力检测不出。

5.1.5 形变：深孔板无明显变形，变形度管控在 0.3 mm 以内。

5.1.6 序号标记：24 孔深孔板在边缘以 A-D，1-6 序号表示区分行列信息；48 孔深孔板在边缘以 A-F，1-8 序号表示区分行列信息；96 孔深孔板在边缘以 A-H，1-12 序号表示区分行列信息；384 孔深孔板边缘以 A-P，1-24 序号表示区分行列信息，序号清晰明亮，易于识别。

5.1.7 材质：深孔板原材料一般为聚丙烯。

## 5.2 外形尺寸

- 5.2.1 深孔板的基面板，应符合ANSI/SBS 1-2004（R2012）中4.1的规定；
- 5.2.2 深孔板的高度，应符合ANSI/SBS 2-2004（R2012）中4.1的规定。
- 5.2.3 深孔板的孔位置，应符合ANSI/SBS 4-2004（R2012）中4.1、4.2、4.3的规定；
- 5.2.4 深孔板的上表面平面度，应符合ANSI/SBS 4-2004（R2012）附件A.3的规定。

## 5.3 适配性

深孔板尺寸应适配于自动化核酸提取仪操作模块。

## 5.4 液体载量

深孔板需满足产品规格容积液体装载，无溢出，液面不贴近孔口。

## 5.5 密封性

深孔板内加入产品规格容积的去离子水，利用微孔板热封膜机173 °C 3 s或手工封膜刮膜后，3000 g离心机离心10 min，板无漏液，无明显变形，无破损。

## 5.6 热耐受力

深孔板可以承受95 °C加热30 min，并在加热后无明显变形、无明显异味。

## 5.7 冷耐受力

深孔板可以承受-20 °C保存72 h，-80 °C保存24 h后，无漏液，无破损，无明显变形。

## 5.8 导热性

设置核酸提取仪或其它加热装置从25 °C加热至65 °C，加热到65 °C之后，不同测试点的温度准确度和温度均匀性应满足如下要求：

- a) 深孔板孔内液体温度与核酸提取仪加热模块温度的温度差值的绝对值应不大于3 °C；
- b) 深孔板上不同孔内液体温度之间的温度差值的绝对值应不大于2 °C。

## 5.9 无菌状态

深孔板直接接触样品，要求深孔板密封包装内保持无菌状态。

## 5.10 DNA 酶

深孔板应不含DNA酶。采用DNase检测试剂盒，根据说明书，样本检测值需低于2倍阴性质控品荧光值的均值，检测结果为阴性。

## 5.11 RNA 酶

深孔板应不含RNA酶。采用RNase检测试剂盒，根据说明书，样本检测值需低于2倍阴性质控品荧光值的均值，检测结果为阴性。

## 5.12 重金属

浸提液中钡、铬、铜、铅、锡的总含量应不超过1.0 μg/mL，镉的含量不超过0.1 μg/mL。

## 5.13 外源核酸

深孔板要求无外源核酸污染，去离子水经通用引物PCR反应后，DNA浓度小于0.5 ng/μL，扩增产物经琼脂糖凝胶电泳后，在紫外照射仪下无条带。

## 5.14 抑制剂

深孔板作为核酸提取的承载物，要求抑制剂无检出，标准品QPCR反应后，QPCR扩增曲线呈“S”型，CT值与标准品界定值相差不大于0.5。

## 5.15 功能特性

使用深孔板进行常规样本的核酸提取时,深孔板不应对提取后的核酸完整度、提取产量、核酸纯度有额外不良影响,核酸检测结果应符合GB/T 37874-2019中5.1、5.2、5.3的规定。

## 6 验证方法

### 6.1 外观检测

在自然光线下,通过目力、卡尺、投影仪进行检查,结果应符合5.1的要求。

### 6.2 尺寸检测

产品外形尺寸使用分度值为0.02 mm游标卡尺进行检测,毛刺、飞边使用影像测量仪进行检测。

### 6.3 适配性检测

将深孔板放置在核酸提取仪上,深孔板能固定在板位上,不松动、不脱落,核酸提取仪的磁棒可以插入深孔板孔中,无移位、无错位。

### 6.4 液体载量检测

按深孔板产品规格使用校准的移液枪往深孔板孔内加产品规格容积去离子水,24孔深孔板为2.2 mL,48孔深孔板为1.6 mL,96孔深孔板为1.0 mL,384孔深孔板为0.12 mL,液体无溢出,不接近孔口。

### 6.5 密封性检测

深孔板内加入产品规格容积的去离子水,利用微孔板热封膜机173 °C 3 s或手工封膜刮膜后,3000 g离心机离心10 min。目测观察离心后是否有变形、破损及漏液情况。

### 6.6 热耐受力检测

在水浴锅中将深孔板95 °C加热30 min,观察加热后的深孔板是否变形,有无明显异味。

### 6.7 冷耐受力检测

将加入200 μL的0.1%甲苯胺蓝溶液的深孔板置于-20 °C冰箱冷冻72 h,-80 °C保存24 h。室温10 min,观察是否有变形、破损。液体复溶后,3000 g离心机离心2 min,观察是否有漏液现象。

### 6.8 导热性检测

参考DB 61/T 1205-2018 全自动核酸提取与反应体系构建系统中5.1.2、5.1.3的检测方法,先检测核酸提取仪的传热效率作为对照,再检测深孔板的温度均匀性和温度准确性。

### 6.9 无菌状态检测

深孔板出厂后应有灭菌证明,灭菌过程和标准应参考GB 18280.2-2015 医疗保健产品灭菌 辐射 第2部分:建立灭菌剂量。

### 6.10 DNA 酶检测

DNA酶检测采用DNase检测试剂盒,使用无DNA酶、无RNA酶的一次性手工吸头,第一列每孔加入100 μL试剂盒内无酶水,使用多通道手工移液器反复吹打3次以上,并将液体对应排入下一列,依次完成整板润洗,在最后一列润洗完成后,收集混匀液作为待测样本,并按试剂盒操作说明书添加荧光试剂,通过酶标仪37 °C反应30 min后在530/590 nm波段进行荧光测定,检测结果按说明书标准进行判定。

### 6.11 RNA 酶检测

RNA酶检测采用RNase检测试剂盒,使用无DNA酶、无RNA酶的一次性手工吸头,第一列每孔加入100 μL试剂盒内无酶水,使用多通道手工移液器反复吹打3次以上,并将液体对应排入下一列,依次完成整板润洗,在最后一列润洗完成后,收集混匀液作为待测样本,并按试剂盒操作说明书添加荧光试剂,通过酶标仪37 °C反应30 min后在485/528 nm波段进行荧光测定,检测结果按说明书标准进行判定。

### 6.12 重金属检测

浸提液按GB/T 14233.1-2008中7.1规定的方法进行。

#### 6.13 外源核酸检测

外源核酸检测利用去离子水作为样本，采用通用引物进行PCR反应，扩增产物在琼脂糖凝胶电泳完成后，电泳条带在紫外照射仪中进行透射。检测方法参考GB/T 19495.4-2018第6部分。

#### 6.14 抑制剂检测

采用探针法荧光定量检测标准品，通过QPCR检测试剂盒，实现标准品DNA定量检测。并使用相关QPCR仪软件，完成扩增曲线及CT值分析判定。

#### 6.15 功能特性检测

使用样本性质对应的合适的核酸提取试剂盒，在核酸提取仪上进行提取，结果应符合5.15的要求。

### 7 验证规则

#### 7.1 检验规则

检验规则应遵循以下几点：

- a) 新产品投产前或准备用于实验之前，应对本文件中所有项目进行检验；
- b) 产品长期停产后恢复生产时，应对本文件中所有项目进行检验；
- c) 原料、工艺、配方、模具的变更可能会影响产品性能时，应对可能受影响的项目增加检验次数；
- d) 新批次在出厂和使用前应选择本文件中相关项目进行检验。

#### 7.2 取样判定规则

取样判定规则应遵循以下几点：

- a) 产品按批次进行检验，同一批原料一次生产的同规格产品为一批次；
  - b) 抽样样本如有一项指标测试不合格，即可判定整体指标测试不合格；
  - c) 抽样方案及判定标准按 GB/T 2828.1-2012 规定的方法执行，定义检验水平为 S-4，接收质量限为 AQL2.5。
-