

# 团 体 标 准

T/SZAS 42—2021

---

## PCR 板性能验证

Performance verification of PCR 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、东莞市积健生物科技有限公司、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、武汉美森特生物科技有限公司、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、安徽博日生物技术有限公司、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：魏鹏飞、葛建敬、周国英、胡良才、初腾、余满江、朱青华、魏小虎、戴良、兰建波、顾锋、吕义、张善海、施蔡雷、陈英、赵守立、张胜有、杜伟、乔明、吴平、唐美芳、张红云、曾昊、汤建胜、邱婷、李倩一。

本文件为首次发布。

# PCR 板性能验证

## 1 范围

本文件规定了PCR板的性能要求和验证方法。

本文件适用于PCR板制造商和使用PCR板进行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 16383-2014 医疗卫生用品辐射灭菌消毒质量控制标准

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 34223-2017 核糖核酸酶和脱氧核糖核酸酶纯度检测方法

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

JJF(津)04-2020 实时荧光定量PCR仪校准规范

## 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**

聚合酶链反应是一种对特定DNA或RNA片段在体外进行扩增的方法,由变性-退火-延伸三个基本反应步骤构成。

### 3.2

**聚合酶链式反应分析仪** **polymerase chain reaction analyzer; PCR analyzer**

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,并对其进行检测分析的仪器。

### 3.3

**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。

### 3.4 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

**平均升降温速率** **mean heating rate**

模块单位时间内上升及下降的平均温度系数。

## 3.7

**核糖核酸酶 ribonucleases; 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 34223-2017，3.1]

## 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 34223-2017，3.2]

## 4 PCR 板分类

## 4.1 按产品规格分类

按产品容积规格可分为40  $\mu$ L、100  $\mu$ L和200  $\mu$ L。

## 4.2 按产品裙边分类

按产品裙边可分为无裙边、半裙边、全裙边和高裙边四类。

## 4.3 按产品孔数分类

按产品孔数可分为96孔和384孔两种。

## 4.4 按产品颜色分类

按产品颜色可分为无色透明、白色和混色。

## 4.5 按产品是否可拆卸分类

按产品是否可拆卸可分为拆卸和不可拆卸。

## 4.6 按产品序号标记方式分类

按产品序号标记方式可分为印刷黑字和注塑透明。

## 4.7 按有无吸附分类

按产品吸附性可分为普通型和低吸附型。

## 5 要求

## 5.1 外观及材质

5.1.1 毛刺/飞边：PCR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的毛刺；孔内任何部位均不得有飞边。

5.1.2 破损：PCR板结构完整，任何部位不得有破损、小孔、缩水、缺料、多料、断裂等情况，管体内壁不允许有划痕。

5.1.3 气泡：PCR板的管锥部分不得有气泡和流痕。

5.1.4 油污：PCR板不得有油污、机油等物质污染，如有黑点应在在540 lx光照度的白光或日光下，以30 cm-45 cm目力距离进行目力检测不出。

5.1.5 形变：PCR板无明显变形，变形度管控在0.3 mm以内。

5.1.6 序号标记：96孔PCR板在边缘以A-H，1-12序号表示区分行列信息；384孔PCR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：PCR板原材料一般为聚丙烯。

## 5.2 外形尺寸

5.2.1 PCR板的基板面，应符合ANSI/SBS 1-2004（R2012）中4.1的规定。

5.2.2 PCR板的高度，应符合ANSI/SBS 2-2004（R2012）中4.1的规定。

T/SZAS 42-2021

5.2.3 PCR板的孔位置，应符合ANSI/SBS 4-2004（R2012）中4.1、4.2、4.3的规定。

### 5.3 适配性

PCR板应适配于对应规格PCR仪操作模块。

### 5.4 液体载量

PCR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

PCR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℃ 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

PCR板98℃ 10 min反应后，PCR板变形度小于0.5 mm，无异味。

### 5.7 冷耐受力

PCR板作为承载容器，为满足样本保存条件，要求-20℃保存72 h，-80℃保存24 h后，无漏液，无破损，变形度小于0.5 mm。

### 5.8 导热性

PCR板用于PCR反应，要求孔内温度与预设温度相差不超过2℃，平均升降温速率大于1.5℃/s。

### 5.9 无菌状态

PCR板经灭菌处理后要求无菌。

### 5.10 DNA酶

PCR板作为PCR反应体系的承载物，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

PCR板作为PCR反应体系的承载物，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

PCR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

PCR板作为PCR反应体系的承载物，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。

## 6 验证方法

### 6.1 外观检测

使用自然光源或放大镜用目力观察，结合通用量具进行检测。

### 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PCR板放置在PCR仪上，PCR板能固定在板位上，不松动、不脱落，PCR仪能正常开关盖。

### 6.4 液体载量检测

按PCR产品规格使用校准的移液枪往PCR板孔内加产品规格容积去离子水，常规96孔PCR板为200  $\mu\text{L}$ ，快速96孔PCR板为100  $\mu\text{L}$ ，384孔PCR板为40  $\mu\text{L}$ ，液体无溢出，不接近孔口。

### 6.5 密封性检测

PCR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  $^{\circ}\text{C}$  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

将PCR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  $^{\circ}\text{C}$  3 s或手工封膜刮膜后，置于PCR仪器内加热98 $^{\circ}\text{C}$  10 min，观察PCR板有无明显形变及异味。

### 6.7 冷耐受力检测

PCR板每个孔内加入规格体积的1%甲苯胺蓝溶液，置于-20  $^{\circ}\text{C}$ 保存72 h，-80  $^{\circ}\text{C}$ 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

PCR板导热性检测参考JJF(津)04-2020中7.2方法进行，选取校准后的PCR仪，使用外置温度探头参考该方法验证PCR板不同孔位的温度示值误差、温度均匀性及平均升温速率。

### 6.9 无菌检测

PCR板出厂后应有灭菌证明，微生物检测方法参考GB 16383-2014 附录A进行。

### 6.10 DNA 酶检测

PCR板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，第一列每孔加入产品最高载量的试剂盒内无酶水，使用多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，在第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  $^{\circ}\text{C}$ 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

PCR板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，第一列每孔加入产品最高载量的试剂盒内无酶水，使用多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，在第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  $^{\circ}\text{C}$ 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

PCR板金属离子检测，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

PCR板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

PCR板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。

## 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 AQL 2.5。
-