
JJF

中华人民共和国国家计量技术规范

JJF××××—202×

微生物计数标准物质的研制

The Production of Microbial Count Reference Material

(征求意见稿)

202×-××-××发布

202×-××-××实施

国家质量监督检验检疫总局发布

微生物计数 标准物质的研制

The Production of Microbial Count
Reference Material

JJF ××××— 202×

归口单位：全国标准物质计量技术委员会

主要起草单位：中国计量科学研究院

参加起草单位：*****

全国标准物质计量技术委员会征求意见稿

本规范委托全国标准物质计量技术委员会负责解释

本规范主要起草人：

***（中国计量科学研究院）

***（中国计量科学研究院）

（**）

参加起草人：

（**）

（**）

（**）

国家标准物质计量技术委员会征求意见稿

目 录

引 言.....	II
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	2
4 通用性原则.....	3
5 研制策划.....	3
6 制备.....	4
7 均匀性评估.....	5
8 稳定性评估.....	5
9 定值.....	5
10 研制报告和证书.....	6
11 保存和运输.....	7

国家标准物质计量技术委员会征求意见稿

引 言

微生物计数标准物质作为测量量值溯源与传递的载体广泛应用于食品、药品、化妆品、环境样品、消毒产品等微生物检测、仪器校准、质量控制、方法开发等。本规范的目的是规范微生物计数标准物质的研制过程，为微生物测量活动提供符合质量要求的标准物质。

本规范以JJF 1342《标准物质研制（生产）机构通用要求》和JJF 1343《标准物质定值的通用原则及统计学原理》为指导原则，有效吸收了ISO Guide 35-2017《Reference materials--General and statistical principles for certification》等技术文件的内容。

本技术规范为首次发布。

国家标准物质计量技术委员会征求意见稿

微生物计数标准物质的研制

1 范围

本规范规定了微生物计数标准物质研制策划、制备、均匀性评估、稳定性评估、定值、不确定度评定、研制报告和证书、保存和运输等要求，适用于细菌、真菌等可定量测量的微生物计数标准物质的研制。

2 规范性引用文件

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。使用规范时，应注意使用下列引用文献的现行有效版本。

JJF 1265 生物计量术语及定义

JJF 1342 标准物质研制（生产）机构通用要求

JJF 1343 标准物质定值的通用原则及统计学原理

JJF 1059.1 测量不确定度评定与表示

JJF 1218 标准物质研制报告编写规则

JJG 1006 一级标准物质技术规范

JJF 1186 标准物质认定证书和标签内容编写规则

GB 8170 数值修约规则与极限数值的表示和判定

GB/T 27045 实验室质量控制规范 食品微生物检测

GB 4789.28 食品安全国家标准 食品微生物学检验 培养基和试剂的质量要求

GB 19489 实验室生物安全通用要求

WS 233 病原微生物实验室生物安全通用准则

全国科学技术名词审定委员会 微生物学名词

全国科学技术名词审定委员会 计量学名词

《病原微生物实验室生物安全管理条例》（中华人民共和国国务院令 第 424 号）

世界卫生组织《感染性物质运输指南》

国际民航组织《危险物品航空安全运输技术细则》

3 术语和定义

JJF 1265界定的及以下术语和定义适用于本规范

3.1 微生物 microorganism

个体难以用肉眼观察的一切微小生物之统称。

【全国科学技术名词审定委员会 微生物学名词】

3.2 微生物计数标准物质 bacterial count reference material

具有足够均匀和稳定的特性，并很好确定了菌落或菌体数等微生物测量特性（量）值，适合于特定用途的一类标准物质。

3.3 菌株 strain

由微生物单一细胞或病毒个体通过无性繁殖形成的纯培养物及其后代。

【全国科学技术名词审定委员会 微生物学名词】

3.4 标准菌株 reference strain

至少定义到属或种水平的菌株，按其特征分类和描述有明确来源。

【GB/T 27045, 3.10】

注：应具有明确的标称特性，如完整的全基因组序列信息、可用于比对、校准、验证等定量测量过程追踪溯源的特异性分子标记、携带的毒力基因或耐药基因、特征生化反应、特征蛋白等。

3.5 标称特性 nominal property

不以大小区分的现象、物体或物质的特性。

【全国科学技术名词审定委员会 计量学名词】

3.6 培养基 culture media

液体、半固体或固体形式的、含天然或合成成分，用于保证微生物繁殖（含或不

含某类微生物的抑菌剂）、鉴定或保持其活力的物质。

【GB 4789.28, 2.4】

3.7 菌落 colony

生长在固体培养基上，由单个细胞繁殖形成的、肉眼可见的微生物群体。

【JJF 1265, 4.73】

3.8 比对 comparison

在规定条件下，对相同准确度等级或指定不确定度范围的同种测量仪器复现的量值之间比较的过程。

【全国科学技术名词审定委员会 计量学名词】**3.9 平板计数 plate counting**

用经过梯度稀释的样品某一稀释度液接种平板，生长后计数菌落数量，从而换算出样品中微生物活细胞数量。

【全国科学技术名词审定委员会 微生物学名词】**3.10 流式计数 flow cytometry counting**

单分散的生物颗粒悬液在穿越流动室的过程中被鞘流液包绕并受激光照射，通过检测它们的散射光或者荧光，来测定生物颗粒的特性和数量。

4 通用性原则

4.1 应遵照JJF 1342、JJF 1343对标准物质研制的相关要求。

4.2 微生物计数标准物质的研制场所、操作活动、废物处理等应该遵照国家法规、标准、国际公约、生物安全管理等的相关要求。

注：参见GB 19489《实验室 生物安全通用要求》、WS 233《病原微生物实验室生物安全通用准则》等。

4.3 应根据候选物的危害程度，选择和采取相应级别的生物安全防护措施。

5 研制策划

5.1 标准物质研制机构应根据市场和客户需求，承担微生物计数标准物质研制（生产）项目的需求评估、策划和管理。

5.2 研制机构对微生物计数标准物质的类型、特性量值和不确定度水平应适用于其在食品、药品、化妆品、环境样品、消毒产品等微生物检测、仪器校准、质量控制、方法开发等的预期用途。

5.3 评估微生物计数标准物质的候选物或原料的可获得性。

5.4 对候选微生物进行风险评估，并在实验运行中维持风险评估制定的生物安全管理规范，实施必要的控制措施。

5.5 评估微生物计数标准物质定值方法的计量溯源性。

5.6 评估微生物计数标准物质均匀性、稳定性、互换性（需要时）等方法的适用性满足标准物质的研制需求。

5.7 必要时，微生物计数标准物质研制应进行预试验，评估策划方案的可操作性。

6 制备

6.1 候选物要求

6.1.1 候选物应使用微生物菌种保藏专门机构或同行认可机构保存的、标称特性可溯源的标准菌株。

6.1.2 候选物应信息完整，包括名称、菌株号、批号、保藏机构、有效期、保存条件、标称特性等。

6.1.3 根据标准物质的预期用途选择合适的候选物，候选物应满足适用性、代表性，以及容易培养或复制的原则。候选物应有足够的数量，以满足在有效期间使用的需要。

6.1.4 候选物在购入、传代、保藏和标准物质研制过程中，应进行验证试验，以确保标称特性（生化反应、基因序列、特征蛋白等）不发生变化。

注：候选物传代次数通常控制在5代之内。

6.1.5 候选物鉴定应科学合理，根据微生物的不同类型进行鉴定。如培养物纯度鉴定、形态学鉴定、生化鉴定、分子生物学鉴定、免疫学鉴定等。

6.2 制备和包装

6.2.1 应根据预期使用范围或用途，确定标准物质是否添加基体；如需添加基体，应与实际分析样品的基体尽可能保持一致，适用时可采用人工材料等；基体应进行验证试验，以确保不含有影响标准物质特性值的微生物。

6.2.2 如使用可培养计数的微生物作为候选物，应根据标准物质预期用途，采用适当的工艺措施保证候选物的活性。

注：微生物计数标准物质可以冻干粉等形式存在来保证活性。

6.2.3 应采用适当的工艺措施保证微生物计数标准物质的稳定性和均匀性。

6.2.4 包装应满足微生物计数标准物质的预期用途。一般应选用三防、两耐、免吸附的包装材料。

注：“三防”，防水、防漏、防破损；“两耐”，耐高温、耐高压，即必须能承受在-40℃至+55℃温度范围内 95 kPa 的内部压力而无渗漏。

6.2.5 包装形式和材质的更换应经过适当的评估。

7 均匀性评估

7.1 JJF 1343 对标准物质均匀性评估的要求适用于微生物计数标准物质。

7.2 应根据微生物计数标准物质的类型、状态、预期用途等制定均匀性评估方案，选择与定值方法所表征特性量值相同的测量方法进行评估。

8 稳定性评估

8.1 JJF 1343 对标准物质稳定性评估的要求适用于微生物计数标准物质。

8.2 应根据微生物计数标准物质的类型、状态、预期用途等制定稳定性评估方案，选择与定值方法所表征特性量值相同的测量方法进行评估。

8.3. 应确保微生物计数标准物质在运输过程中的稳定。要充分考虑恶劣运输情况或极限温度运输情况对稳定性的影响。

9 定值

9.1 JJF 1343 对标准物质定值的要求适用于微生物计数标准物质。

9.2 微生物计数标准物质的特性值

微生物计数标准物质的特性值是指微生物菌落或菌体数等。

9.3 定值方法的选择

9.3.1 由单一实验室采用两种或更多不同原理的可溯源的绝对方法定值，如平板计数法、流式计数法、显微镜检计数法等。采用两种方法定值时，每种方法至少需要 6 个独立数据；采用 3 种或 3 种以上方法定值时，每种方法至少需要 5 个独立数据。

注：所用微生物培养基的生长率应满足相关标准的要求，并尽可能使用效果最佳的培养基。

9.3.2 使用一种或多种已证明准确性的方法，由多个实验室合作定值。一级标准物质经由不少于 10 个实验室合作定值；二级标准物质经由不少于 6 个实验室合作定值。每个参加定值的实验室至少测定 2 个最小单元，提供不少于 6 次独立重复测量数据。

9.4 质量控制

9.4.1 由单一实验室完成定值的，该实验室应定期参加国际计量比对并取得国际等效，或参加基于国际等效测量能力开展的国内计量比对并取得满意结果。

9.4.2 采用合作定值方式时，合作定值实验室应定期参加国际计量比对并取得国际等效，或参加基于国际等效测量能力开展的国内计量比对、能力验证、测量审核并取得满意结

果。并满足如下要求：

- a) 合作定值实验室应具有该标准物质定值的必备条件，并有一定的技术权威性；
- b) 合作定值实验室使用已有的微生物计数标准物质进行内部质量控制；
- c) 主导实验室与合作定值实验室签订定值合同，合同中应包括质量控制要求和方案。根据方案发放定值样品和试剂，明确实验方法和实验条件，规定实验重复次数和结果报告方式，按照统一要求汇总定值数据；
- d) 根据定值合同的要求实施测量活动，包括测量的单元数、重复次数等；
- e) 提供定值所用仪器设备和校准物的计量溯源性证明；
- f) 保证每次测量的独立性，如不同的操作人员、不同测量时间、不同的实验装置等；
- g) 应记录所有与标准物质定值相关的重要活动和数据并保证可追溯；
- i) 应记录所用试剂的种类、品牌、批号，并对试剂进行必要的质量评价，如评价培养基的生长率等；
- h) 按照 JJF 1059.1 的原则识别、控制不确定度来源，并在需要时评定测量不确定度。

9.5 数据评估

定值数据审核、数据评估和统计处理应按 JJF 1343、JJF 1059.1 的要求进行。

9.6 定值结果及不确定度

标准物质的定值结果及不确定度应由研制机构按照 JJF 1343、JJF 1059.1 进行评定和表述，不能分包。

9.6.1 定值结果及不确定度必须建立在合理的均匀性、稳定性评估及定值测量的基础上。

9.6.2 标准值的总不确定度由三个部分组成。第一部分是通过测量数据的标准偏差、测量次数及所要求的置信水平按统计方法计算出。第二部分是通过测量影响因素的分析，估计出其大小。第三部分由标准物质的不均匀性和不稳定性引入。

9.6.3 数值修约规则按 GB 8170 《数值修约规则与极限数值的表示和判定》进行。

10 研制报告和证书

10.1 研制报告

10.1.1 应依据 JJF 1218 的要求以及标准物质管理部门的规定，编制微生物计数标准物质研制报告。

10.1.2 研制报告应描述标准物质的研制策划、方法确认及溯源性、候选物来源与鉴定、

制备与质量控制、均匀性评估、稳定性评估、定值、不确定度评定、包装和保存等信息，并提供充分的数据及分析信息，按 JJF 1059.1 和 GB 8170 对数据进行修约。

10.2 证书和标签

10.2.1 微生物计数标准物质证书的编写和标签的内容应符合 JJF 1186 的要求。

10.2.2 微生物计数标准物质证书的内容应包含使用过程的防护装备穿戴、剩余样品处理方法等生物安全注意事项。

11 保存和运输

11.1 JJF 1342 对标准物质保存及运输的要求适用于微生物计数标准物质。

11.2 标准物质应按照长期稳定性保存条件储存，保证在有效期内维持其性能参数。

注：微生物计数标准物质通常保存在-20℃或以下的低温条件。

11.3 微生物计数标准物质研制及贮存环境条件应有明确的规定和相应的监控记录。

11.4 微生物计数标准物质的运输应该遵照国家法规、标准、国际公约、生物安全管理等的相关要求。

注：参见《病原微生物实验室生物安全管理条例》、世界卫生组织《感染性物质运输指南》、国际民航组织《危险物品航空安全运输技术细则》等。

11.5 应采用适当的措施保证微生物计数标准物质在运输过程中特性值不发生变化。

注：通常在运输微生物计数标准物质的容器中添加干冰来保持低温条件。

11.6 运输微生物计数标准物质的容器应符合三防两耐的要求；包装上应印有国务院卫生主管部门或者兽医主管部门规定的生物危险标识、警示语和提示语。