
《病原微生物核酸标准物质的研制计量技术规范》（征求意见稿）

编制说明

一、任务来源

本规范制定任务由国家市场监督管理总局于 2021 年下达全国标准物质计量技术委员会（市监计量函[2021] 2062 号）。

二、规范制定背景

核酸作为生命遗传信息的载体，是所有生物分子中最基本的物质，核酸检测作为重要的分子生物学手段，广泛应用于病毒和细菌等病原体检测、转基因产品检测、肿瘤和遗传病诊断与治疗等领域。病原微生物核酸标准物质为病原体核酸检测方法提供了溯源标准，在提高核酸检测方法可比性，保证核酸检测结果准确性方面发挥了重要作用。

常见的病原微生物包括巨噬细胞病毒、乙型肝炎病毒、艾滋病病毒，全部流感病毒，严重急性呼吸综合征（SARS）病毒，中东呼吸综合征（MERS）病毒，埃博拉病毒（Ebola virus），马尔堡病毒，新型冠状病毒（SARS-CoV-2）等，对人类健康产生巨大威胁。DNA 和 RNA 是病原微生物的遗传物质，常作为检测目标对病原微生物进行定性定量检测。因此，DNA 和 RNA 标准物质在保证核酸检测过程准确性中起到重要作用。

病原微生物核酸标准物质包括纯 DNA 和 RNA 形式、灭活的完整病原微生物形式、假病毒等形式。灭活的完整的病原微生物核酸标准物质由于与检测目标物形式相同，能够用于具有生物危害因子的基因组进行核酸检测时量值溯源和质量控制。通过培养或从感染者体内

分离获得病原微生物，用可靠方法灭活后制备成标准物质候选物。假病毒是在噬菌体或慢病毒等载体中表达外源目标基因的嵌合病毒颗粒，在进入细胞后不具有复制产生病毒的能力，因而没有危害性，而且由于有蛋白质衣壳包裹而具有较高的稳定性。因此假病毒已被广泛应用到疫苗研发，抗体中和研究，模拟病毒侵染细胞功能实验，检测试剂盒阳性参照以及核酸标准物质等方面。灭活的完整的病原微生物和假病毒核酸标准物质能够监控细菌或病毒颗粒裂解和提取效率以及后续核酸检测的整个检测过程，在核酸检测中是理想的标准物质形式。但是这类形式的标准物质在研制过程中仍然存在诸多问题，例如灭活效果的评价及假病毒包裹全长烈性病毒基因组时的安全性问题，定值过程中的核酸提取效率及定值方法问题，以及标准物质的存储、运输、废弃等方面的问题。纯 RNA 形式的标准物质在研制过程中也存在诸多问题，例如 RNA 极易被 RNA 酶降解，而 RNA 酶在环境中无处不在，RNA 标准物质在制备及使用过程中都需要遵循特殊的原则以防止 RNA 降解造成量值的不准确；RNA 标准物质在稀释使用、存储及运输等方面存在特殊要求。

目前国内假病毒类型的核酸标准物质包括新型冠状病毒假病毒核酸标准物质 GBW(E)091114~GBW(E)091117、GBW(E)091132、GBW(E)091133 等；临检中心曾用噬菌体载体制备了含丙型肝炎病毒（HCV）的假病毒质控品，组织实验室间 HCV 核酸扩增评价；北京出入境检验检疫局研制了含猪流感病毒的假病毒颗粒质控品，用于出入境检测质量控制。世界卫生组织（WHO）也研制了新型冠状病毒

假病毒核酸标准物质。目前国内外尚无针对假病毒形式核酸标准物质研制的标准及规范等文件，相关类型的技术规范包括国家市场监督管理总局于 2018 年发布实施的 JJF 1718-2018《转基因植物核酸标准物质的研制》。因此，制定《病原微生物核酸标准物质的研制计量技术规范》，将对相关问题提出统一的原则及指导，从而使病原微生物核酸标准物质在实际应用过程中更好地发挥作用。

三、规范制定过程

2021 年 6 月~2021 年 12 月，起草小组向全国标准物质计量技术委员会秘书处提交《病原微生物核酸标准物质研制技术规范》项目申报书，申报技术规范立项申请并获得国家市场监督管理总局批复立项。

2022 年 1 月~2022 年 6 月，起草小组通过病原微生物核酸标准物质研制相关的技术资料、国内外文献、国家标准、国际标准等资料进行调研，并对国内外研制的病原微生物核酸标准物质进行总结归纳及提炼，形成《病原微生物核酸标准物质研制技术规范》草案初稿。

2022 年 6 月~2023 年 01 月，起草小组召开多次讨论会，对规范草案内容中存在的问题进行反复修改、确认，并向中国计量科学研究院标准物质研究中心专家进行意见征询，进一步完善草案。根据专家意见，规范名称修改为《病原微生物核酸标准物质的研制计量技术规范》。

2023 年 02 月，起草小组在整理前期意见建议基础上，编制完成《病原微生物核酸标准物质的研制计量技术规范》（征求意见稿）及编制说明。

四、规范制定的主要技术依据及原则

（一）依据

本规范依据国家计量技术规范JJF 1071《国家计量校准规范编写规则》、JJF 1001《通用计量术语及定义》和JJF 1059.1《测量不确定度评定与表示》编制。

本规范的制定主要参考了JJF 1006《一级标准物质技术规范》、JJF 1342《标准物质研制（生产）机构通用要求》、JJF 1343《标准物质的定值及均匀性、稳定性评估》、WS/T 356《基质效应与互通性评估指南》等文件。

（二）原则

1、架构

根据病原微生物核酸标准物质研制特点，《病原微生物核酸标准物质的研制计量技术规范》架构结构分为封面、扉页、目录、引言、范围、引用文件、术语和计量单位、通用原则、标准物质制备、均匀性评估、稳定性评估、定值、互换性评估、文件编制几个部分。

2、编写原则

本规范根据目前国内外病原微生物核酸标准物质研制的实际工作情况及技术特点，对研制过程中的通用技术进行了规范。在编写过程中，编写的基本原则是以现有标准物质管理办法为基本依据，遵循标准物质通用技术规范的要求，包括JJF 1006《一级标准物质技术规范》、JJF 1342《标准物质研制（生产）机构通用要求》、JJF 1343《标准物质的定值及均匀性、稳定性评估》、JJF 1059.1《测量不确

定度评定与表示》等，对病原微生物核酸标准物质需要特殊说明及加以强调的内容进行了细化和明确的规定。本规范遵照条理清晰、表述准确无歧义、技术要求全面合理、可操作性强等编写原则进行制定，以期为病原微生物核酸标准物质研制者、使用者、管理者等相关人员提供技术参考，进而促进本行业规范发展。

五、规范主要内容

《病原微生物核酸标准物质的研制计量技术规范》共分为以下几个部分：引言、范围、引用文件、术语和计量单位、通用原则、标准物质制备、均匀性评估、稳定性评估、定值、互换性评估、文件编制。

1. 引言

阐述了规范制定的背景、目的意义及规范制定的主要参考标准。

2. 范围

本规范规定了病原微生物核酸标准物质研制的通用原则、制备、均匀性评估、稳定性评估、定值、互换性评估、文件编制等要求，适用于指导病原微生物核酸标准物质的研制。

本规范不适用于定性病原微生物核酸标准物质。

3. 引用文献

列出了本规范参考和引用的文件，包括：

JJF 1005 标准物质通用术语和定义

JJF 1186 标准物质证书和标签要求

JJF 1218 标准物质研制报告编写规则

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 标准物质的定值及均匀性、稳定性评估

JJF 1854 标准物质计量溯源性的建立、评估与表达计量技术规范

JJF***** 检验医学标准物质互换性评估规范

WS/T 356 基质效应与互通性评估指南

ISO 20395 生物技术—核酸目标序列定量方法性能评估要求—qPCR 和 dPCR (Biotechnology—Requirements for evaluating the performance of quantification methods for nucleic acid target sequences—qPCR and dPCR)

ISO/IEC 指南 99 国际计量学词汇 基础通用概念和相关术语 (International vocabulary of metrology-Basic and general concepts and associated terms, VIM)

凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本规范，凡是不注日期的引用文件，其最新版本(包括所有的修订单)适用于本规范。

4. 术语和计量单位

术语和计量单位遵照JJF 1005 《标准物质通用术语和定义》、JJF 1265-2010 《生物计量术语及定义》ISO 20395 生物技术—核酸目标序列定量方法性能评估要求—qPCR 和 dPCR (Biotechnology—Requirements for evaluating the performance of quantification methods for nucleic acid target sequences—qPCR and dPCR)、ISO/IEC 指南 99 国际计量学词汇 基础通用概念和相关术语 (International vocabulary of metrology-Basic and general concepts and associated terms,

VIM) 选择使用, 并给出了与本规范中直接相关及需要特殊提及的的名词术语, 包括: 病原体分离培养、质粒、体外转录RNA、假病毒、基因组、拷贝数、拷贝数浓度。

5. 通用原则

这部分主要描述病原微生物核酸标准物质研制的通用原则, 包括研制要求、标准物质分类、命名规则、标准物质的特性量值及单位。

病原微生物核酸标准物质的研制过程应遵照 JJF1342 及 JJF1343 对标准物质研制的相关要求, 同时应满足国家生物安全相关要求。

目前国内研制的病原微生物核酸标准物质命名无统一的规则。由于此类标准物质存在不同类型, 本规范制定命名规则, 使标准物质从名称上按照统一原则给出必要信息, 使用户从名称上能够清晰的判读出标准物质是否符合使用要求, 能更方便快捷的选择使用。同时, 为了命名规则能够有效使用, 本规范根据标准物质候选物来源方式, 将其分为通过基因工程获得、通过病原体分离培养获得、临床样本及其他, 每种来源方式细分不同的类型, 为目前常见的标准物质给出特定类型。命名规则以注释形式对每一部分进行了特殊说明, 给出了具体示例, 并在附录中详细列出涵盖几乎所有种类的标准物质示例。

6. 标准物质制备

这部分从生物安全性、候选物选择、候选物鉴定及标准物质包装及保存四个方面规定了病原微生物核酸标准物质制备过程中需遵循的原则。

7. 均匀性评估

这部分主要规定了病原微生物核酸标准物质均匀性评估过程中需遵循的原则。

JJF 1343 对标准物质均匀性评估的要求适用于病原微生物核酸标准物质。应根据标准物质的类型、状态等制定均匀性评估方案，选择不低于定值方法精密度的测量方法进行均匀性评估。

8. 稳定性评估

这部分主要规定了病原微生物核酸标准物质稳定性评估过程中需遵循的原则。

JJF 1343 对标准物质稳定性评估的要求适用于病原微生物核酸标准物质。

规定了短期稳定性评估及长期稳定性评估过程中评估时间，多个特性量及多个水平存在时的评估原则。

9. 定值

这部分规定了病原微生物核酸标准物质定值过程中需遵循的原则，包括计量溯源性要求，定值方法的建立与方法确认，定值方式的选择，质量控制，数据评估，定值结果及不确定度。

计量溯源性的建立可参考 JJF1854。

定值方法的建立与方法确认根据病原微生物核酸标准物质的技术特点规定了方法确认的参数，以及样本前处理过程对定值结果的影响，即若核酸提取过程，需要核酸提取效率进行评估。

定值方式的选择主要根据 JJF 1343 的要求，列出了可以选择的 5

种方式，其中前 4 种是常用方法，第 5 种目前尚无以此方法定值的先例，但为了使用方便，仍将其列出。

质量控制部分根据目前病原微生物核酸标准物质常用到的定值方式，对定值过程中需要进行质量控制的过程进行了规定，例如单一实验室定值的，该实验室应定期参加国际比对并取得国际等效；常用的联合定值方式，在定值过程中需采取必要的措施保证定值过程的科学性合理性。

10. 互换性评估

当标准物质含有血清等基质时，应考虑基质效应，评估标准物质互换性。评估方法可参照 WS/T356 和 JJF*** 检验医学标准物质互换性评估规范。

11. 附录

根据分类不同，给出了病原微生物核酸标准物质命名示例。

规范起草小组

2023 年 02 月