

国家计量技术规范规程制修订

《微生物快速浓缩仪校准规范》

(征求意见稿)

编制说明

2025年10月

《微生物快速浓缩仪校准规范》

编制说明

(征求意见稿)

一、任务来源

根据国家市场监督管理总局国家计量技术法规制修订文件（见市监计量发[2024]40号），中国计量科学研究院、中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所、中国测试技术研究院生物研究所共同承担《微生物快速浓缩仪校准规范》的制定工作，归口单位为全国生物计量技术委员会。

二、规范制定的必要性

2019年以来，我国有超过八成的人感染过新型冠状病毒，新冠疫情对经济、教育、就业、环境等社会各个方面及个人生命健康安全均造成了极大的负面影响，为了防治新型传染病，减少疫情造成的危害，需要更加准确、可靠、快速地进行微生物监测。以污水中新冠病毒的监测为例，新冠病毒可侵入感染者的肠道系统并复制，继而随着污水进入城市污水系统，对污水中的新冠病毒进行监测可以在疫情初期发现隐形传播链，在疫情中期阶段可用于预测疫情整体变化趋势、估算疫情感染规模等。

微生物监测的步骤一般包括采样、样品预处理与浓缩、培养和检测，在样品预处理阶段，由于很多从环境采集的微生物样品浓度较低，需要对样品进行富集浓缩，传统的培养富集、过滤和离心方法耗时费力，因此一般选择液相微生物快速浓缩仪对样品进行预处理。液相微生物快速浓缩仪是一种用于快速浓缩液体生物样品的专用设备，可利用高效过滤膜、滤膜折叠压缩过滤吸管、超滤等技术将低浓度样品浓缩为小体积样液，使样液中微生物的浓度适合后续培育和分子生物学检测。

除了污水中新冠病毒的检测，液相微生物快速浓缩仪的应用还包括：

(1) 环境监测：对生活污水、水域、冷凝水、冰层等环境中采集的样品进行浓缩；

(2) 食品生产：食品安全，饮料或水溶性食品检测；

(3) 医药：制药用原料及药物产品检测，临床样本中病原体浓度检测；

(4) 交通：火车，轮船，飞机的污水及国际船舶运输压舱水检测。

目前已出台的《新型冠状病毒肺炎防控法》（第九版）中提到了污水样本的新冠病毒浓缩和检测方法，其中浓缩方法参考了 WS/T 799-2022 《污水中新冠病毒富集浓缩和检测标准》中提到的超滤方法。新冠肺炎疫情期间，多地疾病预防控制中心均采购了液样微生物快速浓缩仪用于微生物监测，但是目前我国针对该仪器没有计量技术规范，仪器厂商、计量校准单位以及疾控中心等使用部门对该仪器没有统一的计量标准，无法保证该仪器的富集效果，从而影响微生物监测结果的可靠性，因此急需制定液态微生物浓缩仪校准规范，保证各个厂商、部门可以根据统一的计量技术规范评估仪器的参数及使用效果，从而保证微生物监测结果的准确性以及可溯源性。

三、《微生物快速浓缩仪校准规范》制定过程

1、2024年5月，国家市场监管总局批准了全国生物计量技术委员会关于《微生物快速浓缩仪校准规范》的立项。

2、2024年7月，项目正式启动，中国计量科学研究院作为主要起草单位，组织4名专业技术人员成立规范制定起草小组，全面落实编制工作。起草小组认真制定了编制计划、实施步骤和实验方案等。

3、2024年8月至9月，起草小组认真查阅国内外相关行业标准和文献等资料，从微生物快速浓缩仪的使用情况、主要原理、性能指标等开展了全面调研。

4、2024年10月至2025年4月，起草小组通过走访、电话咨询及线上沟通等多种方式，对国内外相关仪器生产厂商和使用单位开展了广泛调研。根据调研结果，就规范的架构设定、校准项目等广泛听取了相关专家的建议和意见。专家主要来自仪器生产厂家和仪器使用单位，提出了许多建设性的意见和建议。起草小组经过多次讨论，确定了规范的框架结构、适用范围、计量特性指标、校准方法和测量不确定度评定示例等内容，最终形成了《微生物快速浓缩仪校准规范》的草案。

5、2025年7月-10月，起草小组集中开展了验证实验，对测量数据进行分析和处理，分析确定了实验方案的可行性和适用性，形成了《微生物快速浓缩仪校准

规范》的征求意见稿。

四、规范制定的主要技术依据及原则

(一)、技术依据

《微生物快速浓缩仪校准规范》的制定参考了 JJF 1001《通用计量术语及定义》、JJF 1059.1《测量不确定度评定与表示》、GB4789.10-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验》、WS/T 799-2022《污水中新型冠状病毒富集浓缩和核酸检测方法标准》等标准，按照 JJF 1071《国家计量校准规范编写规则》的要求编制。

(二)、原则

1、构架

根据 JJF 1071《国家计量校准规范编写规则》的要求，本规范构架上包括封面、扉页、目录、引言、范围、引用文件、概述、计量特性、校准条件、校准项目和校准方法、校准结果的表达、复校时间间隔、附录等几个部分。

2、术语与计量单位的选择

术语和计量单位、计量特性、通用技术要求与校准项目和校准方法，原则上与 JJF 1071《国家计量校准规范编写规则》和 JJF 1001《通用计量术语及定义》保持一致。

3、计量特性确定原则

在实际的计量校准研究工作当中，根据微生物快速浓缩仪在实际应用中的主要功能和性能指标，考虑其具体应用的要求，我们结合一定数量、具有代表性的不同型号、不同厂家生产的微生物快速浓缩仪上的实验，确定了本规范的计量特性。

五、规范制定的主要内容及说明

《微生物快速浓缩仪校准规范》的主要内容包括封面、扉页、目录、引言、范围、引用文件、术语和计量单位、概述、计量特性、校准条件、校准项目和校准方法、校准结果表达、复校时间间隔和相应的附录。术语和计量单位、计量特

性、通用技术要求、校准项目 和校准方法等，原则上与 JJF 1071 国家计量校准规范编写规则保持一致。

5.1 引言

按照 JJF 1071 《国家计量校准规范编写规则》要求，编写了引言部分。

5.2 范围

本规范适用于滤膜型和滤柱型液态微生物浓缩或富集类仪器的校准。

（二）、引用文件

《微生物快速浓缩仪校准规范》主要参考了 GB 4789.10-2016 《食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验》、WS/T 799-2022 《污水中新型冠状病毒富集浓缩和核酸检测方法标准》完成本规范的制定。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本规范。

（三）、术语

这一部分对菌落计数单位进行了定义和解释。

（四）、概述

这部分主要描述了微生物快速浓缩仪的组成结构、原理、用途。

（五）、计量特性

在计量特性部分，主要针对微生物快速浓缩仪的组成和性能，选择一定数量的、不同型号的仪器进行试验测定和测试。通过分析一定数量、具有代表性的不同型号、不同厂家生产的微生物快速浓缩仪得到的实验数据，综合微生物快速浓缩仪在实际应用中的主要性能指标，考虑其具体应用的要求，形成本规范确定的计量参数，包括液体流量重复性、细菌回收率和回收率的重复性、病毒回收率和回收率的重复性。

（六）、校准条件

本部分主要规定了微生物快速浓缩仪校准时需要满足的环境条件，以及使用的标准物质、试剂和仪器。在环境条件中，要求校准时实验室温度应当控制在 10°C~30°C 之间，相对湿度≤85%。

（七）、校准项目和校准方法

1、校准前检查与准备

浓缩仪应具有名称、型号、制造厂、出厂编号等标识。各部件齐全连接良好，各旋钮及按键应能正常工作，无影响使用性能的缺陷。

2、液体流量重复性

将 100 mL (或根据浓缩仪浓缩体积范围) 无菌水注入一个空烧杯 (或浓缩仪自带的容器)，将排水口通至另一个预先称重过的空烧杯 m_0 ，同时启动秒表和浓缩仪，待抽取完毕后，停止计时，用天平称量烧杯和无菌水的总质量 m ，计算得出仪器流量实测值 Q_m 。重复测量 6 次，按照公式 (1) 和公式 (2) 计算得到液体流量相重复性 S_r ，重复性以单次测量的相对实验标准偏差表示。

$$Q_m = \frac{m - m_0}{\rho \times t} \quad (1)$$

$$S_r = \frac{1}{\bar{Q}} \times \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Q_i - \bar{Q})^2}{(n-1)}} \times 100\% \quad (2)$$

式中： Q_m ——液体流量实测值， mL/s；

m ——烧杯和无菌水的总质量， g；

m_0 ——空烧杯质量， g；

ρ ——试验温度下水的密度， g/mL；

t ——收集液体的时间， s；

\bar{Q} ——液体流量 6 次测量值的平均值， mL/s；

Q_i ——第 i 次测量，液体流量的测量值， mL/s；

S_r ——流量重复性， %；

n ——测量次数。

3、细菌回收率和回收率的重复性

在生物安全柜中, 将已知浓度的金黄色葡萄球菌平板计数标准物质(或其他符合技术要求的细菌计数标准物质)加入到100 mL(或根据浓缩仪浓缩体积范围)无菌水中, 混合摇匀。打开浓缩仪进行浓缩, 取0.1 mL浓缩液加入到培养平皿里, 用涂布棒涂布均匀, 在(37±1) °C培养48 h。设置3个平行组。对3个平行组平皿里的菌落进行计数, 计算平均值计为 C_b 。按公式(3)计算细菌回收率。重复测量3次, 按公式(4)用极差法计算得到细菌回收率的重复性 H_b 。

$$R_b = \frac{C_b \times V_b}{C_{b0} \times V_{b0}} \times 100\% \quad (3)$$

式中: R_b —细菌回收率, %;

C_b —浓缩液中细菌的浓度, CFU/mL;

V_b —浓缩液的体积, mL;

C_{b0} —加入细菌液体中细菌的浓度 CFU/mL;

V_{b0} —加入细菌液体的体积, mL。

$$H_b = \frac{H_{b\max} - H_{b\min}}{C_n} \quad (4)$$

式中: H_b —细菌回收率的重复性, %;

$H_{b\max}$ —细菌回收率测量结果中的最大值, %;

$H_{b\min}$ —细菌回收率测量结果中的最小值, %;

C_n —极差系数, $C_3=1.77$ 。

4、病毒回收率和回收率的重复性

将已知浓度的新型冠状病毒全序列假病毒RNA标准物质加入到100 mL(或根据浓缩仪浓缩体积范围)无菌水中, 混合摇匀。打开浓缩仪进行浓缩, 按照病毒核酸提取试剂盒说明, 取适量浓缩液进行核酸提取, 提取完成后应立即封盖并马上进行实时荧光定量PCR检测。按公式(5)计算病毒回收率。重复测量3次,

按公式(6)用极差法计算得到病毒回收率的重复性 H_v 。

$$R_v = \frac{C_v \times V_v}{C_{v0} \times V_{v0}} \times 100\% \quad (5)$$

式中: R_v ——病毒回收率, %;

C_v ——浓缩液中病毒的浓度, copies/mL;

V_v ——浓缩液的体积, mL;

C_{v0} ——加入病毒液体中病毒的浓度 copies/mL;

V_{v0} ——加入病毒液体的体积, mL。

$$H_v = \frac{H_{v_{\max}} - H_{v_{\min}}}{C_n} \quad (6)$$

式中: H_v ——病毒回收率的重复性, %;

$H_{v_{\max}}$ ——病毒回收率测量结果中的最大值, %;

$H_{v_{\min}}$ ——病毒回收率测量结果中的最小值, %;

C_n ——极差系数, $C_3=1.77$ 。

(八)、校准结果表达

经校准后的浓缩仪应核发校准证书,校准证书应符合JJF 1071—2010中5.12的要求,并给出各校准项目名称和测量结果以及扩展不确定度。校准原始记录格式(推荐性表格)见附录D,校准证书内页格式(推荐性表格)见附录E。

(九)、复校时间间隔

浓缩仪复校准间隔建议一般不超过1年。由于复校时间间隔的长短是由浓缩仪的使用情况、使用者、浓缩仪本身质量等诸因素所决定的,因此,送校单位可根据实际使用情况自主决定复校时间间隔。

六、不确定度评定

按照 JJF 1071-2010《国家计量校准规范编写规则》和 JJF1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》相关要求，编写了校准结果的不确定度评定实例（详见校准规范附录 F）。

七、总结

在本规范的制定过程中，规范起草组以大量技术资料及相关标准、实验数据为技术依据，本着科学合理、易于操作和普遍适用的原则，制定了《微生物快速浓缩仪校准规范》。

《微生物快速浓缩仪校准规范》起草小组

2025 年 10 月