

JJF

中华人民共和国国家计量技术规范

JJF × × × ×—202×

病毒计数标准物质研制（生产）技 术要求

Technical Requirements for Preparation (Production) of Viral Count
Reference Materials

202×-××-××发布

202×-××-××实施

国家市场监督管理总局 发布

病毒计数标准物质研制 (生产) 技术要求

JJF ××××—202×

Technical Requirements for Production
of Viral Count Reference Materials

归口单位：全国标准物质计量技术委员会

主要起草单位：

参加起草单位：

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：

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	III
1 范围	0
2 规范性引用文件	0
3 术语和定义	1
3.1 病毒 virus	1
3.2 病毒计数标准物质 viral count reference material	1
3.3 标准毒株 reference viral strain	1
3.4 细胞病变效应 cytopathic effect (CPE)	1
3.5 感染复数 multiplicity of infection (MOI)	1
3.6 流式细胞计数 flow cytometry counting	2
3.7 滴度 titer	2
3.8 操作定义的被测量 operationally defined measurand	2
3.9 空斑形成单位 plaque-forming unit	2
4 通用性原则	3
4.1 基本要求	3
4.2 量值类型	3
4.3 测量系统	3
4.4 生物安全防护要求	3
5 研制策划	4
5.1 预期用途与特性量值策划	4
5.2 候选物的选择与鉴定	4
5.3 互换性评估策划	5
5.4 生物安全风险策划	5
5.5 稳定性预研策划	5
6 制备	5
6.1 宿主系统与扩增工艺控制	5
6.2 纯化与背景杂质清除	6
6.3 灭活工艺控制（适用时）	6
6.4 基质配制与保护剂要求	6
6.5 分装、冻干与过程防污染	6
7 均匀性评估	7
7.1 基本要求	7
7.2 抽样与测量设计要求	7
7.3 数据处理与不确定度评定要求	7
8 稳定性评估	8
8.1 基本要求	8
8.2 评估方案	8
8.3 数据处理与不确定度评定要求	8
9 定值与不确定度评定	8
9.1 定值方式的选择	8
9.2 测量设计要求	10
9.3 测量操作控制要求	11

9.4	数据评估与统计处理.....	11
9.5	测量不确定度评定要求.....	12
10	计量溯源性.....	12
10.1	基本要求.....	12
10.2	溯源路径.....	12
10.3	支持性信息.....	12
11	研制报告和证书.....	13
11.1	研制报告.....	13
11.2	证书和标签.....	13
12	保存、包装和运输.....	14
12.1	基本要求.....	14
12.2	保存要求.....	14
12.3	包装和运输要求.....	14

国家标准物质计量技术委员会征求意见稿

引 言

病毒计数标准物质广泛应用于细胞与基因治疗、疫苗制造、环境监测、生物安全防护等领域，在仪器校准、质量控制、方法确认与能力验证等活动中发挥重要作用。为规范病毒计数标准物质的研制（生产）活动，保障其特性（量）值的可靠性、一致性与可比性，制定本规范。

本规范以 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》和 JJF 1218《标准物质研制报告编写规则》为依据，结合病毒作为专性细胞内寄生生物的生物学特性以及病毒计数标准物质的技术特点，对病毒计数标准物质研制过程中的关键技术要素提出要求和指导。规范内容包括研制策划、制备、均匀性评估、稳定性评估、定值、不确定度评定、研制报告与证书，以及保存和运输等方面。

本规范为首次发布。

国家标准物质计量技术委员会征求意见稿

病毒计数标准物质研制（生产）技术要求

1 范围

本规范规定了病毒计数标准物质的研制策划、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，适用于人工改造病毒载体、疫苗毒株、动物病毒、植物病毒、噬菌体等国家标准物质的研制，也可为其类型标准物质的研制提供参考。

2 规范性引用文件

下列文件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。

注：对于不注日期的引用文件，如果最新版本未包含所引用的内容，那么包含了所引用内容的最后版本使用。

JJF 1001 通用计量术语及定义

JJF 1005 标准物质通用术语和定义

JJF 1059.1 测量不确定度评定与表示

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

JJF 2308 标准物质研制（生产）实验室病原微生物生物安全通用要求

GB/T 8170 数值修约规则与极限数值的表示和判定

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

GB/T 43355 塑料和其他无孔材料表面抗病毒活性的测定

GB/T 43823 纺织品 纺织产品抗病毒活性的测定

WS 233 病原微生物实验室生物安全通用准则

中华人民共和国国务院令 第 424 号：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（WHO: Guidance on regulations for the transport of infectious substances）

国际民用航空组织：危险物品航空安全运输技术细则（International Civil Aviation Organization: Technical instructions for the safe transport of dangerous goods by air）

3 术语和定义

JJF 1001、JJF 1005和JJF 1265界定的及以下术语和定义适用于本规范。

3.1 病毒 virus

一类由核酸和蛋白组成的非细胞结构生物，不能独立生存只能借助宿主细胞复制。主要分为RNA病毒和DNA病毒。

【JJF 1265，4.105】

3.2 病毒计数标准物质 viral count reference material

具有足够均匀和稳定的特性，并赋予了活性病毒颗粒数或完整病毒颗粒数等特性（量）值，适用于特定用途的标准物质。

3.3 标准毒株 reference viral strain

由国内或国际菌（毒）种保藏机构保藏，且至少明确至属或种水平，其特性经确认并能够保持稳定和可追溯的病毒毒株。

3.4 细胞病变效应 cytopathic effect (CPE)

病毒侵染导致宿主细胞的形态改变或破坏。

【GB/T 43355】

3.5 感染复数 multiplicity of infection (MOI)

在病毒感染实验中，使用的病毒颗粒数量与宿主细胞数量的比值，用于描述每个

宿主细胞理论平均感染的病毒颗粒数。

3.6 流式细胞计数 flow cytometry counting

一种对悬液中单细胞或颗粒、微生物或细胞器等进行单个快速识别、分析、计数和分离的技术。

【JJF 1265, 5.28】

3.7 滴度 titer

被测生物物质或生物体的稀释倍数。

【JJF 1265, 5.34】

注：滴度分为物理滴度与感染性滴度。物理滴度表征特定体积或质量内，病毒物理实体或其特征组分数量（如特征序列基因组拷贝数、结构完整颗粒数等），其量值仅反映物理存在量，不反映病毒的生物学感染功能。感染性滴度表征在特定的生物测量系统（如受控的宿主细胞系）下，能够引起可观测生物学效应（如细胞病变、空斑形成、荧光报告基因表达等）的病毒活性单位浓度。在计量学上属于操作定义的被测量。

3.8 操作定义的被测量 operationally defined measurand

由被广泛接受的、文件化的测量程序定义的被测量，只有使用同样测量程序得到的结果才具可比性。

【JJF 1342】

3.9 空斑形成单位 plaque-forming unit

表示单位体积中感染性活病毒浓度的单位。

【GB/T 43355, 有修改】

4 通用性原则

4.1 基本要求

病毒计数标准物质的研制应符合JJF 1342、JJF 1343等关于标准物质研制、定值、均匀性、稳定性和不确定度评定的通用要求。

4.2 量值类型

鉴于病毒颗粒的组装机制与感染特性，病毒计数标准物质的特性量值在计量学上呈现显著的二元性。研制活动必须基于明确的操作定义的被测量展开。

a) 物理滴度：表征特定体积内病毒物理颗粒或其特征组分数量（如特征序列基因组拷贝数、结构完整颗粒数等），其量值不反映病毒颗粒的生物学功能。

b) 感染性滴度/活病毒数目：表征在特定测量系统下，能够引起可观测生物学效应（如细胞病变、空斑形成、报告基因表达）的活性单位数量。

研制机构在策划与定值全过程中，严禁在未经严密方法学确证的前提下，将物理滴度与感染性滴度进行直接的等同、混用或线性换算。

4.3 测量系统

对于以感染性滴度作为标称特性的病毒计数标准物质，其测量系统有别于传统的仪器分析系统，活的宿主细胞是该测量系统的核心感测元件。测量程序的复现性高度依赖于宿主系统的生理状态。因此，在标准物质的研制、定值与量值传递过程中，必须将宿主细胞系的选择、代次限制、培养条件及感染复数（MOI）等生物学变量纳入计量控制体系，并作为不确定度评定的重要来源。

4.4 生物安全防护要求

病毒属于病原微生物或潜在的生物危害源，其标准物质的研制场所、设施设备、操作活动、感染性废弃物处理及产品运输，必须严格遵守GB 19489、WS 233以及《病原微生物实验室生物安全管理条例》等国家法律法规的要求。

研制机构应针对标准物质高浓度扩增与大批量分装/冻干的产业化属性，开展专项生物安全风险评估。对于非灭活的候选物，必须采取具有防气溶胶泄漏验证的物理屏

障（如隔离器系统或高级别生物安全柜），以消除生产全周期的环境暴露与人员感染风险。

5 研制策划

5.1 预期用途与特性量值策划

5.1.1 标准物质研制机构应根据市场和客户需求，承担病毒计数标准物质研制（生产）项目策划和管理、特性值及不确定度的评定、特性值的认定和报批等关键技术与管理环节，不得分包；辅助性、非关键技术工作如需委托外部机构，应进行技术合理性论证并实施有效质量控制。

5.1.2 研制机构应在策划阶段明确该病毒计数标准物质的预期用途，并据此确定其标称特性：

a) 若预期用于核酸扩增仪器的校准、基因检测下限的评估，应优先策划以物理滴度（如特征序列拷贝数）定值。

b) 若预期用于细胞与基因治疗（CGT）药物剂量评估、疫苗免疫原性评价、抗病毒性能、生物防护装备（如口罩、防护服）过滤效率评价或环境采样器生物存活率评价，必须策划以感染性滴度（如活病毒浓度）定值，或同时提供物理滴度与感染性滴度。

5.2 候选物的选择与鉴定

研制机构应对原始毒种（候选物）进行系统性的身份确证和纯度评估，确保其符合标准毒株的相关特征。鉴定内容应包括：

5.2.1 分子生物学鉴定：应通过全基因组测序（NGS）或针对关键保守基因的序列分析，确证其种属、血清型及基因分型。对于人工改造的重组病毒载体，应核实载体骨架及外源插入片段的序列正确性。

5.2.2 形态学鉴定：应利用透射电子显微镜（TEM）等形态学观测手段，观察病毒颗粒的大小、形状及对称性等结构特征，确保其符合目标病毒的典型形态特征。

5.2.3 免疫学鉴定：应采用免疫斑点试验、酶联免疫吸附试验（ELISA）或蛋白质免疫印迹（WB）等免疫学方法，检测病毒表面的特异性抗原蛋白，确证其血清学特性。

5.2.4 纯度鉴定(外源因子筛查):应进行排除性检测,确保候选物不含有支原体、细菌、真菌以及非目标的潜伏性病毒污染物,避免对后续定值测量系统造成干扰。

5.3 互换性评估策划

5.3.1 对于拟用于不同测量原理或不同检测系统间量值比对的病毒计数标准物质(如用于校准基于不同宿主细胞系的测量程序),研制机构应策划并开展互换性评估。

5.3.2 应评估候选物质在不同测量程序间的响应特性是否与真实待测样本一致。若评估显示不具备互换性,应在标准物质证书中明确限定其适用的测量程序或宿主系统。

5.4 生物安全风险策划

5.4.1 应根据病毒候选物的危害等级,策划相应的生物安全防护等级(BSL)及管控措施,并确立批量制备过程中的防气溶胶泄漏策略。

5.2.2 替代与灭活策略:对于高致病性病毒,策划阶段应优先论证采用非致病性替代物(如假病毒、噬菌体、基因缺陷株)或灭活候选物的可行性,并评估此类策略对标称特性的影响。

5.5 稳定性预研策划

在正式研制前,宜开展初步的稳定性实验,筛选适宜的基质保护剂以及保存形式(如液体深度冷冻、冻干等),确保特性量值在预期研制周期内的基本稳定。

6 制备

6.1 宿主系统与扩增工艺控制

病毒候选物的批量扩增必须在高度受控的宿主系统(如细胞系、鸡胚等)中进行,以最大程度保证批次间质量的一致性并降低缺陷颗粒的产生:

6.1.1 细胞库系统要求:必须建立并使用规范的宿主主细胞库和工作细胞库,严禁使用代次不清、未经验证或连续传代可能发生性状改变的细胞系进行批量扩增。

6.1.2 扩增动力学参数:必须通过预实验确定并严格执行最佳的感染复数(MOI)、培养温度与收毒时间窗。若候选物预期定值为感染性滴度,扩增工艺应尽可能优化,

以降低死病毒、缺陷干扰颗粒或无核酸空壳颗粒的比例。

6.2 纯化与背景杂质清除

病毒收获液必须经过适宜的纯化工艺（如超速离心、切向流过滤、层析等），以去除宿主细胞碎片及培养基成分，并满足以下特定计量要求：

6.2.1 游离核酸的清除：若候选物预期定值为物理滴度（特征序列拷贝数），必须在工艺中引入核酸酶消化等步骤，彻底清除游离于病毒衣壳外的宿主核酸及病毒裂解释放的核酸，确保所测定值为结构完整包装的核酸量。

6.2.2 无效/空壳颗粒的分离：对于特定类型的重组病毒载体（如 AAV 腺相关病毒），应尽可能通过纯化工艺（如密度梯度离心）降低空壳颗粒等非功能性颗粒的比例，并在基质配制前评估纯化产物的实心率。

6.3 灭活工艺控制（适用时）

若研制机构采取物理（如热灭活、紫外照射）或化学（如甲醛）手段制备灭活型病毒计数标准物质，必须满足以下控制要求：

6.3.1 灭活彻底性验证：必须确立标准化的灭活操作程序，并对同批次灭活后的样品进行灭活彻底性验证，验证报告应归入研制档案。

6.3.2 损耗评估：必须量化评估灭活工艺对预期目标特性的潜在破坏效应（如过度加热导致核酸片段化或衣壳蛋白抗原性丧失），确保灭活后的候选物仍能满足其预期用途。

6.4 基质配制与保护剂要求

6.4.1 鉴于病毒极易受到温度波动、pH 变化及机械剪切力的破坏，必须针对性地筛选并添加缓冲体系、冷冻保护剂或稳定剂。

6.4.2 必须对所添加的基质和保护剂进行本底筛查，证明其不含有干扰目标测量的核酸背景序列，且不含有针对目标病毒的中和抗体或抑制因子。

6.5 分装、冻干与过程防污染

6.5.1 冻干工艺控制：若制备冻干粉剂，应开发、验证并固化冻干曲线。冻干结束

后，应在真空或高纯惰性气体保护下进行压塞封口，并控制残余水分含量在既定指标范围内，以保证长期稳定性。

6.5.2 生物气溶胶防护：非灭活的活病毒高浓度悬液的大批量分装或冻干操作，极易产生高危生物气溶胶。该环节必须在具备防气溶胶泄漏验证的物理屏障（如隔离器系统或带有防溅射罩的高级别生物安全柜）内进行，相关排风必须经高效空气过滤器严格过滤。

7 均匀性评估

7.1 基本要求

7.1.1 病毒计数标准物质应按照 JJF 1343 的要求开展瓶间均匀性评估。若存在规定最小取样量，还应开展瓶内均匀性评估。

7.1.2 均匀性评估的测量程序必须与定值测量程序具有相同的测量原理与相近的精密度，且应满足第 5 章中关于核心变量控制的相关要求。

7.2 抽样与测量设计要求

7.2.1 研制机构必须采用随机抽样（如随机数表法），抽样数量不得少于 JJF 1343 规定的最低单元数（通常为 15 个或总体数量的 $\sqrt[3]{N}$ ）。

7.2.2 每个抽样单元的独立重复测量次数不得少于 3 次。测量顺序必须随机化，以消除测量系统随时间漂移引入的系统误差。

7.2.3 聚集效应控制：鉴于病毒颗粒极易发生物理聚集，在均匀性抽样与测量前，研制机构必须在标准操作规程中规定标准化的复溶与分散程序（如规定特定的温和涡旋时间、移液器吹打次数或温和超声条件），以确保测得的是真实的悬液均匀度。

7.3 数据处理与不确定度评定要求

7.3.1 均匀性检验数据应首先进行趋势分析与离群值检验。除非有明确的实验失误记录，严禁随意剔除离群值。

7.3.2 必须采用单因素方差分析法(ANOVA)等规范的统计学工具进行数据评估。由组间方差提取出的均匀性标准偏差，必须作为标准不确定度分量计入该标准物质的

合成标准不确定度中。

8 稳定性评估

8.1 基本要求

8.1.1 研制机构必须按照 JJF 1343 的要求开展长期稳定性评估和短期稳定性评估。

8.1.2 鉴于病毒（尤其是其感染活性）对温度和环境应力的极度敏感性，稳定性评估的周期与测试频率设置，应充分覆盖其预期的生命周期及可能面临的极端工况。

8.2 评估方案

8.2.1 物理与感染性滴度的差异化评估：若候选物同时定值了物理滴度与感染性滴度，必须分别对两类特性的稳定性进行评估。不得以物理滴度的稳定来推定感染性滴度的稳定。

8.2.2 冻融稳定性要求：对于需要冷冻保存的病毒液体标准物质，必须增加反复冻融的稳定性考察要求，并评估冻融循环次数对特性量值的影响。

8.3 数据处理与不确定度评定要求

稳定性数据必须趋势分析方法（如线性回归模型）进行显著性检验。由稳定性评估引入的不确定度（包括长期稳定性和短期稳定性），必须量化并计入最终的不确定度评定中。

9 定值与不确定度评定

9.1 定值方式的选择

研制机构应根据病毒候选物的特性、预期用途以及现有测量技术的成熟度，从 JJF 1343 规定的定值方式中选择合理的途径：

9.1.1 采用一家实验室的单一测量程序定值：仅当存在国际公认的参考测量程序（RMP）时适用。

9.1.2 采用一家实验室的两种或两种以上不同原理的测量程序定值：适用于缺乏 RMP，但研制机构掌握数字 PCR、流式细胞术、显微成像等多项经过确证的高等级测量程序，且能证明各程序间不存在显著系统偏倚的情况。

9.1.2.1 不同测量程序在测量原理上应有足够的差异，且独立数据组的数量不应少于 6 个。采用两种测量程序定值时，一种测量程序需要提供至少 6 个独立数据方可作为一个独立数据组；采用三种或三种以上测量程序定值时，一种测量程序需要提供至少 5 个独立数据方可作为一个独立数据组。

9.1.2.2 测量程序的计量控制应接近参考测量程序的水平，并经过有效证实，研制（生产）机构应根据 ISO/IEC 17025 进行适当的测量程序确认研究，并评估测量不确定度。

9.1.2.3 该定值模式用于一级标准物质的定值时，应经由至少另外三家实验室开展确认测量，且确认测量所采用的测量程序应覆盖定值所用全部测量程序。确认测量应选择能力获得证明的实验室，能力证明包括：

- a) 以往实验室比对、能力验证、测量审核结果；或针对相同被测量的、ISO/IEC 17025 或其他相关标准的第三方符合性评估结果；
- b) 方法确认数据；
- c) 全面可靠的不确定度评定记录；
- d) 采用有证标准物质开展质控的结果，如果有同类标准物质则优先使用。

9.1.3 多家实验室联合定值：当使用常规生物学测量程序（如传统的空斑法、TCID₅₀ 法）时，原则上必须采用多家实验室联合定值。研制机构应对参与定值实验室的资质、人员能力及核心试剂/宿主细胞的一致性提出明确的准入与控制要求。

9.1.3.1 采用两种或两种以上可证明准确度的测量程序合作定值时，应满足如下要求：

- a) 主导实验室应具备全部测量程序的测量能力；
- b) 合作定值实验室所采用的测量程序应覆盖全部测量程序；
- c) 应尽可能选择能较好代表不同测量原理的测量程序，不同实质的测量原理应不少于两个；
- d) 独立数据组的数量不应少于 9 个。每个独立数据组应至少包含 2 个单元的测定结果，且不少于 6 个独立数据。

注：该定值模式下，一家实验室采用一种测量程序所得结果可作为一个独立数据组。

9.1.3.2 使用一种可证明准确度的测量程序时,应经由不少于 6 个实验室合作定值。每个参加定值的实验室至少测定 3 个单元,提供不少于 9 个独立数据。

注:该定值模式仅适用于二级标准物质的定值。

9.1.3.3 采用合作定值方式时,主导实验室应定期参加基于国际等效测量能力开展的计量比对、能力验证、测量审核并取得满意结果。

9.1.3.4 采用合作定值方式时,应选择在实验室能力方面具有代表性且能力获得证明的参加者。能力证明包括:

a) 以往实验室比对、能力验证、测量审核结果;或之前参与相同被测量标准物质定值的结果;或针对相同被测量的、ISO/IEC 17025 或其他相关标准的第三方符合性评估结果;

b) 方法确认数据。

9.1.3.5 采用合作定值方式时,应满足如下要求:

a) 合作定值实验室采用有证标准物质开展质控,如果有同类标准物质则优先使用;

b) 合作定值实验室应通过主导实验室组织的盲样考核;

c) 主导实验室与合作定值实验室签订定值协议,协议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;

h) 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;

i) 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。

9.2 测量设计要求

9.2.1 定值实验必须进行合理的独立分层设计。用于定值的测量单元数(n)和每个单元的独立重复测量次数(m)应保证足够的统计学自由度。对于多家实验室定值,

每家实验室测量的独立单元数应不少于 3 个；对于单家实验室定值，独立单元数应不少于 15 个。

9.2.2 独立性保障：必须保证每次定值测量的绝对独立性。同一定值单元的重复测量应在不同日期、由不同操作人员、使用独立复苏的宿主细胞（适用时）及重新配制的试剂进行，以充分反映常规测量条件下的组间与组内变异。

9.3 测量操作控制要求

定值测量过程中，必须实施严格的质量控制，包括但不限于：

- a) 提供定值所用关键仪器设备（如移液器、天平、流式细胞仪、数字 PCR 仪、高内涵显微镜等）在有效期内的检定/校准证书；
- b) 提供定值所用标准物质（如用于质控提取效率的质粒标准物质、用于校准仪器光路的微球）的计量溯源性证明；
- c) 对所有用于定值的宿主细胞系进行代次记录与状态检查，确保其完全符合本规范条款的控制要求；
- d) 每次定值实验必须同步设置空白对照（未感染细胞/缓冲液）、阴性对照及阳性质控品（适用时），以监控系统本底及交叉污染；
- e) 详尽记录所有与定值相关的重要原始数据（包括取样体积、稀释倍数、阈值设定参数、异常事件等）并保证全链条可追溯。

9.4 数据评估与统计处理

定值数据的审核、评估和统计处理必须严格按 JJF 1343 和 JJF 1059.1 的要求进行：

9.4.1 数据分布检验：应对各组或各实验室的测量结果进行正态性检验。当数据呈偏态分布或对数正态分布时，应在对数转换后进行后续统计处理。

9.4.2 离群值处理：应采用 Dixon 准则、Grubbs 准则或 Cochran 检验评估数据的离散性。针对基于宿主细胞表型的活病毒定值，其固有离散性极易导致极值出现。在剔除所谓的“离群值”前，必须结合实验原始记录进行技术溯源；若非明确的操作失误（如孔板干涸、污染、仪器故障），严禁单纯依据统计学准则随意剔除数据。

9.4.3 定值结果计算：对于单家实验室的多个单元测量，以总平均值（或对数平均值）作为特性量值的估计值；对于多家实验室联合定值，在证明各实验室数据等精度且无显著差异后，以各实验室平均值的总平均值作为定值结果。

9.5 测量不确定度评定要求

必须按照 JJF 1059.1 的要求评定合成标准不确定度。对于病毒计数标准物质，其不确定度分量必须包括但不限于：

- a) 瓶间不均匀性引入的不确定度；
- b) 长期与短期稳定性引入的不确定度；
- c) 定值过程的 A 类统计不确定度；
- d) 定值测量程序（特别是本规范中明确的宿主细胞状态、时间窗、感染复数、离散事件统计模型的前提假设偏离）引入的 B 类不确定度；
- e) 稀释、取样体积、泊松分布模型偏离等引入的 B 类不确定度。

10 计量溯源性

10.1 基本要求

应依据 JJF 1854 的要求，对病毒计数标准物质特性量值的计量溯源性进行评估。

10.2 溯源路径

对于特性量值为物理滴度（如基因组拷贝数、总颗粒数）的标准物质，其量值必须通过不间断的校准链，溯源至国际单位制（SI）的计数单位“一”（符号：1）及体积的法定计量单位（如 mL、L）。采用数字 PCR 等离散计数仪器时，应溯源至仪器的检定/校准以及明确的泊松分布统计模型。

对于特性量值为感染性滴度（如 PFU、TCID₅₀）的标准物质，属于操作定义的被测量。其量值溯源性不仅取决于统计学模型，也依赖于对特定测量程序的严格依从。研制机构必须通过详尽的标准操作文件（固化宿主种类、代次、MOI、判读阈值等），确保该量值在规定测量系统内的复现性，即“量值溯源至被严格定义且经验证受控的测量程序”。

10.3 支持性信息

应在研制报告中提供计量溯源性相关的支持性信息，包括但不限于：

a) 被测量的充分说明，包括必要的确证，明确说明定值结果代表的是总颗粒数还是活病毒数；

b) 有关测量程序的确认过程、结果的信息，如提供泊松分布适用性、稀释线性、侵染效率等实验确认数据；

c) 定值模式；

d) 量值及不确定度的规范表述；

e) 所采用定值测量程序的理论基础、测量模型；

f) 量值及不确定度评估方法及过程；

g) 质量、容量等计量器具的检定或校准证书；

h) 定值使用的宿主细胞信息。

11 研制报告和证书

11.1 研制报告

11.1.1 应依据 JJF 1218 的要求以及标准物质管理部门的规定，编制病毒计数标准物质研制报告。

11.1.2 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；应说明涉及影响标准物质使用的任何信息，包括生物安全信息。

11.1.3 针对病毒标准物质的特殊性，还必须补充提供：

a) 候选物外源因子筛查及全基因组/特征序列测序的确证图谱或报告；

b) 宿主细胞库的检测报告与代次记录。

11.2 证书和标签

11.2.1 病毒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。

11.2.2 病毒计数标准物质证书的内容应包含使用过程中防护装备的穿戴、剩余样品的处理等生物安全注意事项。

11.2.3 应充分考虑储存温度对标签的影响，必要时可采用防冻标签。

12 保存、包装和运输

12.1 基本要求

JJF 1342 对标准物质包装、保存和运输的要求适用于病毒计数标准物质。

12.2 保存要求

病毒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。

12.3 包装和运输要求

12.3.1 包装应满足病毒计数标准物质的预期用途。宜选用免吸附、无活性抑制效果的包装材料。

12.3.2 复制批标准物质生产时，包装形式和材质的更换应经过适当的评估。

12.3.3 涉及病原微生物或感染性物质的标准物质，其包装和运输应满足《病原微生物实验室安全管理条例》、世界卫生组织《感染性物质运输指南》及国际民航组织《危险性物品航空安全运输技术细则》等要求。

注 1：包装材料和运输容器通常应符合防水、防破损、防外泄、耐高（低）温、耐高压，能承受在-40℃至+55℃温度范围内 95 kPa 的内部压力而无渗漏的要求。

注 2：标签、包装及运输容器上通常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。
