



中华人民共和国国家计量技术规范

JJF xxxx—202x

微生物鉴定与药敏分析系统校准规范

Calibration Specification of Microbial Identification and Antimicrobial
Susceptibility Testing Systems

(征求意见稿)

202x—xx—xx 发布

202x—xx—xx 实施

国家市场监督管理总局 发布

微生物鉴定与药敏分析系统 校准规范

JJF xxxx—202x

Calibration Specification for Microbial Identification
and Antimicrobial Susceptibility Testing Systems

归口单位：全国生物计量技术委员会

主要起草单位：中国计量科学研究院

参加起草单位：江苏省计量科学研究院

本规范委托全国生物计量技术委员会负责解释

本规范主要起草人：

参加起草人：

目 录

| | |
|--------------------------|------|
| 引言..... | (II) |
| 1 范围..... | (1) |
| 2 引用文件..... | (1) |
| 3 术语和计量单位..... | (1) |
| 3.1 准确度（测量）..... | (1) |
| 3.2 分析物..... | (1) |
| 3.3 抗菌谱..... | (1) |
| 3.4 类别协议..... | (1) |
| 4 概述..... | (2) |
| 5 计量特性..... | (2) |
| 6 校准条件..... | (2) |
| 6.1 环境条件..... | (2) |
| 6.2 校准设备..... | (2) |
| 7 校准项目和校准方法..... | (3) |
| 7.1 温度示值误差和温度波动度..... | (3) |
| 7.2 温度波动度..... | (3) |
| 7.3 光源照度重复性和光源照度重复性..... | (4) |
| 8 校准结果表达..... | (5) |
| 8.1 校准结果处理..... | (5) |
| 8.2 校准结果的测量不确定度..... | (5) |
| 9 复校时间间隔..... | (5) |
| 附录 A 校准原始记录格式..... | (6) |
| 附录 B 校准证书（内页）格式..... | (7) |
| 附录 C 测量不确定度评定示例..... | (8) |
| 附录 D 参考文献..... | (11) |

引 言

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》共同构成支撑本规范制定工作的基础性系列规范。校准方法及计量特性的选择等主要参考了JJF 1101-2019《环境试验设备温度、湿度校准规范》、JJF 1287-2011《澄明度检测仪校准规范》、YY/T 1531-2017《细菌生化鉴定系统》、CNAS-GL41《临床微生物检验程序验证指南》、CLSI M50-A 商品化微生物鉴定系统的质量控制 批准指南（Quality Control For Commercial Microbial Identification Systems; Approved Guideline）、CLSI M52 商品化微生物鉴定与药敏分析系统的验证（Verification of Commercial Microbial Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing Systems）和CLSI M100 抗微生物药物敏感试验执行标准 第29版（Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 29th Edition）。

本规范依据JJF 1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》给出了温度示值误差的校准结果测量不确定度及评定示例。

本规范为首次发布。

微生物鉴定与药敏分析系统校准规范

1 范围

本规范适用于采用光学原理对临床细菌进行种属水平鉴定和抗菌药物敏感试验的微生物鉴定与药敏分析系统的校准，不适用于微生物质谱和分子鉴定系统的校准。

2 引用文件

本规范引用了下列文件：

JJF 1101-2019 环境试验设备温度、湿度校准规范

JJF 1287-2011 澄明度检测仪校准规范

YY/T 1531-2017 细菌生化鉴定系统

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。

3 术语和计量单位

JJF 1101-2003、JJF 1287-2011、YY/T 1531-2017、CNAS-GL028、CLSI M50-A、CLSI M52 和 CLSI M100 中界定的及以下术语和定义适用于本规范。

3.1 准确度（测量）accuracy (measurement) 【CLSI M52】

测量结果与被测量真值之间的一致程度。

注1：在规范中使用“分析物”代替“被测量”。

注2：在微生物学中，对应微生物鉴定系统正确鉴定被测生物的能力；

注3：对于药敏试验，对应药敏分析系统结果与使用适当的参考方法为同一分离株产生的结果的一致性。

3.2 分析物 analyte 【CLSI M52】

以可测量数量的名称表示的成分。

注：在微生物学中，分别测试底物或抗生素以确定微生物鉴定或药敏试验结果。

3.3 抗菌谱 antibiogram 【CLSI M52】

一系列微生物对一系列抗生素的敏感性测试结果。

3.4 类别协议 category agreement (CA) 【CLSI M52】

折点测试或最低抑菌浓度测试与参考方法（根据ISO 20776-27修改）之间敏感、中介、剂量依赖性敏感和耐药结果的一致性；

注：该概念的另一种表示形式： $\frac{N_{CA} \cdot 100}{N}$ ，其中： N_{CA} 是与参考或比较方法类别结果相同的敏感、中介、剂量依赖性敏感和耐药类别的微生物分离株的数量； N 是测试的微生物分离株的总数（根据ISO 20776-27修改）。

4 概述

微生物鉴定与药敏分析系统（以下简称系统）是可同时做细菌鉴定和药敏试验的仪器，系统采用传统的光电比色法和快速荧光法进行细菌鉴定，采用光电比浊法和荧光测定法进行药敏试验。系统工作时，在恒温孵育环境下，由光路部分发出的单色光扫描每块试剂板上的分析物，通过光电比色、光电比浊或荧光测定细菌因分解或利用底物导致的颜色、浊度或荧光强度的变化，通过读数器将吸光度或荧光强度变化值转换成电信号，再由微机根据菌种资料库和类别协议等分析计算出鉴定结果与抗菌谱。

系统根据自动化程度分为半自动系统和全自动系统。系统通常主要由菌液接种和封口装置、光电读数器、恒温孵箱、微机和试剂板等组成。

5 计量特性

系统各项计量特性指标见表 1。

表 1 系统的主要计量特性指标

| 计量性能 | 计量性能指标 |
|---------|------------------------------------|
| 温度示值误差 | $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ |
| 温度波动度 | $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ |
| 温度均匀度 | $\leq 3.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ |
| 光源照度均匀度 | $\leq 30\%$ |
| 光源照度重复性 | $\leq 10\%$ |

注：以上技术指标不是用于合格性判别，仅供参考。

6 校准条件

6.1 环境条件

6.1.1 环境温度：（10~30） $^{\circ}\text{C}$ ；

6.1.2 相对湿度： $\leq 90\%$ ；

6.1.3 其它：仪器应远离振动、电磁干扰。

注：上述条件与制造商的产品规定不一致时，以产品规定为准。

6.2 校准设备

系统校准装置：由校准组件和数据接收终端组成，校准组件由控制电路、充电接

口公头、控制开关和若干温度光学校准单元等组成，温度光学校准单元包括偶联的一个温度传感器和一个光学传感器，可将监测的光学和温度参数无线传输给数据接收终端。温度测量范围满足（20~50）℃，最大允许误差±0.1℃，光源照度测量范围满足（0~10000）lx，最大允许误差±5.0%。

7 校准项目和校准方法

在以下计量特性校准过程中，可根据实际情况合理设计分析顺序，以实现充分利用分析结果的目的。

7.1 温度示值误差和温度波动度

将周围环境温度控制在系统说明书允许范围内，系统开机预热，设定并达到目标温度，稳定 2 h，将系统校准装置放置在试剂板位置，每 2 min 记录一次中心位置（放置试剂板的几何中心位置孔或接近几何中心最近的位置孔）的温度，在 30 min 内共测试 16 次，中心位置实测最高温度与最低温度之差的一半，冠以“±”号，取全部测量位置变化量的最大值作为温度波动度的测量结果，按照公式（2）计算，计算设定温度值与 16 次测量结果的平均值之差为温度示值误差的测量结果，按照公式（1）进行计算。

$$\Delta T_d = T_d - \bar{T}_o \quad (1)$$

$$\Delta T_f = \pm \frac{1}{2} (T_{o\max} - T_{o\min}) \quad (2)$$

式中：

ΔT_d ——温度示值误差，℃；

T_d ——系统的温度设定值，℃；

\bar{T}_o ——系统校准装置测得的中心位置温度平均值，℃；

ΔT_f ——温度波动度，℃；

$T_{o\max}$ ——系统校准装置中心位置 16 次测量中的最高温度，℃；

$T_{o\min}$ ——系统校准装置中心位置 16 次测量中的最低温度，℃。

7.2 温度均匀度

根据系统加热模块的组成，选取具有代表性的位置孔（例如放置试剂板的中心孔和四周选取至少 4 个孔位），将系统校准装置放置在试剂板位置，在 30 min 内（每 2 min 测试一次）每次测试中实测最高温度与最低温度之差的算术平均值作为温度均匀度。

温度均匀度按公式（3）计算：

$$\Delta T_u = \sum_{i=1}^n (T_{i_{\max}} - T_{i_{\min}}) / n \quad (3)$$

式中：

ΔT_u ——温度均匀度，℃；

n ——测量次数；

$T_{i_{\max}}$ ——各校准位置孔在第 i 次测得的最高温度，℃；

$T_{i_{\min}}$ ——各校准位置孔在第 i 次测得的最低温度，℃。

7.3 光源照度均匀度和光源照度重复性

7.3.1 光源照度均匀度

系统开机预热，待光源照度稳定后，在放置试剂板位置均匀选择至少 5 个位置孔（包括放置试剂板的中心位置孔）进行光源照度检测，每个位置孔分别测量 6 次，取 6 次测量结果平均值作为该位置孔光源照度，按照公式（4）计算光源照度均匀度。

$$N = \frac{E_{\max} - E_{\min}}{E_{\max} + E_{\min}} \times 100\% \quad (4)$$

式中：

N ——光源照度均匀度，%；

E_{\max} ——放置试剂板位置各位置孔中光源照度最大值，lx；

E_{\min} ——放置试剂板位置各位置孔中光源照度最小值，lx。

7.3.2 光源照度重复性

依据 7.3.1 的校准方法，分别记录至少 5 个孔中的 6 次数值，并按照公式（5）计算，取光源照度相对标准偏差最大值作为系统光源照度重复性的表征。

$$RSD_E = \frac{1}{\bar{E}} \times \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (E_i - \bar{E})^2}{n-1}} \times 100\% \quad (5)$$

式中：

RSD_E ——光源照度重复性（相对标准偏差），%；

\bar{E} ——所测孔位置光源照度的平均值，lx；

E_i ——第 i 个孔位置的光源照度，lx；

n ——第 i 个孔位置测试次数。

8 校准结果表达

8.1 校准结果处理

经校准后的系统应核发校准证书，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 A，校准证书内页格式（推荐性表格）见附录 B。

8.2 校准结果的测量不确定度

系统校准结果的测量不确定度按 JJF 1059.1—2012 的要求评定，校准结果测量不确定度评定示例见附录 D。

9 复校时间间隔

由于复校时间间隔的长短是由系统的使用情况、使用者、系统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，复校时间间隔建议不超过1年。

附录 A

校准原始记录格式

(推荐性表格)

| | | | | |
|------|----|--|------|--|
| 系统名称 | | | 型号规格 | |
| 制造厂商 | | | 出厂编号 | |
| 委托单位 | 名称 | | 联系人 | |
| | 地址 | | 电话 | |
| 温度 | | | 湿度 | |
| 大气压 | | | 记录编号 | |
| 校准员 | | | 核验员 | |

一、温度示值误差、温度波动度、温度均匀度

| 时间/min | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 | 16 | 18 | 20 | 22 | 24 | 26 | 28 | 30 |
|---------------------------------------|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 不同位置孔测量值 \bar{T} / °C (其中 1 为中心位置孔) | 1 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 2 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 3 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 4 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 5 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 6 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 7 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 8 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 9 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 系统温度设定值 T_d / °C | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 温度示值误差 ΔT_d / °C | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 温度波动度 ΔT_f / °C | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 温度均匀度 ΔT_u / °C | | | | | | | | | | | | | | | | |

二、光源照度均匀度和光源照度重复性

| 不同位置孔 | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|---------------------|-----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 光源照度 (lx) | 测量值 | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | |
| | 平均值 | | | | | | | | | |
| 光源照度均匀度 N / % | | | | | | | | | | |
| 光源照度重复性 RSD_E / % | | | | | | | | | | |

附录 B

校准证书（内页）格式

（推荐性表格）

| 序号 | 校准项目 | 校准结果 |
|----|---------|------|
| 1 | 温度示值误差 | |
| 2 | 温度波动度 | |
| 3 | 温度均匀度 | |
| 4 | 光源照度均匀度 | |
| 5 | 光源照度重复性 | |

温度示值误差测量结果的扩展不确定度：

校准员：_____ 核验员：_____

附录 D

测量不确定度评定示例

C.1 测量方法

采用系统校准装置测定系统的恒温孵育系统，并与系统设定值进行比较。

C.2 测量模型

示值误差可由公式 (C.1) 给出：

$$\Delta T_d = T_d - \bar{T}_o \quad (\text{C.1})$$

式中：

ΔT_d —— 温度示值误差，℃；

T_d —— 系统的温度设定值，℃；

\bar{T}_o —— 系统校准装置测得的中心位置温度平均值，℃。

C.3 方差和灵敏系数

依据不确定度传播率，当各输入量间不相关时， $u_c^2 = \sum_{i=1}^N c^2(x_i) u^2(x_i)$ ，则

$$u_c = \sqrt{c_{\bar{T}_o}^2 u_{\bar{T}_o}^2 + c_{T_d}^2 u_{T_d}^2} \quad (\text{C.2})$$

由公式 (C.1) 得：

$$c_{\bar{T}_o} = \frac{\partial \Delta T_d}{\partial \bar{T}_o} = -1$$

$$c_{T_d} = \frac{\partial \Delta T_d}{\partial T_d} = 1$$

C.4 不确定度来源

不确定度来源包括：

a) 输入量 \bar{T}_o 引入的标准不确定度 $u_{\bar{T}_o}$ ，包括测量重复性引入的标准不确定度 $u_{\bar{T}_{o1}}$ 和分辨力引入的标准不确定度 $u_{\bar{T}_{o2}}$ ；

b) 输入量 T_d 引入的标准不确定度 u_{T_d} ，主要指系统校准装置引入的不确定度。

C.5 标准不确定度分量计算

C.5.1 输入量 \bar{T}_0 引入的标准不确定度分量 $u_{\bar{T}_0}$ C.5.1.1 测量重复性引入的标准不确定度分量 $u_{T_{01}}$

选定一台系统，使用数字温度计对恒温孵育系统连续测量 10 次，得到一组测量值：34.8 °C，34.9 °C，35.3 °C，35.4 °C，35.2 °C，35.3 °C，35.4 °C，35.4 °C，35.2 °C，35.3 °C。

则单次测量结果的标准差 $s(\bar{T}_0)$ ：

$$s(\bar{T}_0) = \sqrt{\sum_{i=1}^n (\bar{T}_{0i} - \bar{T}_0) / (n-1)} \approx 0.209 \text{ °C}$$

其中 \bar{T}_{0i} 为系统校准装置测得的中心位置温度单次测量值，实际校准时在重复性条件下连续测量 16 次，以 16 次测量的算术平均值作为结果，则由测量重复性引入的标准不确定度分量为：

$$u_{T_{01}} = s(x_i) / \sqrt{n} = 0.209 \text{ °C} / \sqrt{16} \approx 0.052 \text{ °C}$$

C.5.1.2 分辨力引入的标准不确定度分量 $u_{T_{02}}$

系统的最小分辨力为 0.1 °C，区间半宽 $a=0.05 \text{ °C}$ ，按均匀分布，包含因子取 $k=\sqrt{3}$ ，由此引起的标准不确定度为：

$$u_{T_{02}} = 0.05 \text{ °C} / \sqrt{3} \approx 0.029 \text{ °C}$$

由以上可知，输入量 \bar{T}_0 引入的标准不确定度 $u_{\bar{T}_0}$ 计算如下：

$$u_{\bar{T}_0} = \sqrt{u_{T_{01}}^2 + u_{T_{02}}^2} \approx 0.060 \text{ °C}$$

C.5.2 输入量 T_d 引入的标准不确定度分量 u_{T_d}

输入量 T_d 引入的标准不确定度分量主要是系统校准装置引入的不确定度分量 u_{T_d} ，假设其最大允许误差（MPEV）服从均匀分布，包含因子 $k=\sqrt{3}$ ，根据公式（C.4）计算：

$$u_{T_d} = \frac{|\text{MPEV}|}{k} \quad (\text{C.4})$$

系统校准装置的最大允许误差（MPEV）为 $\pm 0.1 \text{ °C}$ ，则由输入量 T_d 引入的标准不确定度分量 u_{T_d} 计算如下：

$$u_{T_d} = \frac{|\text{MPEV}|}{k} = \frac{0.1^\circ\text{C}}{\sqrt{3}} = 0.058^\circ\text{C}$$

C.6 标准不确定度一览表

标准不确定度一览表见表 C.1。

表 C.1 系统测定结果标准不确定度一览表

| 不确定度来源 | | 标准不确定度值 | 标准不确定度分量 $u(x_i)$ | $c_i = \partial f / \partial x_i$ | $ c_i \times u(x_i) $ |
|--------------------|--------|----------|-------------------|-----------------------------------|-----------------------|
| 输入量 \bar{T}_0 | 测量重复性 | 0.052 °C | 0.060 °C | -1 | 0.060 °C |
| | 分辨力 | 0.029 °C | | | |
| 输入量 T_d | 系统校准装置 | 0.058 °C | 0.058 °C | 1 | 0.058 °C |

C.7 合成标准不确定度 u_c

由公式 (C.2) 可得：

$$u_c = \sqrt{c_{\bar{T}_0}^2 u_{\bar{T}_0}^2 + c_{T_d}^2 u_{T_d}^2} = 0.084^\circ\text{C}$$

C.8 扩展不确定度 U

取 $k=2$ ，则：

$$U = k \times u_c = 0.2^\circ\text{C}$$

附录 D

参考文献

[1] CLSI M50-A 商品化微生物鉴定系统的质量控制 批准指南 (Quality Control For Commercial Microbial Identification Systems; Approved Guideline)

[2] CLSI M52 商品化微生物鉴定与药敏分析系统的验证 (Verification of Commercial Microbial Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing Systems)

[3] CLSI M100 抗微生物药物敏感试验执行标准 第 29 版 (Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 29th Edition)
