

# JJF

中华人民共和国国家计量技术规范

JJF XXXX—XXXX

## 病原微生物核酸标准物质的研制 计量技术规范

Technical Specification for production of Reference Materials of  
pathogenic microorganism

(征求意见稿)

202×-××-××发布

202×-××-××实施

国家市场监督管理总局 发布

# 病原微生物核酸标准物质 的研制计量技术规范

JJF××××—202×

Technical Specification for production of  
Reference Materials of pathogenic microorganism

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：

董莲华（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.....	III
1 范围.....	1
2 引用文件.....	1
3 术语和计量单位.....	1
4 通用原则.....	2
4.1 研制要求.....	2
4.2 标准物质分类.....	2
4.3 命名规则.....	3
4.4 标准物质的特性量值及单位.....	3
5 标准物质制备.....	4
5.1 生物安全性.....	4
5.2 候选物的选择.....	4
5.3 候选物的鉴定.....	4
5.4 标准物质包装及保存.....	4
6 均匀性评估.....	5
7 稳定性评估.....	5
7.1 评估原则.....	5
7.2 短期稳定性评估.....	5
7.3 长期稳定性评估.....	5
8 定值.....	5
8.1 定值方法的建立与方法确认.....	6
8.2 定值方式的选择.....	6
8.3 质量控制.....	6
8.4 数据评估.....	6
8.5 定值结果及不确定度.....	6
9 互换性评估.....	7
10 文件编制.....	7
10.1 研制报告.....	7

10.2 证书及标签..... 7  
附录 A 病原微生物核酸标准物质命名示例 ..... 8

国家标准物质计量技术委员会征求意见稿

# 引言

病原微生物核酸标准物质作为测量标准用于病原体核酸检测，在提高病原体核酸检测方法可比性、保证核酸检测结果准确性方面发挥重要作用。本规范的制定为病原微生物核酸标准物质研制工作提供统一的原则及指导，旨在规范病原微生物核酸标准物质研制过程，提高此类标准物质质量，使其在实际应用过程中更好地发挥作用。

本规范的制定主要参考了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。

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

# 病原微生物核酸标准物质的研制计量技术规范

## 1 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。

## 2 引用文件

本规范引用了下列文件：

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。

## 3 术语和计量单位

以下术语及JJF1005、JJF1265中规定的其他术语适用于本规范。

### 3.1 病原体分离培养 isolation and culture of pathogen

通过提供必要的培养条件及生长环境，借助细胞、鸡胚、动物及培养基等，使病原体被分离并得以大量复制的技术。

### 3.2 质粒 plasmid

细菌细胞内一种自我复制的环状双链DNA分子，能稳定地独立存在于染色体外，并传递到子代，一般不整合到宿主染色体上。[JJF 1265，术语和定义4.28]

注：在基因工程技术中，利用质粒的自我复制能力，可以将目标基因序列构建到经人工改造的质粒载体中，转化进入细胞进行大量复制，并通过提取和纯化得到含目标基因序列的质粒DNA分子。

### 3.3 体外转录RNA *in vitro* transcribed RNA

在生物体外，通过加入RNA聚合酶、NTP及DNA模板（含有启动子及目标基因序列）等成分，在一定实验条件下，模仿体内转录过程转录出的RNA分子。

### 3.4 假病毒 pseudovirus

由病毒衣壳蛋白（或包膜蛋白）包裹外源病毒基因片段形成的具有真实病毒结构的重组病毒颗粒。

注：假病毒分为DNA假病毒及RNA假病毒。

### 3.5 基因组 genome

一种生物体具有的所有遗传信息的总和。[JJF 1265，术语和定义 4.35]

注：病原微生物的基因组分为DNA和RNA，通过提取和纯化可以得到基因组DNA和RNA分子。

### 3.6 拷贝数 copies number

包含特定核酸序列的分子数。[ISO 20395，术语和定义 3.6]

### 3.7 拷贝数浓度 copies number concentration

单位体积中包含特定核酸序列的分子数。以copies/ $\mu\text{L}$ 为计量单位。[ISO 20395，术语和定义 3.7]

## 4 通用原则

### 4.1 研制要求

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。

### 4.2 标准物质分类



根据标准物质候选物来源方式，病原微生物核酸标准物质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。

其中，通过基因工程获得的病原微生物标准物质包括但不限于以下几类：

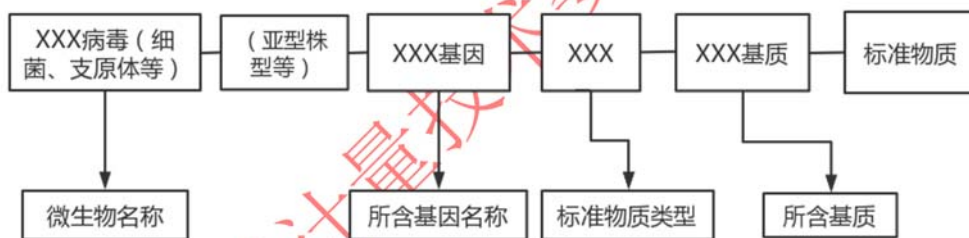
- DNA 片段；
- 质粒 DNA；
- 体外转录 RNA；
- 假病毒；

通过病原体分离培养获得的病原微生物标准物质包括但不限于以下几类：

- 基因组 DNA；
- 基因组 RNA；
- 病原体。

#### 4.3 命名规则

病原微生物核酸标准物质应按照以下规则进行命名：



注：

1. 当病原微生物存在多个亚型及株型时，可根据实际应用列出亚型及株型名称；否则可省略。如流感病毒（甲型 H1N1）基因组 RNA 标准物质。
2. 当标准物质含病原体基因组中 3 个以下基因时，应标出具体基因名称，如新型冠状病毒 ORF 1ab/N 基因体外转录 RNA 标准物质；当含基因组全长序列或  $\geq 3$  个基因时，所含基因名称可省略，具体基因名称可在说明书中列出。
3. 当标准物质类型为病原体或含病原体的临床样本时，标准物质类型可省略，名称中应加核酸，如乙型肝炎病毒核酸标准物质。
4. 当标准物质含基质时，需标注基质名称；否则可省略。如乙型肝炎病毒核酸血清标准物质。
5. 命名示例见附录 A。

#### 4.4 标准物质的特性量值及单位

4.4.1 病原微生物核酸标准物质的特性量值为目标基因浓度或所含核酸的总量。

4.4.2 当采用的定值方法是针对目标基因拷贝数浓度进行定值时，如数字 PCR 方法，特性量值的单位为 copies/ $\mu\text{L}$  或 copies/mL。

4.4.3 当采用的定值方法是对含有的核酸浓度进行定值时，如同位素稀释质谱方法，特性量值的单位为 ng/ $\mu\text{L}$  或 ng/mL。

4.4.4 当采用世界卫生组织（WHO）国际标准品赋值时，特性量值的单位为 IU/mL，可同时提供 copies/mL。

## 5 标准物质制备

### 5.1 生物安全性

5.1.1 候选物材料应符合国家生物安全性要求。使用灭活病原体时，应提供有效证据证明灭活效果。当设计假病毒标准物质时，应通过载体和插入片段设计避免病毒复制。

5.1.2 标准物质制备相关实验活动应根据病原微生物的危害程度以及使用的实验材料类型，在国家规定的相应生物安全级别实验室内开展。

### 5.2 候选物的选择

5.2.1 候选物材料应来源清楚，信息完整，包括菌毒株类型及来源、目标基因序列、载体信息等。

5.2.2 候选物应根据实际需求进行选择，充分考虑候选物适用性及代表性。

5.2.3 候选物应有足够的数量并能保证候选物的复制，以满足使用需求。

### 5.3 候选物的鉴定

5.3.1 候选物的鉴定应科学合理，根据标准物质的类型进行鉴定。

5.3.2 病原体和临床样本类型标准物质应提供证据证明病原体种类。

5.3.2 假病毒标准物质应提供假病毒包装完整性、外源基因序列鉴定、基因片段长度、DNA 残留率等信息。

5.3.3 DNA 片段、质粒 DNA 及基因组 DNA 应提供基因序列鉴定信息，纯度满足 A260/A280 为 1.8~2.0，A260/A230 大于 2.0。

5.3.4 体外转录 RNA、基因组 RNA 标准物质应提供基因序列鉴定信息，纯度满足 A260/A280 为 1.9~2.0，A260/A230 大于 2.0。体外转录 RNA 片段长度应符合预期，纯度应满足目的条带单一无降解，基因组 RNA 应满足完整度 RIN>8.0。

### 5.4 标准物质包装及保存

5.4.1 包装应满足标准物质的预期用途，包装使用的材料应密封性好、无吸附、无 DNA 酶及 RNA 酶。

5.4.2 应根据标准物质特性对保存条件进行研究，选择合适的保存试剂及保存条件，防止核酸降解及特性量值发生变化。

## 6 均匀性评估

6.1 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。

6.2 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。

## 7 稳定性评估

### 7.1 评估原则

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。

### 7.2 短期稳定性评估

7.2.1 选择模拟运输条件下，至少 1 周时间进行短期稳定性评估。

7.2.2 当包含多个特性量值时，可根据样本类型选择全部或代表性的部分特性量值作为评估对象，并证明评估方案的科学性。

7.2.3 当包含多个水平的标准物质时，应对所有水平的标准物质进行评估，或提供同种类型同水平标准物质的稳定性证明。

### 7.3 长期稳定性评估

7.3.1 选择标准物质长期保存条件下，原则上至少 6 个月时间进行长期稳定性评估。

7.3.2 当包含多个特性量值时，可根据样本类型选择所有特性量值或代表性特性量值作为评估对象，并证明评估方案的科学性。

7.3.3 当包含多个水平的标准物质时，应对所有水平的标准物质进行评估，或提供同种类型同水平标准物质的稳定性证明。

## 8 定值

### 8.1 计量溯源性要求

8.1.1 应根据不同的定值方法建立测量结果的计量溯源性，建立方法可参考 JJF1854。

8.1.2 测量过程中的关键设备（如数字 PCR 仪、移液器、天平）应经过计量检定或校准。

## 8.2 定值方法的建立与方法确认

8.2.1 应根据标准物质特性量值的特点建立或选择定值方法，应对方法的影响参数进行充分研究，确保定值方法的可靠性。

8.2.2 定值方法建立后，应对方法正确度、重复性、检出限、定量限进行验证。

8.2.3 当标准物质候选物形式是假病毒或灭活病原体，定值结果是根据对提取后的核酸定量获得时，应建立方法对核酸的提取效率进行评估，如测定回收率法等。

## 8.3 定值方式的选择

根据 JJF 1343 的要求，病原微生物核酸标准物质的定值可选择以下方式：

(1) 一家实验室采用原级或权威机构认定参考测量程序（由 ISO/IEC 指南 99 定义）；

注：例如，采用一种经过国际比对证明获得国际等效，或具有国际互认的校准测量能力覆盖的方法。

(2) 一家或多家有能力的实验室采用两种或两种以上可证明准确度的方法，对不由操作定义的被测量定值；

(3) 由具有能力的实验室组成网络，对由操作定义的被测量定值；

注：定值方式（2）及（3）中对测量程序的选择、实验室的要求、独立数据组的数量等应符合 JJF 1343 的要求。

(4) 一家实验室采用一种测量程序，特性值由一个标准物质传递到另一个高度匹配的候选标准物质；

(5) 基于标准物质制备中使用的配制原料的质量或体积。

## 8.4 质量控制

8.2.1 由单一实验室定值的，该实验室应定期参加国际比对并取得国际等效。

8.2.2 采用联合定值时，应制定联合定值方案，包括定值样品类型和数量，仪器设备及实验条件要求，所需实验试剂，样品处理方法及具体测量过程，质量控制方法及定值结果报告方式等。

8.2.3 采用联合定值时，应选择在实验室能力方面具有代表性，且能力获得证明的实验室，能力证明包括：参加计量比对、能力验证、测量审核并取得满意结果，或测量与研制标准物质类型及量值近似的盲样（非候选标准物质）并取得满意结果。

## 8.5 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。

## 8.6 定值结果及不确定度

标准物质的定值结果及不确定度评估应由研制机构按照 JJF 1343、JJF 1059.1 的要求进行评定和表述。

## 9 互换性评估

9.1 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。

9.2 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。

## 10 文件编制

### 10.1 研制报告

研制报告应符合 JJF 1218 的要求。

### 10.2 证书及标签

10.2.1 证书及标签应符合 JJF 1186 的要求。

10.2.2 在证书中，应根据标准物质稳定性明确标准物质运输方式，当采用干冰等运输方式时，告知用户标准物质收到时，应检查标准物质是否处于冰冻状态。

10.2.3 在证书中，需明确标明标准物质使用时需要注意的事项，包括使用的耗材、稀释液、冻融次数等。

10.2.4 在证书中，需根据标准物质类型和生物安全等级注明操作所需的实验室条件，或附加标准物质安全使用说明。

国家标准物质计量学征求意见稿

## 附录 A

### 病原微生物核酸标准物质命名示例

根据分类不同，病原微生物核酸标准物质命名示例如下：

- (1) 非洲猪瘟病毒 B646L 基因 DNA 片段标准物质
  - (2) 非洲猪瘟病毒 B646L 基因质粒 DNA 标准物质
  - (3) 非洲猪瘟病毒 B646L 基因假病毒标准物质
  - (4) 非洲猪瘟病毒 (□型) 基因组 DNA 标准物质
  - (5) 人类免疫缺陷病毒 (I 型) gag 基因体外转录 RNA 标准物质
  - (6) 人类免疫缺陷病毒 (I 型) gag 基因假病毒标准物质
  - (7) 人类免疫缺陷病毒 (I 型) 核酸标准物质
  - (8) 人类免疫缺陷病毒 (I 型) 核酸血清标准物质
  - (9) 新型冠状病毒 (德尔塔 B.1.617 变异株) 基因组 RNA 标准物质
  - (10) 新型冠状病毒 ORF 1ab/N 基因体外转录 RNA 标准物质
  - (11) 流感病毒 (甲型 H1N1) 核酸标准物质
  - (12) 乙型肝炎病毒核酸标准物质
- 

国家标准物质计量技术委员会征求意见稿