



CNAS-CL03-A001

**能力验证提供者认可准则  
在微生物领域的应用说明**

**Guidance on the Application of Accreditation  
Criteria for Proficiency Testing Providers in the  
Field of Microbiology**

**（上网征求意见稿）**

中国合格评定国家认可委员会

# 目 录

前 言 .....	2
1 范围 .....	3
2 规范性引用文件 .....	3
3 术语和定义 .....	3
4 通用要求 .....	4
5 结构要求 .....	4
6 资源要求 .....	4
7 过程要求 .....	5
8 结构要求 .....	9
附录 A（资料性附录） 均匀性和稳定性检验 .....	10
附录 B（资料性附录） 统计分析和能力评定 .....	14
附录 C（资料性附录） 微生物能力验证统计分析示例 .....	17

## 前 言

本文件由中国合格评定国家认可委员会（CNAS）制定，是CNAS依据特定领域微生物检测能力验证计划的特性而对CNAS-CL03:2024《能力验证提供者认可准则》所做的进一步说明及具体解释，并不增加或减少该准则的要求。

本文件与CNAS-CL03:2024《能力验证提供者认可准则》同时使用。

在结构编排上，本文件章、节的条款号和条款名称均采用CNAS-CL03:2024中章、节条款号和名称，对CNAS-CL03:2024在微生物检测能力验证计划的应用说明内容在相应条款后给出。

本文件的附录 A、附录 B 和附录C为资料性附录，附录的序号及内容与CNAS-CL03:2024不对应。

本文件代替：CNAS-CL03-A001:2019。

本文件于2019年制定，本次为换版修订，主要根据CNAS-CL03:2024《能力验证提供者认可准则》进行，相对于CNAS-CL03-A001:2019，除结构调整和编辑性修改外，主要技术变化如下：

- 删除了对人员培训和持续教育计划的具体要求；
- 修改了对“能力验证物品制备”部分的要求；
- 删除了“参考文献”。

本文件所代替文件的历次版本发布情况为：

- CNAS-CL03-A001:2019

# 能力验证提供者认可准则在微生物领域的应用说明

## 1 范围

本文件适用于CNAS对食品、饮用水、饲料、化妆品、环境样品、玩具、纺织品、卫生用品、消毒产品、抗菌材料等领域（不包括医学检验/临床检验领域）提供微生物检测能力验证计划的能力验证提供者的认可活动。

本文件中微生物检测包括采用传统微生物学分析手段对待测样品进行微生物的定性分析和（或）定量检测。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是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。

GB/T 27405 实验室质量控制规范 食品微生物检验

GB/T 28043 利用实验室间比对进行能力验证的统计方法（ISO 13528, IDT）

GB/T 6379 测量方法与结果的准确度（正确度和精密度）（ISO 5725, IDT）

SN/T 1800 食品与动物饲料微生物学 微生物计数水平法 30℃时的菌落计数方法(ISO 4833, IDT)

ISO/TS 22117 食品和动物饲料微生物 能力验证特定要求和指南  
(Microbiology of food and animal feeding stuffs-Specific requirements and guidance for proficiency testing by interlaboratory comparison)

CNAS-CL01 检测和校准实验室能力认可准则

## 3 术语和定义

### 3.1 目标微生物 **target microorganism**

能力验证物品中作为指定分析物的微生物。

### 3.2 背景菌群 **background flora**

能力验证物品中与目标微生物竞争或相似的微生物。

### 3.3 标准菌株 **reference strain**

至少定义到属或种水平的菌株，按其特征分类和描述，有明确的来源。

（引自GB/T 27405-2008，定义3.10）

### 3.4 检出限 **limit of detection**

进行定性微生物检测时，能检测到但无法给出精确数值的微生物的最小量。

（引自GB/T 27405-2008，定义3.14）

## 5 结构要求

5.4 涉及病原微生物的能力验证提供者，应符合相应国家、行业、地方的生物安全标准和规定等。

5.5 b) 涉及病原微生物的能力验证提供者，应设置生物安全责任人和生物安全监督员，负责生物安全。

## 6 资源要求

### 6.1 总则

6.1.2 微生物能力验证提供者或其外部供应商，应具有相应微生物项目的检测能力，且满足 CNAS-CL01 要求。

### 6.2 人员

6.2.2 无论是否采用外部供应商进行能力验证物品制备和检测，从事能力验证策划、样品制备、能力评定岗位的关键技术人员要具有微生物样品制备和检测的技术能力。

6.2.5 授权签字人应具备微生物学相关专业硕士研究生以上学历，组织实施过3次以上微生物实验室间比对工作经历，中级以上（含中级）技术职称。如果不满足以上学历或职称要求应具备以下条件：

- a) 大专毕业后，从事专业技术工作7年以上；或
- b) 大学本科毕业，从事相关专业5年以上；或
- c) 硕士学位以上（含），从事相关专业2年以上。

### 6.3 设施和环境条件

6.3.1 涉及病原微生物的能力验证物品制备和处理应满足所开展微生物制样、检测活动生物安全等级的要求。

6.3.3 能力验证物品制备及贮存环境条件应有明确的规定和相应的监控记录。

6.3.5 不同的功能区域应有明确的标识。应正确使用与涉及生物安全等级相对应的生物危害标识。应对进入的人员采取严格控制，并明确微生物能力验证物品制备区、检测区、储存区的特定用途和限制措施。

### 6.4 外部提供的产品和服务

6.4.2 外部供应商也要符合该应用说明的要求。如微生物能力验证物品制备采用外部供应商，外部供应商应提供能力验证物品制备的详细记录，见本文件7.3.1.2能力验证物品的制备过程记录。

6.4.4 c) 菌种的采购和验收要符合如下要求：

——目标微生物通常选用有资质的菌种保藏机构保藏的菌株，也可根据能力验证的目的使用经过鉴定和确认的其他菌株。

——使用前应确认目标微生物的特性，应根据能力验证的目标采用适当的标准检验方法（如ISO标准、国标或行标）进行确认。当采用其他菌株时，还应对其分类学地位进行鉴定。

——用于模拟背景菌群的任何菌株，其特性也应经过鉴定和确认。

## 7 过程要求

### 7.2 能力验证计划的设计和策划

#### 7.2.1 概述

7.2.1.1 开展新能力验证计划前通常应进行预试验，预试验应考虑微生物能力验证物品的设计和制备的关键环节（直接影响能力验证计划质量的过程）。

7.2.1.3 微生物能力验证方案中应包括如下内容：

7.2.1.3 d) 明确目标微生物是定性检测和/或定量检测；

7.2.1.3 f) 采用自然样品还是人工污染样品，以及样品的基质；采用人工污染样品时，目标微生物的来源和特性，背景菌群的组成，目标微生物和背景菌群的预期含量/范围；

7.2.1.3 h) 能力验证物品分发的特殊要求，如确保低温和生物安全防护措施。稳定性试验的信息可用于选择最佳的条件来分发能力验证物品，比如是否需要使用干冰或冰袋在样品运输过程中来降温，或判断环境条件能否接受。

制备人工污染样品时，对目标微生物和背景菌群的要求：

——目标微生物的来源和获取途径应形成文件。目标微生物应使用来自有资质的菌种保藏机构保藏的标准菌株，适用时，也可根据能力验证的目的使用经过鉴定和确认的其他菌株。

——在使用前应确认目标微生物的特性，应根据能力验证的目标采用适当的标准检测方法（如ISO标准、国标或行标）进行确认。

——用于模拟背景菌群的菌株，其特性也应经过鉴定和确认。

——能力验证物品中存在背景菌群尤其是疑似目标微生物时，提供者应考虑背景菌群对目标微生物检测的影响，应通过确认试验保证能力验证物品指定值的准确可靠。

7.2.1.3 i) 有防止串通或伪造结果的措施，如多水平、多样本设计，参加者返回分离到的目标微生物等；

7.2.1.3 u) 病原性微生物能力验证物品破损或泄露时应采取的无害化处理方式。

## 7.2.2 统计设计

7.2.2.3 统计设计方案中，可包括以下内容：

7.2.2.3 a) 统计设计应考虑微生物的水平和分布，同时应考虑参加者的数量和不同检测方法上可能存在的差异。

注1：开展过多轮次定量微生物能力验证计划的提供者，可使用经验值作为能力评定标准差来评价参加者的能力。

注2：通常最大可能数（most probable number, MPN）计数方法和平板菌落计数方法具有不同的重复性。在同一定量计划中，如两种方法的重复性差异较大影响能力评定，需考虑分开进行统计评价。即使采用同一标准方法，以下因素也会影响计数结果：复苏方法、平板技术（如倾倒平板和螺旋加样）、培养基、培养温度等。

注3: 定性微生物能力验证计划通常直接将参加者结果与指定值进行比较, 两者相同能力评价视为满意, 不相同视为不满意。

7.2.2.3 e) 用于确定能力评定标准差(标准偏差、标准化四分位距、经验值、方法中给定的精密度或先前能力验证获得的统计结果等)或其它评定准则的程序(参见附录B);

7.2.2.3 f) 若允许参加者使用自己选择的方法, 适用时, 能力验证提供者应制定政策并按程序对不同原理的方法得到的结果进行比对。

注: 附录C.3给出了结果统计和能力评定示例。

### 7.2.3 指定值的确定

7.2.3.1 提供者应将确定微生物定性和定量计划指定值(平均值、中位值、稳健平均值等)的程序形成文件, 包括确定的原因。

### 7.3 能力验证物品的制备和分发

7.3.1.2 应建立微生物能力验证物品的制备、储存、处置的程序, 包括检毕能力验证物品和剩余能力验证物品的处理。制备过程记录内容应包括:

- 能力验证物品目标菌、背景菌和所用的基质及处理方式;
- 能力验证物品目标菌和背景菌的确认记录;
- 添加(污染)微生物的记录;
- 制备能力验证物品的主要仪器设备名称;
- 制备工艺(能力验证物品为冻干粉时应包括冷冻干燥记录);
- 能力验证物品的数量(要考虑完成结果评价之后, 参加者对能力验证物品稳定性质疑时, 自行复查或共同复查时对能力验证物品的需求);
- 能力验证物品制备环境监测记录;
- 消毒灭菌记录。

注: 当自然样品无法满足能力验证目标和目的要求时, 应采用人工污染样品。人工污染样品中的目标微生物和背景菌等应尽可能与日常检测样品相似; 设计目标微生物水平应考虑微生物的方法检出限和在同类样品中微生物常规检出水平; 当目标微生物是致病菌时, 应考虑对人体健康的危害水平和安全标准中微生物的限量水平。



在定性计划中设定目标微生物方法检出限时，由于微生物本身的特性和添加的技术手段的局限性，目标微生物水平通常设定在略高于常规方法的检出限，以有利于准确考察参加者的能力。如果目标微生物水平设定过高，不利于完整考察实验室的技术能力，尤其是在筛选、选择分离和鉴定阶段的能力。

定量计划设定目标微生物添加水平要考虑标准中的限量要求。必要时，考虑采用同样或相似的基质。

### 7.3.2 能力验证物品的均匀性和稳定性评估

7.3.2.1 对定量和定性能力验证物品，应建立均匀性和稳定性判定原则(参见附录A)：

——定量计划：应针对能力验证物品中的微生物水平，采用适当的评定方法进行均匀性和稳定性评估；均匀性评估可基于重复性条件下能力验证物品间变异和物品内变异进行。

——定性计划：适用时，采用目标微生物和背景菌群计数来进行均匀性和稳定性评估。

注：附录C.1给出了均匀性评估示例，附录C.2给出了稳定性评估示例。

7.3.2.5 微生物能力验证物品应进行稳定性评估。必要时，应将稳定性量化，并考虑作为能力验证物品指定值不确定度的补充分量，在能力评定中予以考虑。稳定性评定应考虑贮存和运输期间的稳定性：

——储存稳定性评估。稳定性期限应是从能力验证物品制备起至规定的检测日期或检测时段。应在储存期间定期核查低温下（如 $-70^{\circ}\text{C}$ 、 $-18^{\circ}\text{C}$ 、 $4^{\circ}\text{C}$ ）储存的能力验证物品。检测时间间隔及频次取决于已知的稳定性信息和要求的稳定时间。

——运输稳定性评估。应确保能力验证物品在运输过程中的稳定，可通过模拟运输条件或利用加速试验来进行稳定性试验。要考虑到恶劣运输情况下或极限温度运输情况的稳定性。必要时，在每个样品包装盒中放入温度记录器，记录样品在运输过程中的温度变化。

7.3.4.1 能力验证提供者应控制微生物能力验证物品的包装，确保符合国家、地区或国际的安全和运输要求，如符合《病原微生物实验室生物安全管理条例》和国际航空运输协会（IATA）的航空要求。

### 7.3.5 给参加者的指导

7.3.5.2 b) 给参加者的指导书应包括以下内容：微生物的添加（污染）方式，能力验证物品基质类型及其主要成份。如果能力验证物品基质含有抑制微生物复苏的成分（某些基质材料能结合和滞留细胞，如脂性材料），或具有杀菌或抑菌性能，应在作业指导书中说明。

7.3.5.2 d) 对于病原微生物能力验证计划，提供者应有文件化的政策，告知参加者注意风险并确保给出相关安全建议。

## 8 管理体系要求

### 8.1 一般要求

8.1.2 适用时，能力验证提供者应制定病原微生物安全规章制度，确保生物安全。

### 8.3 管理体系文件的控制

8.3.2 适用时，文件控制程序应包括基于病原微生物安全考虑的现场文件的管理。

### 8.4 记录控制

8.4.1 适用时，记录控制程序应包括基于病原微生物安全考虑的质量/技术记录的管理。

### 8.8 内部审核

8.8.2 适用时，内部审核应涵盖能力验证提供者病原微生物安全的内容。

### 8.9 管理评审

8.9.2 适用时，评审应考虑到生物安全规章制度的执行情况。

## 附录A （资料性附录）

### 均匀性和稳定性检验

#### A.1 定量计划

##### A.1.1 均匀性检验

通常从微生物能力验证物品总体中随机抽取10个或10个以上样品进行均匀性检验，每个样品在重复条件下至少测试两次。将测试数据转换为以10为底的对数值后进行均匀性评价。

微生物水平较高时，可使用单因子方差分析和 $S_s \leq 0.3 \sigma$  准则（ $S_s$ 为样品间标准差， $\sigma$ 为能力评定标准差）进行评价（GB/T 28043）。当开展一项新的能力验证计划时，通常 $\sigma$ 未知，可用单因子方差分析初步评价样品的均匀性。通常在参加者结果回报后获得 $\sigma$ 时应再次利用 $S_s \leq 0.3 \sigma$  确认样品是否均匀。如 $\sigma$ 已知，比如根据经验值或先期同类能力验证计划获得的 $\sigma$ 值，可利用 $S_s \leq 0.3 \sigma$  进行评价。

当微生物水平较低时，样品间微生物计数差异可能会比较大，可能不满足 $S_s \leq 0.3 \sigma$  的要求，在后续评价参加者能力时可考虑在能力评定标准差中加入样品间差异这一分量。当微生物水平非常低时（如10 CFU/g），通常不宜作为定量能力验证物品进行分发。

##### A.1.1.1 单因子方差分析

为检验样品的均匀性，抽取 $i$ 个样品( $i=1、2、\dots、m$ )，每个样在重复条件下测试 $j$ 次( $j=1、2、\dots、n$ )。

$$\bar{x}_i = \sum_{j=1}^n x_{ij} / n$$

每个样品的测试平均值

$$\bar{x} = \sum_{i=1}^m \bar{x}_i / m$$

全部样品测试的总平均值

测试总次数  $N = \sum_{i=1}^m n_i$

样品间平方和  $SS_1 = \sum_{i=1}^m n_i (\bar{x}_i - \bar{x})^2$       均方  $MS_1 = \frac{SS_1}{f_1}$

样品内平方和  $SS_2 = \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{x}_i)^2$       均方  $MS_2 = \frac{SS_2}{f_2}$

自由度  $n_1 = m - 1$        $n_2 = N - m$

统计量  $F = \frac{MS_1}{MS_2}$

若  $F <$  自由度  $(n_1, n_2)$  及给定显著性水平  $\alpha$  (通常  $\alpha = 0.05$ ) 的临界值  $F_{\alpha}(n_1, n_2)$  (查表1  $F$  分布表), 则表明样品内样品间无显著差异, 样品是均匀的。

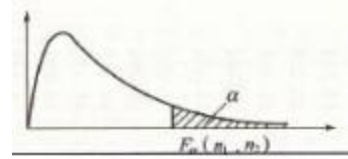


表1  $F$  分布表

$P\{F(n_1, n_2) > F_{\alpha}(n_1, n_2)\} = \alpha$        $\alpha = 0.05$

$n_2 \backslash n_1$	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
9	3.23	3.18	3.14	3.10	3.07	3.05	3.03	3.01	2.99	2.97	2.96	2.95	2.94
10	3.07	<b>3.02</b>	2.98	2.94	2.91	2.89	2.86	2.85	2.83	2.81	2.80	2.79	2.77
11	2.95	2.90	2.85	2.82	2.79	2.76	2.74	2.72	2.70	2.69	2.67	2.66	2.65
12	2.85	2.80	2.75	2.72	2.69	2.66	2.64	2.62	2.60	2.58	2.57	2.56	2.54
13	2.77	2.71	2.67	2.63	2.60	2.58	2.55	2.53	2.51	2.50	2.48	2.47	2.46
14	2.70	2.65	2.60	2.57	2.53	2.51	2.48	2.46	2.44	2.43	2.41	2.40	2.39
15	2.64	2.59	2.54	2.51	2.48	2.45	2.42	2.40	2.38	2.37	2.35	2.34	2.33
16	2.59	2.54	2.49	2.46	2.42	2.40	2.37	2.35	2.33	2.32	2.30	2.29	2.28
17	2.55	2.49	2.45	2.41	2.38	2.35	2.33	2.31	2.29	2.27	2.26	2.24	2.23
18	2.51	2.46	2.41	2.37	2.34	2.31	2.29	2.27	2.25	2.23	2.22	2.20	2.19
19	2.48	2.42	2.38	2.34	2.31	2.28	2.26	2.23	2.21	2.20	2.18	2.17	2.16
20	2.45	2.39	2.35	2.31	2.28	2.25	2.23	2.20	2.18	2.17	2.15	2.14	2.12

(摘自 GB 4086.4-1983 统计分布数值表  $F$  分布)

**A.1.1.2  $S_s \leq 0.3 \sigma$  准则**

从能力验证计划制备的样品中随机抽取( $i=1、2、\dots、m$ )，每个样品在重复性条件下测试 $j$ 次( $j=1、2、\dots、n$ )。按 A.1.1.1 计算 $MS_1$ 、 $MS_2$ 。

若每个样品的重复测试次数均为 $n$ 次。按下式计算样品之间的不均匀性标准偏差 $S_s$ ：

$$S_s = \sqrt{(MS_1 - MS_2) / n}$$

式中： $MS_1$ —样品间均方；

$MS_2$ —样品内均方；

$n$ —测量次数。

若 $S_s \leq 0.3 \sigma$ ，则使用的样品可以认为是均匀的。

**A.1.2 稳定性检验**

通常从微生物能力验证物品总体中随机抽取足够具有代表性的品进行稳定性检验，每个样品在重复条件下至少测试两次。将测试数据转换为以10为底的对数值后进行稳定性评价。

**A.1.2.1 t检验法**

按下式计算 $t$ 值：

$$t = \frac{|\bar{x}_2 - \bar{x}_1|}{\sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \times \frac{n_1 + n_2}{n_1 \times n_2}}}$$

式中： $\bar{x}_1$ —第一次测试数据的平均值；

$\bar{x}_2$ —第二次测试数据的平均值；

$s_1$ —第一次测试数据的标准偏差；

$s_2$ —第二次测试数据的标准偏差；

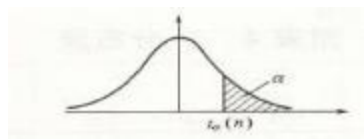
$n_1$ —第一次测试次数;

$n_2$ —第二次测试次数

注: 为了保证平均值和标准偏差的准确度,  $n_1$  和  $n_2$  均  $\geq 6$ 。

若  $t < \text{显著性水平 } \alpha$  (通常  $\alpha = 0.05$ ) 自由度为  $n_1 + n_2 - 2$  的临界值  $t_{\frac{\alpha}{2}(n_1+n_2-2)}$  (查表 2  $t$  分布表), 则两个平均值之间无显著差异, 表明样品是稳定的。

表2  $t$  分布表



$$P\{t(n) > t_{\alpha}(n)\} = \alpha \quad \alpha = 0.025 \quad (\text{单侧检验})$$

自由度	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
临界值	2.2281	2.2010	2.1788	2.1604	2.1448	2.1315	2.1199	2.1098	2.1009	2.0930
自由度	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
临界值	2.0860	2.0796	2.0739	2.0687	2.0639	2.0595	2.0555	2.0518	2.0484	2.0452
自由度	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
临界值	2.0423	2.0395	2.0369	2.0345	2.0322	2.0301	2.0281	2.0262	2.0244	2.0227

(摘自 GB 4086.3-1983 统计分布数值表  $t$  分布)

A. 1. 2. 2  $|\bar{x} - \bar{y}| \leq 0.3 \sigma$  准则

若  $|\bar{x} - \bar{y}| \leq 0.3 \sigma$  成立, 则认为样品是稳定的。

式中:  $\bar{x}_1$ —均匀性检验的总平均值

$\bar{y}$ —稳定性检验的测试平均值。

注: 取样数  $\geq 3$ , 每次单独取样。测试方法与均匀性检验相同。

## A. 2 定性计划

对于定性计划样品的均匀性和稳定性检验, 其取样和测试程序基本上和定量计划相同, 通常核查测试结果是否和样品制备时指定值一致, 如一致可判定样品满足要求, 如不一致可判定为不满足要求, 需核查原因或重新制样。另外, 也可利用以上定量计划的评定准则, 采用目标微生物和背景菌群计数来进行均匀性和稳定性评定。

## 附录B （资料性附录）

### 统计分析和能力评定

#### B.1 指定值和能力评定标准差的确定

对于微生物定量计划，确定指定值最常用的方法是利用参加者的公议值来确定，由所有参加者结果的稳健平均值或中位值给出。能力评定标准差的确定有多种方法，如标准偏差、标准化四分位距、经验值或先期能力验证获得的统计结果等。

对于定性计划，指定值通常由能力验证提供者在样品制备时确定。参加者结果和指定值（阳性/阴性）一致即为满意，不一致即为不满意。

#### B.2 能力评定

微生物水平较高的定量计划，参加者结果通常呈对数正态分布或近似对数正态分布。可将参加者结果转换为以10为底的对数值后，通过计算统计量： $Z$ 值、临界值（ $CD$ 值）、中位值 $\pm 0.5$ 来评定参加者的能力。

如参加者使用的是MPN计数方法，应考虑和平板计数法的方法差异，可采用经验值进行能力评定。

当样品中微生物水平较低时，如参加者结果（对数转换后）呈现非正态分布，应谨慎评定参加者的能力。

##### B.2.1 利用 $Z$ 值评定

$Z$ 值是参加者结果和指定值的差值与能力评定标准差 $\sigma$ 的比值。该值绝对值大小表示了参加者果与指定值的偏离程度， $Z$ 的“+”与“-”表示偏离的方向。 $Z$ 值计算公式如下：

$$z = \frac{x - X}{\sigma}$$

其中 $x$ 为参加的结果， $X$ 为指定值， $\sigma$ 能力评定标准差。

应用 $Z$ 值评定准则如下：

——  $|z| \leq 2.0$             满意

——  $2.0 < |z| < 3.0$        有问题

——  $|z| \geq 3.0$             不满意

### B.2.2 利用临界值（CD 值）评定

当参加者使用的测试方法有可靠的重复性限 $r$ 和再现性限 $R$ 时,可根据 GB/T 6379,按下式计算CD值:

$$CD = \frac{1}{\sqrt{2}} \sqrt{R^2 - r^2 \left( \frac{n-1}{n} \right)}$$

参加者在重复条件下 $n$ 次测试的平均值 $x$ 与指定值 $X$ 之差 $|x - X|$ 小于临界值CD值,则参加者的结果为满意结果,否则为不满意结果。

注:重复性限 $r = 2.8 \sigma_r$ ,再现性限为 $R = 2.8 \sigma_R$ , $\sigma_r$ 为测试方法的重复性标准差, $\sigma_R$ 为测试方法的再现性标准差。根据ISO 4833,常规30℃需氧培养的固体培养基上的菌落计数,其方法重复性限 $r$ 为0.25,再现性限 $R$ 为0.45,计算CD值约为0.29。

### B.2.3 利用中位值±0.5评定

通常,微生物实验室质量控制要求重复计数不超过0.5对数单位,符合该要求表明质量控制良好。当参加者使用的是平板菌落计数方法时,围绕平均菌落计数值的95%置信区间通常不超出±0.5对数单位。将这一质量控制标准引入定量微生物能力验证统计评价,参加者结果在对数中位值±0.5范围内可认为是满意结果(ISO/TS 22117)。能力评定准则如下:

——结果不超出对数中位值±0.5范围:        满意

——结果落在对数中位值±0.5范围外:       不满意



## B.2.4 MPN计数方法的结果评定

如果参加者使用的是MPN计数方法，对其结果评定应考虑MPN方法重复性。经验数据表明：对于3×3管方法，MPN结果对数值的标准差约为0.32；对于3×5管方法，MPN结果对数值的标准差约为0.24。

在理想情况下，95%的结果将会落在指定值±2σ以内，而超过99%的结果会落在指定值±3σ以内，σ为标准差。然而，实践中仍存在实验室间变异。大量分析数据显示方差会扩增至约2.5倍（因而标准差扩增1.58倍），因此参加者MPN计数结果的接受限应增加到±3σ和±5σ（ISO/TS 22117）。MPN对数值接受限见表3。

表3 MPN对数值接受限

接受限	3×3 管法	3×5 管法
±3σ	±0.96	±0.72
±5σ	±1.60	±1.20

MPN 计数方法结果评定准则如下：

- 在指定值±3σ（含边界）范围内： 满意
- 在指定值±3σ和指定值±5σ（不含边界）范围内：有疑问
- 在指定值±5σ（含边界）范围外： 不满意

注：随着参加者对MPN计数方法的逐渐熟练和参加者总体水平的提高，参加者MPN计数值之间的变异会逐渐减小，趋近于方法本身的变异，评价参加者结果的MPN对数值接受限可根据实际情况缩小。如英格兰卫生局经过两年多轮次能力验证计划运作之后，将参加者MPN对数值接受限分别缩小至±2.68σ和±4σ。

## 附录C（资料性附录）

## 微生物能力验证统计分析示例

以某次乳粉中菌落总数测定能力验证为例。参加者使用的测试方法为 ISO 4833菌落计数方法。

## C.1 均匀性检验

能力验证物品（冻干粉）分装后随机抽取10个样品，每个样品重复测试2次，测定结果见表 4。

表4 菌落总数测试结果（ $CFU/g$ ）

测试次数 样品号	测试结果 $x_1$	测试结果 $x_2$	$x_1$ 对数转换值	$x_2$ 对数转换值
1	50000	42000	4.699	4.623
2	53000	51000	4.724	4.708
3	60000	54000	4.778	4.732
4	47000	40000	4.672	4.602
5	50000	56000	4.699	4.748
6	43000	51000	4.633	4.708
7	45000	48000	4.653	4.681
8	46000	52000	4.663	4.716
9	48000	47000	4.681	4.672
10	43000	50000	4.699	4.623
总平均值			4.685	

单因子方差分析结果见表5。

表5 方差分析结果

方差来源	自由度	平方和	均方	$F$
样品间	9	0.023	0.0025	1.67
样品内	10	0.015	0.0015	

$F$  临界值  $F_{0.05(9,10)}=3.02$ 。计算的  $F$  值为1.67，该值  $<$  临界值，这初步表明在 0.05 显著性水平时，样品中的细菌分布是均匀的。

也可利用 A.1.1.2  $S_s \leq 0.3\sigma$  准则，计算样品之间的不均匀性标准偏差  $S_s$  为

0.022。以经验值 0.25 为能力评定标准差， $0.3\sigma$  为 0.075，满足  $S_s \leq 0.3\sigma$  准则的要求，可判断样品中的细菌分布是均匀的。

## C.2 稳定性检验

从总体样品中随机抽取5瓶进行稳定性检验，将其均匀性检验数据作为稳定性检验的第一次测试数据。模拟运输条件放置30天后进行第二次测试。每个样品在重复条件下测试两次。测试结果见表6。

表 6 模拟运输条件放置 30 天后测试结果（CFU/g）

样品号	测试结果			
	第 1 次	第 2 次	第 1 次对数值	第 2 次对数值
1	42000	44000	4.623	4.643
2	48000	50000	4.681	4.699
3	45000	50000	4.653	4.699
4	51000	49000	4.708	4.690
5	56000	53000	4.748	4.724

统计分析结果见表 7。

表 7  $t$  检验分析结果

$x_1$	$x_2$	$s_1$	$s_2$	$n_1$	$n_2$	$t$
4.685	4.687	0.045	0.038	20	10	0.12

在 0.05 显著水平下，自由度为 28 的临界值  $t_{0.05(28)}$  为 2.05。根据 A.1.2.1 公式计算  $t$  值为 0.12，小于临界值。第 2 次检测值与第 1 次检测值无显著差异，说明样品中细菌是稳定存活的。

也可利用 A.1.2.2  $|\bar{x}-\bar{y}| \leq 0.3\sigma$  准则，计算均匀性检验和稳定性检验总平均值的差值  $|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|$  为 0.002。以经验值 0.25 为能力评定标准差， $0.3\sigma$  为 0.075，满足  $|\bar{x}-\bar{y}| \leq 0.3\sigma$  准则的要求，可判断样品中的细菌是稳定存活的。

### C.3 结果统计和能力评定

共有 25 家参加实验室提交了测试结果，参加者结果及能力评定见表 8。

表 8 参加者结果及能力评定

参加实验室代码	参加实验室结果 <i>CFU/g</i>	对数转换值	Z 值	利用 <i>CD</i> 值 $ x - \bar{X}  < 0.29$	对数中位值 ± 0.5 规则
1	71000	4.851	1.45	满意	满意
2	55000	4.740	0.64	满意	满意
3	42000	4.623	-0.22	满意	满意
4	180000	5.255	4.39 §	不满意	不满意
5	43000	4.633	-0.15	满意	满意
6	28000	4.447	-1.50	满意	满意
7	41000	4.613	-0.29	满意	满意
8	50000	4.699	0.34	满意	满意
9	31000	4.491	-1.18	满意	满意
10	52000	4.716	0.46	满意	满意
11	54100	4.733	0.58	满意	满意
12	17500	4.243	-2.99*	不满意	满意
13	47500	4.677	0.18	满意	满意
14	49500	4.695	0.31	满意	满意
15	45000	4.653	0	满意	满意
16	39000	4.591	-0.45	满意	满意
17	33000	4.519	-0.98	满意	满意
18	22000	4.342	-2.27 *	满意	满意
19	65000	4.813	1.17	满意	满意
20	20000	4.301	-2.57 *	不满意	满意
21	50000	4.699	0.34	满意	满意
22	34000	4.531	-0.89	满意	满意
23	45000	4.653	0	满意	满意
24	35000	4.544	-0.80	满意	满意
25	70000	4.845	1.40	满意	满意

表中加\*的为有疑问结果，加 § 号的为不满意结果。

将参加者结果进行对数转换，以中位值为指定值 $X$ ，以标准化四分位距为能力评定标准差 $\sigma$ ，计算指定值 $X$ 为 4.653，能力评定标准差 $\sigma$ 为 0.137。

根据能力验证的目的，利用合理的统计方法（如B.2所列）评价参加者的结果，可利用B.2.1公式计算 $Z$ 值评定各参加者结果是否满意。或利用临界值（ $CD$ 值）评定参加者结果，当参加者在重复性条件下测定两次 $n$ 为 2 时， $CD$ 值为 0.29。也可利用对数中位值 $\pm 0.5$ 规则评定。三种能力评定方式评定结果略有差别。