JJF

中华人民共和国国家计量技术规范

JJF 1614—2017

抗生素效价测定仪校准规范

Calibration Specification for Antibiotics Potency Analyzers

2017-02-28 发布　　2017-05-28 实施

国家质量监督检验检疫总局 发布

www.360book.com

抗生素效价测定仪校准规范

Calibration Specification for Antibiotics Potency Analyzers

JJF 1614—2017

归 口 单 位：全国生物计量技术委员会

主要起草单位：河南省计量科学研究院

参加起草单位：中国计量科学研究院

济宁市计量测试所

本规范委托全国生物计量技术委员会负责解释

www.360book.com

本规范主要起草人：

丁峰元（河南省计量科学研究院）

隋志伟（中国计量科学研究院）

许建军（河南省计量科学研究院）

雷军锋（河南省计量科学研究院）

参加起草人：

孙　文（济宁市计量测试所）

张　玲（中国计量科学研究院）

纪祥娟（济宁市计量测试所）

www.360book.com

学兔兔 www.bzfxw.com

目　　录

引言 ……（Ⅱ）
1　范围……（1）
2　引用文件……（1）
3　概述 ……（1）
4　计量特性……（1）
5　校准条件……（2）
5.1　环境条件……（2）
5.2　校准设备……（2）
6　校准项目和校准方法……（2）
6.1　管碟法仪器……（2）
6.2　浊度法仪器……（3）
7　校准结果表达……（5）
8　复校时间间隔……（5）
附录A　校准记录格式 ……（6）
附录B　校准证书内页格式 ……（8）
附录C　测量不确定度评定示例 ……（9）

www.360book.com

学兔兔 www.bzfxw.com

引　言

本规范主要依据 JJG 861—2007《酶标分析仪检定规程》、JJF 1101—2003《环境试验设备温度、湿度校准规范》，参考《中华人民共和国药典》完成本规范的制定。

本规范为首次发布。

www.360book.com

学兔兔 www.bzfxw.com

抗生素效价测定仪校准规范

1 范围

本规范适用于管碟法和浊度法的抗生素效价测定仪（以下简称仪器）的校准。

2 引用文件

本规范引用了下列文件：

JJG 861—2007 酶标分析仪

JJF 1071—2010 国家计量校准规范编写规则

JJF 1101—2003 环境试验设备温度、湿度校准规范

中华人民共和国药典

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（包括所有的修改单）适用于本规范。

3 概述

仪器是通过检测抗生素对试验菌生长的抑制作用，计算抗生素的效价。根据测量原理，仪器分为管碟法和浊度法两种。管碟法仪器是利用抗生素在固体培养基内的扩散作用，通过分别测量标准样品和被测样品对接种的试验菌在固体培养基上产生抑菌圈的直径值或面积值，以计算被测样品抗生素效价的仪器。浊度法仪器是利用抗生素对液体培养基中试验菌生长的抑制作用，通过分别测量加入标准样品和被测样品的液体培养基的吸光度值，以计算被测样品抗生素效价的仪器。

4 计量特性

参考JJG 861—2007第3章和JJF 1101—2003第4章要求，仪器校准项目及技术指标见表1。

表1 校准项目及技术指标要求

仪器类型	校准项目	技术指标
管碟法	直径示值误差	±0.1 mm
	直径测量重复性	0.1 mm
浊度法	吸光度零点漂移	±0.005
	吸光度示值漂移	±0.005
	吸光度示值误差	±0.03
	吸光度测量重复性	0.005
	吸光度通道差异	0.03

www.360book.com

学兔兔 www.bzfxw.com

表 1（续）

仪器类型	校准项目	技术指标
浊度法	温度偏差	±1.0 ℃
	温度均匀度	1.0 ℃
	温度波动度	±0.5 ℃
注：以上技术指标不是用于合格性判别，仅供参考。		

5 校准条件

5.1 环境条件

仪器使用允许的环境条件，校准过程中应记录环境温度、相对湿度数据。

5.2 校准设备

5.2.1 标准圆盘

含二剂量和三剂量标准圆盘各一块。

二剂量标准圆盘：含 S_1，S_2，T_1，T_2 共 4 个圆孔。参照《中华人民共和国药典》要求，S_2 孔直径在 18 mm～22 mm 范围内，孔直径：$S_1<S_2$，$T_1<T_2$，每个圆孔直径扩展不确定度优于 0.03 mm（$k=2$）。

三剂量标准圆盘：含 S_1，S_2，S_3，T_1，T_2，T_3 共 6 个圆孔。参照《中华人民共和国药典》要求，S_2 孔直径在 15 mm～18 mm 范围内，孔直径：$S_1<S_2<S_3$，$T_1<T_2<T_3$，每个圆孔直径扩展不确定度优于 0.03 mm（$k=2$）。

5.2.2 数字温度计

可至少同时测量 5 组温度数据，测量范围满足 20 ℃～40 ℃，最大允许误差±0.3 ℃。

5.2.3 光谱中性滤光片

吸光度标称值为 0.3、0.5、0.7、1.0 的滤光片各 1 片，每片在波长 530 nm 和 580 nm处有吸光度标准值，相对扩展不确定度优于 2%（$k=2$）。

6 校准项目和校准方法

6.1 管碟法仪器

6.1.1 直径示值误差

根据仪器测量方式，选择相应的二剂量标准圆盘或三剂量标准圆盘。将标准圆盘平稳放入仪器通道中，测量标准圆盘各孔直径，每孔重复测量 3 次，按式（1）计算每孔的直径示值误差。如果仪器为多通道，其他通道的直径示值误差按照以上方法测量。

$$\Delta D=\overline{D}-D_s \tag{1}$$

式中：

ΔD ——某孔直径示值误差，mm；

$\overline{D}$ ——该孔 3 次直径测量平均值，mm；

D_s ——该孔直径标准值，mm。

www.360book.com

学兔兔 www.bzfxw.com

6.1.2 直径测量重复性

按照6.1.1的方法，对S_2孔连续测量6次，按式（2）计算直径测量标准偏差s，即为直径测量重复性。

$$s_D=\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(D_i-\overline{D})^2}{n-1}} \tag{2}$$

式中：

s_D——直径测量标准偏差，mm；

n——重复测量次数，$n=6$；

D_i——S_2孔第i次直径测量值，mm；

$\overline{D}$——S_2孔n次直径测量平均值，mm。

6.2 浊度法仪器

6.2.1 吸光度零点漂移及示值漂移

在无遮挡光路条件下，以空气为参比，调节仪器吸光度为0.000，30 min后再记录仪器吸光度示值，即为吸光度零点漂移。

将吸光度标称值为1.0的滤光片垂直置于样品槽中，以空气为参比，测量仪器初始吸光度示值，30 min后再次测量仪器吸光度示值，按式（3）计算吸光度示值漂移。

$$r=A_{30\ \mathrm{min}}-A_{初始} \tag{3}$$

式中：

r——吸光度示值漂移；

$A_{30\ \mathrm{min}}$——30 min后仪器吸光度示值；

$A_{初始}$——仪器初始吸光度示值。

6.2.2 吸光度示值误差

根据仪器的工作波长，在无遮挡光路条件下，以空气为参比，将吸光度标称值为0.3、0.5、0.7、1.0的4片滤光片分别垂直置于样品槽中。每片滤光片重复测量3次，取其平均值，按式（4）计算每片滤光片的吸光度示值误差。

$$\Delta A=\overline{A}-A_s \tag{4}$$

式中：

ΔA——某滤光片吸光度示值误差；

$\overline{A}$——该滤光片3次吸光度测量平均值；

A_s——该滤光片吸光度标准值。

6.2.3 吸光度测量重复性

按照6.2.2方法，对吸光度标称值为0.5的滤光片连续测量6次，按式（5）计算吸光度测量标准偏差s，即为仪器吸光度测量重复性。

$$s_A=\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(A_i-\overline{A})^2}{n-1}} \tag{5}$$

www.360book.com

学兔兔 www.bzfxw.com

式中：

s_A ——吸光度测量标准偏差；

n ——吸光度重复测量次数，$n=6$；

A_i ——第 i 次测量吸光度值；

$\overline{A}$ ——n 次测量吸光度平均值。

6.2.4 吸光度通道差异

将标称值为 0.5 的滤光片依次垂直置于各通道样品槽中，以空气为参比，每个通道连续测量 3 次取平均值作为该通道吸光度示值，各通道吸光度示值的最大值与最小值之差为通道差异，按式（6）计算吸光度通道差异。

$$R=A_{max}-A_{min} \tag{6}$$

式中：

R ——吸光度通道差异；

A_{max} ——各通道吸光度示值的最大值；

A_{min} ——各通道吸光度示值的最小值。

6.2.5 温度偏差

在仪器控温方阵中心孔位比色皿中加入 2/3 体积的蒸馏水，将数字温度计测温端置于该比色皿内蒸馏水的中部。设定仪器温度为工作温度，当温度稳定后，每隔 3 min 分别记录仪器温度显示值和数字温度计实测值，数字温度计实测值即为对应孔位的温度测量值，连续记录 10 次。10 次仪器温度显示值的平均值为仪器温度示值，10 次中心孔位温度测量值的平均值为该孔位温度标准值。温度偏差为仪器温度示值与仪器中心孔位温度标准值之差，按式（7）计算。

$$\Delta t_d=\bar{t}_d-\bar{t}_0 \tag{7}$$

式中：

Δt_d ——温度偏差，℃；

$\bar{t}_d$ ——仪器温度示值，℃；

$\bar{t}_0$ ——仪器中心孔位温度标准值，℃。

6.2.6 温度均匀度

按照 6.2.5 方法，测量仪器控温方阵 5 个孔位的温度（分别为中心孔位和其他均匀分布的 4 个孔位）。当温度稳定后，每隔 3 min 分别记录 5 个测温孔位的温度测量值，连续记录 10 次，按式（8）计算温度均匀度。

$$\Delta t_u=\frac{\sum_{i=1}^{n}(t_{imax}-t_{imin})}{n} \tag{8}$$

式中：

Δt_u ——温度均匀度，℃；

t_{imax} ——第 i 次测量时 5 个孔位温度测量值的最大值，℃；

t_{imin} ——第 i 次测量时 5 个孔位温度测量值的最小值，℃；

www.360book.com

学兔兔 www.bzfxw.com

n ——温度测量次数，$n=10$。

6.2.7 温度波动度

按照6.2.5方法进行测量，温度波动度为仪器控温方阵中心孔位温度随时间的变化量，即中心孔位在30 min内，10次温度测量值的最大值与最小值之差的一半，冠以“±”号，按式（9）计算。

$$\Delta t_f = \pm \frac{(t_{0max} - t_{0min})}{2} \tag{9}$$

式中：

Δt_f ——温度波动度，℃；

t_{0max} ——中间孔位10次温度测量值的最大值，℃；

t_{0min} ——中间孔位10次测量测量值的最小值，℃。

7 校准结果表达

经校准后的抗生素效价测定仪应填发校准证书，校准证书应符合JJF 1071—2010中5.12的要求，根据附录A的原始记录及附录C的不确定度评定示例，参照附录B给出校准项目名称、测量值以及扩展不确定度。

8 复校时间间隔

由于复校时间间隔的长短是由仪器的使用情况、使用者、仪器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，建议不超过1年。

www.360book.com

附录 A

校准记录格式

（推荐性格式）

送校单位：　　校准日期：　　年　月　日

仪器名称：　　制造厂：

型号：　　出厂编号：

证书编号：　　校准地点：

环境温度：　　℃　　相对湿度：　　%

A.1　管碟法仪器

A.1.1　直径示值误差　　mm

通道	圆孔	标准圆盘直径标准值	直径测量值			直径测量平均值	直径示值误差
			1	2	3		
	S_1						
	S_2						
	S_3						
	T_1						
	T_2						
	T_3						

A.1.2　直径测量重复性　　mm

圆孔	直径测量值						测量重复性
	1	2	3	4	5	6	
S_2							

A.2　浊度法仪器

A.2.1　吸光度零点漂移及示值漂移

项目	吸光度初始值	30 min 后吸光度值	漂移值
零点漂移			
示值漂移			

A.2.2　吸光度示值误差

仪器波长 nm	滤光片编号	吸光度标准值	吸光度测量值			吸光度测量平均值	吸光度示值误差
			1	2	3		

www.360book.com

A.2.3　吸光度测量重复性

滤光片编号	吸光度测量值						测量重复性
	1	2	3	4	5	6	

A.2.4　吸光度通道差异

通道	吸光度测量值			吸光度测量平均值	通道差异
	1	2	3		

A.2.5　控温性能　　℃

比色皿孔位	温度测量值										平均值
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
左上											—
右上											—
左下											—
右下											—
中间											
单次均匀度											
仪器温度示值											

温度偏差_____℃；温度均匀度_____℃；温度波动度_____℃。

www.360book.com

附录 B

校准证书内页格式

（推荐性格式）

B.1　管碟法仪器

序号	校准项目	校准结果
1	直径示值误差	
2	直径测量重复性	

本次校准直径示值误差测量结果的不确定度为：

B.2　浊度法仪器

序号	校准项目	校准结果
1	吸光度零点漂移	
2	吸光度示值漂移	
3	吸光度示值误差	
4	吸光度测量重复性	
5	吸光度通道差异	
6	温度偏差	
7	温度均匀度	
8	温度波动度	

本次校准吸光度示值误差测量结果的不确定度为：

校准员：_____　核验员：_____

www.360book.com

附录 C

测量不确定度评定示例

C.1　管碟法仪器直径示值误差的不确定度评定

C.1.1　测量模型

$$\Delta D=\overline{D}-D_s$$

式中：

ΔD ——某孔直径示值误差，mm；

$\overline{D}$ ——该孔 3 次直径测量平均值，mm；

D_s ——该孔直径标准值，mm。

C.1.2　不确定度来源

1）直径测量重复性引入的不确定度；

2）标准圆盘标准值引入的不确定度。

C.1.3　不确定度的计算

C.1.3.1　直径测量重复性引入的不确定度 $u(\overline{D})$

对 S_2孔连续 10 次的测量值为：21.79 mm，21.79 mm，21.80 mm，21.79 mm，21.81 mm，21.80 mm，21.79 mm，21.79 mm，21.81 mm，21.82 mm。则

$$s(\overline{D})=\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(D_i-\overline{D})^2}{n-1}}=0.011\ \text{mm}$$

实际以 3 次测量平均值为测量结果，则 $u(\overline{D})=0.011/\sqrt{3}=0.006\ 4$ mm。

C.1.3.2　标准圆盘标准值引入的不确定度 $u(D_s)$

标准圆盘校准证书的扩展不确定度为 0.004 mm（$k=2$），则 $u(D_s)=0.002$ mm。

C.1.4　标准不确定度分量一览表

直径示值误差测量结果的标准不确定度分量见表 C.1。

表 C.1　直径示值误差测量结果的标准不确定分量一览表

标准不确定度分量 u_i	来源	标准不确定度/mm
$u\ (\overline{D})$	测量重复性	0.006 4
$u\ (D_s)$	标准圆盘	0.002

C.1.5　合成标准不确定度

$$u_c(D)=\sqrt{u(\overline{D})^2+u(D_s)^2}=0.006\ 7\ \text{mm}$$

C.1.6　扩展不确定度

取包含因子 $k=2$，则仪器直径示值误差的扩展不确定度为：

$$U=k\times u_c(D)=2\times 0.006\ 7\ \text{mm}=0.02\ \text{mm}$$

C.2　浊度法仪器吸光度示值误差的不确定度评定

www.360book.com

C.2.1　测量模型

$$\Delta A=\overline{A}-A_s$$

式中：

ΔA ——某滤光片吸光度示值误差；

$\overline{A}$ ——该滤光片3次测量吸光度平均值；

A_s ——该滤光片吸光度标准值。

C.2.2　不确定度来源

1）吸光度测量重复性引入的不确定度；

2）光谱中性滤光片引入的不确定度。

C.2.3　不确定度的计算

C.2.3.1　吸光度测量重复性引入的不确定度 $u(\overline{A})$

对吸光度标称值为0.3的中性滤光片连续10次的测量值为：0.302，0.303，0.305，0.304，0.302，0.304，0.302，0.303，0.304，0.304。则

$$s(\overline{A})=\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(A_i-\overline{A})^2}{n-1}}=0.001\ 1$$

实际以3次测量平均值为测量结果，则 $u(\overline{A})=0.001\ 1/\sqrt{3}=0.000\ 64$。

C.2.3.2　光谱中性滤光片引入的不确定度 $u(A_s)$

光谱中性滤光片校准证书的相对扩展不确定度为2%（$k=2$），标准值为0.301，则 $u(A_s)=0.301\times2\%/2=0.003$。

C.2.4　标准不确定度分量一览表

吸光度示值误差测量结果的标准不确定度分量见表C.2。

表C.2　吸光度示值误差测量结果的标准不确定分量一览表

标准不确定度分量 u_i	来源	标准不确定度
$u(\overline{A})$	测量重复性	0.000 64
$u(A_s)$	光谱中性滤光片	0.003

C.2.5　合成标准不确定度

$$u_c(A)=\sqrt{u(\overline{A})^2+u(A_s)^2}=0.003\ 1$$

C.2.6　扩展不确定度

取包含因子 $k=2$，则仪器吸光度示值误差的扩展不确定度为：

$$U=k\times u_c(A)=2\times0.003\ 1=0.007$$

www.360book.com