

ICS 03.120.20

CCS A00

RB

中华人民共和国认证认可行业标准

RB/T xxxx—xxxx

食品微生物检测能力验证实施指南

Guidance for proficiency testing of food microbiology test

(征求意见稿)

××××-××-××发布

××××-××-××实施

国家认证认可监督管理委员会 发布

目次

前言	2
引言	3
1 范围	4
2 规范性引用文件	4
3 术语和定义	4
4、组织和管理要求	5
4.1 总则	5
4.2 保密性	5
4.3 安全性	6
5、能力验证计划的设计和策划	6
5.1 总则	6
5.2 能力验证项目和方法的选择	6
5.3 能力验证样品的设计	6
5.4 统计设计	8
5.5 能力验证结果评价的策划	8
6 能力验证样品的制备和分发	8
6.1 样品制备工艺	8
6.2 均匀性评估	9
6.3 稳定性评估	9
6.4 样品制备记录	10
6.5 能力验证样品包装和分发	11
6.6 给参加者的指导	11
7 能力评价	11
7.1 总则	11
7.2 定量检测（计数法）能力评价	12
7.3 定性检测能力评价方法	16
附录 A（资料性附录）食品微生物检测能力验证计划方案要素示例	17
附录 B（资料性附录）能力验证测试样品的选择	19
附录 C（资料性附录）均匀性评估和稳定性评估	20
附录 D（资料性附录）能力统计分析和能力评价	24
附录 E（资料性附录）低计数值泊松分布置信区间表	26
参考文献	27

前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本文件起草单位：青岛海关技术中心 等。

本文件主要起草人：雷质文等

引 言

能力验证（Proficiency Testing, PT）是参加者质量保证的重要手段，有助于评价和证明其测量结果的可靠性，识别潜在或新出现的问题，改进参加者的技术能力和管理水平；能力验证结果是参加者技术能力的有效证明，可为管理部门、认可机构、客户和其他利益相关方选择、评价、认可有能力的参加者提供依据。

GB/T 27043 规定了能力验证提供者所需的能力以及建立和运作能力验证计划的通用要求，适用于所有类型的能力验证计划，但未明确食品微生物检测领域能力验证活动的特殊要求。食品微生物检测能力验证活动有以下特殊性：

- a) 食品微生物检测能力验证的检测目标是具有生物活性的微生物，需要采取处理微生物所需的特定技术要求和工艺，确保能力验证样品的生物活性、均匀性和稳定性；
- b) 能力验证样品可能存在生物安全风险，需要在物品（样品）收集、制备、测试、存储、包装、标识、分发和处置等环节采取生物安全风险防控措施；
- c) 能力验证样品中的目标微生物在稀释液和培养液中服从泊松分布。

本文件修改采用了相关国际专业组织的文件，并充分融合了国内相关能力验证活动的主流经验，其仅限于满足 GB/T 27043 和食品微生物检测能力验证活动的特殊技术要求。必要时，本文件宜与 GB/T 27043 同时使用。

本文件适用于能力验证提供者在食品原料及终产品微生物检测领域组织开展能力验证活动，也可作为认可机构对食品微生物检测能力验证提供者的能力评价的依据。食品微生物领域检测能力验证活动的参加者有责任确定需要应对的风险和机遇，其中，涉及生物安全风险时，应符合国家相关法律法规要求。

食品微生物检测能力验证实施指南

1 范围

本文件给出了食品微生物检测能力验证活动的组织和管理、设计和策划、能力验证样品制备和分发、能力评价等实施工作指南。

本文件适用于能力验证提供者在食品原料及终产品微生物检测领域组织开展能力验证活动,也可作为认可机构对食品微生物检测领域能力验证提供者(后文简称:能力验证提供者)的能力评价和认可。

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。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)适用本文件。

GB/T 3358.1 统计学词汇及符号 第1部分:一般统计术语与用于概率的术语

GB/T 3358.2 统计学词汇及符号 第2部分:应用统计

GB/T 6379.1 测量方法与结果的准确度(正确度和精密度)第1部分:总则和定义

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

GB/T 23743 饲料中凝固酶阳性葡萄球菌的微生物学检验 Baird-Parker 琼脂培养基计数法

GB/T 27043 合格评定 能力验证提供者能力的通用要求

GB/T 27405 实验室质量控制规范 食品微生物检测

GB/T 28043 利用实验室间比对进行能力验证的统计方法

RB/T 031 能力验证计划的选择与核查及结果利用指南

RB/T 037 食品微生物检测标准方法等效性评估指南

RB/T 228 食品微生物定量检测的测量不确定度评估指南

SN/T 1800 食品和动物饲料微生物学 30℃菌落计数方法

3 术语和定义

GB/T 3358.1、GB/T 3358.2、GB/T 6379.1、GB/T 27043、GB/T 28043 和 RB/T 031 中的术语和定义适用于本文件,此外本文件还采用下列术语和定义。

3.1

标准菌株 reference strain

至少定义到属或种水平的菌株。按其特征进行分类和描述,有明确的来源。

注: 菌株宜来源于食品或水的菌株。

[来源: GB/T 27405-2008, 3.10]

3.2

目标微生物 target organism

能力验证样品中指定作为分析目标的微生物。

注：能力验证样品包括有证标准物质/标准样品、标准物质/标准样品、污染样品、自然污染样品等。

[来源：ISO 22117-2019, 3.1]

3.3

背景菌群 background flora

能力验证样品中与目标微生物竞争或相似的一种或多种微生物。

[来源：ISO 22117-2019, 3.2]

3.4

回收率 recovery percentage

能力验证参加者获得的目标微生物数量占指定值的比例。

注1：回收率的计算是将单位体积或单位质量中获得的微生物菌落数与指定值相除，然后乘以100%。

注2：能力验证样品中存在竞争性微生物和基质效应时，回收率可能显著低于100%。

[来源：ISO 22117-2019, 3.5]

3.5

能力验证计划 proficiency testing scheme

在食品微生物检测领域，设计和运作的一轮或多轮次能力验证。

[来源：ISO 17043-2023, 3.11, 修改]

4、组织和管理要求

4.1 总则

4.1.1 能力验证提供者宜建立和运行一个文件化的管理体系，以确保食品微生物检测能力验证计划符合 GB/T 27043 的要求。

4.1.2 能力验证提供者或外部服务供应商宜具有相应微生物项目的检测能力，并按照 GB/T 27405 的规定进行食品微生物检测质量控制。

4.1.3 能力验证提供者或外部服务供应商宜具备实施食品微生物检测能力验证计划所需的人员、设施与环境条件、设备、系统和支持服务等硬件和软件资源。

4.2 保密性

4.2.1 能力验证提供者应通过具有法律效力的承诺或协议，对在食品微生物检测能力验证活动中获得或产生的所有信息承担管理责任。

4.2.2 能力验证提供者应对能力验证活动中获得或产生的所有信息保密。除非参加者放弃保密，或当能力验证提供者与参加者有约定，否则所有信息都被视为专有信息予以保密。

4.2.3 特殊情况下，当法定职能部门或合同授权要求能力验证提供者直接为其提供保密信息时，能力验证提供者宜通知受影响的参加者。

4.3 安全性

4.3.1 能力验证提供者判断能力计划实施中可能存在的生物安全风险；存在生物安全风险时，相关场所、设施与环境条件、设备、人员防护、病原微生物样品、废弃物处理等应满足 GB 19489 所规定的相应级别的安全要求。

4.3.2 采取生物安全风险控制措施时，应充分考虑其对能力验证计划以及结果判定的影响；必要时，进行监控和评估。必要时，根据相关规定，向有关部门提出活动申请，审批后实施能力验证计划。

5、能力验证计划的设计和策划

5.1 总则

5.1.1 能力验证提供者在能力验证计划开始前，对能力验证计划相关的信息进行收集、整理、分析和转化，对准备选择的项目、检测方法、资源状况、预期参加者的检测能力和参试愿望、拟达到的验证水平做出评估，以及能力验证计划运作过程中的生物安全和保密性要求，制定文件化的方案。

5.1.2 GB/T 27043 给出了文件化能力验证计划方案的通用要求。本文件附录A给出了食品微生物检测能力验证策划方案的特殊要素示例。

5.1.3 必要时，安排专家对文件化能力验证计划方案进行评审，然后组织实施。

5.1.4 能力验证提供者对可能影响能力验证计划有效性的活动进行重大变更时，需要识别并控制风险，以确保能力验证计划的有效性得到维持。

注：重大变更包括能力验证物品制备、均匀性评估、稳定性评估、指定值的确定、统计分析的新方法和能力验证活动的新类型。

5.2 能力验证项目和方法的选择

5.2.1 通常选择业务覆盖面较宽的项目或方法，或日常检测中最常用的项目或方法等，以保证一定数量的参加者。必要时，能力验证提供者可以规定参加者使用指定的方法。

5.2.2 某食品微生物能力验证项目有多个方法时，若允许参加者自行选用，能力验证提供者应：

- a) 对不同检测方法得到的结果进行比对，可参考 RB/T 037；
- b) 了解每一被测量所用不同检测方法的技术等效性，采取措施评价不同方法的参加者结果。

5.2.3 必要时，参加者无法选择食品微生物检测项目或方法时，能力验证提供者宜给予适当的指导。

5.3 能力验证样品的设计

5.3.1 总则

5.3.1.1 能力验证提供者宜对能力验证样品的形式、种类、来源、制备方式、质量检验、均匀性评估、稳定性评估等要素进行策划和预评估，并保留相关信息。均匀性评估方案和稳定性评估方案宜同步设计。

5.3.1.2 能力验证样品与常规食品微生物检测工作具有关联性，在策划阶段明确或论证这种关联性。能力验证测试样品的选择参见附录 B。

5.3.2 样品基质的选择

5.3.2.1 可根据能力验证项目或实际需要，选择能力验证样品基质。必要时，说明选择基质类型的原因。

5.3.2.2 对样品基质的描述需说明该基质是天然的还是模拟的，是自然污染还是人工污染，其来源途径，以及样品基质储存方法，如冷冻干燥或常温自然干燥等。

5.3.2.3 能力验证提供者对所选样品基质进行预试验，检查其对目标微生物和背景菌群的影响，如基质是否影响所添加微生物的回收率。

5.3.2.4 使用天然未经灭菌的样品时，能力验证提供者需评估样品中背景微生物菌群对目标微生物的影响。使用人工污染的样品时，本底中不能含有目标微生物。

5.3.3 样品中微生物的设计

5.3.3.1 微生物溯源性

5.3.3.1.1 能力验证计划样品中目标微生物和背景菌群等应尽可能与日常检测样品相似，宜来自公认微生物保藏机构的菌株，也可使用能力验证提供者从相关食品、原料或生产加工环境中分离的、经过符合性确认的“野生”株。

5.3.3.1.2 特殊情况下，无法使用来自公认微生物保藏机构或能力验证提供者所分离的培养物或材料时，例如针对诺如病毒这类非可培养微生物，可以使用临床材料浸没或喷洒等人工污染双壳贝类的方式获得。

5.3.3.1.3 使用目标微生物前，需要用权威的标准方法确认其存活情况、纯度、关键表型特征等。允许参加者使用不同（原理的）方法时，明确目标微生物的典型和非典型表型特征差异。

5.3.3.1.4 妥善保留相关文件和记录，保留期限一般为 6 年。记录的调阅应符合保密性和安全性要求。

5.3.3.2 目标微生物

5.3.3.2.1 能力验证计划中明确定性检测和/或定量检测目标微生物。目标微生物的水平宜符合目标微生物检测方法的要求，并在能力验证样品基质中可以检出。目标微生物是病原微生物时，需考虑其对人体健康的危害水平和与样品基质相关的产品标准中规定的限量水平。

5.3.3.2.2 对于定量（计数）检测能力验证计划，目标微生物添加水平需要考虑微生物的方法检出限和在同类或相似样品中微生物常规检出水平。必要时，在标准中的限量水平附近设定样品中的目标微生物水平，以评价参加者应用某方法的能力。一般情况下，目标微生物的水平不宜低于 10 CFU/g (mL) 或 1 MPN/g (mL) (贝类样品不宜低于 100 MPN/g)。

5.3.3.2.3 对于定性检测能力验证计划，目标微生物的水平尽可能低，宜设定在略高于常规方法的检出限，以评估参加者应用某方法的能力。

5.3.3.3 背景菌群

5.3.3.3.1 无论是自然污染或人工污染样品，存在背景菌群时，需要进行预试验，避免假阳性结果。

5.3.3.3.2 用于模拟背景菌群的菌株，按照 5.3.3.1 要求，确定其表型特征。

5.3.3.3.3 对于特定目的能力验证计划，人工污染样品中可以没有背景菌群；必要时，为使样品更接近于自然状态，可添加适当的背景菌群，此时要策划背景菌群的组成，并确定其与目标微生物的预期含量和配比。背景菌群水平不宜对目标微生物有不利影响（例如抑制或其他干扰），必要时，通过试验保证能

力验证测试样品指定值的准确可靠。

5.4 统计设计

5.4.1 食品微生物检测能力验证计划统计分析受能力验证样品中目标微生物分布和水平的影响。对于不同的参加者数量，以及不同目标微生物项目或不同原理的检测方法，其统计分析方法是不同的，或者是有差异的。

注：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价，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。

5.4.2 除非能力验证样品（如饮用水或饮料）中微生物数量较少时，微生物定量检测数据通常呈对数正态分布，可选用本文件 7.2 所给出的统计方法。能力验证样品（如饮用水或饮料）中微生物数量较少（如 10 CFU/g）时，不同检测部分间微生物数量差异相对较大，不宜作为定量能力验证物品进行分发，但因为特殊需求时，可应用基于泊松分布的统计方法（7.2.2.8）。

5.4.3 半定量计数（如 MPN 计数法）和定性检测宜采用不同的统计方法进行统计分析，相关内容见本文件 7.2.2.7 和 7.3。

5.4.4 可使用多轮次定量微生物能力验证计划的经验值作为能力评价标准差来评价参加者的能力。

5.5 能力验证结果评价

5.5.1 根据能力验证计划的统计设计（5.4），明确特定轮次能力验证拟采取的数理分析和结果评价方式。

注：附录 D 给出了结果统计和能力评价示例。

5.5.2 策划和授权人员对特定轮次能力验证参加者的检测结果进行评价。

6 能力验证样品的制备和分发

6.1 样品制备工艺

6.1.1 根据能力验证样品设计（5.3），建立微生物能力验证样品的制备、贮存、处置的程序，包括检毕样品和剩余样品的处理。

6.1.2 根据食品微生物能力验证样品策划方案和预试验结果，对能力验证样品制备工艺进行预试验评估，以确定有效样品制备工艺。

6.1.3 食品微生物能力验证样品制备工艺，适用时，包括但不限于：

- a) 干燥或冻干；
- b) 研磨与粉碎；
- c) 筛分或萃取；
- d) 混合与调配；
- e) 过滤或提纯；
- f) 灭菌或灭活；

- g) 稳定化;
- h) 生物工程。

6.1.1.4 某些制备工艺可能影响食品微生物能力验证样品的均匀性,如冻干样品可能存在干燥程度不同的问题,可通过方案设计与优化工艺尽量避免或降低其影响,避免污染,防止其目标特性量(值)发生变化。

6.1.1.5 使用外部提供能力验证样品时,需要进行符合性验收,必要时进行抽样验证。

6.2 均匀性评估

6.2.1 总则

6.2.1.1 一般情况下,在重复性条件下能力验证样品间变异和样品内变异进行均匀性评估,抽样量、测量次数、测量顺序、数据处理、结果分析应符合统计学原则。

6.2.1.2 能力验证提供者可先制备大体积样本后,等分成若干小份样品直接分发给参与者,或者人工污染小份测试样品后分发。不论采用何种样品制备工艺,需要按照文件化程序,从测试样品总体中随机抽取一定数量、具有代表性的测试样品进行均匀性评估。

6.2.1.3 均匀性评估通常宜在能力验证物品被包装成最终形式之后、分发给参加者之前进行,但对于不稳定的新鲜材料,可在检测过程中进行均匀性评估。

6.2.2 定量检测(计数)样品的均匀性评估

6.2.2.1 对于定量测试样品,均匀性评估可基于重复性条件下样品间变异和样品内变异进行分析。通常从测试样品总体中随机抽取10个或10个以上测试样品进行均匀性评估,每个样品在重复性条件下按随机次序至少检测两次。附录C给出了测试样品均匀性评估方法。

6.2.2.2 对于病毒或核酸检测方法,本文件附录C中使用的细菌学术语可能不适用,均匀性评估可参照执行。

6.2.3 定性测试样品的均匀性评估

6.2.3.1 对于定性测试样品的均匀性评估,其取样和测试程序与定量测试样品的均匀性评估方法类似。

6.2.3.2 通常核查测试结果和样品制备时的指定值是否一致,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;不满足要求时,需核查原因或重新制样。

6.2.3.3 适用时,可以根据样品的人工污染状况和添加目标微生物计数方法,按本文件6.2.2和附录C,采用目标微生物或背景菌群计数进行均匀性评估。

6.3 稳定性评估

6.3.1 总则

6.3.1.1 不论采用何种样品制备工艺,至少自样品制备之后至截止日期期间需保持能力验证测试样品稳定。按照文件化程序,对储存和运输条件下能力验证样品进行稳定性评估。

6.3.1.2 可灵活设计和开展稳定性评估,以获取不同条件(如温度)对样品稳定性影响,从而可为样品的分发和储运提供条件选择依据,例如在样品运输过程中是否需要使用干冰或冰袋来控制温度。

6.3.1.3 若使用先前轮次中保留的能力验证物品，在样品分发前，需要确认本次能力验证计划中待测的特性值。

6.3.1.4 从总体样品中随机抽取一定数量样品进行稳定性评估，模拟储存或运输条件，放置一定时间后进行抽样检测。附录 C 给出了测试样品稳定性评估示例。

6.3.2 储存条件下的稳定性评估

6.3.2.1 稳定性期限是从能力验证物品制备起至规定的检测日期或检测时段。对于在低温下（如-70℃、-18℃、5℃）储存的样品，宜在储存期间定期评估每批材料中目标微生物的水平，以评估样品的稳定性。

6.3.2.2 对于大批量的样品，每次至少检测 3 个样品，以确认整批样品的稳定性（附录 C）。

6.3.2.3 稳定性评估的时间间隔及频次取决于该批次样品现有信息、已知稳定性信息和要求的稳定时间。储存期限为两周时，宜每 2 天检测一次；储存期限为一年时，宜每月检测一次。由于样品中目标微生物具有生物活性，所以不管采用何种检测频次，能力验证提供者均需对其可接受性进行评估。

6.3.3 运输条件下的稳定性评估

6.3.3.1 开展一项新的能力计划时，除评估储存条件下的稳定性外，还需评估恶劣运输状况或极限温度运输条件对样品稳定性的影响，例如，高温长时间运输时的样品稳定性。可模拟恶劣的运输条件和可能出现的最长运输时间，进行稳定性评估。

6.3.3.2 使用天然基质制备样品时，基质或目标微生物的变化可能会影响样品在分发过程中的稳定性，宜评估不同基质和目标微生物组合的样品稳定性。

6.3.3.3 温度数据可能为能力验证提供者解释参加者反馈的异常结果提供依据。对于需要严格控制温度的样品，宜规定样品接收标准，例如，甲壳类产品中的大肠埃希氏菌能力验证计划，宜在每个样品包装盒中放置温度记录器，动态记录运输过程中样品的温度变化。

6.4 样品制备记录

6.4.1 能力验证提供者需要记录足够的样品制备信息。原始的观察结果、数据和计算宜在观察或获得时予以记录，并按特定轮次能力验证活动予以识别。

6.4.2 样品制备记录，包括但不限于：

- a) 样品制备人员；
- b) 所用的样品基质及处理方式；
- c) 目标微生物和背景菌群的关键生化特性确认记录；
- d) 目标微生物、背景菌群添加水平和方式；
- e) 制备样品的主要仪器设备信息；
- f) 样品制备工艺（例如：冷冻干燥记录）；
- g) 样品数量；
- h) 样品制备环境监测记录；
- i) 样品均匀性评估和稳定性评估记录；
- j) 其他记录，如制备日期、安全处置、去污染或废弃处理等。

6.4.3 当参加者对食品微生物能力验证样品的均匀性和稳定性有疑问时，提供者宜积极与参加者沟通。必要时，提供尽可能详尽的见证材料。

6.5 能力验证样品包装和分发

6.5.1 能力验证物品的包装和分发，应符合国家、地区或国际的安全和运输要求；开展跨境能力验证时，应获得相关部门的审批文书，并及时告知参加者。

6.5.2 根据稳定性评估信息，策划和选择分发样品时最佳条件和最佳方式（如使用干冰或冰袋等冷链运输方式）分发和储运样品，并避免交叉污染。

6.5.3 必要时，可模拟验证样品包装和储运的符合性和有效性。

6.6 给参加者的指导

6.6.1 能力验证提供者应在发放能力验证物品前告知参加者能力验证物品可能到达或将要分发的日期，除非能力验证计划的设计不适于这样做。

6.6.2 能力验证提供者向所有参加者提供详细的文件化的指导书。指导书的内容包括但不限于：

- a) 所有样品基质类型。如果样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时，在指导书中说明；
- b) 所有样品的储存条件，特别是有关储存温度的信息，将这些信息标识在运输包装上；
- c) 适用时，参加者收到样品时的上限温度；
- d) 样品处理说明。特定条件下对样品进行复溶、稀释、检测时限或其它操作时，需要详细描述；
- e) 检测结果报告途径，以及截止期限；
- f) 检测方法，能力验证提供者指定或参加者自选；
- g) 报告结果时，参加者提交关键消耗品、方法、培养条件、计算方法等详细信息。必要时，提供结果报告模板；
- h) 接受问询的联系方式；
- i) 对于病原微生物能力验证计划，告知参加者相关生物安全风险以及安全建议。

7 能力评价

7.1 总则

7.1.1 能力验证提供者制定文件，给出与能力验证计划统计设计相符的总计统计量、能力统计量以及相关信息，处理不适合统计评价的检测结果（例如计算错误、转换错误和其他粗大误差等），识别和处理在分发后才发现的不适合表现评价的能力验证物品和收集的数据（例如测试样品不均匀、不稳定、损坏或被污染等）。

7.1.2 允许参加者使用不同的检测方法时，能力验证提供者应有程序处理不同检测方法的结果。例如，对于应用菌落计数方法所得结果与应用 MPN 方法所得结果，其数据统计方法不同，例如，利用泊松分布 95% 置信区间（CI）评价（7.2.2.8）。

7.1.3 能力验证提供者可根据不同类型的能力验证计划目标，设定不同的评价标准，对参加者的能力进行评价。必要时，在文件化的指导书中告知参加者。

7.1.4 适当时，分析能力评价“不满意”时的原因，并给出改进建议。

7.2 定量检测（计数法）能力评价

7.2.1 数据分析

7.2.1.1 能力验证计划所得结果数据量越大，统计分析越准确。

7.2.1.2 一般情况下，定量检测（计数法）数据结果被转换成以 10 为底的对数值后，呈对数正态分布或近似对数正态分布。菌落数量较低（如 <20CFU/g），或者数据结果（对数转换后）不是正态分布时，需要评估可能的原因，并使用合适的方法进行能力评价。

7.2.1.3 食品微生物领域能力验证计划中，通常以所有参加者结果的平均值、稳健均值或中位值作为指定值，其他指定值的确定可参考 RB/T 031 附录 D。使用稳健统计方法的目的是为了将离群值的影响最小化，不需要从数据中剔除离群值。

基于参加者的结果确定指定值时，如果实际得到了一个低的总体中位值（例如，由于大量参加者难以分离和鉴定某一特殊微生物），则需做出相应说明，以便对参加者的能力作出合理评价。

7.2.1.4 若将公议值作为指定值，能力验证提供者宜给出指定值不确定度。GB/T 28043 和 RB/T 228-2023 给出了不确定度评估方法。

7.2.1.5 能力评价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。附录 D 给出了能力评价示例。

7.2.2 能力评价方法

7.2.2.1 利用中位绝对离差（MADe）评价

7.2.2.1.1 中位绝对离差(MADe)是正态分布数据的总体标准偏差的估计值。MADe 计算方法对较高比例（如 50%）的离群值不敏感。假设参加者（参加者少于 50 个）提交的 p 个数据结果按递增顺序表示为：

$x_1, x_2, \dots, x_i, \dots, x_p$ 。可先计算 p 个数据的中位值，然后计算 p 个数据结果中每个数据与中位值的绝对差 $d_i (i=1 \sim p)$ ，再计算绝对差的中位值，见公式（1），将得到的中位值乘以 1.483 即可得到中位绝对离差值，见公式（2）。

绝对差 d_i 由式（1）计算：

$$d_i = |x_i - \text{med}(x)| \dots\dots\dots (1)$$

式中：

x_i ——参加者（ $i=1,2,\dots,p$ ）数据结果的对数值；

$\text{med}(x)$ —— p 个数据结果的中位值。

MADe(x)由式（2）计算：

$$\text{MADe}(x) = 1.483 \times \text{med}(d) \dots\dots\dots (2)$$

式中：

$\text{med}(d)$ ——绝对差 d_i 的中位值。

50%以上参加者的结果相同时， $\text{MADE}(x)$ 为0，则有必要使用标准化四分位距(nIQR)（见7.2.2.2）或具有更高效率的统计方法计算样本标准差。

7.2.2.1.2 通常依照以下常用准则进行参加者结果的评价：

- a) 参加者结果在 $\text{med}(x) \pm 2\text{MADE}(x)$ 内时，得分2，表明结果是可以接受的；
- b) 参加者结果在 $\text{med}(x) - 3\text{MADE}(x)$ 与 $\text{med}(x) - 2\text{MADE}(x)$ 之间，或者 $\text{med}(x) + 2\text{MADE}(x)$ 与 $\text{med}(x) + 3\text{MADE}(x)$ 之间时，得分1，表明结果是“有问题”的，产生预警信号；
- c) 参加者结果在 $\text{med}(x) \pm 3\text{MADE}(x)$ 以外时，得分0，表明结果是不可以接受的。

7.2.2.2 利用 Z 比分数评价

7.2.2.2.1 Z 比分数是参加者结果的对数值和指定值的差值与能力评价标准差 σ_{pt} 的比值。

Z 比分数由式（3）计算：

$$Z_i = \frac{x_i - x_{pt}}{\sigma_{pt}} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

x_i ——参加者结果的对数值；

x_{pt} ——指定值，例如中位值（见公式（4））；

σ_{pt} ——能力评价标准差，例如标准化四分位距(nIQR)（见公式（5））。

假设参加者提交的 p 个结果按递增顺序表示为： $x_1, x_2, \dots, x_i, \dots, x_p$ 。 p 为奇数时，中位值为第 $(p+1)/2$ 位的数值；当 p 为偶数时，中位值为第 $p/2$ 位和第 $(1+p)/2$ 位数值的平均值。

$\text{med}(x)$ 由式(4)计算：

$$\text{med}(x) = \begin{cases} x_{[(p+1)/2]} & p \text{ 为奇数} \\ \dots\dots\dots & \dots\dots\dots (4) \\ \frac{x_{\frac{p}{2}} + x_{\frac{(p+1)}{2}}}{2} & p \text{ 为偶数} \end{cases}$$

式中：

$\text{med}(x)$ ——中位值；

p ——参加者提交结果的个数。

将参加者结果按递增顺序排列，计算第 75 百分位（或第三个四分位）和第 25 百分位（或第一个四分位）参加者结果的差值，然后乘以系数 0.7413 即可得到标准化四分位距($n\text{IQR}$)。

$n\text{IQR}$ 由式(5)计算：

$$n\text{IQR}(x) = 0.7413 \times [Q_{3(x)} - Q_{1(x)}] \dots \dots \dots (5)$$

式中：

$Q_{1(x)}$ —— x_i 的第 25 百分位 ($i=1,2,\dots,p$)；

$Q_{3(x)}$ —— x_i 的第 75 百分位 ($i=1,2,\dots,p$)。

如果第 75 百分位数和第 25 百分位数相同，则 $n\text{IQR}$ 将为零，需在剔除离群值后计算标准偏差作为总体标准差估计值。

7.2.2.2.2 通常依照以下常用准则进行参加者结果的评价：

- a) 参加者结果在 $|Z_i| \leq 2.0$ 时，表明结果是可以接受的；
- b) 参加者结果在 $2.0 < |Z_i| < 3.0$ 时，表明结果是“有问题”的，产生预警信号；
- c) 参加者结果在 $|Z_i| \geq 3.0$ 时，表明结果是不可以接受的。

7.2.2.2.3 参试实验室数量不少于 18 家时，可采用稳健统计方法，反之，宜剔除离群值后采用其他统计方法。

7.2.2.3 利用检测方法的再现性限 (R) 评价

不同方法的再现性限 (R) 不同（例如，GB/T 23743 和 SN/T 1800）；不同样品基质、不同检测培养基或不同菌群本底，相同方法的再现性限 (R) 也不尽相同。

在实验室间再现性条件下，参加者进行样品测试，将两参加者单次结果对数差值的绝对值与参加者所使用同一检测方法的再现性限 (R) 进行比较，小于等于再现性限 (R)，则表示两参加者的单次结果是可以接受的，或者是“满意”结果。也可以将两参加者单次结果中高计数值与低计数值的比值与参加者所使用同一检测方法的再现性限 (R) 进行比较，小于等于再现性限 (R)，则表示两参加者的单次结果是可以接受的，或者是“满意”结果。

注：此能力评价方法适合于“一对一”能力验证。

7.2.2.4 利用测试方法临界差值评价

7.2.2.4.1 检测方法有可靠的重复性限 (r) 和再现性限(R)时，可利用临界差值 d_c 进行能力评价。参加者

在重复条件下 n 次测试的平均值 \bar{x} 与指定值 x_{pr} 之差小于临界值 d_c 时，表明参加者的结果为“满意”结果，否则为“不满意”结果。

临界差值 d_c 由式 (6) 计算：

$$d_{c0.95} = \frac{1}{\sqrt{2}} \sqrt{R^2 - r^2 \left(1 - \frac{1}{n}\right)} \dots\dots\dots (6)$$

式中：

$d_{c0.95}$ ——95% 概率水平下的临界差值 d_c ；

r ——重复性限；

R ——再现性限；

n ——参加者重复条件下测试次数。

7.2.2.4.2 通常依照以下常用准则进行参加者结果的评价：

- a) 参加者结果 \bar{x} 满足 $|\bar{x} - x_{pr}| < d_{c0.95}$ 时，表明结果是可以接受的；
- b) 参加者结果 \bar{x} 满足 $|\bar{x} - x_{pr}| \geq d_{c0.95}$ 时，表明结果是不可以接受的。

7.2.2.5 利用计数结果对数中位值 $\pm 0.5 \log_{10}$ 评价

在再现性条件下，对能力验证测试样品平板菌落计数。假设参加者提交的 p 个结果转换为以 10 为底的对数值后，按递增顺序表示为： $x_1, x_2, \dots, x_i, \dots, x_p$ 。参加者结果检测结果在对数中位值 $\pm 0.5 \log_{10}$ 单位范围内时，可认为是满意结果，表明参加者的结果为“满意”结果，否则为“不满意”结果。

注：此统计分析评价方法不适用于 MPN 法。

7.2.2.6 利用使用百分位值评价

7.2.2.6.1 在再现性条件下，对能力验证测试样品平板菌落计数。假设多于 50 个参加者提交的 p 个结果转换为以 10 为底的对数值后，按递增顺序表示为： $x_1, x_2, \dots, x_i, \dots, x_p$ 。计算参加者结果分布的 5%，10%，90% 和 95% 的百分位值，分别记为 C5，C10，C90 和 C95。C5 和 C10 向下修约至 $0.05 \log_{10}$ 单位（如 2.28 修约到 2.20），而 C90 和 C95 向上修约 $0.05 \log_{10}$ 单位（例如 3.33 修约到 3.40）。

7.2.2.6.2 通常依照以下常用准则进行参加者结果的评价：

- a) 参加者结果落在 C10 和 C90 之间（可接受范围）时，得分 2 时，表明结果是可以接受的；
- b) 参加者结果在 C5 和 C10 之间，或者 C90 和 C95 之间时，得分 1，表明结果是“有问题”的，产生预警信号；
- c) 参加者结果在低于 C5 或高于 C95 时，得分 0，表明结果是不可以接受的。

7.2.2.6.3 百分比评价方法是稳健的，不依赖于实际结果的常用对数计数是否是正态分布。如果在已建立的能力验证计划中参加者数量少于 50 个参加者，或对某个特定参数报告计数结果的参加者数目少于 50，

则不宜应用本方法，可利用中位绝对离差（**MADe**）评价（7.2.2.1）。

7.2.2.7 MPN 计数结果对数值接受限的评价

7.2.2.7.1 参加者使用 MPN 计数方法时，对其结果评定应考虑 MPN 方法的变异性。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。MPN 对数值接受限见表 1。

表 1 MPN 对数值接受限

接受限	3×3 管法	3×5 管法
$\pm 3\sigma$	± 0.96	± 0.72
$\pm 5\sigma$	± 1.60	± 1.20

7.2.2.7.2 通常依照以下常用准则进行参加者结果的评价：

- 在指定值 $\pm 3\sigma$ （含边界）范围内时，表明结果是可以接受的；
- 在指定值 $\pm 3\sigma$ 至指定值 $\pm 5\sigma$ （不含边界）范围内时，表明结果是“有问题”的，产生预警信号；
- 在指定值 $\pm 5\sigma$ （含边界）范围外时，表明结果是不可以接受的。

参试实验室大于 18 家，指定值为中位值。否则，指定值为剔除离群值后的平均值。

7.2.2.8 利用泊松分布 95%置信区间（CI）评价

7.2.2.8.1 泊松 95% CI 可用于样品中含有较低水平（ ≤ 15 ）微生物的能力评估，例如，参与者或提供者的中位数为 1 CFU/mL 的水或果汁等液体样品。由于样品中生物体的随机变异性（泊松变异性），利用泊松分布 95%置信区间（CI）进行能力评价。

7.2.2.8.2 将参加者结果按递增顺序表示为： $x_1, x_2, \dots, x_i, \dots, x_p$ ，按公式（4）计算中位值，查附录 E，获得中位值对应的泊松分布 95%置信区间（CI），上下限取整数。例如，查附录 E，中位数为 3 对应的泊松分布 95%置信区间为（<1, 6）。

7.2.2.8.3 参加者的计数结果在中位值对应的泊松分布 95%置信区间（CI）内时，表明结果是可以接受的，否则为不可接受。

7.3 定性检测能力评价方法

7.3.1 统计学方法在定性结果分析方面的应用是有限的，通常为符合或一致性评价。

7.3.2 对于定性检测能力验证计划，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）一致时，表明结果是可以接受的，否则，表明结果是不可以接受的。

附录 A

(资料性)

食品微生物检测能力验证计划方案要素示例

A.1 表 A.1 是食品微生物检测能力验证计划方案要素示例

表 A.1 食品微生物检测能力验证计划方案要素表

计划名称	
实施机构	
工作小组组成	
计划负责人 姓名： 联系地址： 联系电话/手机： E-mail：	关键技术专家 姓名： 联系地址： 联系电话/手机： E-mail：
统计专家 姓名： 联系地址： 联系电话/手机： QQ： E-mail：	计划联系人 姓名： 联系地址： 联系电话/手机： QQ： E-mail：
参加者 (1) 数量及类型： 估计超过 200 个参加者。 (2) 参加者条件 (包括参加者应具备的软件和硬件条件等)：	
能力验证项目： <input type="checkbox"/> 定量测试项目：菌落总数、大肠菌群、肠杆菌科、大肠埃希氏菌等 <input type="checkbox"/> 定性测试项目：单核细胞增生李斯特氏菌、大肠埃希氏菌 O157、沙门氏菌属等	
建议采用的检测方法： 检测方法 1： 检测方法 2：	
试验样品说明： (1) 样品来源： <input type="checkbox"/> 自然污染样品 <input type="checkbox"/> 自制加标样品 <input type="checkbox"/> 商业样品 (2) 自制加标样品 1) 样品基质： 2) 目标微生物的来源和特性： 3) 背景菌群的组成： 4) 目标微生物和背景菌群的预期含量/范围： 5) 样品的加工处理方式以及环境条件：	

<p>(3) 样品制备和均匀性、稳定性检验，包括方法及程序：</p> <p>(4) 样品储存、运输和分发特殊要求（包括所需条件）：</p> <p>(5) 样品丢失或损坏时采取的措施：</p>
日程安排（含计划开始、邀请参加、报名、分发样品、参加者反馈结果、发布结果报告等时间）：
<p>数据处理和采用的统计分析、指定值及不确定度的确定方法、结果评价的准则：</p> <p>指定值：中位值（计数）</p> <p>结果评价的准则：定量方法使用百分位值评价；定性方法利用与组织者本地一致性进行评价。</p>
反馈给参加者的数据、中期报告等的描述，对计划的结果及结论公布的范围：
<p>防止串通或伪造结果的措施：</p> <p>如多水平、多样本设计，参加者返回分离到的目标微生物等。</p>
适当时，计划费用的说明和成本预算细目（包括每个参加者预计支付费用）：
生物安全防护措施：
<p>相关事项：</p> <p>(1) 潜在的主要误差来源：</p> <p>(2) 分包（明确是否有分包，如有，说明分包的事项及分包的联系方式）：</p> <p>(3) 其它事项：</p>
<p>提出部门意见：</p> <p style="text-align: right;">签字（或盖章） 年 月 日</p>
<p>机构批准意见：</p> <p style="text-align: right;">批准人（签名或盖章）： 年 月 日</p>

附录 B

(资料性)

能力验证测试样品的选择

B.1 能力验证样品选择顺序

能力验证样品选择从先至后依次为：

- a) 自然污染样品。理想的自然污染样品对目标微生物的污染程度接近于所需的样品污染水平。
- b) 混合污染样品。如果自然样品的污染水平过高，可以通过与不含有目标微生物的同类食品样品进行均匀混合，降低样品的污染水平（稀释），达到所需的样品污染水平，制备成混合污染样品。
- c) 人工污染样品。自然样品无法满足能力验证目标和目的要求时，可制备人工污染样品。
- d) 标准样品或标准物质。如果无法获得自然污染样品，也可使用标准样品或标准物质。
- e) 微生物核酸样品，包括灭活微生物、全基因组核酸、特定核酸片段、假病毒或质粒等。

B.2 混合污染样品

将自然污染样品与不含有目标微生物的同种样品按一定比例均匀混合，获得所需污染水平的样品。混合的方式可以采用揉捏、搅拌、均质和（或）震荡等。

混合污染样品在自然污染样品正常的保存温度下存放。在样品测试前至少存放 1 天。

B.3 人工污染样品

根据所选食品基质准备用于人工污染的样品，尽量选取含背景菌群的产品，应确保样品中不含有目标微生物。样品基质如果不利于混合均匀，可单独制备每个样品，将每个样品的量缩小为试样的量，整个样品用于测试。

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。

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。

B.4 微生物核酸样品

能力验证检测方法为常规聚合酶链式反应（PCR）、荧光 PCR、数字 PCR、基因芯片、核酸分子杂交、等温扩增技术等核酸检测方法时，根据能力验证计划，给参加者提供灭活微生物、全基因组核酸、特定核酸片段、假病毒或质粒等测试样品。

附录 C

(资料性)

均匀性评估和稳定性评估

C.1 定量测试样品的均匀性评估和稳定性评估

C.1.1 均匀性检验

C.1.1.1 乳粉菌落总数测试结果

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。

例如，实验室获得自然污染乳粉或人工污染乳粉，分装为实验室间比对试验样品，随机抽取 10 个样品，每个样品重复测试 2 次，测定结果见表 C.1。

表 C.1 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 对数值 ($\log_{10} x_1$)	x_2 对数值 ($\log_{10} x_2$)
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	4.633	4.699
总平均值			4.685	

C.1.1.2 单因子方差分析结果

微生物水平较高时，可用单因子方差分析初步评价样品的均匀性。为检验样品的均匀性，抽取 i 个样品 ($i=1, 2, \dots, m$ ，本案例 $m=10$)，每个样在重复条件下测试 j 次 ($j=1, 2, \dots, n$ ，本案例 $n=2$)。

$$\text{每个样品的测试平均值 } \bar{x}_i = \sum_{j=1}^n x_{ij} / n_i$$

$$\text{全部样品测试的总平均值 } \bar{x} = \sum_{i=1}^m \bar{x}_i / m$$

$$\text{测试总次数 } N = \sum_{i=1}^m n_i$$

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

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

$$\text{自由度 } f_1 = m - 1$$

$$f_2 = N - m$$

$$F = \frac{MS_1}{MS_2}$$

统计量

若 F 小于自由度 (f_1, f_2) 及给定显著性水平 α (通常 $\alpha=0.05$) 的临界值 $F_\alpha(f_1, f_2)$ (查 F 分布表), 则表明样品内样品间无显著差异, 样品是均匀的。

单因子方差分析结果见表 C.2。

表 C.2 方差分析结果

方差来源	自由度	平方和 S_s	均方 MS	F
样品间	9	0.022	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, $F < F_{0.05(9,10)} = 3.02$, 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。

C.1.1.3 利用 $S_s \leq 0.3\sigma$ 准则

微生物水平较高时, 通常对汇总的参加者检测结果进行数理分析后, 求算该次计划的能力评价标准差 σ , 也可以经验值或已知值 (如先期同类能力验证计划的能力评价标准差 σ) 作为能力评价标准差 σ , 应用 $S_s \leq 0.3\sigma$ 准则 (S_s 为样品间标准差, σ 为能力评价标准差) 确认样品是否均匀。

为检验样品的均匀性, 抽取 i 个样品 ($i=1, 2, \dots, m$, 本案例 $m=10$), 每个样在重复条件下测试 j 次 ($j=1, 2, \dots, n$)。若每个样品的重复测试次数均为 n 次 (本案例 $n=2$)。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。

根据 C.1.2 计算 MS_1 、 MS_2 ，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 为能力评价标准差， 0.3σ 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.1.2 稳定性检验

C.1.2.1 乳粉菌落总数测试结果

从总体样品中随机抽取 5 个样品进行稳定性检验，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 C.3。

表 C.3 放置 30 天后的测试结果 (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

C.1.2.2 t 检验法

微生物水平较高时，可用 t 检验法评价样品的稳定性。按下式计算 t 值：

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

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。

本案例统计分析结果见表 C.4。

表 C.4 t 检验分析结果

\bar{x}_1	\bar{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 $t_{0.975}(28)$ 为 2.05。根据公式计算可知 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。

C.1.2.3 $|\bar{x} - \bar{y}| \leq 0.3\sigma$ 准则

微生物水平较高时，通常对汇总的参加者检测结果进行数理分析后，求算该次计划的能力评价标准差 σ ，也可以经验值或已知值（如先期同类能力验证计划的能力评价标准差 σ ）作为能力评价标准差 σ ，应用 $|\bar{x} - \bar{y}| \leq 0.3\sigma$ 准则（ S_s 为样品间标准差， σ 为能力评价标准差）确认样品是否稳定。

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

式中：

\bar{x} ——均匀性检验的总平均值；

\bar{y} ——稳定性检验的测试平均值。

计算均匀性检验和稳定性检验总平均值的差值 $|\bar{x} - \bar{y}|$ 为 0.002。参加实验室检测数据回收之后，根据回收的检测数据经统计分析后算得该次计划的能力评价标准差 σ ，也可以经验值 0.25 为能力评价标准差， 0.3σ 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。

注：取样数 ≥ 3 ，每次单独取样。测试方法与均匀性检验相同。

C.2 定性测试样品的均匀性评估和稳定性评估

C.2.1 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。

C.2.2 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。

例如，某机构组织食品中副溶血性弧菌（定性）检测能力验证计划时，对样品采用两种类型的稳定性试验，一种是贮存温度（2℃~8℃）下的稳定性检验分别在第1d、15d、30d、60d时每天检测3份；另一种是在高的温度（模拟样品的运输条件和实际运输条件）下的稳定性检验，模拟样品的运输条件选用三个温度，分别为20℃、36℃和42℃，20℃条件下分别在第1d、5d、7d、15d时每天检测3份，36℃条件下分别在第1d、3d、5d、7d时每天检测3份，42℃条件下分别在第1d、3d、5d、7d时每天检测3份。针对不同温度点不同的保存时间测试3个样本，检测结果与指定值进行比较，与指定值一致则为满足要求，反之则不满足要求。

C.2.3 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。

C.2.4 稳定性检验结果表明，样品在测试期间是稳定的，能够满足能力验证样品的要求。

附录 D

(资料性)

能力统计分析和能力评价

D.1 指定值和能力评价标准差的确定

D.1.1 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。能力评价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。

D.1.2 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。

D.2 能力评价

D.2.1 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（ d_c 值）、对数中位值 $\pm 0.5\log_{10}$ 来评价参加者的能力。

D.2.2 参加者使用的是MPN计数方法时，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价。

D.2.3 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。

D.3 能力统计分析和能力评价示例

本案例共有 25 家参加实验室提交了测试结果，参加者结果及能力评价见表 D.1。

表 D.1 参加者结果及能力评价

实验室代码	参加实验室结果 (CFU/g)	对数转换值(\log_{10} CFU/g)	Z 值	对数中位值 $\pm 0.5\log_{10}$ 规则
1	71000	4.851	1.445	满意
2	55000	4.740	0.635	满意
3	42000	4.623	-0.219	满意
4	180000	5.255	4.394§	不满意
5	43000	4.633	-0.146	满意
6	28000	4.447	-1.504	满意
7	41000	4.613	-0.292	满意
8	50000	4.699	0.336	满意
9	31000	4.491	-1.182	满意
10	52000	4.716	0.460	满意
11	54100	4.733	0.584	满意
12	17500	4.243	-2.993*	满意
13	47500	4.677	0.175	满意
14	49500	4.695	0.307	满意
15	45000	4.653	0	满意
16	39000	4.591	-0.453	满意
17	33000	4.519	-0.978	满意
18	22000	4.342	-2.270*	满意

实验室代码	参加实验室结果 (CFU/g)	对数转换值(\log_{10} CFU/g)	Z 值	对数中位值 $\pm 0.5 \log_{10}$ 规则
19	65000	4.813	1.168	满意
20	20000	4.301	-2.569*	满意
21	50000	4.699	0.336	满意
22	34000	4.531	-0.891	满意
23	45000	4.653	0	满意
24	35000	4.544	-0.796	满意
25	70000	4.845	1.401	满意

表中加*的为可疑结果，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价标准差 σ ，计算指定值 X 为 4.653，能力评价标准差 σ 为 0.137。

利用合理的统计方法评价参加者的结果，可利用 7.2.2.2 公式计算 Z 值评价各参加者结果是否满意，或利用临界值 (d_c 值) 评价参加者结果，当参加者在重复性条件下测定两次 n 为 2 时， d_c 值为 0.49，约为 0.5。也可利用对数中位值 $\pm 0.5 \log_{10}$ 规则评价，其评价结果与利用 d_c 值评价结果相同。

附录 E

(资料性)

低计数值泊松分布 95%置信区间值

菌落数	泊松分布 95%置信区间值
1	(<1, 3)
2	(<1, 5)
3	(<1, 6)
4	(<1, 8)
5	(<1, 9)
6	(1, 11)
7	(2, 12)
8	(2, 14)
9	(3, 15)
10	(4, 16)
11	(4, 18)
12	(5, 19)
13	(6, 20)
14	(7, 21)
15	(7, 23)

参考文献

1. ISO 22117:2019 Microbiology of the food chain ——Specific requirements and guidance for proficiency testing by interlaboratory comparison
 2. ISO 17043:2023 Conformity assessment — General requirements for the competence of proficiency testing providers
 3. ISO 7218:2024 Microbiology of the food chain — General requirements and guidance for microbiological examinations
 4. CNAS-CL03-A001:2024 《能力验证提供者认可准则在微生物领域的应用说明》
 5. CNAS-GL002:2018 《能力验证结果的统计处理和能力评价指南》
 6. CNAS-GL003:2018 《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》
 7. CNAS-CL03:2010 《能力验证提供者认可准则》
 8. CNAS-RL06: 2018 《能力验证提供者认可规则》
-