

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 2775—2011

商品化食品检测试剂盒评价方法

Methods for the evaluation of commercial test kits for food testing purpose

2011-02-25 发布

2011-07-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准由中华人民共和国福建出入境检验检疫局、中华人民共和国湖南出入境检验检疫局、中华人民共和国广西出入境检验检疫局负责起草。

本标准主要起草人：黄晓蓉、杨方、黄志强、郑晶、刘军义、邵碧英。

商品化食品检测试剂盒评价方法

1 范围

本标准规定了用于食品检测的商品化检测试剂盒评价方法的通用要求。

本标准适用于商品化食品检测试剂盒生产企业、用户及第三方机构在生产或使用商品化食品检测试剂盒时对相关技术指标进行评价。

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 27025 检测和校准实验室能力的通用要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

商品化食品检测试剂盒 commercial test kits for food testing purpose

对一种分析方法的主要或关键组成进行了商品化包装并可供销售的检测体系,用以确定一种或多种食品基体中目标分析物的存在或含量。

3.2

基质 matrix

样本中除分析物以外的一切组成。

3.3

标准物质 reference material

具有一种或多种足够均匀和很好地确定了特性,用以校准测量装置、评价测量方法或给材料赋值的一种材料或物质。

3.4

参考方法 reference method

经过全面研究,清楚而严密地描述所需条件和程序,用于对物质一种或多种特性值进行测量的方法。该方法已经证明具有与预期用途相称的准确度及其他性能。

3.5

基质效应 matrix effect

样本中除分析物以外的其他成分对分析物测定值的影响以及基质对分析方法准确测定分析物的能力的干扰。

3.6

特异性 specificity

能准确、特异测定目标物的能力。

3.7

检测限 limit of detection

在给定的置信水平上,样品中的目标物能被可靠地与噪音背景区分的最低浓度或含量。

3.8

定量限 limit of quantitation

样品中目标物在一个可接受的精密度与正确度水平上能被定量检测的最低浓度或含量。

3.9

精密度 precision

在规定条件下,独立测试结果间的一致程度。

3.10

正确度 trueness

由大量测试结果得到的平均数与接受参照值间的一致程度。

3.11

重复性 repeatability

在同一实验室,由同一操作者使用相同的设备,按相同的测试方法,在短时间内对同一被测对象相互独立进行的测试条件为重复性条件。在重复性条件下获得的精密度称为重复性。

3.12

再现性 reproducibility

在不同的实验室,由不同的操作者使用不同的设备,按相同的测试方法,从同一被测对象取得测试结果的条件为再现性条件。在再现性条件下获得的精密度称为再现性。

3.13

耐变性 ruggedness

采用商品化食品检测试剂盒对同一样品在各种正常检测条件下进行分析,所得结果的再现性程度。在同一实验室,由同一操作者使用相同的设备,按相同的测试方法,在短时间内对同一被测对象相互独立进行的测试条件。

3.14

假阴性率/假阳性率 false negative/positive rate

将阳性结果/阴性结果判断为阴性/阳性的比率。

4 通用要求

4.1 对商品化食品检测试剂盒的要求

检测试剂盒应包装完整;标签、标识清晰、规范;带有使用说明书或等同指导性文件,文件内容应包括以下部分:

- a) 明确该检测试剂盒针对的用户,如农户、企业或是分析实验室;
- b) 试剂盒的应用范围:包括检测的目标物和适用的基质范围;
- c) 对结果的表述与理解:说明如何表述检测结果。如检测的响应值代表的含义、是否有其他分析物也会产生响应、是否代表一族分析物的响应等;
- d) 操作指南:明确检测所要求的样本缩分、分析物提取等步骤,包括完整的检测操作程序与是否使用内标、外标等控制手段;
- e) 有效期:明确试剂盒的保存时间与保存条件;
- f) 环境要求:明确使用试剂盒时是否对环境温度与湿度、实验操作场所等;
- g) 交叉反应:明确试剂盒对检测对象的类似特、代谢产物或可能出现在基质里的非目标化合物

- 的响应情况；
- h) 抽样原则:说明实验室检测需要的样本量,明确在进行分析前所必须进行的采样、处理、混合及二次抽样步骤;
 - i) 注意事项:包括安全提示、废弃物处理、可能存在危害的操作步骤;
 - j) 技术支持:提供用户可获得技术支持的联系人、电话或传真、邮箱地址;
 - k) 质量合格证书;
 - l) 其他应告知用户的事项。

4.2 对评价实验室的要求

若评价结果用于商品化食品检测用试剂盒的上市流通或需要对此商品化食品检测用试剂盒做出评价结论,那么参与评价的实验室至少需要 8 家,每个结果至少重复测定 2 次。检测实验室应能够满足确认测试的要求(包括:GB/T 27025 和其他特殊要求),并通过资质认定。

5 评价方法

5.1 需要评价的技术指标

5.1.1 总则

用于食品检测的商品化检测试剂盒分为定性检测用与定量检测用商品化试剂盒。采用定性检测用商品化试剂盒试验出具的检测报告仅出具阴性与阳性的判断结果,不报送具体检测数值。采用定量检测用商品化试剂盒试验出具的检测报告报送在检测限以上的检测数值。

5.1.2 定性检测用商品化试剂盒的评价指标

- 5.1.2.1 灵敏度。
- 5.1.2.2 特异性。
- 5.1.2.3 假阴性率/假阳性率。
- 5.1.2.4 耐变性。
- 5.1.2.5 与现有方法一致性分析。

5.1.3 定量检测用商品化试剂盒的评价指标

- 5.1.3.1 线性和范围。
- 5.1.3.2 检测限。
- 5.1.3.3 定量限。
- 5.1.3.4 正确度。
- 5.1.3.5 特异性。
- 5.1.3.6 精密度。
- 5.1.3.7 耐变性。
- 5.1.3.8 与参考检测方法的比较。

5.2 评价方法

5.2.1 定性检测用商品化试剂盒技术指标的评价方法

5.2.1.1 基本要求

采用至少 3 个不同批次的试剂盒,每一批次的试剂盒分别对 20 份阴性控制样品、20 份加标样品进

行检测。加标样品的加标浓度与试剂盒提供的临界控制值一致。同时采用参考方法进行检测。参考方法与试剂盒方法检测结果的表示如表 1 所示。

表 1 参考方法与试剂盒方法检测结果表示

测试样品实际状态 ^a	试剂盒检测结果 ^b		合计
	阳性	阴性	
阳性	a	b	a+b
阴性	c	d	c+d
合计	a+c	b+d	a+b+c+d
^a 参考方法的检测结果。 ^b 试剂盒方法的检测结果。			

5.2.1.2 灵敏度

灵敏度 = $a/(a+c)$ 。

5.2.1.3 特异性

特异性 = $d/(b+d)$ 。

5.2.1.4 假阴性率/假阳性率

5.2.1.4.1 假阴性率与灵敏度相对应,即灵敏度 = $1 - \text{假阴性率} = c/(a+c)$ 。

5.2.1.4.2 假阳性率与特异性相对应,即特异性 = $1 - \text{假阳性率} = b/(b+d)$ 。

5.2.1.5 耐变性

仅评价采用商品化食品检测试剂盒建立的检测方法的有效性时,不一定需要进行耐变性实验,但该试剂盒拟在不同实验室应用时则应考虑。最好在进行方法的有效性实验之前进行,以便改进方法,提高效率。耐变性评价由以下步骤组成:确定可能影响检测结果的因素、对每一种因素稍作改变、采用合适的方法进行耐变性检验、若发现某种因素可显著影响检测结果,应进一步实验以确定该因素可接受的水平、在检测方法中应清楚说明可显著影响检测结果的因素。耐变性实验步骤参见附录 A。

5.2.1.6 与现有方法一致性分析

对于每一种食品类型和每一个添加水平,采用试剂盒检测试剂与采用参考方法检测所得到的阳性结果比率不存在统计学差别。可采用卡方(χ^2)检验,按式(1)进行计算。

$$\chi^2 = \frac{(|a-b|-1)^2}{a+b} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

a —— 试剂盒方法确定为阳性而参考方法确定为阴性的样品数;

b —— 试剂盒方法确定为阴性而参考方法确定为阳性的样品数。

卡方(χ^2)检验结果按以下方法进行分析:

—— $\chi^2 < 3.84$,表示试剂盒方法与参考方法的阳性确证比率在 5%的置信区间内没有统计学差异。

每一类食品的每一个接种水平应达到该标准。如果试剂盒比参考方法有更高的回收率,则两

种方法的阳性确证比率存在统计学差异是可以接受的；

- $\chi^2 \geq 3.84$ ，表示试剂盒方法与参考方法的阳性确证比率在 5% 的置信区间内有统计学差异。如果某类食品的某一个接种水平的分析结果经卡平方检验表示存在统计学差异，则应从方法的适用范围内删除这一类食品，或者对试剂盒方法进行改进，并进行额外的测试，以证明该结果可接受。

5.2.2 定量检测用商品化试剂盒技术指标的评价方法

5.2.2.1 线性和范围

以标准溶液考察线性和范围。标准浓度应包括一定梯度的至少 5 个浓度(非线性者如免疫分析可适当增加)；标准曲线应覆盖样品可能的浓度范围。线性要求可能由客户规定或参考方法制定。

5.2.2.2 检测限

以 20 份空白样品测定读数的均值加 3 倍标准偏差计算检测限，以分析物的浓度单位进行表征。

5.2.2.3 定量限

以 20 份空白样品测定读数的均值加 10 倍标准偏差计算定量限。定量限应等于或大于校准曲线上最低浓度点，对于定量分析来说，每种样品基体强标准至少加标 6 个点进行实际分析，而后计算得至定量限，定量限不能以外推法获得。定量限应大于标准曲线中最低浓度点并包括在线性范围内。在定量限水平上重复至少 6 次实验。

5.2.2.4 准确度

5.2.2.4.1 与参考方法的比较

采用试剂盒与参考方法分别对同一份样本进行至少 6 次的测试。参考方法可以是国际标准、国家标准、行业标准或其他经过验证的方法。比较结果需要采用适当的统计学方法进行分析(如配对 t 检验法)以证明两种方法之间的偏倚。

5.2.2.4.2 采用有证标准物质

对有证标准物质(CRM)进行 6 次重复检测；计算每次重复检测的分析物浓度；计算 6 次重复检测的平均值、标准偏差和变异系数；按式(2)计算正确度：

$$\text{正确度}(\%) = \text{检测值} / \text{认定值} \times 100 \quad \dots\dots\dots(2)$$

5.2.2.4.3 回收率

以添加回收率表征定量检测试剂盒的准确度。对于试剂盒所适用的每种基体，每种基体添加 3 个浓度水平的目标分析物，每个水平至少测定 6 次。所添加的浓度范围应涵盖高、中、低三个水平。

5.2.2.5 精密度

5.2.2.5.1 针对单个实验室进行的精密度试验

针对每一种样品(基体) n 的 m 个测试组分在 d 天内进行 r 次重复测定，其中 $r \times m$ 应不小于 10； n 至少为 2； d 至少为 2。计算得到的重现性实验下的相对标准偏差(RSD_r)值。

理论标准偏差按式(3)计算：

$$PRSC = 2C^{-0.15} \quad \dots\dots\dots(3)$$

式中：

$PRSC$ ——理论标准偏差；

C ——以质量分数表示(如浓度为 100%时, C 为 1,浓度为 1 $\mu\text{g/g}$ 时, C 为 0.000 001)。

室内精密度用 $HORRAT$ 值表示,按式(4)计算：

$$HORRAT = RSD_r / PRSC \dots\dots\dots(4)$$

式中：

RSD_r ——重现性实验下的相对标准偏差；

$PRSC$ ——理论标准偏差。

5.2.2.5.2 由多家实验室进行的精密度试验

若采用多家实验室协同验证的方式进行精密度试验,计算所得到的相对标准偏差(RSD_R)值。以 RSD_R 代替 RSD_r ,按式(4)计算 $HORRAT$ 值,即为室间精密度。

5.2.2.6 耐变性

仅评价采用商品化食品检测试剂盒建立的检测方法的有效性时,不一定需要进行耐变性实验,但该试剂盒拟在不同实验室应用时则应考虑。最好在进行方法的有效性实验之前进行,以便改进方法,提高效率。耐变性评价由以下步骤组成:确定可能影响检测结果的因素、对每一种因素稍作改变、采用合适的方法进行耐变性检验、若发现某种因素可显著影响检测结果,应进一步实验以确定该因素可接受的水平、在检测方法中应清楚说明可显著影响检测结果的因素。耐变性检验方法参见附录 A。

附 录 A
(资料性附录)
耐变性检验方法

A.1 耐变性检验的实验设计

A.1.1 假设以 A、B、C、D、E、F 和 G 表示 7 种不同因素,当这些因素轻微变化时可能影响检测结果,以 a、b、c、d、e、f 和 g 表示这 7 种因素的替代。

A.1.2 上述因素共有 2^7 即 128 种组合方式,出于实际操作的考虑,选择一种有 8 个组合的子集(见表 A.1),以代表可能出现的情况。

表 A.1 耐变性检验的实验设计

影响因素	测 定 次 数							
	1	2	3	4	5	6	7	8
A 或 a	A	A	A	A	a	a	a	A
B 或 b	B	B	b	B	B	B	b	b
C 或 c	C	c	C	C	C	c	C	c
D 或 d	D	D	d	D	d	d	D	D
E 或 e	E	e	E	E	e	E	e	E
F 或 f	F	f	f	F	F	f	f	F
G 或 g	G	g	g	G	g	G	G	g
获得的结果	s	t	u	V	w	x	y	z

A.2 平均值(A)间的比较

A.2.1 比较大写字母(A_A 至 A_G)的平均值与小写字母(A_a 至 A_g)的平均值。如果某个因素对检测结果有影响,那么其差异比其他因素要大。

$$A_A = \sum(A_i)/4 \quad A_B = \sum(B_i)/4 \quad A_C = \sum(C_i)/4 \quad A_D = \sum(D_i)/4 \quad A_E = \sum(E_i)/4$$

$$A_F = \sum(F_i)/4 \quad A_G = \sum(G_i)/4 \quad A_a = \sum(a_i)/4 \quad A_b = \sum(b_i)/4 \quad A_c = \sum(c_i)/4$$

$$A_d = \sum(d_i)/4 \quad A_e = \sum(e_i)/4 \quad A_f = \sum(f_i)/4 \quad A_g = \sum(g_i)/4$$

差异(D_i)

差异的平方(D_i^2)

$$D_a = A - a = \sum(A_i) - \sum(a_i) \quad D_a^2 = \text{值 } a$$

$$D_b = B - b = \sum(B_i) - \sum(b_i) \quad D_b^2 = \text{值 } b$$

$$D_c = C - c = \sum(C_i) - \sum(c_i) \quad D_c^2 = \text{值 } c$$

$$D_d = D - d = \sum(D_i) - \sum(d_i) \quad D_d^2 = \text{值 } d$$

$$D_e = E - e = \sum(E_i) - \sum(e_i) \quad D_e^2 = \text{值 } e$$

$$D_f = F - f = \sum(F_i) - \sum(f_i) \quad D_f^2 = \text{值 } f$$

$$D_g = G - g = \sum(G_i) - \sum(g_i) \quad D_g^2 = \text{值 } g$$

差异 D_i 的标准偏差 $SD_i = \sqrt{2 \times \sum(D_i^2/7)}$

A.2.2 若 SD_i 值明显比实验室内重复性条件下得到的标准偏差大,那么即使单个因素并不表现对结果有影响,也可以认为所有因素加合起来对结果有影响,该方法对于所选择参数的变化并无足够的耐变性。
