

DB4403

深圳市地方标准

DB4403/T XXX—XXXX

食品中致病菌快速检测产品 性能评价通用要求

General requirements for performance evaluation of rapid determination
products of pathogenic bacteria in food

(送审稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

深圳市市场监督管理局

发布

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。本标准的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件由深圳市市场监督管理局提出并归口。

本文件起草单位：深圳市计量质量检测研究院。

本文件主要起草人：王伟达、杨睿、蔡琳、卢灿鑫、林长虹、陈晶、林振华、李乐诗、郑彦婕、蓝勇波。

食品中致病菌快速检测产品性能评价通用要求

1 范围

本文件规定食品中致病菌快速检测定性产品评价中的术语定义、送评要求、一般性指标、技术要求及评价流程等内容。

本文件适用于食品中致病菌快速检测产品适用性的技术评价，包括显色培养基法、干片法、胶体金免疫层析法等原理的快速定性产品。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。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）适用于本文件。

- GB/T 19000 质量管理体系 基础和术语
- GB 19489 实验室 生物安全通用要求
- GB/T 20000.1 标准化工作指南 第1部分：标准化和相关活动的通用术语
- GB/T 27025 检测和校准实验室能力的通用要求
- GB/T 27405 实验室质量控制规范 食品微生物检测
- RB/T 033—2020 微生物检测方法确认与验证指南
- SN/T 3266—2012 食品微生物检验方法确认技术规范

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

一般性指标 general characteristic

产品包装、中文标签、使用说明书、生产者资质、产品合格证和产品安全性标识等外在可直观评判的指标。

3.2

参比方法 reference method

国际、国家、行业或组织认可并被广泛接受的方法。

3.3

最低检出水平 minimum detection level

待评价的致病菌快检产品（简称“快检产品”）预期所能检出微生物的最低含量水平。

注：对于有前增菌步骤的快检产品，指增菌后预期所能检出微生物的最低含量水平。

3.4

特异性 specificity

使用纯化后的非目标菌对快检产品进行的测试，这些非目标菌可能具有交叉反应，但最终不会被定

性。

3.5

重现性 ruggedness

在不同的正常测试条件下，快检产品重复测试得到的测试结果的精准程度。

3.6

盲样 blind sample

微生物浓度水平未知的待测样品。

3.7

理论 LOD₅₀ theoretical LOD₅₀

基于5.2.1中描述的实验设计方案测定LOD₅₀。

注：由于测试样品的数量非常少，因此无法准确测定LOD₅₀。因此，使用术语理论LOD₅₀，阳性结果检测概率理论上为50%。

3.8

相对准确度 relative accuracy

相同的盲样使用快检产品测试的结果与参比方法确认的一致程度。

4 送评要求

首次参加评价的快检产品，对于同一品种规格的快检产品，应至少提供2个不同生产批号的产品，每批号不少于100个。

非首次参加评价的快检产品，对于同一品种规格的快检产品，应至少提供1个生产批号的产品，每批号不少于100个。

快检产品由生产商提供，送至评价机构参加评价。送评样品应为同一品种规格的快检产品，在有效期截止日期三个月之前的产品可以参加评价。产品如有储藏、运输要求的应按要求执行。

5 评价指标

5.1 一般性指标

5.1.1 产品包装

快检产品包装应完整，内容物（产品组成）齐全，应包含产品合格证和中文使用说明书。

5.1.2 中文标签

中文标签清晰、规范，包括产品名称、批号、规格、数量、有效期、保存条件、注意事项、生产者、地址、联系方式等。

5.1.3 使用说明书

厂家提供的使用说明书内容应表述清晰、完整，包括简介、适用范围、检测时间、检测原理、产品组成、需配套使用的试剂设备、注意事项、储存条件、样品处理、会引起交叉反应的非目标菌、检测操作步骤、结果判断、安全性说明，应符合附录A的规定。

此外，厂家应提供或在说明书上备注产品的最低检出水平。

5.1.4 生产者资质

生产者名称和地址应当是依法登记注册、能够承担产品安全质量责任的生产者的名称、地址、联系方式（电话、传真或邮箱地址）。进口产品应标示原产国国名或地区名称，以及在中国依法登记注册的代理商、进口商或经销者的名称、地址和联系方式，并提供以下材料：

- a) 合法进口证明文件：海关进口批准文件；
- b) 中国总经销的授权文件：生产商提供的授权书。

5.1.5 产品安全性说明

对于快检产品，应在说明书的醒目位置清晰地标示出实验废弃物的处理方式，并且指出其在使用过程中的注意事项。生物类废弃物根据病原分类选择合适的处理方式。

5.1.6 涉及仪器检测的快检产品的评价特殊要求

对于采用仪器法检测的快检产品，仪器由供应商提供，并且所使用的仪器应具有有效的校准或检定证明。

对于需采用确认反应片或配套试剂的快检产品，配套试剂和耗材应由供应商提供。

5.2 技术要求

5.2.1 最低检出水平

测试样品采用人工污染样品，有前增菌步骤的快检产品，去除前增菌步骤。

评价快检产品时应根据使用说明书规定的适用范围，选择基质的种类和类型。若其适用于多种基质，如食品，则至少选择2类食品，其中每类食品至少选择1种类型的样品；若只适用于某一特定类型的基质，如食品，则应在该类食品中选择至少2种不同类型的样品。样品基质的选择，应具有代表性。

每种基质至少需要在中、低、极低3个不同接种水平和无接种情况下完成测试，每种情况重复测试4次，共得到16个测试结果。包括4个中水平：接种量为预期最低检出水平的10倍；4个低水平：将中水平接种物稀释10倍得到最低检出水平，此时接种水平即为理论 LOD_{50} ；4个极低水平：将低水平接种物稀释10倍得到极低水平接种物；4个无接种物，作为阴性对照。

阴性样品不应获得阳性结果，如果获得阳性结果，则对所有水平进行重复实验，若重复实验仍获得阳性结果，则评价不通过；中水平的接种（ $10 \times LOD_{50}$ ）只能获得阳性结果，如果获得阴性结果，则对该水平进行重复实验，若重复实验仍获得阴性结果，则评价不通过；低水平应至少获得25%的阳性结果，若未获得阳性结果，则对该水平进行重复实验，测试结果仍未获得阳性结果，则评价不通过；极低水平阳性结果数不应超过低水平接种的阳性结果数。

5.2.2 特异性

使用纯化后的非目标菌进行测试，在测试过程中不需要添加样品基质。测试菌株的纯培养应是最佳生长条件下，非选择性培养基上培养并处于稳定期的细胞群体。

特异性评价，评价内容应包括但不限于附录B中微生物的纯培养物。规定特异性实验中，应选择附录B中4种及以上的非目标菌，接种水平为快检产品最低检出水平的10倍至100倍，重复测试4次。

对于厂家在说明书中已注明的交叉反应非目标菌，不对该菌进行特异性评价。若说明书中标注的交叉反应非目标菌数量 >2 ，则评价不通过。快检产品中如有选择性增菌的步骤，去除选择性增菌的步骤，直接使用微生物纯培养物开展评价。

评价中优先测试附录B中必选的非目标菌，若最终 >2 种非目标菌产生交叉反应（含使用说明书已标注的），则评价不通过；若评价结果中1-2种非目标菌产生交叉反应而使用说明书中未对其标注，则快检产品生厂商需作一般性整改，在使用说明书中补充该非目标菌。随后，评价机构需从附录B中挑选新的

非目标菌作为替代继续开展实验，若最终 >2 种交叉反应非目标菌（含使用说明书已标注的），则评价不通过。

5.2.3 重现性

重现性测试样品采用自然污染样品或人工污染样品。有前增菌步骤的快检产品，去除前增菌步骤。

制备的测试盲样，应尽可能结合使用人工和自然污染样品。如没有自然污染样品，可以使用人工污染的样品。评价快检产品时应根据使用说明书规定的适用范围，选择基质的种类和类型，参考5.2.1上述内容。

每种基质至少需要在高、低和阴性3个不同水平完成测试，每个水平的样品重复测试10次，共获得30个测试结果。理想情况下，高水平恰好为最低检出水平的50~100倍，低水平为最低检出水平的5~10倍。阴性样品需经参比方法确认为阴性结果。

对于每个生产批号的快检产品，假阳性率应 $\leq 15\%$ ，假阴性率应 $\leq 5\%$ ，相对准确度应 $\geq 91\%$ 。

6 评价流程

6.1 评价前准备工作

6.1.1 开展评价检测工作前，评价人员应先熟悉快检产品的检测原理、实验方法等相关内容，开展阴性样品，自然污染样品和目标菌接种制备人工污染食品样品等准备验证。

6.1.2 应制定具体作业指导书或评价方案，保障评价结果准确可靠，应包括但不限于：

- a) 评价工作要求；
- b) 送样要求；
- c) 样品管理；
- d) 盲样制备与检查；
- e) 评价内容及依据；
- f) 结论出具。

6.2 对一般性指标的评价

对产品包装、中文标签、使用说明书、生产者资质、产品安全性等一般性指标进行审核。对符合要求的快检产品予以技术指标评价。经评价符合要求的快检产品，中文标签、使用说明书不得随意修改。

6.3 参比方法的选择

对于有国家标准的目标菌，优先选择国家标准指定的检测方法。

对于没有国家标准的目标菌，优先选择国家食品安全监督抽检指定检测方法。

其他国际认可的方法也可以作为参比方法，如国际标准化组织(ISO)、国际分析化学家协会(AOAC)、美国食品药品监督管理局(FDA)推荐的检测方法。

6.4 盲样基质的选择

为减少当地特殊食品造成的偏差，应在尽可能广的范围内选择食品种类，并且应根据食品安全监管的需求，尽量选择那些涉及食物中毒、有召回要求和具有潜在高风险危害的食品作为样品基质，具体要求见5.2。

6.5 盲样组成

6.5.1 组成要求

盲样由具有代表性基质的阴性样品和阳性样品组成，包含未接种或不同含量微生物的样品。

最低检出水平评价实验中，每一种基质至少包括4个测试水平的样品，如阴性和3个不同测试水平的人工污染样品，每个测试水平至少包含4个样品。

重现性评价实验中，每一种基质至少包括3个测试水平的样品，如阴性和2个不同测试水平的阳性样品，每个测试水平的样品重复测试10次。

实验中，优先选择自然污染食品样品，如果不能获得足够数目的自然污染食品样品，允许使用人工污染食品样品。

6.5.2 阴性样品

阴性样品，经参比方法确认为无目标菌的食品样品。

6.5.3 人工污染样品

自然污染的样品有时很难得到，因此常使用目标菌接种制备人工污染食品样品。根据快检产品使用说明书的实验要求，称取适量的阴性样品，接种一定浓度的目标菌菌液混合而成。制备后的人工污染样品应小心处理、保存，使样品在评价前保持稳定，并尽快进行测试。

6.5.4 自然污染样品

应努力获得自然污染样品，这些样品最大程度上代表了快检产品使用的真实环境。

6.6 盲样测试

6.6.1 盲样制备

每一生产批号快检产品，按照快检产品使用说明书取样要求进行盲样制备，其中包含自然污染样品、未接种目标菌的阴性样品及不同接种水平的人工污染样品。

对于首次评价的快检产品，应至少进行2个生产批号的平行测试。盲样制备、评价实施等工作应为独立环节，盲样制备人与评价人不应为同一人。

6.6.2 检测

按照快检产品使用说明书或仪器使用说明书的要求对盲样进行检测，评价人员需2名及以上。

6.6.3 结果判读

按照快检产品使用说明书或仪器使用说明书的要求判读结果。

6.6.4 空白实验

为排除环境、试剂等因素干扰，应开展空白实验。

6.7 检测时间

按照快检产品说明书要求取单个样品，检测时间从样品前处理开始计时，记录从前处理步骤至得出检测结果整个过程的时间总和。对于有前增菌步骤快检产品的检测时间，需额外说明，加上前增菌时间。

6.8 计算

根据盲样测试结果，计算该快检产品的假阳性率、假阴性率及相对准确度。

表 1 性能指标的计算

样品情况 ^a	检测结果 ^b		总数
	阳性	阴性	
阳性	N ₁₁	N ₁₂	N _{1.} =N ₁₁ +N ₁₂
阴性	N ₂₁	N ₂₂	N _{2.} =N ₂₁ +N ₂₂
总数	N _{.1} =N ₁₁ +N ₂₁	N _{.2} =N ₁₂ +N ₂₂	N=N _{1.} +N _{2.} 或者 N _{.1} +N _{.2}
假阴性率（%）	$N_{12} \times 100/ N_{1.}$		
假阳性率（%）	$N_{21} \times 100/N_{2.}$		
相对准确度（%）	$(N_{11}+N_{22}) \times 100/ (N_{1.}+N_{2.})$		
注：N--任何特定单元的结果数，第一个下标指行，第二个下标指列。例如：N ₁₁ 表示第一行，第一列，N ₁₂ 表示第一行，第二列；N _{1.} 表示所有的第一行；N _{.2} 表示所有的第二列。			
^a 由参比方法检验得到的结果。			
^b 由评价实验得到的结果。			

6.9 检测时间

按照快检产品说明书要求取单个样品，检测时间从样品前处理开始计时，记录从前处理步骤至得出检测结果整个过程的时间总和。对于有前增菌步骤快检产品的检测时间，需额外说明，加上前增菌时间。

6.10 报告出具

对评价整体情况和结果进行汇总整理和分析，评价报告应包括但不限于以下内容：

- a) 产品名称、产家、型号、批号、日期；
- b) 盲样性质、基质、接种水平；
- c) 一般性指标评价结果；
- d) 技术性指标的评价结果；
- e) 评价结论。

附 录 A

(规范性)

快检产品使用说明书要求

- A.1 产品适用范围：应明确注明产品适用的具体范围（典型基质），例如“适用于鸡肉检测”。应标明产品研发生产过程中已开展的具体测试范围。对于已发现的明显不适用的基质应进行说明。
- A.2 产品检测时间：应标明单个产品检测所需时间（从制样开始到结果判定）。
- A.3 检测目标物：应明确指出检测的具体目标菌株和交叉反应非目标菌，标注应实事求是，准确标识。
- A.4 检测原理、产品组成、储存条件、样品处理、检测操作步骤、结果判读、生物安全废弃物处理等表述要清晰、完整。
- A.5 检测该项目需增加的试剂设备应明确注明。
- A.6 注意事项：应包括安全提示、生物安全废弃物处理、可能存在的安全危害等，对操作环境有特殊要求的还应明确环境要求。
- A.7 安全性说明：含有致癌、剧毒、易燃易爆或强腐蚀性试剂，或在使用过程中需使用致癌、剧毒、易燃易爆或强腐蚀性试剂的，应在使用说明书醒目位置清晰标识，并指出注意事项。

附 录 B
(资料性)

特异性评价交叉反应非目标菌选择指引

特异性评价中，有可能与目标菌产生交叉反应的非目标菌的选择，见表 B. 1。

表 B. 1 特异性评价交叉反应非目标菌选择指引

交叉反应非目标菌	金黄色葡萄球菌	沙门氏菌属	大肠埃希氏菌0157	单增李斯特氏菌	副溶血性弧菌	蜡样芽孢杆菌
溶血性葡萄球菌	■					
表皮葡萄球菌	■					
人葡萄球菌	■					
木糖葡萄球菌	●					
沃氏葡萄球菌	●					
山羊葡萄球菌	●					
科氏葡萄球菌	●					
粪肠球菌	●					
阴沟肠杆菌		■	■			
奇异变形杆菌		■	■			
弗氏柠檬酸杆菌		■	■			
大肠埃希氏菌		■	●			
福氏志贺氏菌		●	●			
普通变形杆菌		●	●			
克氏柠檬酸杆菌		●	●			
杨氏柠檬酸杆菌		●	●			
铜绿假单胞杆菌		●	●			
肺炎克雷伯杆菌			■			
斯氏李斯特氏菌				■		
伊氏李斯特氏菌				■		
英诺克李斯特氏菌				■		
格氏李斯特氏菌				●		
威氏李斯特氏菌				●		
婴儿双歧杆菌				●		
植物乳杆菌				●		
干酪乳杆菌				●		
溶藻弧菌					■	

表 B.1 特异性评价交叉反应非目标菌选择指引（续）

交叉反应非目标菌	金黄色葡萄球菌	沙门氏菌属	大肠埃希氏菌0157	单增李斯特氏菌	副溶血性弧菌	蜡样芽孢杆菌
创伤弧菌					■	
霍乱弧菌					■	
拟态弧菌					●	
弗氏弧菌					●	
美人鱼发光杆菌					●	
坎贝尔弧菌					●	
哈氏弧菌					●	
苏云金芽孢杆菌						■
蕈状芽孢杆菌						■
巨大芽孢杆菌						■
地衣芽孢杆菌						●
枯草芽孢杆菌						●
环状芽孢杆菌						●
凝固芽孢杆菌						●
解淀粉芽孢杆菌						●
<p>注 1：■表示特异性评价实验必须验证的非目标菌。</p> <p>注2：●表示特异性评价试验推荐验证的非目标菌。</p>						