

《食品中致病菌快速检测产品性能评价通用要求》（送审稿）

编制说明

一、项目背景

目前，食源性疾病爆发监测的数据显示，微生物性因素导致的食源性疾病一直居于首位，微生物性因素所致的发病率占 51.5%。2020 年“新冠感染疫情”疫情暴发后，食品在生产、加工、运输、仓储、口岸通关、到销售和消费各个环节，逐渐注重微生物的监控。不同类产品中关于微生物限量要求的标准也在逐渐更新、完善，一般指示菌会在产品标准中做出要求，致病菌限量也有单独的标准——GB 29921《食品安全国家标准食品中致病菌限量》。

尽管食品微生物检测领域近年来逐步被关注，标准不断完善，监管模式也正试图与国际接轨，从注重终产品检测转变为注重过程控制。但传统病原微生物检测是以培养法作为标准，通过对食品样品预增菌、选择性增菌、分离培养、生化鉴定、血清分型等手段，实现食品中致病微生物定性和定量检测，检验流程通常为 3 天~7 天，耗时长且操作较繁琐，不能及时检测出食品中的病原菌。

随着国际交流、科研水平的提高，近几年国内也相继出现了许多微生物快速检测及鉴定技术和产品，通过缩短检测时间、提高检测效率等方式进一步提高食品中微生物的检测准确性和效率。主要体现在两大类方面：一类是在传统微生物培养法基础上进行改进，如以酶底物显色法为原理的显色培养基、测试片等；另一类是基于抗体和核酸的快速检测技术以及围绕这两大类技术配套开发的自动化检测仪器。

由于检测方法种类较多，食品中致病菌快检产品相关评价标准仍处于空白阶段，无法对产品性能作出统一要求，导致市面上致病菌相关快检产品质量良莠不齐，难以满足监管部门的监管需求，也不利于市场的健康发展，这也是当前食品安全监管以及食品快检方法研究与应用亟待解决的难题。通过“标准先行”，建立科学食品中致病菌快检产品评价技术规范，对引导评价工作具有十分重要的现实意义，能够激发企业创新，不断提高其产品性能、专注产品质量提升，从而整体上促进食品快速检测产业的健康发展。

二、工作简况

（一）任务来源及起草单位

为加快构建推动高质量发展的先进标准体系，根据《中华人民共和国标准化法》《广东省标准化条例》等规定，经公开征集、专家论证等程序，深圳市市场监督管理局下达了 2021

年第一批深圳市地方标准计划项目任务的通知。根据该通知，由深圳市计量质量检测研究院承担的名称为《食品中致病菌快速检测方法性能评价通用要求》地方标准任务研究制定。

本标准由深圳市市场监督管理局归口管理。

（二）标准研制主要工作过程

2021 年 2 月，深圳市计量质量检测研究院向深圳市市场监督管理局提出《食品中致病菌快速检测产品性能评价通用要求》地方标准的制定申请。

2021 年 4 月，深圳市市场监督管理局发布关于《深圳市市场监督管理局关于下达 2021 年第一批深圳市地方标准计划项目任务的通知》的通告，《食品中致病菌快速检测产品性能评价通用要求》被批准立项。随后，根据任务要求，深圳市计量质量检测研究院成立了标准编制工作起草小组。制定标准编制工作计划、编写大纲，明确任务分工及各阶段进度时间。

2022 年 6 月，起草小组认真学习了 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》，结合标准制定工作程序的各个环节，进行了探讨和研究，开展相关标准草案的编制。

2022 年 11 月，标准起草工作组经过技术调研、咨询，收集、消化有关资料，并参照相关国家标准，以深圳市《食品快速检测产品评价技术方案》和深圳市监管需求为主要参考依据和导向，征集市场上国内外相关微生物快检产品，开展适应性研究评价，对标准草案进一步修改和完善。

2023 年 1 月，联合有关生产厂家，开展了产品实用评价，继续对标准进行修改和完善。最终举行多次内部会议，对草案稿进行了认真分析、理解和总结，完成标准文本征求意见稿。

2023 年 6 月，通过以下方式进行了广泛征求意见：以书面的形式向行业主管部门（深圳市市场监管局）、各区人民政府、深圳市市场监管局各区分局（龙岗、盐田、坪山、龙华、宝安、光明、南山、福田、罗湖、深汕特别合作区及大鹏新区）以及其他利益相关方、科研院校、第三方监管单位、重大活动供餐企业等相关单位、专业领域专家，共各区人民政府、11 个市场监管局各区分局和 17 家单位征求意见；截至 7 月中旬，共收到相关建议和意见 52 条。起草工作组对收集到的意见进行了认真分析和处理，采纳 31 条，不采纳 18 条，部分采纳 3 条，对征求意见稿进行了修改，形成标准送审稿。

三、标准的编制原则和标准的主要内容

（一）标准编制原则

本标准是根据 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》、GBT 20001.6-2017《标准编写规则 第 6 部分：规程标准》的规定进行编制。在制定过程中，遵循“统一性、协调性、适用性、一致性、规范性”原则，注重方法的先进性和可操作性，在术语定义、结构版式以及单位符号等方面保持一致性。在标准制定过程中力求做到：技术内容的叙述正确无误；文字表达准确、简明、易懂；标准的构成严谨合理；内容编排、层次划分等符合逻辑与规定。

（二）标准编制技术路线

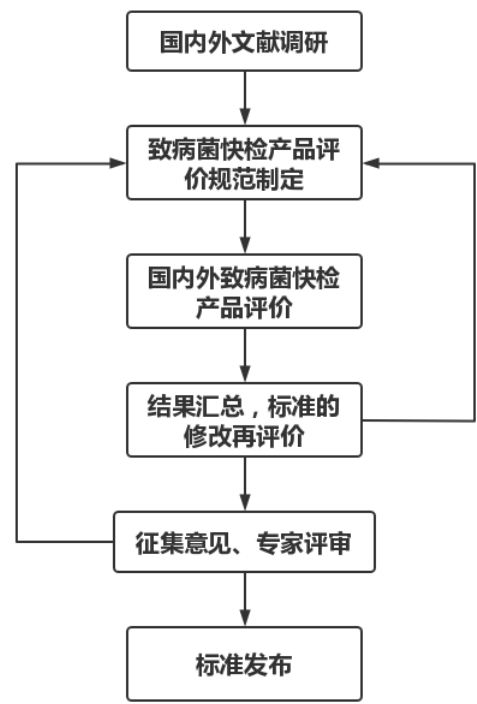


图 1 本标准技术路线图

（三）与国内外有关法律法规和其他标准的关系情况说明

目前，国际上常用的评价方法主要由国际标准化组织（International Organization for Standardization, ISO）、美国分析化学家协会（Association of Official Analytical, Chemists, AOAC）、食品药品监督管理局（Food and Drug Administration, FDA）等机构制定。

其中 ISO 方法的规定较为全面细致，其最新发布的 ISO 16140-2:2016《食物链微生物学

-方法验证-第2部分：对照参考方法验证替代（专有）方法的协议》适用于食品、动物饲料、环境和兽药样品的可替代方法的确认，分为方法比对研究和联合实验室研究，但不适用于作为单个实验室的可替代方法的实验室内部确认，在定性评价的性能指标上规定需测试灵敏度、相对检出水平、包容性、排他性。

AOAC 在检验方法的开发、验证、审定、规范化和标准化方面的开创性工作，得到了许多国际组织机构的承认和应用。AOAC 方法评估体系包括三种方法验证程序，即官方分析方法确认程序（OMA）、方法性能验证程序（PTM）和审查认可程序（R²）。其中 AOAC 研究所为专门开展试剂盒评价工作的机构，负责方法性能的验证工作，其发布的《食品和环境表面微生物检测方法确认指南（2011）》规定了食品微生物定性、定量检验方法确认中的术语和定义、技术方案等。在定性方法确认技术研究中，规定了需检验包容性和排他性、基质研究等测试指标。但该标准规定对于方法开发者提到的方法涵盖的所有食品基质都必须通过确认实验，这对于我国目前的微生物监管机制来说难以全部借鉴。

此外，在微生物的回收和鉴定中，微生物检测实验室出于各种原因，如经济、生产量或方便，会使用更为简单的快检替代测试方法。如美国药典（United States Pharmacopoeia, USP）发布的《微生物学替代方法验证》旨在对这些替代的分析方法提供评价指南。该标准为证明样品中有活性微生物而进行的定性测试验证中规定了特异性、检出限、稳健性、可重复性、重现性等评价指标。其中的特异性、检出限、可重复性评价指标对于本标准十分具有参考意义。

除以上提及的诸多国外标准外，国内在参考 AOAC《食品和环境表面微生物检测方法确认指南（2011）》和 ISO 16140: 2003 后，结合我国食品微生物检测方法确认的实际，制定了 SN/T 3266-2012《食品微生物检测方法确认技术规范》，其中规范了食品微生物定性、定量检验方法确认中的术语和定义、技术方案，数据统计分析及方法的性能指标，以确保经确认后的微生物定性、定量检验方法的技术可靠性和权威性。2017 年 3 月，为了保证食品快速检测方法评价工作科学合理、标准统一，国家食药总局发布了《食品快速检测方法评价技术规范》。该技术规范适用于食品药品监管部门组织开展的食品（含食用农产品）中农兽药残留、非法添加、真菌毒素、食品添加剂、污染物等定性快速检测方法及相关产品的技术评价，评价指标为灵敏度、特异性、假阴性率假阳性率和与参比方法一致性分析。2020 年发布的 RB/T 033-2020《微生物检测方法确认与验证指南》适用于实验室对其制定的方法，超出其预定范围使用的标准方法、扩充和修改过的标准方法的方法确认，也适用于实验室对新引入标准方法正式使用前的方法验证。

综上所述,目前国内尚未有专门针对食品中致病菌快速检测产品的评价通用要求的相关标准规范。本标准在参考 AOAC 和 ISO 相关微生物定性检测术语后,结合国内已经发布的技术规范和美国 USP 评价指南,制定了相对简单、实际操作性强评价指标和评价方法。通过对国内外相关的标准和规范的学习与解析,使得本标准的评价方式更加简单,评价过程更加科学,评价结果更加实用。

四、主要条款的说明,各项技术性指标的确定

4.1 主要条款说明

4.1.1 标准结构框架

标准文本包括范围、规范性引用文件、术语和定义、送评要求、评价指标、评价流程等内容,共 6 章。

4.1.2 范围

本标准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。

本标准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。

4.1.3 规范性引用文件

本标准引用文件为实验室及食品微生物检测规范最新标准技术文件。

4.1.4 术语和定义

本标准术语和定义为:一般性指标、参比方法、最低检出水平、特异性、重现性、盲样、理论 LOD₅₀,相对准确度。

4.2 一般性指标的确定说明

本标准一般性指标,依据已发布的深圳市地方标准《DB4403/T 96—2020 食品快速检测产品评价技术规范》中一般性指标的规定,并结合评价工作的实际要求进行编写。主要包括产品包装、中文标签、使用说明书、生产者资质、产品安全性说明、涉及仪器检测的快检产品的评价特殊要求等规范性内容。

4.3 技术性指标的确定说明

4.3.1 技术性指标起草原则

标准编制工作组经反复研究和讨论，确定了本标准技术性指标起草原则：

a) 结合食品中致病菌快检产品技术分类以及实际检验数据，对评价适用范围进行划分；

b) 根据国内标准及深圳市近年食品中致病菌微生物检测数据，结合实际工作需要，对致病菌评价项目进行设定；

c) 结合国内外先进标准及行业发展情况，对技术性指标要求进行编写，技术条款内容符合食品中致病菌行业发展水平与深圳特区食品中致病菌安全保障需要，且经济可行；

d) 满足深圳市食品安全保障持续提升需求。

4.3.2 技术性指标简要概述

本标准关于微生物致病菌快速检测方法的评价验证是通过确认该方法的性能特征满足预期应用要求的过程。

对于定性方法，至少需要确认的技术参数包括特异性、最低检出水平、重现性。

根据国内外致病菌相关文献和标准调研，如《DBS 44/006—2016 广东省食品安全地方标准 非预包装即食食品微生物限量》，食源性致病菌如沙门氏菌、金黄色葡萄球菌等是引发食源性疾病的主要原因。本标准列出了以下定性快速检测方法评价项目指引，详见表 1：

表 1 致病菌定性快速检测方法评价项目指引

测试项目	技术指标
金黄色葡萄球菌	特异性 最低检出水平 重现性
单增李斯特氏菌	
沙门氏菌	
大肠杆菌0157	
副溶血性弧菌	
腊样芽孢杆菌	

4.3.2 特异性

定性微生物方法的特异性是使用纯化后的非目标菌对待评价的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。特异性确保了非目标菌不会干扰快检产品的测试结果。

在本标准制定中，对可能干扰食品中致病菌快速检测的非目标菌做了广泛的文献、标准调研以及监督抽查咨询，根据测试项目，针对性的列出了致病菌特异性快速检测方法评价交叉反应菌，分别考察了市场上已售卖的致病菌快速检测产品的抗干扰能力。特异性预评价中，我们对市售关于 6 种致病菌的 14 家快速检测产品进行了交叉反应测试，出现了不同程度的

假阳性现象。在测试的 300 次快速检测产品中，共有 27.33%出现了交叉反应的假阳性菌落，20%出现了不能判定为阳性的其他菌落。

微生物检测方法容易受到采样误差、稀释误差、孵育时间误差和操作员误差的影响。在 AOAC 验证、SN/T 2775-2011 《商品化食品检测试剂盒评价方法》及 RBT 033-2020 《微生物检测方法确认与验证指南》中，都有考察替代方法的包容性和排他性，其中包容性需要测试至少 50 个（目标）微生物纯培养物，排他性需要检测 30 个（非目标）微生物纯培养物。本标准中的特异性评价旨在排除非目标菌的干扰，而非包容性，旨在通过关键性的技术性评价快速检验试剂盒能否达到预期使用效果，并非测试快速检测产品或替代方法能够完全替代旧方法（参考方法）。

根据预评价结果、文献和标准调研、企业沟通及食品监督抽查结果咨询，本标准列出了特异性评价指标项目指引（如表 2 所示），推荐不同的检测项目需要对不同的非目标菌做交叉反应验证，实际评价中，包括但不限于以下交叉反应菌，如表 2：

表 2 特异性评价交叉反应非目标菌

交叉反应菌检测项目			
金黄色葡萄球菌	选择依据		
	溶血性葡萄球菌	■	同属革兰氏阳性葡萄球菌，血浆凝固酶阴性，食品抽检
	表皮葡萄球菌	■	同属革兰氏阳性葡萄球菌，血浆凝固酶阴性，食品抽检
	人葡萄球菌	■	同属革兰氏阳性葡萄球菌，血浆凝固酶阴性，食品抽检
	木糖葡萄球菌	●	同属革兰氏阳性葡萄球菌，血浆凝固酶阴性，食品抽检
	沃氏葡萄球菌	●	同属革兰氏阳性葡萄球菌，血浆凝固酶阴性，人手抽检
	山羊葡萄球菌	●	同属革兰氏阳性葡萄球菌，血浆凝固酶阴性，食品抽检
	科氏葡萄球菌	●	同属革兰氏阳性葡萄球菌，血浆凝固酶阴性，食品抽检
	粪肠球菌	●	同属革兰氏阳性球菌，GB4789. 28
沙门氏菌属	选择依据		
	阴沟肠杆菌	■	同属肠杆菌科，食品抽检
	奇异变形杆菌	■	同属肠杆菌科，食品抽检
	弗氏柠檬酸杆菌	■	同属肠杆菌科，食品抽检
	大肠埃希氏菌	■	同属肠杆菌科，食品抽检
	福氏志贺氏菌	●	同属杆菌科，GB4789. 28
	普通变形杆菌	●	同属杆菌科，GB4789. 28
	克氏柠檬酸杆菌	●	同属杆菌科，食品抽检
	杨氏柠檬酸杆菌	●	同属肠菌科，食品抽检
	铜绿假单胞杆菌	●	同属杆菌科，GB4789. 28，食品抽检

表2 特异性评价交叉反应非目标菌（续）

交叉反应菌检测项目			
大肠埃希氏菌 0157	选择依据		
	阴沟肠杆菌	■	同属肠杆菌科，食品抽检
	奇异变形杆菌	■	同属肠杆菌科，食品抽检
	弗氏柠檬酸杆菌	■	同属肠杆菌科，食品抽检
	大肠埃希氏菌	●	同属肠杆菌科，食品抽检
	福氏志贺氏菌	●	同属杆菌科，GB4789.28
	普通变形杆菌	●	同属杆菌科，GB4789.28
	克氏柠檬酸杆菌	●	同属杆菌科，食品抽检
	杨氏柠檬酸杆菌	●	同属杆菌科，食品抽检
	铜绿假单胞杆菌	●	同属杆菌科，GB4789.28，食品抽检
	肺炎克雷伯杆菌	■	同属杆菌科，GB4789.28，食品抽检
单增李斯特氏菌	选择依据		
	斯氏李斯特氏菌	■	同属李斯特氏菌，GB4789.30-2016，食品抽检
	伊氏李斯特氏菌	■	同属李斯特氏菌，GB4789.30-2016，食品抽检
	英诺克李斯特氏菌	■	同属李斯特氏菌，GB4789.30-2016，食品抽检
	格氏李斯特氏菌	●	同属李斯特氏菌，GB4789.30-2016，食品抽检
	威氏李斯特氏菌	●	同属李斯特氏菌，GB4789.30-2016，食品抽检
	婴儿双歧杆菌	●	同属革兰氏阳性杆菌，作为食品益生菌添加
	植物乳杆菌	●	同属革兰氏阳性杆菌，作为食品益生菌添加，食品发酵
副溶血性弧菌	选择依据		
	溶藻弧菌	■	同属弧菌属，GB 4789.7-2013，水产品抽检
	创伤弧菌	■	同属弧菌属，GB 4789.7-2013，水产品抽检
	霍乱弧菌	■	同属弧菌属，GB 4789.7-2013，水产品抽检
	拟态弧菌	●	同属弧菌属，GB 4789.7-2013，水产品抽检
	弗氏弧菌	●	同属弧菌属，GB 4789.7-2013，水产品抽检
	美人鱼发光杆菌	●	同属弧菌属，水产品抽检
	坎贝尔弧菌	●	同属弧菌属，水产品抽检
蜡样芽孢杆菌	选择依据		
	苏云金芽孢杆菌	■	同属芽孢杆菌，GB 4789.13-2014，食品抽检
	蕈状芽孢杆菌	■	同属芽孢杆菌，GB 4789.13-2014，食品抽检
	巨大芽孢杆菌	■	同属芽孢杆菌，GB 4789.13-2014，食品抽检
	地衣芽孢杆菌	●	同属芽孢杆菌，食品抽检
	枯草芽孢杆菌	●	同属芽孢杆菌，食品抽检
	环状芽孢杆菌	●	同属芽孢杆菌，食品抽检，土壤菌
	凝固芽孢杆菌	●	同属芽孢杆菌，作为益生菌添加，食品抽检
	选择依据		
	解淀粉芽孢杆菌	●	同属芽孢杆菌，土壤菌，食品抽检
注：■表示特异性评价实验必须验证的非目标菌。			
●表示特异性评价试验推荐验证的非目标菌。			

一般性评价中，要求厂家标注已经测试过会引起交叉反应的菌属及交叉反应率，但不应超过 2 种，过多的交叉反应菌会提高假阳性率，影响检测结果。技术性评价中，除去厂家已经标明的交叉反应非致病菌，规定每种检测项目需要 2 位或 2 位以上评价人，根据产品说明书要求进行特异性验证，实验至少需要 2 位评价人×2 个重复×4 种评价菌。同时，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进行标注，则快检产品生厂商生产商需作一般性整改，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，若测试结果最终存在 3 种及以上的交叉反应非目标菌（含使用说明书已标注的），则评价不通过。

4.3.3 最低检出水平

微生物标准是定义产品中微生物的可接受水平，可接受水平是基于单位质量、体积、面积或批次产品中的微生物和它们的毒素及代谢物的数量。CAC、欧盟、美国、日本等地主要根据食品加工工艺、食品类别和用途来规定微生物限量要求。我国评价食品安全的致病菌，常见的是一些重要的食源性致病菌，如沙门氏菌、单增李斯特菌、金黄色葡萄球菌、副溶血性弧菌等，具体标准如下所示：

GB 29921-2013《食品安全国家标准食品中致病菌限量》是目前我国食品中主要的致病菌限量标准，该标准适用于预包装食品，不适用于罐头类食品。DB 44/006-2016《广东省食品安全地方标准 非预包装即食食品微生物限量》对非预包装的即食食品（包括散装即食食品和现制现售即食食品）做出了微生物指标、限量要求和检验方法的规定。2021 年发布了新版 GB 29921-2021《食品安全国家标准预包装食品中致病菌限量》及 GB 31607-2021《散装即食食品中致病菌微生物限量》，进一步对食品中致病菌的限量要求进行细化。尽管已发布以上限量标准，但我国当前的食品安全国家标准体系尚未形成统一的食物分类、不同层次产品标准难以衔接和沟通，很多常见食品和新式食品归属混乱。

化学试剂盒，如评价兽药残留或农药残留检测试剂盒的检出限这一技术指标能够根据国家标准制定合理的评价方案，而微生物致病菌检测，对于同一种致病菌，根据食物种类、加工程度不同、用途不同，其微生物判定标准也难以统一，其对应的微生物限量要求也不同。此外，由于各个检测技术的原理不同，存在各自的技术壁垒，各个产品的检测下限也不尽相同且跨度较大，如纸片法的检测下限可以为 1cfu/mL，而核酸法的检测下限可以为 100 copies/mL。对于存在增菌环节的致病菌快检试剂盒来说，增菌培养已对致病菌起到一个富集作用，此时评价试剂盒的检出限已不再合理。

基于以上考虑，本标准在参考了美国药典检出限和 RB/T 033-2020 的相对检出水平后，规定了最低检出水平这一技术指标，即快检方法预期可以检测到目标微生物的最低含量。本标准的最低检出水平旨在检验待评价的快检方法能否满足其自身声称的预期要求和用途，而非要求其能够满足国家限量值标准。

预评价实验中，对市面售卖的 15 个致病菌快速检测产品进行了最低检出水平的测试。测试中，由于各个检测产品的最低检出水平不同，因此采用人工污染样品，设置高、中、低、极低 4 个不同的接种水平及未接种的阴性样品，选取不同的测试基质，每个检测水平重复检测 4 次，同时采用显色平板作为参考回收方法（每个检测水平重复检测 2 次），对结果进行分析，共测试了 460 批次的快速检测产品，使用 230 次平板法进行方法对比。

在预评价结果中，阴性测试样品中，涉及 2 个快检产品的 3 项测试项目，共 5 批次出现了假阳性结果，假阳性率为 5.4%。

极低浓度水平测试时，其中 8 个快检产品的 10 项测试项目共 22 批次出现了阳性结果，而平板法均无检出，说明快检法更为灵敏。但其中有 3 个快检产品 2 个测试项目的 10 批次阳性报告计数值远超出极低浓度污染样本的菌落添加数，且不能与高浓度水平、中浓度水平、低浓度水平的计数值成线性比例，判定 22 批次中有 45.5% 存在一定的假阳现象，占比整个极低浓度水平测试总数的 10.9%。

低浓度水平测试时，有 13 个快检产品的 20 项测试项目共 61 批次检出阳性结果。大多数产品在声称的最低检出水平范围内时，处于检测临界值状态，结果一半报告为阳性结果，一半报告为阴性结果。

在高浓度水平，中浓度水平时，15 个快检产品的 23 个检测项目，共 178 批次都能检测出阳性结果，仅共 6 批次出现假阴性结果，假阴性率为 3.3%。

但在市售的 15 个快检产品中，有 5 个快检产品未对自己的最低检出水平作出说明，最低检出水平评价不同稀释梯度的实验中，虽然当参考方法报告阳性结果时，5 个快检产品均能报告阳性结果或与平板方法相符，其中 2 个快检产品检测项目为沙门氏菌、单增李斯特氏菌。在《DBS 44/0096-2016 非预包装即食食品微生物限量》《GB 29921-2021 食品安全国家标准 预包装食品中致病菌限量》、《GB 31607-2021 食品安全国家标准 散装即食食品中致病菌限量》中，沙门氏菌和单增李斯特氏菌均为不得检出，在极低浓度水平测试时，样品依旧为人为污染样品，由于平板法的局限性，未能报告阳性检测结果，即使快检结果与平板法相符，快检方法也应对检测下限作出说明。其余 2 个快检产品检测项目为副溶血性弧菌、蜡样芽孢杆菌，此两项致病菌检测限量，在不同处理方法的食品类别中，接受度不一，该 2

家快检产品仅能报告“检出或未检出”，对于有接受度范围的检测项目来说，没有告知检测下限的情况下，仅报告“检出或未检出”仅能判断有无致病菌，对样品是否合格判定意义不大。另外，还有 1 家的快检产品，在说明书中标明最低检测下限时，标注为稀释度水平，但实际阳性样品中，原始样品中菌落数不一，使用稀释度作为检测下限，不够合理。

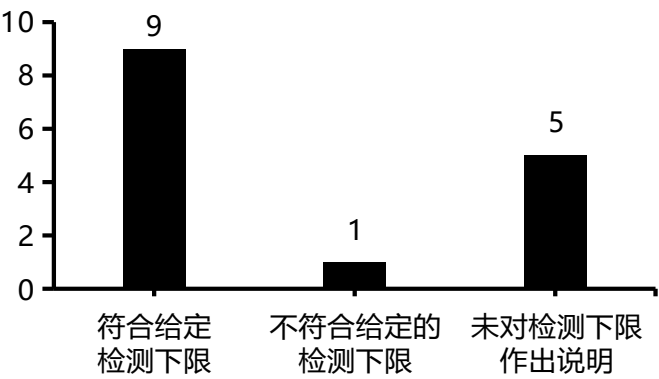


图 2 快检产品检测下限与预评价实验结果符合情况

本标准的最低检出水平是指在规定的实验条件下，样品所能检出的最低微生物数量，旨在检验待评价的快检方法能否满足其自身声称的预期要求和用途，而非要求其能够满足国家限量值标准。“美国药典”中检测限度是指在任何稀释或孵育步骤之前，原始样品中存在的生物体数量，其检测限度不是指在检测点存在的生物体数量。

由于市面上售卖的一些食源性致病菌快检产品需要进行前增菌步骤，因此，本标准通过梯度稀释的人为污染样本，去除前增菌步骤对方法的影响，验证快检产品能否满足其声称的预期要求和用途。一般性评价中，厂家也应对快检产品或方法的检出下限及用途做详细说明，明确其使用范围和结果报告判读，必要时增加示例图片说明。

本标准对最低检出水平的实验要求如下：

表 3 最低检出水平评价参数实验要求

测试水平	评价要求	阳性报告结果
阴性对照	无污染的阴性样本，参比方法与快检结果均应报告为阴性。	0
中浓度水平	接种量为预期最低检出水平 10 倍的人工污染样本	100%
低浓度水平	中水平接种物稀释 10 倍的人工污染样本	>25%
极低浓度水平	低水平接种物稀释 10 倍的人工污染样本	不大于低浓度水平时阳性结果数
平板法		快检方法
2 位评价人×4 个水平		2 位评价人×4 个水平×4 次重复及以上

注：阴性对照试验中，平板法不得有阳性报告结果。其他浓度水平时，平板法仅做计数平均处理。

4.3.4 重现性

参考美国药典，本标准中对于重现性的定义，指在不同的正常测试条件下，如不同的分析人员、仪器、产品批次等，待评价快检产品重复测试得到的测试结果的精准程度。重现性可以定义为操作变量和环境变量对微生物方法施加影响的内在抵消力。

一般而言，重现性作为一个验证参数，最适合由易于获得多个仪器和批次组件的方法供应商确定，我们调研并分析了市售的一些快检产品，厂家对于重现性的验证方式并不相同，各个厂家差异较大，如表 4 所见。

表 4 部分食品中致病菌快速检测试剂盒重复性验证方案汇总

厂家	快检产品	验证单位	验证方式	基质	水平	平行次数	批次研究	其他单位协同验证
3M	3M Petrifilm™ 金黄色葡萄球菌 检测测试片	福建出入境检验检疫局检验检疫技术中心	线性和准确度	5 大类的 15 个食品类型	高、中、低	5	√	8 家
	3M Petrifilm™ 沙门氏菌测试片 快速检测系统	福州海关技术中心	灵敏度、特异性、准确度、检出限	5 大类的 15 个食品类型	未添加、低、高	5	√	8 家
达元绿洲	沙门氏菌测试片	农业部乳品质量监督检验测试中心	模拟阳性乳品样品，快检方法与国标法比较	乳品	阴性、阳性	20	×	/
	金黄色葡萄球菌测试片					20		
	阪崎肠杆菌测试片				阳性	2-10		
	大肠杆菌 0157 测试片					20		
	副溶血性弧菌测试片					20		

表4 部分食品中致病菌快速检测试剂盒重复性验证方案汇总（续）

厂家	快检产品	验证单位	验证方式	基质	水平	平行次数	批次研究	其他单位协同验证
达元绿洲	蜡样芽孢杆菌测试片	农业部乳品质量监督检验测试中心	模拟阳性乳品样品，快检方法与国标法比较	乳品	阳性	2-9		
	金黄色葡萄球菌测试片	佛山市顺德疾病预防控制中心	验证自然污染样品，与国标法比较	糕点、熟肉、鲜肉、变质奶	自然污染样品		×	/
	单增李斯特菌测试片	实验室内验证	人工染菌，与显色培养基对比	熟食、鲜肉、鱼、奶制品、雪糕	低、中、高	2	×	/
	副溶血性弧菌测试片	实验室内验证		无	多个水平	2	×	/
美正	MicroFast®金黄色葡萄球菌测试片	北京出入境检验检疫局检验检疫技术中心	线性和准确度	6大类的30个食品类型	低、中、高	10	×	/
			相对灵敏度、特异性、准确度及检出限	6大类的30个食品类型	阴性、低、高	5	×	/
		AOAC 研究所	基质研究	6个食品类型	阴性、低、中、高	5	√	/

目前，各个厂家关于重现性/重复性的产品验证，指标不一，验证方式各不相同，许多产品甚至没有进行重现性指标的验证，或者产品验证。部分进行了实验室间验证的致病菌快速检测产品，对于产品的重现性验证方案受 AOAC、RB/T 044-2020 及 SN/T3266-2012 影响较深，侧重点往往在于基质验证上，通常会选取多个食品种类的多个食品类型进行反复验证。此种验证方式，虽然全面但过于复杂，验证单个批次的快检产品已经耗费过大，单个食品类型的重复性验证较少，批次间的差异研究往往被忽略。此外，过于复杂的验证方式会增加厂家的研发成本，使厂家放弃经济效益偏低的致病菌快速检测产品的验证，或者降低验证的实验门槛。厂家产品说明书调研中，许多致病菌快速检测试剂盒适用于所有或者绝大部分的食

品时，其说明书常未标明其研发阶段已验证过的食品基质，不仅给消费者带来困扰，也会给监管工作带来难度。因此，在一般性评价中，厂家应明确确认食品适用范围，至少是 5 大类食品种类中代表性的食品类型。

本标准在制定中，经讨论认为厂家说明书应详细罗列在实验室研发阶段已经验证的基质适用范围，评价中，应以不同的分析人员、仪器、试剂批次和实验室产生的变量对结果的精确度影响为准。预评价中，本标准选取了市售的 5 家金黄色葡萄球菌快检试剂盒进行预评价实验。使用了 2 个不同的批次，3 个不同浓度水平的人工污染实验基质（乳品、肉类），采用了 2 位评价人对同一样品进行反复测试的方式进行评价。实验结果如表 5 所示：

表 5 重现性评价实验结果汇总

厂家	食品基质	未添加目标菌				低浓度添加目标菌					高浓度添加目标菌				
		评价人 1		评价人 2		添加浓度 CFU/mL	评价人 1		评价人 2		添加浓度 CFU/mL	评价人 1		评价人 2	
		批次 1	批次 2	批次 1	批次 2		批次 1	批次 2	批次 1	批次 2		批次 1	批次 2	批次 1	批次 2
厂家 A	牛奶	0/2	0/3	0/3	0/2	15	2/2	3/3	3/3	2/2	150	2/2	3/3	3/3	2/2
	牛肉	0/2	0/3	0/3	0/2	24	2/2	3/3	3/3	2/2	157	2/2	3/3	3/3	2/2
厂家 B	牛奶	0/2	0/3	0/3	0/2	15	2/2	3/3	3/3	2/2	150	2/2	3/3	3/3	2/2
	牛肉	0/2	0/3	0/3	0/2	24	2/2	3/3	3/3	2/2	157	2/2	3/3	3/3	2/2
厂家 C	牛奶	0/2	0/3	0/3	0/2	15	2/2	3/3	3/3	2/2	150	2/2	3/3	3/3	2/2
	牛肉	0/2	0/3	0/3	0/2	24	2/2	3/3	3/3	2/2	157	2/2	3/3	3/3	2/2
厂家 D	牛奶	0/2	0/3	1/3	1/2	15	2/2	3/3	3/3	2/2	150	2/2	3/3	3/3	2/2
	牛肉	0/2	0/3	0/3	0/2	24	2/2	3/3	3/3	2/2	157	2/2	3/3	3/3	2/2
厂家 E	牛奶	0/2	0/3	0/3	0/2	15	2/2	3/3	3/3	2/2	150	2/2	3/3	3/3	2/2
	牛肉	0/2	0/3	0/3	0/2	24	2/2	3/3	3/3	2/2	157	2/2	3/3	3/3	2/2

结果表示为：快检阳性结果数/快检测试次数

RB/T 033-2020 在测试样品中提到对于定性方法，理想状态是每种类型的样品中有 10 份是阳性样本，10 份是阴性样本，对于每一类基质，应设置至少 50%的阳性样本。但考虑到低水平目标菌下可能使快检产品的结果不准确，仍设置了高浓度水平进行重现性验证。此外，由于在最低检出水平评价中，已对其做出评价，设定其回收率在 25%以上，因此重现性评价中，不对方法最低检出水平附近的浓度水平做设置要求，另外设置三个水平开展评价实验，分别为未添加目标菌株、低浓度添加目标菌水平和高浓度添加目标菌水平。低浓度添加目标菌水平设置在略高于方法最低检出水平之上，理想情况下，低浓度添加目标菌水平恰好为最低检出水平的 5~10 倍，使该污染水平上的检出概率理论上应为 1，高水平为最低检出水平的 50~100 倍。

本标准对重现性评价要求如下：

表 6 重现性技术性评价要求

测试水平	评价要求
阴性对照	未添加目标菌株的阴性样品
高浓度水平	高浓度水平应为远高于理论检测水平的人工污染样本
低浓度水平	低浓度水平应为略高于理论检测水平之上的人工污染样本
快检方法	
2 位评价人×3 个水平×5 次重复	

符合评价要求的快检产品，需满足：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 $\geq 91\%$ 。

4.3.5 盲样制备

在技术性评价中，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。待评价快检产品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。

技术性评价的验证基质，应当根据待评价致病菌快检产品说明书的基质范围内挑选两大类以上不同类型的食品。对于仅检测某特定食品类的致病菌快检产品，也应至少挑选两小类食品类型进行验证，或者加工方式不同的类型食品（如未加工食品、初加工食品及深加工食品等）。

五、总结

本标准在起草过程中，调研了国内外致病菌相关文献和标准，根据国内尚未有专门针

对食品中致病菌快速检测产品的评价通用要求相关标准的情况，参考 AOAC 和 ISO 相关微生物定性检测术语，结合国内已发布的技术规范和美国 USP 评价指南，制定了相对简单、实际操作性强的评价指标和评价方法，该评价方法技术指标确定为特异性、最低检出水平和重现性。

本标准为新制订地方标准，为食品中致病菌快速检测产品的生产提供规范统一的技术指标参数，从而倒逼相关产品企业不断创新和提高产品质量，形成良好的市场优胜劣汰机制，促进该行业高质量发展。

六、是否涉及专利等知识产权问题

本文件不涉及专利等知识产权情况。

七、重大意见分歧的处理依据和结果

本文件无重大意见分歧条款。

八、实施地方标准的措施建议

本标准内容是针对食品中致病菌快速检测定性产品评价，其目的是为食品中致病菌快速检测产品的生产提供统一规范的技术指标参数，促进该行业高质量发展，保障深圳市内食品中安全，建议实施该标准的主要措施如下：

（a）地方标准组织应按照法律法规的规定，依法召集相关领域的专家学者、利益相关者等，注重听取各方面的声音，充分考虑实际需求和情况，确保标准的代表性和实用性。

（b）地方标准组织应积极开展标准宣传和推广工作，如：专家讲座、系列课程、交流答疑、发放宣贯材料等方式，通过多种途径向社会展示标准的重要性和实用性，提高公众对标准的认知度和参与进一步推动标准的实施和推广。

（c）地方标准组织应组织相关培训，根据本文件的适用范围，建议主要面向实施本文件的各类组织举办公益性培训，提高相关人员的标准意识和实操能力。

九、其他说明事项

无