

DB4403

深圳市地方标准

DB4403/T 405—2023

食源性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 foodborne pathogens

2023-12-15 发布

2024-01-01 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。

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。

食源性致病菌快速检测产品性能评价通用要求

1 范围

本文件规定了食源性致病菌快速检测定性产品（以下简称“快检产品”）评价的送评要求、评价要求及评价流程等内容。

本文件适用于食品中快检产品性能的技术评价，包括干片法、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 4789.45—2023 食品安全国家标准 微生物检验方法验证通则

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

GB/T 27405 实验室质量控制规范 食品微生物检测

GB/T 42233—2022 快速检测 术语与定义

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

参考方法 reference method

得到公认或广泛接受的微生物传统培养法。

[来源：GB 4789.45—2023，2.4]

3.2

最低检出水平 minimum detection level

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。

3.3

排他性 exclusivity study

快检产品对非目标微生物的抗干扰能力。

[来源：GB 4789.45—2023，2.7，有修改]

3.4

精密度 precision

在规定条件下多次重复测试同一待测样品时各测试结果彼此相符合的程度。

[来源：GB/T 42233—2022，4.7，有修改]

3.5

再现性 reproducibility

由不同的操作者使用同一快检产品，按相同的测试方法，对同一被测对象互相独立进行测试的条件下，多次重复测试获得的测试结果的精密度（3.4）。

[来源：GB/T 42233—2022，4.12，有修改]

3.6

盲样 blind sample

在评价过程中，使用的制备人已知详细信息的，但其详细信息对检测人员保密的样品。

[来源：GB/T 42233—2022，5.13，有修改]

4 送评要求

4.1 产品信息要求

4.1.1 产品包装

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

4.1.2 中文标签

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

4.1.3 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、有无会引起交叉反应的非目标菌、检测操作步骤、结果判读、安全性说明。此外，厂家应提供或在说明书上备注产品的最低检出水平。

4.1.4 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。

4.2 批次要求

4.2.1 首次参加评价的快检产品，对于同一品种和规格的快检产品，应至少提供2个不同生产批号的产品，每批号不少于150个。

4.2.2 非首次参加评价的快检产品，对于同一品种和规格的快检产品，应至少提供1个生产批号的产品，每批号不少于150个。

4.3 其他要求

4.3.1 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和规格的快检产品，且有效期不少于三个月。产品如有储藏、运输要求的应按要求执行。

4.3.2 对于采用仪器法检测的快检产品，仪器由送评方提供，且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送评方提供。

5 评价要求

5.1 评价样品要求

5.1.1 阴性样品

阴性样品应经参考方法确认无目标菌。

5.1.2 质控样品

质控样品应为已知微生物浓度水平的样品，具有较好的稳定性，且经过认证检验符合实验的质量标准。

5.1.3 自然污染样品

天然原因造成污染的实物样品，使用前应经参考方法确认。能够获得自然污染样品时，优先选用自然污染样品。

5.1.4 人工污染样品

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。

5.2 评价指标要求

5.2.1 最低检出水平

5.2.1.1 测试样品采用质控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。

5.2.1.2 评价快检产品时应根据使用说明书规定的适用范围，选择食品基质的种类和子类。若其适用于多种食品基质，则至少选择2个种类的食品，其中每类食品至少选择1种子类的食品；若只适用于某一特定种类的食品，则应在该类食品中选择至少2种不同子类的食品。代表性食品基质的选择参见GB 4789.45—2023附录A。

5.2.1.3 每种食品基质至少需要在中、低、极低3个不同接种水平和无接种情况下完成测试，每个评价人在每个水平下重复测试2次。其中中水平：接种量为预期最低检出水平的10倍；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} ；极低水平：将低水平接种物稀释10倍得到极低水平接种物；无接种物为阴性样品。

注：理论 LOD_{50} 指定性方法检出概率为50%时，样品中目标微生物的浓度。

5.2.1.4 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 排他性

5.2.2.1 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。有前增菌步骤的快检产品，去除前增菌步骤。

5.2.2.2 若厂家在说明书中已注明的交叉反应非目标菌在本标准排他性评价交叉反应非目标菌选择指引中（见附录A），则不对该菌进行排他性评价。

5.2.2.3 排他性评价，评价内容应包括附录A中微生物的纯培养物。规定排他性实验中，应选择附录A中4种及以上的非目标菌，优先测试应验证的非目标菌，接种水平为快检产品最低检出水平的10倍~100倍，每个评价人重复测试2次。

5.2.2.4 若最终评价结果大于2种非目标菌产生交叉反应，则评价不通过。

5.2.3 再现性

5.2.3.1 再现性测试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。

5.2.3.2 制备的测试盲样，优先使用自然污染样品。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，选择基质的种类和子类，具体要求见5.2.1.2。

5.2.3.3 每种基质至少需要在高、低和阴性3个不同水平完成测试，每个评价人在每个水平下重复测试5次。理想情况下，高水平恰好为最低检出水平的50倍~100倍，低水平为最低检出水平的5倍~10倍。

5.2.3.4 快检产品的假阳性率应不大于15%，假阴性率应不大于5%，精密度应不小于91%。

6 评价流程

6.1 评价前准备工作

6.1.1 实验应符合 GB 19489 和 GB/T 27405 相关规定。

6.1.2 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，开展非目标菌的接种制备，阴性样品，自然污染样品，质控样品和目标菌接种制备人工污染样品等准备验证工作。

6.1.3 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 盲样

6.2.1 基质的选择

应根据食品安全监管的需求，优先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5.2.1.2。

6.2.2 盲样制备

6.2.2.1 每一生产批号的快检产品，按照快检产品使用说明书取样要求进行盲样制备，其中包含阴性样品和阳性样品。

注：阳性样品包括质控样品、自然污染样品或人工污染样品。

6.2.2.2 盲样制备和评价应为独立环节，盲样制备人员不少于2名。

6.3 评价

6.3.1 检测

按照快检产品使用说明书或仪器使用说明书的要求进行检测，评价人员不少于2名。

6.3.2 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。

6.3.3 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。

6.3.4 计算

根据盲样测试结果，计算该快检产品的假阳性率、假阴性率及精密度，计算公式详见表1。

表1 性能指标的计算

样品情况	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 ^a	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 (%)	$N_{21} \times 100 / N_2$		
精密度 (%)	$(N_{11} + N_{22}) \times 100 / (N_{.1} + N_{.2})$		
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。示例1： N_{11} 表示第一行，第一列， N_{12} 表示第一行，第二列。示例2： $N_{.1}$ 表示所有的第一行； $N_{.2}$ 表示所有的第二列。			
^a 由参考方法检验得到的结果。 ^b 由评价实验得到的结果。			

6.4 结论

快检产品的最低检出水平、排他性和再现性均满足评价要求，则评价通过。有一项不满足评价要求，则评价不通过。

6.5 报告

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、厂家、型号、批号、日期；
- b) 盲样性质、基质、接种水平；
- c) 评价结果；
- d) 检测时间；
- e) 评价结论。

附录 A

(资料性)

排他性评价交叉反应非目标菌选择指引

排他性评价中，交叉反应非目标菌的选择指引，见表 A.1。

表 A.1 排他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	单核细胞增生李斯特氏菌	副溶血性弧菌	蜡样芽胞杆菌
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 A.1 排他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	单核细胞增生李斯特氏菌	副溶血性弧菌	蜡样芽胞杆菌
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					●	
苏云金芽胞杆菌						■
蕈状芽胞杆菌						■
巨大芽胞杆菌						■
地衣芽胞杆菌						●
枯草芽胞杆菌						●
环状芽胞杆菌						●
凝固芽胞杆菌						●
解淀粉芽胞杆菌						●

注 1：■表示排他性评价实验应验证的非目标菌。
注 2：●表示排他性评价实验推荐验证的非目标菌。