

团 体 标 准

T/ DSAT XXXX—2023

冷鲜牛羊肉中鸭源性成分快速检测方法 胶体金免疫层析法

（征求意见稿）

2023 - XX - XX 发布

2023 - XX - XX 实施

大连市分析测试学会 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。

本文件由大连市检验检测认证技术服务中心提出。

本文件由大连市分析测试学会归口。

本文件起草单位：大连市检验检测认证技术服务中心

本文件主要起草人：

本文件系首次发布。

冷鲜牛羊肉中鸭源性成分快速检测方法 胶体金免疫层析法

1 范围

本标准规定了冷鲜牛羊肉中鸭源性成分的胶体金免疫层析快速检测方法。
本标准适用于冷鲜牛羊肉中鸭源性成分的快速检测。

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。

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

本方法应用胶体金免疫层析法的原理，样品中的待测物与检测线上的待测物抗原竞争胶体金标记的特异性抗体，通过胶体金试纸分析仪判读检测线（T）与控制线（C）的颜色信号值，计算T/C的数值，根据数值对样品中待测物进行定性判定。

5 试剂和材料

5.1 试剂 样品提取缓冲液 0.02M PBS（pH 7.2~7.4）。

5.2 加标质控样品制备

称取冷鲜鸭肉 10.0g、冷鲜羊肉或牛肉 190.0g，用绞肉机搅碎混匀呈肉糜状。将此肉糜收集到干净的密封袋中，-20℃以下冻存，有效期 1 年。

5.3 空白样品制备

称取冷鲜羊肉或牛肉适量，用绞肉机搅碎混匀呈肉糜状。将此肉糜收集到干净的密封袋中，-20℃以下冻存，有效期 1 年。

6 仪器和设备

6.1 胶体金读数仪。

6.2 绞肉机。

6.3 涡旋振荡器。

- 6.4 离心机：转速 3000 r/min 以上。
- 6.5 电子天平：感量为 0.01g。
- 6.6 移液器：量程为 200 μ L。
- 6.7 移液管：量程为 20mL
- 6.8 鸭源性检测胶体金免疫层析试剂盒，一般包含胶体金试纸条和含金标试剂的微孔管，适用于冷鲜牛羊肉。

7 分析步骤

7.1 试样制备

取 500g 冷鲜肉样本，用绞肉机搅碎混匀呈肉糜状。

7.2 试样提取

- 7.2.1 称取 6.0g 搅碎的样本，加入 12 毫升样本提取缓冲液，于涡旋震荡器上充分混匀。
- 7.2.2 放入离心机 3000 $\times$ g， 4℃下离心 3 分钟，取上清液即为待测样本液。

7.3 测定

- 7.3.1 用微量移液器吸取 200 μ L 待检液于微孔中，充分与微孔中金标试剂混匀后，开始计时。
- 7.3.2 室温(20~25℃)孵育 3min 后，吸取混匀液体 100 μ L 于加样孔(S 孔)中。
- 7.3.3 液体流动时开始计时，反应 10min，将胶体金试纸放入胶体金试纸分析仪进行判读，其他时间判读无效。

注：从原包装袋中取出试纸条，打开后请在一个小时内尽快使用。

7.4 质控试验

每批样品应同时进行空白试验和加标质控试验，按照 7.2 和 7.3 步骤与样品同法操作。

8 结果计算

通过胶体金试纸分析仪判读检测线（T）与控制线（C）的颜色信号值，计算 T 值和 C 值的比值（T/C 值），计算结果保留两位有效数字。

9 质量控制

以下条件有一条不满足时，试验视为无效：

- a)空白试验测定结果 T/C 值 >0.8 ;
- b)加标质控试验测定结果 T/C 值 ≤ 0.8 ;
- c) 控制线（C 线）必须显色。

注：控制线不显色表明操作不正确或试剂条无效。

10 结果判定

- 10.1 阴性：T/C 值 >0.8 ，表明样品中鸭源性成分含量低于方法检测限，判定为阴性。

10.2 阳性：T/C 值 ≤ 0.8 ，表明样品中鸭源性成分含量高于方法检测限，判定为阳性。

11 结论

当检测结果为阳性，采用参比方法进行确证。

12 性能指标

12.1 性能指标计算方法按照附录 A 执行。

12.2 检出限（LOD）：5%（质量分数）

12.3 灵敏度： $\geq 99\%$

12.4 特异性： $\geq 95\%$

12.5 假阴性率： $\leq 1\%$

12.6 假阳性率： $\leq 5\%$

13 其他

本方法所述试剂、试剂盒信息、操作步骤及结果判定要求是为给方法使用者提供方便，在使用本方法时不做限定。方法使用者在使用替代试剂、试剂盒或操作步骤前，应对其进行考察，应满足本方法规定的各项性能指标。

本方法参比方法为 GB/T38164-2019《常见畜禽动物源性成分检测方法实时荧光 PCR 法》(包括所有的修改单)。

附录 A
(规范性)

快速检测方法性能指标计算表
性能指标计算方法见表 A.1。

表 A1 性能指标计算方法

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 N _{.1} +N _{.2}
显著性差异(X ²)	$X^2=(N_{12}-N_{21} -1)^2/(N_{12}+N_{21}),$ 自由度(df)=1		
灵敏度(p+)/%	$P_{+}=N_{11}/N_{1.}\times 100$		
特异性(p-)/%	$P_{-}=N_{22}/N_{2.}\times 100$		
假阴性率(pf-)/%	$pf_{-}=N_{12}/N_{1.}\times 100=100-\text{灵敏度}$		
假阳性率(pf+)/%	$pf_{+}=N_{21}/N_{2.}\times 100=100-\text{特异性}$		
相对准确度 ^c / %	$(N_{11}+N_{22})/(N_{1.}+N_{2.})\times 100$		
注：N 为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 _{1.} 表示所有的第一行，N _{2.} 表示所有的第二列；N ₁₂ 表示第一行，第二列。			
^a 由参比方法检验得到的结果或者样品中实际的公议值结果。			
^b 由待确认方法检验得到的结果。灵敏度的计算使用确认后的结果。			
^c 为方法的检测结果相对准确性的结果，与一致性分析和浓度检测趋势情况综合评价。			