

国外食品安全 生物学分析方法验证指南

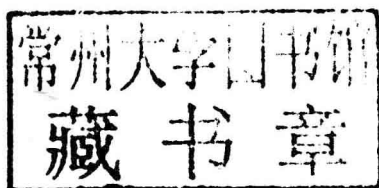
岳振峰 梁均 主编



中国质检出版社
中国标准出版社

国外食品安全 生物学分析方法验证指南

岳振峰 梁 均 主编



中国质检出版社
中国标准出版社

北 京

图书在版编目(CIP)数据

国外食品安全生物学分析方法验证指南 / 岳振峰,
梁均主编. —北京: 中国标准出版社, 2015. 6

ISBN 978-7-5066-7861-2

I. ①国… II. ①岳…②梁… III. ①食品分析—分析
方法—指南 IV. ①TS207.3-62

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 058281 号

中国质检出版社 出版发行
中国标准出版社

北京市朝阳区和平里西街甲 2 号 (100029)

北京市西城区三里河北街 16 号 (100045)

网址: www.spc.net.cn

总编室: (010) 68533533 发行中心: (010) 51780238

读者服务部: (010) 68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

*

开本 787×1092 1/16 印张 20.5 字数 438 千字

2015 年 6 月第一版 2015 年 6 月第一次印刷

*

定价 56.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话: (010) 68510107

《国外食品安全生物学分析方法验证指南》

编委会

主 编 岳振峰 梁 均

副 主 编 郑文杰 薛 峰 杨 方

编写人员 (按姓氏笔画排序)

王乃福	王毅谦	申进玲	刘 培
李东明	李宗梦	李淑静	吴冬雪
吴 斌	邵碧英	金 虹	周 毅
赵建辉	赵卫东	赵良娟	赵 宏
贺 艳	高 峰	高宏伟	钱志娟
郭桂萍	张宏伟	张 霞	张裕君
张海滨	娄婷婷	曾 静	

前 言

生物性和化学性危害是引起食品安全问题的主要原因,已成为国际关注的热点问题 and 引起国际食品贸易纷争的焦点问题。食品安全生物学分析方法作为食品安全分析方法体系的重要组成部分,由于具有简便、快速、经济、易推广等特点和优势而在食品安全分析领域广泛应用。一方面,食品安全分析方法的准确性和可靠性是食品安全分析工作本身的要求;另一方面,随着《中华人民共和国食品安全法》的实施以及政府、企业和消费者对食品安全分析工作的了解,特别是媒体对食品安全问题的频频曝光,食品安全分析方法的准确性和可靠性越来越受到关注。本书旨在为我国正在蓬勃发展的数千家食品安全检测机构提供国外关于方法验证的先进指南和具体做法,为第三方实验室认可机构和实验室监管机构实施实验室认可和资质认定提供理论和实践依据。

本书结合作者多年来在食品安全分析领域的实践经验,对欧、美、日等发达国家以及对国际组织、区域组织等关于食品安全生物学分析方法的验证和确认准则以及指南文件进行了筛选和编译。全书共分三篇,包括食品安全分析方法(传统微生物学)验证指南、食品安全分析方法(分子生物学)验证指南和食品安全分析方法(免疫学)验证指南。食品安全分析方法(传统微生物学)验证指南收集和编译了国际分析化学家协会、加拿大、美国、国际标准化组织、北欧食品分析委员会等关于传统微生物学方法的验证指南文件;食品安全分析方法(分子生物学)验证指南收集和编译了美国和欧盟关于分子生物学方法的验证指南文件;食品安全分析方法(免疫学)验证指南收集和编译了国际食品法典、国际分析化学家协会、美国和部分权威文献的验证指南文件。

本书编者多为国内食品安全检测机构的权威专家,长期工作在食品安全检测一线,熟悉标准方法的制修订和方法确认与验证工作。本书对于国外生物学分析方法验证和确认指南文件的选择突出权威性和实用性,并考虑读者人群的广泛性,行文充分遵循汉语表达习惯,避免晦涩难懂的直译,努力将本书编译为既尊重原文含义又符合中文阅读习惯的实用性强和权威性高的指导食品安全检测机构生物学方法验证的参考性指南。

本书的编译得到国家质量监督检验检疫总局科技计划项目“食品安全分析方法性能评价体系研究”(2013IK197)以及公益性行业科研专项“双打”研究专项计划



项目《“双打”中急需的出入境检验检疫技术方法研究》(2012104020)项目经费资助。

本书主要适用于从事食品安全分析、医学分析的各类检测机构的检测人员和管理人员,也可作为食品分析与食品安全检测专业的教材和参考书。

由于时间仓促和水平有限,本书中恐有不当和错误之处,恳请广大读者批评指正。

编者

2015年4月

目 录

第一篇 食品安全分析方法（传统微生物学）验证指南

AOAC 国际方法委员会对食品微生物定性和定量官方分析方法确认的指南	2
AOAC 食品和环境表面微生物测试方法的验证指南	19
加拿大政府渥太华健康产品和食品分支食物微生物方法开发及管理程序	49
FDA 微生物致病菌方法验证指南——食品中微生物致病菌检测分析方法验证指南 （美国）	63
FSIS 为检测试剂盒制造商、实验室制定的规程：致病菌试剂盒方法的性能评价 （美国）	79
ISO 16140—2003 食品和动物饲料的微生物——替代方法验证草案	94
NordVal 微生物替代方法验证草案	143

第二篇 食品安全分析方法（分子生物学）验证指南

实时荧光 PCR 分析核心设施质量保证/质量控制指南（美国）	156
法医 DNA 检测实验室质量控制标准（美国）	177
环境样本 PCR 分析实验室质量保证/质量控制指南（美国）	194
百日咳杆菌 PCR 质量保证计划（欧盟）	233
实验室间实施转基因生物检测方法验证的指南（欧盟）	250

第三篇 食品安全分析方法（免疫学）验证指南

食品中特定 DNA 序列和特定蛋白质的检测、鉴别和定量的性能标准和方法验证 指南（CAC/GL 74—2010）	272
AOAC 关于采用酶联免疫吸附测定方法定量分析食物过敏原的验证程序	289
农业部谷物检验、批发及畜牧管理局（GIPSA）联邦谷物检验局（FGIS）定性 检测毒枝菌素与生物技术改造作物的快速检测试剂盒的性能验证指令 （Directive 9181.2）概述（美国）	300



定性检测毒枝菌素与生物技术改造作物的快速检测试剂盒的性能验证指令 (美国)	301
分析毒枝菌素和藻类毒素的免疫化学方法所使用抗体特性描述指南	305
免疫分析法检测生物技术改造的作物和衍生的食品成分中外源蛋白的验证和使用 指南	310

第一篇

食品安全分析方法（传统微生物学）验证指南

AOAC 国际方法委员会对食品微生物定性和定量官方分析方法确认的指南

1 范围

本指南原文名称为《AOAC International Methods Committee Guidelines for Validation of Qualitative and Quantitative Food Microbiological Official Methods of analysis》。本文旨在对 AOAC INTERNATIONAL (AOACI) 国际食品微生物方法比对或预协同研究和实验室协同研究提供综合指南。本指南规定了确认程序涉及的步骤, 包括选择研究负责人 (SD)、稳定性试验、耐用性测试、比对方法或预协同研究, 包括内部和外部试验、实验室协同研究和 AOACI 允许的步骤。

本微生物指南由微生物和外来物质方法委员会提供, 作为比对方法或预协同研究和实验室协同研究的初步确认标准, 与 ISO 16140 的确认方法一致。他们已被 AOACI 董事会接受。国际 AOAC 感谢微生物和外来物质方法委员会在发展这些指南上所做的贡献。

2 适用性

本指南用于确认一些替代方法, 无论是否是专利, 都提交给 AOACI 作 OMA 状态识别。本指南的目的是使确认程序与 ISO 16140 替代方法的确认方案的标准一致。本指南要求的替代方法所得的数据符合方案的要求, 兼容 ISO 16140 包含的标准, 可以被相互承认, 但也可能需要一些附加的数据。

3 术语和概念

3.1 替代方法

对一定类别产品的证实或估计的分析方法, 与使用相应的参照方法测定的分析物相同。该方法可以是专有的或非商业性的, 不需要覆盖所有分析过程, 即从样品准备到试验结果。

3.2 参考方法

优先采用适当的 AOACI, FDA/BAM 或 USDA 参照培养过程, 用于替代方法检测的培养物和样品类型。其他国际认可的方法也可作为适当的参考方法, 但将被作为在个案的基础上。

3.3 替代方法的确认

根据认可的确认方案,采用统计标准,比较采用参照方法和替代方法所得的结果,获得足够的证据来证明。

3.4 分析物

分析方法测量的对象,在微生物分析中,指微生物或相关的产物(如酶或毒素)。

3.5 定性方法

分析方法的结果是采用直接或间接的方法,在一定量的样品中是否存在分析物(3.4)。

3.6 定量方法

分析方法的结果是采用直接(如一定质量或体积的计数)或间接(如吸光率、电阻抗等)的方法,在一定量的样品中分析物(3.4)的数量。

3.7 方法比对或预协同研究

由组织实验室或研究负责人(SD)执行的替代方法与参照方法的对比试验。

3.8 实验室间协同研究

在组织实验室或研究负责人(SD)的控制下,在多家实验室使用共同样品试验替代方法的性能。

3.9 回收率

当一系列共同样品(如接种水平),相同样品一部分为阳性结果,一部分为阴性结果,阳性样品的比例大约占同系列总样品的50%,确认标准为满意。

3.10 稳定性试验(RT)

对提出的替代方法,略微改变步骤或环境因子,确定如果有的话,他们是否改变方法的性能。这不是确认方案的正式部分,也不是必须的。这可能为替代方法的提倡者提供有用的信息。不同的实验室协作者的试验结果不同,所以稳定性试验应由一个实验室进行,一般由研究负责人的组织实验室完成。这个试验可以用于测定在同一实验室因操作或环境变化引起的分析误差。

4 确认方案

4.1 确认选项

通过 AOACI 及其附属 AOAC 研究院(AOAC-RI)的3个确认选项有效。它们是 AOAC 官方方法程序(OMA)、AOAC 同等方法程序(PVM)和 AOAC 性能确认方法程序(PTM)。此文件仅标注 OMA 的地址。

4.2 OMA 方法

AOACI OMA 方法由实验室间协同研究(CS)确认,在此过程中,称职的实验员(协同实验者)在不同的实验室独立工作,受研究负责人(SD)统一管理。研究负责人(SD)采用一个特定的方法来分析重复试验样品的特定分析物。研究负责人(SD)受



仲裁员 (GR) 监督, 管理协同研究 (CS)。所选的方法在方法比对或协同研究前可能先进行稳定性试验, 确定其在不同的内部操作条件下的反应 (见 3.10)。

4.3 官方方法SM程序参加者

很多技术专家参加官方方法SM程序, 每个人都担任唯一的、规定的角色, 他们的职能在下面描述, 并在官方方法SM程序指南中。

4.3.1 官方方法董事会 (OMB)

官方方法董事会 (OMB) 由一个主席和 11 个方法委员会主席组成, OMB 同意的最终的方法为基准方法。

4.3.2 方法委员会 (MC)

评价方法比对和实验室间协同研究的方案, 评价完成的研究, 授予新的或修改的方法为基准方法, 推荐修改和作废, 最终方法和剩余的状态到官方方法董事会。对任命或终止科学家担任总仲裁员进行推荐, 评估总仲裁员的履职; 推荐适当的连任。

4.3.3 方法委员会统计员 (MCS)

对方案和已完成的方法比对和实验室间协同研究提供统计学评价。对提交的研究给予精确度和准确性评估。与设定实验室间协同研究的研究负责人一起工作, 形成正确的统计程序, 在必须的方法性能评估中识别统计学问题或缺陷。

4.3.4 方法委员会安全顾问 (MCSA)

评估提交给方法委员会的方案和协同研究。调查推荐的方法和研究设计的潜在风险, 确保必要时列出安全预警报表。

4.3.5 总裁判 (GR)

具有使用协同研究程序的微生物资深科学家。推荐科学家担任研究负责人, 在方法创新时给予建议。评价这些研究, 推荐适当的方法至方法委员会。

4.3.6 研究负责人 (SD) 或组织实验室代表者

在研究所涉及的特定领域的专家志愿者。对确认程序的管理负责和组织实验室间研究。推荐参照方法, 开发内部确认数据, 遵循 AOACI 准则发展实验室间协同试验确认方案。

研究负责人 (SD) 或组织实验室的责任如下:

- (1) 选择被确认的方法;
- (2) 指导内部稳定性试验 (选择性程序);
- (3) 指导方法比对或预协同试验, 提交 AOACI 获得方法委员会批准;
- (4) 准备协同试验方案, 提交 AOACI 获得方法委员会批准;
- (5) 准备样品, 分发样品至合作者, 指导研究和分析结果;
- (6) 按 AOAC 的格式准备含有结果和方法的原始记录, 提交给 GR、MCS、MCSA、MC 和 OMB 根据完成的 PCS 和 CS 评价和批准。

4.3.7 协作者

对实验分析负责, 受研究负责人 (SD) 或组织实验室代表者领导, 严格按照推荐的参照方法, 并按要求报告结果。可以从多种实验室选取有经验的微生物科学家, 包括监管机构、工业界和学术界。

5 定性方法——确认的技术方案

5.1 方法比对或预协同研究(PCS)

5.1.1 测量方案

预协同研究(PCS)也被称为方法比对研究,是 OMA 微生物学方法正式提交的要求,在组织实验室正常实施。预协同研究在实验室间协同研究之前进行,旨在通过使用各种不同类型的食品来证实方法的适用性,以定义提交的方法的适用性说明。要求适用性说明紧随在方法名称之后,微生物方法的适用性说明一般包括目标菌和所涵盖的食品种类。

(1) 参照程序

替代方法总是与参照培养方法比较。AOACI OMA、FDA/BAM 或 USDA(适用肉类和家禽产品)的参照培养方法是参照方法的实例。

(2) 实验室数量

预协同研究(PCS)一般由组织实验室实施。

(3) 食品种类

有关微生物方法推荐的食品种类在附录 A 中,如果适用性声明是对所有或大多数食品,至少要从附录 A 的食品种类中选择 20 种不同类型的食品。

注:AOACI 已经确认沙门氏菌方法是适用于所有食品,并确认了其他目标微生物,包括 O157 大肠杆菌、李斯特菌、弯曲杆菌只适用于 PCS 和 CS 中的食品类型范围或特殊食品类型。

如果寻求确认方法适用于所有或大部分食品,至少要研究 6 种 20 类不同类型的食品。如果替代方法确认限制在规定的种类内,这个数字可以减少到 1, 2, 3, 4 或 5 种。推荐种类列在附录 A 中。

如果不能得到足够数量自然污染的食品种类,允许在食品样品中人工加菌。

选择食品要尽量覆盖实际的范围,包括已经牵涉的食物中毒或召回情况。

(4) 接种培养和微生物条件

自然污染的产品很难得到,一般以生物接种到食品。对分型水平的方法,如沙门氏菌检测,要求多种血清型的代表。

每种食品通常都要接种不同的纯培养、菌株、血清型或种。产品应以一种菌株纯培养接种,不建议混合培养。

加工食品的微生物一般都受到胁迫,因此污染的微生物也受到这种食品的胁迫。微生物胁迫可能发生在接种或准备食品时。未加工食品可以接种未经胁迫的微生物。冻干接种物一般用于干粉、颗粒状食品,液体接种物一般用于液体食品。接种后的固体样品,分析前应放在适当的储存环境以稳定菌的数量。

(5) 接种物的水平和对照

每种食品至少分成两份,一份为阴性对照,一份接种一个水平计算回收率(见 3.9)。对照和接种试验样品应同时准备。依靠组织实验室满足此确认标准的信心,建议准备第三份高水平接种的样品,这个水平是可选的,而一个水平的回收率是必须的确认要求。低接种水平的目标菌一般设定在一个方法的最低检出限,如 1~5cfu/25g 试验部分,高接种水平的设定在 10~50cfu/25g 试验部分。另外的接种水平根据需要



增加。

可能需要使用几个接种水平以增加一个水平的回收率的概率。所有接种水平的阳性和阴性试验对决定方法的最低检出限是无用的，不满足确认要求。

最大可能值（MPN）定量污染水平由组织实验室在样品测试开始的同一天实施。

（6）试验样品的数量

每个接种水平的样品量为 20 个，使用 McNemar 统计法，样品数必须是双数。例如，试验和参照方法每份样品需要 25g，因主要的富集培养基不同，20 份试验样品每份至少要从接种或对照部分抽取 50g。从 50g 试验样品中，准备双份的 25g 试验部分。如果成对地使用相同均质和增菌液，可以共用最初的试验部分。这种情况下，替代方法和参照方法共用预富集培养基。

（7）自然污染的试验样品

每个自然污染的食品种类至少需要两批。但对分析者来说，自然污染的食品不易获得。努力获得最具代表性的方法使用的环境，因为这些产品没有阴性对照，每批次 20 个重复。如果所有的试验部分都是阳性，稀释样品获得部分阳性，重复这个批次的分析。

（8）竞争菌群的需要

如果与被分析物同时存在竞争菌群则更具有真实性和挑战性。加入这些菌的目的是使其最接近于自然条件，在 1 个食品类型中证实能够回收即可，方法比对研究应满足上述要求。竞争菌群的染菌水平应比目标菌至少高一个数量级。

（9）灵敏度和特异性

灵敏度是替代方法从许多菌中检测到目标菌的能力。特异性是替代方法排除相关范围的非目标菌干扰的能力，这些非目标菌是潜在的交叉反应菌。

灵敏度和特异性的数据用来证实该方法可以和特定菌的主要血清型反应而不同相关的属和/或种反应。至少选 50 个特定微生物的纯菌和至少 30 个潜在竞争纯菌进行分析。沙门氏菌的方法，目标菌的数量至少增加到 100 个，选择有代表性的主要的沙门氏菌的血清型。

（10）污染控制

接种样品和未接种对照应同时准备。如果未接种的对照试验部分为阳性，表明发生了交叉污染，则该试验结果无效，重复此运行。对照样品不包含自然污染的食品种类。

5.2 实验室间协同研究（CS）

5.2.1 测量方案

协同研究（CS）也称为实验室间协同研究，是申请官方方法程序的微生物学方法必须提交的，在方法比对和预协同研究之后进行。协同研究的目的在于对一个方法的特性提出实际的估计，特别是当该方法实际应用时出现预期的系统误差及随机误差。

（1）参照程序

替代方法总是与参照培养方法比较。AOACI OMA、FDA/BAM 或 USDA（适用肉类和家禽产品）的参照培养方法是参照方法的实例。

(2) 实验室数量

每个食品种类至少需要 10 个有效实验室数据。研究负责人(SD)应计划每种食品至少 12~15 个实验室,因为有些实验室会因为各种原因被淘汰。涉及很贵重的设备的定性方法未建立指南,建议与总仲裁员和委员会统计员商量。

(3) 食品种类

不同食品种类的数量由方法的适用性决定。如果该方法只适用于一种食品(如牡蛎中的弯曲杆菌检测),仅需包括一种食品。如果适用性宽一些(如检测食品中的沙门氏菌),则协同研究(CS)中应包括 6 种食品。如先前提到的,PCS 和 CS 研究的数据形成规定方法适用性声明的基础。

(4) 接种培养

接种微生物必须代表在方法适用性声明中包括的不同的属、种和/或产毒微生物。培养选择应足够宽,能代表相关微生物的内在变化。

每种食品通常都要接种不同的纯培养、菌株、血清型或种。产品应以一种菌株纯培养接种,不建议混合培养。

加工食品的微生物一般都受到胁迫,因此污染的微生物也受到这种食品的胁迫。微生物胁迫可能发生在接种或准备食品时。未加工食品可以接种未经胁迫的微生物。冻干接种物一般用于干粉、颗粒状食品,液体接种物一般用于液体食品。接种后的固体样品,分析前应放在适当的储存环境以稳定菌的数量。

(5) 接种物的水平和对照

每种食品至少分成 3 份,一份为阴性对照,一份接种一个水平(通常是低接种水平)计算回收率(见 3.9),第三份样品高水平接种。对照和接种试验样品应同时准备。低接种水平的目标菌一般设定在一个方法的最低检出限,如 1~5cfu/25g 试验部分,高接种水平的设定在 10~50cfu/25g 试验部分。

最大可能值(MPN)定量污染水平由组织实验室在样品测试开始的同一天实施。MPN 根据方案指定的参照培养方法实施。

(6) 试验样品的数量

每种样品每个分析水平设 6 个试验部分,每种样品准备 6 个阴性对照(未接种)部分。试验样品分发到各参加实验室分析时盲样编号。

(7) 使用人工加菌和自然污染试验样品

特别鼓励使用人工加菌和自然染菌样品,因为自然染菌的样品不易获得,此时可以使用人工加菌样品。

5.3 显著性差异和性能指标试验

这些适用于预协同和协同研究。检查数据确定一些实验室是否出现连续的离群结果,即与其他实验室结果在一定程度上不同,并且不是偶尔发生。进行离群试验是为了排除离群值。

5.3.1 显著性差异试验

每种样品每个接种水平证实阳性的比例,替代方法和参照方法在统计学上没有显著差异。McNemar 检验(χ^2 检验)用于比较方法的比例。



$\chi^2 < 3.84$ 表明替代方法和参照方法在 5% 差异水平上没有统计学差异。每种样品每个接种水平必须满足这个标准。然而, 假如替代方法的回收率高于参考方法, 两种方法在阳性比例上有显著差异是可接受的。

$$\text{McNemar (卡方) 定义: } \chi^2 = \frac{(|a-b|-1)^2}{a+b}$$

式中: a ——由替代方法证实阳性但参照方法证实阴性的试验样品数;

b ——由替代方法证实阴性但参照方法证实阳性的试验样品数。

原始数据的计算方法参考表 1。

$\chi^2 \geq 3.84$ 表明替代方法和参照方法在 $< 5\%$ 水平上差异显著。如果 McNemar 试验应用于某种食品每个接种水平, 分析结果表明显著差异。那么, 这种食品必须从应用声明中去掉, 或者修改方法和增加试验表明这个结果现在可以接受。

如果找不到失败的必然原因, 这个失败就归结为偶然误差。在这个实例中, 这种食品就要重新评估, 按以上方案测试 3 个批次的食品。

5.3.2 性能指标

4 个定性方法的性能指标是灵敏度、特异性、假阴性率和假阳性率。与试验的显著性差异 (5.3.1) 一起, 这些性能指标给试验方法提供总体评估。表 1 给出了这 4 个性能指标的计算, 按表 1 的格式, 输入试验结果, 根据提供的公式, 计算性能指标。

(1) 一个食品种类和接种水平的灵敏度 ($p+$)

替代方法或参照方法对一个已知阳性样品, 检测出是阳性样品的概率。已知阳性是指确认接种了目标菌。

灵敏度定义为: 该方法证明阳性的试验部分除以替代方法和参照方法证明阳性的试验部分。

(2) 一个食品种类和接种水平的特异性 ($p-$)

替代方法或参照方法对一个已知阴性样品, 检测出是阴性样品的概率。已知阴性是指确认了的阴性试验部分。

特异性定义为: 该方法证明阴性的试验部分除以替代方法和参照方法证明阴性的试验部分。

因为微生物方法有证实步骤, 传统程序假定阳性的结果, 可以证实为阳性也可能确定为阴性。换句话说, 证实程序允许样品被确定为阳性或阴性, 因此, 确认后特异性一般为 100%。

(3) 一个食品种类和接种水平假阴性率 ($pf-$)

已知阳性样品被该方法检测判断为阴性的概率。 $pf-$ 是使用该方法, 已知阳性样品被判断为阴性的数量除以阳性样品的总数 (错误判断的阳性样品数加正确判断的阳性样品数)。

假阴性率等于 100 减去灵敏度。

(4) 一个食品种类和接种水平假阳性率 ($pf+$)

已知阴性样品被该方法检测判断为阳性的概率。 $pf+$ 是使用该方法, 已知阴性样

品被错误判断为阳性的数量除以样品的总数（错误判断的阳性样品数加正确判断的阴性样品数）。

假阳性率等于 100 减去特异性。

将研究数据输入表 1，计算试验的显著性差异和性能指标，每个接种水平都要按此计算。

表 1 对样品一般分类后计算性能指标

试验样品状况 ^a	试验结果 ^b		总数
	阳性	阴性	
阳性	N_{11}	N_{12}	$N_{1.}$
阴性	N_{21}	N_{22}	$N_{2.}$
总计	$N_{.1}$	$N_{.2}$	$N = N_{1.} + N_{2.}$ 或 $N_{.1} + N_{.2}$
^a 由参照方法定义。			
^b 试验结果由替代方法结果定义，灵敏性计算的结果使用确认后的结果。			

N 为每格里的样品数量，下标的第一个表示行，第二个表示列，如 N_{11} ：第一行，第一列； $N_{1.}$ ：第一行的总数； $N_{2.}$ ：第二列的总数；如 N_{12} ：第一行，第二列。

$\chi^2 (, 2) = [(| N_{12} - N_{21} |) - 1]^2 / (N_{12} + N_{21})$ ，自由度 (df) = 1

灵敏度 ($p+$) = $N_{11} / N_{1.} = p (T^+ / S^+)$ ， $p (T^+ / S^+)$ 表示随机选取的样品确实是阳性，试验结果是阳性的概率。根据表 1 定义已完成的方法（选择确认的试验）的阳性试验的试验结果。

特异性 ($p-$) = $N_{22} / N_{2.} = p (T^- / S^-)$ ， $p (T^- / S^-)$ 表示随机选取的样品确实是阴性，试验结果是阴性的概率。根据表 1 定义已完成的方法（选择确认的试验）的阳性试验的试验结果。特异性应包括阴性对照结果重新计算。

假阴性率 ($pf-$) = $N_{12} / N_{1.} = 1 - \text{灵敏度} = p (T^- / S^+)$ ， $p (T^- / S^+)$ 是样品含有目标菌但试验结果阴性的概率。

假阳性率 ($pf+$) = $N_{21} / N_{2.} = 1 - \text{特异性} = p (T^+ / S^-)$ ， $p (T^+ / S^-)$ 是样品不含有目标菌但试验结果阳性的概率。

6 定量方法——确认的技术方案

6.1 方法比对或预协同研究 (PCS)

6.1.1 测量方案

预协同研究 (PCS) 也被称为方法比对研究，是 OMA 微生物学方法正式提交的要求，在组织实验室正常实施。预协同研究在实验室间协同研究之前进行，旨在通过使用各种不同类型的食品来证实方法的适用性，以定义提交的方法的适用性说明。要求适用性说明紧随在方法名称之后，微生物方法的适用性说明一般包括目标菌和所涵盖的食品种类。