

## 兽药残留检测中试剂盒的验证评判方法研究

伏慧明, 郭展旗, 王翠英, 王彪, 丁兴莉, 杨红岩

(甘肃省兽药饲料监察所, 兰州 730030)

**摘要:**试剂盒是应用酶联免疫技术研发的新一代药物残留检测产品,与仪器分析技术相比具有快速、简便、准确和灵敏度高等特点,操作时间仅需 1.5 h,能最大限度地减少操作误差和工作强度。但是应用试剂盒时检测结果与有些试剂盒所标示的各项技术指标相差甚远,出现假阳性的几率很大,有必要在兽药残留检测中确定试剂盒指标评判的具体内容和方法。

**关键词:**药物残留;酶联免疫试剂盒;验证;评判

中图分类号: S816.17 文献标识码: A 文章编号: 1008-0864(2008)S2-0109-03

## Evaluation of Kit Detecting Veterinary Drug Residues

FU Huiming, GUO Zhan-qi, WANG Cui-ying, WANG Biao, DING Xing-li, YANG Hong-yan

(Gansu Supervisory Institute of Veterinary Drugs and Feedstuffs, Lanzhou 730030, China)

**Abstract:** ELISA kit is a new veterinary drug residues detection product. Compared with instrument analysis, detection by ELISA kit is quicker, simple, accurate, and highly sensitive. It takes only 1.5 hours to complete the operation. ELISA analysis can minimize operation error and working strength maximally. But usually some technique index marked on the kit is far different from the examination results, there would be of great chance to emerge false positive results. It is necessary to determine the concrete contents and specific methods of kit evaluation for veterinary drug residues testing.

**Key words:** drug residues; ELISA kit validation; evaluation

兽药残留是指给畜禽等动物使用药物后蓄积或存在于动物细胞、组织和器官内的药物或化学物质的原型、代谢产物或杂质,这些物质会对人体产生严重的损害,所以检测兽药残留是目前我国乃至世界对动物性食品安全评价的重要手段。

兽药残留检测试剂盒是应用酶联免疫技术研发的新一代药物残留检测产品,与仪器分析技术相比,具有快速、简便、准确和灵敏度高等特点,操作时间仅需 1.5 h,并能最大限度地减少操作误差和工作强度<sup>[1,2]</sup>。但是近年来在应用试剂盒的过程中,我们发现有些检测结果往往与试剂盒所标示的各项技术指标相差甚远,出现假阳性的几率很大,严重影响了检测方法的运用和结果的判定<sup>[3,4]</sup>。因此,在利用试剂盒进行药物残留检测前,非常有必要对试剂盒所标示的各项技术指标进行逐一的验证,也就是进行检测标准的方法学

考察,从而对试剂盒做出评判;对试剂盒所标示的各项技术指标,即对标准曲线、检测限、定量限、临界值、准确度、精密度及交叉反应率等项目的评判是应用试剂盒的重要技术,本文将对试剂盒各项指标的验证考察方法一一作出阐述。

### 1 标准曲线

#### 1.1 定量方法

试剂盒中应含有浓度不同的标准溶液。标准曲线至少由 5 个浓度点组成,测定次数不少于 5 次,以确定工作浓度范围和  $IC_{50}$ ,最大残留限量(MRL)必须在工作范围内。

$IC_{50}$ 为 50%抑制浓度,就是 0 浓度标准溶液的吸光度值 50%处所对应的药物浓度,是反映试剂盒灵敏度的指标。

工作浓度范围是指样品中的药物浓度范围。

收稿日期: 2008-07-10;修回日期: 2008-10-19

作者简介: 伏慧明,高级兽医师,从事饲料中违禁药物检测技术研究。Tel: 0931-8462756; Email: fauteg@163.com

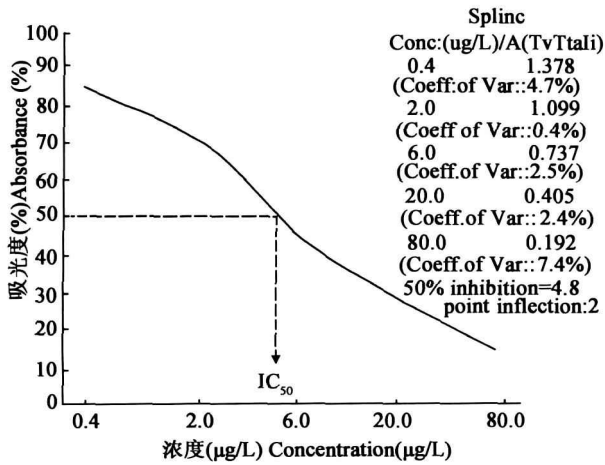


图 1 标准曲线

Fig 1 The standard curve of determination

### 1.2 定性方法

工作浓度范围通常通过阴性样品、临界值浓度样品和阳性样品的测定来确定,每个浓度重复不少于 5 次。浓度和响应值之间应有一定的关系,正比或反比。

## 2 检测限和定量限

### 2.1 检测限

称取 20份空白样品依据该试剂盒提供的检测方法进行测定,结果均值加 3倍标准差,即为本试剂盒的检测限。应检测检测值是否与试剂盒提供的检测限值相符。检测限的确定见图 2。

### 2.2 定量限

定量限应大于标准曲线中最低浓度点。对于定量方法,将空白样品添加为含有定量限浓度的阳性样品,依据该试剂盒提供的检测方法进行测定。测定次数应不少于 6次,验证测定值是否与试剂盒提供的定量限值相符,注意不能通过外延法推断。定量限的确定见图 2。

## 3 临界值 (cut-off value)

对于有最高残留限量的药物,检测方法的临界值为 20份添加 MRL浓度的样品重复 3次的均值减去 1.64的标准差,即 95%置信限出。

对于禁用药物检测方法的临界值为定量限,该值应达到公认的指标。

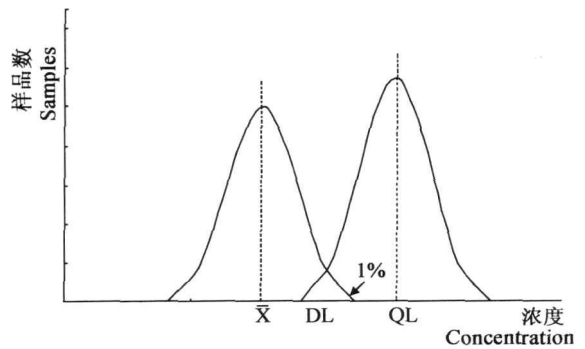


图 2 检测限和定量限

Fig.2 Determination limit and the quantification limit.

X̄: 空白 Blank; DL: 检测限 Determination limit; QL: 定量限 Quantification limit

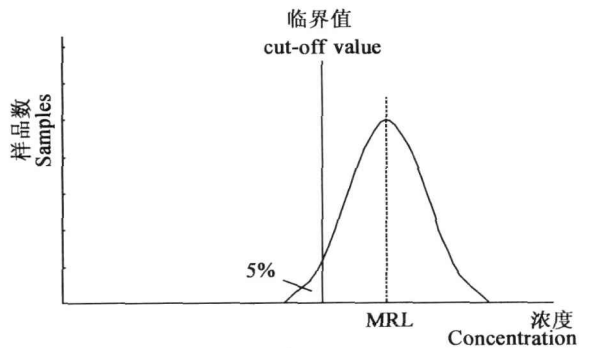


图 3 检测方法临界值

Fig.3 The cut-off value of determination method.

## 4 精密度和准确度

### 4.1 浓度要求

对于有最高残留限量 (MRL)的药物,需检测的浓度包括 MRL及 MRL上下各一个浓度。对于禁用药物,需检测定量限和 2倍定量限浓度。

### 4.2 数量要求

检测时除检测样品外,必须添加阳性样品处理,每个浓度至少测定 5个平行样,并至少进行 3批实验。

### 4.3 准确度 (以回收率表示)

回收率大于 40% 或符合相应检测标准的要求。

### 4.4 精密度 (以变异系数表示)

4.4.1 批内变异系数 按 4.2数量要求进行测定后,计算结果。每个平行样之间的变异系数,则变异系数需小于或等于 25%。对于禁用药物,则

变异系数需小于或等于 30%。

4.4.2 批间变异系数 同浓度样品组之间的变异系数值小于或等于 30%,对于禁用药物需小于或等于 40%。

#### 4.5 定性方法

阴性样品测定不少于 50 份,根据测定结果确定假阳性率,公式为:

$$\text{假阳性率} = \frac{\text{假阳性}}{\text{假阳性} + \text{真阳性}} \times 100\%$$

阳性样品测定不少于 50 份,根据测定结果确定假阴性率,公式为:

$$\text{假阴性率} = \frac{\text{假阴性}}{\text{假阴性} + \text{真阴性}} \times 100\%$$

一般要求,假阳性率 ≤ 5%,假阴性率为 0。

### 5 交叉反应

应检测试剂盒与待检药物类似物、代谢物或共同存在的药物测定交叉反应率。定义一种药物(A)反应率为 100%,分别测定各种其他药物的 50%抑制浓度。公式为:

$$\text{某种药物交叉反应率} = \frac{\text{药物 A } IC_{50}}{\text{待测药物 } IC_{50}} \times 100\%$$

#### 【新书推介】



## 《饲料掺假鉴别技术》

崔富春 主编 裴彩霞,范 华 编著 中国社会科学出版社

出版日期: 2008. 5

I S B N: 9787508721828

定 价: 14.00 元

开 本: 大 32 开

页 数: 214 页

本书为《农村实用科技与技能培训丛书》之一,详细的介绍了鉴别掺假饲料的基本方法:感

### 6 保存期

保存期通过保存条件的稳定性实验结果确定。正常条件(2~8℃)的保存,分别于 0、1、2、3 个月测定,以后可根据保存期,每隔 3 个月测定一次。推荐进行 37℃ 加速和冻融的稳定性实验。

### 7 结语

对试剂盒所标示的各项技术指标,通过实验进行方法学验证后,给试剂盒做出评判,若实际检测结果与试剂盒所标示的各项技术指标相符,且具体指标数能达到国家有关标准要求,则视为试剂盒合格,能用于药物残留检测。否则对试剂盒评判为不合格,不能用于药物残留检测。

#### 参 考 文 献

- [1] 陈志莹,张新滨,赵 艺,等. 试剂盒法检测兽药残留应注意的问题[J]. 中国禽业导刊, 2008, 11: 41.
- [2] 詹曦菁,秦晓勇,石 枫,等. 麻疹 IgG 抗体 EIA 检测试剂盒的研制及应用[J]. 武警医学院学报, 2008, 17(7): 576 - 579.
- [3] 李成涛,郭 宏,林 源,等. 荧光定量 PCR 技术验证 Sino-filer 试剂盒的适宜模板量[J]. 法医学杂志, 2008, 24(2): 129 - 130, 133.
- [4] 诸兴桂. 影响血氨测定试剂盒检测结果一致性的原因探讨[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(7): 415 - 416.

官鉴别法,物理检测法,简易化学检测法,显微镜检测法,化学成分分析法。