

基于质量评价的孔雀石绿快检试剂盒筛选策略

李 菊^{1,2}, 谢建军^{1,2*}, 王 璐^{1,2}, 侯颖焯^{1,2}, 曾广丰^{1,2}, 席 静^{1,2}, 王志元^{1,2}

(1. 广州海关技术中心, 广州 510623; 2. 广东省动植物与食品进出口技术措施研究重点实验室, 广州 510623)

摘 要: **目的** 建立快速筛选出技术指标合格的市售水产品孔雀石绿残留快速检测试剂盒的方法。**方法** 选用5种市售孔雀石绿快检试剂盒比较其操作步骤、检测时间、提取效率,同时参考SN/T 2775-2011和GB/T 19857-2005进行灵敏度、特异性、假阴性率与假阳性率等技术指标测试,提出基于质量评价的试剂盒快速筛选策略。**结果** 5个品牌的孔雀石绿检测试剂盒质量参差不齐,品牌A、B与C的灵敏度<99%,特异性≥85%、假阴性率>1%,假阳性率≤15%,不符合试剂盒评价标准;品牌D与品牌E的灵敏度≥99%、特异性≥85%、假阴性率≤1%,假阳性率≤15%,符合试剂盒评价标准。**结论** 对市场销售的水产品中孔雀石绿残留检测试剂盒要进行采购前、采购中的质量评价,在评价时综合考虑操作步骤的简便性、时效性、评价批次、样品来源等,同时兼顾灵敏度、特异性、假阴性率与假阳性率技术指标,快速筛选出符合标准的试剂盒。

关键词: 孔雀石绿; 试剂盒; 质量评价; 筛选策略

Screening strategy of malachite green rapid detection kit based on quality evaluation

LI Ju^{1,2}, XIE Jian-Jun^{1,2*}, WANG Lu^{1,2}, HOU Ying-Ye^{1,2}, ZENG Guang-Feng^{1,2},
XI Jing^{1,2}, WANG Zhi-Yuan^{1,2}

(1. Technology Centre of Guangzhou Customs, Guangzhou 510623, China; 2. Guangdong Key Laboratory of Import and Export Technical Measures of Animal, Plant and Food, Guangzhou 510623, China)

ABSTRACT: Objective To establish a rapid screening method of malachite green residue detection kit in aquatic products. **Methods** Five kinds of malachite green rapid detection kits were selected to compare their operation steps, detection time and extraction efficiency. Meanwhile, the sensitivity, specificity, false negative rate and false positive rate were tested with reference to SN/T 2775-2011 and GB/T 19857-2005, and the rapid screening strategy based on quality evaluation was proposed. **Results** The quality of malachite green test kits of five brands were uneven. The sensitivity of brands A, B and C were less than 99%, specificity were more than or equal to 85%, false negative rate were more than 1%, false positive rate were less than or equal to 15%, which did not meet the evaluation criteria of kits. The sensitivity of brands D and E were more than or equal to 99%, specificity were more than or equal to 85%, false negative rate were less than or equal to 1%, false positive rate were less than or equal to 15%, which met the evaluation criteria of kits. **Conclusion** It is necessary to evaluate the quality of malachite green residue detection kit in aquatic products sold on the market before and during the purchase. In the evaluation, the convenience of operation steps, timeliness, evaluation of batches, sample source, etc. should be taken into account,

基金项目: 原广东出入境检验检疫局科技计划项目(2018GDK29)

Fund: Supported by the Guangdong Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau of Science and Technology Project (2018GDK29)

*通讯作者: 谢建军, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品质量安全。E-mail: jianjunxj@126.com

*Corresponding author: XIE Jian-Jun, Ph.D, Professor, Technology Centre of Guangzhou Customs, No.66, Huacheng Road, Tianhe District, Guangzhou 510623, China. E-mail: jianjunxj@126.com

and the technical indexes of sensitivity, specificity, false negative rate and false positive rate should be tested also, so as to quickly select the kit that meets the standard.

KEY WORDS: malachite green; kit; quality evaluation; screening strategy

1 引言

孔雀石绿(malachite green, MG)是一种人工合成的碱性三苯甲烷类染料。据研究 MG 可阻止蛋白肽的形成,抑制细胞分裂从而产生抗菌与杀菌作用, MG 因抗杀菌效果良好而被广泛应用到水产养殖业的病菌防治中。由于 MG 及代谢物有“三致”毒性(致癌、致畸与致突)^[1],在欧美、日本等国已被禁止用于水产养殖业中,日本肯定列表也明确规定在进口水产品中不得检出孔雀石绿残留^[2,3],我国也于 2002 年 5 月将 MG 列入《食品动物禁用兽药及其化合物清单》中^[4]。但在面对高利润的诱惑,非法使用 MG 的行为屡禁不止。据研究,国内市面上出售的水产品中孔雀石绿检出率在 6.5%~23.2%之间^[5]。孔雀石绿的不当使用渐成水产业关注的焦点,其残留检测也成为了业内重点研究项目。目前, MG 的前处理方法有固相萃取法^[6,7]、分子印迹法技术^[8,9]、QuEChERS 技术^[10],仪器检测方法有高效液相色谱法^[6,7]、高效液相串联质谱法^[3,10]、同位素稀释质谱法^[11]等。但这些精密大型仪器检测方法操作复杂、对检测人员要求高、检测费用昂贵及耗时过长等特点,显然不适用于现场监督抽查中鲜活水产营销的流通方式需求。因此,具有检测简单、快速、无需特殊仪器设备的快速检测试剂盒应运而生,并得到扩散性蓬勃发展^[12]。然而,行业内由于试剂盒的研发与生产成本远比大型仪器低得多,而且产值高,一些规模小、管理水平低的小企业在高利益的驱使下也迅速加入到生产大军中,造成快速检测试剂盒生产厂家多,但品质也参差不齐,快检试剂盒在使用中常常问题频出^[13,14]。因此,对市售的试剂盒按照标准进行特异性、灵敏度、假阴性率、假阳性率等质量评价^[15-17],可保证使用到质量合格的试剂盒。但试剂盒评价耗时长、工作量大、专业性强,往往给使用者带来困扰。本文提出的基于质量评价的孔雀石绿筛选策略节省了评价检测方的时间、人力与物力,有利于使用者、采购商及生产商在最短时间内对试剂盒进行质量把关。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

SCIEX 4000QTRAP 三重四级杆液质联用仪(美国 AB 公司); MS3 basic 涡旋混合器(德国 IKA 公司); ST162 离心机(美国 Thermo 公司), HV2945 水浴锅(北京五洲东方科技公司)。

乙酸乙酯、乙腈、甲醇(色谱纯,美国 Fisher 公司);孔雀石绿标准品,隐性孔雀石绿标准品(纯度 $\geq 98\%$,德国 Dr 公司),中性氧化铝(2 g/6 mL,上海安谱公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 标准溶液的配制

准确称取孔雀石绿、隐形孔雀石绿标准品,于乙腈溶剂中溶解,准确定容至 10 mL,配制成孔雀石绿与隐性孔雀石绿标准储备溶液(1000 $\mu\text{g/mL}$),另配制氘代孔雀石绿及氘代隐性孔雀石绿内标溶液,使用前根据需要配制所需浓度的标准溶液,现配现用。

2.2.2 样品处理

(1) 空白基质样品的制备

取桂花鱼,去鳞后取油脂较少的鱼背部部位,剪碎,均质后参照 GB/T 19857-2005《水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定》^[18]方法进行检测,孔雀石绿与隐性孔雀石绿的检测结果均低于 0.5 $\mu\text{g/kg}$,选此桂花鱼为本实验的空白基质样品,保存温度为 $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 。

(2) 阴性样品的制备

称取指定质量的 2.2.2(1)中所制备的空白基质样品作为本次实验的阴性样品。

(3) 阳性样品的制备

称取指定质量的 2.2.2(1)中所制备的空白基质样品,加入 2 mg/kg 的孔雀石绿或隐性孔雀石绿标准溶液,此加标样品为本实验的阳性样品。

2.2.3 各品牌试剂盒的采购

本研究使用的 5 个品牌试剂盒来源于 A 公司、B 公司、C 公司、D 公司与 E 公司。

2.2.4 评价方法

参照 SN/T 2775-2011《商品化食品检测试剂盒评价方法》标准方法^[15],采用 3 个批次的快检试剂盒,分别进行 20 份阴性样品与 20 份加标阳性样品的测试,加标浓度为试剂盒标示的检出限值,同时采用参考方法进行验证。

2.3 参考方法仪器条件

LC-MS/MS 仪器条件:参考 GB/T 19857-2005;检测限为 0.5 $\mu\text{g/kg}$ 色谱柱: C_{18} 柱(50 mm \times 2.1 mm, 3 μm);流动相:乙腈:5 mmol/L,乙酸铵=75:25(V:V);流速:0.2 mL/min;柱温:35 $^\circ\text{C}$;进样量:10 μL ;离子源:电喷雾电离(electrospray ionization, ESI),正离子;扫描方式:多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)。

3 结果与分析

3.1 试剂盒的方法对比分析

对比分析 A、B、C、D 与 E 这 5 家品牌孔雀石绿快速检测试剂盒说明书,其操作步骤均分为提取、氧化、浓缩、复溶与滴卡 5 个步骤,见表 1。在实验操作步骤简便性方面,E 公司的样品提取 3 步完成,比其它 4 个品牌更简便一些,C 公司次之,D 公司、A 公司与 B 公司最复杂,几个品牌试剂盒操作步骤均可以满足快速检测对实验操作的简便性要求。操作耗时方面,同一实验人员操作,E 公司的操作方法耗时 20~25 min,A 公司与 C 公司的操作方法耗时 25~30 min,B 公司与 D 公司的操作方法耗时 30~35 min,能符合快速检测对时间的要求。消耗提取溶剂体积方面,D 公司所耗费试剂体积最少,实验消耗试剂体积从少到多排列为 D<E<A<C<D,几个品牌的试剂盒检测所需试剂用量少,符合快检试剂用量要求。操作简便性方面,A 公司、C 公司与 E 公司直接吸取上清液进行检测,操作简便易行;B 公司与 D 公司吸取中间液,相对难度大些。判定方法描述方面,E 公司对判定方法的描述相对其它 4 个品牌公司的判定方法更容易理解些,方便使用者的判读。说明书标示

检出限方面,5 个品牌标示的孔雀石绿检出限为 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$,均符合农业部 193 号公告的规定,可以满足目前市场监管执法的检测要求。

3.2 确证方法的回收率及谱图

3.2.1 确证方法

参照 GB/T 19857-2005《水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定》,仪器条件可参照 2.3,MRM 监测离子对:孔雀石绿 m/z 329/313(定量离子)、329/208; 隐性孔雀石绿 m/z 331/316(定量离子)、331/239; 氘代孔雀石绿 m/z 334/318(定量离子); 氘代隐性孔雀石绿 m/z 337/322(定量离子)。

3.2.2 确证方法加标回收率

阴性空白样品添加 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 孔雀石绿标准溶液进行添加回收实验,结果表明,孔雀石绿与隐性孔雀石绿的方法加标回收率分别为 97.26%与 92.51%,满足标准方法要求。

3.2.3 确证方法谱图

隐性孔雀石绿与氘代隐性孔雀石绿的 MRM 图、孔雀石绿与氘代孔雀石绿的 MRM 图见图 1 和图 2。

表 1 5 个品牌的孔雀石绿胶体金试剂盒标示汇总
Table 1 Summarizing of directions of five brand rapid test kits

公司	称样/g	提取	氧化	浓缩	复溶	判定方法
A	3	A 2 mL B 0.15 mL C 4 mL D 2 mL	氧化剂 0.1 mL	65 °C 氮 吹至干	E 0.3 mL	阴性(-): T 线显色比 C 线深或一样深, 表示样品中孔雀石绿浓度低于 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或无孔雀石绿; 阳性(+): T 线显色比 C 线浅,表示样品中孔雀石绿浓度高于 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$; T 线越浅,表示样品中孔雀石绿残留浓度越高; 无效: C 线未出现紫红色条带,表明不正确的操作过程或检测卡失效。
B	3	A 2 mL B 0.15 mL C 6 mL D 2 mL	氧化剂 0.05 mL	60 °C 氮 吹至干	复溶液 0.4 mL	阴性(-): T 线显色强于 C 线显色或与 C 线显色无明显差异, 表示样本中不含有孔雀石绿或其浓度低于 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或无孔雀石绿残留; 阳性(+): T 线显色明显弱于 C 线显色或 T 线不显色, 表示样本中孔雀石绿浓度等于或高于 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 无效: 未出现 C 线,可能是操作不当或检测卡失效。
C	3	A 4 mL B 4 mL C 1 瓶	氧化剂 0.1 mL	65 °C 氮 吹至干	复溶液 0.3 mL	阴性(-): C 线显色, T 线红颜色深于或等于 C 线, 表示样品中不含孔雀石绿或其含量低于 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 阳性(+): C 线显色, T 线不出现红色或出现红色但颜色浅于 C 线, 表示样品中含有孔雀石绿,浓度高于 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 无效: 当 C 线不显色时,无论 T 线是否显色,均表示实验结果无效。
D	3	A 2 mL B 0.15 mL C 1 瓶 D 1 瓶	氧化剂 0.05 mL	50 ~ 60 °C 氮 吹至干	复溶液 0.4 mL	阴性(-): T 线显色或与 C 线显色无明显差异, 表示样品中不含孔雀石绿或其浓度低于 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 阳性(+): T 线显色明显弱于 C 线或 T 线不显色, 表示样品中孔雀石绿浓度等于或高于 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 无效: 未出现 C 线,表明不正确的操作过程或试纸条已失效。
E	3	A 2 mL B 5 mL C 1 管	氧化剂 0.02 mL	65 °C 氮 吹至干	复溶液 0.3 mL	阴性(-): C 线显红色, T 线比 C 线显色深或一样深(检出限 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$); 阳性(+): C 线显红色, T 线比 C 线显色浅或不显色(检出限 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$); 无效: C 不显色,则无论 T 是否显色,均表示实验结果无效。

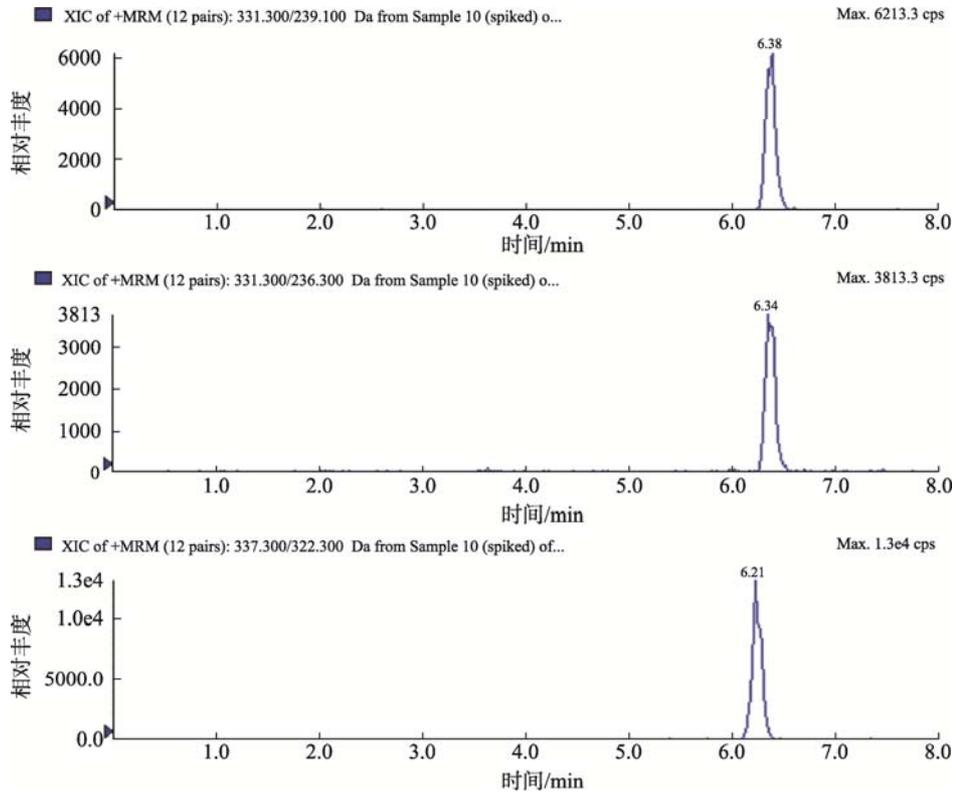


图 1 隐性孔雀石绿与氘代隐性孔雀石绿的 MRM 图

Fig.1 MRM of LMG and deuterium-LMG

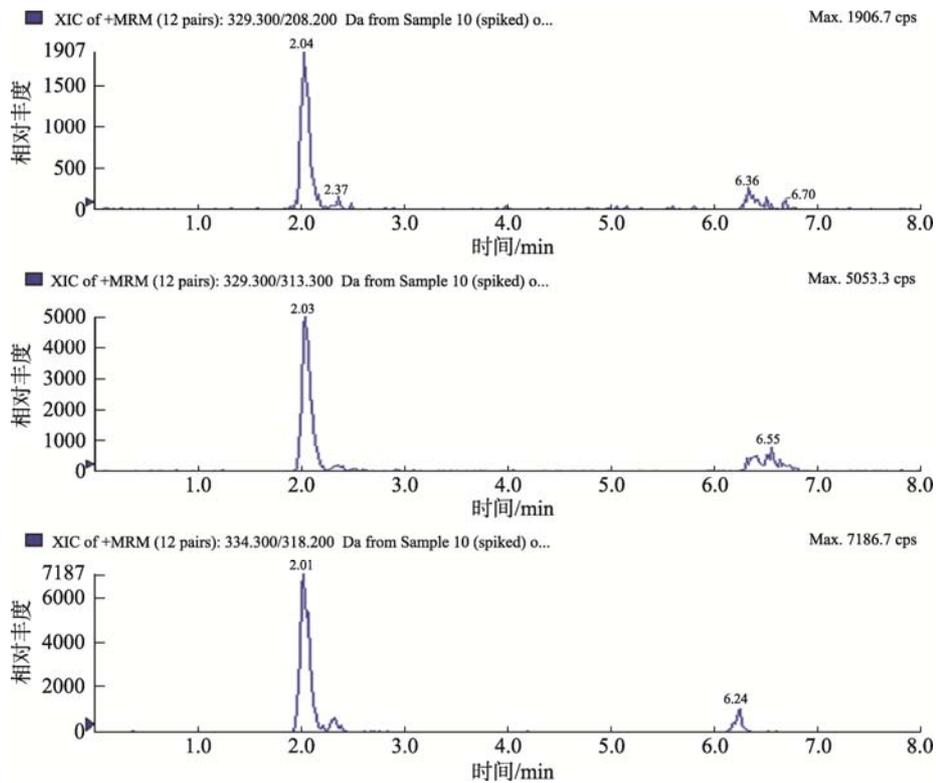


图 2 孔雀石绿与氘代孔雀石绿的 MRM 图

Fig.2 MRM of MG and deuterium-MG

3.3 评价结果

3.3.1 人员对实验结果的影响

所有参与本次评价实验的操作人员均为具有快速检测相关知识的, 经过快速检测技术相关培训的, 考核合格, 持有上岗证的操作熟练人员。对实验人员读卡结果准确性判断作如下操作, 在本次孔雀石绿快速检测预实验中实验人员选取 2.2.2(2)与 2.2.2(3)制备所得的阴性样品与阳性样品按快速检测试剂盒说明书步骤进行实验, 滴卡后读卡时采用人员肉眼读卡与读卡机读卡 2 种读卡方式进行比较, 比较结果显示人员读卡判断结果与读卡机读卡结果一致, 本次评价实验可采用实验人员肉眼读卡方式读卡判断结果, 结果见表 2。

3.3.2 灵敏度

实验参照 SN/T 2775-2011《商品化食品检测试剂盒评价方法》要求进行 3 个批次试剂盒检测, 每个批次选取 20 个阴性样品与 20 个阳性样品进行结果统计, 检测结果见表 3。A、B、C、D 与 E 公司的样品称取量均为 3 g, 方法

检出限均为 2 μg/kg, 表中测样实际状态是指实验选取的样品真实状态, 即选取 2.2.2 中 2.2.2(2)与 2.2.2(3)制备的阳性样品或阴性样品。评价结果统计分析参照 SN/T 2775-2011《商品化食品检测试剂盒评价方法》中的计算公式进行, 食品药品监督管理局食药监办科【2017】-43 号《食品快速检测方法评价技术规范》^[17]及水产品中孔雀石绿的快速检测胶体金免疫层析法(KJ201701)^[16]中对孔雀石绿快速检测试剂盒性能指标的灵敏度要求为 ≥99%。从表 4 中可见, 5 个品牌的快速检测试剂盒灵敏度测试隐性孔雀石绿结果有 A、D 与 E 满足灵敏度 ≥99% 的要求, 而孔雀石绿结果仅 D 与 E 是满足灵敏度 ≥99% 的要求, 结果统计见表 4。

3.3.3 特异性

对孔雀石绿快速检测试剂盒特异性分析, 从表 4 中可见, 5 个品牌的快速检测试剂盒特异性测试结果在 95% 以上, 满足食品药品监督管理局食药监办科【2017】-43 号与 KJ201701 规定特异性 ≥85% 的要求。

表 2 人员肉眼读卡判断结果与读卡机读卡结果比较
Table 2 Results of visual reading were compared with those of card reader

鱼肉阴性样品	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
人员肉眼结果	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
读卡机结果	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
鱼肉阳性样品	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性
人员肉眼结果	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性
读卡机结果	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性

表 3 5 个品牌试剂盒测试结果
Table 3 Detection results of the five brands test kits on spiked samples and negative samples

项目	品牌	检出限 (μg/kg)	测样实际状态	批次 1 检测结果		批次 2 检测结果		批次 3 检测结果		合计		
				阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性			
隐性孔雀石绿	A	2	阳性	a	20	b	0	a	20	b	0	60
			阴性	c	0	d	20	c	0	d	20	60
	B	2	阳性	a	11	b	9	a	15	b	5	60
			阴性	c	1	d	19	c	0	d	20	60
	C	2	阳性	a	15	b	5	a	17	b	3	60
			阴性	c	0	d	20	c	2	d	18	60
D	2	阳性	a	20	b	0	a	20	b	0	60	
		阴性	c	0	d	20	c	0	d	20	60	
E	2	阳性	a	20	b	0	a	20	b	0	60	
		阴性	c	1	d	19	c	0	d	20	60	

续表 3

项目	品牌	检出限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	测样实际状态	批次 1 检测结果		批次 2 检测结果		批次 3 检测结果		合计						
				阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性							
孔雀石绿	A	2	阳性	a	20	b	0	a	19	b	1	a	20	b	0	60
			阴性	c	0	d	20	c	0	d	20	c	0	d	20	60
	B	2	阳性	a	16	b	4	a	18	b	2	a	15	b	5	60
			阴性	c	0	d	20	c	1	d	19	c	0	d	20	60
	C	2	阳性	a	18	b	2	a	18	b	2	a	17	b	3	60
			阴性	c	1	d	19	c	0	d	20	c	1	d	19	60
	D	2	阳性	a	20	b	0	a	20	b	0	a	20	b	0	60
			阴性	c	0	d	20	c	0	d	20	c	0	d	20	60
	E	2	阳性	c	20	b	0	a	20	b	0	a	20	b	0	60
			阴性	a	0	b	20	a	1	b	19	a	0	b	20	60

表 4 5 个品牌试剂盒计算结果

Table 4 Calculation results of the five brands test kits

项目	品牌	灵敏度/%	特异性/%	假阴性率/%	假阳性率/%	卡方检验 χ^2
隐性孔雀石绿	A	100.0	100.0	0	0	0
	B	68.3	95.0	31.7	5.0	10.2
	C	83.3	93.3	16.7	6.7	1.8
	D	100.0	100.0	0	0	0
	E	100.0	98.3	0	1.7	0
孔雀石绿	A	98.3	100.0	1.7	0	0
	B	81.7	98.3	18.4	1.7	6.8
	C	88.3	96.7	11.7	3.3	1.8
	D	100.0	100.0	0	0	0
	E	100.0	98.3	0	1.7	0

3.3.4 假阴性率与假阳性率

食品药品监管总局食药监办科【2017】-43 号与 KJ201701 规定:孔雀石绿快速检测试剂盒假阴性率 $\leq 1\%$,假阳性率应 $\leq 15\%$ 。从本研究上表 4 可见,隐性孔雀石绿快速检测试剂盒假阴性率仅品牌 A、D 与 E 符合以上要求,假阳性率 5 个品牌均符合要求;而孔雀石绿快速检测试剂盒假阴性率仅品牌仅 D 与 E 符合以上要求,假阳性率 5 个品牌均符合要求。

3.3.5 与现有方法一致性分析

同样,参照 SN/T 2775-2011《商品化食品检测试剂盒评价方法》标准方法,可用卡方 χ^2 检验结果体现试剂盒检测方法加标回收率与现有标准方法之间是否存在统计学差异。从上表 4 可见,卡方检验结果中品牌 B 的 $\chi^2 \geq 3.84$,表示试剂盒检测结果与样品实际状态的阳性确证比率在 95%

的置信区间内有统计学差异,品牌 B 应对方法进行改进;而其它品牌的卡方检验结果 $\chi^2 < 3.84$,表示试剂盒检测结果与样品实际状态的阳性确证比率在 95%的置信区间内没有统计学差异,2 种方法确证比率可以接受。由于目前市售孔雀石绿快速检测试剂盒适用孔雀石绿与隐性孔雀石绿 2 种物质的检测,所以由表 4 结果可得仅品牌 D 与品牌 E 的灵敏度、特异性、假阴性率/假阳性率及与现有标准方法一致性满足指标规定要求。

3.3.6 胶体金与参照方法比对

选取 10 个经参比方法 GB/T 19857-2005 确证为阳性的水产品,采用品牌 D 与品牌 E 公司的孔雀石绿快速检测试剂盒进行比对检测,见表 5。分析检测结果显示,参照方法确证为阳性的样品,经品牌 D 与品牌 E 试剂盒检测也均为阳性结果,2 个方法比对结果一致,即品牌 D 与 E 符合方法要求。

表 5 胶体金与参照方法比对实验结果
Table 5 Results of colloidal gold was compared with reference method

水产品种	桂鱼 1	桂鱼 2	草鱼 1	草鱼 2	鲈鱼	鲫鱼	鳊鱼	福寿鱼	虾	龙虾
参照方法 测值/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	MG2.2	MG3.5	MG3.9	MG9.1	MG20.6	LMG3.8	LMG11.4	LMG8.4	LMG9.7	LMG2.5
D 测定结果	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性
E 测定结果	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性

3.4 评价策略

孔雀石绿是水产中有毒有害物质重点监测项目, 在孔雀石绿快速检测中其试剂盒的质量在实验中是关键影响因素之一。经过以上实验和分析, 可以看出市售孔雀石绿快速检测试剂盒的质量参差不齐; 但要对市场厂家众多的该类试剂盒都进行完全评价筛选出合格的试剂盒是不现实的。因此, 基于上述评价实验数据, 提出合理、有效、快速的孔雀石绿试剂盒评价策略是非常必要的。

现就孔雀石绿试剂盒进行评价提出以下筛选策略, 具体评价策略示意图见图 3。一、试剂盒说明书的合规性审查。检查待评价试剂盒说明书对检测低限、检测步骤、检测时间、方法的难易程度、简便性、对前处理设备的要求等进行审查, 不符合快检试剂盒要求的不进入下一轮评价实验。二、评价试剂盒批次的确定。按 SN/T 2775-2011 标准方法“5.2.2.1 基本要求: 采用至少 3 个不同批次的试剂盒, 每一批次的试剂盒分别对 20 份阴性控制样品, 20 份加标样品进行检测。”, 完成一种试剂盒的评价至少需要 120 片卡, 评价实验过程耗时过长, 工作量大, 难以应对目前现场抽查的迫切需求; 而且试剂盒属于一次性使用的消耗品, 价格也较贵, 每次评价耗费全批次的数量成本也让生产商负担过多。建议在评价检测时, 若当前进行批次的技术指标结果不符合评价要求时, 则评价实验可以终止不再进行更多批次的检测, 给予不符合标准的结论; 三、送检评价样品来源问题。目前进行试剂盒评价样品都是供应商按要求送检, 这种结果导致市场监管机构评价合格的试剂盒在市场使用时又出现各种质量问题。因此, 建议由市场监管机构相关部门去供应商或市场上随机按 3 批次抽样作为评价的样品。四、调整评价时间。试剂盒质量评价实施不应仅是试剂盒投放市场前进行, 建议在快速检测试剂盒投放市场后进行使用中不定期的抽检评价, 即由市场监管部门相关机构从试剂盒使用市场抽取一定批次与数量的试剂盒进行技术性评价, 进一步为试剂盒的质量进行把关。通过以上评价策略的调整, 可以节省时间、降低成本, 快速筛选出合格的快检试剂盒品牌。

4 结 论

从上述评价结果来看, 从市场购进的 5 种品牌只有 2

个品牌孔雀石绿试剂盒是符合标准要求的, 可以用于市场孔雀石绿的快速检测。当前, 市售快检试剂盒质量是领域内共同关注问题, 利益的驱使, 处罚力度较弱则是造成试剂盒参差不齐的主要原因。本文从 5 种孔雀石绿试剂盒评价的基础上, 提出了一种快速评价筛选策略, 这种评价策略的形成与实施有利于使用者、采购商及生产商在最短时间内对孔雀石绿快检试剂盒产品质量进行掌控, 保障使用者快速筛选出合格的试剂盒品牌; 对生产厂家而言, 可以节约生产成本, 缩短改进周期, 增强自身企业的市场竞争力。同时, 评价策略的形成与实施也节约了市场监管部门进行试剂盒评价的时间、人力与物力, 有利于推进市场进行该项目快速检测试剂盒的选择时效。

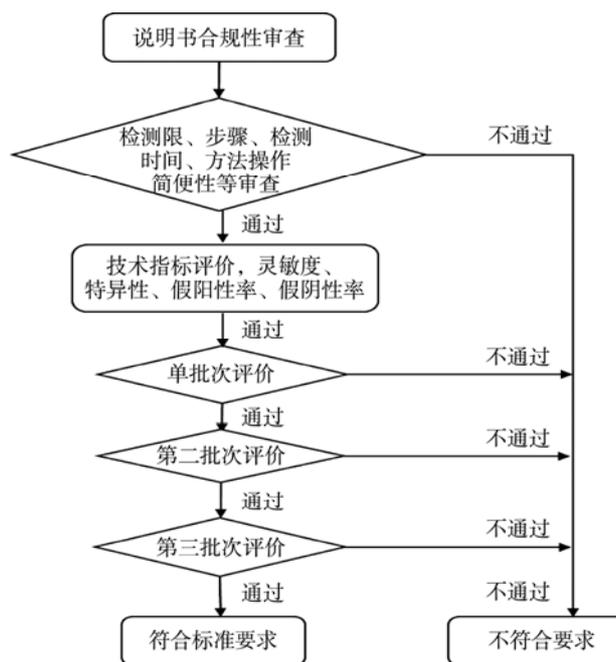


图 3 试剂盒评价策略示意图

Fig.3 Schematic diagram of kit evaluation strategy

参考文献

[1] Culp SJ, Blankenship LR, Kusewitt DF, et al. Toxicity and metabolism of malachite green and leuco malachite green during short-term feeding to F344 rats and B6C3F1 mice [J]. Chem-Biol Int, 1999, 122(3): 153-170.
[2] Fernandes C, Lalitha VS, Rao KVK. Enhancing effects of malachite green

- on the development of hepatic pre-neoplastic lesions induced by N-nitrosodiethylamine in rats [J]. *Carcinogenesis*, 1991, 12(5): 839–845.
- [3] 张艺蓓, 岳田利, 乔海鸥, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测鱼中孔雀石绿、结晶紫及其代谢物[J]. *食品科学*, 2014, 35(10): 179–184.
Zhang YB, Yue TL, Qiao HO, *et al.* Determination of malachite green, crystal violet and their metabolites in fishes by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2014, 35(10): 179–184.
- [4] 农业部. 农业部 193 号公告: 食品动物禁用的兽药及其它化合物清单 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
Ministry of Agriculture. Announcement No. 193 of Ministry of Agriculture: list of banned veterinary drugs and other compounds for food animals [S]. Beijing: China Standards Press, 2002.
- [5] 曾玉梅, 卢嘉明, 董欣. 广州市水产品鱼类中孔雀石绿及结晶紫残留状况分析[J]. *中国食品卫生杂志*, 2015, 27(1): 79–81.
Zeng YM, Lu JM, Dong X. Analysis of malachite green and crystal violet residues in fishes in Guangzhou city [J]. *Chin J Food Hygi*, 2015, 27(1): 79–81.
- [6] Chen G, Miao S. HPLC determination and MS confirmation of malachite green, gentian violet, and their leuco metabolite residues in channel catfish muscle [J]. *J Agr Food Chem*, 2010, 58: 7109–7114.
- [7] 邓建朝, 李来好, 杨贤庆, 等. 固相萃取-高效液相色谱-荧光检测法测定水体中的孔雀石绿[J]. *食品科学*, 2012, 33(14): 150–153.
Deng JC, Li LH, Yang XQ, *et al.* Determination of malachite green in water using solid phase extraction-high performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *Food Sci*, 2012, 33(14): 150–153.
- [8] Lian ZR, Wang JT. Molecularly imprinted polymer for selective extraction of malachite green from seawater and seafood coupled with high-performance liquid chromatographic determination mar pollut [J]. *Mar Pollut Bull*, 2012, 64: 2656–2662.
- [9] 蔡亚岐, 牟世芬. 分子印迹固相萃取及其应用[J]. *分析测试学报*, 2005, 24(5): 116–121.
Cai YQ, Mou SF. Advances in molecularly imprinted solid phase extraction [J]. *J Instrum Anal*, 2005, 24(5): 116–121.
- [10] 王伟, 石志红, 康健, 等. 改进的 QuEChERS 结合 LC-MS/MS 同时测定蜂蜜中的 60 中兽药残留[J]. *分析实验室*, 2013, 32(4): 82–88.
Wang W, Shi ZH, Kang J, *et al.* Simultaneous determination of 60 multi-residues of veterinary drugs in honey by modified QuEChERS and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Lab*, 2013, 32: 82–88.
- [11] 汤桦, 陈大舟, 张庆合, 等. 同位素稀释质谱法测定三文鱼中的孔雀石绿[J]. *化学通报*, 2008, 6: 408–414.
Tang H, Chen DZ, Zhang QH, *et al.* Confirmatory analysis of malachite by isotope dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chemistry*, 2008, 6: 408–414.
- [12] 王辉. 食品快速检测技术的应用概况[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(11): 2767–2774.
Wang H. Application of food rapid detection technology [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(11): 2767–2774.
- [13] 罗俊霞, 范知, 贾冬, 等. 几个品牌的黄曲霉素胶体金快速检测卡的质量评价[J]. *上海农业科*, 2017, (2): 19–20.
Luo JX, Fan Z, Jia D, *et al.* Quality evaluation of several brands of aflatoxin colloidal gold rapid test card [J]. *Shanghai Agric Sci Technol*, 2017, (2): 19–20.
- [14] 刘欢, 郭萌萌, 李晋成, 等. 免疫胶体金快速检测水产品中孔雀石绿残留的质量分析和评价[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(5): 1675–1682.
Liu H, Guo MM, Li JC, *et al.* Evaluation of qualities of colloidal gold rapid detection kits for malachitegreen in seafood [J]. *J Food Saf Qual*, 2015, 6(5): 1675–1682.
- [15] SN/T 2775-2011 商品化食品检测试剂盒评价方法[S].
SNT 2775-2011 Methods for the evaluation of commercial test kits for testing purpose [S].
- [16] KJ 201701 水产品中孔雀石绿的快速检测胶体金免疫层析法[S].
KJ 201701 Rapid detection of malachite green in aquatic products by colloidal gold immunochromatography [S].
- [17] 食品药品监管总局食药监办科【2017】-43 号 食品快速检测方法评价技术规范[Z].
Food and drug administration office of food and drug administration [2017]-No. 43 technical specification for evaluation of rapid detection methods of food [Z].
- [18] GB/T 19857-2005 水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定[S].
GB/T 19857-2005 Determination of malachite green and crystal violet residues in aquatic product [S].

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介



李菊, 研究生, 工程师, 主要研究方向为食品安全质量检测。

E-mail: 13790685326@163.com



谢建军, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品质量安全。

E-mail: jianjunxj@126.com