

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 13159:2020

BS EN 15842:2019

Xuất bản lần 1

**THỰC PHẨM –
PHÁT HIỆN CÁC CHẤT GÂY DỊ ỨNG TRONG THỰC PHẨM –
YÊU CẦU CHUNG VÀ XÁC NHẬN GIÁ TRỊ SỬ DỤNG
CỦA PHƯƠNG PHÁP**

*Foodstuffs – Detection of food allergens –
General considerations and validation of methods*

HÀ NỘI – 2020

Lời nói đầu

TCVN 13159:2020 hoàn toàn tương đương với BS EN 15842:2019;

TCVN 13159:2020 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F13
Phương pháp phân tích và lấy mẫu biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn
Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Lời giới thiệu

Tiêu chuẩn này tập trung vào phương pháp miễn dịch, phương pháp sắc ký và phương pháp dựa trên axit nucleic để xác định chất gây dị ứng trong thực phẩm. Tuy nhiên, vì sự phát triển nhanh trong lĩnh vực này, có thể xem xét đến các công nghệ khác.

Việc phân tích các chất gây dị ứng trong thực phẩm được thực hiện bằng các bước liên tiếp (hoặc đồng thời) sau đây. Sau khi thu thập mẫu, tách chiết phần mẫu thử để thu được protein, axit nucleic hoặc các marker khác. Các chất phân tích được chiết có thể được tinh sạch thêm, đồng thời hoặc sau quá trình chiết. Sau đó, pha loãng (nếu cần) và tuân theo các quy trình phân tích như phép thử miễn dịch (ví dụ: ELISA), phép thử dựa trên axit nucleic (ví dụ: PCR) hoặc sắc ký (ví dụ: LC-MS).

Các bước nêu trên được trình bày chi tiết trong tiêu chuẩn này và trong các tiêu chuẩn sau:

TCVN 13157-1 (BS EN 15633-1), *Thực phẩm – Phát hiện chất gây dị ứng trong thực phẩm bằng phương pháp miễn dịch – Phần 1: Yêu cầu chung*;

TCVN 13158-1 (BS EN 15634-1), *Thực phẩm – Phát hiện các chất gây dị ứng trong thực phẩm bằng phương pháp sinh học phân tử – Phần 1: Yêu cầu chung*.

Thực phẩm – Phát hiện các chất gây dị ứng trong thực phẩm – Yêu cầu chung và xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp

Foodstuffs – Detection of food allergens – General considerations and validation of methods

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định cách sử dụng các chất chuẩn đối với phương pháp miễn dịch, phương pháp dựa trên nucleic, phương pháp sắc ký và mối liên quan giữa các phương pháp này trong việc phân tích các chất gây dị ứng trong thực phẩm; và bao gồm các định nghĩa, yêu cầu và hướng dẫn chung cho việc thiết lập phòng thử nghiệm, yêu cầu xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp (thẩm định phương pháp), mô tả phương pháp và báo cáo thử nghiệm.

Tiêu chuẩn này cũng quy định các hướng dẫn chung về các yêu cầu và việc sử dụng các mẫu chuẩn để xác định chất gây dị ứng trong sản phẩm thực phẩm. Thuật ngữ "mẫu chuẩn" trong tiêu chuẩn này bao gồm cả các mẫu chuẩn đã được chứng nhận cũng như các mẫu kiểm soát chất lượng. Hiện tại chỉ có ít mẫu chuẩn để xác định chất gây dị ứng trong thực phẩm. Các mẫu mới khi được chấp nhận và xác nhận giá trị sử dụng sẽ được bổ sung vào phụ lục của tiêu chuẩn này.

Tiêu chuẩn này không đề cập đến vấn đề lấy mẫu. Tiêu chuẩn này chỉ đưa ra chi tiết các quá trình liên quan từ khi phòng thử nghiệm nhận mẫu đến kết quả cuối cùng.

2 Tài liệu viện dẫn

Không có tài liệu viện dẫn trong tiêu chuẩn này.

3 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này, áp dụng các thuật ngữ và định nghĩa sau đây:

TCVN 13159:2020

3.1 Đặc tính hiệu năng của phương pháp

3.1.1

Phù hợp với mục đích (fitness for purpose)

Mức độ mà dữ liệu được tạo ra bởi một quá trình đo cho phép người sử dụng đưa ra các quyết định đúng cho một mục đích đã định

CHÚ THÍCH 1 Quá trình đo có thể dựa trên phương pháp sàng lọc, phương pháp khẳng định hoặc phương pháp chuẩn.

CHÚ THÍCH 2 Để biết thêm thông tin, xem Tài liệu tham khảo [10].

3.1.2

Phương pháp sàng lọc (screening method)

Phương pháp loại bỏ (sàng lọc) nhanh và đáng tin cậy một số lớn các mẫu thử âm tính (hoặc dương tính) và hạn chế số mẫu thử nghiệm yêu cầu áp dụng một phương pháp chính xác

CHÚ THÍCH Xem Tài liệu tham khảo [11].

3.1.3

Tính khả thi (practicability)

Sự dễ dàng của các thao tác, về lượng mẫu đưa vào và chi phí phân tích để đạt được tiêu chí thực hiện theo yêu cầu và đạt được mục đích quy định

[NGUỒN: TCVN 7608:2007 (ISO 24276:2007)+Amd: 2013, 3.1.22]

3.1.4

Tính chọn lọc (selectivity)

Mức độ mà một phương pháp có thể xác định (các) chất phân tích cụ thể trong hỗn hợp hoặc nền mẫu mà không bị nhiễu bởi các thành phần khác

CHÚ THÍCH Xem Tài liệu tham khảo [12].

3.1.5

Độ nhạy (sensitivity)

Thay đổi của đáp ứng chia cho thay đổi tương ứng về nồng độ của đường chuẩn

CHÚ THÍCH Xem Tài liệu tham khảo [12].

3.1.6

Độ đặc hiệu (specificity)

Thuộc tính của phương pháp chỉ đáp ứng với đặc tính hoặc chất phân tích được nghiên cứu

CHÚ THÍCH Xem Tài liệu tham khảo [12].

3.1.7**Độ tuyến tính (linearity)**

Khả năng thu được các kết quả thử nghiệm trực tiếp hoặc bằng các phép biến đổi toán học được xác định rõ ràng, tỷ lệ với nồng độ chất phân tích của các mẫu trong một dải nhất định

CHÚ THÍCH Để biết thêm thông tin, xem Tài liệu tham khảo [12].

3.1.8**Khoảng áp dụng (applicability range)**

Khoảng các giá trị đại lượng trong đó quy trình phân tích đã được chứng minh bằng thử nghiệm cộng tác hoặc phương pháp xác nhận giá trị sử dụng thích hợp khác để có mức thích hợp về độ chụm và độ chính xác

3.1.9**Giới hạn phát hiện (limit of detection)****LOD**

Lượng hoặc nồng độ tối thiểu của chất phân tích trong mẫu thử có thể phát hiện được nhưng không nhất thiết định lượng được, như đã được chứng minh bằng thử nghiệm cộng tác hoặc phương pháp xác nhận giá trị sử dụng thích hợp khác

3.1.10**Giới hạn định lượng (limit of quantitation)**

Giới hạn xác định (limit of determination)

LOQ

Nồng độ hoặc lượng thấp nhất của chất phân tích trong mẫu thử có thể được xác định định lượng với mức chấp nhận được về độ chụm và độ chính xác, như đã được chứng minh bằng thử nghiệm cộng tác hoặc phương pháp xác nhận giá trị sử dụng phù hợp khác

CHÚ THÍCH Để biết thêm thông tin, xem Tài liệu tham khảo [13].

3.1.11**Độ chụm (precision)**

Mức độ gần nhau giữa các kết quả thử/đo độc lập thu được trong các điều kiện quy định

CHÚ THÍCH 1 Độ chụm chỉ phụ thuộc vào sự phân bố các sai số ngẫu nhiên và không liên quan đến giá trị thực hoặc giá trị được quy định.

CHÚ THÍCH 2 Phép đo độ chụm thường được biểu thị bằng độ không chụm (imprecision) và được tính theo độ lệch chuẩn của các kết quả thử hoặc kết quả đo. Độ chụm càng thấp thì độ lệch chuẩn càng lớn.

CHÚ THÍCH 3 Các phép đo định lượng độ chụm phụ thuộc chủ yếu vào các điều kiện quy định. Các điều kiện lặp lại và điều kiện tái lập là các tập hợp cụ thể của các điều kiện cực trị quy định.

[NGUỒN: TCVN 8244-2:2010 (ISO 3534-2:2006), 3.3.4]

TCVN 13159:2020

3.1.12 Các thuật ngữ liên quan đến độ lặp lại

3.1.12.1

Độ lặp lại (repeatability)

Độ chụm trong các điều kiện lặp lại

CHÚ THÍCH Độ lặp lại có thể được biểu thị định lượng bằng các đặc trưng phân tán của kết quả.

[NGUỒN: TCVN 8244-2:2010 (ISO 3534-2:2006), 3.3.5]

3.1.12.2

Điều kiện lặp lại (repeatability conditions)

Điều kiện quan trắc mà tại đó các kết quả thử/đo độc lập thu được sử dụng cùng một phương pháp trên các mẫu thử/đo giống hệt nhau, trong cùng một phòng thử nghiệm hoặc phòng đo, bởi cùng một người thực hiện, sử dụng cùng một thiết bị, trong khoảng thời gian ngắn

CHÚ THÍCH Điều kiện lặp lại bao gồm:

- cùng một quy trình đo hoặc thử;
- cùng một người thao tác;
- cùng một thiết bị đo/thử sử dụng trong cùng điều kiện;
- cùng một vị trí;
- lặp lại trong một khoảng thời gian ngắn.

[NGUỒN: TCVN 8244-2:2010 (ISO 3534-2: 2006), 3.3.6]

3.1.12.3

Giới hạn lặp lại (repeatability limit)

r

Độ chênh lệch lặp lại tới hạn đối với xác suất quy định là 95 %

[NGUỒN: TCVN 8244-2:2010 (ISO 3534-2:2006), 3.3.9]

3.1.12.4

Độ lệch chuẩn lặp lại (repeatability standard deviation)

Độ lệch chuẩn của các kết quả thử hoặc kết quả đo thu được trong các điều kiện lặp lại

CHÚ THÍCH 1 Đây là thước đo sự phân tán của phân bố các kết quả thử hoặc kết quả đo trong các điều kiện lặp lại.

CHÚ THÍCH 2 Tương tự, “phương sai lặp lại” và “hệ số biến thiên lặp lại” có thể được định nghĩa và sử dụng làm thước đo sự phân tán của các kết quả thử hoặc kết quả đo trong các điều kiện lặp lại.

[NGUỒN: TCVN 8244-2:2010 (ISO 3534-2:2006), 3.3.7]

3.1.13**Nghiên cứu cộng tác (collaborative study)**

Nghiên cứu liên phòng thử nghiệm trong đó mỗi phòng thử nghiệm sử dụng một phương pháp phân tích xác định để phân tích các phần giống hệt nhau của mẫu đồng nhất để đánh giá các đặc tính hiệu năng thu được đối với phương pháp phân tích.

CHÚ THÍCH Hướng dẫn thực hiện các thử nghiệm cộng tác được xây dựng trong TCVN 6910 (ISO 5725-1) [3] và trong quy trình hài hòa của IUPAC 1995 [14].

3.1.14 Các thuật ngữ liên quan đến độ tái lập**3.1.14.1****Độ tái lập (reproducibility)**

Độ chụm trong các điều kiện tái lập

CHÚ THÍCH 1 Độ tái lập có thể được biểu thị định lượng bằng đặc trưng phân tán của các kết quả.

CHÚ THÍCH 2 Kết quả thường được hiểu là kết quả đã hiệu chỉnh.

[NGUỒN: TCVN 8244-2:2010 (ISO 3534-2:2006), 3.3.10]

3.1.14.2**Điều kiện tái lập (reproducibility conditions)**

Điều kiện quan trắc tại đó các kết quả thử/đo độc lập thu được sử dụng cùng một phương pháp trên các mẫu thử/đo giống hệt nhau, trong các phòng thử hoặc phòng đo khác nhau, với những người thực hiện khác nhau, sử dụng các thiết bị khác nhau

[NGUỒN: TCVN 8244-2:2010 (ISO 3534-2:2006), 3.3.11]

3.1.14.3**Giới hạn tái lập (reproducibility limit)**

R

Độ chênh lệch tái lập tới hạn đối với xác suất quy định là 95 %

[NGUỒN: TCVN 8244-2:2010 (ISO 3534-2:2006), 3.3.14]

3.1.14.4**Độ lệch chuẩn tái lập (reproducibility standard deviation)**

Độ lệch chuẩn của kết quả thử hoặc kết quả đo thu được trong các điều kiện tái lập

CHÚ THÍCH 1 Đây là thước đo sự phân tán của phân bố các kết quả thử hoặc kết quả đo trong các điều kiện tái lập.

CHÚ THÍCH 2 Tương tự, "phương sai tái lập" và "hệ số biến thiên tái lập" có thể được định nghĩa và sử dụng làm thước đo sự phân tán của các kết quả thử hoặc kết quả đo trong các điều kiện tái lập.

[NGUỒN: TCVN 8244-2:2010 (ISO 3534-2:2006), 3.3.12]

TCVN 13159:2020

3.1.15

Độ thu hồi (recovery)

Tỷ lệ lượng chất phân tích, có trong hoặc được thêm vào phần được phân tích của vật liệu thử, là phần được chiết và xác định để dùng cho phép đo

CHÚ THÍCH 1 Xem Tài liệu tham khảo [15].

3.1.16

Liên kết chuẩn đo lường (metrological traceability)

Tính chất của kết quả đo, nhờ đó kết quả có thể liên hệ đến mốc quy chiếu thông qua một chuỗi không bị đứt đoạn các phép hiệu chuẩn đã được lập thành văn bản, mỗi phép hiệu chuẩn góp phần vào độ không đảm bảo đo

[NGUỒN: JCGM 200: 2012, 2.41, đã sửa đổi – bỏ các chú thích]

3.1.17

Độ đúng (trueness)

Mức độ gần nhau giữa kỳ vọng của kết quả thử hoặc kết quả đo với giá trị thực

CHÚ THÍCH 1 Phép đo độ đúng thường được biểu thị bằng độ chệch.

CHÚ THÍCH 2 Độ đúng đôi khi được gọi là "độ chính xác của giá trị trung bình". Cách dùng này không được khuyến nghị.

CHÚ THÍCH 3 Trong thực tế, giá trị thực được thay bằng giá trị quy chiếu được chấp nhận.

[NGUỒN: TCVN 8244-2:2010 (ISO 3534-2:2006), 3.3.3]

3.1.18

Độ chính xác (accuracy)

Mức độ gần nhau giữa kết quả thử hoặc kết quả đo với giá trị thực

CHÚ THÍCH 1 Trong thực tế, giá trị thực được thay bằng giá trị quy chiếu được chấp nhận.

CHÚ THÍCH 2 Khi dùng cho một tập hợp các kết quả thử hoặc kết quả đo, thuật ngữ "độ chính xác" liên quan đến tổ hợp các thành phần ngẫu nhiên và sai số hệ thống chung hoặc thành phần độ chệch.

CHÚ THÍCH 3 Độ chính xác đề cập đến tổ hợp giữa độ đúng và độ chụm.

[NGUỒN: TCVN 8244-2:2010 (ISO 3534-2:2006), 3.3.1]

3.1.19

Độ chệch (bias)

Mức độ sai khác giữa kỳ vọng của kết quả thử hoặc kết quả đo với giá trị thực

CHÚ THÍCH 1 Độ chệch là sai số hệ thống tổng số, khác với sai số ngẫu nhiên. Có thể có một hay nhiều thành phần sai số hệ thống góp phần vào độ chệch. Sự sai khác hệ thống so với giá trị thực càng lớn thì độ chệch càng lớn.

CHÚ THÍCH 2 Độ chệch của thiết bị đo thường được ước lượng bằng trung bình sai số của chỉ thị trong một số lượng thích hợp các phép đo lặp lại. Sai số của chỉ thị bằng: "chỉ thị của phương tiện đo trừ đi giá trị thực của đại lượng đầu ra tương ứng".

[NGUỒN: TCVN 8244-2:2010 (ISO 3534-2: 2006), 3.3.2, có sửa đổi – lược bỏ Chú thích 3]

3.1.20**Độ vững (robustness)****Độ chắc chắn (ruggedness)**

Phép đo khả năng của một quy trình phân tích không bị ảnh hưởng bởi các thay đổi nhỏ về các thông số của phương pháp và cung cấp một chỉ thị về độ tin cậy của phương pháp trong quá trình sử dụng bình thường

[NGUỒN: TCVN 11933:2017 (ISO 16577:2016), 3.184]

3.2 Các thuật ngữ liên quan đến mẫu và vật liệu**3.2.1****Nền mẫu (matrix)**

Các thành phần của mẫu ngoài chất phân tích quan tâm

CHÚ THÍCH 1 Mỗi nền mẫu thường có một tên chung để có thể phân loại.

3.2.2**Mẫu phòng thử nghiệm (laboratory sample)**

Mẫu được chuẩn bị để gửi tới phòng thử nghiệm cho mục đích kiểm tra hoặc thử nghiệm

[NGUỒN: TCVN 6900-2:2001 (ISO 78-2:1999), 3.1]

3.2.3**Mẫu thử (test sample)**

Mẫu được chuẩn bị từ mẫu phòng thử nghiệm và từ đó các phần mẫu thử được lấy ra

[NGUỒN: TCVN 6900-2:2001 (ISO 78-2:1999), 3.2]

3.2.4**Phần mẫu thử (test portion)**

Lượng vật liệu được lấy ra từ mẫu thử (hoặc từ mẫu phòng thử nghiệm nếu cả hai giống hệt nhau), phép thử hoặc quan sát đánh giá được tiến hành trên chính phần mẫu này

[NGUỒN: TCVN 6900-2:2001 (ISO 78-2:1999), 3.3]

3.2.5**Tính đồng nhất (homogeneity)**

Sự đồng đều của một giá trị tính chất quy định trong toàn bộ phần xác định của vật liệu

CHÚ THÍCH 1 Mẫu chuẩn được cho là đồng nhất đối với một tính chất cụ thể nếu giá trị của tính chất trên toàn bộ vật liệu nằm trong giới hạn quy định, thường là độ không đảm bảo đo mở rộng của giá trị được chứng nhận. Phép thử tính đồng nhất được mô tả trong TCVN 8245 (ISO Guide 35).

CHÚ THÍCH 2 'Phần xác định' có thể là mẻ RM hoặc một đơn vị riêng lẻ trong mẻ.

CHÚ THÍCH 3 Xem thêm Guide 35: 2017 và Bản tóm tắt của IUPAC về thuật ngữ phân tích.

[NGUỒN: TCVN 8890:2017 (ISO Guide 30: 2015), 2.1.12, có sửa đổi – Bổ sung Chú thích 1 mô tả về RM]

TCVN 13159:2020

3.2.6

Độ ổn định (stability)

Đặc trưng của mẫu chuẩn duy trì một giá trị tính chất quy định trong phạm vi giới hạn quy định trong một khoảng thời gian quy định, khi được bảo quản ở điều kiện xác định

[NGUỒN: TCVN 8890:2017 (ISO Guide 30: 2015), 2.1.15, có sửa đổi – bỏ Chú thích]

3.2.7

Mẫu chuẩn (reference material)

RM

Vật liệu, đủ đồng nhất và ổn định đối với một hay nhiều tính chất quy định, được thiết lập phù hợp với mục đích sử dụng dự kiến trong quá trình đo.

[NGUỒN: TCVN 8890:2017 (ISO Guide 30: 2015), 2.1.1, có sửa đổi – bỏ các Chú thích]

3.2.8

Mô tả đặc trưng (characterization)

<của mẫu chuẩn> Việc xác định các giá trị tính chất hoặc thuộc tính của mẫu chuẩn, như là một phần của quá trình sản xuất.

CHÚ THÍCH 1 Xem thêm Bản tóm tắt của IUPAC về thuật ngữ phân tích.

[NGUỒN: TCVN 8890:2017 (ISO Guide 30: 2015), 2.1.10]

3.2.9

Mẫu chuẩn được chứng nhận (certified reference material)

CRM

Mẫu chuẩn đặc trưng bằng quy trình có hiệu lực đo lường đối với một hoặc nhiều tính chất quy định, cùng với giấy chứng nhận RM cung cấp giá trị của tính chất quy định, độ không đảm bảo kèm theo và công bố về liên kết chuẩn đo lường

CHÚ THÍCH 1 Khái niệm giá trị bao gồm tính chất danh nghĩa hoặc thuộc tính định tính như nhận dạng hoặc trình tự. Độ không đảm bảo đo đối với các thuộc tính như vậy có thể được biểu thị bằng xác suất hoặc mức tin cậy.

CHÚ THÍCH 2 Quy trình có hiệu lực đo lường đối với việc sản xuất và chứng nhận mẫu chuẩn được nêu trong TCVN 8245 (ISO Guide 35).

CHÚ THÍCH 3 TCVN 7962 (ISO Guide 31) đưa ra hướng dẫn về nội dung của giấy chứng nhận RM.

CHÚ THÍCH 4 TCVN 6165:2009 (ISO/IEC Guide 99:2007) có định nghĩa tương tự.

[NGUỒN: TCVN 8890:2017 (ISO Guide 30:2015), 2.1.2, có sửa đổi – tham khảo TCVN 7366 (Guide 34) đã bỏ Chú thích 2]

3.2.10**Giá trị được chứng nhận (certified value)**

Giá trị, ấn định cho tính chất của mẫu chuẩn (RM) đi kèm với công bố về độ không đảm bảo và công bố về liên kết chuẩn đo lường, được xác định như trong giấy chứng nhận RM

[NGUỒN: TCVN 8890:2017 (ISO Guide 30:2015), 2.2.3]

3.2.11**Độ không đảm bảo đo của một giá trị được chứng nhận (uncertainty of a certified value)**

Ước tính gắn liền với giá trị được chứng nhận của một lượng đặc trưng cho dải giá trị mà trong đó "giá trị thực" được khẳng định trong đó với mức độ tin cậy đã nêu

3.2.12**Tính chuyển đổi của mẫu chuẩn (commutability of a reference material)**

Tính chất của mẫu chuẩn, được thể hiện bằng mức độ gần nhau của mỗi quan hệ giữa các kết quả đo đối với một đại lượng đã nêu trong mẫu này, thu được theo hai quy trình đo đã biết và mỗi quan hệ thu được giữa các kết quả đo đối với các mẫu quy định khác

[NGUỒN: JCGM 200:2012, 5.15, có sửa đổi – lược bỏ Chú thích]

3.2.13**Giá trị biểu thị (indicative value)**

Giá trị tham khảo (informative value)

Giá trị của đại lượng, có trong giấy chứng nhận của CRM hoặc được cung cấp bằng cách khác, chỉ để cung cấp thông tin mà không được chứng nhận bởi nhà sản xuất hoặc tổ chức chứng nhận

3.2.14**Giá trị đồng thuận (consensus value)**

<của đại lượng đã cho> Đối với mẫu chuẩn, giá trị của đại lượng thu được bằng thử nghiệm liên phòng hoặc bằng thỏa thuận giữa các tổ chức hoặc chuyên gia thích hợp

3.2.15**Giá trị chuẩn (reference value)**

Giá trị dùng làm chuẩn dựa trên thỏa thuận để so sánh.

3.3**Bộ kit thử (test kit)**

Phép thử (test assay)

Tập hợp các thành phần và hướng dẫn sử dụng, được đóng gói cùng nhau và dùng để đo trong ống nghiệm hoặc để phát hiện chất phân tích cụ thể bao gồm cả việc chuẩn bị mẫu.

4 Các khía cạnh chung đối với các phương pháp và mẫu chuẩn trong phân tích chất gây dị ứng trong thực phẩm

4.1 Yêu cầu chung

Khó khăn lớn đối với phân tích chất gây dị ứng là đạt được kết quả đo có thể so sánh được giữa các phương pháp đo và các phòng thử nghiệm khác nhau. Yêu cầu quan trọng để đảm bảo khả năng so sánh là liên kết chuẩn đo lường của tất cả các kết quả đo theo chuẩn chung, đóng vai trò là điểm cốt yếu hoặc điểm chuẩn để mở rộng dữ liệu.

Để thiết lập liên kết chuẩn đo lường, cần có thỏa thuận về định nghĩa của đại lượng đo, nghĩa là về đại lượng dùng để đo (JCGM 200 [16]). Để hỗ trợ đánh giá và quản lý rủi ro hiện có thì đại lượng để báo cáo hàm lượng chất gây dị ứng trong thực phẩm phải là khối lượng (mg) của tổng số protein thành phần gây dị ứng trên khối lượng (kg) thực phẩm. Do đó, hệ đơn vị quốc tế (SI), cụ thể là kilôgam, được sử dụng như một thành phần của chuẩn cuối cùng cho các kết quả đo về chất gây dị ứng. Tuy nhiên, chuẩn chung như được định nghĩa ở trên chỉ có thể được thực hiện đối với từng chất gây dị ứng thông qua hệ thống đo lường chuẩn, bao gồm các phương pháp chuẩn và mẫu chuẩn. Theo khái niệm đó, phương pháp chuẩn hình thành cấp độ đo lường cao nhất của liên kết chuẩn đo lường. Cần mô tả kỹ và cụ thể để đảm bảo thu được các kết quả tin cậy nằm trong phạm vi độ không đảm bảo đo quy định theo thời gian và không gian.

Phương pháp chuẩn được áp dụng trong phân tích chất gây dị ứng để mô tả đặc trưng của mẫu chuẩn dự kiến, nhằm mục đích sử dụng làm chất hiệu chuẩn chính và để thiết lập hệ số chuyển đổi cho phép chuyển đổi các kết quả thu được bằng các phương pháp khác nhau sang thang đo đại lượng chung.

Việc kiểm tra sự có mặt và lượng chất gây dị ứng trong thực phẩm có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các phương pháp sàng lọc. Theo quyết định của phòng thử nghiệm hoặc theo yêu cầu của khách hàng, kết quả đo từ các phương pháp sàng lọc đó có thể được kiểm tra bằng cách sử dụng các phương pháp khẳng định. Trước khi áp dụng, phương pháp khẳng định cần được xác nhận giá trị sử dụng theo các tiêu chuẩn như TCVN ISO IEC 17025 (ISO IEC 17025).

Vì đại lượng đo được xác định ở trên không thể thu được trực tiếp bằng bất kỳ phương pháp đo nào hiện có, nên toàn bộ quá trình đo từ mẫu phòng thử nghiệm đến kết quả cuối cùng phải được thiết kế thích hợp để có thể biểu thị kết quả đo một cách thống nhất.

4.2 Mẫu chuẩn

Các mẫu chuẩn được mô tả sau đây chủ yếu nhằm mục đích hiệu chuẩn và xác nhận giá trị sử dụng các phương pháp phân tích để xác định thực phẩm gây dị ứng và không nhất thiết để xác định một chất gây dị ứng cụ thể. Một chuỗi liên kết chuẩn đo lường cần được thiết lập để ấn định các giá trị được chứng nhận cho các mẫu nền. Chuỗi liên kết chuẩn đo lường này phải bao gồm các chuẩn đầu

đặc trưng, được ấn định hoặc thừa nhận rộng rãi là có chất lượng đo cao nhất. Các chất chuẩn có cấp đo lường thấp hơn (chuẩn thứ, mẫu nền) phải liên kết được với chuẩn đầu, nhưng cần được chuyển đổi về các mẫu cần phân tích (liên quan đến nồng độ dự kiến của chất phân tích, nền mẫu và lịch sử xử lý, v.v...). Việc hiệu chuẩn và xác nhận giá trị sử dụng các phương pháp thử nghiệm thông dụng cần sử dụng mẫu chuẩn nền (chuẩn thứ) chứa chất phân tích (thực phẩm gây dị ứng) ở trạng thái hóa học tương tự và trong chất nền tương tự như mẫu thử. IUPAC đã đề xuất các quy trình xây dựng mẫu chuẩn nội bộ [17].

Nói chung, cần đảm bảo và công bố về tính đồng nhất và ổn định của mọi mẫu chuẩn.

Nên cung cấp càng nhiều thông tin về nguồn gốc và đặc điểm của mẫu chuẩn càng tốt (ví dụ: lịch sử chế biến, giống, nguồn gốc địa lý, quy trình chuẩn bị, v.v...).

CHÚ THÍCH Thường sử dụng cùng một loại mẫu để kiểm soát nhất quán phương pháp và năng lực của phòng thử nghiệm trong trường hợp thiếu các mẫu chuẩn được chấp nhận.

4.3 Phương pháp chuẩn

Phương pháp chuẩn để xác định thực phẩm gây dị ứng phải độc lập với mọi ảnh hưởng công nghệ và hiệu ứng nền, để đo một cách đáng tin cậy một hoặc nhiều giá trị tính chất đặc trưng của chất gây dị ứng liên quan. Độ chính xác và độ chụm của phương pháp chuẩn phải tương xứng với mục đích sử dụng và cho phép mô tả đặc tính của mẫu chuẩn.

Các mẫu chuẩn có thể được sử dụng để hiệu chuẩn các dụng cụ, để xác định độ đúng/độ chệch của phương pháp (xác nhận giá trị sử dụng phương pháp) và để ấn định các giá trị cho mẫu thử. Trong trường hợp sai lệch, việc kiểm tra kết quả thu được từ CRM bằng cách sử dụng một phương pháp phân tích nhất định có thể được so sánh với giá trị thuộc tính đã được chứng nhận. Nếu sự chênh lệch tuyệt đối của hai bộ giá trị (giá trị thu được và giá trị chứng nhận) vượt quá độ không đảm bảo đo mở rộng của sự chênh lệch này thì phương pháp phân tích được coi là sai lệch (có một hoặc nhiều sai số hệ thống).

5 Hướng dẫn người dùng lựa chọn phương pháp

5.1 Yêu cầu chung

Độ đặc hiệu của các chất gây dị ứng trong thực phẩm cụ thể và phương pháp phát hiện có thể khác nhau đáng kể. Do đó, phải đảm bảo rằng phương pháp được chọn đối với độ đặc hiệu mong muốn. Hướng dẫn sau đây có thể hữu ích.

CHÚ THÍCH 1 Hầu hết các phương pháp ELISA đo protein hoặc một phần của các protein đặc hiệu với thành phần gây dị ứng. Tuy nhiên, không phải tất cả các phần gây dị ứng của hợp chất gây dị ứng đều được phát hiện bằng bất kỳ thử nghiệm đơn lẻ nào. Không có công bố về sự có mặt của các phần gây dị ứng khác không phải là mục tiêu của thử nghiệm. Nếu các

TCVN 13159:2020

lượng nhỏ của một chất gây dị ứng cụ thể được phát hiện bằng phương pháp khối phổ thì không phải lúc nào cũng có thể phát hiện các chất gây dị ứng có liên quan khác. Những khả năng này có thể liên quan đến việc giải thích các kết quả thu được trên các sản phẩm thực phẩm hỗn hợp có chứa các phần protein được phân lập có nguồn gốc từ các sản phẩm gây dị ứng, đặc biệt là trong trường hợp tín hiệu âm tính.

Các phương pháp sinh học phân tử phát hiện ADN cho thấy sự có mặt của một loại thực phẩm gây dị ứng. Tùy thuộc vào mức độ chế biến, kết quả thử nghiệm dương tính của phương pháp sinh học phân tử liên quan đến sự có mặt của nhóm chất có khả năng gây dị ứng, ở đây là protein. Khi các phần thực phẩm đã tinh sạch được sử dụng trong sản phẩm thực phẩm hỗn hợp (ví dụ: dầu hoặc tinh bột đã qua chế biến), có khả năng kết quả dựa trên ADN sẽ không trùng với sự có mặt thực tế của các chất gây dị ứng dựa trên protein.

5.2 Các phương pháp dựa trên thử nghiệm miễn dịch

Protein có thể được phát hiện bằng cách sử dụng các kháng thể đơn dòng hoặc đa dòng. Mức độ ái lực của các kháng thể đối với protein phụ thuộc vào cấu trúc protein sau khi chiết. Độ đặc hiệu của kháng thể đã sử dụng cần được chứng minh (ví dụ: không có phản ứng chéo).

Các phương pháp sàng lọc có thể hữu ích để đánh giá một sản phẩm có khả năng chứa vật liệu gây dị ứng hay không dựa trên sự có mặt của protein biểu hiện. Ví dụ phương pháp dạng que thử nhanh dòng chảy bên, phương pháp ELISA định tính, phương pháp cảm biến sinh học và vi mạch protein.

Định lượng các chất gây dị ứng thực phẩm có thể được thực hiện bằng các phương pháp dựa trên protein như ELISA.

Phương pháp này phải được xác nhận giá trị sử dụng đối với nền mẫu được phân tích. Các chất chuẩn phải có sẵn để dựng đường chuẩn từ đó tính hàm lượng protein trong các mẫu thử nghiệm.

5.3 Các phương pháp dựa trên sinh học phân tử

Tính đặc hiệu của các phương pháp phân tích sử dụng ADN làm đích để xác định sự có mặt của vật liệu gây dị ứng phụ thuộc vào các tính đặc hiệu của trình tự ADN đích. Ví dụ các phương pháp dựa trên axit nucleic là PCR, real-time PCR, PCR-ELISA, công nghệ vi mạch và chip.

5.4 Các phương pháp phát hiện bằng khối phổ

Protein/chất gây dị ứng hoặc marker được chiết từ nền mẫu và được phân hủy bằng enzym để thu được các peptid sau đó được bơm vào hệ thống sắc ký. Việc sử dụng khối phổ làm hệ thống phát hiện được ưu tiên hơn, vì có thể khẳng định sự có mặt của các hợp chất hóa học được bơm vào có nguồn gốc từ chất gây dị ứng thực phẩm được bơm vào dựa trên các mẫu khối lượng điển hình của chúng.

6 Tổ chức phòng thử nghiệm

6.1 Yêu cầu chung

Cần tuân thủ các quy định hiện hành về an toàn và các khuyến nghị an toàn của nhà sản xuất.

6.2 Thiết kế phòng thử nghiệm

Sự nhiễm bẩn ngẫu nhiên bắt nguồn từ bụi và sol khí. Do đó, việc tổ chức khu vực làm việc trong phòng thử nghiệm một cách hợp lý dựa trên:

- a) việc kiểm soát có hệ thống các bước phương pháp liên quan đến các kết quả;
- b) nguyên tắc dòng chảy một chiều để xử lý mẫu.

Phòng thử nghiệm cần sử dụng thiết bị được bảo trì phù hợp với các phương pháp được sử dụng. Ngoài thiết bị phòng thử nghiệm chuẩn, các thiết bị bổ sung được mô tả trong các phần tương ứng của tiêu chuẩn cụ thể.

Dụng cụ và thiết bị phải được bảo trì theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Điều kiện bảo quản và thời hạn sử dụng của thuốc thử phải được quy định rõ.

Yêu cầu chi tiết đối với các phương pháp cụ thể có trong TCVN 13157-1 (BS EN 15633-1) [4] và TCVN 13158-1 (BS EN 15634-1) [5].

7 Cách tiến hành

7.1 Yêu cầu chung

Để sử dụng tiêu chuẩn này, phải tuân thủ các yêu cầu chung về đảm bảo chất lượng đối với các phòng thử nghiệm, ví dụ: thử nghiệm lặp lại, thử nghiệm trên mẫu trắng, sử dụng mẫu chuẩn, dụng cụ đường chuẩn.

Làm sạch cẩn thận tất cả các thiết bị tiếp xúc trực tiếp với mẫu để tránh nhiễm bẩn chéo.

Phạm vi của phương pháp, bao gồm cả khả năng áp dụng cho nền mẫu, cần được xác định rõ.

7.2 Chuẩn bị mẫu

Hướng dẫn chuẩn bị mẫu thử phải được mô tả rõ trong từng phương pháp.

7.3 Tách chiết

Các điều kiện thích hợp để chiết/pha loãng các phần mẫu thử hoặc mẫu đối chứng và mẫu chuẩn có nồng độ đã biết phải được mô tả chi tiết trong hướng dẫn sử dụng.

7.4 Chuẩn bị đường chuẩn

Phải sử dụng tất cả các chất chuẩn được cung cấp cùng với phép thử. Phải sử dụng các chất chuẩn phù hợp với nền mẫu, nếu cần thiết và có sẵn.

7.5 Quy trình thử

Phải tuân theo quy trình thử đã nêu.

8 Diễn giải và biểu thị kết quả

8.1 Yêu cầu chung

Các thông số để giải thích khác nhau tùy thuộc vào việc phép thử là định tính hay định lượng. Không được khẳng định chắc chắn rằng không có chất phân tích đích trong mẫu thử được phân tích. Kết quả âm tính được báo cáo là "không phát hiện được ở giới hạn phát hiện", hoặc "nhỏ hơn giới hạn phát hiện". Kết quả dương tính dưới giới hạn định lượng được báo cáo là "dương tính trên giới hạn phát hiện, nhưng dưới giới hạn định lượng".

8.2 Phân tích định lượng

Các thông số sau được đánh giá: dữ liệu thô của dung dịch mẫu thử, mẫu trắng, mẫu chuẩn hoặc chất chuẩn phân tích, và dữ liệu thô của đối chứng âm, hệ số biến thiên giữa các lần lặp lại, hệ số biến thiên của chất chuẩn và hệ số biến thiên của mẫu đối chứng. Tất cả các kết quả cuối cùng phải được báo cáo, bao gồm cả độ không đảm bảo đo đã thiết lập trước đó nếu được yêu cầu. Kết quả định lượng sẽ không được báo cáo bằng cách ngoại suy trên mức cao nhất hoặc thấp hơn mức chuẩn hiệu chuẩn thấp nhất.

8.3 Phân tích định tính

Đối với các phép thử định tính, các thông số như độ nhạy hoặc độ đặc hiệu được mô tả trong hướng dẫn sử dụng tương ứng. Kết quả phải được báo cáo là phát hiện được hoặc không phát hiện được và bao gồm giới hạn phát hiện.

8.4 Các quy định

Tốt nhất là LOD được cung cấp cùng với mẫu thử. LOD ít nhất phải được cung cấp có tham chiếu đến mẫu chuẩn và giá trị tương đối dựa trên các nền mẫu được quy định.

Đối với các phương pháp định lượng, ngoài LOD, cũng phải báo cáo LOQ. Tuy nhiên, nếu hàm lượng chất phân tích đích đặc hiệu thấp hơn giới hạn định lượng thì kết quả chỉ được biểu thị định tính.

Trong báo cáo thử nghiệm, chất phân tích đích cần phải được chỉ rõ.

9 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải tuân theo TCVN ISO IEC 17025 (ISO IEC 17025) và biểu thị kết quả theo Điều 8. Trong trường hợp sử dụng mẫu chuẩn cụ thể đã được chứng nhận hoặc sử dụng chất chuẩn khác để hiệu chuẩn, thì việc này cũng phải được báo cáo.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 6900-2:2001 (ISO 78-2:1999), *Hoá học – Cách trình bày tiêu chuẩn – Phần 2: Các phương pháp phân tích hoá học*
- [2] TCVN 8244-2:2010 (ISO 3534-2:2006), *Thống kê học – Từ vựng và ký hiệu – Phần 2: Thống kê ứng dụng*
- [3] TCVN 6910-1:2001 (ISO 5725-1:1994), *Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo – Phần 1: Nguyên tắc và định nghĩa chung*
- [4] TCVN 13157-1 (BS EN 15633-1), *Thực phẩm – Phát hiện chất gây dị ứng trong thực phẩm bằng phương pháp miễn dịch – Phần 1: Yêu cầu chung*
- [5] TCVN 13158-1 (BS EN 15634-1), *Thực phẩm – Phát hiện các chất gây dị ứng trong thực phẩm bằng phương pháp sinh học phân tử – Phần 1: Yêu cầu chung*
- [6] TCVN 11933:2017 (ISO 16577:2016), *Phân tích dấu ấn sinh học phân tử – Thuật ngữ và định nghĩa*
- [7] TCVN 7608:2007 (ISO 24276:2007), *Thực phẩm – Phương pháp phân tích để phát hiện sinh vật biến đổi gen và sản phẩm có nguồn gốc biến đổi gen – Yêu cầu chung và định nghĩa*
- [8] TCVN 8890:2017 (ISO Guide 30:2015), *Mẫu chuẩn – Thuật ngữ và định nghĩa*
- [9] ISO Guide 35, *Reference materials – Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability*
- [10] THOMPSON & WOOD. Harmonised guidelines for internal quality control in analytical chemistry laboratories. *Pure Appl. Chem.* 1995, 67 pp. 649–656
- [11] INHORN S.L. *Quality Assurance Practices for Health Laboratories*, APHA Washington DC, 1978, p. 588
- [12] Validation of Analytical Method Procedures, FAO-Alinorm 04/27/23 Appendix V, *Proposed Draft Guidelines for Evaluating Acceptable Methods of Analysis*
- [13] Nordic Committee on Food Analysis, NMKL Procedure No. 4, 2005; “*Validation of Chemical Analytical Methods*”
- [14] Horwitz, 1995: *IUPAC/ISO/AOAC Technical Report: Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies*. *Pure & Appl. Chem.* 67(2): 331-343

- [15] THOMPSON et al. IUPAC Technical Report: Harmonised guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis. *Pure Appl. Chem.* 2002, 74 (5) pp. 835–855
- [16] JCGM 200, JCGM International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM). *3rd edition. 2008 version with minor corrections. 2012*
- [17] THOMPSON & WOOD. Harmonised guidelines for internal quality control in analytical chemistry laboratories. *Pure Appl. Chem.* 1995, 67 pp. 649–656
- [18] TCVN ISO IEC 17025 (ISO IEC 17025), *Yêu cầu chung về năng lực của phòng thử nghiệm và hiệu chuẩn*
-