

# 《食品安全国家标准 动物性水产品中颚口线虫的检验》

## （征求意见稿）编制说明

### 一、标准起草基本情况

本标准制定任务来源于国家卫生健康委员会委托制定的食品安全国家标准项目，由上海海关动植物与食品检验检疫技术中心、中国检验检测学会和寄生虫检验方法协作组负责起草制定 spaq-2019-052《动物性水产品中颚口线虫的鉴定》。2019年8月收到正式通知，2019年12月6日在上海召开启动会，项目组正式协调成立，在广泛调查研究和讨论的基础上，起草了本标准，并邀请五家以上专业技术机构进行方法标准实验室间验证工作。2020年8月在方法验证的基础上，形成讨论稿，并通过信函的方式向有关机构和专家广泛征求意见，期间未收到重大分歧意见，经整理归纳后，形成送审稿。2021年3月31日~4月1日，第二届食品安全国家标准审评委员会微生物检验方法和规程专业委员会第五次会议通过审查，并将标准名称修改为“动物性水产品中颚口线虫的检验”。

### 二、标准主要技术内容

本标准适用于即食生制动物性水产制品中颚口线虫第三期幼虫的检验。动物性水产制品中的颚口线虫幼虫主要寄生于淡水鱼类、两栖类等水产品的肌肉等组织内。用胃蛋白酶消化宿主动物组织获得虫体。根据幼虫的形态特征，判断颚口线虫属幼虫。对可疑虫体通过扩增颚口线虫线粒体细胞色素C氧化酶第I亚基（*cox1*）基因片段并测序，进行常见颚口线虫幼虫的鉴定。标准的检测方法包括颚口线虫幼虫的形态学方法和PCR方法。

#### 1、颚口线虫第三期幼虫的形态学方法

检测的样品主要为即食生制动物性水产制品的肌肉组织，使用消化法从动物性水产制品的肌肉组织中分离出可疑虫体，进行形态学鉴定。根据分离虫体在显微镜下的形态特征，可进行颚口线虫属第三期幼虫的鉴定。

颚口线虫第三期幼虫的形态特征为虫体呈圆柱形，较粗壮。活虫体呈淡红色、淡黄色或粉红色，半透明，头部和尾部均弯向腹面，部分呈卷曲“G”状。虫体长度因虫种不同而异，约0.6 mm~11 mm。头部近似球形（称头球），尾部逐渐变细呈锥形。食道、肠道颜色较深。头球与虫体躯体部分分界明显。头球前端有两片向外突起的肉质唇围绕口，头球表面排列有3环或4环小钩。体表环列有横纹和小棘，体前部棘明显大而密，体后部棘渐小而疏，尾部光滑钝圆。有1对颈乳突，1个排泄孔。食道呈棒状，分肌质部和腺质部，食道周围有4个肌质管状的颈囊环绕；肠管粗大或细长，肠内充满黄褐色颗粒。

在动物性水产制品中检测到具备上述特征的虫体，可判断为颚口线虫属幼虫。对疑似颚口线虫属幼虫结合PCR方法进行判断。形态学方法检出颚口线虫属幼虫，结果报告检出颚口线虫幼虫。

## 2、颚口线虫第三期幼虫的 PCR 方法

采用颚口线虫 *cox1* 基因作为目标基因,引物为国内外普遍采用的引物。*cox1* 引物扩增目标片段 441pb。对 PCR 检测方法的反应条件进行了优化,通过确定引物退火温度、比较 PCR 反应程序,确定了试验体系。形态学方法检出疑似颚口线虫属幼虫通过 PCR 扩增和测序,其序列与标准附录 B 中参考序列进行同源性比对。

形态学方法检出疑似颚口线虫属幼虫、PCR 结果为阳性且扩增片段基因序列与任何一条参考序列同源性 $\geq 96\%$ ,报告检出颚口线虫幼虫。形态学方法未检出颚口线虫属幼虫、或 PCR 结果为阴性、或扩增片段基因序列与参考序列同源性 $< 96\%$ ,均报告未检出颚口线虫幼虫。

实验室间的方法验证结果表明本标准对颚口线虫形态学描述准确,PCR 结果稳定、可信,该方法可用于动物性水产品中颚口线虫的检验。

## 三、国内外相关法规标准情况

《食品安全国家标准 动物性水产制品》(GB 10136-2015)规定即食生制动物性水产制品吸虫囊蚴、线虫幼虫、绦虫裂头蚴不得检出,并规定了检测方法,但对每一种寄生虫没有具体的鉴定方法,本标准是对该标准的补充。《进出口食品中寄生虫的检验方法》(SN/T 1748-2006)中规定了食源性寄生虫的检验方法,但对每一种寄生虫没有具体的鉴定方法。本标准在《水产品中颚口线虫检疫技术规范》(SN/T 3497-2013)的基础上编写,参考了该标准中的消化法、形态学鉴定方法。明确检测样品是即食生制动物性水产制品的肌肉;增加了提取虫体 DNA 的经典方法;补充完善了颚口线虫形态模式图和实物图;使用颚口线虫线粒体细胞色素 C 氧化酶第 I 亚基 (*cox1*) 作为颚口线虫鉴定的目标基因,对分子生物学鉴定方法提出了具体数值要求,使标准更具有可操作性。涉及到的国内相关标准情况如表 1 所示。

FAO在海产品安全和质量评价及管理规定中,将寄生虫列入为水产品中的生物危害因素之一,并提出在 HACCP 体系中加以控制。包括吸虫、绦虫和线虫,其中包括颚口线虫。世界动物卫生组织(OIE)最新发布的《Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals》和《Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals》中尚无颚口线虫的检测和鉴定资料。国外未见针对水产品中颚口线虫的检测标准。

表 1、国内相关检测标准

序号	来源国家或组织	标准号	标准名称	适用范围	与制修订标准的关系
1	中国	GB 10136-2015	食品安全国家标准 动物性水产制品	动物性水产制品	非等效
2	中国	SN/T 1748-2006	进出口食品中寄生虫的检验方法	牛肉、猪肉、羊肉、鱼肉、贝类和新鲜蔬菜等食品中,主要食源性寄生虫的检验	非等效
3	中国	SN/T 3497-2013	水产品中颚口线虫检疫技	水产品中颚口线虫的检疫、流行病学调查和	非等效

			术规范	监测	
--	--	--	-----	----	--

四、其他需要说明的事项

无。