

《食品安全国家标准 动物性水产品中广州管圆线虫的检验》

（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，由广州白云机场海关综合技术服务中心、中国检验检测学会、北京市食品安全监控和风险评估中心和寄生虫检验方法协作组负责制定《食品安全国家标准 动物性水产品中管圆线虫的鉴定》，项目编号为 spaq-2019-054。广州白云机场海关综合技术服务中心作为承担单位负责组织该标准的制定工作，2019年3月成立标准筹备小组，2019年8月各项工作正式启动。2019年11月，签署《食品安全国家标准制定、修订项目政府购买服务合同》。在广泛调查研究的基础上，起草了本标准，并邀请六家专业技术机构进行方法标准实验室间验证工作。2020年9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，经第二届食品安全国家标准评审委员会微生物检验方法与规程专业委员会第五次会议审查通过，并修改标准名称为“动物性水产品中广州管圆线虫的检验”。

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广州管圆线虫的检验，为寄生虫病原检测和鉴定的定性标准，因此本标准的技术内容主要为形态学方法和 PCR 方法。

本标准共涉及三种检测技术：肺囊检查法、蛋白酶消化法和 PCR 方法。其中肺囊检查法操作简便，能够对广州管圆线虫进行初步判断；蛋白酶消化法可以提高广州管圆线虫的检出率，但因为有部分种类线虫幼虫形态十分相似，无法准确鉴定。PCR 方法可以对线虫幼虫的种类进行准确鉴定，可用于广州管圆线虫的鉴定。

1. 肺囊检查法：取去壳后的螺，沿外套膜的左侧至后侧基部剪开铺平，剪开翻开肺囊袋，体视显微镜观察幼虫结节。观察到虫体在肺囊上卷曲，形成凸起状结节。

2. 蛋白酶消化法：研究分析了消化液浓度、沉淀时间，消化部位，螺去壳，剁碎或搅拌机搅碎，1 g 螺肉加入 5 mL 人工消化酶（1 000 mL 水中含 5 g 胃蛋白酶和 7 mL 盐酸），37 °C 培养至消化完全，消化后孔径 0.15mm 铜网过滤沉淀 15 min~30 min，倾去上清液，用生理盐水洗涤 3~5 次，取沉淀物镜检。广州管圆线虫第三期幼虫白色透明，长度为 0.4 mm~0.5 mm，虫体头端钝圆，尾部末端尖细。

3. PCR 方法：应用广州管圆线虫的保守基因序列设计特异性引物，建立 PCR 检测和鉴定广州管圆线虫的方法。PCR 检测法分析了 DNA 制备方式、普通 PCR 反应条件和体系。本标准研究了三种样品 DNA 三种制备方式：MiniBEST Universal Genomic DNA Extraction Kit Ver.5.0、海洋动物组织基因组 DNA 提取

试剂盒、SDS 裂解液消化抽提法，三种方式都能够满足样品 DNA 制备要求；根据 ITS 和 *coxI*引物的敏感性和特异性，从 F1674/58SR4、ACCOX 24/ COX 523、ACITSF /ITSR 和 ACCOXF/ACCOXR 对引物中筛选出 F1674/ 58SR4 引物作为标准普通 PCR 引物；研究了 F1674/58SR4 的 PCR 反应条件、重复性分析、序列比对分析、样品分析，最后确定了 PCR 检测的方法和判断依据。

实验室间的方法验证结果表明本标准对广州管圆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广州管圆线虫的检验。

三、国内外相关法规标准情况

本标准为《食品安全国家标准 动物性水产制品》（GB 10136-2015）的指标（线虫幼虫不得检出）提供检验方法，同时，也作为食源性疾病相关管理办法或规范性文件要求的判定、处置、防控提供技术支撑。

本标准在国内对广州管圆线虫的研究基础上，查找国际上其他国家、国际权威机构的研究资料，中国是对广州管圆线虫研究较多的国家，通过大量的基础研究建立了良好的检测方法根据科技及标准查新结果。我国卫生系统于 2010 年发布了卫生行业标准《广州管圆线虫病诊断标准》（WS/T 321-2010）主要用于全国各级医疗机构和疾病预防控制机构对广州管圆线虫病的诊断。至今，世界动物卫生组织（OIE）等国际组织最新发布的《Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals》中尚无有关广州管圆线虫检疫和鉴定方法方面的资料。国外尚无针对水产品中广州管圆线虫的检验标准。

四、其他需要说明的事项

无。