《食品安全国家标准 食品微生物学检验 产志贺毒素大肠埃希氏菌检验》（征求意见稿）编制说明

一、标准起草的基本情况

本标准于 2018 年立项（项目编号 spaq-2018-059），项目承担单位为国家食品安全风险评估中心和河南省疾病预防控制中心。2018 年 10 月正式启动，2018 年 11 月召开食品安全国家标准项目启动会，2018 年 10 月至 2019 年 6 月在广泛调查研究和讨论的基础上，组织开展 STEC 检测方法的制定工作，2019 年 6 月完成实验室方法学验证及样品检测，起草了本标准，并邀请 5 家以上专业技术机构进行方法标准实验室间验证工作，2021 年 1 月形成草案，2021 年 2 月至 3 月进行行业内征求意见，期间未收到重大分歧意见，2021 年 5 月形成《食品安全国家标准 食品微生物学检验 产志贺毒素大肠埃希氏菌检验》草稿。2021 年 11 月 29 日经第二届食品安全国家标准审评委员会微生物检验方法与规程专业委员会第七次会议审查通过。

二、标准的主要技术内容

本标准适用于包装肉制品、预包装生（即）食果蔬制品、预包装奶制品、散装熟肉制品、初级农产品等所有食品样品中产志贺毒素大肠埃希氏菌的检测。

本标准利用EC或mTSB进行样品的前增菌处理，通过毒力基因*stx*初筛快速筛选STEC阳性样本，阳性样本增菌液经酸处理和免疫磁珠富集STEC进行选择性分离培养，并通过*stx*毒力基因检验和菌株鉴定进行复核及确证，可缩短STEC阴性的报告时间。

四种针对STEC检验的国外官方方法中，前增菌方法需添加一种或多种抗生素抑制杂菌干扰，比对结果表明其所用抗生素效果有限，并可能抑制部分STEC亚型生长，经优化前增菌及选择性分离方法，确定在前增菌培养基（EC或mTSB）中不添加抗生素，通过对增菌液进行酸处理和免疫磁珠富集实现STEC（O26、O45、O103、O111、O121、O145、O157及其他血清型）的选择性分离及富集。经验证，增菌液酸处理后的分离率与国外方法中添加抗生素法一致，污染浓度为10^1 CFU/样本和10^0CFU/样本时，本标准所用分离方法的STEC回收率可达100%和82.9%。

本标准涵盖STEC所有*stx*亚型的检验，经比对国外四种方法及我国GB4789.6—2016中所用引物，其检测范围均不能覆盖*stx1*和*stx2*所有亚型，造成部分亚型STEC漏检，本标准基于文献和比对结果设计优化*stx1*、*stx2*的引物和探针序列，经引物探针敏感性和特异性验证，可实现*stx1a*、*stx1c*、*stx1d*三种*stx1*亚型及*stx2a*、*stx2b*、*stx2c*、*stx2d*、*stx2e*、*stx2f*、*stx2g*七种*stx2*亚型STEC的准确检出，具有良好的通用性和覆盖性。

六家实验室间的方法验证结果指标也均符合要求。因此，本方法灵敏度高、准确性好、精密度高，可满足日常检测的要求。

三、国内外相关法规标准情况

我国尚未建立 STEC 检验方法，与 STEC 相关标准中，GB 4789.36-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠埃希氏菌 O157：H7/NM 检验》仅限于 O157 血清型，未涉及非 O157 STEC 的检验。GB4789.6-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 致泻大肠埃希氏菌检验》主要针对 5 种致泻大肠埃希氏菌的检测及分型，该标准方法需分离到菌株后进行分型确认，对于 STEC 的针对性不强，所用引物 STEC/EHEC 会造成 *stx2e*、*stx2f* 两种 STEC 亚型漏检。本标准是 STEC 的针对性检验方法，可满足 GB 29921 等微生物限量标准对产志贺毒素大肠埃希氏菌检验的方法需求。

美国农业部（USDA）规定，进入美国市场的生牛肉中，大肠埃希氏菌 O157:H7 不得检出，到 2012 年，限量规定增加了 O26、O45、O103、O111、O121 和 O145 型 STEC 并发布微生物实验室操作手册方法（MLG-5B）。美国食品与药品监督管理局（FDA）也公布了细菌分析手册方法（BAM-4A）。日本于 2014 年出台 O26、O103、O111、O121、O145、O157 血清型肠出血性大肠埃希氏菌的检测方法（食安监管 1120 第 1 号）。国际标准化组织（ISO）也出台 STEC O157、O26、O111、O103 和 O145 检测方法（ISO/TS 13136），该方法是欧盟各国使用的检测方法。本方法基于上述四种国外方法的比对，改进优化前增菌步骤、引物和探针和分离培养条件，建立覆盖 *stx* 所有亚型、操作简便的 STEC 检验方法，解决上述四种方法对 *stx* 部分亚型漏检问题。

四、其他需要说明的事项

无。