

《动物和动物产品沙门氏菌检测方法》编制说明

（一）工作简况

1、任务来源

《动物和动物产品沙门氏菌检测方法》归口为 TC181（全国动物卫生标准化技术委员会），主管部门为中华人民共和国农业农村部。本文件计划项目是原有标准 NY/T 550-2002《动物和动物产品沙门氏菌检测方法》由行业标准升级为国家标准。原有行业标准 2002 年颁布，随着我国畜禽养殖和屠宰加工产业的不断发展，已经较难满足当前畜禽生产的实际需求。沙门氏菌不仅严重影响动物的健康和生产性能，还是重要的食源性人兽共患病原菌，能够通过食物链感染人，具有重要公共卫生意义。为了更好开展动物和动物产品沙门氏菌的检测，保障动物和人类健康，在动物卫生标准化委员会的支持下开展本标准的编制工作。本文件根据我国畜禽养殖和屠宰产业的实际情况，结合世界动物卫生组织（Office international des epizooties, OIE）制定的《陆生动物卫生法典》（2019 版）等，提供在畜禽的养殖和屠宰阶段的动物活体、动物源产品及环境样品中沙门氏菌的分离方法及鉴定方法。与现有标准以及已发布的 GB 4789.4-2024《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验》等标准相比，本文件提供了畜禽养殖及屠宰阶段不同类型样品的采集和处理方法、沙门氏菌的分离方法以及生化鉴定和分子生物学鉴定方法等。

2、制定背景

沙门氏菌是人类主要的食源性人兽共患病原菌之一，该菌广泛存在于禽类、猪、牛、羊等动物体内，畜禽养殖过程中的沙门氏菌是动物源食品生产链中沙门氏菌污染的源头，通过屠宰加工过程中的交叉污染导致动物产品的污染，可通过食物链传播感染人类。因此，准确、快速地检测畜禽养殖阶段和屠宰加工阶段动物和动物产品中的沙门氏菌具有十分重要的意义。

标准起草人团队曾经采集上海猪场粪便样品 587 份，分离获得沙门氏菌 158 株，总分离率为 26.9%；采集饲料样品 201 份，分离得到 10 株沙门氏菌，检出率为 5.0%；采集环境拭子样品 72 份，分离得到 15 株沙门氏菌，分离率为 20.8%。有研究从中国 12 个省 7 个地区的 51 个养鸡场的 3566 份直肠拭子样品中分离到 323 株沙门氏菌，鸡养殖环节沙门氏菌的总体流行率为 9.8%。标准起草人团队监测数据显示，大型屠

宰场的沙门氏菌总分离率为 20.6%，小型屠宰场的总分离率为 26.1%。因此，准确、快速地检测畜禽养殖阶段和屠宰加工阶段动物和动物产品中的沙门氏菌具有十分重要的意义。

近年来我国家禽、家畜的养殖和屠宰产业发展迅速，在生产过程的集约化、标准化以及动物产品的多样化等方面取得了巨大的进步。原有的《动物和动物产品沙门氏菌检测方法》（NY/T 550-2002）为行业标准，且制定实施时间在 2002 年，在样品种类及处理、采样环节设置等方面已经较难满足当前畜禽生产的实际需求。传统的沙门氏菌的鉴定采用形态观察和生化鉴定的方法，检测误差较大，不能满足快速检测要求。为了更好开展动物和动物产品沙门氏菌的检测，从源头保障动物和人类健康，急需开展《动物和动物产品沙门氏菌检测方法》原标准的升级和修订工作。

本文件提供了不同类型动物和动物产品相关样品的采集、保存、运输、处理方法等；沙门氏菌的分离培养和鉴定方法，包括细菌接种、选择性培养基使用、可疑菌落选择、菌落 PCR、荧光定量 PCR 检测等方法；沙门氏菌分离株生化鉴定和血清型鉴定方法和结果判定等；样品处理和沙门氏菌分离鉴定相关试剂的制备方法等。通过本标准的制定和实施，有望建立全国范围内动物和动物产品沙门氏菌的统一、规范的检测方法，对动物源沙门氏菌的检测和控制具有重要意义。

3、起草单位和主要起草人及其所做的工作

本文件由扬州大学和华中农业大学起草。其中，扬州大学起草人来自扬州大学农业农村部农产品质量安全生物性危害因子（动物源）控制重点实验室、江苏省人兽共患病学重点实验室，包括焦新安、潘志明、孟闯、耿士忠、胡茂志、康喜龙、田禹齐、刘博闻、顾丹、许辰、翟贤月、李求春、黄金林等人；华中农业大学起草人来自华中农业大学动物科学技术学院、动物医学院，包括栗绍文等人。主要起草人所做的工作和分工主要包括：焦新安总体负责标准的修订，确定标准结构，组织标准编写和修改；潘志明协调标准起草的具体工作，参与标准编写和修改；孟闯、胡茂志、栗绍文、康喜龙参与标准编写和修改；耿士忠、田禹齐、刘博闻、顾丹、翟贤月、李求春、黄金林参与标准编写、家畜养殖和屠宰过程中沙门氏菌分离与鉴定方法的验证等。

4、主要工作过程

1) 起草阶段

2022年2月，项目主持人焦新安教授组建标准起草小组，制定了工作计划，明确了起草小组中每个人的职责及工作内容，并于2022年3月完成了标准征求意见稿初稿的撰写，主要起草人员及其所负责工作内容如下。焦新安：总体负责标准的修订，确定标准结构，组织标准编写和修改；潘志明协调标准起草的具体工作，参与标准编写和修改；孟闯、栗绍文、胡茂志、康喜龙参与标准编写和修改；耿士忠、田禹齐、刘博闻、顾丹、李求春、黄金林等参与标准编写、畜禽养殖和屠宰过程中沙门氏菌分离与鉴定方法的验证等。

征求意见稿完成后，起草单位于2022年4月开展了征求意见稿的征求意见工作。本次征求意见共向10家单位发送《征求意见稿》，收到《征求意见稿》后回函的单位数10个，收到《征求意见稿》后回函并有建议或意见的单位数10个。征集意见单位包括中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所、中国动物卫生与流行病学中心、中国农科院上海兽医研究所、江苏省动物疫病预防控制中心、肉食品安全生产技术国家重点实验室、浙江大学动物科学学院、四川大学生命科学学院、吉林大学动物医学院、中国农业大学动物医学院、新疆农业大学等，是我国长期从事动物源沙门氏菌研究的相关单位。征集到意见70条，其中同意采纳68条，占97.14%；未采纳2条，占2.86%。提出的意见中，主要集中在文件编写格式规范、增加缩写词、增加样品种类等方面，均认真进行了修改。

2) 征求意见阶段

经过动物卫生标准化委员会组织的专家评审等过程，本标准于2023年11月获得立项，项目主持人焦新安教授随机组织标准制定小组成员继续开展标准的征求意见和修改工作。

2023.12~2024.3期间进行了标准的征求意见工作。共向25家单位发送《征求意见稿》，回函并有建议或意见的单位数25个。征求意见单位主要包括4类，一是国家和省部级政府（动物）疾病预防与控制中心等检测监测部门，包括中国动物疫病预防控制中心、中国动物卫生与流行病学中心、江苏省疾控预防控制中心、江苏省动物疫病预防控制中心等；二是国家和省部级科研院所，包括中国农业科学院上海兽医研究所、中国农业科学院家禽研究所、北京市农林科学院、江苏省农业科学院、山东省农业科学院、湖北省农业科学院等；三是涉农相关高等学校，包括中国农业大学、浙江大学、华中农业大学、西北农林大学、华南农业大学、西南大学、石河子大学、安徽农业大学等；三是有代表性的畜禽生产企业，包括正大食品有限公司、

上海恒建农牧科技有限公司、江苏苏食集团、南通天成农牧科技有限公司等。同时，项目编制单位于 2024 年 3 月 30 日在扬州大学组织召开了征求意见稿审查会，邀请中国动物疫病预防控制中心、中国动物卫生与流行病学中心、中国农业科学院家禽研究所、江苏省疾控预防控制中心等 5 家单位专家对标准修订稿进行现场审阅和修改，形成了征求意见稿审查会审查意见表并提交标准委员会。

共征集到意见 286 条，其中同意采纳 253 条，占 88.5%；未采纳 29 条，占 10.1%；4 条部分采纳，占 1.4%，对未采纳和部分采纳者均在备注栏中均做了说明。征集到的意见中，主要集中在以下几方面：一是各类格式问题，已经按照 GB/T 1.1—2020 做了认真修改；二是图 1 清新度不够、包含信息不全面，已经重新绘制了图 1；三是采样过程要更详细一些，明确采样面积、重量等可操作性，均已经按照实际情况进行了补充完善；四是关于实时荧光定量 PCR 表述要统一、要明确检测的样品类型等，均做了修改，并细分为定性检测和定量检测两种类型，更具可操作性。

3) 审查阶段

无。

4) 报批阶段

无。

(二) 国家标准编制原则、主要内容及其确定依据，修订国家标准时，还包括修订前后技术内容的对比

1、国家标准编写原则

本标准包括正文和附录两部分内容，其中正文包括 10 部分，1~7 部分为范围、规范性引用文件、术语和定义、缩略语、设备和材料、培养基与试剂和生物安全要求；标准的 8、9 部分分别是检验程序和操作步骤，包括畜禽动物活体、动物源产品及养殖和屠宰生产环境中相关样品的采集和处理方法，沙门氏菌的分离方法、生化鉴定方法和分子生物学鉴定方法等；10 部分为标准的结果与报告。标准附录 A 为培养基与试剂的配方，附录 B 为沙门氏菌的 PCR 鉴定，附录 C 为沙门氏菌的荧光定量 PCR 检测。本文件主要依据 NY/T 1948《兽医实验室生物安全要求通则》、GB 4789.4-2024《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验》以及 OIE《陆生动物卫生法典》(2019 版)第 3.10.7 章沙门氏菌病、第 6.6 章家禽沙门氏菌的预防、检测和控制，第 6.13 章商业牛生产体系中沙门氏菌的防控，第 6.14 章商业猪生产体

系中沙门氏菌的防控等内容进行编写。通过对国内外现有标准及数据文献的调研，结合起草单位前期大量的研究基础，充分了解沙门氏菌在畜禽养殖和屠宰过程中动物和动物产品中的污染情况及检测手段，修订完善了动物和动物产品沙门氏菌检测方法。

2、主要内容及其确定依据

沙门氏菌 (*Salmonella*) 属于肠杆菌科，沙门氏菌属，革兰阴性菌。沙门氏菌是需氧或兼性厌氧菌，绝大多数沙门氏菌都有鞭毛，可以进行趋向性运动，没有可见荚膜和芽孢。沙门氏菌的适宜生长温度在 35-37℃ 之间，在 60℃ 下持续 10 min 即被杀死。一般使用麦康凯或者 XLT4 鉴别培养基进行鉴别，在麦康凯培养基上呈无色至浅橙色，透明或半透明，菌落中心有时为暗色，菌落较小，在 XLT4 培养基上呈中等大小黑色圆形菌落，周围有淡淡的透明圈环绕。在三糖铁实验中使底部变黑，斜面变红，能够产酸产气。沙门氏菌是人类主要的食源性人兽共患病原菌之一，该菌广泛存在于禽类、猪、牛、羊等动物体内，畜禽养殖过程中的沙门氏菌是动物源食品生产链中沙门氏菌污染的源头，通过屠宰加工过程中的交叉污染导致动物产品的污染，可通过食物链传播感染人类。标准起草人团队曾经采集上海猪场粪便样品 587 份，分离获得沙门氏菌 158 株，总分离率为 26.9%；采集饲料样品 201 份，分离得到 10 株沙门氏菌，检出率为 5.0%；采集环境拭子样品 72 份，分离得到 15 株沙门氏菌，分离率为 20.8%。有研究从中国 12 个省 7 个地区的 51 个养鸡场的 3566 份直肠拭子样品中分离到 323 株沙门氏菌，鸡养殖环节沙门氏菌的总体流行率为 9.8%。标准起草人团队监测数据显示，大型屠宰场的沙门氏菌总分离率为 20.6%，小型屠宰场的总分离率为 26.1%。因此，准确、快速地检测畜禽养殖阶段和屠宰加工阶段动物和动物产品中的沙门氏菌具有十分重要的意义。近年来我国家禽、家畜的养殖和屠宰产业发展迅速，在生产过程的集约化、标准化以及动物产品的多样化等方面取得了巨大的进步，原有标准在样品种类及处理、采样环节设置等方面已经较难满足当前畜禽生产的实际需求。传统的沙门氏菌的鉴定采用形态观察和生化鉴定的方法，检测误差较大，不能满足快速检测要求。因而，本文件提供了不同类型动物和动物产品相关样品的采集、保存、运输、处理方法等；沙门氏菌的分离培养和鉴定方法，包括细菌接种、选择性培养基使用、可疑菌落选择、菌落 PCR 等方法；沙门氏菌分离株生化鉴定和血清型鉴定方法和结果判定等；样品处理和沙门氏菌分离鉴定相关试剂

的制备方法等。

本文件起草成员长期以来在食源性动物源沙门氏菌的流行病学调查、细菌与宿主相互作用的机制、新型制剂及候选疫苗等防控产品开发等方面开展了较为系统的研究。近年来，在畜禽养殖和屠宰环节采集相关样品 20 万余份，分离鉴定沙门氏菌 10000 株以上，建立了信息详实的菌种库并获得软件著作权 1 项。先后承担了国家公益性行业专项、国家自然科学基金重点项目、国家重点研发计划项目、国家农产品质量安全风险评估项目、农业行业管理业务经费项目等重大科研和行业监管项目等 10 多项，相关成果发表论文 100 余篇，授权沙门氏菌检测技术相关的国家发明专利 9 件、PCT1 件，获国家科学技术进步奖二等奖 1 项、高等学校科技进步一等奖 1 项、二等奖 2 项和江苏省科学技术奖一等奖 1 项。这些均为标准的修订奠定了良好基础。

3、新旧标准对比（适用于修订标准的情况）

本文件代替 NY/T 550-2002，与 NY/T 550-2002 相比，主要差异包括：

1. 整体上进行了结构调整和编辑性改动

旧标准主要包括范围、规范性引用文件、检测方法三部分内容。新标准包括正文和附录两部分内容，其中正文包括 10 部分，1~7 部分为范围、规范性引用文件、术语和定义、缩略语、设备和材料、培养基与试剂和生物安全要求；8~9 部分分别是检验程序和操作步骤，包括畜禽动物活体、动物源产品及养殖和屠宰生产环境中相关样品的采集和处理方法，沙门氏菌的分离方法、生化鉴定方法和分子生物学鉴定方法等；10 部分为结果与报告；标准附录 A 为培养基与试剂的配方，附录 B 为沙门氏菌的 PCR 鉴定，附录 C 为沙门氏菌的荧光定量 PCR 检测。

2. 修订了检测程序图。

3. 增加了不同类型动物和动物产品相关样品的采集、运输、处理方法

包括鸡、猪、牛等主要动物养殖和屠宰环节中粪便、饲料、禽蛋、鲜奶、肠内容物、肉、胴体拭子，以及养殖和屠宰环境等相关样品的采集方法；不同类型样品在不同采样时间段等的保存和运输方法以及样品处理的方法等。

4. 优化了沙门氏菌的分离培养方法

优化了细菌接种方法、选择性培养基的使用以及培养时间和条件等，可疑菌落的判定和选择等。

5. 完善和增加了沙门氏菌分离株的鉴定方法

完善了沙门菌的生化鉴定方法和结果判定、血清型鉴定方法和结果判定等，增加了沙门菌菌落 PCR 分子生物学快速检测方法和结果判定等。

6. 增加了结果与报告部分。

7. 增加了附录内容

包括样品处理和沙门氏菌分离鉴定相关试剂的配方和制备方法，沙门氏菌 PCR 和荧光定量 PCR 鉴定反应的引物及体系、结果判定等。

（三）试验验证的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效益、社会效益和生态效益

1、试验验证的分析

本标准在征求意见稿阶段分别请农业农村部兽医诊断中心（中国动物疾病预防控制中心）、农业农村部肉及肉制品质量检验检测中心（农业农村部禽类产品质量安全控制重点实验室）、农业农村部家禽品质检验检测中心（中国农业科学院家禽研究所）等 3 家机构按照本标准的要求，针对猪屠宰过程、鸡屠宰过程、鸡蛋和蛋制品加工过程进行了样品采集和沙门氏菌分离鉴定，对本标准进行了复核验证。

（1）农业农村部兽医诊断中心对猪屠宰过程相关样品沙门氏菌的分离鉴定。复核内容包括：5 培养基与试剂、6 主要设备和耗材、9.1 样品采集、9.1.6 动物胴体擦拭样、9.1.9 屠宰器具擦拭样、9.1.16 环境擦拭样、9.3 样品处理及增菌、9.3.1 擦拭样品处理、9.4 沙门氏菌分离、9.5 沙门氏菌的 PCR 鉴定等。根据《动物和动物产品沙门氏菌检测方法》所述方法，采集猪屠宰样品共 105 份，包括胴体擦拭样、屠宰器具擦拭样等，42 份样品分离获得沙门菌疑似菌落，PCR 鉴定检出沙门菌 31 株。复核结论认为“标准所述技术内容可有效检测出猪屠宰过程中的沙门菌，符合标准方法的技术要求”。

（2）农业农村部肉及肉制品质量检验检测中心对鸡屠宰过程相关样品沙门氏菌的分离鉴定。5 培养基与试剂、6 主要设备和耗材、9.1 样品采集、9.1.6 动物胴体擦拭样、9.1.9 屠宰器具擦拭样、9.1.16 环境擦拭样、9.3 样品处理及增菌、9.3.1 擦拭样品处理、9.4 沙门氏菌分离、9.5 沙门氏菌的 PCR 鉴定等。根据《动物和动物产品沙门氏菌检测方法》所述方法，采集屠宰过程中鸡胴体表面、屠宰刀具等工具擦拭样共 190 份，18 份样品分离获得沙门菌疑似菌落，PCR 鉴定检出沙门菌 18 株。复核结论认为“标准所述技术内容可有效检测出鸡屠宰过程中的沙门菌，符合标准

方法的技术要求”。

(3) 农业农村部家禽品质检验测试中心对鸡蛋和蛋制品加工过程相关样品沙门氏菌的分离鉴定。复核内容包括：5 培养基与试剂、6 主要设备和耗材、9.1 样品采集、9.1.10 禽蛋表面擦拭样、9.1.11 禽蛋内容物样、9.1.16 环境擦拭样、9.3 样品处理及增菌、9.3.1 擦拭样品处理、9.4 沙门氏菌分离、9.5 沙门氏菌的 PCR 鉴定等。根据《动物和动物产品沙门氏菌检测方法》所述方法，采集鸡蛋表面擦拭样、鸡蛋内容物样及鸡蛋加工相关环境样共 80 份，12 份样品分离获得沙门氏菌疑似菌落，PCR 鉴定检出沙门氏菌 12 株。复核结论认为“标准所述技术内容可有效检测出鸡蛋中的沙门氏菌，符合标准方法的技术要求”。

2、综述报告

PCR 技术是由美国科学家 Kary Mullis 等首创，并由 Cetus 公司开发的一项体外酶促扩增 DNA 技术，具有特异性强、敏感性高、操作简便、快速高效等特点。目前，PCR 技术是一种快速、简便、特异、灵敏检测沙门氏菌类的方法。PCR 检测沙门氏菌的特异性取决于所选择靶序列是否为沙门氏菌高度保守的特异性片段。目前国内、外常选用的靶基因有 16S rDNA 基因、组氨酸转运操纵子基因、invA 和 invB 基因、hilA 基因、fimA 基因、hns 基因、spv 基因、iroB 基因、stn 基因等。2003 年，Ziemer 等对 16S rDNA、hilA、stn、invA、iroB、组氨酸转运操纵子等九对引物进行了特异性评价，认为只有 16S rDNA、stn、hut 基因适用于粪便样品中沙门氏菌的 PCR 扩增。但是 16S rDNA 对沙门氏菌 VI 或 VII 亚群不能扩增出阳性条带，组氨酸转运操纵子基因对柯氏柠檬酸杆菌、变形斑沙雷菌有假阳性结果。因此，本文件选用 stn 基因作为目的基因进行方法建立及检测。沙门氏菌属 A—F 群中的 17 个血清型细菌经 PCR 扩增后，分别出现 260 bp 大小的特异性条带，说明本方法无假阴性的结果。17 株非沙门氏菌菌株，包括大肠杆菌标准株 ATCC 25922、肠出血性大肠杆菌 EHEC、肠致病性大肠杆菌 EPEC、肠侵袭性大肠杆菌 ETEC、粪链球菌、葡萄球菌、铜绿假单胞菌、蜡样芽孢杆菌、乳酸杆菌、肺炎克雷伯杆菌、普通变形杆菌、奇异变形杆菌、阴沟肠杆菌、弗氏柠檬酸杆菌、痢疾杆菌、福氏 2a 志贺氏菌、普罗威登斯菌，经 PCR 扩增后均无特异性条带出现。使用的非沙门氏菌主要是肠杆菌科其他菌属的细菌，因为沙门氏菌与肠杆菌科其他属的细菌亲缘关系很近，尤其是与柠檬酸杆菌的同源性很高，很多生化反应相同，有时候很难区分，但是应用本 PCR 方法对弗氏柠檬酸

杆菌进行 PCR 扩增后无特异性条带出现，这表明该 PCR 方法特异性强。

沙门氏菌是人类主要的食源性人兽共患病原菌之一，该菌广泛存在于禽类、猪、牛、羊等动物体内，畜禽养殖过程中的沙门氏菌是动物源食品生产链中沙门氏菌污染的源头，通过屠宰加工过程中的交叉污染导致动物产品的污染，可通过食物链传播感染人类。本文件起草成员长期以来在食源性动物源沙门氏菌的流行病学调查，近年来在畜禽养殖和屠宰环节采集相关样品 20 万余份，分离鉴定沙门氏菌 10000 株以上。在国家公益性行业专项、国家重点研发计划等项目等支持下，对上海猪场样品进行沙门氏菌检测，粪便样品 587 份，分离获得沙门氏菌 158 株，总分离率为 26.9%；采集饲料样品 201 份，分离得到 10 株沙门氏菌，检出率为 5.0%；采集环境拭子样品 72 份，分离得到 15 株沙门氏菌，分离率为 20.8%。从江苏省 6 个市的 7 家不同规模的猪场（A、B、C、D、E、F、G）进行样品采集，共采集样品 1470 份，分离到沙门氏菌 233 株，总分离率为 15.9%。在国家农产品质量安全风险评估项目、农业行业管理业务经费项目支持下，监测发现江苏大型猪屠宰场的沙门氏菌总分离率为 20.6%，其中胴体擦拭样中放血作为第一个检测环节，呈较高的沙门氏菌检出率（46.9%），胴体依次经燎毛和去毛后，沙门氏菌阳性率降至最低（12.2%），在劈半后沙门氏菌检出率达到最高（64.6%），清水淋洗后沙门氏菌检出率大幅下降至 32.7%，经修饰后检出率略微升高（41.8%），之后，沙门氏菌检出率经二次淋洗和冷却后依次降低。从江苏四个城市南京、扬州、泰州和淮安的农贸市场共采集猪肉样品 1376 份，沙门氏菌分离率为 14.4%。从三家规模化种鸡场，采集样品 2033 份，包括病死鸡样品 15 份，死胚样品 930 份，环境样品 632 份，收集送检菌株 456 份，共分离 539 株沙门氏菌，死胚的分离率为 12.04%，病死鸡和环境样品分别为 6.67%和 1.71%，送检菌株中 91.66%鉴定为沙门氏菌。大量流行病学调查数据显示，沙门氏菌广泛分布于畜禽养殖、屠宰过程中不同环节的动物、动物产品以及环境相关样品中。因此，准确、快速地检测畜禽养殖阶段和屠宰加工阶段动物和动物产品中的沙门氏菌具有十分重要的意义。近年来我国家禽、家畜的养殖和屠宰产业发展迅速，在生产过程的集约化、标准化以及动物产品的多样化等方面取得了巨大的进步，原有标准在样品种类及处理、采样环节设置等方面已经较难满足当前畜禽生产的实际需求，亟待根据当前我国畜禽养殖和屠宰生产实际情况和需求开展动物和动物产品中沙门氏菌检测方法标准的修订。

3、技术经济论证

沙门氏菌常规分离鉴定方法包括前增菌培养，选择性增菌培养，选择性平板分离，生化鉴定和血清学鉴定等环节。这些程序费时费力，确定阴性结果通常要用 4-5 天，确定阳性结果至少需要 1 周。常用的液体培养基包括，蛋白胨缓冲水（BPW）和亚硒酸盐胱氨酸增菌液（SC）；增菌后，沙门氏菌在固体选择性培养基上进行分离培养。三糖铁琼脂、蛋白胨水琼脂、尿素、氰化钾（KCN）、赖氨酸脱羧酶生化试验等可将沙门氏菌鉴定到属水平，而更细致的种特异性鉴定则需要进行血清型试验，包括 O 抗原、H 抗原以及 Vi 抗原的鉴定。近年来出现了一些商业化的鉴定系统，如 AMS、VIDAS、API20E 等。AMS 为美国 VITEK 厂产品，属于自动化程度高的仪器。法国梅里埃生物公司研制开发的 API 20E 方法，对生化试验做到了微型化和集约化，在一个试剂条上集中了 20 种生化反应，一次性可完成所有的生化试验，鉴定可以达到沙门氏菌种的水平。VIDAS 法运用了现代的酶联免疫荧光技术（ELFA），它运用的是结合抗体的荧光化合物，当用荧光标记的高度专一性单克隆抗体与沙门氏菌抗原反应，形成的荧光物质可通过仪器检测出来，从而达到对沙门氏菌进行快速筛选的目的，但其仪器设备和耗材都较昂贵。目前，我国食品中沙门氏菌的检测采用 GB 4789.4-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验》国家标准，是依靠生化反应和血清学反应对沙门氏菌进行检验鉴定，它是一种传统的沙门氏菌鉴定方法，在国际上被广泛承认，是鉴定沙门氏菌的基准方法，如出现争议，应以此法为基准。

传统的培养方法费时费力，因此需要研究出更快，更省力的方法。国际标准化组织（ISO）在过去的几年内使 PCR 标准化并用于食品检测。PCR 可以在短时间内产生更多的数据，数据的可信度更高，降低工作量，因此分析的花费也低。定性 PCR 常选用的靶基因有 16S rRNA 基因、*hut* 基因、*invA* 和 *invB* 基因、*hlyA* 基因、*fimA* 基因、*hns* 基因、*spv* 基因、*iroB* 基因、*stx* 基因等。本文件选用 *stx* 基因作为目的基因进行方法建立及检测，沙门氏菌属 A—F 群中的 17 个血清型细菌经 PCR 扩增后，分别出现 260 bp 大小的特异性条带，说明本方法无假阴性的结果；17 株非沙门氏菌菌株经 PCR 扩增后均无特异性条带出现，说明该方法具有很强的特异性。用本研究建立的 PCR 方法模拟污染样品进行检测，可以直接检出污染的样品。该方法的最低检测限为增菌后 1 个 CFU，与 Nam 等和 Cohen 等的方法的检测限相似。DNA 水平的最低限为 43.85 pg 沙

门氏菌DNA，在DNA水平上该方法的敏感度有些欠缺，所以在进行样品检测时需要富集培养的步骤才能避免漏检的可能。总体上，利用本文件的方法，通过样品采集和增菌预处理，结合PCR检测方法的使用，可特异性检测动物和动物产品中的沙门氏菌，同时还缩短了诊断时间，达到快速鉴别病原菌的目的。

4、预期的经济效益、社会效益和生态效益

沙门氏菌感染不仅会引起动物的疾病，影响动物的健康及生产性能，更重要的是，被沙门氏菌污染的动物源食品是引起人类食源性疾病的主要原因之一，导致严重的公共卫生问题。按照标准编制的相关要求，起草小组对活体动物、动物源产品以及畜禽屠宰过程中的沙门氏菌检测制定了标准和依据，为开展沙门氏菌的检测、监测及流行病学调查提供依据。通过本文件提供的方法，可以在畜禽养殖及屠宰环节有效检测动物活体、动物源产品及生产环境中的沙门氏菌，以便尽早实施针对沙门氏菌的防控措施，最大程度减少沙门氏菌污染引起的肉制品污染，降低消费者感染的风险，减小经济损失。

（四）与国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或者与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况

本文件主要根据OIE《陆生动物卫生法典》2019年版第3.10.7章沙门氏菌病诊断以及国家标准GB 4789.4-2024《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验》等进行转化，相互之间的差异见表1。

表 1 本文件与 OIE 指南的比较

标准	样品采集	样品运输	菌株分离	菌种鉴定
OIE	养殖阶段的家禽的粪便和泄殖腔拭子样、家畜的直肠样品，屠宰阶段的肠样品及拭子样品	运输温度 0℃~20℃；样品运输时间不超过 48 小时	缓冲蛋白胨水预增菌，改性的半固体 Rappaport-Vassiliadis (MRSV) 琼脂或 XLD 琼脂等选择性培养，O、H 抗血清血清型鉴定	生化鉴定方法、分子生物学鉴定方法、血清学鉴定方法
GB 4789.4-2024	食品	未涉及	缓冲蛋白胨水预增菌，四硫磺酸钠煌绿培养基增菌，BS 琼脂平板和 XLD 琼脂平板选择性分离培养，生化鉴定和 O、	生化鉴定方法、血清学鉴定方法

			H 抗血清血清型鉴定	
本文件	养殖阶段家禽泄殖腔棉拭子或粪便、饲料、禽蛋，家畜直肠棉拭子或粪便、饲料、鲜奶，屠宰阶段肠内容物和肉样，养殖和屠宰阶段环境样品	运输温度 0°C~20°C；样品运输时间不超过 24 小时；如果采样与样品处理的间隔时间较长，样品需在 4°C ± 2°C 中低温保存，并在 72 h 内进行处理	缓冲蛋白胨水预增菌；粪便样品增菌培养后 MSRVR 改良培养基（新生霉素）培养，其他样品增菌培养后 RV R10 肉汤培养，接种至 XLT-4 琼脂培养基选择性培养，PCR 鉴定、生化鉴定和 O、H 抗血清血清型鉴定	生化鉴定方法、基于 <i>stx</i> PCR 和 RT-qPCR 的分子生物学鉴定方法、血清学鉴定方法

（五）以国际标准为基础的起草情况，以及是否合规引用或者采用国际国外标准，并说明未采用国际标准的原因

本文件主要根据 OIE 《陆生动物卫生法典》2019 年版第 3.10.7 章沙门氏菌病诊断以及国家标准 GB 4789.4-2024 《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验》等进行转化，主要参考了部分样品的样品类型和采样方法，引用了血清学鉴定和血清学分型等内容，均按照相关标准的要求进行了合规引用。

（六）与有关法律、行政法规及相关标准的关系

本文件与《中华人民共和国动物防疫法》《中华人民共和国食品安全法》《动物检疫管理办法》等有关的现行法规、法律和强制性国家标准一致，不存在冲突。与国家标准 GB 4789.4-2024 《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验》相比，增加了不同类型动物和动物产品及其养殖、屠宰环境相关样品的采集和处理过程、沙门氏菌 PCR 检测方法等内容，有效衔接和补充了相关标准。

（七）重大分歧意见的处理经过和依据

本文件在制定过程中，相关审稿转件没有提出重大分歧意见。

（八）涉及专利的有关说明

本文件未涉及专利。

（九）实施国家标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和 实施日期的建议等措施建议

本文件为推荐性国家标准。标准公布后，建议组织国家动物疫病以及动物源食品安全检测检测相关部门和机构、畜禽养殖和屠宰加工以及动物源食品生产企业专业技术人员、从事动物源沙门氏菌研究的高校和科研院所研究人员等开展标准的学习和实践，以保证标准的顺利实施。本标准主要涉及动物源相关样品的采集、细菌的培养和分离鉴定、普通PCR和荧光定量PCR等操作，是动物病原微生物检测监测领域中较为常规的实验操作，技术难度不大，因此建议设置3~6个月的较短的过渡期并尽快实施。

（十）其他应予说明的事项。

无。

标准起草组

2024年 5月