

《食品中致病菌快速检测方法 荧光 PCR 法》 (征求意见稿) 编制说明

一、工作简况

(一) 任务来源

随着食品行业的快速发展，食源性致病菌引发的食品安全问题备受关注。传统检测方法存在检测周期长、操作繁琐等缺点，难以满足当下对食品安全快速检测的需求。荧光 PCR 技术凭借其快速、灵敏、准确等优势，在食品致病菌检测领域应用日益广泛。为规范该技术在食品检测中的应用，广州康泽生物科技有限公司 2025 年 1 月向本协会提交申请制定《食品中致病菌快速检测方法 荧光 PCR 法》团体标准的立项申请书，以提升食品检测的准确性和效率，保障公众饮食安全。

根据广东省食品流通协会《关于《食品中致病菌快速检测方法 荧光 PCR 法》团体标准的立项公告》(粤食流协标〔2025〕10 号)，本标准由广州康泽生物科技有限公司主导制定，广东省食品流通协会归口管理，计划编号为 T/GDFCA 110—2025。

(二) 起草及协作单位

起草单位有广州康泽生物技术有限公司、绿色链(广东)检测科技有限公司、绿色链(广东)科技研究院、深圳中检联检测有限公司、通标标准技术服务有限公司广州分公司、华谱(西安)生物科技有限公司、华测检测集团、广东省食品检验所、广电计量检测集团股份有限公司、广州质量监督检测研究院、广东省科学院测试分析研究所(中国广州分析测试中心)、海南威尔检测技术有限公司、方舟生物安全科技(广州)有限公司、广州金至检测技术有限公司、深圳市沃特虹彩检测技术有限公司、杭州海康威视数字技术股份有限公司、广州市食品安全协会等单位。

(三) 立项背景和意义

食品安全是直接关系到人民群众生命、健康和社会稳定的重大公共安全问题，而食源性致病菌是影响食品安全的主要因素，因此，检测食源性致病菌是食源性疾病预防与控制的关键环节。调查数据显示，2011~2020 年，全国共上报食源性疾病暴发事件 35806 起，累计患病人数 266968 人，其中由微生物引起的食源性疾病相关患病人数占比最多，高达 35.69%。食源性致病菌的传统微生物检测方法虽然较为成熟稳定，但一般主要依据致病菌

形态学、生理学和生态学等特征经过菌种分离培养、生化鉴定等检测步骤来实现定性定量，存在检测周期长、灵敏度不高、操作步骤繁琐且工作量大、耗费成本较高和一定概率的假阴性等缺点，不能实现及时有效的监测。很难满足企业生产加工、基层市场监管执法、公共卫生安全和海关进出口检验检疫等方面应对突发食品安全事件的需求。因此，建立符合我国国情的快速、准确而简便的食源性致病菌鉴定方法已成为食品安全质量控制中重要问题，及时有效地控制和预防食源性致病菌的传播已迫在眉睫。

随着分子细菌学研究的不断进展，人们对细菌的毒素、侵袭素和毒力岛等毒力因子的认识不断深入，使细菌检测也从表型特征鉴定逐渐向遗传特征鉴定。聚合酶链式反应（Polymerase Chain Reaction, PCR）技术作为发展起来的一种分子生物学技术，具有简便、快速、敏感性高和特异性强的优点，在食源性致病菌的检测方面正发挥着越来越重要的作用。近年来，随着国产仪器设备的崛起，国产荧光 PCR 设备无论是在功能及价格上，已也达到了基层可以接受的水平，并实现了设备的大面积普及。因此，通过荧光 PCR 技术开展食源性致病菌的快速检测，具有一定的可行性和必要性。

目前，荧光 PCR 技术在食源性致病菌的检测方面应用广泛，相对其他分子检测技术更为成熟，已有在多种类型食品中检测不同致病菌的研究报道。此外，已发布的出入境标准《SN/T 1870-2016 出口食品中食源性致病菌检测方法 实时荧光 PCR 法》中制定了食品中沙门氏菌、志贺氏菌、金黄色葡萄球菌、副溶血性弧菌、小肠结肠炎耶尔森氏菌、空肠弯曲菌、单核细胞增生李斯特氏菌、肠出血性大肠埃希氏菌 0157: H7、霍乱弧菌、阪崎克罗诺杆菌、创伤弧菌和溶藻弧菌的实时荧光 PCR 检测方法。

PCR 技术自上世纪 80 年代被发明以来，已在科研、刑侦、医学检测等领域大量应用，但在食源性致病菌检测领域的应用有限，PCR 技术自身存在的问题是导致这一问题的根本原因。第一，仪器昂贵，新冠疫情或更早之前，实时荧光 PCR 仪主要依赖进口，价格昂贵，限制了荧光 PCR 技术在基层的广泛应用，随着国内制造业的发展，国产仪器不仅性能优良，更是价格低廉，仪器已不是限制荧光 PCR 技术在基层应用的因素了。第二，PCR 试剂中含有 Taq 酶、dNTP、引物、探针等温度敏感成分，对储运条件要求高，这也是限制荧光 PCR 技术在基层广泛应用的另一个限制因素，随着冻干制剂技术引入至 PCR 试剂生产加工中，PCR 试剂已实现常温储运，限制 PCR 技术广泛的第二道难关已被攻破。第三，PCR 技术容易出现 PCR 产物污染问题，这就要求 PCR 实验室各功能区严格分区，从而导致实验室建设成本高昂，而 UNG 防污染体系的出现，以及荧光 PCR 不开盖分析的特点，极大的减少甚至杜绝了 PCR 产物污染的出现，在普通实验室开展荧光 PCR 检测成为可能。

基于以上因素，在已发布的出入境标准《SN/T 1870-2016 出口食品中食源性致病菌检测方法 实时荧光 PCR 法》的基础上，采用基于含有 UNG 防污染体系的冻干剂型的食源性致病菌荧光 PCR 检测试剂，结合国产小型化的荧光 PCR 仪器，实现对目标菌的快速检测。整个检测方法具备以下有利条件：检测时间短、灵敏度高；操作简单；环境要求低，实验室建设成本低，或可在现有实验室条件下增加荧光 PCR 检测项目。

（四）主要工作过程

1. 标准立项

2025 年 2 月 23 日，据制修订团体标准的目的，确定团体标准主要内容简介和应用场景，初步确定团体标准的名称，在国家团体标准信息平台上正式发布立项公告。

2. 前期工作

2025 年 2 月，广东省食品流通协会组织成立了标准起草小组，确定了工作进度时间表，并进行了分工。

3. 标准编制小组第一次工作会议

2025 年 3 月 5 日，起草小组对标准的框架、章节、主要内容和关键点进行了沟通，确定了标准编制的主要方向和形式，并对标准编制工作提出宝贵的意见，确定第二次工作会议时间。

4. 标准编制组第二次工作会议

2025 年 4 月 15 日，基于资料收集和实验结果，起草标准草案。再次组织内部讨论会议，邀请行业专家、检测机构人员等对草案进行深入研讨，从技术可行性、实用性、规范性等方面提出修改意见，不断完善标准内容。并对后续技术工作内容进行的分工安排。确定形成《食品中致病菌快速检测方法 荧光 PCR 法》草案及编制说明的征求意见稿。

二、标准编制原则和确定标准主要内容的论据

（一）编制原则

1. **科学性**：以科学研究为基础，依据荧光 PCR 技术的原理和大量实验数据确定检测方法的各项参数，确保标准技术内容准确可靠。

2. **实用性**：充分考虑食品检测机构的实际操作需求，使标准中的检测流程简便易行，

同时保证检测结果能有效指导食品安全监管和生产实践。

3. **规范性：**遵循相关标准编写规范，如 GB/T 1.1 - 2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》，确保标准结构合理、语言规范。

4. **协调性：**与现行已有的相关标准相协调，在技术要求、术语定义等方面保持一致，便于标准的推广应用和国际交流。

（二）确定标准主要内容的论据

1. **适用范围：**综合考虑荧光 PCR 技术的特点和食品检测的实际需求，明确标准适用于各类食品中常见致病菌的快速检测。参考国内外相关标准对食品种类和致病菌范围的界定，确保本标准覆盖范围全面且合理。

2. **技术原理：**基于荧光 PCR 技术的基本原理，即通过荧光信号实时监测 PCR 扩增过程，对目标致病菌的特定基因进行检测。详细阐述该技术在食品致病菌检测中的应用原理，为检测方法的实施提供理论依据。

3. **检测流程：**包括样品制备、核酸提取、荧光 PCR 反应体系配置、反应条件设置以及结果判定等环节。通过实验验证和参考相关文献，确定每个环节的最佳操作条件和技术参数。如在核酸提取环节，对比不同提取方法对不同食品基质中致病菌核酸提取效率的影响，选择最适宜的提取方法；在反应体系配置和反应条件设置方面，优化引物、探针浓度以及退火温度等参数，以提高检测的灵敏度和特异性。

4. **质量控制：**参考 GB 4789.45-2023《食品安全国家标准 微生物检验方法验证通则》等标准中关于方法验证和质量控制的要求，设置内部对照、阳性对照和阴性对照，对检测过程进行质量监控。同时规定了重复性和再现性要求，确保检测结果的可靠性和准确性。重复性要求在相同实验条件下，同一检测人员对同一样品进行多次检测，结果应符合一定的偏差范围；再现性要求不同检测人员在不同实验室对同一样品进行检测，结果也应具有可比性。

（三）标准主要内容

本标准包含范围、规范性引用文件、术语和定义、缩略语、测定原理、试剂耗材、仪器设备、样品前处理、反应步骤及附录等 12 个部分，具体内容见标准正文。

三、主要试验（或验证）的分析、综述报告，技术经济论证

（一）主要试验（或验证）的分析

1. **特异性试验：**选用多种常见致病菌及非目标微生物，采用本标准规定的荧光 PCR 方法进行检测。结果显示，针对目标致病菌的引物和探针具有高度特异性，仅对目标致病菌产生阳性反应，对非目标微生物无交叉反应，表明该方法能够准确区分目标致病菌与其他微生物。

2. **灵敏度试验：**制备不同浓度梯度的目标致病菌纯培养物，按照标准方法进行检测。确定该方法的最低检测限，即能够可靠检测出的目标致病菌的最低浓度。实验数据表明，本标准的荧光 PCR 法具有较高灵敏度，可满足食品中低水平致病菌污染的检测需求。

3. **重复性和再现性试验：**在多个实验室开展重复性和再现性试验。重复性试验中，同一实验室的不同检测人员对同一样品进行多次检测，计算检测结果的变异系数；再现性试验中，不同实验室的检测人员按照标准方法对同一样品进行检测，分析不同实验室间检测结果的差异。结果显示，本标准的检测方法重复性和再现性良好，不同实验室和检测人员之间的检测结果具有较高的一致性。

4. **食品基质干扰试验：**选取多种不同类型的食品基质，如肉类、乳制品、蔬菜等，在其中添加已知浓度的目标致病菌，按照标准方法进行检测。研究食品基质对检测结果的影响，结果表明，通过优化样品制备和核酸提取方法，可有效减少食品基质对荧光 PCR 检测的干扰，确保检测结果的准确性。

（二）技术经济论证

1. **技术先进性：**基于含有 UNG 防污染体系的冻干剂型食源性致病菌荧光 PCR 检测试剂的方法，相比传统细菌培养法，检测时间大幅缩短，从传统方法的数天缩短至数小时，能够快速为食品安全监管和生产企业提供检测结果，及时采取措施防控食品安全风险。同时，该技术灵敏度高、特异性强，可有效避免漏检和误检情况的发生，提高检测的准确性和可靠性。

2. **经济合理性：**虽然荧光 PCR 技术需要一定的仪器设备投入，如荧光定量 PCR 仪等。但由于其检测效率高，批次测定数量多，可减少人力成本和时间成本。提高发现问题的效率。综合考虑，该技术在大规模食品检测中的间接经济效益显著，能够为企业和监管部门节省因食品安全问题导致的成本。

四、采用国际标准和国外先进标准的程度，以及与国际、国外同类标准水平的对比情况

（一）采用国际标准和国外先进标准的程度

本标准在制定过程中，充分参考了国际标准和国外先进标准，如 ISO 16140 系列标准、美国食品药品监督管理局（FDA）相关检测指南等。在技术原理、质量控制要求等方面与国际标准保持一致，部分技术参数和操作流程借鉴了国外先进标准的经验，并结合我国食品检测的实际情况进行了优化和调整，确保标准既符合国际通行做法，又具有我国特色和实用性。

（二）与国际、国外同类标准水平的对比情况

与国际、国外同类标准相比，本标准在检测范围、技术参数和质量控制等方面具有一定优势。在检测范围上，涵盖了我国食品中常见的多种致病菌，更符合我国食品安全检测的实际需求；在技术参数方面，通过大量实验优化了荧光 PCR 反应条件，提高了检测的灵敏度和特异性；在质量控制方面，不仅设置了严格的空白对照、阳性对照和阴性对照，还对重复性和再现性做出明确规定，保证了检测结果的可靠性和准确性，整体标准水平达到国际先进水平。

五、与有关的现行法律、法规和强制性标准的关系

本标准与现行的食品安全相关法律、法规和强制性标准保持一致。如《中华人民共和国食品安全法》对食品检测提出了严格要求，本标准作为食品中致病菌快速检测的技术规范，为食品安全监管提供了有效的技术手段，有助于法律、法规的具体实施。同时，与 GB 4789 系列等强制性标准相互补充，GB 4789 系列标准侧重于传统微生物检测方法，本标准则专注于荧光 PCR 快速检测方法，两者共同构成了完善的食品致病菌检测标准体系，保障食品安全检测工作的全面开展。

六、重大分歧意见的处理经过和依据

本标准研究和编制过程中无重大分歧意见。

七、标准作为强制性标准或推荐性标准的建议

基于本标准为广东省食品流通协会团体标准，鉴于荧光 PCR 技术在食品致病菌检测中的重要性和广泛应用，同时考虑到不同食品检测机构的实际情况和技术水平差异，建议本标准作为推荐性标准发布，供协会会员和社会自愿使用。

八、贯彻标准的要求和措施建议（包括组织措施、技术措施、过渡办法等内容）

（一）组织措施

加强标准宣传培训：通过举办培训班、研讨会等形式，向食品检测机构、食品生产企业等相关单位宣传本标准的重要性和技术内容，培训检测人员掌握标准的操作方法和要点，提高标准的知晓度和应用水平。

（二）技术措施

1. 持续技术研发与改进：鼓励科研机构和企业开展荧光 PCR 技术的研究，不断优化检测方法，提高检测的灵敏度、特异性和抗干扰能力，以适应不断变化的食品安全检测需求。

2. 建立质量控制体系：食品检测机构应建立完善的内部质量控制体系，定期对检测人员进行技术考核，对仪器设备进行校准和维护，确保检测过程符合标准要求。

（三）过渡办法

本标准批准发布后建议在相关检测机构推广使用，以发挥标准的社会效益和经济效益。

九、废止现行有关标准的建议

目前，尚无直接与本标准冲突的现行标准。

十、其他应予说明的事项

本标准在制定过程中，虽然充分考虑了各种因素，但随着食品行业的发展和检测技术的进步，可能需要对标准进行适时修订和完善。建议相关部门建立标准动态更新机制，及时跟踪国内外荧光 PCR 技术在食品致病菌检测领域的研究成果和应用情况，收集标准实施过程中的反馈意见，对标准进行修订，确保标准始终具有科学性、先进性和实用性，为保障食品安全提供有力的技术支撑。

标准起草组

2025 年 4 月