

## GB/T38164-2019 畜禽动物源性成分检测标准实施 -LUMEX 荧光芯片 PCR 法

我国是禽畜产品生产和消费大国。食品及饲料中动物源性成分的检测关系食品安全和畜牧业安全。近年来，市场上屡次出现不法分子在肉制品中掺杂掺假现象，食品安全问题层出不穷，尤其是牛羊肉中，经常被曝光其中掺杂了一些猪肉、鸭肉甚至狐狸肉、老鼠肉等，涉嫌虚假宣传欺诈消费者和侵犯消费者的合法权益，降低食品安全的公众信誉，造成不良社会影响。食品及饲料中动物源性成分检测涉及到生产、运输、销售以及加工等各环节，农业部也相应出台各项法规，为更好保证食品安全和我国畜牧业安全生产，急需可靠的检验标准和方法手段，而 GB/T38164-2019《常见畜禽动物源性成分检测方法实时荧光 PCR 法》颁布实施，对畜禽动物源性成分检测提供可靠监督手段，有效提高检验检疫工作效率。

国家市场监督管理总局、国家标准化管理委员会联合发布 GB/T38164-2019《常见畜禽动物源性成分检测方法实时荧光 PCR 法》该标准由中国检验检疫科学研究院、大连海关、青岛海关、上海海关、沈阳海关起草。该标准于 2019 年 10 月 18 日正式实施。该标准规定了了常见畜禽动物源性成分的实时荧光 PCR 检测方法，适用于肉及加工品、内脏、乳、动物饲料中黄牛、牦牛、水牛、绵羊、山羊、猪、骆驼、马鹿、梅花鹿、驯鹿、兔、狗、鸡、鸭、鹅、鹌鹑、鸽子、火鸡、猫、狐狸、水貂、貉、鼠物种成分的 Taqman 探针实时荧光 PCR 定性检测。

目前国内外对于动物源性成分的检测报道主要有显微镜检法、红外光谱法、ELISA、普通 PCR、基因芯片法，荧光定量 PCR 等方法，基于核酸检测的方法是最普遍、最准确的检测技术，其常用的技术方法包括普通定性 PCR、巢式 PCR、多重 PCR、荧光定量 PCR 等方法。普通定性 PCR 方法检测效率低，尤其检测多指标样本时更加费时费力。而荧光定量 PCR 方法灵敏度高，但其成本高，因此推出一种快速、方便、灵敏度高、成本低的检测方法具有实际应用意义。



目前 LUMEX 专利冻干芯片结合荧光定量 PCR 技术，与传统的荧光定量 PCR 方法相比，将试剂引物

涂布在冻干芯片上，通过荧光定量 PCR 技术，实现了快速、方便、灵敏、成本低动物源成分快速检测，操作便捷，大幅度缩短了检测周期。在检测项目方面，一张基因芯片即可同时对多种靶向基因并行检测，一次实验即可得出全部结果，比传统方法简便、快捷、更节省人力，提高了检测通量，实现多重检测效果。同时极大减少了操作人员的工作量并避免了实验的人为误差，方便、快捷、准确。因冻干芯片荧光定量 PCR 法具有快速、简便、成本低、灵敏度高、假阳性率低、高通量等特点，在实际工作中具有很大的意义，同时对开发快速高通量多指标检测的方法具有广泛应用。

LUMEX 冻干芯片平台结合荧光定量 PCR 技术，针对中国市场中常见食品和饲料中主要动物源性成分，按照国内检测标准设计冻干检测芯片，可一次性对样品中的多种动物源性成分进行筛检，包括：**牛、猪、羊、骆驼、水牛、马、驴等畜禽动物源性成分**，并行反应检测目标的数量得到很大提升，克服动物源性成分荧光定量 PCR 检测方法的核心问题，极大地降低检测成本和工作量，提高检测效率和准确性。此外实时荧光微芯片技术可根据客户实际检测需求定制冻干芯片，实现一张基因芯片检测多重靶向基因。



**Microchip-based real-time PCR analyzer AriaDNA**



**Nucleic acid extraction kit**



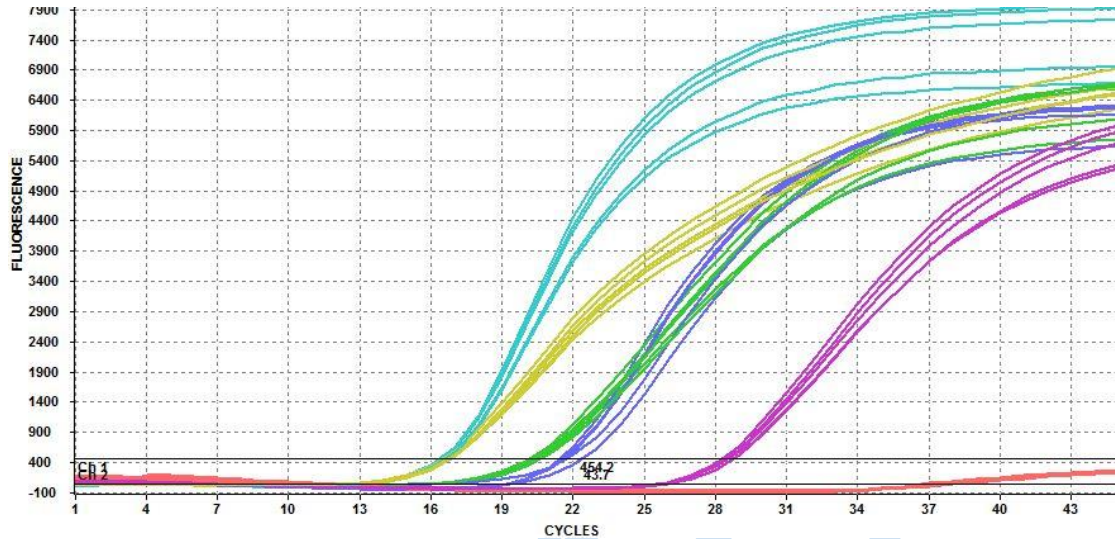
**Microchip kit for identification of animal ingredients**

实时荧光微芯片技术优势如下：1) 操作简单，经过一次样本前处理，冻干芯片是平台实现 PCR 扩增，实现单芯片同步检测样本中多种动物源性成分，具有平行分析和多重判断的特点；2) 检验对象完备，包含了当前市面上常见、常检的动物源性成分检测指标，并且可以很方便的加入新的检测指标；3) 专利亲疏水芯片涂层结合冻干试剂，减少交叉污染，有效减少操作人员工作量，降低实验人为误，提高了系统的灵敏度和准确性；4) 冻干试剂平台简化操作步骤，操作简单，无需冷链运输，适用于食品中动物源性成分的大规模检测

#### 检测分析与扩增结果判定。

对样品进行前处理，将处理后的样品分成三等分，包括待测样品，复检样品和留存样品。依据 GB/T 35918 的方法进行提取，也可用等效 DNA 提取试剂盒提取 DNA。按照 GB/T34796 方法测定并计算 DNA 浓度，判定 DNA 和纯度。

检测过程中设置阳性对照、阴性对照和空白对照。样品和对照设置 2 个平行的反应体系，分别进行靶向基因和内参基因扩增，以 Ct 平均值作为最终结果。如果 Ct 值  $\leq 35.0$ ，判定为被检样品为阳性。如果 Ct 值  $\geq 40.0$ ，判定被检样品阴性；如果  $35.0 < \text{Ct 值} < 40.0$ ，则重复一次。如再次扩增后 Ct 值仍为  $< 40.0$ ，判定被检样品阳性；如再次扩增后，Ct 值  $\geq 40.0$ ，判定被检样品阴性。



生肉样品 (n=6) 的微芯片实时 PCR 结果：牛 (粉色曲线)、羊 (青色曲线)、猪 (绿色曲线)，只有相应的试剂盒对目标样品呈阳性，其他试剂盒呈阴性。阳性对照 (蓝色曲线) 和内部对照 (IC) (黄色曲线) 为阳性。

结果可见，动物源成分冻干芯片检测结果确，显示了良好的物种检测特异性，检出的成分与预先提供的检测结果一致，冻干片荧光定量 PCR 技术具有良好的特异性、可重复性、灵敏度和稳定性，能够同时进行多样品、多项目检测，具有快速、灵敏、准确、高通量、低成本的特点，是目前传统方法所不具备的。