

ICS 65.080

CCS B 10



团体标准

T/CEATEC XXX—2025

微生物菌剂安全性评价规范

Specification for safety evaluation of microbial inoculants

2025-X-XX 发布

2025-X-XX 实施

中国欧洲经济技术合作协会 发布

目 次

前言 II

1 范围 3

2 规范性引用文件 3

3 术语和定义 3

4 评价原则与要求 4

 4.1 评价原则 4

 4.2 评价机构与人员要求 4

5 评价指标 4

 5.1 人体健康安全性指标 4

 5.2 生态环境安全性指标 5

6 试验方法 5

 6.1 急性毒性指标试验 5

 6.2 亚慢性毒性指标试验 6

 6.3 亚致病性指标试验 6

 6.4 土壤环境影响指标试验 6

 6.5 水体环境影响指标试验 6

 6.6 非靶标生物影响指标试验 7

7 取值规则 7

 7.1 数据收集与筛选 7

 7.2 指标分值计算 7

 7.3 总分计算 9

8 评价结果 9

 8.1 等级划分 9

 8.2 公示与追溯 9

 8.3 复检 9

前言

本文件按照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》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国欧洲经济技术合作协会提出并归口。

本文件主要起草单位：。

本文件主要起草人：。

本文件为首次编制。

微生物菌剂安全性评价规范

1 范围

本文件规定了微生物菌剂安全性评价的评价原则与要求、评价指标、试验方法、取值规则、评价结果。

本文件适用于人体健康、生态环境等领域微生物菌剂的安全性评价。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 4789.2 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定
GB 4789.3 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数
GB 15618 土壤环境质量 农用地土壤污染风险管控标准（试行）
GB/T 19001 质量管理体系 要求
GB 20287 农用微生物菌剂
NY/T 1980 肥料和土壤调理剂 急性经口毒性试验及评价要求
SN/T 4624.6 入境环保用微生物菌剂检测方法 第6部分：金黄色葡萄球菌
SN/T 4624.7 入境环保用微生物菌剂检测方法 第7部分：沙门氏菌
SN/T 4624.8 入境环保用微生物菌剂检测方法 第8部分：志贺氏菌
SN/T 4624.9 入境环保用微生物菌剂检测方法 第9部分：致泻大肠埃希氏菌

3 术语和定义

GB/T 20287界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

安全性评价 safety evaluation

采用科学、系统的试验方法和评价体系，可能对人体健康、生态环境（包括土壤、水体、大气、非靶标生物等）产生的潜在危害进行识别、分析、检测和评估的过程，最终判定其安全性等级。

3.2

急性毒性 acute toxicity

微生物菌剂在0~48h进入机体后，引起机体出现中毒反应甚至死亡的毒性作用，通常以半数致死剂量（LD₅₀）、半数致死浓度（LC₅₀）等指标衡量。

3.3

亚慢性毒性 subchronic toxicity

微生物菌剂在2d~30d内，以一定剂量持续接触机体后，引起机体出现的毒性效应，包括对生长发育、生理功能、器官组织形态及生化指标等方面的影响。

3.4

非靶标生物 non-target organisms

微生物菌剂应用过程中，除目标作用对象（如目标病虫害、待降解污染物等）以外的其他生物，包括有益昆虫（如蜜蜂、瓢虫）、蚯蚓、鱼类、鸟类、农作物、土壤微生物群落等。

3.5

致病性 pathogenicity

微生物菌剂中含有的微生物菌株侵入机体后，在机体内生长繁殖、破坏机体组织、引起病理反应的能力，包括对人体、动物及植物的致病作用。

4 评价原则与要求

4.1 评价原则

4.1.1 科学性原则

评价过程应基于成熟的科学理论、可靠的试验方法和准确的检测数据，确保评价结果客观、真实反映微生物菌剂的安全性，试验设计应符合统计学原理，样本量满足试验精度要求，避免主观因素干扰。

4.1.2 系统性原则

从人体健康、生态环境两个维度全面开展评价，涵盖急性毒性、亚慢性毒性、致病性、对非靶标生物影响、环境归趋等多个方面，形成完整的评价体系，避免遗漏潜在风险点。

4.1.3 针对性原则

根据微生物菌剂的应用领域、使用方式、作用对象及暴露途径，确定重点评价项目和试验参数，提高评价的精准性和有效性。

4.1.4 时效性原则

微生物菌剂的安全性可能随储存时间、环境条件变化而改变，评价应在产品有效期内进行，且当产品配方、生产工艺、应用范围发生重大变更时，应重新开展安全性评价。

4.2 评价机构与人员要求

4.2.1 评价机构

评价机构应具备省级及以上质量技术监督部门或相关主管部门认可的检验检测机构资质认定(CMA)证书，且在微生物检测、毒性试验、生态环境影响评估等领域具有相应的检测能力和试验条件，实验室管理体系应符合GB/T 19001要求。

4.2.2 评价人员

评价人员应具备微生物学、毒理学、生态学、环境科学等相关专业本科及以上学历，且具有3年及以上相关领域工作经验，熟悉本文件及相关国家标准的要求，掌握各类试验方法和数据处理技能，定期参加专业培训和能力验证，确保评价工作的专业性和准确性。

5 评价指标

5.1 人体健康安全指标

微生物菌剂的人体健康安全指标应满足表1的要求。

表1 人体健康安全指标

评价指标		指标要求
急性毒性指标	经口急性毒性	实验动物LD ₅₀ ≥5000mg/kg体重
	经皮急性毒性	实验动物LD ₅₀ ≥2000mg/kg体重，且皮肤刺激反应评分≤0.5
	吸入急性毒性	实验动物LC ₅₀ ≥10mg/L（4小时暴露）
亚慢性毒性指标		开展实验动物90天喂养试验，检测血液学指标，各项指标无显著性差异
致病性指标	病原菌检测	不得检出沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、志贺氏菌、致泻大肠埃希氏菌等常见致病性微生物
	菌株致病性试验	对菌剂中主要活性菌株进行动物致病性试验，小鼠无发病、死

		亡现象，且解剖后无明显病理变化
--	--	-----------------

5.2 生态环境安全性指标

微生物菌剂的生态环境安全性指标应满足表2的要求。

表2 生态环境安全性指标

评价指标		指标要求
土壤环境影响指标	土壤微生物群落	土壤微生物群落 Shannon-Wiener 多样性指数变化率≤10%，优势菌群种类无显著改变
	土壤理化性质	pH值变化范围应在原始土壤pH值±0.5之内，有机质及速效养分含量无显著负向变化，重金属含量应符合GB 15618的要求
水体环境影响指标	水体微生物指标	菌剂按推荐使用剂量的10倍投入模拟水体中， 水体菌落总数≤1×10 ⁵ CFU/mL，大肠菌群数≤100MPN/L
	水体理化指标	pH值维持在6.5~8.5之间，COD去除率≥0，氨氮含量变化率≤20%
非靶标生物影响指标	有益昆虫	以蜜蜂为试验对象，开展急性接触毒性试验， 蜜蜂24小时死亡率≤10%
		以瓢虫为试验对象，采用饲喂法开展毒性试验， 瓢虫7天存活率≥90%
	土壤动物	以蚯蚓为试验对象，制备菌剂浸出液，开展蚯蚓急性毒性试验， 蚯蚓48小时死亡率≤5%，且无明显行为异常
	水生生物	以斑马鱼为试验对象，开展急性毒性试验， 斑马鱼96小时LC ₅₀ ≥1000mg/L
	农作物	选择菌剂应用目标作物及当地主要伴生作物，开展田间小区试验， 作物出苗率差异≤5%，株高差异≤10%，产量差异≤5%，且无药害症状≥1000mg/L

6 试验方法

6.1 急性毒性指标试验

6.1.1 经口急性毒性试验

应按照NY/T 1980的规定进行。

6.1.2 经皮急性毒性试验

应按照以下方法进行：

- a) 试验动物：SPF级SD大鼠，体重250~300g，雌雄各半，每组6只，设3个剂量组（如500mg/kg、1000mg/kg、2000mg/kg）及1个空白对照组；
 - b) 试验步骤：将大鼠背部脊柱两侧皮肤脱毛，脱毛面积约为体表面积的10%，24小时后检查皮肤是否有损伤，无损伤者用于试验。将菌剂样品均匀涂抹于脱毛皮肤上，覆盖纱布并固定，暴露24小时后去除样品，用温水清洗皮肤，观察14天，记录皮肤刺激反应（红斑、水肿）及动物中毒、死亡情况，按皮肤刺激评分标准进行评分；
 - c) 数据处理：计算每组平均皮肤刺激评分，根据LD₅₀值及皮肤刺激评分判定安全性。
- 6.1.3 吸入急性毒性试验
- 应按照以下方法进行：
- a) 试验动物：SPF级SD大鼠，体重180~220g，雌雄各半，每组10只，设3个浓度组（如2mg/L、5mg/L、10mg/L）及1个空白对照组（新鲜空气）；
 - b) 试验步骤：采用静式吸入染毒装置，将菌剂在染毒柜内形成一定浓度的气溶胶，大鼠在染毒柜内暴露4小时，暴露期间记录染毒柜内温度（22±3℃）、湿度（50±10%）及气溶胶浓度，暴露结束后将大鼠转移至清洁饲养环境，观察14天，记录动物中毒症状及死亡情况；
 - c) 数据处理：计算LC₅₀及95% 置信区间，判定吸入毒性安全性。

6.2 亚慢性毒性指标试验

应按照以下方法进行：

a) 试验动物：SPF级SD大鼠，体重50~70g，雌雄各半，每组40只（20只用于中期检测，20只用于末期检测），设3个剂量组（分别为推荐使用剂量的10倍、50倍、100倍，根据菌剂实际应用剂量换算）及1个空白对照组；

b) 试验步骤：将菌剂混入大鼠饲料中，确保菌剂在饲料中均匀分布，大鼠自由摄食、饮水，试验周期为90天。试验期间每周记录大鼠体重、进食量，每30天随机选取5只/性别/组大鼠进行血液学及血液生化指标检测；试验结束后，处死所有大鼠，解剖并称重肝、肾、脾、肺、心等主要器官，计算器官重量系数，同时取各器官组织进行病理切片制作，HE染色后在显微镜下观察病理组织学变化；

c) 数据处理：采用SPSS统计软件进行数据分析，试验组与对照组之间的差异采用t检验， $P > 0.05$ 表示无显著性差异， $P \leq 0.05$ 表示有显著性差异， $P \leq 0.01$ 表示有极显著性差异。

6.3 亚致病性指标试验

6.3.1 病原菌检测试验

试验应包括以下内容：

a) 沙门氏菌检测应按照SN/T 4624.7的规定进行；

b) 金黄色葡萄球菌检测应按照SN/T 4624.6的规定进行；

c) 志贺氏菌检测应按照SN/T 4624.8的规定进行；

d) 致泻大肠埃希氏菌检测应按照SN/T 4624.9的规定进行。

6.3.2 菌株致病性试验

应按照以下方法进行：

a) 试验动物：ICR小鼠，体重18~22g，雌雄各半，每组10只，设1个试验组（接种菌剂活性菌株）及1个空白对照组（接种生理盐水）；

b) 试验步骤：将菌剂中主要活性菌株在适宜培养基上培养至对数生长期，用生理盐水调整菌液浓度至 1×10^8 CFU/mL，试验组小鼠腹腔注射0.2 mL菌液，对照组小鼠腹腔注射0.2 mL生理盐水，观察14天，记录小鼠的精神状态、活动情况、进食量、死亡情况，14天后处死存活小鼠，解剖观察肝、脾、肾等器官是否有肿大、坏死等病理变化。

6.4 土壤环境影响指标试验

6.4.1 土壤微生物群落试验

应按照以下步骤进行试验：

a) 在微生物菌剂施用后的特定时间（15天、30天、60天），采用五点取样法采集0~20 cm土层土壤样品，每个处理设3个重复；

b) 样品混合过筛后，用CTAB法提取土壤微生物总DNA，检测其纯度和浓度；

c) 以提取的DNA为模板，使用细菌16S rRNA基因V4~V5区引物和真菌ITS1区引物进行PCR扩增；

d) PCR产物纯化后进行高通量测序，对测序数据进行质量过滤、OTU聚类及物种注释，计算Shannon-Wiener多样性指数等，以此判断微生物群落的变化情况。

6.4.2 土壤理化性质试验

土壤理化性质检测应包括以下内容：

a) pH 值采用电位法测量土壤浸提液的pH值；

b) 有机质含量通过重铬酸钾容量法测定，利用重铬酸钾氧化土壤中的有机质，根据消耗的重铬酸钾量计算有机质含量，速效养分含量测定则采用相应的化学分析方法；

c) 重金属含量检测应按照GB 15618的规定进行。

6.5 水体环境影响指标试验

6.5.1 水体微生物指标检测

将菌剂按推荐使用剂量的10倍投入模拟水体（如池塘水）中，按照GB 4789.2和GB 4789.3的规定进行水体菌落总数和大肠菌群数的检测。

6.5.2 水体理化指标检测

应按照以下方法进行：

a) pH值用pH计直接测定水体的酸碱度；

b) COD（化学需氧量）采用重铬酸盐法测定，在强酸性条件下，用重铬酸钾氧化水中的还原性物质，通过消耗的重铬酸钾量计算COD值；

c) 氨氮含量采用纳氏试剂分光光度法或气相分子吸收光谱法测定，将水样中的氨氮转化为相应的化合物，通过检测吸光度来确定氨氮含量，进而计算氨氮含量变化率。

6.6 非靶标生物影响指标试验

6.6.1 有益昆虫毒性试验

应按照以下方法进行：

a) 以蜜蜂为对象进行急性接触毒性试验，选择健康蜜蜂工蜂，每组30只，设不同剂量组和空白对照组，将菌剂用丙酮溶解稀释后，取1 μL药液滴加于蜜蜂胸部背板，待丙酮挥发后放入饲养盒，提供50%蔗糖水溶液，在25±1℃，相对湿度60±5%条件下观察24小时，记录死亡数量计算死亡率；

b) 以瓢虫为对象进行饲喂法毒性试验，同样设置剂量组和对照组，将菌剂添加到瓢虫食物中，观察7天，记录存活数量计算存活率。

6.6.2 土壤动物毒性试验

以蚯蚓为对象进行试验：

a) 选择健康赤子爱胜蚓，每组10条，设不同浸出液浓度组和空白对照组；

b) 将蚯蚓放入含有特定土壤的培养皿中，加入相应浓度浸出液，置于20℃±2℃、避光环境下，观察48小时，记录死亡数量和行为异常情况，计算死亡率。

6.6.3 水生生物毒性试验

以斑马鱼为对象开展急性毒性试验，选择健康斑马鱼，设置不同浓度菌剂的试验组和空白对照组，在规定条件下暴露96小时，观察斑马鱼的死亡情况，采用概率单位法等计算斑马鱼96小时LC₅₀。

6.6.4 农作物安全性试验

选择菌剂应用目标作物及当地主要伴生作物，开展田间小区试验：

a) 设置处理组和对照组，处理组施用菌剂，对照组不施；

b) 观察作物生长过程中是否出现药害症状（如叶片发黄、枯萎、畸形等）；

c) 观察并记录作物出苗率、株高、产量数据，对比计算差异。

7 取值规则

7.1 数据收集与筛选

对各项试验原始数据进行收集，包括试验记录、检测报告、观察日志等，剔除异常数据（包括因试验操作失误、仪器故障导致的数据偏差，采用Grubbs法进行异常值检验，当 $G > G_{\alpha,n}$ 时判定为异常值， $\alpha = 0.05$ ， n 为样本量），确保用于计算和评价的数据真实、可靠。

7.2 指标分值计算

7.2.1 皮肤刺激反应评分

对皮肤刺激反应进行评分，各评价指标分值见表3。

表3 皮肤刺激反应评分标准

刺激反应	评分
红斑	无红斑：0
	轻微红斑（勉强可见）：1
	明显红斑（清晰可见）：2
	中度红斑（鲜红色）：3
	重度红斑（紫红色，伴有水肿或水疱）：4
水肿	无水肿：0

刺激反应	评分
	轻微水肿（勉强可见）：1
	明显水肿（清晰可见，皮肤隆起约1mm）：2
	中度水肿（皮肤隆起约1~2mm）：3
	重度水肿（皮肤隆起>2mm，伴有破溃）：4
总评分	红斑评分+水肿评分，总评分范围0~8分

7.2.2 微生物菌种安全性评价指标分值

采用百分制对微生物菌剂安全性进行评分，总分100分，各评价指标分值权重及计算方法见表4。

表4 微生物菌剂安全性评价指标分值权重及计算方法

评价类别	评价指标	权重(%)	分值计算方法
人体健康安全 性 (40%)	急性经口 毒性	10	$LD_{50} \geq 5000\text{mg/kg}$: 10分
			$1000 \leq LD_{50} < 5000\text{mg/kg}$: 6分
			$LD_{50} < 1000\text{mg/kg}$: 0分
	急性经皮 毒性	8	$LD_{50} \geq 2000\text{mg/kg}$, 皮肤刺激评分 ≤ 0.5 : 8分;
			$LD_{50} \geq 2000\text{mg/kg}$, $0.5 < \text{皮肤刺激评分} \leq 2.0$: 4分
			$LD_{50} < 2000\text{mg/kg}$ 或 皮肤刺激评分 > 2.0 : 0分
	急性吸入 毒性	7	$LC_{50} \geq 10\text{mg/L}$: 7分
			$5 \leq LC_{50} < 10\text{mg/L}$: 4分
			$LC_{50} < 5\text{mg/L}$: 0分
	亚慢性毒 性	8	各项指标与对照组无显著性差异 ($P > 0.05$): 8分
			1~2项指标有显著性差异 ($P \leq 0.05$): 4分
			3项及以上指标有显著性差异或有极显著性差异 ($P \leq 0.01$): 0分
	致病性	7	未检出致病性微生物且菌株无致病性: 7分
			检出1种致病性微生物或菌株有轻微致病性: 3分
			检出2种及以上致病性微生物或菌株有明显致病性: 0分
生态环境安全 性 (60%)	土壤微生物 群落	8	Shannon-Wiener 多样性指数变化率 $\leq 10\%$: 8分
			$10\% < \text{变化率} \leq 20\%$: 4分
			变化率 $> 20\%$: 0分
	土壤理化 性质	8	pH 值变化 $\leq \pm 0.5$, 有机质及速效养分无显著负向变化, 重金属符合 GB15618 要求: 8分
			1项指标不符合: 4分
			2项及以上指标不符合: 0分
	水体微生物 指标	8	7天水体菌落总数 $\leq 1 \times 10^5\text{CFU/mL}$, 大肠菌群数 $\leq 100\text{MPN/L}$: 8分
			1项指标超标: 4分
			2项指标超标: 0分
	水体理化 指标	7	pH 值 6.5~8.5, COD 去除率 ≥ 0 , 氨氮变化率 $\leq 20\%$: 7分;
			1项指标不符合: 3分
			2项及以上指标不符合: 0分
	有益昆虫	8	蜜蜂 24 小时死亡率 $\leq 10\%$, 瓢虫 7 天存活率 $\geq 90\%$: 8分;

评价类别	评价指标	权重(%)	分值计算方法
	安全性		1 项指标不符合：4 分
			2 项指标不符合：0 分
	土壤动物安全性	7	蚯蚓 48 小时死亡率 $\leq 5\%$ 且无行为异常：7 分；
			死亡率 6%~10%或有轻微行为异常：3 分
			死亡率 $>10\%$ 或有明显行为异常：0 分
	水生生物安全性	6	斑马鱼 96 小时 $LC_{50} \geq 1000\text{mg/L}$ ：6 分
			$500 \leq LC_{50} < 1000\text{mg/L}$ ：3 分
			$LC_{50} < 500\text{mg/L}$ ：0 分
	农作物安全性	8	作物出苗率差异 $\leq 5\%$ ，株高差异 $\leq 10\%$ ，产量差异 $\leq 5\%$ ，无药害：8 分
			1~2 项指标不符合：4 分
			3 项及以上指标不符合：0 分

7.3 总分计算

将各评价指标的实际得分乘以其对应权重，求和后得到微生物菌剂安全性评价总分，计算公式为：总分=Σ（指标得分×指标权重）。

8 评价结果

8.1 等级划分

根据微生物菌剂安全性评价总分，将其安全性等级分为三个级别：

a) 优秀（安全等级Ⅰ）：总分 ≥ 90 分，表明微生物菌剂在人体健康和生态环境方面均具有极高的安全性，可在推荐领域放心应用，无需额外限制条件；

b) 合格（安全等级Ⅱ）：70分 \leq 总分 < 90 分，表明微生物菌剂基本符合安全性要求，但在部分指标上存在轻微不足，应在应用过程中采取针对性控制措施，定期开展安全性监测；

c) 不合格（安全等级Ⅲ）：总分 < 70 分，表明微生物菌剂存在明显安全风险，应重新优化产品配方或生产工艺，再次开展安全性评价，直至达到合格及以上等级。

8.2 公示与追溯

要求如下：

a) 公示：每批次结果在生产单位官网或行业指定平台公示7天，公示内容包括批次号、生产企业、评价得分、评价等级等；

b) 追溯：建立完善的产品追溯体系，记录产品原料来源、生产批次、生产工艺参数、检验检测报告、销售流向等信息，追溯信息应至少保存5年，确保产品全生命周期可追溯。

8.3 复检

若生产单位对评价结果存在异议，可在收到评价报告后10个工作日内，向原检测机构提交复检申请，并说明异议理由，复检结果为最终评价结果。