

三种检测方法对样品中沙门氏菌的检测结果比较

周赞虎^{1,2} 郑天凌^{1*} 田 蕴¹ 张永祥² 杜 娟² 林俊君²

(1. 厦门大学生命科学学院 厦门 361005)

(2. 漳州出入境检验检疫局 漳州 363000)

摘 要: 本实验采用 VIDAS、API 20E 和 SN 0170-92 三种不同的检测方法对 CNCA 举行的食品中常见致病菌能力验证计划中提供的一份盲样进行检验, 总结对比了 3 种不同检验方法对沙门氏菌检测的各自优缺点。

关键词: VIDAS, SN 0170-92, API 20E, 沙门氏菌

Comparison of the Detection Result of Salmonellae in Samples by Three Methods

ZHOU Zan-Hu^{1,2} ZHENG Tian-Ling^{1*} TIAN Yun¹
ZHANG Yong-Xiang² DU Juan² LIN Jun-Jun²

(1. School of Life Science, Xiamen University, Xiamen 361005)

(2. Zhangzhou Entry-exit Inspection & Quarantine Bureau, Zhangzhou 363000)

Abstract: A Salmonellae sample offered by CNCA was detected by VIDAS, API 20E and SN 0170-92 respectively in the experiment. Each detected methods' advantages and disadvantages was discussed in the paper.

Keywords: VIDAS, SN 0170-92, API 20E, Salmonellae

沙门氏菌主要通过动物的消化道传染致病, 可引起伤寒与副伤寒(统称肠热症)、食物中毒、败血症、慢性肠炎等。由于沙门氏菌在自然界广泛存在, 且对人类的健康具有很大的威胁, 故在卫生检测要求中, 世界各国普遍规定食品中不得检出沙门氏菌。目前常用的检测方法有: 利用生化反应的常规检验方法, 如国标法(GB)^[1]和进出口商品检验行业标准(SN)^[2]等; 利用酶联免疫技术的 VIDAS 法^[3]等; 还有利用分子生物学如 PCR 法^[4]等。各种方法都存在一定的利弊, 本实验室在 2006 年的 CNCA “食品中常见致病菌能力验证(CNCA-06-02)” 中应用

VIDAS、SN 0170-92 和 API 20E 3 种不同的检测方法检出了 1 例沙门氏菌, 现报告如下:

1 材料与方法

1.1 仪器设备及试剂

1.1.1 VIDAS 法: mini-VIDAS 由法国生物梅里埃公司制造, VIDAS SLM 试剂盒及 M 肉汤也由法国生物梅里埃公司提供。

1.1.2 API 20E 法: API LAB 软件一套, API 20E 试剂盒由法国生物梅里埃公司制造提供。

1.1.3 SN 0170-92 法: 所需的常规培养基、生化试

* 通讯作者: Tel: 0596-2226653; 信箱: zzh_523@163.com

收稿日期: 2007-09-20; 接受日期: 2007-11-29

剂和血清等均由北京陆桥技术有限责任公司生产提供。

1.2 检验依据

SN 法依据 SN 0170-92。

VIDAS 法的操作按厂家规定的操作方法程序执行。

API 20E 法的操作按厂家规定的操作方法程序执行。

1.3 测试步骤

1.3.1 SN 0170-92 测试步骤 详见出口食品沙门氏菌属检验方法^[2]。

1.3.2 VIDAS 法检测步骤: 1) 前增菌: 无菌操作取 25 g 样品于 225 mL 缓冲蛋白胨水(BP)中, 37 培养 24 h。2) 选择性增菌: 从前增菌液中取 10 mL 加入到 100 mL 四硫磺酸钠煌绿增菌液 (TTB)中, 42 培养 6 h~8 h。3) 后增菌: 从四硫磺酸钠煌绿增菌液中取 1 mL 增菌液转接到 10 mL M 肉汤, 42 培养 18 h。4) 样品处理: 从 M 肉汤中取 1 mL 加入洁净的空试管, 100 水浴 15 min。4 保存剩余 M 肉汤以便对 VIDAS 沙门氏菌测定阳性结果进行确证。5) 上机检测: 从水浴后的 M 肉汤中取 0.5 mL 培养液, 加入 VIDAS 检测试剂条的加样孔内, 上机检测,

45 min 后仪器直接打印出检测结果。

1.3.3 API 20E 法检测步骤: 1) 前增菌和选择性增菌: 同 1.3.2 的(1)、(2)。2) 分离培养: 无菌操作, 用接种环挑取选择性增菌培养液, 分别划线于亚硫酸铋琼脂平板和胆硫乳琼脂平板各一个, 37 培养 24 h ± 2 h。3) 从分离平板挑取可疑单菌落制成菌悬液, 按操作说明书指导分别滴加于 API 20E 试剂条各个微量生化管内, 37 培养 24 h ± 2 h。4) 滴加附加试剂, 判断各生化管的反应结果是阳性还是阴性, 并转化成相关的读数。5) API LAB 软件分析得出最终结果。

2 结果和讨论

2.1 结果

3 种方法检测结果如下:

SN 0170-92 法检测结果为三糖铁琼脂斜面产碱、底层产酸、产气、不产硫化氢, 赖氨酸脱羧酶试验、尿素酶试验、V-P 试验、氰化钾试验、吲哚试验、丙二酸钠试验、卫矛醇试验均为阴性, 血清学试验结果为“O”因子血清分群阳性, 最后结果判定为沙门氏菌阳性。

API 20E 法鉴定结果见表 1。

表 1 样品在 API-20E 试条中的生化反应结果

Table 1 The biochemical result of the sample with API-20E system

ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO
-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX							
+	+	-	+	-	+	-							

API LAB 软件分析结果为: 甲型副伤寒沙门氏菌; %id 为 99.5, T 值为 1, 很好的鉴定结果。

VIDAS 法仪器输出的判定结果为沙门氏菌阳性。

3 种方法优劣对比如下:

准确性: SN 法和 VIDAS 法均为沙门氏菌阳性(鉴定到种), API 20E 法结果为甲型副伤寒沙门氏菌(不但鉴定到种还直接鉴定到型)。

时耗: SN 法耗费时间约为 100 h 左右; API 20E 经历了增菌-分离培养-生化试验(试剂条)-API LAB 软件分析共需约 73 h; VIDAS 只需经历增菌-样品处理(100 15 min)-上机, 耗费时间约为 49 h

即检测出结果。如果扣除各种方法前面的增菌步骤所耗费的时间(都在 48 h 左右), 差异更加明显: SN 法约 73 h>API 20E 约 49 h>VIDAS 只需约 1h(如果包含后增菌步骤也只需 19 h)。

检测步骤: 除去各种方法都要的增菌培养外, SN 法最终的结果是经历了增菌-分离培养-筛选试验-生化试验-血清学检测, API 20E 经历了增菌-分离培养-生化试验(试剂条)-API LAB 软件分析, VIDAS 只需经历增菌-样品处理(100 15 min)-上机。

2.2 讨论

目前, 我国出入境检验检疫行业标准中的沙门

氏菌检验方法(SN 0170-92)是依靠生化反应和血清学反应对沙门氏菌进行检验鉴定,不但检测周期长、而且生化试验程序复杂、所需试剂繁多。API 20E基本延续了传统方法,但在生化试验上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,一次性的完成了所有的生化试验。VIDAS则是采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时,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;VIDAS法已经获得了美国FDA认可。

以上3种沙门氏菌检测方法,VIDAS法操作步骤最简单,时耗最短,效率最高,而且该法不需纯培养,不容易出现漏检,但其仪器设备和耗材都较贵,而且据美国官方分析化学师协会(Association of Official Agricultural Chemists,简称AOAC)的报告^[3]称,VIDAS法检测沙门氏菌具有一定的假阳性,阳性结果一般需用传统方法确认;API 20E法集约化了

SN 0170-92法的生化试验和后续的血清学反应,而且可以直接鉴定到型,在步骤、时耗、效率上在3种方法中居中,但更精确;SN 0170-92法操作步骤最繁,时耗最长,效率最低,但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。

参 考 文 献

- [1] 食品卫生微生物学检验-沙门氏菌检验. GB/T 4789.4-2003. 中华人民共和国国家标准.
- [2] 出口食品沙门氏菌属(包括亚利桑那菌)检验方法. SN 0170-92. 中华人民共和国进出口商品检验行业标准.
- [3] 焦彦朝译,连宾校. 食品中沙门氏菌酶联免疫荧光分析(VIDAS SaImonella[SLM] Assay)筛选方法. 口岸卫生控制, 2001, 6(4): 44-46.
- [4] 陈弟诗,郭万柱,徐志文,等. 猪霍乱沙门氏菌的分离与鉴定以及PCR检测方法的建立. 安徽农业科学, 2007, 35(20): 6020-6023.



编辑部公告

中国科学院微生物研究所期刊广告部成立

中国科学院微生物研究所期刊广告部于2007年3月正式成立,已取得北京市工商行政管理局正式批准的广告经营许可证(京海工商广字第8107号)。广告部代理《生物工程学报》、《微生物学报》、《微生物学通报》、《菌物学报》四个期刊的广告经营业务,此四种期刊均为中国自然科学核心期刊,国内外公开发行,主要报道微生物学和生物技术领域的最新研究成果和研究动态,已被美国化学文摘(CA)、生物学文摘(BA)、医学索引(MEDLINE)、俄罗斯文摘杂志(AJ)及《中国学术期刊文摘》、《生物学文摘》等国内外著名数据库和检索期刊收录,是促进国内外学术交流的重要科技期刊。

广告刊登内容主要包括大型生化仪器(如显微镜、离心机、色谱仪、无菌操作台、大、中、小型发酵罐)、设备耗材(如PCR仪、细胞生物反应器、微量移液器、离心管、杂交膜)及生化试剂(如各种酶、载体、试剂盒)等的产品宣传信息,也可以发布生物技术人才招聘信息、会议消息、以及与生命科学有关的各类服务信息。广告部以严谨、诚信为原则,愿与从事生物技术产品生产与销售各类厂商和公司精诚合作,共同发展。如有刊登广告的需要,欢迎与我们电话或email联系获取各刊版位及报价信息!也可以登陆各刊网站,了解更多详情。

提 示:从2007年起,各公司与此四刊签订的广告费用请汇入以下新账号:

收款单位:中国科学院微生物研究所

开户银行:中国工商银行北京分行海淀西区支行

帐 号:0200004509089117425

中国科学院微生物研究所·期刊广告部

联系电话:010-64807336;010-64807521

联系人:武文 王闯

电子信箱:gg@im.ac.cn

网 址:http://journals.im.ac.cn