

金黄色葡萄球菌两种检测方法的比较研究

谭静, 平洋, 朱海华*

(河南省商业科学研究所有限责任公司, 郑州 450002)

摘要: **目的** 比较 Baird-Parker 平板计数法和 3M Petrifilm™ 测试片法检测金黄色葡萄球菌的优缺点。**方法** 采用 GB 4789.10-2010《食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验》、SN/T 1895-2007《食品中金黄色葡萄球菌的快速计数法 Petrifilm™ 测试片法》检测金黄色葡萄球菌悬液, 并对结果进行分析比较。**结果** 在高浓度菌液(10^2 CFU/mL)时, 国标法和测试片法检测金黄色葡萄球菌有显著差异, 测试片法计数较困难, 国标法检测结果值更准确, 但测试片法在简便性、检测时间等方面都优于 Baird-Parker 法。**结论** 对不同样品进行检测时应注意根据实际金黄色葡萄球菌污染程度选择合适的方法。

关键词: 金黄色葡萄球菌; Baird-Parker 平板计数法; 3M 测试片法; 方法比较

Comparative study of 2 kinds of detection methods for *Staphylococcus aureus*

TAN Jing, PING Yang, ZHU Hai Hua*

(Henan Commerce Science Institute Co., Ltd., Zhengzhou 450002, China)

ABSTRACT: Objective To compare the advantages and disadvantages of Baird-Parker plate count method and 3M Petrifilm™ test piece method for the determination of *Staphylococcus aureus*. **Methods** *S. aureus* in suspension samples were determined by GB 4789.10-2010 *Food microbiology test Staphylococcus aureus* and SN/T 1895-2007 *Rapid counting method Staphylococcus aureus Petrifilm™ test piece method*, and then the results were compared. **Results** Petrifilm™ test piece method and Baird-Parker plate count method had a significant difference in high concentration of *S. aureus* (10^2 CFU/mL). Test piece method was difficult but convenient and rapid, and national standard method was more accurate. **Conclusion** Different samples should choose appropriate methods according to the practical *S. aureus* pollution situation.

KEY WORDS: *Staphylococcus aureus*; Baird-Parker plate count method; 3M Petrifilm™ test piece method; methods comparison

1 引言

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)在自然界普遍存在, 是一种引起人类和动物化脓感染的重要致病菌, 也是造成人类食物中毒的常见致病菌之一^[1,2]。近年来, 我国每年由金黄色葡萄球菌引起的食物中毒事件已居食品安全事件的第 4 位^[3], 由此加强对金黄色葡萄球菌的危害认识

和检测至关重要。国际食品微生物规格委员会(The International Food Microbiological Specifications Committee, ICMSF)已对金黄色葡萄球菌的危害度进行评估, 将其列为中度直接局部传播性病原菌。目前, 世界各国都把金黄色葡萄球菌检测列为食品卫生的法定检测项目^[4]。

目前, 金黄色葡萄球菌的检测主要采用 GB 4789.10-2010《食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验》^[5], 但是该方法检验操作繁琐、耗时

*通讯作者: 朱海华, 学士, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测与研究。E-mail: 1831950568@qq.com

*Corresponding author: ZHU Hai-Hua, Bachelor, Engineer, Henan Commerce Science Institute Co., Ltd., Zhengzhou 450002, China. E-mail: 1831950568@qq.com

长,需要 2~5 天时间才能出结果。此外,金黄色葡萄球菌的快速检测方法还包括 SN/T 1895-2007(Petrifilm™ 测试片法)^[6]、免疫学方法和以核酸为基础的分子生物学方法^[7]。

近年来,金黄色葡萄球菌的快速检测及其自动化研究进展迅速,美国 3M 公司研制出一种被诸多国际权威组织认证的标准化测试方法^[7-13]——3M Petrifilm™ 金黄色葡萄球菌测试片法,此方法采用纸片、膜和胶片等作为培养基载体,将特定的培养基和显色物质附着在上面,通过观察金黄色葡萄球菌在测试片上的生长、显色来测定食品中的金黄色葡萄球菌^[14,15],该方法正逐渐被食品检测机构和实验室人员所使用。本研究将 3M Petrifilm™ 测试片法和 Baird-Parker 平板计数法进行对比分析,旨在探求一种适应食品微生物实验室检验要求的快速准确的检测方法,以期金黄色葡萄球菌的检测工作提供参考。

2 材料与方 法

2.1 材 料

金黄色葡萄球菌菌株 ATCC6538 由本实验室提供。

平板计数琼脂、7.5%NaCl 营养肉汤、BHI 肉汤、Baird-Parker 琼脂基础、卵黄亚硝酸钾增菌剂、兔血浆,均购自青岛海博生物技术有限公司; Petrifilm™-6491 金黄色葡萄球菌测试片、Petrifilm™-6493 金黄色葡萄球菌确认反应片,均购自美国 3M 公司。

LABPower I 型红外接种环灭菌器,购自广州海太光电生物科技有限公司; DNP-9172 型电热恒温培养箱,购自上海光学仪器五厂。

2.2 实验方法

2.2.1 金黄色葡萄球菌国际检测方法

参照 GB 4789.10-2010《食品安全国家标准 食品微生物学检验金黄色葡萄球菌检验》第二法^[5]。标准菌液的制备如下:

取-70℃保存于瓷珠保存管的金黄色葡萄球菌,转种至第二代营养琼脂斜面,用 0.85%的生理盐水进行稀释,制备的菌液浓度大约为 1.3×10^9 的菌悬液,再用 0.85%的生理

盐水稀释。

2.2.2 金黄色葡萄球菌快速检测方法

参照 SN/T 1895-2007《食品中金黄色葡萄球菌的快速计数法 Petrifilm™ 测试片法》^[6]进行。

2.2.3 两种方法比较

采用国标法和 3M 测试片法对金黄色葡萄球菌进行检测,结果分析所参照的判断标准如表 1 所示。

表 1 两种检测方法的检验流程及典型菌落形态

Table 1 Inspection process and the typical colony morphology of 2 kinds of detection methods

项目	GB 4789.10-2010 (国标法)	SN/T 1895-2007 (测试片法)
加样量	0.3、0.3 和 0.4 mL	1 mL
培养基	Baird-Parker 琼脂	Petrifilm™ 测试片
培养条件	(36±1)℃, 2 d	(36±1)℃, (24±2) h
菌落形态	黑色或灰色菌落	紫红色菌落

3 结果与分析

3.1 $10^0 \sim 10^2$ CFU/mL 稀释度下的金黄色葡萄球菌悬液结果

选用 $10^0 \sim 10^2$ CFU/mL 3 个稀释度的金黄色葡萄球菌悬液的检验结果见表 2。由表 2 可知,在 10^2 CFU/mL 浓度时 2 种方法的平均值相差较大。

3.2 10^2 CFU/mL 浓度下的金黄色葡萄球菌悬液结果

增加 10^2 CFU/mL 浓度的平行试验,经 2 种方法检测的平行结果见表 3。利用 Excel 对 2 种方法在 3 个梯度下运用统计学进行方差分析,在 10^2 CFU/mL 高浓度时,GB 4789.10-2010($P < 0.05$)与 SN/T 1895-2007($P > 0.05$)方法的检测结果有显著差异。另外 GB 4789.10-2010^[5]的计数结果较高。在低浓度菌液(10^0 CFU/mL)时,国标法已经无法检测到金黄色葡萄球菌的存在,而测试片法基本都能检测到金黄色葡萄球菌的存在,灵敏度更高。

表 2 两种方法的检测结果比较

Table 2 Comparison of detection results of 2 kinds of methods

试验序号	10^2 国标法	10^2 测试片法	差值 d_1	10^1 国标法	10^1 测试片法	差值 d_2	10^0 国标法	10^0 测试片法	差值 d_3
1	143	43	100	14	10	4	0	0	0
2	119	45	74	10	12	2	0	1	1
3	133	53	80	12	13	1	0	2	2
4	136	42	94	14	15	1	0	1	1
平均值	133	46	87	13	13	2	0	1	1

表 3 10^2 CFU/mL 金黄色葡萄球菌悬液的检测结果
Table 3 Results of *S. aureus* at the suspension concentration of 10^2 CFU/mL

试验序号	GB 4789.10-2010/ (CFU/mL)	SN/T1895-2007/ (CFU/mL)
1	159, 162	57, 63
2	147, 153	65, 55
3	162, 159	45, 50
平均值	157	56

4 讨 论

在高浓度菌液(10^2 CFU/mL)时, 国标法和测试片法检测金黄色葡萄球菌有显著差异, 测试片法计数较困难, 国标法检测结果值更准确。在低于 10^2 CFU/mL 浓度时, 2 种方法测定结果无明显差异; 在低浓度菌液 10^0 时, 国标法已经无法检测到金黄色葡萄球菌的存在, 而测试片法基本能检测到金黄色葡萄球菌的存在, 说明在该试验因素下国标法的灵敏度比较低。

从 2 种方法检测金黄色葡萄球菌的各项指标比较来看, 测试片法在简便性、检测时间等方面都优于国标的 Baird-Parker 法, 而且 3M 测试片的检测方法拥有国际化的认证体系, 目前已得到包括美国 FDA、AOAC 和 AFNOR 在内的国际权威机构的认证, 但由于测试纸片目前基本全部依靠进口, 导致其成本要比国标的 Baird-Parker 法高, 从而在某种程度上制约了其应用。

在实际的检测工作中, 对不同样品进行检测时应注意根据实际金黄色葡萄球菌污染程度选择合适的方法, 这样既可提高检测速度, 又可确保检测结果的准确性。

参考文献

- 凌秀梅, 陈礼玲, 张敏, 等. TEMPO/STA 法与 Baird-Parker 平板计数法测定食品中金黄色葡萄球菌的比较研究[J]. 食品科学, 2013, (20): 246-249.
Ling XM, Chen LL, Zhang M, et al. TEMPO/STA method and Baird-Parker in food plate count method, comparative study of *Staphylococcus aureus* [J]. Food Sci, 2013, (20): 246-249.
- 梁景涛, 谢翊, 林秋芬, 等. 3 种食品中金黄色葡萄球菌检测方法的比较研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, (4): 790-791.
Liang JT, Xie Y, Lin QF, et al. Three kinds of *Staphylococcus aureus* in food detection method of comparative study [J]. Chin J Health Lab Technol, 2010, (4): 790-791.
- 韩琰旭. 金黄色葡萄球菌检测方法概论[J]. 食品安全导刊, 2012, (1): 26-27.
Han YX. Introduction to *Staphylococcus aureus* detection [J]. Food Saf Trib, 2012, (1): 26-27.
- 刘海卿, 余之蕴, 陈丹玲, 等. 金黄色葡萄球菌三种定量检验方法的比较[J]. 食品研究与开发, 2014, (13): 113-115.
Liu HQ, Yu ZY, Chen DL, et al. *Staphylococcus aureus* the comparison of three methods of quantitative test [J]. Food Res Dev, 2014, (13): 113-115.
- GB 4789.10-2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验[S].
GB 4789.10-2010 National Food Safety Standards-Food microbiology test *Staphylococcus aureus* inspection [S].
- SN/T 1895-2007 食品中金黄色葡萄球菌的快速计数法 Petrifilm™ 测试片法[S].
SN/T 1895-2007 Food rapid counting method *Staphylococcus aureus* Petrifilm™ test piece method [S].
- 张颖. 金黄色葡萄球菌快速检测方法的研究进展[J]. 中国动物保健, 2014, (6): 17-19.
Zhang Y. The research progress of rapid detection method of *Staphylococcus aureus* [J]. China Anim Health, 2014, (6): 17-19.
- 黄岭芳, 赖卫华, 张莉莉. 食品中金黄色葡萄球菌快速检测方法的研究进展[J]. 食品与机械, 2009, (6): 181-185.
Huang LF, Lai WH, Zhang LL. *Staphylococcus aureus* in food research progress of rapid detection method [J]. Food Mach, 2009, (6): 181-185.
- 李彦娟, 李纯厚, 赵喜红, 等. 金黄色葡萄球菌检测方法的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2012, (16): 8927-8931, 8940.
Li YM, Li CH, Zhao XH, et al. The research progress of *Staphylococcus aureus* detection method [J]. Anhui Agric Sci, 2012, (16): 8927-8931, 8940.
- 谢范英. 食品中金黄色葡萄球菌定量检测方法比较研究[J]. 现代商贸工业, 2014, (17): 197-198.
Xie FY. *Staphylococcus aureus* in food quantitative test method of comparative study [J]. Mod Trade Ind, 2014, (17): 197-198.
- 曹建平, 韩丹, 王健. 食品中金黄色葡萄球菌定量检测方法比较研究[J]. 安徽农业科学, 2015, (8): 242-245.
Cao JP, Han D, Wang J. *Staphylococcus aureus* in food quantitative test method of comparative study [J]. Anhui Agric Sci, 2015 (8): 242-245.
- 何晓玲. 食品中金黄色葡萄球菌定量检测方法比较研究[J]. 福建分析测试, 2014, (4): 25-28.
He XL. *Staphylococcus aureus* in food quantitative test method of comparative study [J]. Fujian Anal Test, 2014, (4): 25-28.
- 张琳, 李敏, 于莉, 等. 食品中金黄色葡萄球菌检测方法的比较研究[J]. 食品工业科技, 2006, (6): 166-169.
Zhang L, Li M, Yu L, et al. Comparative study of *Staphylococcus aureus* in food detection method [J]. Food Ind Sci Technol, 2006, (6): 166-169.
- 杜洪利, 张双双, 欧旭, 等. 金黄色葡萄球菌检测技术研究进展[J]. 食品与发酵科技, 2009, (5): 12-14.
Du HL, Zhang SS, Ou X, et al. *Staphylococcus aureus* detection technology research progress [J]. Food Ferment Technol, 2009, (5): 12-14.
- 高路, 何聪芬, 李萌, 等. 金黄色葡萄球菌快速检测技术的研究进展[J]. 食品科学技术学报, 2014, (2): 51-55.
Gao L, He CF, Li M, et al. The research progress of rapid detection technology of *Staphylococcus aureus* [J]. J Food Sci Technol, 2014, (2): 51-55.

(责任编辑: 姚菲)

作者简介



谭 静, 学士, 助理工程师, 主要研究方向为食品安全检测与研究。
E-mail: 790023380@qq.com



朱海华, 学士, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测与研究。
E-mail: 1831950568@qq.com

“功能性食品微生物”专题征稿函

随着经济的发展和人们生活水平的不断提高, 人们对食品的要求已从单纯的温饱转向了“功能、营养和健康”的新要求; 膳食结构和组成是影响健康和疾病发生的重要因素, 在人们多年以来追求中医、西医或中西医结合预防和治疗疾病模式外, 渐渐转“医补”为“食疗”, 期望利用食品的功能性达到促进健康和干预疾病的目的。因此, 以功能性食品微生物为核心的功能性食品如益生菌、微生物源 PUFA、红曲等已逐渐深入人心, 这也推动了功能性食品微生物资源开发与应用的的发展。在 21 世纪生物技术大发展的时代背景下, 利用食品微生物的特定功能性质, 开发系列健康的功能食品成为重要的发展趋势。目前, 以功能性微生物为核心的技术与产品已广泛用于食品、保健品、医药和饲料行业, 应用前景十分广阔。

功能性食品微生物是一类通过菌体细胞或代谢产物能够赋予食品具有特定功能性质、或者显著改进和优化食品制造工艺的微生物。鉴于此, 本刊特别策划了“功能性食品微生物”专题, 由江南大学食品学院的陈卫教授担任专题主编, 围绕(1)功能性食品微生物的资源发掘、高效筛选、分离鉴定, (2)功能性食品微生物的生物性质、功能机理与作用机制, (3)基于功能性食品微生物的食品生物加工与制造的基础和应用研究, (4)功能性食品微生物的评价与优化等进行论述, 预计 2016 年 8 月见刊。

本刊主编吴永宁研究员及专题主编陈卫教授特请您为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述、实验报告、研究论文均可, 请在 2016 年 7 月 10 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并优先发表。

感谢您的参与和支持!

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

E-mail: jfoodsq@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部