

BAX Q7 系统快速检测食品中金黄色葡萄球菌 效果验证

李寅生¹, 王璐², 张懿雪², 高美玲^{2*}

(1. 大连市药品检验所, 大连 116000; 2. 大连工业大学食品学院, 大连 116034)

摘要: **目的** 验证 BAX Q7 全自动病原菌检测系统快速检测食品中金黄色葡萄球菌的效果, 以强化食品检验机构对金黄色葡萄球菌的快速检测能力和推进快速检测技术的有效应用。**方法** 通过 BAX Q7 全自动病原菌检测系统和 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》2种方法同步检测定量污染的样品, 比较2种方法的检测结果的符合率和灵敏度。**结果** 采用2种方法对24份样本检测的结果基本一致, 金黄色葡萄球菌检测符合率均为100%, 但BAX Q7实时荧光定量PCR法相比国家标准方法检出时间缩短4~6 h, 具有更高的灵敏度, 而且操作简便快速。**结论** BAX Q7实时荧光定量PCR系统能在食品安全突发事件中快速锁定病原菌, 为溯源调查指明方向, 应用于食品中金黄色葡萄球菌的快速检测合理可行。**关键词:** BAX Q7 全自动病原菌检测系统; 金黄色葡萄球菌; 国家标准方法; 快速检测

Validation of BAXQ7 system for rapid detection of *Staphylococcus aureus* in food

LI Yin-Sheng¹, WANG Lu², ZHANG Yi-Xue², GAO Mei-Ling^{2*}

(1. Dalian Institute for Drug Control, Dalian 116000, China; 2. School of Food Science and Technology, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China)

ABSTRACT: Objective To verify the effect of BAX Q7 automatic pathogen detection system for rapid detection of *Staphylococcus aureus* in food, in order to strengthen the rapid detection ability of food inspection institutions for *S. aureus* and promote the effective application of rapid detection technology. **Methods** The BAX Q7 automatic pathogen detection system and GB 4789.10-2010 *National food safety standard-Food microbiology examination-Staphylococcus aureus* were used to quantitatively detect the food contaminated by *S. aureus* simultaneously, and the coincidence rate and sensitivity of the detection results of the two methods were compared. **Results** The detection results of 24 samples were basically the same using the two methods. The coincidence rate of *S. aureus* detection was 100%, but the detection time of the BAX Q7 real-time quantitative PCR method was 4-6 h, shorter than that of the national standard method, and BAX Q7 had higher sensitivity, specificity, simple and fast operation. **Conclusion** BAX Q7 quantitative real-time PCR system can quickly identify pathogens in food safety emergencies and indicate the direction for traceability investigations, and it is reasonable and feasible for rapid detection of *S. aureus* in food.

基金项目: 辽宁省自然科学基金指导计划项目(20180551053)

Fund: Supported by Natural Science Foundation of Liaoning Province (20180551053)

*通讯作者: 高美玲, 讲师, 主要研究方向为食源性微生物危害与控制。E-mail: gaoml@dlpu.edu.cn

*Corresponding author: GAO Mei-Ling, Lecturer, School of Food Science and Technology, National Engineering Research Center of Seafood, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China. E-mail: gaoml@dlpu.edu.cn

KEY WORDS: BAX Q7 automatic pathogen detection system; *Staphylococcus aureus*; national standard method; rapid detection

1 引言

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)检验是食品安全的重要检测项目,在我国由金黄色葡萄球菌引起的食物中毒仅次于大肠杆菌引起的食物中毒,位居第二位,占细菌性食物中毒 38%^[1-3]。因此,金黄色葡萄球菌快速检测技术是食品安全保障的重要支撑。国务院食品安全办下发的食品安全“十三五”规划中,明确提出食品安全快速检测将纳入国家实验室的能力建设中^[4]。快速检测技术是指包括配制试剂和样品制备在内,能够在短时间内出具结果的检测。快速检测技术不仅能提高微生物检测的时效性和针对性,而且是对实验室常规检测的重要补充,另外,微生物快速检测对仪器的特异性和准确性要求较高^[4-6]。

BAX Q7 是使用药片化试剂的全自动检测病原微生物 PCR 系统,检测原理基于实时荧光定量 PCR 技术直接检测目标微生物的特征基因片段,药片试剂整合了荧光探针、DNA 聚合酶、引物、dNTP 以及缓冲体系。BAX Q7 系统具有操作简便和实现高通量筛选的特点,特别适用于公共卫生事件以及大批量样品的专项检验项目,因而在国内被广泛应用于监督检验和风险评估^[7-13]。据国内相关文献报道,采用 BAX Q7 系统和传统国家标准方法对 84 份生食水产品同时进行副溶血性弧菌检测,2 种方法的符合率可达 100%^[14]。

本研究为确证采用 BAX Q7 系统和传统国家标准方法对金黄色葡萄球菌检测效果和效率,在 7.5%氯化钠肉汤培养基内接种不同数量级的金黄色葡萄球菌,以模拟不同污染程度样品的检验,通过比较 2 种方法的检测结果的符合率和灵敏度,为利用 BAX Q7 系统对食品中金黄色葡萄球菌进行快速检测应用提供依据。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

BAX Q7 全自动病原微生物快速检测系统及配套金黄色葡萄球菌检测试剂盒(美国杜邦公司); INP600 恒温培养箱(德国 Memmert 公司); AC2-4S1 生物安全柜(新加坡 ESCO 公司)。

金黄色葡萄球菌 1000 CFU/瓶定量菌株(北京三药科技开发公司);金黄色葡萄球菌菌株[CMCC(B)26003]、表皮葡萄球菌菌株[CMCC(B)26069](中检院);脑心浸液肉汤(brain heart infusion, BHI)、胰蛋白胍大豆琼脂培养基(tryptic soy agar, TSA)、胰蛋白胍

大豆液体培养基(tryptic soy broth, TSB)、Baird-Parker 培养基、血琼脂培养基、7.5%氯化钠肉汤培养基(北京陆桥技术股份有限公司);冻干兔血浆(青岛海博生物技术有限公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 菌悬液制备

取金黄色葡萄球菌定量菌株(标示量 1000 CFU/瓶),加入 2 mL 生理盐水至菌种瓶内,振摇使冻干微球完全溶解制得浓度为 100~1000 CFU/mL 的菌悬液,将菌悬液用生理盐水进行 10 倍稀释,制得浓度为 10~100 CFU/mL 的菌悬液,再次将菌悬液进行 10 倍稀释制得浓度为 1~10 CFU/mL 的菌悬液。

2.2.2 培养与取样

取上述 3 种不同浓度的菌悬液各 1 mL 分别接种至盛有 225 mL 7.5%氯化钠肉汤的均质袋中,混匀。将均质袋置 36 °C 培养箱中培养,每 2 h 取培养液 1 mL,分别用 2 种方法进行检测。

2.2.3 国家标准方法检测

取样所得培养液按照 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》^[15]中规定的方法进行检测。

2.2.4 BAX Q7 检测

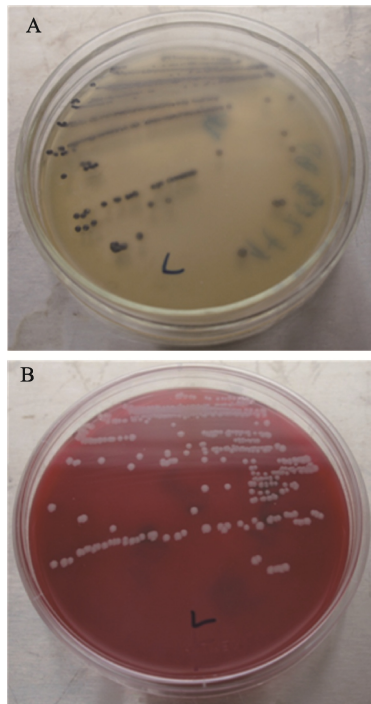
取 4 mL 裂解缓冲液加入 50 μ L 蛋白酶配制成裂解液,将取样所得培养液 5 μ L,加入到 200 μ L 裂解液中,经 55 °C 裂解 60 min,95 °C 灭活蛋白酶 10 min,4 °C 冷却 5 min 获得样品裂解液。

取出试剂盒中 PCR 管放入冷冻模块中,开盖确定管内含有药片(包含荧光定量 PCR 反应所需全部试剂)。取 30 μ L 样品裂解液加入到 PCR 管中,待药片充分溶解后盖上光学盖,将 PCR 管放入 BAX Q7 样品架内,将样品架推入主机后在系统中选择 real-time PCR 模式进行检测^[16]。

3 结果与分析

3.1 国家标准方法检测结果

金黄色葡萄球菌在 Baird-Parker 培养基和血琼脂培养基上菌落形态如图 1(A)和(B)所示。国家标准检测方法检出时间见表 1。结果表明,初始接种量 1~10 CFU 的样本培养至 14 h 可检测到阳性结果;初始接种量 10~100 CFU 的样本培养至 12 h 可检测到阳性结果;初始接种量 100~1000 CFU 的样本培养至 8 h 可以检测到阳性结果。



注: A: Baird-Parker 培养基; B: 血琼脂培养基。

图 1 金黄色葡萄球菌的菌落形态

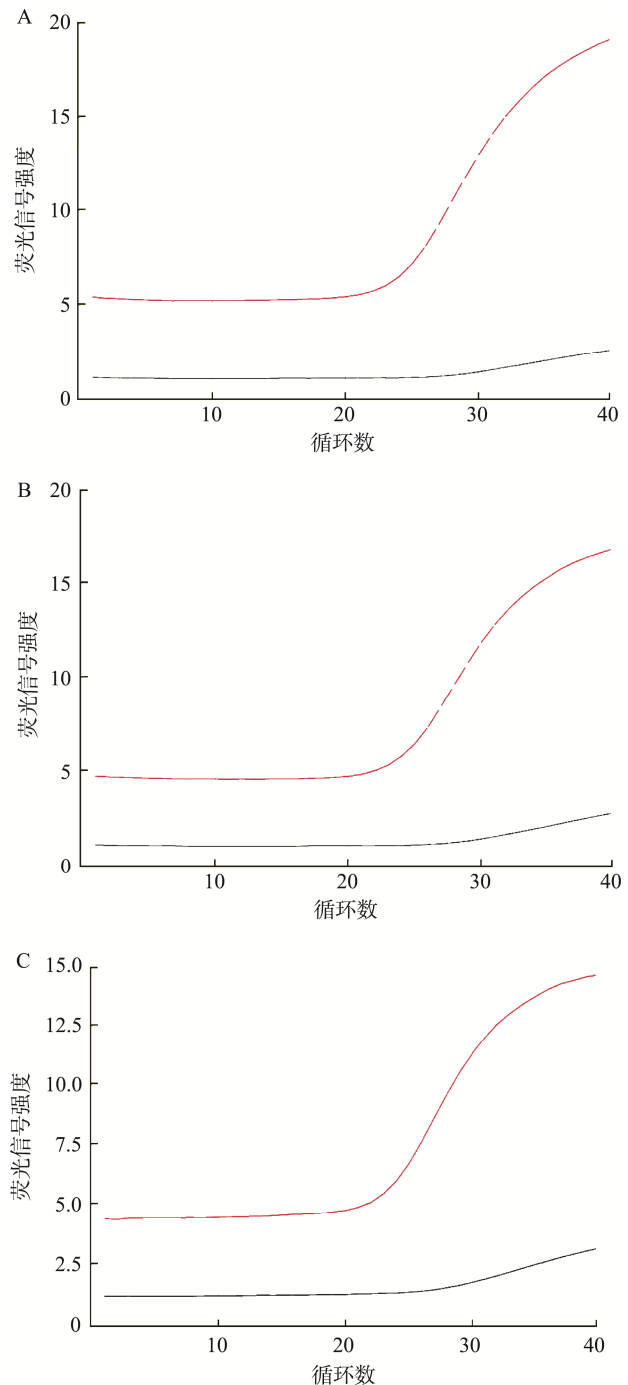
Fig.1 The colony morphology of *Staphylococcus aureus*

表 1 国家标准方法检测金黄色葡萄球菌结果统计
Table 1 Result of detecting *Staphylococcus aureus* by GB method

接菌量 /CFU	培养时间/h							
	2	4	6	8	10	12	14	16
1~10	-	-	-	-	-	-	+	+
10~100	-	-	-	-	-	+	+	+
100~1000	-	-	-	+	+	+	+	+

3.2 BAX Q7 实时荧光定量 PCR 法检测结果

BAX Q7 实时荧光定量 PCR 扩增曲线如图 2 所示, 图中黑色曲线代表 BAX Q7 系统自带的内部对照, 黑色曲线出现说明实验结果是可信的; 红色曲线代表金黄色葡萄球菌的扩增曲线, 样品中如果含有大于检出限的金黄色葡萄球菌模板, 会在 20~40 C_t 值区间出现显著的荧光信号增强, 在 C_t 值越低的位置出现荧光信号增强, 则表明起始样品中阳性模板量越高。初始接种量为 1~10 CFU 的样本培养至 10 h 可检测到阳性结果(图 2 A), 初始接种量为 10~100 CFU 的样本培养至 6 h 可检测到阳性结果(图 2 B), 结合表 2 结果统计, 可见 BAX Q7 系统检出时间缩短了 4 h, 当初接种量为 100~1000 CFU 的样本培养至 2 h 可以检测到阳性结果(图 2 C)。由上述结果表明, 初接种量越大 BAX Q7 系统检出所用时间越短, 灵敏度越高。



注: A: 初始接种量 1~10 CFU 的样本培养至 10 h; B: 初始接种量 10~100 CFU 的样本培养至 6 h; C: 初始接种量 100~1000 CFU 的样本培养至 2 h。

图 2 BAX Q7 实时荧光定量 PCR 检测金黄色葡萄球菌扩增结果
Fig.2 Results of BAX Q7 Real-time PCR to detect *Staphylococcus aureus*

3.3 2 种检测方法结果比对

由表 3 可知, 不同样本采取 BAX Q7 荧光定量 PCR 法检验金黄色葡萄球菌, 灵敏度均高于国家标准方法。初

始染菌量越高荧光定量 PCR 法相对国家标准方法缩短检出时间越明显。

表 2 BAX Q7 实时荧光定量 PCR 法检测金黄色葡萄球菌结果
Table 2 Result of detecting *Staphylococcus aureus* by BAX Q7 quantitative real-time PCR

接菌量 /CFU	培养时间/h							
	2	4	6	8	10	12	14	16
1~10	-	-	-	-	+	+	+	+
10~100	-	-	+	+	+	+	+	+
100~1000	+	+	+	+	+	+	+	+

表 3 2 种方法检测时间的比较(h)
Table 3 Comparison of detection time between 2 methods(h)

接菌量/CFU	国家标准方法	BAX Q7 实时荧光定量 PCR 法
1~10	14	10
10~100	12	6
100~1000	8	2

4 结论与讨论

本研究中采用 BAX Q7 系统和国家标准方法对 24 份样本进行同步检测, 2 种方法结果符合率为 100%, 与国内相关文献报道的实时荧光定量 PCR 法和国家标准方法检测阳性符合率结果一致。BAX Q7 实时荧光定量 PCR 法相对国家标准方法具有更高的灵敏度, 检出时限能缩短 4~6 h, 初始染菌量越高检出效率提升越明显。由于 BAX Q7 荧光定量 PCR 技术是针对金黄色葡萄球菌核酸片段进行检测, 对于死亡的菌或者活力弱的菌, 仍可被检测到, 而国家标准方法则只能检出活力强的菌。

在实际检验工作中, BAX Q7 系统检测阳性结果不能作为报告依据, 因而不能完全代替传统检测方法。在应对突发事件的检测中应将两种检测方法结合起来, 先以 BAX Q7 系统进行快速筛选, 筛除阴性结果的样品, 阳性结果样品再继续进行传统的分离鉴定。2 种方法结合使用既能节省人力物力, 又能有效提高阳性样品检出率同时增强检测结果时效性。

参考文献

- [1] 邓晓丽, 许航, 遇婷, 杜邦. BAX Q7 在食品检测中应用效果的验证[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(7): 956-957, 964.
Deng XL, Xu H, Yu T. Test of DuPont BAX Q7 application effect in food detection [J]. Chin J Health Lab Technol, 2014, 24(7): 956-957, 964.
- [2] 赵丽元, 陈莹莹, 丁红雨. 生食水产品中金黄色葡萄球菌和副溶血性弧菌的监测[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(12): 4826-4831.

- Zhao LY, Chen YY, Ding HY. Monitoring of *Staphylococcus aureus* and *Vibrio parahaemolyticus* in edible raw aquatic products [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(12): 4826-4831.
- [3] 周勇, 张晶, 侯水平, 等. 食品中大肠杆菌 O157:H7 的几种检测方法的比较[J]. 中国食品卫生杂志, 2012, 24(1): 27-30.
Zhou Y, Zhang J, Hou SP, et al. Comparison of methods detecting *Escherichia coli* O157:H7 in foods [J]. Chin J Food Hyg, 2012, 24(1): 27-30.
- [4] 张新军, 孙艳潇. 能力验证中金黄色葡萄球菌定量检验的实验过程及经验[J]. 现代食品, 2019, (22): 187-189.
Zhang XJ, Sun YX. The Experimental process and experience of quantitative detection of *Staphylococcus aureus* in capacity verification [J]. Mod Food, 2019, (22): 187-189.
- [5] 钟军华. 食品中金黄色葡萄球菌检测方法的比较研究[J]. 现代食品, 2019, (23): 147-148, 152.
Zhong JH. Comparative study on detection methods of *Staphylococcus aureus* in food [J]. Mod Food, 2019, (23): 147-148, 152.
- [6] 戴昌芳, 方悦怡, 严纪文, 等. 生食水产品常见病原微生物污染与安全性评价[J]. 中国公共卫生, 2006, 22(4): 449-450.
Dai CF, Fang YY, Yan JW, et al. Evaluation of contaminative status and safety of prevalent pathogenic organisms in edible raw aquatic products [J]. Chin J Publ Health, 2006, 22(4): 449-450.
- [7] 林铁豪, 朱文娟, 苟强, 等. 广东省 2010 年生食水产品食源性致病菌污染及安全性评价[J]. 旅行医学科学, 2011, (6): 36-39.
Lin TH, Zhu WJ, Gou Q, et al. Evaluation of contaminative status and safety of food-borne pathogens in edible raw aquatic products in Guangdong in 2010 [J]. Sci Tra Med, 2011, (6): 36-39.
- [8] 张红芝, 顾其芳, 刘弘, 等. 副溶血性弧菌的添加内标的 PCR 检测方法的建立及评价[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(4): 921-924.
Zhang HZ, Gu QF, Liu H, et al. Development and evaluation of PCR with internal control in detecting *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Chin J Health Lab Technol, 2011, 21(4): 921-924.
- [9] 木尼热·马合苏提, 向阳, 刘涛, 等. 两种细菌鉴定仪对临床分离细菌鉴定结果的对比分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 25(16): 3604-3606.
Munier M, Xiang Y, Liu T, et al. Identification of clinical isolates with two bacterial identification systems: a comparative study [J]. Chin J Nosocomiol, 2015, 25(16): 3604-3606.
- [10] 黄弦. 副溶血性弧菌检测方法评价与环境分离株携带基因特征研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2011.
Huang X. Study on the characteristics of the gene of the environmental isolates and the detection method of *Vibrio parahaemolyticus* [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2011.
- [11] 王勇. 食品中三种致病菌的快速检测方法研究[D]. 长春: 吉林大学, 2014.
Wang Y. Rapid detection method of three pathogenic bacteria in food [D]. Changchun: Jilin University, 2014.
- [12] 周晏, 周国燕, 徐斐, 等. 生食水产品中主要致病菌的半定量风险评估[J]. 食品研究与开发, 2015, 2(36): 108-114.
Zhou Y, Zhou GY, Xu F, et al. Semi-quantitative risk assessment of the main pathogens in raw-eat aquatic products [J]. Food Res Dev, 2015, 2(36): 108-114.
- [13] 韩丽娟, 遇婷, 廖文, 等. BAX 实时荧光定量 PCR 法快速检测水产品

中副溶血性弧菌[J].中国卫生检验杂志, 2016, 26(17): 2492-2493.

Han LJ, YU T, Liao W, *et al.* Rapid detection of *Vibrio parahaemolyticus* in aquatic products by BAX method [J]. Chin J Health Lab Technol, 2016, 26(17): 2492-2493.

[14] GB 4789.10-2010 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 standard-Food microbiology examination-Staphylococcus aureus* [S].

[15] George T, Bridget A, White HK, *et al.* In-house validation study of the DuPont qualicon BAX system Q7 instrument with the BAX system PCR assay for *Salmonella* (modification of AOAC Official method 2003.09 and AOAC research institute performance-Tested method 100201) [J]. J AOAC Int, 2009, 92(3).

(责任编辑: 李磅礴)

作者简介

李寅生, 硕士研究生, 主管药师, 主要研究方向为食品药品质量与安全。
E-mail: liys0308@hotmail.com

高美玲, 博士, 讲师, 主要研究方向为食源性微生物危害与控制。
E-mail: gaoml@dlpu.edu.cn

“食物过敏与食品致敏原”专题征稿函

随着科技进步和经济发展, 食品安全性受到越来越多人重视, 食物过敏这一食源性疾病已引起广大食品消费者、生产者和研究者普遍关注。食物过敏在相当程度上影响着过敏人群健康, 食物过敏性疾病的发病率明显上升, 已成为影响人类健康最常见的全球性疾病之一。

鉴于此, 本刊特别策划了“食物过敏与食品致敏原”专题, 由中国农业大学食品科学与营养工程学院车会莲老师担任专题主编, 主要围绕食物过敏的免疫学机制、致敏原的结构与致敏性、致敏原的分析检测与确证、致敏原的致敏性评价以及致敏原的风险评估与风险管理等领域展开讨论, 计划在 2020 年 6~7 月出版。

鉴于您在该领域的成就, 学报主编吴永宁研究员和专题主编车会莲老师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 2020 年 5 月 30 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

同时烦请您帮忙在同事之间转发一下, 谢谢您的参与和支持!

投稿方式(注明 2020 专题: 食物过敏与食品致敏原专题):

网站: www.chinafoodj.com(备注: 投稿请登录食品安全质量检测学报主页-作者登录-注册投稿-投稿选择“2020 专题: 食物过敏与食品致敏原”)

E-mail: jfoodsq@126.com(备注: 2020 专题: 食物过敏与食品致敏原专题投稿)

《食品安全质量检测学报》编辑部