

乳粉中沙门氏菌能力验证样品研制及应用评价

王学硕¹, 赵琳娜¹, 刘娜¹, 崔生辉^{1*}, 陈倩^{2*}

(1. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050; 2. 北京市疾病预防控制中心, 北京 100013)

摘要: **目的** 研制均一性和稳定性符合能力验证要求的沙门氏菌能力验证样品, 并应用于乳粉中沙门氏菌检测的能力验证。**方法** 选取本实验室保存的 ATCC、CMCC 标准菌株及食品中分离菌株作为能力验证样品的菌株来源, 采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱和全自动微生物分析系统进行种属确认, 并对沙门氏菌标准菌株进行血清学分型; 采用冷冻干燥技术制备沙门氏菌能力验证样品, 取阴性、阳性各 20 个能力验证样品添加灭菌乳粉基质后按照国标方法进行均匀性检验, 并参照 CNAS—GL003:2018《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》, 采用最大可能数法(most probable number, MPN)对能力验证样品进行沙门氏菌计数, 评价其储藏稳定性和运输稳定性; 根据随机数字表对阴性、阳性样本进行编码, 以防止实验室间数据串通。**结果** 乳粉中沙门氏菌检测能力验证阳性样品于-20℃保藏 12 个月、4℃保藏 7 d 后, 沙门氏菌含量仍能达到 10³ MPN/g 以上; 于 25 和 37℃保藏 7 d 后均能检出沙门氏菌, 稳定性较好。17 家实验室应用本样品进行了能力验证, 报送结果与预期一致, 结果评价均为满意。**结论** 研制的沙门氏菌能力验证样品能够满足乳粉中沙门氏菌检测能力验证的需求, 本次能力验证可以真实的反应参试实验室的检验能力。

关键词: 沙门氏菌; 能力验证样品; 乳粉

Preparation and application evaluation of *Salmonella* proficiency test samples in milk powder

WANG Xue-Shuo¹, ZHAO Lin-Na¹, LIU Na¹, CUI Sheng-Hui^{1*}, CHEN QIAN^{2*}

(1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China; 2. Beijing Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100013, China)

ABSTRACT: Objective To develop proficiency test samples of *Salmonella* with uniformity and stability meeting the requirements of proficiency test, and apply the samples to the proficiency test of *Salmonella* in milk powder. **Methods** The standard strains of ATCC, CMCC and isolated strains from food in our laboratory were selected as the source of proficiency testing samples. The species identification was carried out by matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry and automatic microbial analysis system, and the serological typing of *Salmonella* standard strains was carried out; The freeze-drying technology was used to prepare *Salmonella* proficiency test samples. After 20 negative and 20 positive proficiency test samples were added with sterilized milk

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1603900)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFC1603900)

*通信作者: 崔生辉, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: cuishenghui@aliyun.com

陈倩, 主任技师, 主要研究方向为食源性致病菌检测溯源。E-mail: chenqian9288@126.com

*Corresponding authors: CUI Sheng-Hui, Ph.D, Professor, National Institute for Food and Drug Control, Beijing 100050, China. E-mail: cuishenghui@aliyun.com

Chen Qian, Chief Technician, Beijing Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100013, China. E-mail: chenqian9288@126.com

powder matrix, the homogeneity test was carried out according to the national standard method. According to CNAS—GL003:2018 *Guidelines for the evaluation of homogeneity and stability of proficiency test samples*, the most probable number (MPN) method was used to count the *Salmonella* in the proficiency testing samples to evaluate their storage stability and transportation stability; The negative and positive samples were coded according to random number table to prevent data collusion between laboratories. **Results** The positive *Salmonella* test samples showed good stability, and could be stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 12 months and $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 7 d, the *Salmonella* content could reach more than 10^3 MPN/g; Meanwhile, after the samples were stored at 25 and $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 7 d, *Salmonella* could still be tested. Seventeen laboratories had attended proficiency testing using this sample, and the submitted results were consistent with expectations, and the proficiency test evaluation results were all satisfactory. **Conclusion** The *Salmonella* proficiency test samples can meet the requirements for the proficiency test of *Salmonella* in in milk powder. This proficiency test can reflect the real capabilities of the participating laboratories.

KEY WORDS: *Salmonella*; proficiency test samples; milk powder

0 引言

沙门氏菌是全球范围内普遍存在的引起人类感染性腹泻和食物中毒的重要食源性致病菌。我国卫计委关于 2015 年全国食物中毒事件的通报显示,微生物性食物中毒人数最多,占全年食物中毒总人数的 53.7%^[1]。在众多食源性致病微生物中,沙门氏菌因其在环境、人和养殖动物中的广泛分布,在多数食品中容易繁殖等特征成为世界各国食品安全监测的重点内容^[2]。据统计,在我国内陆地区,有 70%~80% 的细菌性食物中毒是由沙门氏菌引起的^[3],引起中毒的食品主要为肉类、蛋类和奶类等动物产品^[4]。沙门氏菌菌型繁多,且各型致病性不同,目前已知的沙门氏菌血清型有 2579 种^[5]。美国食源性疾病主动监测网络 (FoodNet) 监测报告和国家肠道细菌抗菌生物药物耐药性监测系统报告显示,引起感染的沙门氏菌主要有 5 种血清型;欧盟的类似调查中,肠炎沙门氏菌 (*Salmonella enteritidis*) 和鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella. Typhimurium*) 2 种血清型最常见^[6]。

沙门氏菌对人类可产生多种危害,如伤寒、急性肠胃炎、菌血症和败血症等^[7],是各国食品微生物检验的常规项目,也是我国食品国家安全标准中规定的检验项目之一^[8]。在实际检验中,由于干扰菌或非典型沙门氏菌的存在,往往影响对沙门氏菌的分离鉴定;而沙门氏菌的血清型由其自身存在的 3 种抗原与特异性血清发生凝集反应来进行分型,实验耗时长、操作烦琐、部分菌株还需要进行 2 次或多次诱导,这对检验人员的技术和经验提出了很大挑战^[8-11]。参加能力验证活动,可以显著提高实验室的检测水平,对实验室质量控制有着非常重要的意义^[12-13]。因此,研究并组织开展食品中沙门氏菌能力验证活动非常必要。

本研究以乳粉为基质,通过对沙门氏菌能力验证样品制备、保存条件的研究,建立了一套满足沙门氏菌能力验证需求的样品的制备方法,用于实验室的沙门氏菌检测

能力考核,以期了解当前食品检验实验室的沙门氏菌检测和血清分型能力,帮助实验室发现在沙门氏菌检测过程中可能存在的问题。

1 材料与方法

1.1 主要培养基与试剂

三段婴幼儿配方乳粉(市售);木糖赖氨酸脱氧胆酸钠(xylose lysine desoxycholate medium, XLD)琼脂培养基、亚硫酸铋(bismuth sulfite, BS)琼脂培养基、HE(Hektoen enteric, HE)琼脂培养基、胰蛋白胍大豆琼脂(tryptose soya agar, TSA)培养基、缓冲蛋白胍水(buffered peptone water, BPW)(美国 BD 公司);Swarm 琼脂(北京陆桥技术有限责任公司);沙门氏菌凝集诊断血清(泰国 S & A Reagents Lab 公司);革兰氏阴性杆菌鉴定卡(法国生物梅里埃公司)。

1.2 主要仪器

LL1500 冷冻干燥机、1389 生物安全柜、205050GC 恒温培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);MIR262 恒温培养箱(日本三洋公司);Eddy Jet 全自动微生物平皿螺旋加样系统(西班牙 IUL 公司);ME204 电子天平(瑞士 METTLER TOLEDO 公司);VITEK[®]2 Compact 全自动微生物分析系统(法国梅里埃公司);基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪(德国 Bruker 公司)。

1.3 菌株来源

单核细胞增生李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes* ATCC19115)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* ATC C6538)、弗氏柠檬酸杆菌(*Citrobacter freundii* ATC C43864)、英诺克李斯特氏菌(*Listeria innocua* ATCC33090)来自于美国菌种保藏中心,鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium* CMCC50920)、克罗诺杆菌属(阪崎肠杆菌)(*Cronobacter* spp. CMCC45401)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*

CMCC10104)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis* CMCC26069)来自于中国医学细菌保藏管理中心,泛菌(*Pantoea*)为本实验室分离菌株。

上述菌株使用前均通过基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法(matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)和 VITEK 2 Compact 进行种属确认,鼠伤寒沙门氏菌使用世界卫生组织(World Health Organization, WHO)推荐的泰国 S & A Reagents Lab 沙门氏菌诊断血清进行血清型确认。

1.4 能力验证样品制备

将接种于 TSA 平板、于 36 °C 培养 18 h 的二代鼠伤寒沙门氏菌、单核细胞增生李斯特氏菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、表皮葡萄球菌、弗氏柠檬酸杆菌、泛菌、英诺克李斯特氏菌和阪崎克罗诺杆菌,置于本单位研制的保护剂中调成浓菌悬液,使用 10 μm 的无菌滤膜进行过滤,然后于液氮中保存,用于沙门氏菌能力验证样品的制备。根据此前冻干复苏率的数据,对上述菌株分别进行 10 倍梯度稀释,选择合适的浓度添加到冻干保护剂中,冷冻干燥后真空密封于西林瓶中。以此方法制成沙门氏菌含量为 10³ CFU/球、背景细菌和干扰菌含量为 10⁴ CFU/球的阳性混合样品和背景细菌及干扰菌含量为 10⁴ CFU/球的阴性样品。

阳性样品包含的细菌为鼠伤寒沙门氏菌、单核细胞增生李斯特氏菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、表皮葡萄球菌、弗氏柠檬酸杆菌、泛菌、英诺克李斯特氏菌和克罗诺杆菌属,阴性样品包含的细菌为表皮葡萄球菌、弗氏柠檬酸杆菌、泛菌、英诺克李斯特氏菌。

基质的制备:使用市售的 3 段婴幼儿配方乳粉作为沙门氏菌检验能力验证样品的基质,将乳粉以 25 g/袋分装于塑料自封袋中,经过 60 °C 烘烤 72 h 灭菌,再放入铝箔袋中进行真空塑封。实验室在进行检验时需要将菌球与乳粉混合后进行检验,确认使用效果。

1.5 能力验证样品均匀性和稳定性实验

依据 CNAS—GL003:2018《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》、CNAS—GL017:2018《标准物质标准样品定值的一般原则和统计方法》、ISO/TS 22117:2019《食品和动物饲料微生物能力验证特定要求和指南》(Microbiology of food and animal feeding stuffs-Specific requirements and guidance for proficiency test by inter-laboratory comparison)、CNAS—CL03-A001:2019《能力验证提供者认可准则在微生物领域的应用说明》和《乳粉中沙门氏菌检验作业指导书》对能力验证样品进行样品均匀性和储藏稳定性、运输稳定性验证,以确保对参加实验室考核结果评价的客观性和准确性。

1.5.1 均匀性检验

随机抽取阳性和阴性能力验证样品各 20 瓶,参照 GB 4789.4—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验沙门氏菌检验》和作业指导书规定的方法,将样品与乳粉混合后进行检验。判定结果应为阳性样品检出沙门氏菌,阴性样品不检出沙门氏菌。

1.5.2 稳定性检验

将能力验证阳性、阴性样品于 4 和 -20 °C 保存,分别于第 1、3、5、7、14、28 d 取阴性和阳性样品各 3 个以及制备好的乳粉基质,采用最大可能数(most probable number, MPN)法进行沙门氏菌检验计数,并于 12 个月后再次用 MPN 法对 -20 °C 保存的样品进行检验计数。

将阳性样品、阴性样品于 37、25 °C 下存放,于 1、3、5、7 d 后分别抽取 3 个样品以及制备好的乳粉基质,采用 MPN 法进行沙门氏菌检验计数。

1.6 能力验证方案设计

1.6.1 能力验证样品及发样

一套能力验证样品包括沙门氏菌阴性、阳性样品各 1 瓶及灭菌的 25 g 乳粉基质 2 份。对报名参加本能力验证项目的实验室发放样品,将包含样品的 2 个西林瓶固定于缓冲塑料底座,放入定制的塑料盒中,和 2 份乳粉基质一同用塑封袋封装,置于有 5 kg 干冰的泡沫包装盒,用胶带密封后放于保藏箱中运输。

1.6.2 防止数据串通的措施

根据报名能力验证机构数量编制 1~60 的随机数字表,其中 30 个随机数字作为阳性样品编码,另外 30 个随机数字则用为阴性样品编码,各实验室的考核样品编码均由随机数字表中的随机数字组成,以防止实验室间数据串通。

1.6.3 检测方法

沙门氏菌检验能力验证为定性检验,参照 GB 4789.4—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验沙门氏菌检验》和《乳粉中沙门氏菌检验作业指导书》对样品进行检测及血清学分型,也可依据各实验室常用的方法进行平行检测。

1.6.4 结果评价

沙门氏菌检验能力验证的结论设为“满意”、“不满意”2 类。其中,参加考核机构在规定时间内上报结果且 2 件沙门氏菌能力验证样品分离、生化鉴定结果均正确则判定为“满意”;否则判定为“不满意”。

沙门氏菌血清学分型为选做项目,结论设为“合格”、“不合格”两类。其中,血清分型结果与指定值相符,判定为“合格”;否则判定为“不合格”。未开展或未完整进行血清学分型的,不报告血清分型结果。

能力验证结果的评价依据 CNAS—GL002:2018《能力验证结果的统计处理和评价指南》。

2 结果与分析

2.1 菌株确认结果

背景菌株及沙门氏菌菌株均经 VITEK 2 COMPACT、

MALDI-TOF MS 进行鉴定, 结果见表 1。阳性样品中添加的单一血清型沙门氏菌为鼠伤寒沙门氏菌(O:1,4,5,12; H:i:1,2)。菌株确认与预期结果一致, 可用于能力验证阴性、阳性样品的制备。

表 1 能力验证样品菌株鉴定结果
Table 1 Identification results of proficiency testing samples

编号	种属	VITEK 2 Compact 结果	MALDI-TOF MS 结果
FC4456	单核细胞增生李斯特菌	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
FC4479	金黄色葡萄球菌	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
FC4488	弗氏柠檬酸杆菌	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
FC4333	克罗诺杆菌属	<i>Cronobacter</i> spp.	<i>Cronobacter</i> spp.
FC4465	英诺克李斯特氏菌	<i>Listeria innocua</i>	<i>Listeria innocua</i>
FC13272	鼠伤寒沙门氏菌	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Salmonella</i>
FC4475	表皮葡萄球菌	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
FC10655	铜绿假单胞菌	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
FC140	泛菌	<i>Pantoea</i>	<i>Pantoea</i>

2.2 样品均匀性检验结果

20 瓶阴性样本均未检出沙门氏菌, 20 瓶阳性样本均能够检出沙门氏菌, 血清学分型结果均为鼠伤寒沙门氏菌。结果表明, 阴性和阳性样品均能够满足能力验证的使用要求, 不同样品使用效果上没有明显差异。

2.3 样品稳定性结果

能力验证阳性样品-20℃保存 1、3、5、7、14、28 d 和 12 个月的检测结果见表 2。-20℃保存 28 d 内, 阳性样品均大于 1100 MPN/g, 符合沙门氏菌能力验证阳性样品的预期含量(10^3 CFU/样品); -20℃保存 12 个月的样品再次进行 MPN 法计数, 结果显示能力验证阳性样品沙门氏菌含量仍能达到 1100 MPN/g, 稳定性良好。阴性样品均未检出沙门氏菌, 与制备时设计只有背景菌的要求一致。

表 2 -20℃阳性样品稳定性结果(MPN/g)
Table 2 Stability results of positive samples stored under -20℃ (MPN/g)

	样品 1	样品 2	样品 3
1 d	>1100	>1100	>1100
3 d	>1100	>1100	>1100
5 d	>1100	>1100	>1100
7 d	>1100	>1100	>1100
14 d	>1100	>1100	>1100
28 d	>1100	>1100	>1100
12 个月	>1100	>1100	1100

能力验证阳性样品于 4℃保存 1、3、5、7、14 和 28 d 的检测结果见表 3。结果显示, 能力验证阳性样品于 4℃

保存 7 d 内, 其沙门氏菌含量均能达到 1100 MPN/g, 含量较稳定, 保存 28 d 内均可检出, 但样品的沙门氏菌含量于 14 d 后开始下降。因此, 建议能力验证作业指导书规定实验室应于收到样品后 2 周内开始检测。

表 3 4℃阳性样品储藏稳定性结果(MPN/g)
Table 3 Stability results of positive samples stored under 4℃ (MPN/g)

	样品 1	样品 2	样品 3
1 d	>1100	>1100	>1100
3 d	>1100	>1100	>1100
5 d	>1100	>1100	1100
7 d	1100	>1100	1100
14 d	1100	>1100	460
28 d	460	1100	>1100

能力验证阳性样品模拟运输条件于 25℃保存 1~7 d 的稳定性检测结果见表 4。结果显示, 25℃保存 3 d 内, 阳性样品沙门氏菌含量均能达到 1100 MPN/g, 符合沙门氏菌能力验证阳性样品的预期含量(10^3 CFU/样品); 随着存放时间增加, 阳性样品的沙门氏菌含量有所下降。阴性样品均未检出沙门氏菌, 与制备时设计只有背景菌的要求一致。

表 4 25℃阳性样品运输稳定性结果(MPN/g)
Table 4 Transport stability results of positive samples stored under 25℃ (MPN/g)

	样品 1	样品 2	样品 3
1 d	>1100	>1100	>1100
3 d	1100	>1100	>1100
5 d	1100	460	>1100
7 d	>1100	1100	460

能力验证阳性样品模拟运输条件于 37 ℃保存 1~7 d 的稳定性检测结果见表 5。结果显示, 经过 37 ℃保存 1 d 的阳性样品沙门氏菌含量均能达到 1100 MPN/g, 但随着时间增加, 阳性样品的沙门氏菌含量下降, 且不同样品的含量出现较大差异。因此建议能力验证发样日期应避免 6~8 月高温天气, 如果运往高温热带地区, 应向保温泡沫箱中加入足量干冰, 以维持样品储藏的较低温度。

表 5 37 ℃阳性样品运输稳定性结果(MPN/g)			
Table 5 Transport stability results of positive samples stored under 37 ℃ (MPN/g)			
	样品 1	样品 2	样品 3
1 d	>1100	>1100	>1100
3 d	460	>1100	1100
5 d	150	>1100	93
7 d	210	460	1100

2.4 能力验证实验室考核结果

2.4.1 能力验证结果

参加本次能力验证的 17 家实验室, 82.4% (14/17)为疾控和市场监管系统检验机构, 17.6% (3/17)为企业实验室。17 家实验室均按照要求及时报送了能力验证结果。根据结果评价原则, 17 家实验室对 2 个能力验证样品的分离鉴定结果均正确, 结果评定为“满意”, 整体满意率为 100%。11 家报送血清分型结果

的实验室中, 9 家血清式完整、正确, 血清分型结果为“合格”; 2 家机构仅报送了 O 多价和 H 多价凝集结果。结果见表 6。

2.4.2 各实验室检验使用培养基和试剂情况分析

沙门氏菌能力验证实验主要分为前增菌、选择性增菌、分离培养、生化鉴定和血清分型 5 个步骤。根据 17 家实验室提交的原始记录, 在分离培养环节的培养基使用上, 各实验室均采用合成培养基, 17 家实验室均使用了国产品牌的培养基, 主要为北京陆桥、北京奥博星、青岛海博和广东环凯; 5 家实验室使用了进口培养基, 均为科玛嘉的沙门氏菌显色培养基。在沙门氏菌的选择性平板使用上, 17 家实验室均按照国家标准要求使用了至少 2 种选择性平板, 29.4% (5/17)的实验室使用了 3 种选择性平板, 还有 11.8% (2/17)的实验室使用了国标推荐的全部 4 种选择性平板进行沙门氏菌的分离。结果见表 7。

在菌株鉴定步骤, 11 家机构使用了国产的生化鉴定试剂盒或生化鉴定套装, 主要品牌为北京陆桥和广东环凯; 9 家机构使用了进口全自动生化分析仪和配套的生化鉴定卡, 其中 2 家机构还同时使用了基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法进行菌株鉴定。

共 11 家实验室进行了沙门氏菌血清分型, 7 家实验室使用了泰国 S & A Reagents Lab 公司生产的血清, 其中 2 家由于血清品种不全, 仅做了 O 抗原和 H 抗原多价凝集实验; 4 家实验室使用宁波天润公司生产的血清。

表 6 17 家实验室的沙门氏菌分离鉴定和血清分型结果								
Table 6 Salmonella isolation and identification and serotyping results of 17 laboratories								
序号	结果		结果	样品 1		结果	样品 2	
	分离鉴定	血清分型		O 抗原	H 抗原		O 抗原	H 抗原
1	满意	合格	检出	4,5,12	i:2	未检出	/	/
2	满意	/	检出	/	/	未检出	/	/
3	满意	合格	检出	1,4,5,12	i:1,2	未检出	/	/
4	满意	合格	未检出	/	/	检出	4,5,12	i:2
5	满意	合格	未检出	/	/	检出	4	i:1,2
6	满意	/	检出	/	/	未检出	/	/
7	满意	合格	检出	1,4	i:1,2	未检出	/	/
8	满意	合格	未检出	/	/	检出	4,12	i:1,2
9	满意	/	未检出	不凝集	不凝集	检出	凝集	凝集
10	满意	/	检出	/	/	未检出	/	/
11	满意	/	未检出	凝集	不凝集	检出	凝集	凝集
12	满意	合格	未检出	/	/	检出	4,5,12	i:1,2
13	满意	/	未检出	/	/	检出	/	/
14	满意	合格	检出	4,12	i:2	未检出	/	/
15	满意	合格	未检出	/	/	检出	4,12	i:1,2
16	满意	/	未检出	/	/	检出	/	/
17	满意	/	检出	/	/	未检出	/	/

注: “/”表示该实验室未进行沙门氏菌血清分型实验。

表 7 各实验室沙门氏菌能力验证使用培养基和试剂情况
Table 7 Culture medium and reagent used for *Salmonella* ability verification in each laboratory

实验步骤	进口品牌		国产品牌	
	数量/家	主要品牌	数量/家	主要品牌
前增菌	0	/	17	陆桥、奥博星、青岛海博
选择性增菌	0	/	17	陆桥、奥博星
分离培养	5	科玛嘉	17	陆桥、环凯、奥博星、青岛海博
鉴定	9	梅里埃、布鲁克	11	陆桥、环凯
血清分型	7	泰国 S&A	4	宁波天润

注:“/”表示无主要品牌。

3 结论与讨论

本研究通过对乳粉中沙门氏菌检测能力验证样品的均匀性、储藏稳定性和运输稳定性的检验,证实该批次制备样品能够满足能力验证设计方案的要求,阳性样品沙门氏菌含量稳定。全国 17 家参与能力验证实验室报送的结果与发样一致,未发现样品质量问题或报损,证明本次能力验证样品的稳定性较好,能力验证结果可靠。

GB 4789.4—2016 要求使用 2 种不同的选择性培养基,但如果样品中含有干扰菌或非典型沙门氏菌,只使用 BS 和 XLD 2 种选择性培养基容易造成漏检,建议增加对食品中沙门氏菌敏感性和特异性较好的显色培养基^[14-15],在挑取典型和可疑菌落分离鉴定时应结合多个选择性平板进行综合分析^[16]。本次能力验证中,近半数实验室选择使用 3 种或 3 种以上的选择性培养基进行分离,一半以上的实验室采用了全自动生化分析系统进行菌株鉴定,还有 2 家实验室对分离菌株进行了基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱鉴定。这些方法和新技术的应用,是本次沙门氏菌能力验证结果满意率较好的重要原因,也说明沙门氏菌能力验证样品的研制及其应用可以提升我国食品微生物检验实验室的沙门氏菌检测能力,促进检验检测新技术的应用。

本次能力验证中,仅半数实验室报送了完整的沙门氏菌阳性菌株血清分型结果(9/17),其中多数为省级实验室,说明基层食品微生物实验室和企业实验室沙门氏菌血清分型能力较弱。血清分型在沙门氏菌的检测中非常重要,虽然有越来越多的研究从基因层面对沙门氏菌进行血清分型^[17-19],但玻片凝集法仍是目前国际公认的通用标准分型方法^[20]。由于 GB 4789.4—2016 中将血清分型列为选做项目,一些食品实验室不重视血清学实验。本次参加能力验证的实验室中,82.4%为市场监管或疾控系统的实验室,除了日常的食品检验职责,还承担着食品监管技术支撑及食源性疾病预防与溯源的职责,对沙门氏菌的检测和分型能力要求更高,应持续参加该项目的能力验证以提升沙门氏菌分离鉴定及血清分型技术水平。

参考文献

[1] 国家卫生计生委. 国家卫生计生委办公厅关于 2015 年全国食物中毒事件情况的通报 [EB/OL]. [2016-02-19]. <http://www.nhc.gov.cn/yjb/s2909/201604/8d34e4c442c54d33909319954c43311c.shtml> [2021-03-11].
National Health and Family Planning Commission Emergency Office. Bulletin of the national food poisoning cases in 2015 issued from national health and family planning commission general office [EB/OL]. [2016-02-19]. <http://www.nhc.gov.cn/yjb/s2909/201604/8d34e4c442c54d33909319954c43311c.shtml> [2021-03-11].

[2] ALLARD M, BELL R, FERREIRA CM, *et al.* Genomics of foodborne pathogens for microbial food safety [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2018, (49): 224-229

[3] 刘秀梅. 食源性疾病监控技术的研究[J]. *中国食品卫生杂志*, 2004, (1): 3-9.
LIU XM. Studies on the techniques for the monitoring and controlling foodborne illness [J]. *Chin J Food Hyg*, 2004, (1): 3-9.

[4] 王娟, 郑增忍, 王玉东, 等. 市售禽肉产品中沙门氏菌污染状况调查[J]. *中国动物检疫*, 2010, 27(7): 50-55.
WANG J, ZHENG ZR, WANG YD, *et al.* Investigation of *Salmonella* contamination in commercial poultry products [J]. *Chin J Anim Quarant*, 2010, 27(7): 50-55.

[5] GRIMONT PAD, WEILL FX. Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars 9th revision [M]. Paris: Pasteur Institute, 2007.

[6] 郑林, 祝令伟, 郭学军, 等. 沙门氏菌主要流行血清型耐药性的研究进展[J]. *江苏农业科学*, 2020, 48(6):8-12.
ZHENG L, ZHU LW, GUO XJ, *et al.* Research progress on drug resistance of main epidemic serotypes of *Salmonella* [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 2020, 48(6): 8-12.

[7] 蒋培红. 沙门氏菌的危害及其对畜产品污染的控制策略[J]. *中国动物检疫*, 2007, (10): 22-24.
JIANG PH. The harm of *Salmonella* and its control strategy for pollution of livestock products [J]. *Chin J Anim Quarant*, 2007, (10): 22-24.

[8] 肖承荣, 刘灵燕, 郭正洋, 等. 巧克力样品中沙门氏菌的检测与结果分析[J]. *广东化工*, 2019, 46(10): 59-60.
XIAO CR, LIU LY, GUO ZY, *et al.* Detection and analysis of *Salmonella* in chocolate samples [J]. *Guangdong Chem*, 2019, 46(10): 59-60.

[9] 董晓根, 颜涛, 石婧, 等. 沙门菌玻片凝集血清分型与多重荧光 PCR 血清分型检测试剂盒方法比较[J]. *疾病监测*, 2020, 35(9): 827-830.

- DONG XG, YAN T, SHI J, *et al.* Comparison of *Salmonella* serotyping methods of slide agglutination and multiple fluorescence PCR serotyping kit [J]. *Dis Surveill*, 2020, 35(9): 827–830.
- [10] 周燕霞, 岩任, 王青龙, 等. 沙门氏菌传统血清凝集分型和分子血清分型试剂盒方法比较[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(18): 6068–6077.
- ZHOU YX, YAN R, WANG QL, *et al.* Comparison of traditional serum agglutination and molecular serum separation kit for *Salmonella* [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(18): 6068–6077.
- [11] 李诗瑶, 王鸣秋, 林津, 等. 3 种方法鉴定鸡肉粉中沙门氏菌的比对研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(1): 64–68.
- LI SY, WANG QM, LIN J, *et al.* Comparative study on the identification of *Salmonella* in chicken powder by 3 methods [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(1): 64–68.
- [12] 江志杰, 王似锦, 高春. 食品中沙门氏菌检出能力验证结果与分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(5): 1930–1935.
- JIANG ZJ, WANG SJ, GAO C. Proficiency testing results and analysis of *Salmonella* detection ability in food [J]. *J Food Saf Qual*, 2015, 6(5): 1930–1935.
- [13] 吉彦莉, 郭勇峰, 王敬辉, 等. CNCA-12-A01 食品微生物学检测能力验证分析[J]. *公共卫生与预防医学*, 2015, 3(26): 110–112.
- JI YL, GUO YF, WANG JH, *et al.* Food microbiology testing ability verification analysis [J]. *J Public Health Prev Med*, 2015, 3(26): 110–112.
- [14] 沈托, 焦莉萍, 李通情, 等. 食源性沙门菌的分离鉴定及血清分型能力验证[J]. *职业与健康*, 2019, 35(7): 900–907.
- SHEN T, JIAO LP, LI TQ, *et al.* Isolation and identification of foodborne *Salmonella* and serotyping in proficiency verification [J]. *Occup Health*, 2019, 35(7): 900–907.
- [15] 陈茂义, 胡婕, 刘建昭, 等. 科玛嘉显色培养基和 XLD、SS、HE 分离食品中沙门菌效果比较[J]. *公共卫生与预防医学*, 2008, 19(4): 12–14.
- CHEN MY, HU J, LIU JZ, *et al.* Comparison of CHROM agar *Salmonella* medium and XLD, SS agars and HE media for isolation of *Salmonella* strains from food samples [J]. *J Public Prev Med*, 2008, 19(4): 12–14.
- [16] 杨云斌, 许月琴. 不同选择性培养基中沙门氏菌和干扰菌的分离鉴定[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(4): 977–982.
- YANG YB, XU YQ. Isolation and identification of *Salmonella* and interfering strains in different selective medium [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(4): 977–982.
- [17] 张文成, 朱丽萍, 颜世敢. 沙门菌基因分型研究进展[J]. *畜牧与兽医*, 2019, 51(8): 142–145.
- ZHANG WC, ZHU LP, YAN SG. Advances in research on *Salmonella* genotyping [J]. *Anim Husb Vet Med*, 2019, 51(8): 142–145.
- [18] 王芳, 陈智, 伍雅婷, 等. 多重 PCR 方法检测沙门氏菌血清型适用性探讨[J]. *现代预防医学*, 2018, 45(21): 3968–3971.
- WANG F, CHEN Z, WU YT, *et al.* Applicability of multiple PCR assay for *Salmonella enteric* serotyping [J]. *Mod Prev Med*, 2018, 45(21): 3968–3971.
- [19] 沈锐, 杨荣荣, 王梅. 乳粉能力验证中沙门氏菌的分离鉴定和血清分型[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(13): 4514–4520.
- SHEN R, YANG RR, WANG M. Proficiency testing of isolation, identification and serotyping of *Salmonella* in milk powder [J]. *J Food Saf Qual*, 2016, 7(10): 4514–4520.
- [20] 李可, 方莹, 张晓峰, 等. 沙门氏菌的血清分型及分子鉴定研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7(10): 3947–3951.
- LI K, FANG Y, ZHANG XF, *et al.* Research progress of *Salmonella* serotyping and molecular identification methods [J]. *J Food Saf Qual*, 2016, 7(10): 3947–3951.

(责任编辑: 李磅礴 郑 丽)

作者简介



王学硕, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: wangxs@nifdc.org.cn



崔生辉, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: cuishenghui@aliyun.com



陈 倩, 主任技师, 主要研究方向为食源性致病菌检测溯源。
E-mail: chenqian9288@126.com