

# 婴幼儿配方乳粉和发酵乳中沙门氏菌检验方法的比对研究

余文<sup>1</sup>, 安琳<sup>1</sup>, 裴晓燕<sup>2</sup>, 李志君<sup>2</sup>, 孟根花<sup>2</sup>, 赵琦<sup>2</sup>, 陈怡文<sup>1</sup>, 任秀<sup>1</sup>, 崔生辉<sup>1\*</sup>

(1. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050; 2. 内蒙古伊利实业集团股份有限公司, 呼和浩特 010110)

**摘要: 目的** 筛选针对婴幼儿配方乳粉、发酵乳以及环境样品中沙门氏菌污染最灵敏的检测方法。**方法** 对 20 种血清型沙门氏菌进行平行检测, 对比美国食品与药品管理局/微生物分析手册(Food and Drug Administration/Bacteriological Analytical Manual, FDA/BAM) Chapter 5: *Salmonella*、ISO 6579—2017 Microbiology of the food chain-Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* 和 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》沙门氏菌检验方法的检出限、灵敏度, 使用不同基质(婴幼儿配方奶粉、发酵乳和环境样品)人工染菌样品对 3 个标准方法的样品适用性进行比较与评价。**结果** FDA/BAM、ISO 6579—2017、GB 4789.4—2016 方法的检出限为  $10^{-1} \sim 10^0$  CFU/样品。3 个标准方法在  $10^1$  CFU/样品染菌水平灵敏度均为 100%;  $10^0$  CFU/样品染菌水平, 灵敏度为 95%、90%、90%;  $10^{-1}$  CFU/样品染菌水平, 灵敏度为 65%、50%、45%。对于 3 类人工污染沙门氏菌的样品, FDA/BAM 方法的检出率显著高于 ISO 6579—2017 和 GB 4789—2016 方法( $P < 0.05$ ), ISO 6579—2017 和 GB 4789.4—2016 方法检出率无显著性差异( $P > 0.05$ )。**结论** 3 种方法检出限一致, 均可以有效检测食品中沙门氏菌, 污染水平为  $10^{-1} \sim 10^0$  CFU/样品时, FDA/BAM 方法的灵敏度较高。在不同人工污染沙门氏菌食品基质中, FDA/BAM 方法的检出率显著高于 ISO 6579—2017 和 GB 4789—2016。

**关键词:** 婴幼儿配方乳粉; 发酵乳; 沙门氏菌; 标准方法

## Comparative study on the detection methods of *Salmonella* in infant formula milk powder and fermented milk

YU Wen<sup>1</sup>, AN Lin<sup>1</sup>, PEI Xiao-Yan<sup>2</sup>, LI Zhi-Jun<sup>2</sup>, MENG Gen-Hua<sup>2</sup>, ZHAO Qi<sup>2</sup>,  
CHEN Yi-wen<sup>1</sup>, REN-Xiu<sup>1</sup>, CUI Sheng-Hui<sup>1\*</sup>

(1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China;  
2. Inner Mongolia Yili Industrial Group Co., Ltd., Huhehot 010110, China)

**ABSTRACT: Objective** To select the most sensitive detection method for *Salmonella* contamination in infant formula milk powder, fermented milk products and environmental samples. **Methods** The detection limits and sensitivities of the methods for *Salmonella* testing from Food and Drug Administration/Bacteriological Analytical Manual (FDA/BAM) Chapter 5: *Salmonella*, ISO 6579—2017 Microbiology of the food chain-Horizontal method for

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

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

the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* and GB 4789.4—2016 National standard for food safety-Food microbiology testing *Salmonella* testing were compared through parallel experiments with 20 different serotypes of *Salmonella*. Different artificial contaminated food matrices (infant formula milk powder, fermented milk products samples and environmental samples) were used in the experiments to evaluate the applicability of the 3 kinds of standard methods. **Results** The detection limits of the methods of FDA/BAM, ISO 6579—2017, and GB 4789.4—2016 were between  $10^{-1}$ – $10^0$  CFU/sample. At the contamination level of  $10^1$  CFU/sample, the sensitivities of the 3 kinds of standard methods were all 100%; The sensitivities were 95%, 90% and 90% respectively for the 3 kinds of standard methods at the contamination level of  $10^0$  CFU/sample; And the sensitivities were 65%, 50% and 45% respectively at the contamination level of  $10^{-1}$  CFU/sample. For the 3 types of artificial contaminated samples, the detection limit of FDA/BAM method was significantly higher than that of ISO 6579—2017 and GB 4789.4—2016 ( $P<0.05$ ). And there was no significant difference between the methods of ISO 6579—2017 and GB4789.4—2016 ( $P>0.05$ ). **Conclusion** The 3 kinds of standard methods have nearly the same detection limits and are all effective methods for detecting *Salmonella* in food. The sensitivity of FDA/BAM method is higher than those of ISO 6579—2017 and GB4789.4—2016 at the contamination levels of  $10^{-1}$ – $10^0$  CFU/sample. In different artificially contaminated *Salmonella* food matrices, the detection rate of FDA/BAM method is significantly higher than those of ISO 6579—2017 and GB4789.4—2016.

**KEY WORDS:** infant formula milk powder; fermented milk; *Salmonella*; standard method

## 0 引言

沙门氏菌为革兰氏阴性杆菌, 广泛存在于自然界中, 是引起食物中毒的最常见的致病菌<sup>[1-2]</sup>。沙门氏菌可造成局部或全身感染, 引起胃肠炎、菌血症和肠外感染等疾病<sup>[3-5]</sup>。据美国食源性疾病主动监测网统计, 美国每年约有 140 万人感染非伤寒的沙门氏菌<sup>[6-9]</sup>; 在欧洲每年有超过 16 万人感染沙门氏菌; 在中国每年由沙门氏菌造成的食物中毒事件也层出不穷<sup>[10]</sup>。全球每年约有 15 万例死亡病例是由沙门氏菌引起, 其中约有 86%是由于食物中毒引起的<sup>[11-14]</sup>。

沙门氏菌是婴幼儿配方食品和发酵乳中重要的致病菌之一, 婴幼儿作为免疫力低下的特殊敏感群体, 摄入被沙门氏菌污染的食品后更易中毒<sup>[15-16]</sup>。感染沙门氏菌对婴幼儿会产生严重的危害<sup>[17]</sup>, 因此 GB 10765—2010《食品安全国家标准 婴儿配方食品》和 GB 10767—2010《食品安全国家标准 较大婴儿和幼儿配方食品》规定婴幼儿配方食品中沙门氏菌不得检出( $n=5$ ,  $c=0$ ,  $m=0/25\text{ g}$ )。目前, 沙门氏菌主要的标准检测方法有 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》(以下简称 GB 4789.4—2016)、美国 FDA/BAM Chapter 5: *Salmonella*(以下简称 FDA/BAM)和 ISO 6579—2017 Microbiology of the food chain-Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* (以下简称 ISO 6579—2017)。这 3 种标准检测方法增菌-分离体系存在差异, 但目前尚未见有对 3 种方法系统比对的研究报道, 而研究对比食品中沙门氏菌的检测方法, 选出最优的检测方法, 对于提升检测效率,

加强食品安全有着重要的意义。

本研究采用 20 种不同血清型的沙门氏菌, 对 FDA/BAM、ISO 6579—2017 和 GB 4789.4—2016 3 种沙门氏菌检测方法的检出限、灵敏度进行测定, 并对 3 种不同食品基质(婴幼儿配方奶粉、发酵乳样品和环境样品)人工染菌样品进行适用性验证, 为修订婴儿配方乳粉和发酵乳中沙门氏菌检测方法的标准提供数据支持。

## 1 材料与仪器

### 1.1 菌株与培养基

菌株: 肠炎沙门氏菌 ATCC13076 和鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028 源自美国菌种保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC), 其余 18 株沙门氏菌来自于中国医学细菌保藏管理中心(National Center For Medical Culture Collection, CMCC), 菌株信息见表 1。

培养基: 胨酪大豆胨琼脂(trypic soy agar, TSA)培养基(美国 BD 公司); 缓冲蛋白胨水(buffered peptone water, BPW)、乳糖肉汤(lactobiose broth, LB)、氯化镁孔雀绿肉汤(rappaport vassiliadis medium, RV)、亚硒酸盐胱氨酸增菌液(selenite cystine broth, SC)、四硫磺酸盐煌绿增菌液(tetrathionate broth, TTB)、Rappaport -Vassiliadis Soya broth (RVS)、Muller-Kauffmann Tetrathio nate novobiocin broth (MkTTn)、木糖赖氨酸脱氧胆盐琼脂(xylose lysine desoxy cholate medium, XLD)、亚硫酸铋琼脂(bismuth sulfite agar, BS)、HE 琼脂(Hektoen enteric agar)(北京陆桥生物技术有限责任公司); 万古霉素(vancomycin)(纯度 93.8%, 中国食

品药品检定研究院)。

## 1.2 样品信息

婴幼儿配方乳粉和发酵乳样品信息见表 2。

5 份环境样品均来自伊利乳粉工厂, 为  $1\text{ m}^2$  的环境涂抹样品。

## 1.3 主要仪器

PL2002 百分之一电子天平(0.01 g, 瑞士梅特勒-托利多)

公司); MLS-3780 高压灭菌器(日本三洋公司); Thermo 1389 生物安全柜、PR 205050 GCN 生化培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); EDDY JET1 F2ASH AN 全自动微生物螺旋加样系统(西班牙 IUL 公司); VITEK 2 COMPACT 60 自动微生物分析系统(法国梅里埃公司); Autoflex II 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS, 德国 Bruker 公司)。

表 1 方法比对用沙门氏菌信息

Table 1 Information of *Salmonella* strains for method comparison

序号	沙门菌血清型	菌株编号	序号	沙门菌血清型	菌株编号
1	肠炎沙门氏菌	ATCC13076	11	婴儿沙门氏菌	CMCC50956
2	鼠伤寒沙门氏菌	ATCC14028	12	姆班达卡沙门氏菌	CMCC50980
3	阿柏丁沙门氏菌	CMCC50981	13	火鸡沙门氏菌	CMCC50984
4	鸭沙门氏菌	CMCC47520	14	奥拉宁堡沙门氏菌	CMCC50986
5	圣地亚哥沙门氏菌	CMCC47521	15	明斯特沙门氏菌	CMCC50978
6	康科德沙门氏菌	CMCC47515	16	罗森沙门氏菌	CMCC50966
7	德比沙门氏菌	CMCC47517	17	汤卜逊沙门氏菌	CMCC50979
8	格罗斯出浦沙门氏菌	CMCC50985	18	新加坡沙门氏菌	CMCC47519
9	哈瓦那沙门氏菌	CMCC50964	19	舒卡拉沙门氏菌	CMCC50992
10	印第安纳沙门氏菌	CMCC50993	20	汤普森沙门氏菌	CMCC50991

表 2 婴幼儿配方乳粉和发酵乳样品信息

Table 2 Information of infant formula milk powder and fermented milk samples

序号	乳粉样品	发酵乳样品
1	金领冠珍护婴儿配方奶粉	芝士 PET 系列风味发酵乳
2	金领冠珍护幼儿配方奶粉	畅轻风味发酵乳
3	金领冠珍护儿童配方奶粉	帕瑞缇褐色炭烧风味发酵乳
4	金领冠睿护幼儿配方奶粉	ToyDay 吸果杯蓝莓巧克力球风味发酵乳
5	培然幼儿配方奶粉	每益添活性乳酸菌饮料

## 1.4 实验方法

### 1.4.1 菌株确认

使用全自动微生物分析系统和 MALDI-TOF MS 对沙门氏菌进行确认。

### 1.4.2 方法检出限及灵敏度比对

将 20 株沙门氏菌新鲜培养物用无菌生理盐水制备  $1.0\sim1.5$  麦氏浊度的菌悬液, 梯度稀释至  $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$  和  $10^{-9}$ 。接菌量为  $10^1$ 、 $10^0$ 、 $10^{-1}$  CFU/样品, 依据 FDA/BAM、ISO 6579—2017、GB 4789.4—2016 方法同时进行检测, 并对接菌样品进行菌落计数, 计算方法检出限和灵敏度, 其中方法检出限为能被检出的微生物的最低数量, 灵敏度=(检出阳性菌株数/检测菌株总数) $\times 100\%$ 。

### 1.4.3 不同基质样品检出率比对

#### (1) 菌液制备

用无菌棉签取鼠伤寒沙门氏菌(ATCC14028)平板新鲜二代培养物, 制备  $1.0\sim1.5$  麦氏浊度的菌悬液, 将上述菌悬液用无菌生理盐水进行  $1:10$  梯度稀释至  $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-9}$  备用, 菌液浓度约为  $10^1$ 、 $10^0$  和  $10^{-1}$  CFU/mL。

#### (2) 染菌样品检测

选取乳粉样品( $n=5$ )、发酵乳样品( $n=5$ )和环境样品( $n=5$ )基质, 3 个染菌浓度:  $10^1$ 、 $10^0$ 、 $10^{-1}$  CFU/25 g, 每个浓度接种 3 份平行, 共计  $5\times 3\times 3\times 3=135$  份样品。发酵乳样品依据 FDA/BAM、ISO 6579—2017 和 GB4789.4—2016 方法进行检测时, 尝试 2 种前处理方法, 方法一: 调节发酵乳的 pH 至中性; 方法二: 方法一结果未达预期, 对方法一进行优化, 调节发酵乳的 pH 至中性, 并且在前增菌液中加入万古霉素(vancomycin, 终质量浓度  $4\text{ }\mu\text{g/mL}$ )。

## 1.5 统计方法

使用 SPSS 18.0 的配对二项分布 McNemar 检验对方法检出限和不同基质染菌样品的检出率进行统计分析,  $P<0.05$  表示差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 20 种血清型沙门氏菌检出限和灵敏度结果对比

FDA/BAM、ISO 6579—2017、GB 4789.4—2016 方法

的检出限为  $10^{-1} \sim 10^0$  CFU/样品。 $10^{-1}$  CFU/样品染菌水平时,3个标准方法的灵敏度分别为65%、50%、45%; $10^0$  CFU/样品染菌水平时,FDA/BAM方法的灵敏度为95%,ISO 6579—2017和GB 4789.4—2016方法的灵敏度均为90%; $10^1$  CFU/样品染菌水平时,3种方法的灵敏度均为100%,灵敏度一致,综上所述, $10^{-1} \sim 10^0$  CFU/样品染菌水平,FDA/BAM方法的灵敏度较高。

## 2.2 不同基质人工染菌样品检验结果

对不同基质人工染菌样品( $10^{-1}$ 、 $10^0$ 、 $10^1$  CFU/样品)检出率结果见表3。

针对乳粉样品和环境样品, $10^1$ 和 $10^0$  CFU/样品染菌水平,3种方法的检出率均为100%; $10^{-1}$  CFU/样品染菌水平,3种方法的检出率在33.3%~60.0%。乳粉样品和环境样品3个方法的总检出率为80.7%、83.0%。

针对发酵乳样品,前增菌液中未加入万古霉素时,3个标准方法在 $10^1$ 、 $10^0$ 、 $10^{-1}$  CFU/样品染菌水平均未检出沙门氏菌,检出率为0%(表3中未呈现)。前增菌液中加入万古霉素(终质量浓度4 μg/mL)后, $10^1$  CFU/样品染菌水平3种方法的检出率为100%; $10^0$  CFU/样品染菌水平,3种方法的检出率为80%~100%; $10^{-1}$  CFU/样品染菌水平,3种方法的检出率为20%~46.7%。发酵乳样品3个方法的总检出率为71.9%。

经统计分析发现,针对3类样品3个染菌浓度,

FDA/BAM方法的检出率显著高于ISO 6579—2017和GB 4789.4—2016( $P<0.05$ ), ISO 6579—2017和GB 4789.4—2016方法检出率无显著性差异( $P>0.05$ )。

$10^{-1}$  CFU/样品染菌水平各培养基检测结果见表4。FDA/BAM方法对乳粉染菌样品的增菌分离效果最佳,BS、XLD、HE分离平板分离结果均为9/15(阳性结果/检测结果)。GB 4789.4—2016方法对发酵乳染菌样品的增菌分离效果最差,BS、XLD平板分离结果均为3/15(阳性结果/检测结果)。

表3 不同基质染菌样品检出率比对结果( $n=15$ )

Table 3 Comparison results of the detection rates of bacteria infection samples in different matrixes ( $n=15$ )

食品基质	染菌量 (CFU/样品)	检出率%		
		FDA/BAM	ISO 6579—2017	GB 4789.4—2016
乳粉样品	$10^1$	100.0	100.0	100.0
	$10^0$	100.0	100.0	100.0
	$10^{-1}$	60.0	33.3	33.3
环境样品	$10^1$	100.0	100.0	100.0
	$10^0$	100.0	100.0	100.0
	$10^{-1}$	46.7	53.3	46.7
发酵乳样品	$10^1$	100.0	100.0	100.0
	$10^0$	100.0	80.0	80.0
	$10^{-1}$	46.7	20.0	20.0

表4  $10^{-1}$  CFU/样品染菌水平增菌-分离培养基检测结果  
Table 4 Detection results of samples at  $10^{-1}$  CFU/sample contamination level by 3 kinds of methods

样品编号	FDA/BAM						ISO 6579—2017						GB 4789.4—2016					
	RV <sup>a</sup>			TTB <sup>a</sup>			RVS <sup>a</sup>			MKT <sup>b</sup> Tn <sup>a</sup>			SC <sup>a</sup>			TTB <sup>a</sup>		
	BS <sup>b</sup>	XLD <sup>b</sup>	HE <sup>b</sup>	BS <sup>b</sup>	XLD <sup>b</sup>	HE <sup>b</sup>	BS <sup>b</sup>	XLD <sup>b</sup>	BS <sup>b</sup>	XLD <sup>b</sup>	BS <sup>b</sup>	XLD <sup>b</sup>	BS <sup>b</sup>	XLD <sup>b</sup>	BS <sup>b</sup>	XLD <sup>b</sup>	BS <sup>b</sup>	XLD <sup>b</sup>
1	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
2	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3
3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3
4	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3
5	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
总计	9/15	9/15	9/15	9/15	9/15	9/15	5/15	5/15	5/15	5/15	5/15	5/15	5/15	5/15	5/15	5/15	5/15	5/15
6	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	0/3	1/3	0/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3
7	1/3	1/3	1/3	2/3	2/3	2/3	0/3	1/3	0/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3
8	1/3	1/3	1/3	0/3	0/3	0/3	1/3	2/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	0/3	1/3	0/3	1/3
9	1/3	1/3	1/3	1/3	2/3	1/3	2/3	2/3	2/3	2/3	0/3	2/3	0/3	2/3	0/3	2/3	0/3	2/3
10	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	1/3	2/3	0/3	1/3	0/3	2/3	1/3	2/3	1/3	1/3	1/3	1/3
总计	6/15	6/15	6/15	6/15	7/15	6/15	4/15	8/15	3/15	6/15	3/15	7/15	3/15	3/15	3/15	3/15	6/15	6/15
11	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3
12	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3
13	2/3	2/3	2/3	2/3	3/3	2/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
14	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
15	1/3	2/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3
总计	5/15	6/15	5/15	5/15	7/15	5/15	3/15	3/15	3/15	3/15	3/15	3/15	3/15	3/15	3/15	3/15	3/15	3/15

注:数据格式为:阳性结果/检测结果;1~5号样品为乳粉样品;6~10号样品为环境样品,11~15号样品为发酵乳样品;<sup>a</sup>为二次增菌液;<sup>b</sup>为分离平板。

### 3 结论与讨论

3 种标准方法对不同基质人工污染沙门氏菌样品检测对比,结果存在显著性差异。FDA/BAM 方法检出率显著高于 ISO 6579—2017 和 GB 4789.4—2016 ( $P<0.05$ ), ISO 6579—2017 和 GB 4789.4—2016 方法无显著差异。对比 3 个标准方法的增菌分离体系,发现 FDA/BAM 方法和其他 2 个方法使用的前增菌液不同。FDA/BAM 方法使用的前增菌液为 LB 增菌液,其余 2 个方法使用的前增菌液为 BPW 增菌液。本研究中 3 个方法的染菌来源一致,二次增菌液和分离平板一致的情况下,LB 增菌液的增菌效果优于 BPW 增菌液。LB 增菌液的主要成分为牛肉膏、蛋白胨、乳糖, pH 为  $6.9\pm0.2$ ,其中牛肉膏和蛋白胨提供碳氮源、维生素和生长因子等生长必需的营养物质;乳糖为可发酵糖。BPW 增菌液的主要成分为蛋白胨、氯化钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾, pH 为  $7.2\pm0.2$ ,其中蛋白胨提供满足细菌生长需求的碳源和氮源;氯化钠可维持均衡的渗透压;磷酸二氢钾和磷酸氢二钠是缓冲剂。从 2 种肉汤的主要成分可以看出,LB 增菌液的营养较 BPW 增菌液更为丰富,因此这可能是增菌效果更佳的主要原因。

FDA/BAM 方法使用的二次增菌液为 TT 和 RV 增菌液,ISO 6579—2017 方法使用的二次增菌液为 RVS 和 MKTTn 增菌液,GB 4789.4—2016 方法使用的二次增菌液为 TT 和 SC 增菌液。RV 和 RVS 增菌液的成分基本一致。MKTTn 较 TT 增菌液增加了新生霉素,其余成分基本一致,新生霉素可以抑制大肠群菌和其他革兰氏阳性杆菌。SC 和 TT 增菌液的抑菌成分不同,TT 增菌液中的抑菌成分主要为牛胆盐和硫代硫酸钠,SC 增菌液中的抑菌成分主要为亚硒酸氢。5 种二次增菌液均由营养物质、缓冲剂和抑菌剂这 3 部分组成。由表 4 可见,3 个方法使用的二次增菌液的分离效果未见明显差异。

3 种染菌样品中,发酵乳样品的检出率最低。发酵乳样品的 pH 一般在 4.5 左右,而沙门氏菌最适生长 pH 为 6.6~8.2,酸性环境会抑制沙门氏菌生长,因此在检测发酵乳样品的时候需要调整 pH 至中性。大部分发酵乳样品中会添加浓度超过  $10^6$  CFU/mL 的活性益生菌成分,这些益生菌在增菌过程中会大量生长。本研究设计的人工染菌浓度为  $10^1$ 、 $10^0$ 、 $10^{-1}$  CFU/样品,远低于发酵乳样品本身益生菌的含量( $>10^6$  CFU/mL),益生菌大量繁殖会和沙门氏菌生长形成竞争关系从而抑制沙门氏菌的生长。万古霉素属于三环糖肽类抗生素,可通过干扰细菌细胞壁结构中的关键组分肽聚糖来干扰细胞壁的合成,抑制细胞壁中磷脂和多肽的生成,主要对仅含有单层膜的革兰氏阳性菌具有强大的杀菌作用<sup>[18]</sup>。发酵乳样品中加入的益生菌成分主要有保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌、双歧杆菌活菌、嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌、植物乳杆菌,这些益生菌都是革兰氏

阳性菌,均对万古霉素敏感。沙门氏菌是革兰氏阴性肠道细菌,其外膜不可渗透,对万古霉素具有内在抗性,即对万古霉素耐药<sup>[19~20]</sup>。综上,检测发酵乳发酵乳时调整 pH 至中性和添加万古霉素可以有效的提高样品检出率。

综上,本研究对比 FDA/BAM、ISO 6579—2017 和 GB 4789.4—2016 3 种检测沙门氏菌的标准检测方法,发现 3 个方法的检出限均为  $10^{-1} \sim 10^0$  CFU/样品。在  $10^1$  CFU/样品污染水平,3 个方法灵敏度均为 100%;在  $10^0$  CFU/样品污染水平,3 个方法灵敏度为 95%、90%、90%;在  $10^{-1}$  CFU/样品污染水平 3 个方法灵敏度为 60%、50%、45%。污染水平为  $10^{-1} \sim 10^0$  CFU/样品时,FDA/BAM 方法灵敏度高于 ISO 6579—2017 和 GB 4789.4—2016 方法。由此可见,3 个方法均可有效检测沙门氏菌污染的样品,在  $10^{-1}$  CFU/样品污染水平,均有超过 50% 的样品可以检出。染菌浓度较低( $10^{-1}$  CFU/样品)时,对比检测了 3 类基质人工污染沙门氏菌样品,结果均提示 FDA/BAM 检测效果最佳。3 种样品中,发酵乳样品的检出率较低,在增菌过程中加入万古霉素可以提高发酵乳样品的检出率。本研究数据对企业的质量监督监测、产品质量提升具有一定的价值,并为沙门氏菌检测标准的制修订提供了参考数据。

### 参考文献

- WILSON A, FOX EM, FEGAN N, et al. Comparative genomics and phenotypic investigations into antibiotic, heavy metal, and disinfectant susceptibilities of *Salmonella enterica* strains isolated in Australia [J]. Front Microbiol, 2019, 10: 1620.
- GAST RK, PORTER JRE. Diseases of poultry: *Salmonella* infections [M]. New Jersey: John Wiley & Sons Inc, 2020.
- 张跃东,罗薇,张焕容,等.4 株鸽源沙门氏菌致病性观察[J].中国动物传染病学报,2020,28(3): 7~13.
- ZHANG YD, LUO W, ZHANG HR, et al. Pathogenicity of four *Salmonella* strains isolated from pigeons [J]. Chin J Anim Infect Dis, 2020, 28(3): 7~13.
- NGUYEN M, LONG SW, MCDERMOTT PF, et al. Using machine learning to predict antimicrobial MICs and associated genomic features for nontyphoidal *Salmonella* [J]. J Clin Microbiol, 2019, 57(2). DOI: 10.1128/JCM.01260-18
- JACOBSON A, LAM L, RAJENDRAM M, et al. A gut commensal-produced metabolite mediates colonization resistance to *Salmonella* infection [J]. Cell Host Microbes, 2018, 24(2): 296~307.
- Centers for Disease Control and Prevention. Three outbreaks of *salmonellosis* associated with baby poultry from three hatcheries—United States, 2006 [J]. J Am Med Ass, 2007, 56(12): 273~276.
- HEDICAN E, SMITH K, JAWAHIR S, et al. Multistate outbreaks of *Salmonella* infections associated with live poultry—United States, 2007 [J]. J Am Med Ass, 2009, 58(2): 25~29.
- Centers for Disease Control and Prevention. Investigation update: Multistate outbreak of human *Salmonella enteritidis* infections associated with shell eggs [Z]. <https://www.cdc.gov/salmonella/enteritidis/archive/epi/092010.html>

- [9] JOHNSON R, MYLONA E, FRANKEL G. Typhoidal *Salmonella*: Distinctive virulence factors and pathogenesis [J]. *Cell Microbiol*, 2018, 20(9): e12939.
- [10] 张萍, 冯芳. 沙门氏菌的检测技术和方法的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(5): 1834–1841.
- ZHANG P, FENG F. States of arts on detection technology and method of *Salmonella* [J]. *J Food Saf Qual*, 2015, 6(5): 1834–1841.
- [11] LIU H, WHITEHOUSE CA, LI B. Presence and persistence of *Salmonella* in water: The impact on microbial quality of water and food safety [J]. *Front Public Health*, 2018, 6: 159.
- [12] 倪文思, 李雷, 刘翔, 等. 一起肠炎沙门菌污染食物引起的食源性疾病暴发调查[J]. 实用预防医学, 2020, 27(6): 727–729.
- NI WS, LI L, LIU X, et al. An investigation of food borne diseases caused by *Salmonella enteritis* pollution [J]. *Pract Prev Med*, 2020, 27(6): 727–729.
- [13] FERRARI RG, ROSARIO DKA, CUNHA-NETO A, et al. Worldwide epidemiology of *Salmonella* serovars in animal-based foods: A meta-analysis [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2019, 85(14). DOI: 10.1128/aem.00591-19
- [14] DIVEK VTN, VENKITANARAYANAN K, KOLLANOOR JA. Antibiotic-resistant *Salmonella* in the food supply and the potential role of antibiotic alternatives for control [J]. *Foods*, 2018, 7(10): 167.
- [15] JOURDAN-DA SN, FABRE L, ROBINSON E, et al. Ongoing nationwide outbreak of *Salmonella agona* associated with internationally distributed infant milk products, France, December 2017 [J]. *Eurosurveillance*, 2018, 23(2): 17.
- [16] PIRES RPS, GUIMARAES JT, BARROS CP, et al. Ohmic heating increases inactivation and morphological changes of *Salmonella* sp. and the formation of bioactive compounds in infant formula [J]. *Food Microbiol*, 2021, 97: 103737.
- [17] WILLIAMS V, LAKSHMIKANTHA KM, NALLASAMY K, et al. Subdural empyema due to *Salmonella paratyphi* B in an infant: A case report and review of literature [J]. *Child Nerv Syst*, 2018, 34(11): 2317–2320.
- [18] MCGRUINESS WA, MALACHOWA N, DELEO FR. Focus: Infectious diseases: Vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus* [J]. *Yale J Biol Med*, 2017, 90(2): 269.
- [19] VESTOK, HUSEBY DL, SNYGG I, et al. Muramyl endopeptidase Spr contributes to intrinsic vancomycin resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 2941.
- [20] THIELEN MK, CARLSON EE, MAY JF. Discovery of small molecules that sensitize *Salmonella* to polymyxin antibiotics [J]. *FASEB J*, 2020, 34(S1): 1.

(责任编辑: 郑丽于梦娇)

## 作者简介



余文,硕士,助理研究员,主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: 6646227@qq.com



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