

## 噬菌体鉴定食品中沙门菌污染情况调查分析

吴高莉<sup>1)</sup>, 杨滔<sup>2)</sup>, 刘立鹏<sup>1)</sup>, 张琼<sup>1)</sup>, 刘西霞<sup>1)</sup>, 唐小兰<sup>2)</sup>

(1) 长沙医学院病原生物学教研室, 湖南 长沙 410219; 2) 湖南省食品质量监督检验研究院, 湖南长沙 410111)

**[摘要]** 目的 采用噬菌体裂解法检测本市区食品中沙门氏菌污染情况. 方法 抽取 413 份食品, 采用肠杆菌诊断噬菌体, 结合生化反应和血清学鉴定结果, 检测食品中沙门氏菌污染情况. 结果 99 份食品样本中检测出 119 株沙门氏菌, 检出率 24%. 结论 沙门氏菌危害主要来自肉类食品和禽蛋, 噬菌体检测快速、方便、可靠.

**[关键词]** 沙门氏菌; 食品污染; 噬菌体

**[中图分类号]** R155.3+1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X (2013) 11 - 0012 - 03

## Detection of Salmonella in Food with Phage

WU Gao-li<sup>1)</sup>, YANG Tao<sup>2)</sup>, LIU Li-peng<sup>1)</sup>, ZHANG Qiong<sup>1)</sup>, LIU Xi-xia<sup>1)</sup>, TANG Xiao-lan<sup>2)</sup>

(1) Dept. of Pathogenic Biology, Changsha Medical University, Changsha Hunan 410219; 2) Hunan Provincial Food Quality Supervision and Inspection Institute, Changsha Hunan 410111, China)

**[Abstract]** Objective To investigate the pollution condition of Salmonella in food with phage. Methods Salmonella in 413 samples of food were detected by the diagnosis of Enterobacter phage with biochemical and serological identification. Results 119 Salmonella were detected in 99 positive samples and the isolating rate was 24%. Conclusion The disservice of Salmonella is mainly from the meat food and eggs. The detection method of phage is fast, convenient and reliable.

**[Key words]** Salmonella; Food contamination; Phage

沙门氏菌广泛分布于自然界, 是肠杆菌科中一种重要的人兽共患病病原菌, 亦是重要的食源性致病性微生物. 在世界各地的食物中毒中, 沙门氏菌引起的中毒常列榜首, 而在我国内陆地区也位居首位<sup>[1,2]</sup>. 对食物进行沙门氏菌检测可以减少食物中毒的发生.

沙门氏菌菌型繁多, 已经确认的沙门氏菌有 2500 以上个血清型<sup>[3]</sup>, 沙门氏菌的检测一直是沙门菌研究的核心问题. 传统的方法是采用生化反应进行检验, 自 1938 年 Craigie 和颜春晖首先报道用 Vi 噬菌体进行沙门氏菌的分型以来, 噬菌体的诊断技术得到广泛应用<sup>[4]</sup>. 笔者采用噬菌体法, 结合生化反应和血清学检测, 对本市各类食品中沙门氏菌进行检验, 并了解本市食品沙门氏菌污染状况.

### 1 材料与方 法

#### 1.1 食品样本来源

抽取本市生肉类、禽蛋类、水产品、蔬菜类等食品共 413 份.

#### 1.2 主要培养基及试剂

科玛嘉沙门氏菌显色培养基购于广州市益满生物. 生化鉴定用的各种培养基购于青岛海博生物. 沙门氏菌属诊断血清 (60 种) 购于宁波天润生物药业有限公司. 肠杆菌诊断噬菌体 (沙门氏菌 O-I 噬菌体、E 多价噬菌体、C 多价噬菌体) 及噬菌体培养基购于广州虎克噬菌体有限公司.

#### 1.3 方法

**[基金项目]** 湖南省教育厅科学研究基金资助项目 (09C149)

**[作者简介]** 吴高莉 (1979~), 女, 湖北公安县人, 医学硕士, 讲师, 主要从事食品微生物污染研究工作.

**[通讯作者]** 杨滔. E-mail:851088645@qq.com

**1.3.1 增菌** 称取 25g 样品放入无菌均质袋中, 加入 225 mL BPW, 用拍击式均质器拍打 2 min. 将均质袋于  $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$  培养 18 ~ 24 h. 轻轻摇动培养过的样品混合物, 吸取 1 mL 转种于 10 mL TTB 内, 于  $(42 \pm 1)^\circ\text{C}$  培养 18 ~ 24 h. 同时, 另取 1 mL 转种于 10 mL SC 内, 于  $(36^\circ\text{C} \pm 1)^\circ\text{C}$  培养 18 ~ 24 h.

**1.3.2 选择性分离培养** 取 1 环增菌液, 分别接种于 BS 琼脂平板、HE 琼脂平板和沙门菌属显色培养基中, 于  $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$  培养 18 ~ 24 h.

**1.3.3 噬菌体检测** 按照 GB/T4789.31-2003 和噬菌体使用说明进行操作. 用接种环从选择性琼脂平板中挑可疑菌落接种于 2 mL 蛋白胨水试管内, 制备成含菌量约  $1 \times 10^6/\text{mL}$  的悬液. 将 1.2% 营养琼脂平板表面自圆心起分为三等分, 用无菌棉签蘸取细菌悬液并略挤去多余液体, 在平板其中一个区域内涂抹成直径约 1 cm 的菌斑. 3 个涂抹区域之间保持适当距离. 略等数分钟, 待菌液吸收. 用安装 4 号半针头的定量乳头滴管噬菌体液, 向 3 个菌斑上分别滴加 1 滴, 依次是 O-I 噬菌体、E 多价噬菌体、C 多价噬菌体. 待 3 种噬菌体全滴加完毕后, 略等数分钟, 待噬菌体液完全吸收后, 翻转平板, 放置  $36^\circ\text{C}$  培养 5 ~ 6 h 观察结

果, 培养过夜再观察结果.

**1.3.4 生化检测** 从选择性琼脂平板上挑取可疑菌落, 分别接种于三糖铁琼脂、蛋白胨水 (靛基质试验)、尿素 (pH 7.2)、氰化钾 (KCN)、赖氨酸脱氢酶培养基, 于  $(36^\circ\text{C} \pm 1)^\circ\text{C}$  培养 18 ~ 24 h.

**1.3.5 血清学检测** 沙门氏菌血清学分型试验按 GB4789.4-2010 操作, 血清学分型鉴定的结果按 GB4789.4-2010 附录 B 常见沙门氏菌抗原表判断.

## 1.4 统计学处理

数据采用 SPSS 统计软件进行统计学处理, 各样品数采用  $\chi^2$  检验.

## 2 结果

### 2.1 噬菌体检测

挑取选择性培养基上生长的可疑菌落利用肠杆菌诊断噬菌体进行检测, 有 99 份食品样本经噬菌体裂解法检测出 119 株沙门氏菌, 其中 19 份样本中含有 2 株沙门氏菌, 具体分布见表 1.

### 2.2 生化检测和血清学检测

对选择性培养基上生长的可疑菌落用生化法检测出 127 株为沙门氏菌. 将生化法和噬菌体法检测出的阳性菌株做血清学检测, 有 114 株阳性菌株.

表 1 长沙市区食品沙门氏菌检出情况

Tab. 1 The detection of Salmonella in food of Changsha urban area

样品类别	超市			农贸菜市场		
	样品份数	阳性样品份数	检出菌株	样品份数	阳性样品份数	检出菌株
生猪肉	22	8	11	24	7	7
生牛肉	11	4	5	14	5	5
生羊肉	10	1	2	10	3	3
生鸡肉	11	5	7	20	8	9
生鸭肉	10	4	5	14	8	9
生水产品	33	1	1	36	4	4
冷冻水产品	22	0	0	24	3	3
生鸡蛋	22	10	15	28	12	16
生鸭蛋	11	3	3	22	9	10
生蔬菜	33	1	1	36	3	3

## 3 讨论

### 3.1 本市区食品沙门氏菌污染情况

沙门氏菌是一类重要的食源性致病性微生物, 沙门氏菌污染食品严重的威胁着消费者的身体健康. 抽取本市部分食品 413 份进行沙门氏菌的检验, 经噬菌体 O-I 裂解试验检测出 119 株沙门氏

菌, 来自 99 份食品, 其中 53 份来自生肉类食品, 检出率为 36.3% (53/146), 34 份来自生禽蛋, 检出率为 41% (34/83), 8 份来自水产品, 检出率为 7% (8/115), 4 份来自生蔬菜, 检出率为 5.8% (4/69). 37 份来自超市食品, 检出率为 20% (37/185), 62 份来自农贸菜场的食品, 检出率为 27.2% (62/228), 提示沙门氏菌的危害主要来自肉

类食品和禽蛋,也提示本市食品安全有待进一步加强管理,超市和农贸菜场的食品监管任务同等艰巨。

### 3.2 噬菌体检测快速、方便、可靠

Krils 和 Seelinger 等人进行了大量噬菌体 O-I 裂解试验证实,沙门氏菌属内裂解率在 95% ~ 99.6%,属外误差为 0% ~ 2.33%<sup>[9]</sup>。本调查研究中用传统生化法和噬菌体裂解法检测 413 份食品样本中沙门氏菌。2 种方法检测相符的有 116 株菌株。有 3 株菌株生化检测为非沙门氏菌,而噬菌体检测为沙门氏菌;有 11 株菌株生化检测为沙门氏菌,而噬菌体检测为非沙门氏菌,其中 8 株为埃希菌属,3 株为柠檬酸杆菌。生化法和噬菌体法检测出共 130 株菌株经血清学检测,有 114 株为沙门氏菌,全部符合噬菌体法检测,另外有 5 株血清学检测呈阴性,却能被 O-T 噬菌体裂解,不被 E 多价噬菌体和 C 多价噬菌体裂解,还有 11 株用生化法和噬菌体法检测也为阴性。

在血清学检测中,因为沙门氏菌抗原并非沙门氏菌所特有,已知弗氏柠檬酸杆菌和大肠埃希菌的许多抗原与沙门菌的抗原完全或部分相同<sup>[6]</sup>,检测可能出现假阳性,所以血清学检测应结合噬菌体检测,排除弗氏柠檬酸杆菌和大肠埃希菌的可能性。另一方面,血清学检测受使用的抗原的限制,所以 5 株 O-T 噬菌体裂解的菌株经血清学检测却为阴性,不能证明这 5 株为非沙门氏菌,因为这可能和使用的沙门氏菌属诊断血清的种类有关。

在食品中沙门氏菌检测试验中,加上培养细菌,常规的生化法检测需要 4 ~ 7 d,才能得出明确的诊断结果。各类生化反应,使检验程序复杂繁琐,耗时费力,还要受到生化试剂质量稳定性影响;肠杆菌诊断噬菌体试剂虽较贵,但是噬菌体裂

解法检测时间短,操作过程简单,节省人力、物力,操作简单,不需要特殊设备,在一般实验室均可进行,尤其适宜大量标本检验。

但是在噬菌体裂解试验中,细菌悬液的浓度、琼脂平板的软硬及干湿情况、涂抹菌液的厚薄、滴加噬菌体的量等操作,与结果都有一定的关系,故应认真操作,仔细观察。还要注意噬菌体裂解法检测有 0% ~ 2.33% 的属外误差,故对噬菌体都不裂解的菌株不可随意放弃,最好是结合生化试验和血清学检测,再判断结果,以防漏检、误检。最后因为检测样品仅 25 g,样品来自部位不同也会影响检验结果,所以实验室检测也不能全面反映食品整体沙门氏菌污染水平,食品安全任重道远。

### [参考文献]

- [1] 王晶,王林. 食品安全快速检测技术[M]. 北京:化学工业出版社,2005:1-32.
- [2] 孙吉昌,游兴勇,曾艳兵,等. 江西省零售畜禽肉中分离的 136 株沙门菌血清学鉴定与分析[J]. 实验与检验医学,2012,30(1):10-12.
- [3] 朱超,许学斌. 沙门菌属血清型诊断[M]. 上海:同济大学出版社,2009:140-142.
- [4] 陈义忠,胡丽萍,林智,等. 广州市健康人群携带的沙门菌噬菌体分型[J]. 中国公共卫生,2003,19(5):597-598.
- [5] 王鑫,闫磊,曾庆祝. 沙门氏菌的检测技术与方法[J]. 现代食品科技,2007,23(5):82-85.
- [6] 周丽君. 肠杆菌科分属诊断噬菌体在健康人群中沙门菌检验应用效能的实验观察[J]. 职业与健康,2005,21(5):757.

(2013-09-4 收稿)