

# IQ-Check Salmonella II Kit 方法对食品中沙门氏菌检测的评价

安琳, 余文, 崔生辉\*

(中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

**摘要:** 通过对标准菌株和人工污染沙门氏菌的食品样品进行检测, 评价 IQ-Check Salmonella II 试剂盒方法。该研究采用试剂盒方法对 50 株不同血清型的沙门氏菌和 50 株非沙门氏菌进行检测, 分析该方法的灵敏性和特异性; 通过对人工污染沙门氏菌食品样品 (包括液体奶、婴幼儿配方乳粉、肉及肉类制品) 的检测, 评价试剂盒方法与 GB 4789.4-2016 方法的一致性。实验结果表明: 当菌浓度在  $10^3$  CFU/mL 及以上, 试剂盒方法对 50 株沙门氏菌实现全部检出, 其对不同血清型沙门氏菌检出限的平均值为  $6.98 \times 10^2$  CFU/mL。试剂盒方法对 50 株非沙门氏菌检测结果均为阴性, 说明试剂盒特异性较好。试剂盒方法与 GB 方法对人工污染沙门氏菌的食品样品阳性检出率分别为 98.77% (161/163) 和 96.32% (157/163); 相对准确度为: 96%、99%、97%, 总体准确度为 97.33%; 相对灵敏度为: 96.22%、100%、100%, 总体灵敏度为 98.73%; 相对特异性为: 95.74%、98.15%、92.86%, 总体特异性为 95.80%。参照 ISO 16140 进行方法一致性分析, 结果表明两方法在统计学上无显著性差异。该研究表明该试剂盒方法具有高灵敏性和特异性强的特点, 在人工染菌食品样品检测中与 GB 方法呈高度一致性, 值得在食品沙门氏菌快速检测中推广应用。

**关键词:** 沙门氏菌; 食品检测; 方法验证; 方法一致性

文章篇号: 1673-9078(2022)02-272-277

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.2.0491

## IQ-Check Salmonella II Kit-based Method for the Detection of *Salmonella* in Foods

AN Lin, YU Wen, CUI Shenghui\*

(National Institute for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

**Abstract:** The IQ-Check *Salmonella* II kit-based method was evaluated through the detection of standard strains and artificially contaminated *Salmonella* in foods. In this study, the kit method was used to detect 50 *Salmonella* strains with different serotypes and 50 non-*Salmonella* strains, and the sensitivity and specificity of this method were analyzed. By detecting the artificially contaminated *Salmonella* in food samples (including liquid milk, infant formula milk powder, meat and meat products), the consistency of the kit method and the GB 4789.4-2016 method was evaluated. The experimental results showed that when the concentration of *Salmonella* was  $10^3$  CFU/mL or above, all 50 strains of *Salmonella* could be detected by the kit method, and the average detection limit of *Salmonella* with different serotypes was  $6.98 \times 10^2$  CFU/mL. The results of the kit method for 50 non-*Salmonella* strains were all negative, indicating that the kit method showed good specificity. The positive detection rates of the kit method and the GB method for the artificially contaminated *Salmonella* in food samples were 98.77% (161/163) and 96.32% (157/163), respectively. The relative accuracy was 96%, 99%, 97%, and the overall accuracy was 97.33%; the relative sensitivity was 96.22%, 100%, 100%, and the overall sensitivity was 98.73%. The relative specificity was 95.74%, 98.15%, 92.86%, and the overall specificity was 95.80%. The consistency analysis was carried out according to ISO

引文格式:

安琳,余文,崔生辉. IQ-Check Salmonella II Kit 方法对食品中沙门氏菌检测的评价[J].现代食品科技,2022,38(2):272-277,+142

AN Lin, YU Wen, CUI Shenghui. IQ-Check salmonella II kit-based method for the detection of salmonella in foods [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(2): 272-277, +142

收稿日期: 2021-05-07

基金项目: 国家重点研发计划项目重点专项 (2018YFC1603900)

作者简介: 安琳 (1989-), 女, 工程师, 研究方向: 食品安全检测, E-mail: 2048779487@qq.com

通讯作者: 崔生辉 (1987-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 食品安全检测, E-mail: cuiyshenghui@aliyun.com

16140, and the results showed that there was no statistically significant difference between the two methods. The results showed that the kit method had the characteristics of high sensitivity and strong specificity, and was highly consistent with the GB method in the detection of artificially contaminated food samples. The kit method is worthy of popularization and application in the rapid detection of *Salmonella* in food.

**Key words:** *Salmonella*; food detection; method verification; method consistency

沙门氏菌属 (*Salmonella*) 是周生鞭毛的革兰氏阴性肠道杆菌<sup>[1]</sup>, 是食源性疾病的主要致病菌之一<sup>[2]</sup>, 易造成胃肠炎、败血症、伤寒等相关疾病<sup>[3]</sup>。所以针对食品原料、产品等进行沙门氏菌检测是我国食品监管部门及食品相关企业的必检项目<sup>[4]</sup>。现有检测方法主要包括传统的培养法、免疫学检测及分子生物学方法<sup>[5]</sup>。传统培养法操作较复杂、检测周期较长, 且需要消耗大量培养基<sup>[6]</sup>。分子生物学方法中的实时荧光 PCR 方法 (Real-time fluorescent PCR, RT-PCR) 通过特异性扩增沙门氏菌的基因片段, 从而高效准确的对其进行检测, 具有用时间短, 易操作等优点, 在食品微生物快速检测中具有良好的应用前景<sup>[7]</sup>。鉴于沙门氏菌检测在食品安全中的重要地位, 不同检测试剂公司也开发了一系列针对沙门氏菌的检测试剂盒<sup>[8]</sup>。

BIO-RAD 公司开发的 IQ-Check *Salmonella* II 试剂盒方法 (以下简称试剂盒方法) 是利用 RT-PCR 方法, 采用专利设计的引物和荧光探针, 同时 96 孔位上机测定, 实现了食品中沙门氏菌的特异性高通量检测。该试剂盒检测预增菌后食品样品可实现 12 h 内报告结果, 与

我国现行标准 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》方法 (以下简称 GB 方法) 所需 5~7 d 相比极大节省了检验时间<sup>[9]</sup>。但试剂盒方法性能及能否准确检测食品中病原菌还有待验证。本研究采用试剂盒方法对 50 株沙门氏菌和 50 株非沙门氏菌进行检测, 分析该方法对不同菌株的灵敏性和特异性。同时参考 ISO 16140<sup>[10]</sup>方法, 对 GB 方法和试剂盒方法进行了比较验证, 初步分析和探讨了两种检测方法的一致性, 为试剂盒方法的有效性确认及食品中沙门氏菌快速检测工作提供更加优化的解决方案。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株及食品样品信息

本研究采用菌株包括实验室保存的 50 株已确认血清型沙门氏菌和 50 株非沙门氏菌 (见表 1、2)。菌株来源主要为中国医学细菌保藏管理中心 CMCC 注册菌株、美国典型培养物保藏中心 ATCC 菌株及中国工业微生物菌种保藏管理中心 CICC 菌株。

表 1 沙门氏菌菌株信息

Table 1 The information of *Salmonella* strain

序号	菌株编号	血清型	序号	菌株编号	血清型	序号	菌株编号	血清型
1	CMCC50981	Aberdeen	18	CMCC47540	Edingburg	35	CMCC50978	Orion
2	CMCC47503	Abony	19	ATCC13076	Enteritidis	36	CMCC47536	Pakistan
3	CMCC47520	Anatum	20	CICC21482	Enteritidis	37	CMCC50094	ParatyphiB
4	CMCC47513	Agona	21	CMCC47507	Farsta	38	CMCC47518	ParatyphiB
5	CMCC47511	Albany	22	CMCC47501	Gallinarum	39	CMCC50962	Plymouth
6	CMCC47509	Albarny	23	CMCC50985	Glostrup	40	CMCC50966	Rissen
7	CMCC47502	Albert	24	CMCC50964	Havana	41	CMCC47534	Rissen
8	CMCC50961	Altendorf	25	CMCC50960	Heidelberg	42	CMCC50992	Shubra
9	CMCC47521	Anatum	26	CMCC50993	Indiana	43	CMCC47519	Singapore
10	CMCC47510	Augustenborg	27	CMCC50956	Infantis	44	CMCC50959	Stanley
11	CMCC47505	Baiboukoum	28	CMCC47504	Kentucky	45	CMCC50979	Thompson
12	CMCC47512	Braenderup II	29	CMCC47508	Lindenburg	46	CMCC50991	Thompson
13	CMCC47535	Bonn	30	CMCC47506	Massenya	47	CMCC47553	Thompson
14	CMCC47515	Concord	31	CMCC50980	Mbandaka	48	CMCC47500	Tinda
15	CMCC47517	Derby	32	CMCC50984	Meleagridis	49	ATCC14028	Typhimurium
16	CMCC47539	Djugu	33	CMCC47537	Nchanga	50	CMCC50958	Uganda
17	CMCC47514	Eastbourne	34	CMCC50986	Oranienburg			

表2 非沙门氏菌菌株信息

Table 2 The information of non-Salmonella strain

序号	菌株编号	种属	序号	菌株编号	种属
1	CICC29001	大肠埃希氏菌	26	CMCC26608	溶血葡萄球菌
2	CMCC43202	大肠杆菌	27	CMCC26609	头状葡萄球菌
3	CMCC43205	大肠杆菌	28	CMCC26308	金黄色葡萄球菌
4	CMCC51660	福氏志贺氏菌	29	CMCC26312	金黄色葡萄球菌
5	CMCC51670	鲍氏志贺氏菌	30	ATCC25923	金黄色葡萄球菌
6	CMCC48097	布氏柠檬酸杆菌	31	CMCC32480	粪肠球菌
7	CMCC48100	弗氏柠檬酸杆菌	32	CMCC32241	铅黄肠球菌
8	CMCC20031	副溶血弧菌	33	CMCC32477	屎肠球菌
9	ATCC700603	肺炎克雷伯菌	34	CMCC32476	鸪鸡肠球菌
10	CMCC46124	肺炎克雷伯菌	35	CMCC49267	普通变形杆菌
11	CMCC52265	小肠结肠炎耶尔森菌	36	CMCC63542	枯草芽孢杆菌
12	CMCC49266	奇异变形杆菌	37	CMCC63546	枯草芽孢杆菌
13	CMCC45302	阴沟肠杆菌	38	CMCC63542	枯草芽孢杆菌
14	CMCC10901	铜绿假单胞菌	39	CMCC45107	产气肠杆菌
15	CMCC10902	铜绿假单胞菌	40	CMCC45401	阪崎克罗诺杆菌
16	CMCC54008	单核细胞增生李斯特氏菌	41	ATCC29544	阪崎克罗诺杆菌
17	CMCC54009	单核细胞增生李斯特氏菌	42	CICC21560	阪崎克罗诺杆菌
18	CMCC54103	英诺克李斯特氏菌	43	CMCC17242	创伤弧菌
19	CMCC54105	英诺克李斯特氏菌	44	CMCC20100	溶藻弧菌
20	CMCC26142	表皮葡萄球菌	45	CMCC10802	椰毒假单胞菌
21	CMCC26602	沃氏葡萄球菌	46	CMCC48092	克氏柠檬酸杆菌
22	CMCC26604	人葡萄球菌	47	CMCC63312	蜡样芽孢杆菌
23	CMCC26605	科氏葡萄球菌	48	CMCC63316	蜡样芽孢杆菌
24	CMCC26606	腐生葡萄球菌	49	CMCC26612	模仿葡萄球菌
25	CMCC26607	木糖葡萄球菌	50	CMCC15503	阿氏肠杆菌

本研究采用的食品样品包括液体奶、婴幼儿配方乳粉、肉及肉类制品 3 大类, 每类样品各 25 个, 均购自大型购物超市。

## 1.2 试剂与仪器

胰蛋白胨大豆琼脂 (Tryptic Soy Agar, TSA) 购自美国 BD 公司; 缓冲蛋白胨水、四硫酸磺钠煌绿 (TTB) 增菌液、亚硒酸盐胱氨酸 (SC) 增菌液、木糖赖氨酸脱氧胆盐 (XLD) 琼脂平板、亚硫酸铋 (BS) 琼脂平板均购自北京君立康; IQ-Check Salmonella II RT-PCR 试剂盒由美国 BIO-RAD 公司提供。

PL2002 电子天平, 梅特勒; MLS-3780 高压灭菌器, 日本三洋; ESCO 生物安全柜; 金属浴, Eppendorf; MIR262 生化培养箱, 日本三洋; 21R 微量离心机, 美国 Thermo; 全自动微生物平皿螺旋加样系统, 西班牙 IUL; CFX96 Touch Deep Well 实时定量 PCR 系统, 美国 BIO-RAD。

## 1.3 实验方法

### 1.3.1 IQ-Check 试剂盒方法及结果判读

DNA 模板制备标准方法: 取 1 mL 增菌液, 12000×g 转速离心 5 min, 弃上清, 向沉淀中加入 200 μL 试剂 A 裂解液, 涡旋混匀, 97 °C 金属浴裂解 15 min, 涡旋混匀后离心, DNA 于上清液中备用。

DNA 模板制备简单方法: 100 μL 待测菌悬液加入 100 μL 裂解液试剂 A, 涡旋混匀, 97 °C 金属浴裂解 15 min, 涡旋混匀后离心, DNA 于上清液中备用。

取 45 μL PCR 反应液和 5 μL DNA 模板于八连排 PCR 管中, 短暂离心后上机。采用试剂盒配套 CFX MIDE 2.1 软件, 选择 *Salmonella* 程序开始检验, 直至结束后收集实验数据。PCR 程序为: 95 °C 10 min 预变性, 以 95 °C 15 s, 58 °C 20 s, 72 °C 30 s 作为一个循环, 共 50 个循环。荧光通道选择 FAM 和 HEX (内部质控)。

当 FAM 信号检出 Ct 值 $\geq 10$ ，测试结果报告阳性；当 FAM 信号未检出，HEX 信号检出 Ct 值 $\geq 28$ ，测试结果报告阴性。样品平行测试结果均为阳性，即判定样品为阳性。样品平行测试如出现 1 个阴性，即判定样品阴性。

### 1.3.2 方法灵敏性评价

将 50 株经过鉴定的沙门氏菌新鲜二代培养物用无菌生理盐水调成 1.5 MCF 菌悬液，梯度稀释至  $10^4$ 、 $10^3$ 、 $10^2$  CFU/mL，使用简单方法进行 DNA 模板制备及 RT-PCR 检测，设置三平行测试，同时进行 E50 螺旋涂布菌落计数，检测结果报告阳性的最低细菌浓度为试剂盒方法检出限。

### 1.3.3 方法特异性评价

将 50 株经过鉴定的非沙门氏菌新鲜培养物用无菌生理盐水调成 1.0 MCF 菌悬液 ( $10^8$  CFU/mL)，使用简单方法进行 DNA 模板制备及 RT-PCR 检测，以沙门

氏菌作为阳性对照，考察试剂盒方法特异性，设置双平行测试。

### 1.3.4 方法一致性评价

分别按国家标准 GB 4789.4-2016<sup>[9]</sup>和 BIO-RAD 公司所提供的 IQ-Check 试剂盒操作方法进行检验。取液体乳、婴幼儿配方乳粉、肉及肉类制品 25 g 加入于 225 mL BPW 混匀，采用人工污染肠炎沙门氏菌 CICC21482 制备污染水平为 0、 $10^{-1}$ 、 $10^0$ 、 $10^1$  CFU/25 g 样品，经 36 °C 培养 24 h 预增菌后，增菌液采用试剂盒标准方法进行 DNA 模板制备及 RT-PCR 检测，设置三平行测试。同时参照 GB 方法进行 TTB 和 SC 肉汤增菌后，划线 XLD 和 BS 平板进行分离培养及沙门氏菌鉴定试验。

参考 ISO 16140<sup>[10]</sup>中的原则，计算试剂盒方法（替代方法）与 GB 方法（参照方法）的相对准确性（AC）、相对特异性（SP）和相对灵敏度（SE）并按照 ISO 16140 附件 F 的统计检验方法评价两方法的一致性。

表 3 试剂盒方法对于 50 株沙门氏菌的检出限

Table 3 Detection limit of 50 *Salmonella* strains by kit method

序号	血清型	检出限/(CFU/mL)	序号	血清型	检出限/(CFU/mL)
1	<i>Aberdeen</i>	$\geq 2.69 \times 10^2$	26	<i>Indiana</i>	$\geq 2.10 \times 10^2$
2	<i>Abony</i>	$\geq 1.61 \times 10^2$	27	<i>Infantis</i>	$\geq 9.60 \times 10^2$
3	<i>Anatum</i>	$\geq 2.89 \times 10^2$	28	<i>Kentucky</i>	$\geq 1.33 \times 10^2$
4	<i>Agona</i>	$\geq 2.08 \times 10^2$	29	<i>Lindenburg</i>	$\geq 1.43 \times 10^2$
5	<i>Albany</i>	$\geq 1.23 \times 10^2$	30	<i>Massenya</i>	$\geq 1.69 \times 10^2$
6	<i>Albarny</i>	$\geq 1.31 \times 10^2$	31	<i>Mbandaka</i>	$\geq 2.08 \times 10^3$
7	<i>Albert</i>	$\geq 1.93 \times 10^2$	32	<i>Meleagridis</i>	$\geq 5.50 \times 10^2$
8	<i>Altendorf</i>	$\geq 2.23 \times 10^2$	33	<i>Nchanga</i>	$\geq 1.07 \times 10^3$
9	<i>Anatum</i>	$\geq 2.10 \times 10^3$	34	<i>Oranienburg</i>	$\geq 1.89 \times 10^3$
10	<i>Augustenborg</i>	$\geq 3.53 \times 10^2$	35	<i>Orion</i>	$\geq 1.45 \times 10^2$
11	<i>Baiboukoum</i>	$\geq 2.34 \times 10^2$	36	<i>Pakistan</i>	$\geq 2.00 \times 10^2$
12	<i>Braenderup II</i>	$\geq 1.60 \times 10^2$	37	<i>ParatyphiB</i>	$\geq 2.57 \times 10^2$
13	<i>Bonn</i>	$\geq 1.82 \times 10^2$	38	<i>ParatyphiB</i>	$\geq 1.20 \times 10^3$
14	<i>Concord</i>	$\geq 1.17 \times 10^2$	39	<i>Plymouth</i>	$\geq 2.31 \times 10^2$
15	<i>Derby</i>	$\geq 1.65 \times 10^2$	40	<i>Rissen</i>	$\geq 1.82 \times 10^2$
16	<i>Djugu</i>	$\geq 2.20 \times 10^2$	41	<i>Rissen</i>	$\geq 1.81 \times 10^2$
17	<i>Eastbourne</i>	$\geq 2.70 \times 10^3$	42	<i>Shubra</i>	$\geq 4.17 \times 10^2$
18	<i>Edingburg</i>	$\geq 2.51 \times 10^3$	43	<i>Singapore</i>	$\geq 2.88 \times 10^3$
19	<i>Enteritidis</i>	$\geq 2.06 \times 10^3$	44	<i>Stanley</i>	$\geq 1.09 \times 10^3$
20	<i>Enteritidis</i>	$\geq 2.08 \times 10^2$	45	<i>Thompson</i>	$\geq 2.13 \times 10^2$
21	<i>Farsta</i>	$\geq 1.58 \times 10^2$	46	<i>Thompson</i>	$\geq 2.61 \times 10^2$
22	<i>Gallinarum</i>	$\geq 2.05 \times 10^2$	47	<i>Thompson</i>	$\geq 2.08 \times 10^2$
23	<i>Glostrup</i>	$\geq 1.59 \times 10^3$	48	<i>Tinda</i>	$\geq 2.00 \times 10^3$
24	<i>Havana</i>	$\geq 2.12 \times 10^3$	49	<i>Typhimurium</i>	$\geq 2.25 \times 10^2$
25	<i>Heidelberg</i>	$\geq 2.31 \times 10^2$	50	<i>Uganda</i>	$\geq 1.08 \times 10^3$

注：RT-PCR 测试结果报告阳性的最低细菌浓度。

## 2 结果与讨论

### 2.1 方法灵敏性评价

采用试剂盒方法测定 50 株沙门氏菌的检出限见表 3。当沙门氏菌浓度在  $10^3$  CFU/mL 及以上时, RT-PCR 对所有菌株检测结果均为阳性。当沙门氏菌浓度稀释至  $10^2$  CFU/mL, 仍有 36 株沙门氏菌能够检出。通过计算可知试剂盒方法对 50 株沙门氏菌检出限的平均值为  $6.98 \times 10^2$  CFU/mL, 说明该方法具有良好的灵敏性。

### 2.2 方法特异性评价

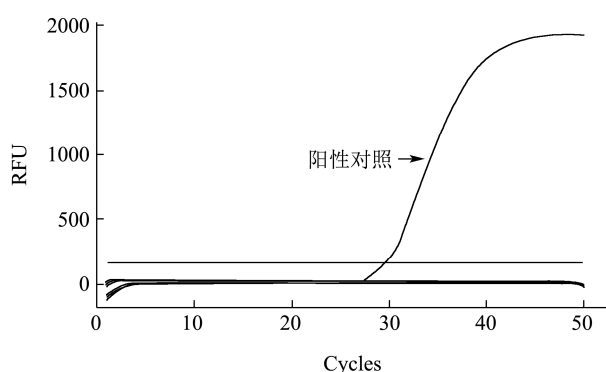


图 1 试剂盒方法检测非沙门氏菌的扩增曲线

Fig.1 The amplification curve of non-salmonella was detected by the kit

采用试剂盒方法对 50 株非沙门氏菌进行检测, 除阳性对照外所有菌株的检测结果均为阴性, 见图 1。说明试剂盒方法有很好的特异性, 与其他细菌无交叉反应。

### 2.3 方法一致性评价

以液体奶 (n=100)、婴幼儿配方乳粉 (n=100)、肉及肉类制品 (n=100) 3 类食品作为样品基质, 采用试剂盒方法和 GB 方法对沙门氏菌人工染菌样品的检测结果如表 4 所示。不添加污染菌的空白对照结果均为阴性,  $10^1$  CFU/25 g 染菌浓度三类食品样品的两方法检测结果均为阳性 (75/75);  $10^0$  CFU/25 g 染菌浓度的液体奶样品两方法检出结果一致 (21/21);  $10^{-1}$  CFU/25 g 染菌浓度的 10#、17#液体奶样品 GB 方法检测阴性试剂盒方法检测阳性, 9#、18#液体奶样品 GB 方法检测阳性试剂盒方法检测阴性。试剂盒方法对  $10^0$  CFU/25 g 染菌浓度的婴幼儿配方乳粉样品检出数高于 GB 方法 (18/17), 23#样品 GB 方法检测阴性试剂盒方法检测阳性;  $10^{-1}$  CFU/25 g 染菌浓度的婴幼儿配方乳粉样品两方法检出结果一致 (4/4); 试剂盒方法对  $10^0$  CFU/25 g 和  $10^{-1}$  CFU/25 g 染菌浓度的肉及肉类制品检出数均高于 GB 方法 (23/22 和 13/11), 16#和 17#、19#样品 GB 方法检测阴性试剂盒方法检测阳性。结果分析可知试剂盒方法与 GB 方法的阳性检出率为 98.77% (161/163) 和 96.32% (157/163)。

试剂盒方法对三类食品基质中沙门氏菌加标样品的相对准确度 (AC)、相对灵敏度 (SE) 和相对特异性 (SP) 结果如表 5 所示。对液体奶、婴幼儿配方乳粉、肉及肉类制品加标样品检测相对准确度为: 96%、99%、97%, 总体准确度为 97.33%; 检测灵敏度为: 96.22%、100%、100%, 总体灵敏度为 98.73%; 检测特异性结果为: 95.74%、98.15%、92.86%, 总体特异性为 95.80%。根据 ISO 16140: 2003 附录 F 计算出两种方法的一致性, 结果如下: PD=6, ND=2; Y=PD+ND=8;  $6 \leq Y \leq 8$ , M=0,  $m > M$ 。故得出结论: 两种方法在统计学意义上无显著性差异。

表 4 试剂盒方法和 GB 方法对沙门氏菌人工染菌食品样品检测结果

Table 4 Test results of artificially contaminated food samples with *Salmonella* by kit method and GB method

样品类型	染菌浓度/ (CFU/25 g)	阳性结果 试剂盒法/GB 方法	GB 方法-/试剂盒方法+ 样品号	GB 方法+/试剂盒方法- 样品号
液体奶 (n=100)	阴性对照	0/0	-	-
	$10^1$	25/25	-	-
	$10^0$	21/21	-	-
	$10^{-1}$	7/7	10#, 17#	9#, 18#
婴幼儿配方乳粉 (n=100)	阴性对照	0/0	-	-
	$10^1$	25/25	-	-
	$10^0$	18/17	23#	-
	$10^{-1}$	4/4	-	-
肉及肉类制品 (n=100)	阴性对照	0/0	-	-
	$10^1$	25/25	-	-
	$10^0$	23/22	16#	-
	$10^{-1}$	13/11	17#、19#	-

表5 试剂盒法的相对准确度(AC)、相对灵敏度(SE)和相对特异性(SP)结果

Table 5 Relative accuracy (AC), relative sensitivity (SE) and relative specificity (SP) of the kit method

样品类型	PA	NA	ND	PD	AC	N+	SE	N-	SP
液体奶 (n=100)	51	45	2	2	96%	53	96.22%	47	95.74%
婴幼儿配方乳粉 (n=100)	46	53	0	1	99%	46	100%	54	98.15%
肉及肉类制品 (n=100)	58	39	0	3	97%	58	100%	42	92.86%
总计 (n=300)	155	137	2	6	97.33%	157	98.73%	143	95.80%

注: PA: 两方法均为阳性数; NA: 两方法均为阴性; ND: 负偏差, GB 方法阳性, 试剂盒法阴性数; PD: 正偏差, GB 方法阴性, 试剂盒法阳性数; N+: GB 方法阳性数; N-: GB 方法阴性数; AC: 相对准确度/ $\%=(PA+NA)/N \times 100\%$ ; SE: 相对灵敏度/ $\%=(PA/(N+)) \times 100\%$ ; SP: 相对特异性/ $\%=(NA/(N-)) \times 100\%$ 。

IQ-Check 试剂盒方法是基于实时荧光 PCR 原理的检测方法, 该方法对目标物通常具有较低的检出限<sup>[11]</sup>。谢雨龙等<sup>[12]</sup>建立的实时荧光 PCR 法对模拟污染的预包装柳州螺蛳粉模经过一步增菌 18 h 后最低检测出 4 CFU/25 g 沙门氏菌。麻丽丹等<sup>[13]</sup>建立的 Taqman MGB 实时荧光 PCR 法对江瑶贝和蝇子肉中添加肠炎沙门氏菌的最低检测限为 130 CFU/mL。本研究数据表明试剂盒方法对 50 株不同血清型沙门氏菌的检出限为  $10^2 \sim 10^3$  CFU/mL, 与相关研究结果基本一致。当菌浓度达到  $10^3$  CFU/mL 及以上时, 50 株沙门氏菌检测结果均为阳性。然而由于该方法灵敏性高, 为避免阳性样本的交叉污染, 需要对实验室分区、设备和器具规范使用、人员操作和环境等提出更严格要求<sup>[14]</sup>。本研究采用 50 株包含多属种的高浓度 ( $10^8$  CFU/mL) 非沙门细菌以验证试剂盒法的特异性, 结果表明试剂盒与其他细菌无交叉反应, 该结果具有比较充分的代表性。

本研究采集 75 份不同品牌液体奶、婴配乳粉、肉及肉制品食品样品并选择  $10^1$ 、 $10^0$ 、 $10^{-1}$  CFU/25 g 三个较低的染菌浓度条件, 考察试剂盒方法与 GB 方法的一致性。实验结果表明: 与 GB 方法相比, 试剂盒方法对不同样品中人工污染的沙门氏菌的检测呈现较好的一致性和准确度(总体准确度 97.33%), 且两方法在统计学无显著差异。实验中只有个别样品检测结果存在差异, 其中国标方法检出阳性试剂盒方法未检出的 2 份染菌浓度为  $10^{-1}$  CFU/25 g 液体奶样本, 可能是由于染菌浓度过低而出现的随机性结果, 4 份国标方法未检出而试剂盒方法检出阳性的  $10^{-1}$  CFU/25 g 液体奶和肉类样品, 可能是试剂盒方法更为灵敏的体现。此外采用试剂盒方法进行食品样品检测仅需要 2 d, 该方法可以弥补传统方法在处理一些突发食品安全事件中, 由于检测时效慢而不能满足快速检测的需求。

### 3 结论

综上所述, IQ-Check 试剂盒方法对沙门氏菌检验

具有良好的灵敏性和特异性, 在液体奶、婴配奶粉和肉及肉类制品样品中, 该方法与国标法相比呈现了良好的一致性和准确度。鉴于该方法具有操作简单、耗时短的特点, 因此该方法适用于公司企业进行沙门氏菌的快速检测, 具有较好的可推广性。

### 参考文献

- [1] Aaydha C V, Tien A N, Krishna K, et al. Rapid detection of *Salmonella enterica* in food samples by a novel approach with combination of sample concentration and direct PCR [J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2019, 129: 224-230
- [2] 韩毅, 孙燕萍, 周虹, 等. 实时荧光定量 PCR 法与分离培养法检测食品从业人员沙门菌和志贺菌的比较研究[J]. *中国食品卫生杂志*, 2015, 27(2): 132-135  
HAN Yi, SUN Yanping, ZHOU Hong, et al. Comparison of RT-PCR method and culture method for the detection of *Salmonella* and *Shigella* from food practitioners [J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2015, 27(2): 132-135
- [3] 汪国翡, 胡弘宇. 食品中沙门氏菌检测现状分析[J]. *食品安全导刊*, 2020, 6: 146  
WANG Guofei, HU Hongyu. Analysis of current situation of *Salmonella* detection in food [J]. *China Food Safety Magazine*, 2020, 6: 146
- [4] 覃湘婕, 孙宁与, 李春尧, 等. 食品中沙门氏菌检测方法研究进展[J]. *中国酿造*, 2020, 39(9): 18-24  
QIN Xiangjie, SUN Ningyu, LI Chunyao, et al. Research progress of *Salmonella* detection methods in food [J]. *China Brewing*, 2020, 39(9): 18-24
- [5] 郭耀东, 韩晓江, 张英华, 等. 沙门氏菌检测的研究进展[J]. *农产品加工(上半月)*, 2019, 5: 75-78  
GUO Yaodong, HAN Xiaojiang, ZHANG Yinghua, et al. Research progress of *salmonella* detection [J]. *Academic Periodical of Farm Products Processing*, 2019, 5: 75-78

(下转第 142 页)