

# 食品中金黄色葡萄球菌肠毒素的快速检测方法

吴斌<sup>1,2\*</sup> 秦成<sup>2</sup> 裴轶君<sup>2</sup> 金凤燮<sup>3</sup>

(沈阳农业大学 沈阳 110161)<sup>1</sup> (辽宁出入境检验检疫局 大连 116001)<sup>2</sup>  
(大连轻工业学院 大连 116021)<sup>3</sup>

**摘要:** 采用反向被动乳胶凝集法 (RPLA) 和 mini-VIDAS (ELFA) 两种方法对 42 份金黄色葡萄球菌阳性样品进行了肠毒素检测。结果 RPLA 法的金葡萄球菌肠毒素检出率为 61.9% ( $P < 0.05$ ) 要高于 ELFA 法的检出率 50.0% ( $P < 0.05$ ), 但检测时间长 (20 h)。在实验中我们还发现, 血浆凝固酶阴性的葡萄球菌也可产生肠毒素, 其原因有待进一步的研究。

**关键词:** 食品、金黄色葡萄球菌肠毒素, 快速检测

**中图分类号:** Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2004) 05-0093-03

## Rapid Detection on Staphylococcal Enterotoxin of Food

WU Bin<sup>1,2\*</sup> QIN Cheng<sup>2</sup> PEI Yi-Jun<sup>2</sup> JIN Feng-Xie<sup>3</sup>

(Shengyang Agricultural University, Shenyang 110161)<sup>1</sup>  
(Liaoning Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Dalian 116001)<sup>2</sup>  
(Dalian Light Industry Institute, Dalian 116021)<sup>3</sup>

**Abstract:** 42 passive samples of *Staphylococcus aureus* were detected by reversed passive latex agglutination (RPLA) and mini-VIDAS (ELFA) in staphylococcal enterotoxin (SA) and the rate of inspection of SA was 61.9% and 50% respectively, which of RPLA is higher than ELFA. But detection time of RPLA is longer than ELFA. During detection, it is found that enterotoxin is still detected in negative sample of plasma coagulase test

**Key words:** Food, Staphylococcal enterotoxin, Rapid detection

金黄色葡萄球菌 (以下简称金葡菌) 是重要的食源性致病菌, 广泛存在于自然界中。各种食品中平均 32% 存在金葡菌, 而且条件合适的话, 还会大量繁殖并产生肠毒素。肠毒素是金葡菌菌株产生的一类结构上类似的碱性蛋白质 (A, B, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, D, E 和 F), 能引起严重的食物中毒。大多数食品及食品原料, 如肉、乳、蛋制品, 糖果, 糕点等, 均要求进行金葡菌肠毒素的检测<sup>[1]</sup>。传统的方法检测时间长, 效率低。反向被动乳胶凝集 (RPLA) 及 mini-VIDAS 酶联荧光免疫 (ELFA) 快速分析法具有灵敏度高、特异性强、操作方便等优点, 已逐步应用于进出口食品卫生检测中。

## 1 材料与方方法

### 1.1 仪器及材料

1.1.1 微型自动荧光酶标免疫分析仪: 购自法国生物梅里埃公司。

\* 联系人 Tel: 0411-89611618, E-mail: wubin69@163.com

收稿日期: 2004-01-12, 修回日期: 2004-02-16

1.1.2 金葡菌菌株来源: 各食品加工企业收集的阳性菌株 42 株及阴性菌株 5 株。

1.1.3 前增菌培养基: 均由法国生物梅里埃公司提供。

1.1.4 反向被动乳胶凝集 (RPLA) 试剂盒: 由 OXOID 公司提供。

## 1.2 检测方法

1.2.1 反向被动乳胶凝集法 (RPLA)<sup>[2]</sup>: 葡萄球菌肠毒素 A, B, C, D 免疫的兔抗体血清经过纯化后与聚苯乙烯乳胶颗粒结合, 这些乳胶颗粒在存在相应的肠毒素时就会产生相应的凝集反应。同时提供阴性质控, 即与未经免疫的血清结合的乳胶颗粒。实验在 V 型的微孔板中进行。食品的抽提物或菌落滤液在 5 排 V 型微孔板中进行稀释, 一定量的乳胶悬液加入各孔中, 混匀。如果有金葡菌肠毒素 A, B, C, D 存在, 将会出现凝集反应, 形成特定的网络结构, 最终在微孔底部扩散形成一层沉淀。如果不存在肠毒素或低于检出限, 就不会形成网络结构, 乳胶颗粒就会紧密地凝集在微孔底部。

1.2.2 mini-VIDAS 酶联荧光免疫分析法 (ELFA): 将血浆凝固酶阳性的菌株接入营养肉汤  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  培养 24 h, 并严格按 mini-VIDAS 的操作规程, 采用全自动酶标免疫测试系统以 ELFA 技术 (酶联荧光免疫分析) 测定其肠毒素有无强弱程度<sup>[3]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 42 株金葡菌在食品中的分布及产生肠毒素情况

见表 1。

表 1 42 株金葡菌在食品中的分布及肠毒素检出结果

样品名称	份数	检出数 (份)		检出率	
		ELFA	RPLA	ELFA	RPLA
冻鲑鱼片	17	12	15	70.6%	88.2%
冻马哈鱼片	8	4	5	50.0%	62.5%
鱿鱼丝	5	2	2	40.0%	40.0%
冻煮杂色蛤肉	4	1	2	25.0%	50.0%
盐渍鲑鱼片	4	2	2	50.0%	50.0%
冻江瑶贝柱	2	0	0	0	0
模拟蟹肉	1	0	0	0	0
合计	42	21	26	50.0%	61.9%

从表 1 可以看出, 7 类产品中冻鲑鱼片的金葡菌肠毒素检出率最高, 达 88.2% ( $P < 0.05$ ), 而冻江瑶贝柱和模拟蟹肉的检出率为 0。这说明金葡菌及其肠毒素的检出率与机械化程度及生长条件有直接的关系, 加工鲑鱼片的过程中需要长时间的人工操作 (剥皮、切片), 而且操作工人的手极易受伤感染, 产生大量金葡菌, 导致产品污染。另外, 盐渍鲑鱼片因盐份较高, 易于金葡菌的生长。所以冻鲑鱼片和盐渍鲑鱼片中金葡菌肠毒素的检出率非常高。由表 1 还可以看出, RPLA 法的金葡菌肠毒素检出率 61.9% ( $P < 0.05$ ) 要高于 ELFA 法的检出率 50.0% ( $P < 0.05$ ),

### 2.2 两种检测金葡菌肠毒素的方法比较

见表 2。

表2 RPLA与ELFA检测金葡菌肠毒素的比较

方法	灵敏性	检测时间	备注
ELFA	检出限 1 ng/mL	80 min	
RPLA	检出限 0.5 ng/mL	20 h	经改进可减少为 4 h

### 2.3 血浆凝固酶阴性的也可检出肠毒素

5株金葡菌阴性的菌株中有1株经RPLA法检出肠毒素,后经革兰氏染色,镜检观察为葡萄球菌。

## 3 结论

金葡菌肠毒素已被视为食物中毒的主要因素之一,引起世界各国的普遍关注,因此建立快速检验方势在必行。一般的传统方法的整个操作过程繁杂,时间长。而用RPLA和ELFA法来检测,可以简便、快速地鉴定金葡菌肠毒素。

(1) RPLA法的金葡菌肠毒素检出率高于ELFA法,但检测时间较长。据英国的Pamela B和Papasian C J的研究<sup>[4]</sup>,经改变RPLA法中的离心重力加速度的作用及时间,可以很好地减少检测时间,从原来的20~28 h,减少到4~6 h;如果在这种方法中使用磁性颗粒和磁力来加速乳胶颗粒的沉降,将是一种很有发展前途的检测方法。

(2) ELFA法检测的最大优点是被检样品加入到提取缓冲液中1,000~3,000r/min离心15 min,取5 mL上清液后即可上机,80 min便知结果,方便、快速、灵敏、准确、自动化程度高。但目前用VIDAS检测金葡菌肠毒素尚不能分型。

(3) 血浆凝固酶阴性的葡萄球菌也可产生肠毒素,其原因有待进一步研究。

(4) 上述两种快速检测方法填补了我们在日常工作中检测金葡菌肠毒素时因提取肠毒素难、试剂来源难、保存时间短、操作繁琐等原因而无法检测此毒素的空白,弥补了用金黄色葡萄球菌计数来确定其是否影响进出口食品卫生质量的缺陷。

## 参考文献

- [1] 施志国,张延霞,刘伟,等.中华医院感染学杂志,1994,4(2):69~71.
- [2] 向阳.中国食品学报,2002,2(2):57~61.
- [3] 斯国静,张蔚,韦东芳.中国卫生检验杂志,2002,12(4):496.
- [4] Papasian C J, Carrison B. Diagn Microbial Infect Dis, 1999, 33: 201~203.