

实验技术与方法

改良半固体四硫磺酸钠煌绿培养基用于鸡肉中沙门菌的检测

刘辉,刘岚铮,李健,时玉雯,胡光春

(济南市疾病预防控制中心,山东 济南 250021)

摘要:目的 使用改良半固体四硫磺酸钠煌绿(MSTT)培养基对鸡肉样品中的沙门菌进行初筛,作为附加步骤对 ISO 6579.2002 方法进行改良,以节约人力物力和时间。方法 将 MSTT 培养基经虹吸法装入玻璃毛细管,插入预增菌液或增菌液类液体培养基,使半固体培养基和液体培养基相结合,预增菌或增菌过程同动力增菌过程同步进行。此外对使用 MSTT 培养基改良 ISO 6579.2002 方法分为纯菌种组和自然鸡肉样品组分别试验,并对结果进行评估。结果 应用改良 ISO 6579.2002 方法,沙门菌株检出率纯菌种组为 98% (126/129),自然污染的沙门菌阳性鸡肉样品检出率为 92% (35/38),而原 ISO 6579.2002 方法对自然污染的沙门菌阳性鸡肉样品检出率为 87% (33/38),低于改良法;与原方法相比,72% (264/367) 的阴性样品不需要进一步分离和鉴定试验。结论 应用 MSTT 培养基改良后的 ISO 6579.2002 方法能够应用于鸡肉中沙门菌的检测,且优势明显。

关键词:改良半固体四硫磺酸钠煌绿培养基;沙门菌;动力增菌;食源性致病菌;检测;培养基

中图分类号:R155.5;R378.2⁺2 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2015)06-0634-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2015.06.007

Modified semisolid tetrathionate medium for *Salmonella* detection in poultry

LIU Hui, LIU Lan-zheng, LI Jian, SHI Yu-wen, HU Guang-chun

(Jinan Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shandong Jinan 250021, China)

Abstract: Objective To optimize the ISO 6579 : 2002 method using modified semisolid tetrathionate (MSTT) medium which was introduced for preliminary screening of *Salmonella* in poultry products. **Methods** MSTT medium was used for motility enrichment of *Salmonella*. It was loaded by capillary tube which was inserted into liquid medium (pre-enrichment medium or enrichment medium). Therefore, the semisolid medium and liquid medium were connected, and motility enrichment would proceed simultaneously with pre-enrichment or with enrichment. The optimized ISO 6579.2002 method using MSTT medium was evaluated with pure strains and actual contaminated poultry samples. **Results** The method could detect 98% (126/129) of pure strains, and could detect 92% (35/38) of the contaminated poultry samples, while ISO 6579.2002 method could detect 87% (33/38) of the contaminated poultry samples. Comparing to ISO 6579.2002 method, 72% (264/367) of the negative samples did not need further isolation and identification after using MSTT medium. **Conclusion** The optimized ISO 6579.2002 method using MSTT medium is suitable for *Salmonella* detection in poultry, and could save labour and resources.

Key words: Modified semisolid tetrathionate medium; *Salmonella*; motility enrichment; foodborne pathogenic bacteria; detection; medium

目前国际上已有很多食品中沙门菌检验的标准方法,而且一般均以培养法为基准方法。培养法一般包括预增菌、增菌、分离和生化血清学鉴定等步骤^[1-8],其中 ISO 6579.2002(以下简称原方法)适用于鸡肉相关产品中的沙门菌检验,同时该方法被美国分析化学家协会(AOAC)官方方法 2002.10 等

同采用^[9]。源于在敏感性和活菌获得方面的优点,培养法目前在国际范围内被广泛使用,是一些分子生物学和免疫学快检方法无法取代的。但是培养法也有其不足之处,主要表现在需要耗费大量的人力,而其中大部分人力是应用于阴性样品却又无法省略的,包括对大量的阴性样品投入的分离工作和对大量疑似菌落投入的鉴定工作。为了节约人力,同时节约物力和时间,在原方法的基础上,本研究设计和引入了改良半固体四硫磺酸钠煌绿(MSTT)培养基对鸡肉样品中的沙门菌进行初筛,作为附加步骤对 ISO 6579.2002 进行了改良。MSTT 培养基

收稿日期:2014-08-28

作者简介:刘辉 男 主管技师 研究方向为微生物检验

E-mail:dahuilu1981@sina.com

通讯作者:胡光春 男 副主任技师 研究方向为微生物检验

E-mail:hgch9121@163.com

主要作用原理是对沙门菌的动力增菌。将 MSTT 培养基经虹吸装入玻璃毛细管,然后插入预增菌液或增菌液类液体培养基,从而使半固体培养基和液体培养基相结合,预增菌或增菌过程同动力增菌过程同步进行。此外,本研究对使用 MSTT 培养基改良后的 ISO 6579:2002 方法(以下简称改良法)进行了评估,分为纯菌种评估和自然鸡肉样品评估。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 菌种及样品来源

13 株为标准菌株,分别为布伦登卢普沙门菌(*Salmonella Braenderup*, ATCC BAA-664)、肠炎沙门菌(*Salmonella enteritidis*, ATCC 13076)、鼠伤寒沙门菌(*Salmonella typhimurium*, ATCC 14028)、弗氏柠檬酸菌(*Citrobacter freundii*, ATCC 43864)、大肠埃希菌(*Escherichia coli*, ATCC 25922)、大肠埃希菌(*Escherichia coli*, ATCC 43889)、阪崎肠杆菌(*Cronobacter sakazakii*, ATCC 25944)、奇异变形杆菌(*Proteus mirabilis*, ATCC 12453)、副溶血性弧菌(*Vibrio parahemolyticus*, ATCC 17802)、粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*, ATCC 29212)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, ATCC 29213)均购自美国标准菌种保藏中心,福氏志贺菌(*Shigella flexneri*, CMCC 51577)、福氏志贺菌(*Shigella flexneri*, CMCC 51579)均购自中国医学微生物菌种保藏管理中心。其他 174 株菌均为分离株,来源于食品和临床样本,使用 Vitek 2 Compact 系统鉴定。367 份自然鸡肉样品购买于济南市超市及农贸市场。

1.1.2 主要仪器与试剂

Vitek 2 Compact 鉴定系统(法国生物梅里)、生物安全柜、恒温培养箱。

缓冲蛋白胨水(BPW)、Rappaport-Vassiliadis 大豆蛋白胨(RVS)肉汤、添加新生霉素的 Muller-Kauffmann 煌绿肉汤(MKTTn 肉汤)、亚硫酸铋(BS)琼脂和木糖赖氨酸脱氧胆盐(XLD)琼脂均购自英国 Oxoid。MSTT 培养基为实验室自行配制,配方为:10.0 g 蛋白胨、5.0 g 牛肉浸粉、3.0 g NaCl、5.0 g 胆盐、30 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 和 2.7 g 琼脂溶解于 1 000 ml 去离子水中。将该基础培养基悬液加热至沸腾,然后冷却至 46 ~ 50 °C;20 ml I_2 和 KI 溶液(250 g/L I_2 和 300 g/L KI)、10 ml 煌绿溶液(1 g/L)和 2 ml 新生霉素溶液(无盐型,20 g/L)加入到 1 000 ml 基础培养基中。上述各成分除 NaCl、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、KI 溶液和煌绿溶液购自北京陆桥技术有限责任公司外,其余均购自英国 Oxoid。

1.2 方法

1.2.1 毛细管中装载 MSTT 培养基

将 0.1 cm 内径,10 cm 长的玻璃毛细管的两头各做一个平行的直角弯头,每个弯头分别长 2.5 cm,一头带有适配于 3 ml 玻璃管制瓶的发泡硅胶塞。毛细管的另一头带有根据不同样品类别而使用的增菌液容器(3 ml 玻璃管制瓶、10 ml 玻璃试管或 250 ml 锥形瓶)所适配的硅胶塞,制备好的玻璃毛细管高压灭菌处理后备用。吸取新配制的 2.7 ml MSTT 培养基立即转移至 3 ml 管制瓶中。将适配于该瓶的玻璃毛细管一端立即浸入培养基中。通过虹吸作用,MSTT 培养基会充满整个毛细管,毛细管的另一端待用。

1.2.2 应用 MSTT 培养基改良法

将 MSTT 培养基分别插入加入样品的预增菌 BPW,及加入培养后预增菌液的两种增菌培养基——RVS 肉汤和 MKTTn 肉汤中。经过一段时间培养,BPW、RVS 肉汤和 MKTTn 肉汤中所生长的沙门菌会于 MSTT 培养基中沿着毛细管生长和运动,其他种类杂菌会被抑制,从而使沙门菌能够被初步筛检出。

无菌称取 25 g 的鸡肉样品加入无菌均质袋中,然后加入 225 ml 的 BPW 中。均质 3 min 后,将悬液无菌倒入 250 ml 玻璃锥形瓶中,插入 1.2.1 准备的装有 MSTT 培养基的毛细管的备用端,使端口浸入到 BPW 中。形成一个毛细管培养 BPW-MSTT 装置,置于恒温培养箱中于 36 °C 培养 16 ~ 24 h,16 h 培养后开始观察结果。典型沙门菌生长为 MSTT 培养基的晕圈生长线穿过玻璃毛细管的中点或者位于中点附近。不典型生长为晕圈生长线未能到达玻璃毛细管的中点或无晕圈生长线存在,但绿色的 MSTT 培养基相比阴性对照明显褪色。无晕圈生长或无明显褪色现象记录为无沙门菌生长。凡是不典型生长或无生长的样品于 36 °C 继续培养 24 h,然后再观察是否有沙门菌典型生长。

24 h 培养后的 BPW 轻轻混匀,吸取 0.1 ml 该培养液加入到 10 ml RVS 肉汤中;吸取 1.0 ml BPW 培养液加入到 10 ml MKTTn 肉汤中。分别将两支制备好的装有 MSTT 培养基的毛细管的备用端插入到上述两种培养液中形成 RVS-MSTT 装置和 MKTTn-MSTT 装置。RVS-MSTT 装置于 42 °C 培养 24 h。MKTTn-MSTT 装置于 36 °C 培养 24 h。如果没有沙门菌典型生长,则在原有温度下继续培养 24 h。

如果毛细管中的晕圈生长线到达了另一端的管制瓶中,则将晕圈生长线中的培养物直接划线接

种于BS琼脂和XLD琼脂。如果毛细管中的晕圈生长线未能到达另一端的管制瓶中,仍位于毛细管内,则于生长线处将毛细管经砂轮磨口后无菌掰裂,暴露出的培养物接种BS琼脂和XLD琼脂。后续鉴定等检测步骤依据原方法进行。

1.2.3 对应用MSTT培养基改良法的评估

纯菌种:129株沙门菌和58株非沙门菌用来评估毛细管培养法。冻存的非沙门菌菌株使用营养琼脂于36℃复苏24h,然后采用改良法培养。沙门菌直接使用冻存于-80℃的菌株,来测试改良法。因为少量的BPW就能够满足纯菌种增菌的要求,因此3ml玻璃管制瓶替代了250ml玻璃锥形瓶用来盛放BPW。复苏后的非沙门菌菌株和沙门菌菌株于BPW-MSTT装置中36℃培养,如果菌株于24h未产生典型生长,则进行BPW-MSTT的48h培养及RVS-MSTT和MKTTn-MSTT步骤;若菌株于24h产生典型生长,则不必进行后续培养。在同一株菌相关的3个培养装置中,任何一个产生阳性结果则该菌株测试结果记录为阳性,反之,在任何一个培养装置中均未产生阳性结果则记录为该菌株测试阴性。

自然污染鸡肉样品:每一个样品用原方法和改良法进行平行测试。两种方法的检测率使用McNemar检验法进行统计学分析。

2 结果

2.1 纯菌种评估

129株沙门菌中126株在MSTT培养基中呈现了典型生长,为阳性结果,因此检出率为98%;58株非沙门菌中2株呈阳性,具体菌株结果见表1。全部阳性沙门菌菌株均于BPW-MSTT装置中即生长,RVS-MSTT和MKTTn-MSTT步骤未进行。其中108株在24h内典型生长,73株于16h典型生长,35株于17~24h典型生长。68株晕圈生长线延伸入另一端的玻璃管制瓶中。其他18株生长于24~48h培养,其中8株的晕圈生长线延伸入另一端的玻璃管制瓶中。伤寒沙门菌、甲型副伤寒沙门菌和丙型副伤寒沙门菌各一株在BPW-MSTT、RVS-MSTT和MKTTn-MSTT装置中均未产生阳性结果。

在1.2.2全部3个步骤中,48株非沙门菌菌株未产生任何晕圈生长线。1株阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*)菌株虽然在整個毛细管中未产生晕圈生长线,但是于48h培养后于另一端的玻璃管制瓶中产生了轻微的晕圈,且使MSTT培养基产生了明显的褪色。7株非沙门菌,包括4株奇异变形杆菌(*Proteus mirabilis*)、2株弗氏柠檬酸菌

表1 纯菌株对MSTT培养基的评估结果(株)

Table 1 Evaluation results of the MSTT medium with pure strains

菌株分类	菌株名称	试验菌株数	阳性菌株数
	阿巴沙门菌 <i>Salmonella</i> Aba	1	1
	阿贡纳沙门菌 <i>Salmonella</i> Agona	2	2
	阿卡杰沙门菌 <i>Salmonella</i> Akanji	1	1
	奥拉尼堡沙门菌 <i>Salmonella</i> Aranienburg	3	3
	阿斯涅沙门菌 <i>Salmonella</i> Assinie	2	2
	鸭沙门菌 <i>Salmonella</i> anatum	1	1
	波那雷恩沙门菌 <i>Salmonella</i> Bonariensis	1	1
	布利丹沙门菌 <i>Salmonella</i> Blegdam	1	1
	布伦登卢普沙门菌 <i>Salmonella</i> Braenderup	1	1
	猪霍乱沙门菌 <i>Salmonella</i> Choleraesuis	1	1
	克米顿沙门菌 <i>Salmonella</i> Chomedey	1	1
	克勒肯威尔沙门菌 <i>Salmonella</i> Clerkenwell	3	3
	科克迪沙门菌 <i>Salmonella</i> Cocody	2	2
	道拉沙门菌 <i>Salmonella</i> Daula	2	2
	都柏林沙门菌 <i>Salmonella</i> Dublin	1	1
	肠炎沙门菌 <i>Salmonella</i> enteritidis	33	33
	印第安纳沙门菌 <i>Salmonella</i> Indiana	10	10
	伊鲁木沙门菌 <i>Salmonella</i> Irumu	1	1
	克斯坦兹沙门菌 <i>Salmonella</i> Konstanz	1	1
	拉姆柏修斯特沙门菌 <i>Salmonella</i> Lamberhurst	1	1
沙门菌	林登堡沙门菌 <i>Salmonella</i> Lindenburg	2	2
	罗米纳沙门菌 <i>Salmonella</i> Lomita	2	2
	伦敦沙门菌 <i>Salmonella</i> London	1	1
	马尔默沙门菌 <i>Salmonella</i> Malmoe	1	1
	内科拉沙门菌 <i>Salmonella</i> Nakuru	1	1
	尼夫顿堡沙门菌 <i>Salmonella</i> Neftenbach	1	1
	新罗歇尔沙门菌 <i>Salmonella</i> Newrochelle	1	1
	诺顿沙门菌 <i>Salmonella</i> Norton	1	1
	巴布亚那沙门菌 <i>Salmonella</i> Papuana	1	1
	甲型副伤寒沙门菌 <i>Salmonella</i> paratyphi A	1	0
	乙型副伤寒沙门菌 <i>Salmonella</i> paratyphi B	1	1
	丙型副伤寒沙门菌 <i>Salmonella</i> paratyphi C	1	0
	普雷斯顿沙门菌 <i>Salmonella</i> Preston	1	1
	罗斯托克沙门菌 <i>Salmonella</i> Rostock	1	1
	瑞森沙门菌 <i>Salmonella</i> Rissen	1	1
	萨雷加尼沙门菌 <i>Salmonella</i> Sarajane	1	1
	胥瓦增格隆沙门菌 <i>Salmonella</i> Schwarzengrund	3	3
	斯坦利沙门菌 <i>Salmonella</i> Stanley	4	4
	苏贝鲁沙门菌 <i>Salmonella</i> Suberu	1	1
	汤卜逊沙门菌 <i>Salmonella</i> Thompson	9	9
	托弩马沙门菌 <i>Salmonella</i> Tounouma	3	3
	伤寒沙门菌 <i>Salmonella</i> typhi	2	1

续表 1

菌株分类	菌株名称	试验菌株数	阳性菌株数
沙门菌	鼠伤寒沙门菌 <i>Salmonella</i> Typhimurium	11	11
	维也纳沙门菌 <i>Salmonella</i> Wien	1	1
	II 04, 12: Hz: z39	3	3
	II 09, 12: Hg, m, s, t: e, n, x	1	1
	II 06, 8: H1, z28: e, n, x	1	1
	II 04, 12, 27: Hz: e, n, x	2	2
	IIIb 61: i: z	1	1
	弗氏柠檬酸菌 <i>Citrobacter freundii</i>	3	1
	杨氏柠檬酸菌 <i>Citrobacter youngae</i>	2	1
	肺炎克雷伯菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	0
	臭鼻克雷伯菌 <i>Klebsiella ozaenae</i>	1	0
	产酸克雷伯菌 <i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0
	大肠埃希菌 <i>Escherichia coli</i>	11	0
	弗格森埃希菌 <i>Escherichia fergusonii</i>	3	0
	阴沟肠杆菌 <i>Enterobacter cloacae</i>	2	0
	阪崎肠杆菌 <i>Cronobacter sakazakii</i>	2	0
	奇异变形杆菌 <i>Proteus mirabilis</i>	7	0
	普通变形杆菌 <i>Proteus vulgaris</i>	1	0
	福氏志贺菌 <i>Shigella flexneri</i>	2	0
	摩氏摩根菌 <i>Morganella morganii</i>	1	0
威斯康辛米勒菌 <i>Moelleralla wisconsensis</i>	1	0	
蜂房哈夫尼亚菌 <i>Hafnia alvei</i>	1	0	
副溶血性弧菌 <i>Vibrio parahemolyticus</i>	2	0	
鲍氏不动杆菌 <i>Acinetobacter baumannii</i>	1	0	
非沙门菌			
铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	0	
温和气单胞菌 <i>Aeromonas sobria</i>	1	0	
类志贺邻单胞菌 <i>Plesimonas shigelloides</i>	1	0	
海藻希瓦尔菌 <i>Shewanella alga</i>	1	0	
白假丝酵母菌 <i>Candida albicans</i>	1	0	
粪肠球菌 <i>Enterococcus faecalis</i>	2	0	
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	2	0	
木糖葡萄球菌 <i>Staphylococcus xylosus</i>	1	0	
嗜麦芽寡氧单胞菌 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	0	
蜡样芽胞杆菌 <i>Bacillus cereus</i>	1	0	
单核细胞增生李斯特菌 <i>Listeria monocytogens</i>	2	0	

(*Citrobacter freundii*) 和 1 株杨氏柠檬酸菌 (*Citrobacter youngae*) 于部分步骤中产生了晕圈生长线, 但是均未达到毛细管中线。仅有 1 株弗氏柠檬酸菌和 1 株杨氏柠檬酸菌产生了典型的沙门菌样生长。因此 MSTT 培养基的特异性为 97% (56/58), 具体结果见表 1。

2.2 自然污染样品评估结果

对于鸡肉样品, 共计 38 份样品通过原方法或改良法中的任何一种方法检测出阳性。原方法检出

33 份样品, 经改良法后, 其中 30 份仍然被检出, 3 份未被检出, 但是另有 5 份样品被检出阳性 (原方法为阴性结果)。改良法共检出 35 份阳性样品。改良法的检出率为 10% (35/367), 与原方法 9% (33/367) 的检出率比较差异没有统计学意义 ($P > 0.05$)。

对于经 MSTT 培养基筛选出的 35 份阳性样品, 32 份于 BPW-MSTT 装置中即呈现阳性结果, 另 3 份由 RVS-MSTT 和 MKTTn-MSTT 步骤检出。BPW-MSTT 装置的检出率是 9% (32/367), 与原方法的检出率比较差异无统计学差异 ($P > 0.05$)。在 BPW-MSTT 装置中, 29 份样品于 24 h 内典型生长, 19 份于 16 h 典型生长。

所检出的沙门菌血清型见表 2。对于其中 17 份阳性样品, 沙门菌是由 MSTT 培养物划线接种的相关后续分离平板 XLD 琼脂和 BS 琼脂上的唯一生长菌或者主要生长菌 (少量菌生长, 不超过 20 菌落数)。

表 2 鸡肉样品中所分离的沙门菌血清型 (株)

Table 2 Serovars of *Salmonella* isolates from poultry samples

血清型	数量	原方法	改良法
肠炎型 Enteritidis	9	8	9
汤卜逊型 Thompson	5	5	5
印第安纳型 Indiana	4	4	3
鼠伤寒型 Typhimurium	3	2	3
托弩马型 Tounouma	2	1	2
科克迪型 Cocody	2	2	2
阿斯涅型 Assinie	1	1	1
布利丹型 Blegdam	1	1	0
猪霍乱型 Choleraesuis	1	0	1
德尔卑型 Derby	1	1	1
伊鲁木型 Irumu	1	1	0
康斯坦兹型 Konstanz	1	1	1
林登堡型 Lindenburg	1	1	1
罗纳纳型 Lomita	1	0	1
尼夫顿堡型 Neftenbach	1	1	1
纽波特型 Newport	1	1	1
诺顿型 Norton	1	1	1
巴布亚那型 Papuana	1	1	1
山夫登堡型 Senftenberg	1	1	1
合计	38	33	35

总计 68 份假阳性菌株出现于 MSTT 培养基中, 其中 43 份样品中发现弗氏柠檬酸菌、19 份样品中发现阴沟肠杆菌和 6 份样品中发现奇异变形杆菌。

3 讨论

应用 MSTT 培养基改良法可以检出 98% 沙门菌菌株, 检出 92% (35/38) 的自然污染的沙门菌阳性鸡肉样品, 用原方法可检出 87% (33/38) 自然污染的沙门菌阳性鸡肉样品。因此, 应用 MSTT 培养基改良法能够用于检测鸡肉中的沙门菌。在特定情况下, 改良法可进一步简化, 仅进行 BPW-MSTT 步骤, 取消 RVS-MSTT 和 MKTTn-MSTT 步骤。BPW-

MSTT 装置可以检出 98% 沙门菌菌株和 84% 的自然污染的沙门菌阳性鸡肉样品,与原方法的检出率比较差异无统计学意义,但是比完整步骤的改良法检出率略低,可以导致部分假阴性结果,因此使用简化步骤前需要考虑平衡检测成本与效果。

与原方法比较,72% (264/367) 阴性样品不需要进一步的分离和鉴定试验。且 83% (29/35) 的阳性样品能够于 24 h 内被初步筛选,54% (19/35) 甚至可以在 16 h 内被初检出。

MSTT 培养基是以四硫磺酸钠煌绿肉汤 (TTB) 为基础改型而来的,主要改型内容为去掉了碳酸钙和增加了琼脂。在 TTB 中,碳酸钙用于中和细菌增殖产生的酸类,以消除酸类对目标沙门菌生长的抑制作用。但是对于 MSTT 培养基,若含有碳酸钙,培养过程中酸与碳酸钙反应产生的 CO₂ 气体会破坏半固体培养基的结构。在 MSTT 培养基中,沙门菌移动和生长的前沿部位没有酸或有少许酸类,前沿后边产生的酸类会使培养基中胆盐发生沉淀,从而形成肉眼可见的晕圈,而且可以抑制后续竞争性杂菌的生长。因此加入碳酸钙对于 MSTT 培养基非但没有用处,反而是有害的。

尽管改良半固体 Rappaport-Vassiladis (MSRV) 培养基已经被广泛使用于沙门菌动力增菌^[10],但在毛细管中,预试验表明该培养基在一些方面表现不如 MSTT 培养基(未发表)。MSRV 培养基需要 36 h 的培养才能产生沙门菌典型生长,比 MSTT 培养基多约 20 h。明显的晕圈只在末端的玻璃管制瓶中出现,在毛细管中观察不到,而且个别在 MSTT 培养基中可以生长的菌株于 MSRV 培养基中不生长。

对于 MSTT 培养基,有一些局限性需要关注:该培养基无法检出无动力沙门菌,如鸡白痢沙门菌 (*Salmonella pullorum*) 和 鸡 沙 门 菌 (*Salmonella gallinarum*),这两型菌比较罕见,且主要引起动物特别是禽类的疾病,对人类危害较小^[11],作为食品中的致病菌对人类的危害不大,因此此类菌产生的假阴性现象对食品中沙门菌检测总体效果的影响不大,可以忽略不计。毛细管培养法也不能检测到甲型副伤寒沙门菌、丙型副伤寒沙门菌和伤寒沙门菌中的一些菌株,该类菌株也是目前通用的一些国际标准沙门菌检

验方法中普遍存在的问题^[12]。对于 2 000 种以上血清型的沙门菌属没有任何一种方法能够 100% 覆盖全部血清型,因此各种方法都各有千秋。

参考文献

- [1] AOAC. AOAC Official Method 993.07, *Salmonella* in cocoa and chocolate, motility enrichment on modified semi-solid Rappaport-Vassiladis (MSRV) medium [S]. USA: Maryland, 1996.
- [2] AOAC. AOAC Official Method 995.07, *Salmonella* in dried milk products, motility enrichment on modified semi-solid Rappaport-Vassiladis (MSRV) medium method [S]. USA: Maryland, 1998.
- [3] AOAC. AOAC Official Method 995.20, *Salmonella* in raw, highly contaminated foods and poultry feed [S]. USA: Maryland, 1999.
- [4] AOAC. AOAC Official Method 2000.06, *Salmonella* in foods with a low microbial load, detection [S]. USA: Maryland, 2000.
- [5] AOAC. AOAC Official Method 2002.10, *Salmonella* detection in fresh cheese, dried egg products, and fresh chilled and frozen poultry [S]. USA: Maryland, 2006.
- [6] FDA. Bacteriological analytical manual, February 2014 version, chapter 5, *Salmonella* [S]. USA: Washington DC, 2014.
- [7] ISO. ISO 6579. 2002, microbiology of food and animal feeding stuffs—horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. [S]. Switzerland: Geneva, 2002.
- [8] ISO. ISO/TS 6579-2-2012, microbiology of food and animal feed—horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella*—part 2: enumeration by a miniaturized most probable number technique [S]. Switzerland: Geneva, 2012.
- [9] Feldsine P T, Lienau A H, Leung S C, et al. Detection of *Salmonella* in fresh cheese, poultry products, and dried egg products by the ISO 6579 *Salmonella* culture procedure and the AOAC Official Method: collaborative study [J]. J AOAC Int, 2003, 86(2): 275-295.
- [10] Worcman-Barninka D, Destro M T, Fernandes S A, et al. Evaluation of motility enrichment on modified semi-solid Rappaport-Vassiladis medium (MSRV) for the detection of *Salmonella* in foods [J]. Int J Food Microbiol, 2001, 64(3): 387-393.
- [11] Freitas N O, Penha F R, Barrow P, et al. Sources of human nontyphoid Salmonellosis: a review [J]. Braz J Poultry Sci, 2010, 12(1): 1-11.
- [12] Aspinall S T, Hindle M A, Hutchinson D N. Improved isolation of *Salmonellae* from faeces using a semisolid Rappaport-Vassiladis medium [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1992, 11(10): 936-939.