

实验技术与方法

用 Dot-ELISA 方法检测生肉中的沙门菌

韩志辉,张红见

(青海大学动物医学系,青海 西宁 810016)

摘要:目的 检测生肉中的沙门菌带菌情况,为预防沙门菌食物中毒提供理论参数。方法 应用 Dot-ELISA 法对西宁市某屠宰厂 85 份猪胴体,101 份羊胴体和 71 份牛胴体进行沙门菌的检测,同时用常规分离培养鉴定技术作为对照试验。结果 Dot-ELISA 法检出沙门菌阳性率分别为 76.47% (65/85)、55.44% (56/101) 和 46.48% (33/71);而常规分离培养鉴定技术检出沙门菌阳性率分别为 78.82% (67/85)、47.52% (48/101) 和 43.66% (31/71)。两种方法的阳性符合率分别为 86.57%、85.71% 和 81.82%,两种方法在检测中的差异无显著性 ($P > 0.05$)。结论 Dot-ELISA 法检测沙门菌快速、准确,且与分离培养法阳性符合率较高;生肉中沙门菌带菌现象较为严重,存在一定的食品安全隐患。

关键词: Dot-ELISA; 检测; 生肉; 沙门菌; 食品安全; 食源性致病菌

中图分类号: R378.22 文献标识码: B 文章编号: 1004-8456(2011)06-0553-02

Dot-ELISA in the detection of salmonella in raw meat

Han zhihui, Zhang hongjian

(Animal medicine Department of Qinghai University, Qinghai Xining 810016, China)

Abstract: Objective To detect the carriage of Salmonella in raw meat for the prevention of Salmonella food poisoning.

Methods Dot-ELISA was used to detect the contamination of Salmonella from 85 pork, 71 beef and 101 mutton raw meat samples, and compared with the routine isolation and culture identification technique in some slaughter houses in Xining.

Results The positive rate was 76.47% (65/85) for pork, 55.44% (56/101) for beef and 46.48% (33/71) for mutton detected by Dot-ELISA; and the positive rate was 78.82% (67/85), 47.52% (48/101) and 43.66% (31/71), respectively detected by routine isolation and culture identification technique. The coincidence rate of the two methods for pork, beef and mutton was 86.57%, 85.71% and 81.82%, respectively. There was no significant difference statistically between the results of these two methods ($P > 0.05$). **Conclusion** The carriage of Salmonella in raw meat was in severity, existing hidden danger in food safety.

Key words: Dot-ELISA; detection; raw meat; *Salmonella*; food safety; foodborne pathogens

目前检测沙门菌方法有细菌的分离培养鉴定技术、常规 ELISA 法、SPA-协同凝集试验和 PCR^[1]。作者用建立的 Dot-ELISA 法对西宁市某生猪屠宰点、牛羊屠宰点的 85 份猪胴体、101 份羊胴体和 71 份牛胴体进行了沙门菌的检测,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 备检样品

无菌随机 2 h 内采取屠宰猪胴体中淋巴结 85 份、牛胴体中淋巴结 71 份和羊胴体中淋巴结

101 份,备用。

1.1.2 Dot-ELISA 主要材料

1% 双氧水、封闭液、底物溶液、洗涤液、沙门菌多价清、HRP 标记的羊抗兔 IgG、大肠杆菌、变形杆菌等均由动物传染病实验室提供;硝酸纤维素膜。

1.1.3 分离培养鉴定主要材料

BL 增菌培养基、SS 平板培养基及生化鉴定培养基均由本室自制;沙门菌属诊断血清(卫生部兰州生物制品研究所生产,批号:810003)。

1.2 方法

1.2.1 特异性测定

用鼠伤寒沙门菌、大肠杆菌、变形杆菌、D-魏氏梭菌作 Dot-ELISA 试验,进行特异性测定。

1.2.2 敏感性测定

以每毫升含 50、100、200、400、800、1 600、3 200、6 400、12 800、25 600、 12×10^4 、 12×10^6 、 $12 \times$

收稿日期:2011-04-08

作者简介:韩志辉 男 教授 研究方向为动物传染病的诊断与防治 E-mail: zhi-hui-han@163.com

10⁸ 个沙门菌作敏感性试验。

1.2.3 抗体最佳工作浓度测定

用洗涤液(0.05% V/V吐温 20 的 PBS 液)将沙门菌多价血清从 1:40 到 1:640 递倍稀释,同样将 HRP 标记的羊抗兔 IgG 从 1:100 到 1:1 600 递倍稀释,然后进行方阵滴定。结果表明,沙门菌多价血清的最佳工作浓度为 1:80,HRP 标记的羊抗兔 IgG 的最佳工作浓度为 1:200。

1.2.4 增菌培养

无菌采取淋巴结接种于 BL 增菌培养基中,37℃培养 24 h。

1.2.5 Dot-ELISA 测定方法

按参考文献[2]进行。

1.2.6 结果判定

观察膜上颜色,凡出现棕黄色斑点者为阳性“+”,不出现棕黄色斑点者为阴性“-”。

1.2.7 分离培养、生化试验和血清学鉴定

均按照参考文献[3 6-8]方法进行。

2 结果

用 Dot-ELISA 和常规分离培养检测的阳性率结果见表 1。

表 1 Dot-ELISA 和常规分离培养检测结果

Table 1 Detection results of Dot-ELISA and routine isolation and culture identification technique

样品	样品数	Dot-ELISA 法		常规分离培养鉴定		阳性符合率(%)
		阳性数	阳性率(%)	阳性数	阳性率(%)	
猪	85	65	76.47	67	78.82%	86.57
牛	71	33	46.48	31	43.66	81.82
羊	101	56	55.44	48	47.52	85.71

所分离的菌株数分别为鼠伤寒沙门菌 109、利密特沙门菌 14、丙型副伤寒沙门菌 6、鸭沙门菌 2、马科玛沙门菌 9、仙台沙门菌 1、肠炎沙门菌 2、沙门菌 II 1、汤卜逊沙门菌 2,共分离 146 株。

3 讨论

3.1 本次试验中牦牛的沙门菌阳性检出率为 35.56% (16/45,以 Dot-ELISA 为准),黄牛或黑白花牛的沙门菌阳性检出率为 65.38% (17/26)。在温热地区的草场,沙门菌可随时存在于空气或蓄水中,此时犊牛最易感染^[4],出现这种状况可能与牦牛身处严寒和高海拔的青藏高原地区,其抵抗力远高于黄牛和黑白花牛有关,且和青藏高原污染相对较轻有关,原因有待于进一步的研究。

3.2 本次试验检出沙门菌阳性率样本高达 60.70% (156/257),表明此次猪、牛、羊胴体中沙门菌的污染较为严重。共分离沙门菌 146 株,其中鼠伤寒沙门菌 109 株,占 74.66% (109/146),表明鼠伤寒沙门菌为生肉中污染的优势菌种;检出 2 株汤卜逊沙门菌,应给予重视,因为汤卜逊沙门菌在人类食物中毒和鸡病流行中起着相当重要的作用^[5],这些应引起有关部门的关注。

参考文献

[1] 韩志辉,石全有,治文先,等.葡萄球菌 A 蛋白-协同凝集试验检测种蛋沙门菌[J].中国兽医科技,1996,26(6):29-31.

[2] 蔡家利,王诗德,顾金泉,等.应用 Dot-ELISA 检测肉品中沙门菌[J].中国兽医科技,1991,21(8):23-25.

[3] 郑钧镛,王光宝.药品微生物学检验技术[M].北京:人民卫生出版社,1989.

[4] SPIE S J, SMITH B P, TYLER J F W, et al. Use of ELISA for detection of immunoglobulins G and M that recognize Salmonella Dublin lipopolysaccharide for prediction of carrier status in cattle[J]. Am J Vet Res, 1990, 51(12):1990-1994.

[5] 刘大程,乌尼,王琦.汤卜逊沙门菌的分离鉴定[J].中国畜禽传染病,1996,(4):1-3.

[6] 张红见,韩志辉,郭海平. Dot-ELISA 法与常规法检测仔虾中沙门菌的效果比较[J].青海大学学报,2010,28(3):62-65.

[7] 韩志辉.动物性饲料中沙门菌的分离鉴定[J].中国预防兽医学报,2000,22(4):308-309.

[8] 陈沁,李健,杨英.进口动物性饲料中沙门菌的分离鉴定[J].中国动物检疫,2002,19(1):24-25.