

[10] 陈蓓,吉文亮,朱峰,等. 江苏省内小麦粉中 4 种交链孢毒素污染情况调查[J]. 中国公共卫生,2018,34(3):393-395.

[11] 赵凯. 食品中交链孢毒素污染、生物利用及风险评估研究[D]. 北京:中国疾病预防控制中心,2015.

[12] WEBLEY D J, JACKSON K L, MULLINS J D, et al. Alternaria toxins in weather damaged wheat and sorghum in the 1995-1996 Australian harvest [J]. Aust J Agric Res, 1997, 48 (8): 1249-1255.

[13] LI F Q, TOYAZAKI N, YOSHIKAWA T. Production of alternaria mycotoxins by alternaria alternata isolated from weather-damaged wheat [J]. J of Food Protection, 2001, 64 (4): 576-580.

调查研究

2017 年我国沙门菌定性检验及血清学分型质量控制考核结果研判

胡豫杰¹,刘畅²,徐进¹,王美美¹,李志刚¹,余东敏¹,赵熙¹,张宏元¹,韩春卉¹,张靖¹,
李燕俊¹,李业鹏¹,裴晓燕¹,李宁¹,李凤琴¹
(1. 国家食品安全风险评估中心 国家卫生健康委员会食品安全风险评估重点实验室, 北京 100021; 2. 北京农学院食品科学与工程学院,北京 102206)

摘要:目的 评估我国食品安全风险监测体系各检验机构(简称检验机构)食源性沙门菌的定性检测能力,并全面了解各级检验机构实验室沙门菌血清学分型能力概况,确保沙门菌检验结果准确可靠,提升监测质量。方法 批量制备菌球样品(含 6 种我国常见血清型沙门菌和阴性对照)和样品基质,经稳定性等测试后发放至 435 家检验机构进行考核,使用点分数法对上报结果进行评价,Pearson 卡方检验进行率的比较。结果 431 家检验机构上报检验结果,初测所有指标完全正确率为 72.6%(313/431),总体满意率为 92.6%(399/431),结果不满意的主要类别为阴性样品假阳性(7.4%,32/431),区县级检验机构满意率(80.0%,52/65)低于省级(100.0%,32/32)和地市级(94.3%,315/334)。血清学分型考核完全正确比例为 80.7%(348/431),不同级别检验机构间血清群正确率差异无统计学意义($P>0.05$),但地市级检验机构血清型正确率低于省级甚至区县级。结论 本次考核提示各级检验机构的沙门菌定性检验能力基本能够满足监测任务需求,但部分实验室仍需要加强质量控制以提升沙门菌检验水平,省级以下实验室血清型鉴定水平仍需进一步提高,本次质量控制考核为开展针对性的监测培训提供了数据支持。

关键词:食品安全; 风险监测; 质量控制; 考核; 沙门菌; 定性检验; 血清学分型; 检验机构

中图分类号:R155 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-8456(2018)06-0615-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2018.06.013

Analysis on quality control assessment results of *Salmonella* qualitative detection and serotyping in China, 2017

HU Yujie¹, LIU Chang², XU Jin¹, WANG Meimei¹, LI Zhigang¹, YU Dongmin¹,
ZHAO Xi¹, ZHANG Hongyuan¹, HAN Chunhui¹, ZHANG Jing¹, LI Yanjun¹,
LI Yepeng¹, PEI Xiaoyan¹, LI Ning¹, LI Fengqin¹
(1. NHC Key Laboratory of Food Safety Risk Assessment, China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China; 2. Food Science and Engineering College, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China)

Abstract: Objective A quality control assessment was conducted to assess the *Salmonella* qualitative detection capability of responsible unit in inspection institutions of food safety risk monitoring system in China, and to fully understand *Salmonella* serotyping ability of monitoring laboratories at different level, in order to guarantee reliable

收稿日期:2018-10-28

基金项目:国家食品安全风险评估中心高层次人才队伍建设“523”项目

作者简介:胡豫杰 男 助理研究员 研究方向为食源性沙门菌 E-mail:huyujie@cfsa.net.cn

通信作者:李凤琴 女 研究员 研究方向为食品微生物 E-mail:lifengqin@cfsa.net.cn

detection data and isolates, and enhance the monitoring quality. **Methods** Bacterial samples including 6 different common *Salmonella* serovars and negative control were prepared with substrate samples, and distributed to 435 participates after stability test. The result were evaluated with point-score system and ratios were analyzed with Pearson χ^2 test. **Results** A total of 431 reports were received from the participate laboratories, 72.6% (313/431) of which were all correct, and the overall satisfaction rate was 92.6% (399/431). The main category for the dissatisfaction was the false positive of the negative samples (7.4%, 32/431). The satisfaction rate of county participates (80.0%, 52/65) was lower than provincial (100.0%, 32/32) and prefecture level (94.3%, 315/334). The correct rate of serotyping section was 80.7% (348/431). There was no significant difference in the correct rate of serogroups between different levels ($P > 0.05$), but the correct rate of serotypes in prefecture-level laboratories was lower than that of provincial or even county level participates. **Conclusion** This assessment indicates that ability of *Salmonella* qualitative detection at all levels of task-undertaking units in inspection institutions can basically meet the requirements, however, some laboratories need to improve quality control in order to strengthen ability of *Salmonella* detection. A continuing need for improvement on serotype identification still existed among laboratories below provincial level. This quality control assessment could play a role in providing a data basis for training in inspection institutions.

Key words: Food safety; risk monitoring; quality control; assessment; *Salmonella*; qualitative detection; serotyping; inspection institutions

2009 年《中华人民共和国食品安全法》^[1] 立法规定国家建立食品安全风险监测制度,对食源性疾 病、食品污染及食品中的有害因素进行监测,该项工作由国务院卫生行政部门会同国务院食品药品监督管理、质量监督等部门共同制定和实施国家食品安全风险监测计划,旨在了解我国食品中主要污染物及有害因素的污染水平和趋势,确定危害因素的分布和可能来源,发现食品安全风险隐患,利于及时采取风险监管措施,也为食品安全风险评估、预警、标准制定和修订提供可靠数据支撑。国家食品安全风险监测网(以下简称监测网)于 2010 年开始全面实施并不断扩大完善,目前已覆盖全国 31 个省(自治区、直辖市)和新疆生产建设兵团在内的省级、地(市)级和县(区)级疾病预防控制中心(CDC),通过每年对各类食品的污染情况进行监测,产生数以万计反映中国食品安全现状的数据,而组织各级监测点开展质量控制考核,评价相关检验能力,是督促我国食品安全风险监测体系各级检验机构(以下简称检验机构)提高监测水平的重要方式^[2]。

沙门菌病是最常见的食源性疾 病之一,全球每年因食品中沙门菌污染引起的感染病例数以亿计^[3]。沙门菌宿主广泛、分类复杂,目前已发现的血清型超过 2 600 种^[4],不同血清型在耐药性、致病性、代谢类型及宿主范围等特征上存在差异^[5]。鉴于食源性沙门菌的危害及其监测工作的重要性,国家食品安全风险评估中心于 2017 年 11 月开展了本次质量控制考核,以评估我国各级检验机构食源性沙门菌的定性检测和血清学分型能力,确保相关监测工作的质量。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 考核对象

本次质量控制考核面向监测网各级检验机构,包括省级(省、自治区、直辖市、新疆生产建设兵团)、地市级(地级市、地区、自治州、盟和直辖市市区)和区县级(地级市下辖区县、自治县和县级市)等各级 CDC 或其他检验机构,要求省级 CDC 和承担 2017 年监测网食源性沙门菌检验任务相关检验机构必须参加,其他机构自愿参加。

1.1.2 考核菌株

本次考核选取本实验室保存的 6 株不同血清型沙门菌,5 株来自世界卫生组织全球食源性感染网络外部质量保证系统(WHO-GFN EQAS)国际考核菌株,1 株来自中国医学细菌保藏管理中心(CMCC)。6 株考核菌株的血清型均为国内食品中沙门菌常见型别,血清群涵盖常见群(B、C1、C3 和 D 群),H 鞭毛抗原种类多样,涉及包括 HMA(d,i)、HMB(g,m,f,s)、HMC(r)、HMD(1,2,5,z6)等多价 H 血清所包含的多个 H 鞭毛抗原因子。考核菌株具体信息见表 1。

1.2 方法

1.2.1 无菌样品基质制备及稳定性测试

使用某品牌脱脂奶粉作为样品基质,经 65 ℃ 恒温烘烤 3 d,在安全柜中按照 25 g/袋分装至自封袋,真空铝塑封装后经高能电子束辐照灭菌(5 kGy 吸收剂量)后室温保存。每隔 1 周随机抽取 5 袋样品基质,按照 GB 4789.2—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》^[6] 和 GB

表 1 本次考核所用 6 株沙门菌信息

Table 1 Information of 6 *Salmonella* strains in this evaluation

编号	来源	原始编号	血清型	血清式	血清群	H1 相	H2 相
1	WHO-GFN EQAS	2016 S-16. 2	婴儿 (Infantis)	6,7:r:1,5	C1	r	1,5
2	WHO-GFN EQAS	2016 S-16. 3	肠炎 (Enteritidis)	9,12:g,m: -	D	g,m	—
3	WHO-GFN EQAS	2016 S-16. 5	斯坦利 (Stanley)	4,12:d:1,2	B	d	1,2
4	WHO-GFN EQAS	2013 S-13. 8	肯塔基 (Kentucky)	8,20:i:z6	C3	i	z6
5	CMCC	50333	鼠伤寒 (Typhimurium)	4:i:1,2	B	i	1,2
6	WHO-GFN EQAS	2015 S-15. 3	阿贡纳 (Agona)	4,12:f,g,s: -	B	f,g,s	—

注:—表示该血清型别为单相菌,没有 H2 相

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》^[7]进行菌落总数计数和食品中沙门菌检验,测试时间从辐照灭菌后到样品发放后 2 周。经验证样品基质为无菌食品载体,沙门菌检验阴性,可用于本次实验室质量控制考核。

1. 2. 2 考核菌球样品制备及稳定性测试

将 6 株沙门菌复苏后连续挑取单颗菌落培养,使用过滤除菌的保护剂调节细菌浊度,连续 10 倍稀释后计数(平板计数法^[6]和 3 M 菌落总数纸片法)计算菌悬液浓度,选取 10⁷ CFU/ml 浓度菌悬液,安全柜内滴加至盛有液氮的灭菌烧杯中制成菌球(20 μl/滴),无菌转移至灭菌西林瓶后冷冻真空干燥(冻干后经菌落总数检测细菌含量约为 5 × 10³ CFU/菌球),加盖铝箔盖、铝塑封装 -20 ℃ 冷冻保存。本次考核设置有不含细菌的菌球作为阴性样品,直接使用保护剂以相同流程制备,阴性菌球样品同样经辐照灭菌处理。仪器及相关区域使用前彻底消毒,不同考核菌株分开制作菌球,以降低污染风险。

设置 -20、4 ℃ 和室温 3 种温度条件对制备的 6 种阳性菌球和 1 种阴性菌球进行稳定性测试,每隔 1 周分别从 3 个温度随机抽取 7 种菌球各 2 个(共计 42 个),按照 GB 4789. 2—2016 和 GB 4789. 4—2016 分别对菌球进行活菌数量检测和沙门菌检验,使用聚合酶链式反应(PCR)方法对分离出的菌株进行沙门菌属验证^[8],按照 GB 4789. 4—2016 进行血清学分型,测试时间为样品制备完成后到样品发放 2 周后。经检验确认,1 号菌球(婴儿沙门菌)在室温放置条件细菌含量有所下降(约为 10² CFU/菌球,仍能正常检出),在 -20 和 4 ℃ 条件下含量无影响(约为 10³ CFU/菌球);2~6 号菌球在所有温度条件下,菌球内沙门菌含量均无影响(约为 10³ CFU/菌球);阴性菌球在所有条件下均未检出活菌及沙门菌。所有分离出的沙门菌血清型均与制备前相符,未发现污染,可推断发放和运输过程中可能的温度变化和运输时间对此次考核样品的影响在可控范围内。

1. 2. 3 样品发放和运输

6 种沙门菌阳性菌球按照表 1 中顺序分为 6 组,

分别为:1 + 2、2 + 3、3 + 4、4 + 5、5 + 6 和 6 + 1,每个考核单位获得 1 组阳性菌球、1 个阴性菌球和 3 袋样品基质。6 组阳性样品在各省内检验机构间无序排列,省间尽量保证 6 种阳性菌球样品均衡分布。每省所有考核样品统一发放至省级 CDC,再由省级 CDC 按照考核编号于 10 d 内将样品分发至省内检验机构,确保各检验机构在样品发出后 15 d 内收到考核样品。样品使用航空运输 95 kPa 专用样品运输袋,并按照生物物质 B 类 UN 3373 感染性物质类别要求,使用相应的生物安全包装材料进行包装,委托具有相关资质的物流公司运输。

1. 2. 4 检验流程要求

各检验机构收到样品后应及时置于 -20 ℃ 下短期保存,并于 10 个工作日内完成检测,15 个工作日内上报考核结果。样品检验应按照作业指导书进行样品处理后,按照 GB 4789. 4—2016^[7]中预增菌步骤开始检验。本次考核推荐按照以上流程开展检验,如采用其他方法开展考核,需在结果报告中注明相关仪器、试剂、方法等信息。检验过程中应注意生物安全防护,检验完成后应对样品进行无害化处理。根据 2017 年监测计划要求,沙门菌定性检验为所有检验机构必须完成项目,血清学分型项目仅纳入省级检验机构考核满意度测算。初测结束后,选取与初测不同组别阳性菌球组织部分检验机构进行复测。

1. 2. 5 结果评价

使用点分数法^[9]对考核结果进行评价,即所得点分数大于点分数满分的 2/3 判定为满意。针对沙门菌定性检验项目:正确检出是否含沙门菌赋 2 分,假阳性(多检)或假阴性(漏检)赋 0 分,点分数满分为 6 分,如结果顺序错误(无多检和漏检,但样品阴阳性判断顺序有误)总分减 1 分;针对省级检验机构的血清学分型项目:正确检出血清群或血清型赋 2 分,正确检出但名称描述错误赋 1 分,血清型错误赋 0 分,血清群错误赋 -1 分,点分数满分共计 8 分。综上,省级和省级以下检验机构的点分数满分别为 14 和 6 分。本次考核中率的比较使用 Pearson 卡方检验,*P* < 0. 05 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 样品发放及考核结果上报情况

报名参加本次考核有 435 家检验机构,完成考核并成功上报结果的有 431 家(省级 32 家、地市级 334 家、区县级 65 家)检验机构,上报率为 99.1%。发放菌球共计 1 305 个,实际上报考核结果的有 1 293 个,其中 1~6 号阳性菌球和阴性菌球上报数量分别为 141、143、145、145、145、143、431 个。

2.2 考核初测结果总体分析

上报结果的 431 家检验机构中有 313 家(72.6%)结果(包括血清学分型)完全正确,结果评价为满意,其中省级、地市级和区县级检验机构分别有 30(93.8%,30/32)、242(72.5%,242/334)和 41 家(63.1%,41/65),省级完全正确率较地市级检验机构高,差异有统计学意义($P<0.05$),地市级与

区县级检验机构的完全正确率差异无统计学意义($P>0.05$)。另有 118 家检验机构存在不同种类错误,利用点分数法评价后,得到 86 个满意结果和 32 个不满意结果(详见表 2)。故本次考核初测阶段共得到 399 个满意结果,总体满意率为 92.6%(399/431)。32 个不满意结果均来自省级以下检验机构(地市级 19 个,区县级 13 个),其中 30 个为假阳性,1 个为假阴性,1 个为假阳性且顺序错误。本次考核省级、地市级和区县级检验机构的满意率分别为 100.0%(32/32)、94.3%(315/334)和 80.0%(52/65),经 Pearson 卡方检验,省级与地市级检验机构之间满意率差异无统计学意义($P>0.05$),地市级与区县级之间的满意率差异有统计学意义($P<0.05$),本次考核中省级和地市级考核单位的满意率高于区县级检验机构。

表 2 118 家检验机构实验室点分数法结果评价表

Table 2 Evaluation results of 118 participate laboratories by point-score-system

实验室编号	检验机构级别	得分	结果判定	实验室编号	检验机构级别	得分	结果判定	实验室编号	检验机构级别	得分	结果判定
2017S-01(9)	地市级	6	满意	2017S-14(9)	区县级	4	不满意	2017S-22(15)	地市级	6	满意
2017S-01(15)	地市级	6	满意	2017S-14(13)	区县级	5	满意	2017S-22(16)	地市级	6	满意
2017S-01(17)	地市级	6	满意	2017S-14(14)	区县级	6	满意	2017S-22(17)	地市级	6	满意
2017S-02(2)	地市级	4	不满意	2017S-14(17)	区县级	4	不满意	2017S-22(19)	地市级	6	满意
2017S-02(6)	地市级	6	满意	2017S-14(19)	区县级	5	满意	2017S-22(22)	地市级	6	满意
2017S-02(7)	地市级	6	满意	2017S-14(23)	区县级	6	满意	2017S-23(6)	地市级	4	不满意
2017S-02(8)	地市级	6	满意	2017S-14(24)	区县级	5	满意	2017S-23(13)	地市级	4	不满意
2017S-02(12)	地市级	6	满意	2017S-15(2)	地市级	4	不满意	2017S-23(14)	地市级	4	不满意
2017S-02(13)	地市级	5	满意	2017S-15(7)	地市级	6	满意	2017S-23(15)	地市级	6	满意
2017S-02(16)	地市级	4	不满意	2017S-15(8)	地市级	4	不满意	2017S-23(16)	区县级	4	不满意
2017S-02(18)	地市级	6	满意	2017S-15(9)	地市级	6	满意	2017S-23(18)	区县级	6	满意
2017S-03(2)	地市级	4	不满意	2017S-15(10)	地市级	6	满意	2017S-23(20)	地市级	5	满意
2017S-03(4)	地市级	6	满意	2017S-15(14)	区县级	4	不满意	2017S-24(4)	地市级	5	满意
2017S-03(6)	地市级	5	满意	2017S-15(17)	地市级	4	不满意	2017S-24(5)	地市级	6	满意
2017S-03(10)	地市级	6	满意	2017S-15(18)	地市级	6	满意	2017S-24(10)	地市级	3	不满意
2017S-03(11)	地市级	6	满意	2017S-15(20)	区县级	4	不满意	2017S-25(8)	地市级	6	满意
2017S-03(13)	区县级	4	不满意	2017S-16(2)	地市级	5	满意	2017S-25(13)	地市级	6	满意
2017S-05(2)	地市级	6	满意	2017S-17(5)	地市级	5	满意	2017S-25(17)	地市级	4	不满意
2017S-05(7)	地市级	6	满意	2017S-17(7)	地市级	4	不满意	2017S-26(1)	省级	10	满意
2017S-06(12)	地市级	4	不满意	2017S-17(9)	地市级	6	满意	2017S-26(2)	地市级	6	满意
2017S-07(1)	省级	12	满意	2017S-17(11)	区县级	4	不满意	2017S-26(3)	地市级	6	满意
2017S-07(4)	地市级	6	满意	2017S-17(12)	地市级	5	满意	2017S-27(4)	地市级	6	满意
2017S-07(7)	地市级	4	不满意	2017S-18(13)	地市级	6	满意	2017S-27(5)	地市级	6	满意
2017S-07(8)	地市级	5	满意	2017S-19(3)	地市级	6	满意	2017S-28(5)	地市级	6	满意
2017S-07(9)	地市级	6	满意	2017S-19(4)	地市级	6	满意	2017S-28(6)	地市级	6	满意
2017S-07(10)	地市级	4	不满意	2017S-19(9)	地市级	6	满意	2017S-28(8)	地市级	6	满意
2017S-07(11)	区县级	4	不满意	2017S-19(10)	地市级	6	满意	2017S-28(9)	地市级	5	满意
2017S-08(2)	地市级	6	满意	2017S-19(15)	地市级	6	满意	2017S-28(11)	地市级	6	满意
2017S-09(2)	地市级	6	满意	2017S-19(16)	地市级	6	满意	2017S-28(12)	地市级	6	满意
2017S-09(9)	地市级	6	满意	2017S-19(19)	地市级	6	满意	2017S-28(13)	地市级	4	不满意
2017S-09(15)	地市级	4	不满意	2017S-19(21)	地市级	6	满意	2017S-28(15)	地市级	4	不满意
2017S-09(16)	地市级	6	满意	2017S-20(7)	区县级	6	满意	2017S-28(16)	区县级	4	不满意
2017S-10(10)	地市级	6	满意	2017S-20(9)	区县级	6	满意	2017S-29(6)	地市级	4	不满意
2017S-12(4)	地市级	6	满意	2017S-20(19)	区县级	4	不满意	2017S-30(5)	地市级	6	满意
2017S-12(6)	地市级	6	满意	2017S-20(23)	区县级	4	不满意	2017S-31(9)	地市级	6	满意
2017S-12(14)	地市级	6	满意	2017S-20(28)	区县级	5	满意	2017S-31(11)	地市级	6	满意
2017S-12(16)	地市级	6	满意	2017S-20(30)	区县级	6	满意	2017S-31(14)	地市级	6	满意
2017S-13(9)	地市级	6	满意	2017S-21(5)	区县级	6	满意	2017S-31(16)	地市级	6	满意
2017S-14(5)	区县级	4	不满意	2017S-21(6)	地市级	6	满意				
2017S-14(7)	区县级	4	不满意	2017S-22(10)	地市级	6	满意				

注:本表中除实验室编号为“2017S-07(1)”和“2017S-26(1)”的检验机构满分为 14 分外,其他检验机构满分均为 6 分

2.3 初测错误类别统计

本次考核初测中存在的错误类别见表 3,假阳性错误率为 7.4% (32/431),血清型错误率为 16.7% (72/431),分别为沙门菌定性检验考核和血清学分型考核的首要错误类别。经 Pearson 卡方检

验,3 个级别检验机构假阴性和顺序错误的错误率差异无统计学意义($P>0.05$),而区县级检验机构的假阳性错误率明显高于省级和地市级,差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 3 各级检验机构的初测错误类别统计
Table 3 Error categories of evaluation for participates at different levels

检验机构级别	沙门菌定性检验错误个数(%)			血清学分型错误个数(%)		
	假阳性	假阴性	顺序错误	血清群错误	血清型错误	描述错误
省级($n=32$)	1(3.1)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(3.1)	0(0.0)
地市级($n=334$)	19(5.7)	0(0.0)	10(3.0)	8(2.4)	62(18.6)	16(4.8)
区县级($n=65$)	12(18.5)	1(1.5)	4(6.2)	4(6.2)	9(13.8)	0(0.0)
合计($n=431$)	32(7.4)	1(0.2)	14(3.2)	12(2.8)	72(16.7)	16(3.7)

2.4 各级检验机构血清学分型结果统计

在 431 家检验机构中,406 家上报了正确的血清群(94.2%),358 家上报了正确的血清型(83.1%),348 家血清群和血清型均上报正确(80.7%)。省级、地市级和区县级检验机构血清学分型考核结果见表 4,经 Pearson 卡方检验,不同级别检验机构之间的血清群正确率差异无统计学意义($P>0.05$),地市级与区县级检验机构血清型正确率差异无统计学意义($P>0.05$),省级与地市级检验机构血清型正确率差异有统计学意义($P<0.05$)。

本次考核所用 6 种阳性沙门菌菌球样品血清群的错误率为 0.7%~10.3% (包含 1~5 种错误类型),血清型的错误率为 2.8%~31.9% (包含 4~17 种错误类型)。2、3、5 和 6 号菌球的血清群(B 群和 D 群)错误数均为 1 个,4 号菌球肯塔基沙门菌血清群(C3 群)错误率最高为 10.3% (15/145),包含 5 种错误类型;1 号菌球婴儿沙门菌血清型错误率最高为 31.9% (45/141),包含 17 种错误类型,各个样品中血清型主要错误类型均为对鞭毛 1 相和 2 相抗原的鉴定存在偏差导致。WHO-GFN EQAS 考核中作为内部质量控制菌株的肠炎沙门菌,本次考核中正确率为 88.8% (127/143)。针对婴儿沙门菌,省级、地市级和区县级检验机构的血清群正确率分别为 100.0% (11/11)、96.4% (108/112) 和 100.0% (18/18),差异无统计学意义($P>0.05$);血清型正确率分别为 90.9% (10/11)、63.4% (71/112) 和 83.3% (15/18),差异无统计学意义($P>0.05$)。沙门菌菌球血清学分型结果详情见表 5 和 6。

表 4 各级检验机构的血清学分型正确率统计
Table 4 Accuracy of serotyping evaluation for participates at different levels

检验机构级别	血清群正确个数(%)	血清型正确个数(%)
省级($n=32$)	32(100.0)	31(96.9)
地市级($n=334$)	313(93.7)	271(81.1)
区县级($n=65$)	61(93.8)	56(86.2)
合计($n=431$)	406(94.2)	358(83.1)

2.5 6 种阳性沙门菌菌球样品血清学分型考核结果统计

表 5 6 种沙门菌血清学分型结果统计
Table 5 Serotyping results for 6 kinds of Salmonella

菌球编号	样品份数	血清群		血清型
		错误个数(%)	错误类型(错误个数)	错误类型(错误个数)
1	141	4(2.8)	C(3)、A(1)	45(31.9) 未上报(6),甲型副伤寒(1),奥雷宁堡(4),丙型副伤寒(10),伊鲁木(1),基伍(1),奈斯西欧那(1),奥利塔曼琳(3),姆巴卡(1),巴雷利(3),爱丁堡(3),猪霍乱(4),田纳西(1),科罗拉多(1),蒙得维的亚(3),姆班达卡(1),里森(1)
2	143	1(0.7)	B(1)	16(11.2) 斯坦利(1),布利丹(3),伤寒(2),沙门菌Ⅱ(1),爪哇安娜(3),都柏林(4),鸡雏(2)
3	145	1(0.7)	D(1)	6(4.1) 乙型副伤寒(2),鼠伤寒(2),伤寒(1),马流产(1)
4	145	15(10.3)	A(1),B(4),C2(6),C(3),D(1)	8(5.5) 未上报(1),甲型副伤寒(1),拉古什(1),鼠伤寒(1),林登堡(1),波纳雷恩(1),瓦诺(1),伤寒(1)
5	145	1(0.7)	C1(1)	8(5.5) 未上报(2),婴儿(1),乙型副伤寒(2),拉古什(1),阿格玛(1),斯坦利(1)
6	143	1(0.7)	D(1)	4(2.8) 未上报(1),爪哇安娜(1),斯坦利(1),鼠伤寒(1)

表 6 各级检验机构的婴儿沙门菌血清学分型正确率统计
Table 6 Accuracy of serotyping evaluation for participates
at different levels

检验机构级别	血清群正确个数(%)	血清型正确个数(%)
省级(n=11)	11(100.0)	10(90.9)
地市级(n=112)	108(96.4)	71(63.4)
区县级(n=18)	18(100.0)	15(83.3)
合计(n=141)	137(97.2)	96(68.1)

2.6 复测阶段样品发放及结果概况

本次考核复测阶段针对 37 家检验机构共计发放菌球 111 个(每家检验机构 3 个菌球),6 种沙门菌阳性菌球和阴性菌球样品分别发放 13、12、13、12、12、12、37 个。所有检验机构经复测后,沙门菌定性检验项目和血清学分型项目结果均正确无误。

3 讨论

沙门菌是我国食源性疾病的重要病原菌之一,食品中沙门菌的定性检验是我国食品安全风险监测工作的重要项目,为保证该项目的顺利进行和结果的准确性,开展相关质量控制考核以提高实验室人员检测能力和实验室检测水平十分必要。目前国际上类似的能力验证计划或质控考核有 WHO-GFN(前身为全球沙门菌监测网,WHO-GSS)组织的 EQAS^[10]和世界卫生组织欧盟疾病预防控制中心(WHO-ECDC)组织的外部质量保证项目(EQA)^[11],其中前者主要针对沙门菌等食源性致病菌的鉴定、血清学分型、抗生素敏感性测试等进行考核,以评估和提高 GFN 成员实验室的检测能力和监测质量,而后者主要针对产志贺毒素大肠埃希菌的表型和基因型的分型进行考核。

本次质量控制考核是应监测网需求,面向监测网范围内沙门菌检验相关工作的检验机构,选取食品中常见血清型沙门菌,批量制作稳定性好、可信度高的微生物质量控制样品,并模拟食品样品检验流程进行考核,要求检验机构能够对考核样品中是否含有沙门菌及其血清学分型进行正确检验操作并上报结果。本次考核样品为纯菌株,菌球内细菌含量为 10²~10³ CFU/菌球,样品基质的污染水平设置为 4~40 CFU/g,属于较高污染水平样品中沙门菌检测考核,较易分离出沙门菌,因此本次考核重点侧重于分离株的鉴定和分型。考核样品的分组和分发过程,能够保证各个血清型样品在全国范围内以及不同级别检验机构之间的均一性,也有效避免了个别检验机构私下沟通检验结果的问题。考虑到各级检验机构在监测工作中的定位、职责和实验室配备,本次考核血清学分型结果仅纳入省级检验机构考核满意度测算,地市级和区县级检验机构只依据沙门菌定性检验结果测评。经统计,本次考

核初测结果完全正确率为 72.6%,经点分数法打分后,总体满意率为 92.6%,比较以往数次监测网微生物质量控制考核中沙门菌检验结果,本次考核满意度较高或保持持平^[9,12-13]。省级和地市级检验机构考核满意率较区县级检验机构高,32 个不满意结果来自地市级(19 个)和区县级(13 个)检验机构,反映了不同级别检验机构在沙门菌实际定性检验能力上仍存在一定差别,这一点与以往考核类似^[12]。从考核错误类别看,所有检验机构中假阴性错误仅 1 个,主要为假阳性错误,提示各级检验机构监测实验室对本次考核污染水平样品中沙门菌的检出和鉴定具有较好的检验能力,但个别实验室在高水平污染样品中仍然出现假阴性,需要进一步提高检测方法的灵敏度和技术水平。另外本次考核中假阳性率为 7.4%,经沟通得知部分出现假阳性结果的实验室存在以下问题:(1)考核操作过程中存在样品交叉污染;(2)部分实验室进行基因检测可能存在相关 DNA 污染源或分区不明的情况;(3)主观臆断阴性样品在内的 3 个考核样品均含沙门菌。初测后对出现假阳性结果的实验室要求排查原因进行整改,并发放样品参加复测,复测结果均顺利通过,提示各监测实验室仍需要在实际工作中加强实验室内部质量控制,降低实际样品中沙门菌多检可能性。另外,顺序错误在省级以下检验机构出现 14 例,经沟通多为收样部门与检测部门交接过程中存在失误导致,考虑到实际检验工作中该错误也会带来较大问题,出现该错误的检验机构需要强化相关制度和管理,避免该类错误发生。

据 2015 年 EQAS 考核报告^[14],自 2000 年开始组织沙门菌血清学分型考核以来,平均考核全部正确率为 85%(72%~92%),而 2015 年中国沙门菌血清学分型正确率为 78%(全球平均为 87%),与东南亚、拉丁美洲、中亚和中东地区位于同一水平(70%~89%),而距离欧洲、北美洲和大洋洲等地区(90%~100%)还有较大差距。本次考核中血清学分型虽未纳入省级以下实验室考核满意度测算,但首次在全国范围内摸底了解了各级监测实验室特别是基层实验室沙门菌血清学分型能力(血清试剂配备、理论知识及技术方法等)概况。经统计,血清群和血清型正确上报率分别为 94.2%和 83.1%,不同级别检验机构之间血清群正确率差异无统计意义($P>0.05$),表明各级检验机构监测实验室对我国食品中沙门菌常见血清群具有较好的鉴定能力,也表明血清型错误的主要情况为鞭毛抗原的鉴定;血清群和血清型均正确的比例为 80.7%,与 EQAS 考核中国地区的考核水平相符,但本次考核

每个检验机构仅对 2 株常见血清型菌株进行测定,而 EQAS 考核为 8 株菌株且半数以上为非常见血清型,考核难度更大,因此总体看我国监测实验室具备一定的沙门菌血清学分型能力,但在非常见血清型别鉴定能力上还有较大提升空间。自 2000 年以来,EQAS 考核每年均会有 1 株内部质量控制菌株,用于把控该年度 EQAS 整体参与单位考核情况,基本均为肠炎沙门菌(2002、2003 和 2005 年除外),平均考核正确率为 94%^[14],从本次考核结果看,肠炎沙门菌菌球样品的正确率仅为 88.8%,表明检验机构的血清学分型能力还需进一步提升。本次考核中,不同级别检验机构间血清型正确率存在一定差异,部分菌球样品的考核情况,地市级检验机构低于省级甚至区县级,如本次考核菌株中较难的婴儿沙门菌(血清型错误率高达 31.9%),出现血清型错误的检验机构中有 91.1%(41/45)为地市级,4 个血清群错误的检验机构均为地市级,部分地市级检验机构需要认真查找原因并改进以提升相关能力水平。

本次监测网质量控制考核主要针对食品样品中沙门菌的定性检验和沙门菌血清学分型两方面,前者关乎我国监测网中沙门菌相关数据收集的准确性和菌株的可靠性,后者从更深层面反映了实验室沙门菌检验能力水平。总体来说,本次考核提示监测网中各级检验机构的沙门菌定性检验能力水平基本能够满足监测工作任务需求,但部分实验室特别是区县级检验机构,需进一步加强质量控制以降低内部污染带来的假阳性;在血清学分型方面,各级实验室的血清分群能力均较好,但整体血清型鉴定水准特别是非常见沙门菌血清型的鉴别,距离国际先进水平尚存在较大差距,尤其是地市级和区县级检验机构,其血清学分型能力受理论、技术和配备等多种原因限制,仍需进一步提高。

参考文献

[1] 全国人民代表大会常务委员会. 中华人民共和国食品安全法 [A]. 2015-04-24.

[2] 国家食品安全风险评估中心. 2017 年国家食品污染和有害因素风险监测工作手册 [Z]. 2017.

[3] 胡豫杰,王伟,闫韶飞,等. 2015 年分离自中国大陆食品的 1 070 株沙门菌耐药性分析 [J]. 中国食品卫生杂志,2017, 17(2):100-103.

[4] ISSENHUTH-JEANJEAN S, ROGENTIN P, MIKOLEIT M L, et al. Supplement 2008-2010 (no.48) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme [J]. Research in Microbiology, 2014, 165 (7): 526-530.

[5] 冯峰. 沙门菌各血清型基因组序列和致病性的比较 [D]. 杭州: 浙江大学, 2009.

[6] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定: GB 4789.2—2016 [S]. 北京: 中国标准出版社,2016.

[7] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验: GB 4789.4—2016 [S]. 北京: 中国标准出版社,2016.

[8] HU Y J, HE Y Y, WANG Y R, et al. Serovar diversity and antimicrobial resistance of non-typhoidal *Salmonella enterica*, recovered from retail chicken carcasses for sale in different regions of China [J]. Food Control, 2017, 81(5):46-54.

[9] STOYKE M, RADECK W, GOWIK P. Anthelmintics in bovine milk and muscle: interlaboratory studies among EU national reference laboratories [J]. Accreditation and Quality Assurance, 2012, 17(4): 405-412.

[10] HENDRIKSEN R S, VIEIRA A R, KARLSMOSE S, et al. Global monitoring of *Salmonella* serovar distribution from the World Health Organization global foodborne infections network country data bank: results of quality assured laboratories from 2001 to 2007 [J]. Foodborne Pathogens & Disease, 2011, 8 (8):887-900.

[11] European Centre for Disease Prevention and Control. Seventh external quality assessment scheme for verocytotoxin-producing *E. coli* (VTEC) typing [R]. Stockholm: ECDC, 2016.

[12] 韩海红, 刘继开, 李薇薇,等. 6 种食源性致病菌质控考核结果分析 [J]. 中国食品卫生杂志, 2017, 29(3):345-350.

[13] 韩海红, 李凤琴, 徐进,等. 2014 年全国食品安全省级监测点微生物质控考核结果 [J]. 卫生研究, 2017, 46(3): 429-433.

[14] National Food Institute, Technical University of Denmark. The external quality assurance system of the WHO global foodborne infections network year 2015 [R]. Lyngby: DTU Food, 2016.