DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260222001
引用格式: 郭舒文, 李姝, 强世龙, 等. 金黄色葡萄球菌测试片快速计数法改进研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(12): 42–51.
GUO SW, LI S, QIANG SL, *et al*. Research on the improvement of rapid counting method for *Staphylococcus aureus* test strips [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(12): 42–51. (in Chinese with English abstract).

金黄色葡萄球菌测试片快速计数法改进研究

郭舒文[1,2], 李　姝[3], 强世龙[3], 陶文靖[4], 高世光[5], 郑秋月[1], 王　伟[2*], 王金玲[3*]

(1. 大连民族大学生命科学学院, 生物技术与资源利用教育部重点实验室, 大连　116600; 2. 国家食品安全风险评估中心, 北京　100022; 3. 沈阳海关技术中心, 沈阳　110067; 4. 北京美正生物科技有限公司, 北京　102100; 5. 丹东海关综合技术服务中心, 丹东　118000)

摘　要: 目的　评估 MicroFast®金黄色葡萄球菌测试片法在食品微生物检测领域的适用性。**方法**　遵循国际标准化组织 ISO 16140—2: 2016 所规定的性能指标要求, 针对该测试片法展开全面验证。验证内容涵盖其包容性、排他性, 以及与现行国家标准检测结果的一致性。采用 *t* 检验和 Bland-Altman 对两种方法的结果进行统计学分析。**结果**　30 株金黄色葡萄球菌目标菌株在 MicroFast 测试片上均呈现出典型的紫色菌落特征; 30 株非目标菌中有 3 株为非典型的蓝色菌落, 其他 27 株在测试片上未观察到菌落生长。经相关性分析, MicroFast®金黄色葡萄球菌测试片法与 GB 4789.10—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验》第二法的检测结果呈显著正相关, 相关系数(r)大于 0.976。同时针对各种食品类型开展测试片的适用性评估, 计算 β-期望容忍区间均处于±0.5 对数范围之内。**结论**　MicroFast®金黄色葡萄球菌测试片具备良好的包容性与排他性, 与现行国家标准方法具备一致性与等效性, 适用于食品中金黄色葡萄球菌的定量检测。

关键词: 金黄色葡萄球菌; 测试片法; 平板计数法; 适用性评价

Research on the improvement of rapid counting method for *Staphylococcus aureus* test strips

GUO Shu-Wen[1,2], LI Shu[3], QIANG Shi-Long[3], TAO Wen-Jing[4], GAO Shi-Guang[5], ZHENG Qiu-Yue[1], WANG Wei[2*], WANG Jin-Ling[3*]

(1. *Key Laboratory of Biotechnology and Bioresources Utilization of Ministry of Education*, *College of Life Science*, *Dalian Minzu University*, *Dalian* 116600, *China*; 2. *China National Center for Food Safety Risk Assessment*, *Beijing* 100022, *China*; 3. *Shenyang Customs Technology Center*, *Shenyang* 110067, *China*; 4. *Beijing Meizheng Bio-technology Co*., *Ltd*., *Beijing* 102100, *China*; 5. *Dandong Customs Comprehensive Technology Service Center*, *Dandong* 118000, *China*)

ABSTRACT: Objective　To assess the applicability of the MicroFast® *Staphylococcus aureus* test strips method for microbiological testing of food products. **Methods**　This study presented a comprehensive validation of the test

收稿日期: 2026-02-22
基金项目: 海关总署科技项目(2022JJ13SN090)
第一作者: 郭舒文(2002—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为食品工程。E-mail: 1581048057@qq.com
***通信作者:** 王伟(1983—), 男, 研究员, 博士, 主要研究方向为营养与食品卫生专业。E-mail: wangweiwsw@cfsa.net.cn
王金玲(1973—), 女, 三级研究员, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: wjl_ciq@126.com

chart method, followed the performance specifications set out in the International Organization for Standardization ISO 16140—2: 2016. The validation covered its inclusiveness, exclusiveness and consistency with the test results of the current national standards. The results of both methods were statistically analyzed using *t*-test and Bland-Altman. **Results**　All 30 *Staphylococcus aureus* target strains showed typical purple colony characteristics on MicroFast test slices; 3 of the 30 non-target strains had atypical blue colonies, and no colony growth was observed colony growth on 27 strains the test slices. After correlation analysis, the MicroFast® *Staphylococcus aureus* test piece method showed a significant positive correlation with the results of the second method of GB 4789.10—2016 *Food safety national standard-Food microbiological test-Staphylococcus aureus test*, with a correlation coefficient (*r*) value of more than 0.976. The suitability of the test slices was also evaluated for a variety of food types, and the calculated *β*-expected tolerance intervals were all within ±0.5 logarithmic range. **Conclusion**　MicroFast® *Staphylococcus aureus* test pieces have good inclusiveness and exclusivity, consistency and equivalence with current national standard methods, and are suitable for the quantitative detection of *Staphylococcus aureus* in food.

KEY WORDS: *Staphylococcus aureus*; test strips method; plate counting method; evaluation of applicability

0　引　言

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)是常见的食源性致病菌[1−2], 作为条件致病菌广泛存在于自然环境中, 在需氧和厌氧条件下均能生长繁殖, 容易污染生肉、熟肉制品、市售散装食品和即食食品等, 并可能产生肠毒素, 在高温、冰冻、干燥和低 pH 下表现出优异的稳定性[3−4]。由金黄色葡萄球菌所导致的感染病例数量位居第二, 其感染率仅次于大肠杆菌, 对食品安全构成严重威胁[5]。确保对食品中金黄色葡萄球菌的准确定量检测, 是维护食品安全的关键环节。作为实验室质量控制与能力提升的核心途径, 实验室间比对也是客观评价检测机构能力的重要手段[6]。

菌落总数是评价食品品质和卫生状况微生物污染的重要指标, 平板计数法是细菌菌落计数的常规检测方法[7−8]。现行 GB 4789.10—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验》第二法采用 Baird-Parker 琼脂基础平板培养进行金黄色葡萄球菌涂布计数。该方法也是美国食品和药物管理局《Bacteriological AnalyticalManual》[9]和美国农业部《Microbiology Labo-ratory Guidebook》[10]中推荐的方法。B-P 平板涂布计数方法虽然成本较低, 但需要制备血琼脂或 Baird-Parker 琼脂平板培养基, 需添加多种成分作为培养基辅助物质, 需要高压灭菌, 平板配制过程比较烦琐, 耗时较长。为提高微生物检测效率, 分子生物学[11]、免疫学[12]、生物传感器[13]、适配体[14]等微生物快检技术发展迅速, 目前这些方法只能实现金黄色葡萄球菌的定性检测, 无法实现菌落计数定量测试。

细菌测试片是德国科学家 FJ. FORG 发明的一种新型食品微生物检测方法[15]。美国 3M 公司开发的 Petrifilm™ 测试片最早实现商业化生产, 广泛应用于食品、饮料、化妆品、制药和环境样本中的微生物检测[16]。测试片法是一种用于测定食品中菌落数量的有效方法[17]。相较于传统方法, 其优势在于操作简单、检测快捷且更易于实现标准化[18−22]。测试片法是一种预先制备的含有指示剂及冷水可溶性凝胶的培养基系统进行微生物培养的方法[23]。培养基中含有细菌生长的主要营养物质和功能性底物、冷水可凝胶等。用于定量分析的测试片依据其材质与特性, 可分为滤纸型、无纺布型以及冷水溶性凝胶物质(如显色胶型三大类别[24]。其中无纺布测试片和滤纸测试片保水性比较差, 菌落显色不明显, 不便于菌落计数[25]。冷水可溶性凝胶为亲水性胶体, 可替代琼脂, 兼具延缓微生物分解及提供固化黏合作用[26]。细菌测试片的核心组分包括显色系统、营养基质和冷水凝胶三大部分。其中显色系统由发色团和微生物代谢底物组成, 当目标菌株增殖时, 分泌的代谢酶能够催化显色底物发生特异性反应, 从而诱导发色团产生显色效应[27]。ANDERSON 等[28]、SCHRAFT 等[29]研究证实测试片可以用作监测工具, 为乳制品生产加工过程中的质量控制及食品生产加工环境中的菌群计数提供快速准确的结果。许如苏等[30]采用快速测试片进行金黄色葡萄球菌计数, 并与营养琼脂平板计数、B-P 选择性培养基计数以及显色培养基计数进行比较, 比较结果表明, 测试片法与其他 3 种方法计数结果之间均未呈现出显著性差异(P>0.05)。

在本研究中, 选取经改进的 MicroFast®金黄色葡萄球菌测试片, 内部预先配制了改良后的培养基、冷凝胶以及指示剂等关键成分, 极大简化了菌落计数流程, 用于快速计数。改良后的 MicroFast®金黄色葡萄球菌测试片在国内首次获得美国分析化学家协会官方认证, 改变了一直依赖国外金黄色葡萄球菌测试片计数的现状。该测试片属于预制型培养基体系范畴, 提高检测效率。为全面验证测试片法的有效性与可靠性, 以 GB 4789.10—2016 中的平板计数法作为参考方法, 遵循国际标准化组织 ISO 16140—2:

2016 所规定的性能指标验证准则, 选用不同种类食品、食品原料以及食品生产环境等各种类型样品, 进行 MicroFast®测试片法的包容性、排他性、方法一致性等适用性验证评价。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

食品基质选用乳制品(包括蛋白鲜牛奶、瓶装鲜牛乳、奶粉、脱脂高纤高钙高铁奶粉、炼乳和马苏里拉奶酪)、肉及肉制品(风味火腿片、鸡肉肠、扒鸡、猪皮冻、鸡米花和小酥肉)、果蔬及果蔬制品(什锦葡萄干、综合果蔬脆、青提、梨、胡萝卜和冬瓜)、水产制品(原味鱿鱼丝、烤鱼片、秘制熏鱼、醉蟹钳、冷冻扇贝肉和冷冻进口巴沙鱼柳、)和粮食制品(蛋黄味粗粮棒、脆锅巴、面包胚、饼干、燕麦片和黑芝麻糊)总计 5 大类食品类型, 每个大类选择 6 种食品基质。所有食品基质经过 GB 4789.10—2016 验证均未检出金黄色葡萄球菌。疑似金黄色葡萄球菌污染的奶粉、小酥肉、山药脆片、香肠、冷冻鳕鱼片、冷冻扇贝肉、薯片、乳清粉、冻猪蹄等 9 个食品样品, 由本研究室验证并留存。

收集的 30 株金黄色葡萄球菌菌株和 30 株非目标菌菌株用于验证评价, 均为本研究室留存并鉴定。包括金黄色葡萄球菌标准菌株及食源性分离株[CICC21600、ATCC29213、CMCC(B)26003、ATCC6538P、ATCC25923、ATCC6538、JN-28、ATCC26113、ATCC26112、ATCC33591、ATCC43300、FSCCU223189、CICC10306、CICC23656、BN238481.WDCM00、JN-4、JN-5、JN-6]、金黄色葡萄球菌亚种(*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*, AS1.89); 非目标菌株包括缓慢葡萄球菌(*Staphylococcus lentus*, CICC 10897、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*, ATCC 12228、CICC 10436、BN330867、WDCM00)、腐生葡萄球菌(*Staphylococcus saprophyticus*, ATCC15305)、木糖葡萄球菌(*Staphylococcus xylosus*, MT001)、大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*, CICC 10305)、粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*, CICC 23658)、副溶血性弧菌(*Vibrio para*, CICC 21617)、斯式李斯特菌(*Listeria seeligii*, CICC 21671)、肠沙门氏菌肠亚种鼠伤寒血清型(*Salmonella enterica* subsp. *enterica serovar Typhimurium*, CICC 22956)、福氏志贺氏菌(*Shigella flexneri*, CICC 10865)、肠产毒性大肠埃希氏菌(*Enterotoxigenic Escherichia coli*, CICC 10667)、嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*, CICC 6063)、蜡样芽胞杆菌(*Bacillus cereus*, CICC 23828)、苏云金芽胞杆菌(*Bacillus thuringiensis*, CICC 22945)、蕈状芽胞杆菌(*Bacillus mycoides*, CICC 21473)、单增李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*, CICC 21633)、伊氏李斯特氏菌(*Listeria ivanovii*, CICC 21663)、英诺克李斯特氏菌(*Listeria innocua*, CICC 10417)、酿脓链球菌(*Streptococcus pyogenes*, CICC 10373)、丙二酸年轻泰坦杆菌(*Cronobacter malonaticus*, CICC 21544)、枯草芽胞杆菌(*Bacillus subtilis*, CICC 10275)、弗氏柠檬酸杆菌(*Citrobacter freundii*, CICC 10404)、产气肠杆菌(*Enterobacter aerogenes*, CICC 10293)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, CICC 21636)、肠出血性大肠埃希氏菌 O157 (*Enterohemorrhagic Escherichia coli* O157, CICC 21530)。

1.2 仪器与设备

MicroFast®金黄色葡萄球菌测试片(LR1305, 批号: 20240309, 山东美正生物科技有限公司); 磷酸盐缓冲液、血琼脂平板、脑心浸出液肉汤、冻干血浆(北京陆桥技术股份有限公司); Baird-Parker 平板(批号: 240415, 无锡市赛微生物技术有限公司); Interscience 400cc 匀质器(法国 Interscience 公司); BSP-400 恒温培养箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂); ME2002/02 天平[精度 0.01 mg, 梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司]; Thermo-1389 生物安全柜(美国赛默飞世尔科技公司)。

1.3 实验方法

以 GB 4789.10—2016 第二法 金黄色葡萄球菌平板计数法为参考方法, 进行模拟污染实验样品的金黄色葡萄球菌计数。

1.3.1 金黄色葡萄球菌测试片法操作步骤

样品前处理和梯度稀释参照 GB 4789.10—2016 第二法, 根据对样品污染状况的估计, 选择 2~3 个适宜稀释度的样品匀液, 在进行 10 倍递增稀释的同时, 打开测试片的覆盖膜, 每个稀释度分别吸取 1 mL 样品匀液, 将吸取的样液滴加至培养基中心位置, 注意需谨慎操作以保证样液位置的准确性。缓慢盖膜, 使样液渗入培养基内部。将测试片置于恒温培养箱(36±1) ℃培养 18~24 h, 对测试片上生长出的典型紫色或粉色菌落进行计数。

1.3.2 包容性和排他性验证

分别复苏 1.1 中实验用菌株, 培养目标菌与非目标菌共 60 株, 分别梯度稀释菌液至 10~100 CFU/mL。各取 1 mL 稀释菌液添加至测试片, 置于(36±1) ℃恒温培养箱培养 18~24 h, 观察测试片上菌落的生长及形态。

1.3.3 人工污染样品制备及测试

应用 1.1 中实验用食品基质, 包括乳制品、肉及肉制品、果蔬及果蔬制品、水产制品和粮食制品, 总计 5 大类食品类型, 每个大类 6 种食品基质样品。采用人工污染的方式制备验证实验样品, 每个大类食品包括低、中、高 3 种污染水平。为了获得准确的实验结果, 对制备的人工污染样品进行均匀性验证, 保证样品的均匀性。

精准称取 25 g 待测样品, 转移至盛有 225 mL 无菌生理盐水的容器中, 利用拍击式均质器拍击处理 2 min, 获得质量

体积比为 1:10 样品稀释液, 进行梯度稀释。分别选取 3 个浓度适宜的稀释液作为人工污染样本, 按照 GB 4789.10—2016 第二法中的平板计数法和 MicroFast®金黄色葡萄球菌测试片法说明书进行测试。对于 GB 4789.10—2016 第二法选择性平板上出现的典型菌落, 按照国家标准要求进行革兰氏染色镜检和血浆凝固酶试验, 进行结果判定和计算。对于 MicroFast®金黄色葡萄球菌测试片中的疑似菌落, 可适当延长培养时间以加强判读。

采用 Bland-Altman 法进行统计学处理, 分别计算参考方法与测试片法两种方法的实验样本检测值的算术平均数及其差异值。系统误差的评估基于两种方法测定值差异的均值(D), 而数据离散程度则通过差异值的标准差(S_D)来表征。计算见公式(1):

$$95\%\text{置信区间} = \bar{D} \pm T \times S_D \sqrt{1+\frac{1}{n}} \quad (1)$$

式中: $\bar{D}$ 为两种方法检测结果的差值的平均值; T 为 t-分布的百分位数; S_D 为两种方法检测结果差值的标准偏差; n 为成对数据的个数。

以金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 为目标菌制备人工污染样品, 复苏培养后进行梯度稀释, 按照 GB 4789.10—2016 第二法涂布平板计数, 验证获得 5.9×10^3、5.2×10^2、50 CFU/mL 的高、中、低 3 种浓度菌液。分别添加至不同的食品类型基质中, 每种食品基质都制备了低、中、高 3 种污染程度的模拟样品。对每一种模拟污染样品都进行 5 次重复测试。对每组 5 个测试结果排序后取中间值, 用于后续准确度分析。按照公式(2)计算 MicroFast®金黄色葡萄球菌测试片计数结果对数值(y_i)的 β-期望容忍区间(β-expected tolerance interval, β-ETI):

$$\beta\text{-ETI} = B_i \pm T \times S_{alt} \sqrt{1+\frac{1}{n}} \quad (2)$$

式中: 差值 B_i 为测试片法的结果对数值的中间值(y_i)减去参考方法的结果对数值的中间值(x_i), S_{alt} 为替代方法重复检测标准差。

1.3.4　实际样品测试

选取实验室留存的疑似金黄色葡萄球菌污染的奶粉、小酥肉、山药脆片、香肠、冷冻鳕鱼片、冷冻扇贝肉、薯片、乳清粉、冻猪蹄等 9 个食品样品, 分别采用 GB 4789.10—2016 平板计数法和本研究测试片法同时进行金黄色葡萄球菌计数, 每个浓度测试 2 个平行样品。验证本研究方法检测实际样品的适用性。

1.4　数据处理

为了评估两种方法在金黄色葡萄球菌计数结果上的差异程度及可接受范围, 运用 t 检验比较分析测试片法与参考方法计数结果的偏移范围以及 β-ETI。基于 Bland-Altman 方法, 利用 Microsoft Excel 软件绘制散点图, 直观分析测试片法与参考方法检测结果的一致性, 为方法性能评价提供数据支持与可视化依据。以 GB 4789.10—2016 第二法计数结果的对数值作为横坐标, 以 MicroFast®金黄色葡萄球菌测试片计数结果的对数值作为纵坐标, 针对 5 种不同食品类型检验数据分别绘制散点图。通过观察散点图中数据点的分布情况, 系统性分析测试片法与参考方法之间的相对正确度。对于各类食品样品, 分别从其 5 个平行测试所得结果中提取中间值, 按照公式计算 MicroFast®测试片方法的结果对数值(yi)的 β-ETI。

2　结果与分析

2.1　包容性和排他性验证实验结果

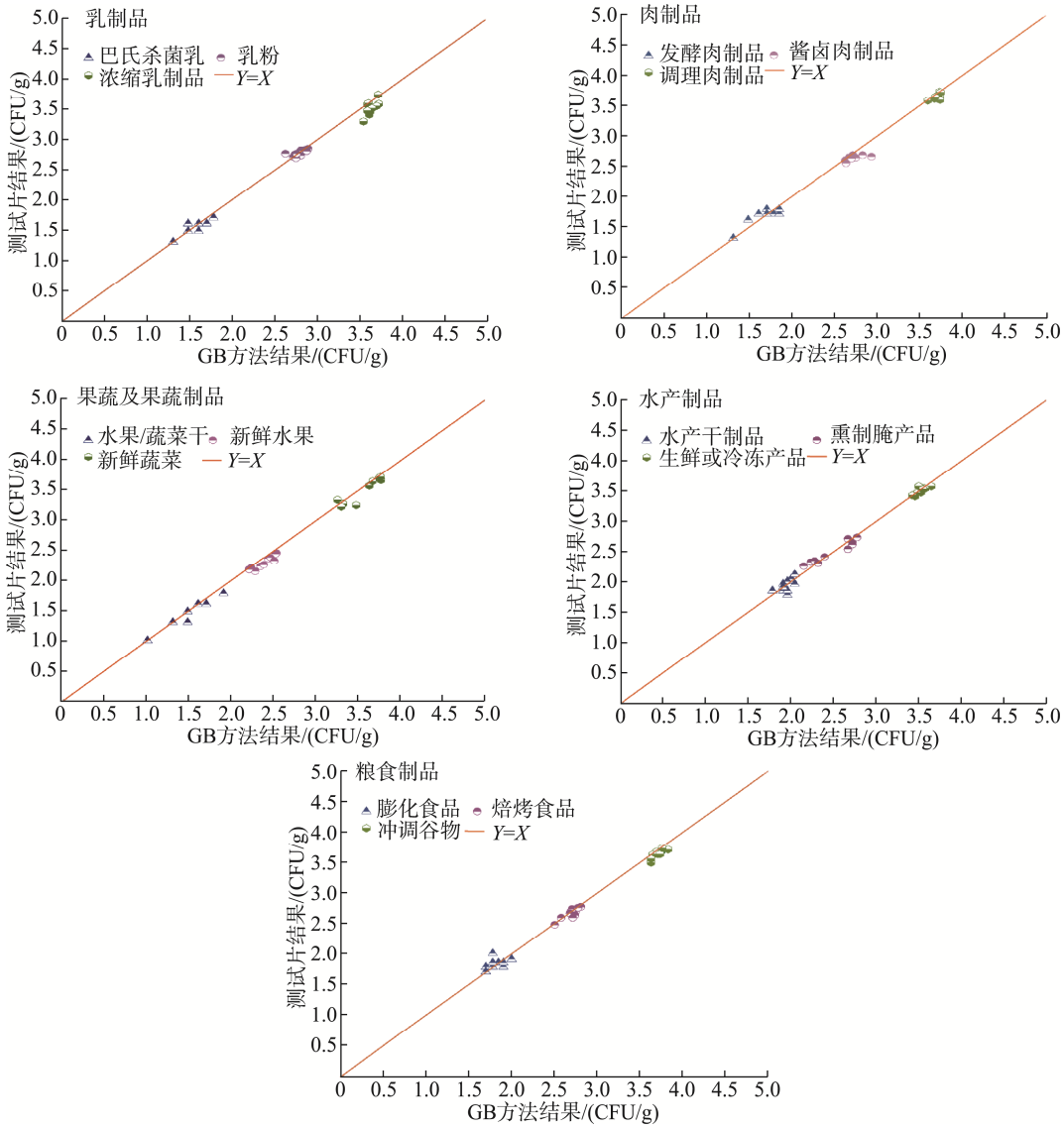
1.1 中实验用菌株在 MicroFast®金黄色葡萄球菌测试片上的菌落形态, 30 株金黄色葡萄球菌阳性目标菌 MicroFast®测试片上均呈现出紫色或者粉色的典型菌落形态, 确定为金黄色葡萄球菌。非金黄色葡萄球菌如果可以在测试片上生长, 会呈现蓝色、灰色或白色菌落, 确定为非金黄色葡萄球菌。在本研究的 30 株非目标菌中, 表皮葡萄球菌 ATCC 12228、表皮葡萄球菌 CICC 10436、粪肠球菌 CICC 23658 共计 3 株非目标菌在测试片上形成了蓝色菌落, 为非金黄色葡萄球菌菌落; 其余 27 株非目标菌均未在测试片上形成菌落。测试结果表明, MicroFast®金黄色葡萄球菌测试片法可以检出金黄色葡萄球菌标准菌株及分离株, 非目标菌株均为未检出结果, 验证该测试片具有良好包容性及排他性。

2.2　方法比对

应用 1.1 中实验用 5 大类食品基质, 以金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 为目标菌制备人工污染样品进行方法验证, 每种模拟污染样品做 5 个重复测试, 每个大类食品包括低、中、高 3 种污染水平。选取 GB 4789.10—2016 第二法金黄色葡萄球菌平板计数法为参考方法, 进行方法比对。

对于两种方法的计数结果进行正态性检验, 均符合正态性分布。实验样本总计包含 5 个类别 150 份样品, 测定值差异分布在–0.2817 至 0.2218 区间内。统计分析显示, 全体样本差异均值为–0.0413 (S_D=0.0775), 按照公式(1)计算 95%置信区间为–0.1951 至 0.1124。

以 GB 4789.10—2016 第二法 金黄色葡萄球菌平板计数法的计数结果对数值作为横坐标(X, CFU/g), MicroFast®金黄色葡萄球菌测试片计数结果的对数值作为纵坐标(Y, CFU/g), 针对 5 种不同食品类型的检测数据, 分别绘制散点图(图 1)。对全部 150 组配对数据开展线性回归拟合, 两种方法计数结果决定系数(r^2)>0.976, 表明测试片法与国标平板法检测结果呈极强线性正相关, 满足微生物快速定量方法等效性判定通用指标要求。



注: GB 方法表示 GB 4789.10—2016, 图 3~5 同。

图 1 参考方法和 MicroFast®金黄色葡萄球菌测试片计数结果散点图

Fig.1 Scatterplot of reference method and MicroFast® *Staphylococcus aureus* test pieces count results

本研究通过散点图(图 2)直观展示了两种检测方法的比较结果, 其中横轴表示两种方法测定结果的平均值, 纵轴反映测试片法与平板计数标准方法的测定差值(*Di*)(MicroFast®试片法结果减去 GB 4789.10—2016 第二法数值)。通过统计分析 150 份样品的计数结果, 发现测定差值超出 95%置信区间的样本共 7 个, 分别为乳制品中鲜牛乳(*Di*=0.1249)和奶粉(*Di*=0.1476)、肉制品中风味火腿片(*Di*=0.1249)和扒鸡(*Di*=–0.2817)、果蔬及果蔬制品冬瓜(*Di*=–0.2218)和粮食制品蛋黄味粗粮 99 棒(*Di*=0.2218)。占总样本数的 4.67%(约 1:21)。其原因可能存在复杂基质干扰, 乳制品内的 pH 或乳脂可能影响试片法的显色稳定性, 导致读数偏高。肉制品中如风味火腿片、扒鸡等存在高盐、防腐剂或蛋白质, 可能抑制试片法的酶反应。果蔬或粮食制品如冬瓜、粗粮棒等可能是存在纤维素或淀粉, 吸附微生物,

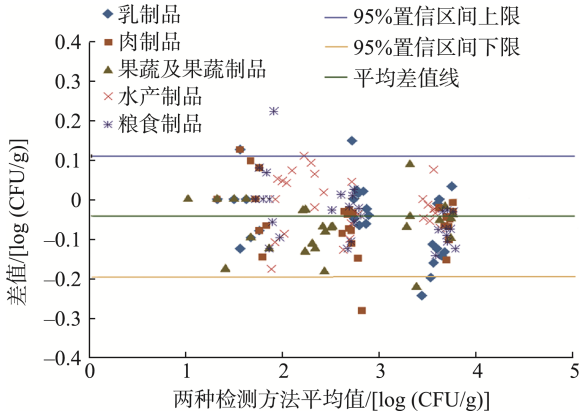


图 2 参考方法和 MicroFast®金黄色葡萄球菌测试片计数结果差值平均散点图

Fig.2 Mean scatterplot of the difference between the reference method and MicroFast® *Staphylococcus aureus* test piece count results

导致试片法提取效率降低导致负偏差。ISO 16140—2: 2016 标准规定，该比例应控制在 5% (1:20)以内。实验结果表明，MicroFast®金黄色葡萄球菌测试片和参考方法计数结果没有显著性差异。

2.3　方法准确度分析

本研究采用 GB 4789.10—2016 第二法计数的对数值中位数作为横坐标(x_i)，以检测偏差值为纵坐标(B_i)，构建了不同食品基质的金黄色葡萄球菌计数结果的准确度分布图(图 3)。参照 ISO 16140—2: 2016 标准中关于准确度允许限(AL=±0.5 $\log_{10}$ 单位)的技术要求，综合图 3 的测试数据可见，乳制品 β-ETI 范围: [–0.286, 0.151]、肉及肉制品 β-ETI 范围: [–0.200, 0.238]、果蔬及果蔬制品 β-ETI 范围: [–0.365, 0.240]、水产制品 β-ETI 范围: [–0.213, 0.150]、粮食制品 β-ETI 范围: [–0.230, 0.190]。各食品类别金黄色葡萄球菌计数检验结果的 β-ETI 均满足“上限值≤0.5 $\log_{10}$ 单位及下限值≥–0.5 $\log_{10}$ 单位”的要求。结果表明测试片计数方法与标准参考方法具有等效性，测试片计数方法与标准方法具有一致准确度。

2.4　方法一致性评价

为进一步评估金黄色葡萄球菌测试片法的检测性能，以 GB 4789.10—2016 第二法的金黄色葡萄球菌平板计数法的计数结果和测试片结果对数值作为纵坐标，针对 5 种不同食品类型的检测数据，分别绘制分组柱状图(图 4)，横坐标为不同食品类型及检测方法，纵坐标为菌落计数的对数值。分析检测结果分布，两种方法的中位数(箱体中线)及四分位距在各食品类型中高度接近，且数据离散趋势一致。乳制品(P=0.214)、肉及肉制品(P=0.387)、果蔬及果蔬制品(P=0.076)、水产制品(P=0.892)、粮食制品(P=0.543)。通过配对 t 检验(P>0.05)及 Bland-Altman 一致性分析，进一步证实测试片法与国家标准法的检测结果差异无统计学意义，且偏差范围符合微生物学方法等效性要求。

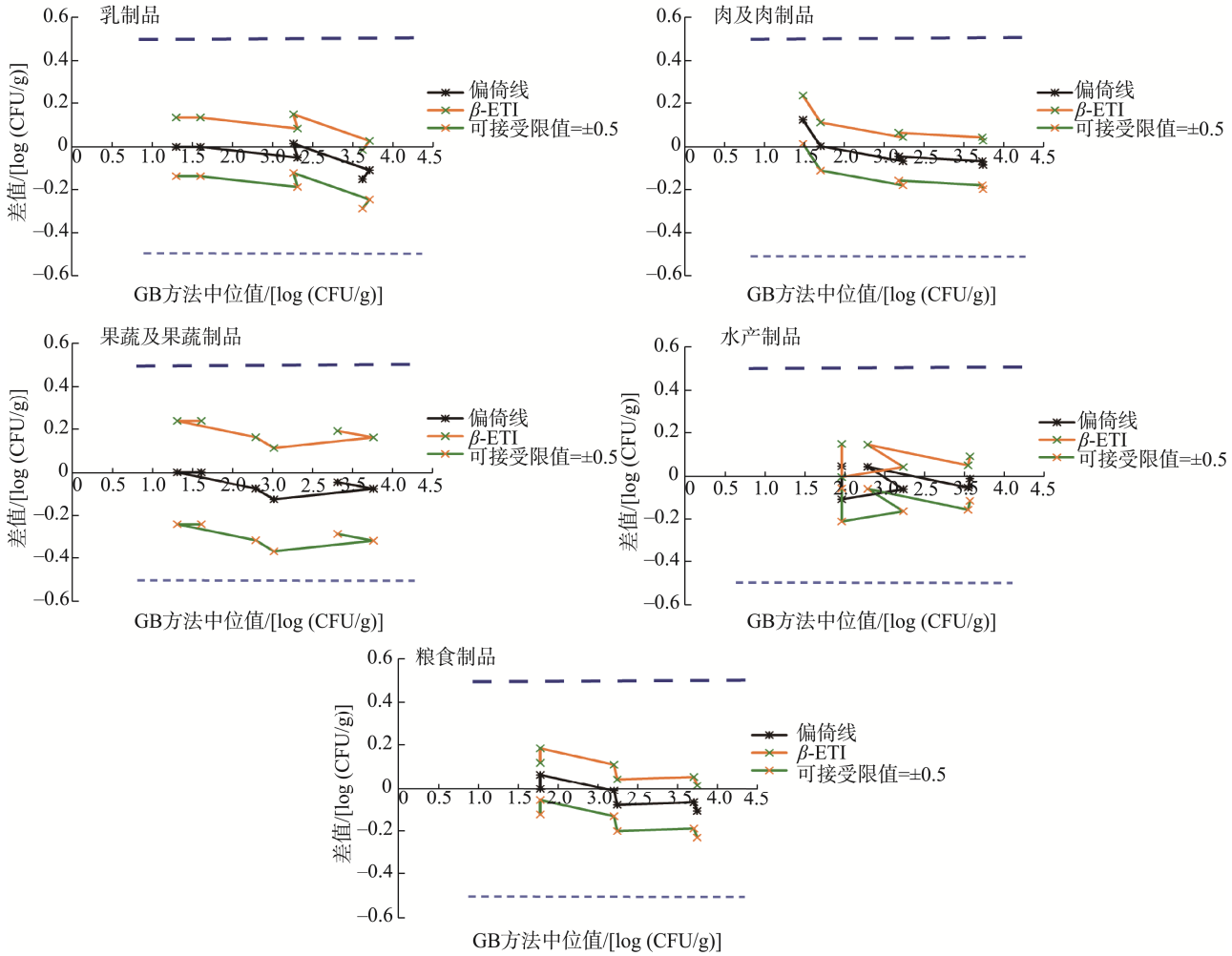


图 3　乳制品、肉及肉制品、果蔬及其制品、水产制品、粮食制品中金黄色葡萄球菌计数结果的准确度分布图

Fig.3　Accuracy distribution of *Staphylococcus aureus* enumeration results for dairy products, meat and meat products, fruits and vegetables and its products, aquatic products, grain products

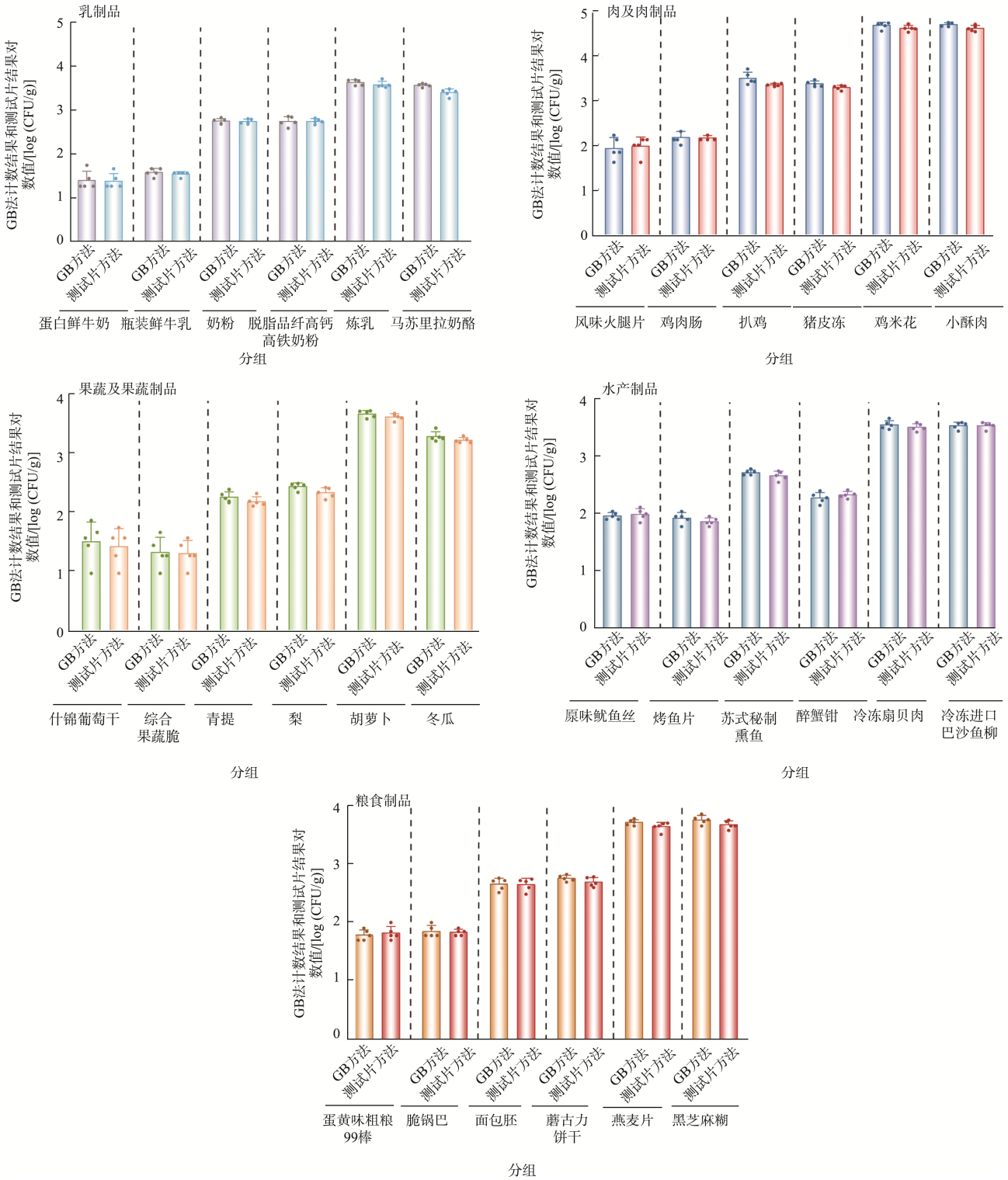


图 4 乳制品、肉及肉制品、果蔬及其制品、水产制品和粮食制品的金黄色葡萄球菌计数结果柱状图

Fig.4 Bar chart of *Staphylococcus aureus* count results for dairy products, meat and meat products, fruits and vegetables and its products, aquatic products and grain products

2.5 实际样品测试

实验室留存的疑似金黄色葡萄球菌污染的 9 个食品样品的测试结果如图 5 所示。结果表明两种方法的计数结果在 20~200 CFU 范围内没有差异，菌落计数结果具有一致性。本研究应用的测试片方法对于食品中金黄色葡萄球菌计数简化操作步骤、减少检测时间、降低检测成本。

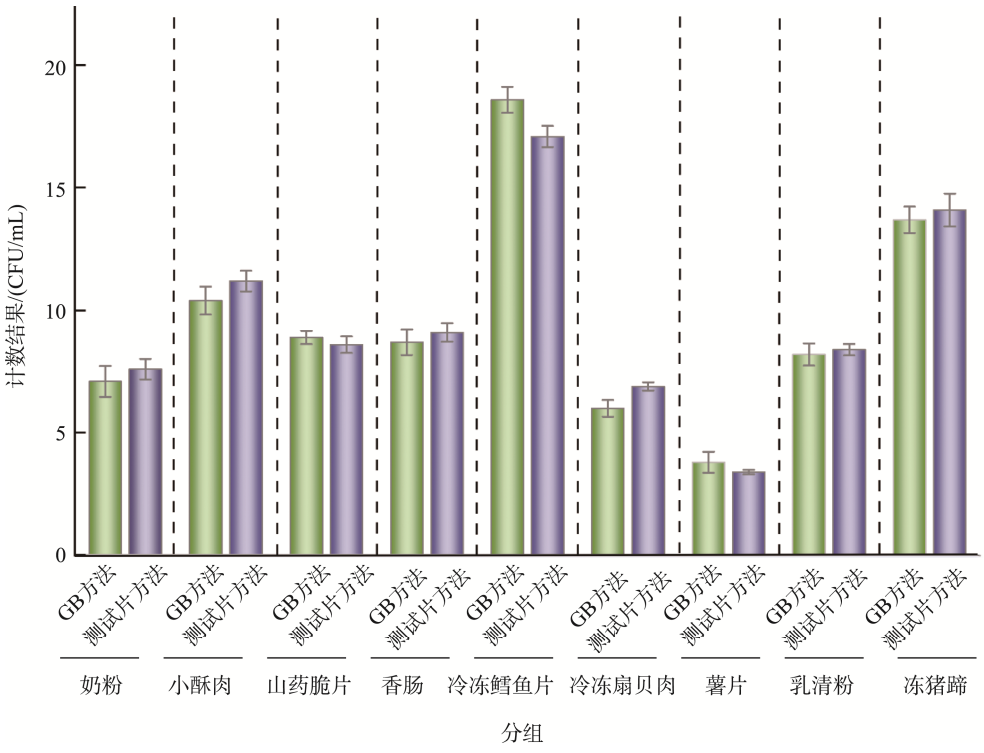


图 5　两种方法实际样品金黄色葡萄球菌测试结果柱状图

Fig.5　Bar chart of *Staphylococcus aureus* test results of actual samples by 2 kinds of methods

3　讨论与结论

本研究参照 GB 4789.10—2016 第二法的金黄色葡萄球菌平板计数法为基准方法, 检测了 5 大类共计 150 份样品, 统计结果显示两种方法的检测值差异范围为–0.2817 至 0.2218, 整体差异均值为–0.0413, 标准差为 0.0775。在 150 份样品中, 7 份样品的差异值超出总均值 95%置信区间, 其比例为 1:21, 符合 ISO 16140—2: 2016 标准中关于差异比例不超过 1:20 的技术要求。从相对正确度角度评估, MicroFast®金黄色葡萄球菌测试片法的性能指标满足相关标准要求。分析鲜牛乳、奶粉、风味火腿片、扒鸡、冬瓜和粗粮棒等 7 份样品的差异结果, 结合该测试片研制中预制培养基的干扰实验数据分析, 存在 pH、脂肪、蛋白质、高盐、防腐剂、纤维素或淀粉等复杂基质干扰, 影响试片法的显色稳定性, 干扰读数结果。另据文献报道, 可能存在测试片可用培养面积有限, 接种 1 mL 样品匀液后, 测试片菌落密度显著升高, 易出现菌落重叠现象, 从而使检测计数结果出现偏差[31]。本研究应用 GB 4789.10—2016 第二法定量法与MicroFast®金黄色葡萄球菌测试片法进行准确度分析结果显示, 所有食品样品的 β-ETI 呈现出特定的数值范围特征, 上限值和下限值均满足要求, 表明两种方法在检测结果上具有高度一致性。

传统平板法可结合革兰染色与血浆凝固酶试验, 依托“形态学观察+生化鉴定”双重判别方式, 具备良好的检测特异性, 能够有效区分并排除表皮葡萄球菌等杂菌干扰, 适用于复杂样品基质的精准检测, 亦可作为结果仲裁的参考方法。但该方法同时也存在明显局限: 培养基配制与灭菌流程烦琐, 且需配套多项生化试验辅助鉴定, 操作步骤繁杂、检测周期更长, 同时对实验操作人员的专业能力与实操经验要求较高[32]。相较于 GB 4789.10—2016 参考标准方法, MicroFast®金黄色葡萄球菌测试片法采用特定的选择性培养基和指示剂, 为金黄色葡萄球菌提供适宜的生长环境, 可以实时显示其生长情况, 提高食品安全检测的时效性, 及时发现和控制食品中的金黄色葡萄球菌污染。另一方面, 简化后的测试片操作流程降低了对实验人员技能要求, 免去培养基配制及高压灭菌过程, 降低了培养基配制及贮存过程中环境或人为误差出现的几率, 保证计数结果的可靠性。创新食品微生物安全检测技术,对于保障食品安全有着重要意义[33]。尽管 MicroFast®检测片法具有诸多优势, 但在实际应用过程中也可能面临一些挑战。不同品牌或批次的测试片可能存在一定的质量差异及计数误差, 需要加强质量监管和标准化生产。此外, 测试片法检测效果易受产品质量稳定性制约, 可能会导致漏检或者假阳性的发生。且无法对可疑菌落开展后续生化试验复核, 难以满足争议样品的仲裁判定要求。后续可进一步优化干粉培养基配制与生产工艺, 持续完善检测体系, 提升方法整体稳定性与检测准确性。以更好地满足食品安全快速检测需求。

参考文献

[1] 王苏野, 王建培. 我国食品安全现状及法制监管模式的构建[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(9): 248–250.
WANG SY, WANG JP. Current situation of food safety in China and construction of legal supervision mode [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2017, 45(9): 248–250.

[2] WANG HW, WANG HH, LIANG LJ, *et al*. Prevalence, genetic characterization and biofilm formation *in vitro* of *Staphylococcus aureus* isolated from raw chicken meat at retail level in Nanjing, China [J]. Food Control, 2018(86): 11–18.

[3] CUI Y, WANG X, WU H, *et al.* A “one to two” novel sandwich immunoassay based on nanobodies for detection of staphylococcal enterotoxin A in food samples [J]. Food Control, 2024, 160110313. DOI: 10.1016/j.foodcont.2024.110313

[4] CIRONE N, BONSAGLIA ECR, DE-SOUSA MV, *et al.* Staphylococcal enterotoxins: Description and importance in food [J]. Pathogens, 2024, 13(3): 676.

[5] OU C, SHANG D, YANG J, *et al.* Prevalence of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* isolates with strong biofilm formation ability among animal-based food in Shanghai [J]. Food Control, 2020, 112: 107106.

[6] 杨晓晖. 食品中金黄色葡萄球菌的定量检测能力验证[J]. 食品安全导刊, 2025, 19(28): 85–87.
YANG XH. Verification of quantitative detection capability of *Staphylococcus aureus* in food [J]. Journal of Food Safety Guide, 2025, 19(28): 85–87.

[7] 魏敏, 姜华军, 程丞, 等. 基于 RB/T 228—2023 评估菌落总数测试片法的测量不确定度[J]. 中国家标准准化, 2025(19): 251–256.
WEI M, JIANG HJ, CHENG C, *et al.* Measurement uncertainty of total colony count test strip method based on RB/T 228—2023 [J]. China Standardization, 2025(19): 251–256.

[8] 麻晓莉. 平板计数法与测试片法对不同类型食品中菌落总数结果的比较分析[J]. 中国口岸科学技术, 2024, 6(S1): 107–112.
MA XL. Comparative analysis of the results of total colony count in different types of food using the plate count method and test strip method [J]. China Port Science and Technology, 2024, 6(S1): 107–112.

[9] KATHARINE E, NIKKI F, DAVID C, *et al.* Validation of the Thermo Scientific™ SureTect™ *Staphylococcus aureus* PCR assay for the detection of *Staphylococcus aureus* in dairy matrices: AOAC performance tested MethodsSM 052101 [J]. Journal of AOAC International, 2021, 105(2): 492–505.

[10] LATTUADA CP, DILLARD LH, ROSE BE. Examination of fresh, refrigerated and frozen prepared meat, poultry and pasteurized egg products [M]. Washington: Microbiology Laboratory Guidebook, 1998.

[11] 董德荣, 白淼, 白宇超, 等. 多重荧光定量 PCR 法检测食品中的沙门菌、副溶血弧菌和金黄色葡萄球菌[J]. 军事医学, 2023, 47(4): 293–296.
DONG DR, BAI M, BAI YC, *et al*. Detection of *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus*, and *Staphylococcus aureus* in food by multiplex fluorescent quantitative PCR [J]. Military Medicine, 2023, 47(4): 293–296.

[12] 谭文青. 基于 IgY 为识别元件构建金黄色葡萄球菌免疫分析新方法[D]. 新乡: 新乡医学院, 2021.
TAN WQ. Development of a new immunoassay method for *Staphylococcus aureus* based on IgY as the recognition element [D]. Xinxiang: Xinxiang Medical University, 2021.

[13] SAHRANESHIN SS, AMIR K, MOHAMMAD R, *et al.* Ultrasensitive detection of micrococcal nuclease activity and *Staphylococcus aureus* contamination using optical biosensor technology-A review [J]. Talanta, 2021, 226: 122168.

[14] 李磊, 肖爽, 甄思慧, 等. 基于核酸适配体的金黄色葡萄球菌快速检测试纸条的研制和应用[J]. 中国畜牧兽医, 2023, 50(11): 4577–4588.
LI L, XIAO S, ZHEN SH, *et al.* Development and application of a rapid test strip for *Staphylococcus aureus* based on nucleic acid aptamers [J]. Chinese Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2023, 50(11): 4577–4588.

[15] 袁京磊, 王迪, 王明. 电化学适配体传感器在金黄色葡萄球菌检测中的应用研究进展[J]. 中国家标准准化, 2025(2): 181–185.
YUAN JL, WANG D, WANG M. Research progress on the application of electrochemical aptamer sensors in the detection of *Staphylococcus aureus* [J]. China Standardization, 2025(2): 181–185.

[16] RUBAB M, SHAHBAZ MH, OLAIMAT NA, *et al.* Biosensors for rapid and sensitive detection of *Staphylococcus aureus* in food [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2018, 105: 49–57.

[17] 郑权莉, 井婷婷, 王海洋, 等. 菌落总数测试片法用于纺织品抗菌性能测试的可行性研究[J]. 纺织科学研究, 2025(9): 42–47.
ZHENG QL, JING TT, WANG HY, *et al.* Feasibility study of using total colony count test strips for testing antibacterial performance of textiles [J]. Textile Science Research, 2025(9): 42–47.

[18] 陈怡文, 张晓东, 任秀, 等. 两种不同检测方法分析不同类型天然和人工染菌食品中菌落总数的比较研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(11): 3475–3479.
CHEN YW, ZHANG XD, REN X, *et al*. Comparative study of total colony counts in various types of natural and artificially inoculated foods using two different detection methods [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(11): 3475–3479.

[19] 张建军, 唐轶君, 李晶, 等. 基于测试片法与平板计数法对不同类型食品中菌落总数结果的比较分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(14): 5606–5612.
ZHANG JJ, TANG YJ, LI J, *et al*. Comparative analysis of total colony counts in different types of food based on the test strip method and plate count method [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(14): 5606–5612.

[20] 詹艺舒, 陈薪旭, 魏源. 微生物测试片的组成及在食品检测中的应用研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(1): 250–257.
ZHAN YS, CHEN XX, WEI Y. Composition of microbial test strips and research progress on their application in food testing [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(1): 250–257.

[21] 李丹. 食品安全控制管理中的新技术: 微生物检测技术应用分析[J]. 实验室检测, 2025, 3(24): 192–194.
LI D. New technologies in food safety control management: analysis of the application of microbial detection technology [J]. Laboratory Testing,

2025, 3(24): 192–194.

[22] 徐蕾蕊, 付溥博, 汪琦, 等. 测试片法在食品菌落总数检测中的应用研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(2): 472–478.
XU LR, FU PB, WANG Q, *et al.* Application study of test strip method in the detection of total bacterial count in food [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(2): 472–478.

[23] KANG J, LEE S, JO A, *et al.* Improving the accuracy of coliform detection in meat products using modified dry rehydratable film method [J].Food Science and Biotechnology, 2020, 29(9): 1289–1294. .

[24] 王静, 陈萍, 任常菲. 以冷水溶性凝胶为载体的细菌快速检测纸片的凝胶剂优化[J]. 卫生研究, 2012, 41(2): 300–302.
WANG J, CHEN P, REN CF. Optimization of gel agents for bacterial rapid detection strips using cold-water-soluble gels as carriers [J]. Health Research, 2012, 41(2): 300–302.

[25] BANERIJEE S, BHATTACHARYA S. Compressive textural attributes, opacity and syneresis of gels prepared from gellan, agar and their mixtures [J]. Journal of Food Engineering, 2011, 102(3): 287–292.

[26] REN D, CHEN P, WANG Y, *et al.* Research and application on the characteristics of compound cold water soluble gel in petrifilm aerobic count plates [J]. LWT-Food Science and Technology, 2017, 82: 335–341.

[27] 刘振宇. 食品中病原微生物快速检测技术的研究进展[J]. 广州化工, 2014, 42(16): 32–33, 53.
LIU ZY. Research progress on rapid detection technologies for pathogenic microorganisms in food [J]. Guangzhou Chemical Industry, 2014, 42(16): 32–33, 53.

[28] ANDERSON T, HAGGERTY A, SILVA E, *et al.* Validation of the diagnostic accuracy of the 3M™ Petrifilm™ coliform and aerobic count plates to measure colostrum bacterial contamination on Scottish dairy farms [J]. Veterinary Journal (London, England: 1997), 2024, 308: 106230.

[29] SCHRAFT H, WATTERWORTH LA. Enumeration of heterotrophs, fecal coliforms and *Escherichia coli* in water: Comparison of 3M Petrifilm plates with standard plating procedures [J]. Journal of Microbiological Methods, 2005, 60(3): 335–342.

[30] 许如苏, 林彩华, 孙霞, 等. 应用测试片快速检测食品中金黄色葡萄球菌的研究[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(1): 94–97.
XU RS, LIN CH, SUN X, *et al*. Study on the rapid detection of *Staphylococcus aureus* in food using test strips [J]. Food Research and Development, 2009, 30(1): 94–97.

[31] 殷萍, 龚青青. 平板计数法与测试片法检测月饼微生物的结果比对[J]. 食品工业, 2026, 47(3): 318–320.
YIN P, GONG QQ. Comparison of results of plate counting method and test film method for detecting microorganisms in mooncakes [J]. The Food Industry, 2026, 47(3): 318–320.

[32] 邹云曼, 牟镖文. 乳粉中金黄色葡萄球菌检测中 2 种检测方法能力验证结果分析[J]. 工业微生物, 2026, 56(1): 201–203.
ZOU YM, MOU BW. Analysis of proficiency testing results of two detection methods for *Staphylococcus aureus* in milk powder [J]. Industrial Microbiology, 2026, 56(1): 201–203.

[33] 李丹. 食品安全控制管理中的新技术: 微生物检测技术应用分析[J]. 实验室检测, 2025, 3(24): 192–194.
LI D. New technologies in food safety control and management: Application analysis of microbial detection technology [J]. Laboratory Testing, 2025, 3(24): 192–194.

(责任编辑: 蔡世佳　曹岱琳)