

RT-PCR快速检测技术用于食品金黄色葡萄球菌检测的价值研究

倪淑娴, 结莉*

苏州市产品质量监督检验院食品检验部、苏州市药品检验检测研究中心化妆品技术核查科, 江苏 苏州

收稿日期: 2025年7月8日; 录用日期: 2025年8月26日; 发布日期: 2025年9月2日

摘要

探讨RT-PCR快速检测技术在食品金黄色葡萄球菌检测中的准确性、灵敏度、特异性, 以此为基础分析该技术的实际应用价值。采集各类食品样本用于对比实验, 设置对照组和观察组。对照组利用常规的微生物培养法进行检测, 观察组则使用RT-PCR快速检测技术进行检测。对比研究2组样本在阳性检出率、检测时间、灵敏度、特异度等方面的差异。

关键词

RT-PCR快速检测技术, 食品, 金黄色葡萄球菌

Research on the Value of RT-PCR Rapid Detection Technology in the Detection of *Staphylococcus aureus* in Food

Shuxian Ni, Li Jie*

Food Inspection Department of Suzhou Product Quality Supervision and Inspection Institute, Cosmetics Technology Inspection Department of Suzhou Drug Inspection and Testing Research Center, Suzhou Jiangsu

Received: Jul. 8th, 2025; accepted: Aug. 26th, 2025; published: Sep. 2nd, 2025

Abstract

This paper explores the accuracy, sensitivity and specificity of RT-PCR rapid detection technology in the detection of *Staphylococcus aureus* in food, and analyzes the practical application value of this

*通讯作者。

文章引用: 倪淑娴, 结莉. RT-PCR 快速检测技术用于食品金黄色葡萄球菌检测的价值研究[J]. 自然科学, 2025, 13(5): 963-968. DOI: 10.12677/ojns.2025.135100

technology based on this. Various food samples were collected for comparative experiments, and a control group and an observation group were set up. The control group was detected by conventional microbial culture methods, while the observation group was detected by RT-PCR rapid detection technology. A comparative study was conducted on the differences between the two groups of samples in terms of positive detection rate, detection time, sensitivity and specificity.

Keywords

RT-PCR Rapid Detection Technology, Food, *Staphylococcus aureus*

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

金黄色葡萄球菌属于比较常见的食源性致病菌,其在自然界以及人、动物的体表、呼吸系统广泛存在。金黄色葡萄球菌会产生包括肠毒素、溶血毒素在内的多种毒素,人体一旦摄入被其污染的食物就容易出现恶心、呕吐、腹痛、腹泻等食物中毒症状[1]。因此,相关监管部门和医疗机构需要对各类食品中的金黄色葡萄球菌进行快速、准确地检测,从而有效防控食源性疾病、保障食品安全。在食品金黄色葡萄球菌的检测技术中,比较常用的技术是常规的微生物培养法。该方法指的是对食品样本进行增菌培养,以此为基础通过分离纯化和生化鉴定确定样本中是否有金黄色葡萄球菌。培养法虽然能够在一定程度上确保检测准确率,但存在检测周期长、操作难度大等缺陷,因而需要研究并应用更加先进的检测技术。RT-PCR(逆转录聚合酶链式反应)快速检测技术[2]具有灵敏度高、特异性强[3]、检测速度快等优点,逐渐在食品安全检测领域得到应用。而在本文中,将针对 RT-PCR 快速检测技术用于食品金黄色葡萄球菌检测的价值进行研究,希望能够促进食品金黄色葡萄球菌检测技术的进一步发展,从而推动食品安全[4]管理水平的不断提升。

2. 材料与方法

2.1. 一般资料

采集各类食品样本 200 份用于对比实验,每份样本的采集量 ≥ 25 g(如样本为液体,则采集量 ≥ 25 mL),将所有样本均分为 2 份,分别作为对照组和观察组。本次选取的样本主要来源如下:肉制品(香肠、火腿等) 61 份、乳制品(牛奶、酸奶等) 47 份、糕点 39 份、水产品(鱼、虾、蟹等) 33 份、其他(酱菜、腌菜、速冻食品等) 20 份。在样本来源方面,本研究中来源于超市的样本数量为 87 份,来源于农贸市场的样本数量 59 份,来源于食品加工厂的样本数量 54 份。本研究中全部样本均在无菌条件下采集,完成样本采集后将每一份样本均分为 2 份,置于无菌容器中进行低温保存并尽快送检。将均分为 2 份的样本分别纳入对照组及观察组,每组样本数量均为 200 份。2 组样本的具体种类、来源等信息均无显著差异($P > 0.05$),具有可比性。

2.2. 方法

2.2.1. 对照组方法

在对照组中,选取的检测方法为常规的微生物培养法,具体操作流程如下:(1) 增菌培养:在每份样

本中称取 25 g 或 25 mL 用于检测,将其置于含有 225 mL 氯化钠肉汤(氯化钠浓度 7.5%)的无菌均质袋中,采用拍击式均质器进行均质操作,操作时间 1~2 min,使其形成 1:10 的稀释液。样本形成稀释液后,将稀释液置于培养箱中进行微生物培养(培养箱温度 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, 培养时间 18~24 h)。(2) 分离纯化:使用接种环取增菌培养液一环,划线接种在 Baird-Parker (B-P)平板。之后,将温度调节至 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$,进行微生物培养(时间 1~2 d)。挑选典型菌落(黑色有光泽、周围有浑浊带和透明圈),接种到营养琼脂斜面, $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 18~24 小时。(3) 生化鉴定:选取营养琼脂斜面上存在的纯培养物开展革兰氏染色、触酶试验以及血浆凝固酶试验。如发现样本的革兰氏染色呈阳性球菌,触酶试验阳性[5],血浆凝固酶试验阳性,则判断金黄色葡萄球菌的检测结果为阳性。

2.2.2. 观察组方法

在观察组中,对所有样本进行金黄色葡萄球菌检测的技术手段为 RT-PCR 快速检测技术,具体的检测流程如下:(1) 样本处理:在本组的每份样本中称取 25 g 或 25 mL,根据试剂盒的说明书开展针对性地处置,提取样本中的 DNA。之后,采用核酸提取试剂盒,以磁珠法进行 DNA 提取。样本处理和 DNA 提取严格依据试剂盒上附带的说明书开展。(2) 引物的设计及合成:结合金黄色葡萄球菌 nuc 基因序列对特异性引物进行设计。(3) RT-PCR 反应:在 20 μL 反应体系中,加入 10 μL $2 \times \text{PCR Mix}$ (含 Taq DNA 聚合酶、dNTPs 等),上游引物和下游引物各 0.5 μL (浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$),模板 DNA 2 μL ,无菌双蒸水补足至 20 μL 。反应条件为: 95°C 预变性 5 min; 95°C 变性 30 s, 58°C 退火 30 s, 72°C 延伸 30 s,共进行 35 个循环;最后 72°C 延伸 10 min。(4) 结果判读:完成 RT-PCR 反应后,于 PCR 产物中提取 5 μL 开展琼脂糖凝胶电泳处理(琼脂糖浓度 1.5%,电压 120 V,电泳时间 30 min)。在此基础上,于凝胶成像系统下进行结果观测和判读。如发现目的条带位置存在特异性条带,则将食品金黄色葡萄球菌的检测结果判定为阳性。如未发现特异性条带,则将检测结果判定为阴性。

2.3. 观察指标

在本文中,主要的观察指标如下:① 阳性检出率:指的是 2 组样本中金黄色葡萄球菌检测结果为阳性的样本数量与样本总数的比,具体计算公式如下:阳性检出率 = 阳性样本数/样本总数 $\times 100\%$ 。② 检测时间:检测过程中观察并记录 2 组样本从开始样本处理到获得检测结果消耗的时间,计算并对比 2 组样本的检测时间平均值。③ 灵敏度及特异性[6]:以传统培养法检测结果为金标准,计算 RT-PCR 快速检测技术的灵敏度和特异度。其中,灵敏度 = 真实阳性数/(真实阳性数 + 假阴性数) $\times 100\%$;特异性 = 真实阴性数/(真实阴性数 + 假阳性数) $\times 100\%$ 。

2.4. 统计学方法

本次研究当中的所有数据均采用 SPSS.19.0 统计软件进行处理,计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,以 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。计数资料采用率(%)表示,以卡方检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3. 结果

3.1. 两组样本阳性检出率和检测时间对比

对比发现,观察组样本的阳性检出率高于对照组,检测时间少于对照组($P < 0.05$),数据见表 1。

3.2. 两组检测方法的灵敏度与特异度对比

与对照组相比,观察组检测过程中体现的灵敏度、特异度均处于较高水平,组间数据差异显著($P <$

0.05), 数据见表 2。

Table 1. Comparison table of positive detection rate and testing time for two groups of samples
表 1.2 组样本阳性检出率与检测时间对比表

组别	阳性检出率(%)	检测时间(h)
对照组	8.00 (16/200)	48.32 ± 4.83
观察组	15.50 (31/200)	3.37 ± 0.34
t/χ^2	5.425	131.288
P	0.020	<0.001

Table 2. Comparison table of sensitivity and specificity between two groups of tests
表 2.2 组检测灵敏度、特异度对比表

组别	真阳性	真阴性	假阳性	假阴性	灵敏度	特异度
对照组	23	155	17	5	82.14	90.12
观察组	32	164	3	1	96.97	98.20
χ^2					11.756	5.936
P					0.001	0.015

4. 讨论

4.1. RT-PCR 快速检测技术在检出率和检测效率两方面优势明显

金黄色葡萄球菌属于食品中比较常见的微生物, 但该菌在不同类型食品中的分布可能呈现不均匀性, 对部分类型的金黄色葡萄球菌株实施常规细菌培养, 可能出现生长速度过于缓慢以及受其他杂菌抑制等问题, 影响检测的准确率。而使用 RT-PCR 快速检测技术替代常规的细菌培养法, 则可利用 RT-PCR 快速检测技术的独特分子生物学检测原理, 有效克服常规细菌培养法存在的局限性, 以此为基础促进阳性检出率的进一步提升。

对 RT-PCR 快速检测技术的原理进行研究可以发现, RT-PCR 技术以金黄色葡萄球菌特定的核酸序列作为检测靶点, 通过检测发现样本中存在对应的靶点, 即可判断检测结果为阳性。在检测过程中设计高度特异性的引物[7], 可在相对复杂的食品样本中实现对金黄色葡萄球菌的精准识别。因此, 即使样本中的金黄色葡萄球菌存在含量极低、濒死、休眠等不利于检测的情况, 也可通过 RT-PCR 技术实现对 PCR 的指数级扩增, 进而实现对微量金黄色葡萄球菌目标核酸序列的准确检测, 提升检测的准确率。

在本研究中, 观察组使用了 RT-PCR 技术进行食品金黄色葡萄球菌检测, 阳性检出率达到 15.5%。而在对照组中, 使用常规的微生物培养法进行检测, 金黄色葡萄球菌的检测阳性率只有 8.0%。上述结果和其他相关领域的研究报道相符。在对肉制品、乳制品等高风险食品进行检测的过程中, RT-PCR 技术可有效解决金黄色葡萄球菌污染浓度偏低, 影响检测准确率的问题。需要注意的是, 经过高温、高盐处理的食品中金黄色葡萄球菌的生长会受到比较有效地抑制, 因而检测其中金黄色葡萄球菌的难度较大。使用 RT-PCR 技术可有效避免经高温、高盐处理食品的检测结果受到干扰, 确保检测的准确性和有效性, 提升食品安全监督管理的精准性。

对常规金黄色葡萄球菌培养检测的具体方法进行研究可以发现, 该方法的检测流程相对繁琐, 检测过程中需要依次开展增菌培养、分离纯化、生化鉴定等多个步骤的操作。在整个检测过程中, 每个环节都需要特定的培养条件, 也需要消耗较长的培养时间。其中, 仅增菌培养这一个环节一般就需要消耗 18~24

h. 分离纯化、生化鉴定两个环节消耗的时间均在 24 h 以上。因此, 常规细菌培养的流程需消耗 2~3 d。检测流程耗时过长会导致相关部门进行食品安全突发事件应急处理和市场快速筛查的效率低下, 因而需要使用更加快速、高效的检测方法。RT-PCR 快速检测技术从根本上实现了对检测流程的简化, 因而能够有效缩短检测时间。应用 RT-PCR 快速检测技术时不需要依赖菌株在培养基上的生长繁殖, 可通过提取样本中的核酸进行扩增[8]实现精准检测。一般来说, 使用该技术进行金黄色葡萄球菌检测, 可在 30~60 min 完成核酸提取环节, 总检测时长一般不超过 4 h。在本研究中, 观察组使用 RT-PCR 技术进行金黄色葡萄球菌检测, 消耗的平均检测时间仅有 (3.37 ± 0.34) h。在检测速度显著提升的基础上, 监管部门可在短时间内实现对大量食品样本的准确筛查与检测, 及时发现与金黄色葡萄球菌相关的问题食品。以此为基础, 进一步提升食品安全管理的效率和质量, 同时在食源性疾病的防控工作中发挥重要作用。

4.2. RT-PCR 快速检测技术具有更高的灵敏度和特异度

对比研究不同检测技术[9]用于食品金黄色葡萄球菌检测的应用价值时, 灵敏度和特异度均为衡量检测方法准确性的关键指标。在本次使用的两种检测方法中, 常规细菌培养法在检测过程中难以精准分辨与金黄色葡萄球菌在形态、生化特性上存在一定相似性的其他葡萄球菌属细菌, 容易出现误报、漏报等问题, 上述问题在检测结果中表现为假阳性。同时, 常规细菌培养技术在检测低浓度样本或生长缓慢的菌株时, 又容易产生假阴性结果, 其灵敏度和特异度难以满足精准检测的需求。

与常规的细菌培养法不同, RT-PCR 技术在灵敏度和特异度两方面均能体现出比较明显的优势。具体来说, 在灵敏度方面, RT-PCR 技术可实现对低浓度样本的精准检测。即便样本中金黄色葡萄球菌的浓度低至 10 CFU/mL 左右, 使用 RT-PCR 技术也可得到相对准确的检测结果。之所以如此, 主要原因是 PCR 技术对目标核酸的高效扩增能力, 即使样本中仅有极少量的菌体, 其携带的目标基因也能被大量扩增, 从而实现精准检测。而在特异度方面, RT-PCR 技术通过设计特异性引物和探针, 针对金黄色葡萄球菌独有的核酸序列进行识别和扩增。

在本研究中, 使用 RT-PCR 技术观察组检测灵敏度达到 96.97%, 特异度为 98.20%, 两项指标均明显高于使用常规细菌培养法的对照组(82.14%, 90.12%)。较高的灵敏度[10]与特异度能够确保食品金黄色葡萄球菌检测中 RT-PCR 快速检测的精准性, 从而有效避免检测过程中出现误报、漏报等问题, 避免或降低上述问题引发经济损失并产生不良的社会影响。在食品的原材料采购、储存、成品生产、运输、销售等各个环节, RT-PCR 快速检测技术均能快速提供相对精准、可靠的检测结果, 在食品安全生产、食品质量监督、食源性疾病的防控等领域发挥关键作用。

5. 结论

综上所述, 对肉制品、乳制品、糕点等食品进行金黄色葡萄球菌检测时, 可使用 RT-PCR 快速检测技术替代常规的细菌培养检测。RT-PCR 快速检测技术不仅能够提升检测准确性, 缩短检测时间, 而且在灵敏度、特异度两方面具有明显优势。因此, RT-PCR 快速检测技术在食品金黄色葡萄球菌的检测中具有较大的应用价值。

参考文献

- [1] 吴仔东. 食品中金黄色葡萄球菌快速检测方法的研究进展[J]. 中外食品工业, 2024(17): 31-33.
- [2] 付燕峰, 娄亚坤, 苗银萍, 等. 恒温荧光扩增法快速检测食品中金黄色葡萄球菌[J]. 实验室检测, 2023, 1(3): 21-29.
- [3] 谭慧林, 吴忠红, 金永生, 等. 食品中金黄色葡萄球菌的快速检测及其评估[J]. 新疆农业科学, 2022, 59(2): 410-416.

- [4] 李寅生, 王璐, 张懿雪, 等. BAXQ7 系统快速检测食品中金黄色葡萄球菌效果验证[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(10): 3256-3260.
- [5] 张小苗. 基因探针法应用于食品中金黄色葡萄球菌快速检测的效果[J]. 生物技术世界, 2015(9): 12.
- [6] 胡守奎, 胡万富, 撒楠. 应用测试片法快速检测食品中的金黄色葡萄球菌[J]. 安徽预防医学杂志, 2011, 17(5): 393-394.
- [7] 李荔枝, 胡萍. 快速检测食品中金黄色葡萄球菌及其肠毒素型的研究进展[J]. 江西农业学报, 2011, 23(8): 144-146.
- [8] 徐义刚, 李苏龙, 李丹丹, 等. 食品中金黄色葡萄球菌 DNA 环介导恒温扩增快速检测方法的建立与应用[J]. 中国农业科学, 2010, 43(8): 1655-1663.
- [9] 黄岭芳, 赖卫华, 张莉莉. 食品中金黄色葡萄球菌快速检测方法的研究进展[J]. 食品与机械, 2009, 25(6): 181-185.
- [10] 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.