

食品中单核细胞增生李斯特氏菌检测能力验证

陈学强, 刘 阳*, 马炳存, 贺巧玲

(四川省食品药品检验检测院, 成都 610041)

摘要: 目的 通过能力验证提升食品中单核细胞增生李斯特氏菌检测能力和实验室质量管理水平。**方法** 依据 GB 4789.30-2010《食品安全国家标准 食品微生物学检验 单核细胞增生李斯特氏菌检验》进行检测, 利用 BAX system Q7 全自动病原微生物检测系统对能力验证中的 3 个样品进行快速筛查, 采用 VITEK 2 COMPACT 全自动细菌鉴定系统、基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)和溶血素 O 基因(*hlyA*)序列比对分析鉴定可疑菌株。**结果** 编号 CODE 1 和 CODE 3 的样品检出单核细胞增生李斯特氏菌, 编号 CODE 2 的样品未检出。**结论** 本实验室参加了中国食品药品检定研究院组织的食品中单核细胞增生李斯特氏菌检测能力验证测试, 取得了满意的实验结果。

关键词: 食品; 单核细胞增生李斯特氏菌; 能力验证

Proficiency testing of *Listeria monocytogenes* detection ability in food

CHEN Xue-Qiang, LIU Yang*, MA Bing-Cun, HE Qiao-Ling

(Sichuan Institute for Food and Drug Control, Chengdu 610041, China)

ABSTRACT: Objective To improve the detection capability of *Listeria monocytogenes* in food and the level of laboratory quality management. **Methods** *Listeria monocytogenes* testing was carried out according to GB 4789.30-2010 National food safety standard-Food microbiological examination-*Listeria monocytogenes*. Automatic pathogenic microorganism detection system (BAX system Q7) was used for rapid screening of 3 samples. The suspicious strains of 3 samples were identified by automatic microbial, biochemical identification system (VITEK 2 CAMPACT), matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS) and the sequence analysis of listeriolysin O (*hlyA*). **Results** *Listeria monocytogenes* was detected in CODE 1 and 3, and was not detected in CODE 2. **Conclusion** The laboratory has participated in the proficiency testing of *Listeria monocytogenes* in food, which organized by National Institute for Food and Drug Control, and obtained satisfactory results.

KEY WORDS: food; *Listeria monocytogenes*; proficiency testing

1 引言

单核细胞增生李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*)是

一种食品中常见的致病菌,它能够引起人畜共患的李氏菌病症,严重可致死,因此我国食品安全国家标准将该菌列为不得检出的病原菌之一^[1]。能力验证是实验室检测结果

*通讯作者: 刘阳, 硕士, 工程师, 主要研究方向食品微生物检验。E-mail: 403572076@qq.com

*Corresponding author: LIU Yang, Master, Engineer, Sichuan Institute for Food and Drug Control, Chengdu 610041, China. E-mail: 403572076@qq.com

质量保证的重要方式,也是评价实验室技术水平的有效手段^[2]。通过能力验证,可以识别实验室存在的问题并启动改进措施,以到达不断提高实验室检测技术和质量控制水平的目的^[3];同时,能力验证也为实验室通过资质认定工作提供有效的支撑^[4]。为了提高食品中单核细胞增生李斯特氏菌检出能力,2016年本实验室参加了中国食品药品检定研究院组织的 NIFDC-PT-058 食品中单核细胞增生李斯特氏菌检测能力验证,本研究分析这次能力验证的过程与结果。

2 材料与方法

2.1 样品来源

食品中单核细胞增生李斯特氏菌能力验证样品,批号为 TF-0580035,共 3 瓶,瓶号为 CODE 1、CODE 2、CODE 3,规格为 1 粒/瓶,外观为白色球丸,由中国食品药品检定研究院提供。

2.2 培养基及试剂

李氏增菌肉汤培养基(LB₁、LB₂)、PALCAM 琼脂培养基、脑心浸出液肉汤(brain heart infusion broth, BHI)、羊血琼脂平板、TSA-YE 琼脂培养基、单核细胞增生李斯特氏菌生化鉴定盒(广东环凯微生物科技有限公司);李斯特氏菌显色培养基(科玛嘉)(郑州博赛生物技术股份有限公司);PCR 所用试剂(天根生化科技有限公司)。

2.3 实验仪器

VITEK 2 Compact 全自动细菌鉴定及药敏分析系统(法国生物梅里埃公司);BAX System Q7 全自动病原微生物检测系统(美国杜邦公司);基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(美国布鲁克道尔顿公司);PCR 扩增仪(德国 Eppendorf 公司)。

2.4 实验方法

按 NIFDC-PT-058 《食品中单核细胞增生李斯特氏菌检验能力验证》作业指导书进行单核细胞增生李斯特氏菌定性检测,依据 GB 4789.30-2010《单核细胞增生李斯特氏菌检验》进行检测,同时辅以 BAX System Q7 全自动病原微生物检测系统进行快速筛查,以 VITEK 2 COMPACT 全自动细菌鉴定系统、基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)和溶血素 O 基因(*hlyA*)序列比对分析鉴定可疑菌株,综合以上实验结果报告。同时以单核细胞增生李斯特氏菌(CICC 21633)作为阳性对照菌进行试验。

2.4.1 增菌

无菌操作将西林瓶中小球加入到 10 mL LB₁ 增菌液中,

充分溶解并混匀。取稀释成 50~100 CFU/mL 的阳性对照菌单核细胞增生李斯特氏菌(CICC 21633)菌悬液 0.1 mL,接种到 10 mL LB₁ 增菌液中,作为阳性对照。样品和阳性对照均于 30 °C 培养 24 h。移取 0.1 mL 培养后的样品混合物至 10 mL LB₂ 增菌液中,30 °C 培养 24 h。阳性对照同法操作。

2.4.2 BAX System Q7 全自动病原微生物检测系统检测

移取 1 mL LB₂ 培养物至 5 mL BHI 中,于 36 °C 培养 4 h 后,移取 5 μL 培养物至盛有 200 μL 裂解液的裂解管中,于 55 °C 金属浴 60 min,再于 95 °C 金属浴 10 min,取出裂解管后于 4 °C 冷却 5 min,再移取 50 μL 裂解物到 PCR 反应管中,采用 BAX System Q7 全自动病原微生物检测系统检测。阳性对照同法操作。

2.4.3 选择性分离

用 10 μL 的接种环取增菌液 1 环,分别划线于 PALCAM 琼脂平板和单核细胞增生李斯特氏菌显色培养基平板上,划线后 2 种平板于 36 °C 培养 24~48 h。

2.4.4 初筛

从 PALCAM 和李斯特显色平板上分别挑取典型或可疑菌落,接种到木糖-鼠李糖发酵管中,于 36 °C 培养 24 h,同时在 TSA-YE 平板上划线,于 36 °C 培养 24 h,作为进一步鉴定的纯培养物。

2.4.5 鉴定

同 GB 4789.30-2010 中 5.4.1~5.4.5^[5]。

2.4.6 VITEK 2 COMPACT 全自动细菌鉴定系统

分别从 TSA-YE 平板上挑取适量新鲜可疑菌落的纯培养物,置于 3 mL 0.45% 生理盐水的试管中,调试菌悬液浓度达到革兰氏阳性鉴定卡要求浊度,菌悬液加入到鉴定卡后,采用 VITEK 2 COMPACT 全自动细菌鉴定系统进行鉴定。阳性对照同法操作。

2.4.7 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)

分别从 TSA-YE 平板上挑取新鲜可疑菌落的纯培养物,在 MALDI 靶板的靶点上涂布成一个薄层,在上述靶点上覆盖 1 μL 70% 甲酸水溶液并在室温下自然晾干,然后再覆盖 1 μL HCCA 基质并在室温下自然晾干,采用基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)鉴定。MALDI-TOF-MS 仪器参数为:氮气激光光源,正离子模式,分子质量范围 m/z 2~20 kDa,每个样品谱图累积 500 个激光脉冲的信号,激光频率:1000 Hz,加速电压 20 kV。

2.4.8 溶血素 O 基因(*hlyA*)序列比对分析

单核细胞增生李斯特氏菌的毒力由多基因决定,其溶血素 O(listeriolysin O, LLO)的编码基因 *hlyA* 是其致病性的毒力标志基因(Genbank: JN703916)^[6]。引物序列(*hlyA*-F: 5'-CCTAAGACGCCAATCGAA-3', *hlyA*-R: 5'-AAGCGCTTGCAACTGCTC-3', 扩增片段大小 720 bp)。用灭菌牙

签挑取纯化后的单菌落于 50 μL Lysis Buffer for Microorganism to Direct PCR 中, 80 $^{\circ}\text{C}$ 作用 15 min, 瞬时离心后取上清备用。用单增鉴定引物 *hlyA*-F、*hlyA*-R 进行菌种溶血素 O 的 PCR 扩增, PCR 反应体系: 25 μL 2 \times PCR Mix; 1 μL *hlyA*-F; 1 μL *hlyA*-R; 2 μL 细菌裂解液; 21 μL ddH₂O; 总体积 50 μL 。反应条件为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 4 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 60 s, 50 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 60 s, 共 30 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min, 12 $^{\circ}\text{C}$ 保存。取 5 μL PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增条带, PCR 产物测序由华大基因科技有限公司完成。将测得的 PCR 产物序列进行 BLAST 分析, 比对序列同源性。

3 结果与分析

3.1 增菌和选择性分离结果

从表 1 看出, 样品 CODE 1~3 在 LB₁ 和 LB₂ 增菌培养后均显示浑浊, 说明样品中有能在该培养基中生长的微生物。划线培养后 3 个样品在 PALCAM 平板上均分离出圆形、灰绿色, 周围有棕黑色水解圈的单个菌落, 按国标对典型或可疑菌落描述判断为可疑单核细胞增生李斯特氏菌(简称“PALCAM-灰绿”); 在 CODE 1 和 3 的李斯特显色平板上分离出圆形、蓝绿色, 有乳白色晕环的单个菌落, 按产品说明书判断为可疑单核细胞增生李斯特氏菌(简称“李显-蓝绿”); CODE 2 的李斯特显色平板上分离出圆形、蓝绿

色, 无乳白色晕环的单个菌落, 按产品说明书判断为非可疑单核细胞增生李斯特氏菌。

3.2 初筛、镜检和鉴定结果

从表 2 看出, CODE 1 和 3 中分离的可疑菌落初筛、镜检、生化鉴定、溶血试验与阳性对照结果一致, 均为单核细胞增生李斯特氏菌。CODE 2 中分离到的可疑菌落初筛、镜检、生化鉴定虽然与阳性对照结果一致, 但是溶血试验为阴性, 为非单核细胞增生李斯特氏菌。

3.3 BAX system Q7 检测系统快筛和不同鉴定方法对可疑菌落的鉴定结果

从表 3 看出, BAX system Q7 快筛结果显示 CODE 1、3 和阳性对照检出单核细胞增生李斯特氏菌, CODE 2 未检出。VITEK 2、MALDI-TOF-MS 以及溶血素 O 基因(*hlyA*) 序列比对分析结果表明, CODE 1 和 3 中 PALCAM 和李斯特显色平板上分离出来的可疑菌落均是单核细胞增生李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*)。CODE 2 中 PALCAM 平板上的可疑菌落, VITEK2 鉴定为英诺克李斯特氏菌(*Listeria innocua*), MALDI-TOF-MS 鉴定为单核细胞增生李斯特氏菌, 溶血素 O 基因(*hlyA*) 序列比对分析为非单核细胞增生李斯特氏菌。综合上述传统方法和辅助方法的结果, 可以判定 CODE 1 和 3 检出单核细胞增生李斯特氏菌; CODE 2 未检出, 且干扰菌为英诺克李斯特氏菌。

表 1 增菌和选择性分离结果

Table 1 Results of bacteria-proliferating and selective separation

编号	LB ₁	LB ₂	PALCAM 平板	李斯特显色平板
CODE 1	浑浊	浑浊	圆形灰绿色菌落, 周围有棕黑色水解圈	圆形蓝绿色菌落, 有乳白色晕环
CODE 2	浑浊	浑浊	圆形灰绿色菌落, 周围有棕黑色水解圈	圆形蓝绿色菌落, 无乳白色晕环
CODE 3	浑浊	浑浊	圆形灰绿色菌落, 周围有棕黑色水解圈	圆形蓝绿色菌落, 有乳白色晕环

表 2 初筛、镜检和鉴定结果

Table 2 Results of primary screen, microscopy and identification

编号	菌株代号	木糖	鼠李糖	镜检	动力	葡萄糖	麦芽糖	甘露醇	七叶甘	MR-VP	H2O2 酶	溶血试验
CODE 1	PALCAM-灰绿	-	+	G+	+	+	+	-	+	+/+	+	+
	李显-蓝绿	-	+	G+	+	+	+	-	+	+/+	+	+
CODE 2	PALCAM-灰绿	-	+	G+	+	+	+	-	+	+/+	+	-
	PALCAM-灰绿	-	+	G+	+	+	+	-	+	+/+	+	+
CODE 3	PALCAM-灰绿	-	+	G+	+	+	+	-	+	+/+	+	+
	李显-蓝绿	-	+	G+	+	+	+	-	+	+/+	+	+
阳性对照	/	-	+	G+	+	+	+	-	+	+/+	+	+

注: -阴性; +阳性。

表 3 BAX system Q7 和不同鉴定方法对可疑菌落的鉴定结果
Table 3 Results of BAX system Q7 and others identification methods

编号	BAX Q7	菌株代号	VITEK 2	MALDI-TOF-MS	<i>hlyA</i>
CODE 1	+	PALCAM-灰绿	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
		李显-蓝绿	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
CODE 2	-	PALCAM-灰绿	<i>Listeria innocua</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	ND
CODE 3	+	PALCAM-灰绿	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
		李显-蓝绿	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
阳性对照	+	/	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>

注: -阴性; +阳性, ND 未检出。

4 结论与讨论

PALCAM 培养基不能有效区分单核细胞增生李斯特氏菌和英诺克李斯特氏菌。因为 PALCAM 培养基中含有一种叫做七叶甙的成分, 上述 2 种李斯特氏菌均能水解七叶甙并与铁离子产生颜色反应而使菌落为棕褐色, 并带褐色晕圈, 从而导致无法被有效区分^[7]。相比之下, 李斯特显色培养基则是针对李斯特氏菌的 β -D-葡萄糖苷酶和毒力因子 PI-PLC 酶, 设计相应底物 (5-bromo-4-chloro-3-indoxyl- β -D-glucopyranoside 和 L- α -磷脂酰肌醇) 加入到选择性培养基中。再利用酶分解底物产生不同的显色物质和菌落形态特征, 使不同的李斯特氏菌和非李斯特氏菌被区分开来^[8], 所以李斯特显色培养基更适用于李斯特菌属的分离鉴定, 且可以将可疑菌落在李斯特显色培养基上进行反复分离纯化, 以提升后续鉴定的准确性。

MALDI-TOF-MS 将英诺克李斯特氏菌鉴定为单核细胞增生李斯特氏菌。文献报道龚艳清等^[9]利用 MALDI-TOF-MS 有效地区分了李斯特氏菌属的 5 种菌。但赵红阳等^[10]也认为在使用 MALDI-TOF-MS 鉴定细菌时, 会受到很多因素的影响, 如样品制备方式^[11]、培养基的种类^[12]和样品纯度等影响标记靶分子的出现而导致质谱分析偏差的情况。分析本次实验结果, 单核细胞增生李斯特氏菌和英诺克李斯特氏菌的指纹图谱相似, 且在相同的 m/z 附近均出现了离子峰, 二者极高的相似度加之受样品制备和纯度的影响, 可能导致了鉴定错误。当然, 我们也应该看到, 实验室在如何利用 MALDI-TOF-MS 准确鉴定细菌上还需要进一步地探讨和研究。

本次实验采用了 4 种鉴定方法和传统国标方法进行比较, 其中 VITEK 2 COMPACT 是国标允许的鉴定方法, 相比传统生化鉴定方法更加快速和准确, 也减少了人为因素的干扰^[13]; BAX system Q7 优点是操作简便, 检测周期短, 但是可能会出现假阳性的结果^[14]; 溶血素 O 基因 (*hlyA*) 序列比对分析是单核细胞增生李斯特氏菌特有的毒力基因分析, 特异性和准确度高, 但也有出现假阳性和假阴性结

果的可能^[15]; MALDI-TOF-MS 具有操作简单、所需试剂较少, 高通量, 检测时间短等优点, 大大减少了检验工作量, 但是仪器昂贵, 维护成本较高, 数据库范围有限等使得其短时间无法普及^[16]。

此次食品中单核细胞增生李斯特氏菌能力验证主要考察了实验室是否能有效区分李斯特氏菌属的几种菌株, 这也是我们在日常检验检测中需要关注的重点。通过能力验证, 实验室的检测能力和质量管理能够得到有效的提升, 也能增加客户和相关方对实验室出具可靠数据的信心^[17]。

参考文献

- [1] 孙晓霞, 胡连霞, 王建昌, 等. 单核细胞增生李斯特氏菌能力验证样品的制备与验证[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(2): 556-561.
Sun XX, Hu LX, Wang JC, et al. Preparation and verification of *Listeria monocytogenes* samples for proficiency testing [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(2): 556-561.
- [2] 姜志杰, 王似锦, 高春. 食品中沙门氏菌检出能力验证结果与分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(5): 1929-1935.
Jiang ZJ, Wang SJ, Gao C. Proficiency testing results and analysis of *Salmonella* detection ability in food [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(5): 1929-1935.
- [3] 舒鹃娟, 张伟冲, 袁峰, 等. 食品微生物的检测能力验证[J]. 上海预防医学, 2014, 26(3): 154-157
Shu JJ, Zhang WC, Yuan F, et al. The ability verification of food microorganism test [J]. Shanghai J Prev Med, 2014, 26(3): 154-157
- [4] 吴谦, 黄建忠. 食品中单增李斯特氏菌微生物学检测能力验证[J]. 福建畜牧兽医, 2012, 34(2): 20-21
Wu Q, Huang JZ. Proficiency testing of *Listeria monocytogenes* microbiology detection ability in food [J]. Fujian J Anim Husb Vet Med, 2012, 34(2): 20-21
- [5] GB 4789.30-2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 单核细胞增生李斯特氏菌检验[S].
GB 4789.30-2010 National food safety standard-Food microbiological examination-*Listeria monocytogenes* [S].
- [6] 王昊宇, 张公亮, 侯红漫. 应用 SYBR Green I 溶解曲线检测食源性单增李斯特菌[J]. 食品工业科技, 2013, 34(10): 77-79, 88
Wang HY, Zhang GL, Hou HM. Detection of *Listeria monocytogenes* in foods by SYBR Green I melting curve [J]. Sci Technol Food Ind, 2013,

- 34(10): 77-79, 88
- [7] 李凤梅. 食品微生物检验(1版)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2015
Li FM. Microbiological examination of food (1st edition) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2015
- [8] 张昕, 汪琦, 张惠媛, 等. 检测致病性李斯特氏菌的培养基[J]. 检验检疫科学, 2008, 18(1): 76-79
Zhang X, Wang Q, Zhang HY, *et al.* Culture medium for detecting pathogenic *Listeria* [J]. Inspect Quarant Sci, 2008, 18(1): 76-79
- [9] 龚艳清, 陈信忠, 杨俊萍, 等. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱在李斯特菌检测和鉴定中的应用[J]. 食品科学, 2012, 33(6): 209-214.
Gong YQ, Chen XZ, Yang JP, *et al.* Detection and identification of *Listeria* species by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry [J]. Food Sci, 2012, 33(6): 209-214.
- [10] 赵红阳, 吕佳, 卢雁, 等. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱对阪崎肠杆菌的鉴定[J]. 中国微生态学杂志, 2013, 25(5): 541-547.
Zhao HY, Lv J, Lu Y, *et al.* Identification of *Enterobacter sakazakii* by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry [J]. Chin J Microcol, 2013, 25(5): 541-547.
- [11] Tracie LW, Andrzejewski D, Jackson OL, *et al.* Experimental factors affecting the quality and reproducibility of MALDI-TOF mass spectra obtained from whole bacteria cells [J]. J Am Soc Mass Spectr, 2003, 14(4): 342-351.
- [12] 吕佳, 卢行安, 刘淑艳, 等. MALDI-TOF-MS 技术鉴定食源性致病菌的影响因素[J]. 分析仪器, 2011, (2): 12-17.
Lv J, Lu XA, Liu Y, *et al.* Influential factors in identifying food-borne pathogens by MALDI-TOF-MS [J]. Anal Instrum, 2011, (2): 12-17.
- [13] 孙燕萍, 彭浩, 凌霞, 等. VITEK2 Compact 全自动微生物分析系统的应用及鉴定结果分析[J]. 现代预防医学, 2010, 37(20): 3891-3893, 3900.
Sun YP, Peng H, Ling X, *et al.* Application of VITEK 2 Compact automatic microbial analysis system and its identification results analysis [J]. Mod Prev Med, 2010, 37(20): 3891-3893, 3900.
- [14] 邓晓丽, 许航, 遇婷, 杜邦 BAXQ7 在食品检测中应用效果的验证[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(7): 956-957, 964.
Deng XL, Xu H, Yu T. Test of DuPont BAXQ7 application effect in food detection [J]. Chin J Health Lab Technol, 2014, 24(7): 956-957, 964.
- [15] 萨仁高娃, 胡文忠, 姜爱丽, 等. 产单核细胞增生性李斯特氏菌致病机制的研究进展[J]. 食品工业科技, 2013, 34(1): 372-376.
Sa-Ren GW, Hu WZ, Jiang AL, *et al.* Research progress of pathogenic mechanism of *Listeria monocytogenes* [J]. Sci Technol Food Ind, 2013, 34(1): 372-376.
- [16] 陈信忠, 龚艳清, 郭书林. MALDI-TOF-MS 在病原微生物鉴定中的研究进展[J]. 生物技术通报, 2012, 6: 43-48.
Chen XZ, Gong YQ, Guo SL. Progress in application of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in identification of pathogenic microorganism [J]. Biotechnol Bull, 2012, 6: 43-48.
- [17] 郎燕玲, 林仁权, 胡文兰. 参加 CNAS T0367 奶粉的营养成分和微生物检测能力验证结果分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(9): 1893-1894.
Lang YL, Lin RQ, Hu WL. Proficiency testing results and analysis of nutrients and microorganisms in milk powder in CNAS T0367 [J]. Chin J Health Lab Technol, 2008, 18(9): 1893-1894.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介

陈学强, 硕士, 工程师, 主要研究方向
食品微生物检验。
E-mail: 458552387@qq.com

刘 阳, 硕士, 工程师, 主要研究方向
食品微生物检验。
E-mail: 403572076@qq.com