

Mini-VIDAS 法和国标法检测单增李斯特菌的效果比较

马 晨*

(中国热带农业科学院分析测试中心, 海南省热带果蔬产品质量安全重点实验室, 海口 571101)

摘要: **目的** 比较两类方法检测单增李斯特菌的特异性、灵敏度和抗干扰性, 并研究添加成分和样品基质对检测效果的影响。 **方法** 选取单增李斯特菌(CICC 21633/ATCC 19111)、斯氏李斯特菌(CICC 21671)、伊氏李斯特菌(CICC 21663/ATCC19119)和英诺克李斯特菌(CICC 10417/ATCC 33090)为试验对象, 采用国标法和 mini-VIDAS 法为试验方法。 **结果** 两种检测方法的特异性较好, 均能区分李斯特菌属和非李斯特菌属。国标法和 mini-VIDAS 法的灵敏度分别为 $10^4 \sim 10^5$ cfu/mL 和 10^5 cfu/mL; 同时, 国标法的抗干扰性稍强, $1/10^4$ 混合干扰菌液可检出目标菌。添加次氯酸钠后两种方法对目标菌的检出都受到影响。添加成分对单增李斯特菌生长的抑制作用符合乙醇<苯甲酸钠<十三香料<凉拌菜料<次氯酸钠。当基质中单增李斯特菌污染水平较低并且背景微生物数量高时, 目标菌的检测结果受基质严重干扰。不同增菌液对单增李斯特菌的增菌效果为 Fraser 肉汤>LB₂>FB₂。 **结论** mini-VIDAS 法和国标法对单增李斯特菌的检测性能基本相当。采用国标法时需考虑微生物污染背景、添加成分等样品基质特性, 以提高目标菌的检出率。mini-VIDAS 法可作为初筛的良好工具。

关键词: 单增李斯特菌; mini-VIDAS; 添加成分; 样品基质

Performance comparison of mini-VIDAS and Chinese national standard method for detection of *Listeria monocytogenes*

MA Chen*

(Hainan Provincial Key Laboratory of Quality and Safety for Tropical Fruits and Vegetables, Analysis and Testing Center Chinese Academy of Tropical Agriculture Science, Haikou 571101, China)

ABSTRACT: Objective The examination effect of *Listeria monocytogenes* with two methods were compared in the aspects of specificity, sensitivity and anti-interference. Effects of additives and sample matrix on the detection results were also studied. **Methods** *Listeria monocytogenes* (CICC 21633/ATCC 19111), *L. seeligeri* (CICC 21671), *L. ivanovii* (CICC 21663/ATCC19119) and *L. innocua* (CICC 10417/ATCC 33090) were used. Chinese national standard (GB) and mini-VIDAS method were utilized to test the *Listeria monocytogenes* in samples. **Results** The methods of mini-VIDAS and GB both had high specificity. The sensitivity was $10^4 \sim 10^5$ cfu/mL for GB method and 10^5 cfu/mL for mini-VIDAS. GB method had a higher anti-interference than mini-VIDAS method. Among the tested additives, only sodium hypochlorite had an

基金项目: 海南省自然科学基金(20153163)、中国热带农业科学院院本级基本科研业务费专项资金(1630052014010)

Fund: Supported by the Natural Science Foundation of Hainan Province (20153163) and the Fundamental Scientific Research Funds for Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences (1630052014010)

*通讯作者: 马晨, 助理研究员, 主要研究方向为食品和环境微生物。E-mail: mc19860112@163.com

*Corresponding author: MA Chen, Assistant Research Fellow, Analysis and Testing Center Chinese Academy of Tropical Agriculture Science, Haikou 571101, China. E-mail: mc19860112@163.com

impact on the detection results. Inhibition percent of additives on *L. monocytogenes* growth followed the order: ethanol<sodium benzoate<traditional spicy condiment (*Shisanxiang*)<vegetable salad condiment<sodium hypochlorite. When there were high bacterial background and small infective dose of *L. monocytogenes* in sample matrix, the detection results were interfered intensively. Effect of 3 enrichment medium for *L. monocytogenes* followed the order: Fraser broth>LB₂>FB₂. **Conclusion** The detective characteristics of mini-VIDAS and GB methods are relatively similar. When using the GB method to detect *L. monocytogenes*, the characteristics of sample matrix should be paid more attention on, such as bacterial number and food additives. Additionally, mini-VIDAS is a good tool for pre-detection of the *Listeria monocytogenes*.

KEY WORDS: *Listeria monocytogenes*; mini-VIDAS; additives; sample matrix

1 引 言

单核细胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)是一种食源性致病菌,在自然界分布广泛。食源性传播(如禽畜肉及肉制品、蔬菜、奶及奶制品、水产品等)是引起人类感染的主要途径^[1,2]。该菌致病性强,致死率高达 20%~30%^[3]。另外,单增李斯特菌适应力强,4℃仍可生长,因而对冷鲜冷藏食品等食用安全构成重大威胁^[4,5]。近年来,国内外多次发生由单增李斯特菌引起的食源性疾病的爆发并造成部分患者的死亡^[6,7]。因此,单增李斯特菌引起世界各国的高度关注。2000 年被 WHO 食品安全工作计划列为重点检测的食源性致病菌之一^[8]。我国居民的饮食结构中,即食食品所占比例越来越多,并且成为单增李斯特菌的重要污染源^[4]。所以单增李斯特菌的潜在危险性越来越突出,加大对该菌的检测显得尤为重要。

法国梅里埃公司开发的 mini-VIDAS 是一种全自动的酶联荧光免疫分析系统,用它来检测 *L. monocytogenes* 操作简便,效果明显,大大缩短了检测周期^[7]。当样品数量大时,可作为快速初筛的工具,是传统检测方法的有利补充。其原理是将两步的免疫夹心法与最后的荧光检测相结合,用已知抗体来捕捉目标生物体,然后与带荧光的酶联抗体再次结合,经充分冲洗,通过激发光源检测,即能自动读出发光的阳性标本。二抗连接的碱性磷酸酶将底物水解,产生荧光物质。根据测定荧光的强度,与设定的阈值进行比较,若高于阈值则判断结果为阳性,若低于阈值则判断结果为阴性^[9,10]。整个反应过程由 VIDAS 全自动荧光酶免疫分析仪自动完成。由于 *L. monocytogenes* 抗原复杂,容易产生假阳性,mini-VIDAS 检出的阳性样品必须通过国标法鉴定。国标法虽然操作较复杂,时间耗时长,但仍是目前公认最准确的方法。所以,mini-VIDAS

法快速筛选并联合国标法可能是检测 *L. monocytogenes* 的优选方法。另外,在实际检测时,食品或环境样品中的干扰因素多样,可能影响 *L. monocytogenes* 的检出率。目前,关于样品基质、食品/环境添加成分等对 *L. monocytogenes* 检出影响的研究较少^[4]。

基于此,本实验采用 mini-VIDAS 法和国标法,比较两者对单增李斯特菌的检测效果。另外,研究添加成分(防腐剂和调味料)和样品基质(食品基质和环境基质)对检测效果的影响,以评价不同方法检测单增李斯特菌的优缺点。

2 材料与方 法

2.1 材 料

2.1.1 菌株及试剂

单增李斯特菌(*Listeria monocytogenes* CICC 21633/ATCC 19111)、斯氏李斯特菌(CICC 21671)、伊氏李斯特菌(CICC 21663/ATCC19119)和英诺克李斯特菌(CICC 10417/ATCC 33090)购自中国工业微生物菌种保藏管理中心和广东微生物研究所菌种保藏中心。大肠杆菌和假单胞菌均为实验室分离菌株。国标法中培养基均购自北京陆桥技术有限公司。mini-VIDAS 单核细胞增多李斯特菌 II(LMO2)购自生物梅里埃公司。添加成分包括食品防腐剂苯甲酸钠(分析纯)、次氯酸钠(分析纯)、乙醇、凉拌菜调味料和十三香调味料。

2.1.2 样品基质

样品基质包括食品基质和环境基质。食品基质包括生猪肉、生鱼肉、混合果蔬、火腿肠和鸡蛋;购自市场的生猪肉、生鱼肉、混合果蔬(黄瓜、西红柿和生菜;菠萝、火龙果、杨桃、莲雾),自来水清洗干净后,匀浆,冷藏保存。火腿肠购自海口市大润发超市。环境基质包括自来水和菜地土壤。

2.2 试验方法

2.2.1 特异性、灵敏度和抗干扰性检测

以单增李斯特菌、斯氏李斯特菌、伊氏李斯特菌和英诺克李斯特菌、大肠杆菌和恶臭假单胞菌 5 株菌株为实验对象, 30 °C 过夜培养, 稀释菌液到 10⁶ cfu/mL, 分别采用两种方法检测五份菌液, 研究各种方法的特异性^[9,11]。

以单增李斯特菌为试验菌株, 脑心浸出液体培养基(BHI)30 °C, 培养 18~24 h, 用麦氏浊度仪校正至 2.5~3.0 麦氏单位(相当于 2.0~2.8×10⁸ cfu/mL)。无菌生理盐水梯度稀释, 制成不同稀释度菌液(10⁰~10⁷ cfu/mL)。分别采用两种方法检测混合样品, 以确定方法的灵敏度^[9,11]。

以单增李斯特菌为目标菌株, 大肠杆菌和假单胞菌为混合干扰菌液, 分别制成 1/10、1/10²、1/10³、1/10⁴、1/10⁵、1/10⁶ 李斯特菌/混合干扰菌液, 采用两种方法检测混合样品, 确定方法的抗干扰性^[12,13]。

2.2.2 添加成分对检测效果的影响

以单增李斯特菌为试验菌株, 制备 10⁵ cfu/mL 和 10⁶ cfu/mL 菌液, 分别添加浓度为 0.5 g/L 和 1.0 g/L 的苯甲酸钠、次氯酸钠、凉拌菜调味料和十三香调味料以及 75%乙醇, 采用两种方法检测目标菌, 研究添加成分对检测效果的影响。根据 mini-VIDAS 中不同处理的检测值, 计算添加成分对单增李斯特菌的生长抑制率如下:

$$A(\%) = [(T_0 - T_1) / T_0] \times 100\%$$

T₀表示非添加成分处理的检测值; T₁表示添加成分处理的检测值; 检测值是样品相对荧光值与标准溶液相对荧光值的比值^[9,11]。

2.2.3 样品基质对检测效果的影响

称取样品基质猪肉糜、鱼肉糜、混合果蔬、鸡蛋、火腿肠和土壤各 10 g (或量取 10 mL 水样), 人工添加 0.6 mL 10⁰~10³ cfu/mL 稀释菌液, 分别采用 LB₁/LB₂^[14], Half-Fraser 肉汤/FB₂ 以及 Half-Fraser/Fraser

肉汤进行增菌, 三种增菌液均采用国标法和 mini-VIDAS 法检测目标菌。采用平板计数法统计不同样品基质增菌液中单增李斯特菌的数量

3 结果与讨论

3.1 方法特异性、灵敏度和抗干扰性检测

利用三株李斯特菌和两株干扰菌(大肠杆菌和假单胞菌)研究两种检测方法的特异性, 结果见表 1。mini-VIDAS 法的特异性较好, 只能检出单增李斯特菌, 其它两株李斯特菌、大肠杆菌和假单胞菌的检出结果均为阴性。国标法中, 选择性培养基可明显区分李斯特菌属和非李斯特菌属(大肠杆菌和假单胞菌), 但是李斯特菌属内不同种的分辨效果不好。单增李斯特菌在显色培养基上呈蓝色, 周围有不透明晕圈。但是当配制显色培养基时, 添加成分加入到基础培养基的温度过高或者显色培养基保存时间过长, 都可能造成培养后的目标菌落周围的晕圈不明显^[15]。另外两株李斯特菌的形态相似, 必须通过 VITEK 生化鉴定才可区分。所以, VIDAS-VITEK 联用可以排除试验结果的假阳性^[16]。

以单增李斯特菌为实验对象, 研究两种检测方法的灵敏度, 结果见表 2。国标法中采用两种选择性培养基 PALCAM 琼脂和显色培养基。PALCAM 琼脂灵敏度较高, 10⁴ cfu/mL 菌液检测结果为阳性, 显色培养基的灵敏度稍低, 只能检测到 10⁵ cfu/mL。所以, 国标法检测单增李斯特菌的灵敏度为 10⁴~10⁵ cfu/mL。选择性强的培养基, 灵敏度较低; 选择性较差的培养基, 灵敏度较高^[17]。mini-VIDAS 法的检测灵敏度为 10⁵ cfu/mL, 与国标法基本相当。

两种方法的抗干扰能力见表 3。结果表明, 国标法的抗干扰性稍高于 mini-VIDAS 法。当单增李斯特菌和混合干扰菌的比例达到 1/10⁴ 时, 国标法仍可以区分出目标菌, 但是 mini-VIDAS 法的检测结果为阴性。

表 1 不同检测方法特异性
Table 1 Comparison of specificity of two methods

检测方法	单增李斯特氏菌	英诺克李斯特氏菌	伊氏李斯特氏菌	大肠杆菌	恶臭假单胞菌
国标法	+	+/-	+/-	-	-
mini-VIDAS 法	+	-	-	-	-

注:“-”表示未检测到, 结果为阴性;“+”表示可检测到, 结果为阳性;“+/-”表示需要附加试验确认

表 2 不同检测方法灵敏度比较
Table 2 Comparison of sensitivity of two methods

检测方法	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
国标法	-	+/-	+	+
mini-VIDAS 法	-	-	+	+

注:“-”表示未检测到,结果为阴性;“+”表示可检测到,结果为阳性

表 3 不同检测方法抗干扰性比较

Table 3 Comparison of anti-interference of two methods

检测 方法	单增李斯特菌/混合菌					
	1/10	1/10 ²	1/10 ³	1/10 ⁴	1/10 ⁵	1/10 ⁶
国标法	+	+	+	+	-	-
mini-VIDAS 法	+	+	+	-	-	-

注:“-”表示未检测到,结果为阴性;“+”表示可检测到,结果为阳性

3.2 添加成分对单增李斯特菌检出的影响

选取苯甲酸钠、次氯酸钠、凉拌菜调味料和十三香调味料制成 0.5 g/L 和 1.0 g/L 水溶液以及 75% 乙醇,研究其对两种方法检测效果的影响,结果见表 4。试验结果表明,添加成分对两个稀释度菌液的检出结果相同,菌液浓度不影响添加成分对单增李斯特菌的检出结果。国标法和 mini-VIDAS 法的检测结果受添加成分的影响规律相似,只有添加次氯酸钠处理的检测结果为阴性,其他处理均可检出目标菌。根据不同处理在 mini-VIDAS 仪上的相对荧光值检测值,不同添加成分对单增李斯特菌生长的影响程度见图 1。0.5 g/L 添加成分对菌株生长的抑制率为乙醇(0.1%)<苯甲酸钠(6.8%)<十三香料(26.5%)<凉拌菜料(46.0%)<次氯酸钠(98.3%)。1.0 g/L 添加成分对菌株生长的抑制率为乙醇(0.5%)<苯甲酸钠(35.7%)<十三香料(37.0%)<凉拌菜料(45.6%)<次氯酸钠(100%)。所以,添加成分对单增李斯特菌生长的抑制作用符合乙醇<苯甲

酸钠<十三香料<凉拌菜料<次氯酸钠。差异性分析结果表明($P<0.01$),不同处理间差异性显著,苯甲酸钠处理不同浓度间差异性显著,其他处理不同浓度间差异性不显著。

3.3 样品基质对单增李斯特菌检出的影响

选用猪肉糜、鱼肉糜、鸡蛋、混合果蔬、火腿肠、菜地土壤和自来水为样品基质,各种基质的菌落总数如表 5 所示。几类样品基质具有不同的微生物污染背景,菌落总数大小为菜地土壤>猪肉糜>鱼肉糜>鸡蛋>混合果蔬>火腿肠>自来水。样品基质中的背景微生物在选择性培养基 PALCAM 琼脂和显色培养基上基本不生长,只有土壤中少数菌落生长。

对单增李斯特菌低添加浓度的样品基质的检出结果如表 6 所示(添加浓度为 10⁰-10¹ cfu/mL)。LB₂ 和 FB₂ 增菌液中只有混合果蔬和自来水样品的检测结果为阳性,其他样品的检测结果均为阴性。以纯菌为对照,经两种增菌液增菌培养后,国标法和 mini-VIDAS 法均可以检出目标菌。所以增菌液本身不存在问题。统计不同基质 LB₂ 和 FB₂ 增菌液中单增李斯特菌的数量,结果表明,纯菌、混合果蔬和自来水增菌后的单增李斯特菌菌数约为 1.1×10⁷ cfu/mL、4.0×10⁶ cfu/mL 和 8.1×10⁶ cfu/mL,其他基质中的单增李斯特菌数量均小于 10⁴ cfu/mL,均低于两种方法的检测灵敏度。此结果与表 6 结果相符。除了菜地土壤外,其他基质在显色培养基上均未见明显菌落,但是基质增菌液在营养琼脂上有大量菌落生长。所以,基质中的背景微生物可能大量繁殖,与添加的微量单增李斯特菌产生激烈的竞争性生长,导致增菌液中目标菌的数量达不到方法的检出范围。当采用 Half-Fraser 肉汤和 Fraser 肉汤作为增菌液后,mini-VIDAS 法和国标法的检出结果明显提高(表 6),火腿肠和鸡蛋样品均有检出。所以,Fraser 肉汤的增菌效果优于 LB₂ 和 FB₂。

表 4 不同添加成分对检测结果的影响

Table 4 Effects of different additions on the detection of *Listeria monocytogenes*

检测方法	苯甲酸钠		凉拌菜料		次氯酸钠		十三香料		乙醇	
	0.5 g/L	1.0 g/L								
国标法	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
mini-VIDAS 法	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+

注:“-”表示未检测到,结果为阴性;“+”表示可检测到,结果为阳性

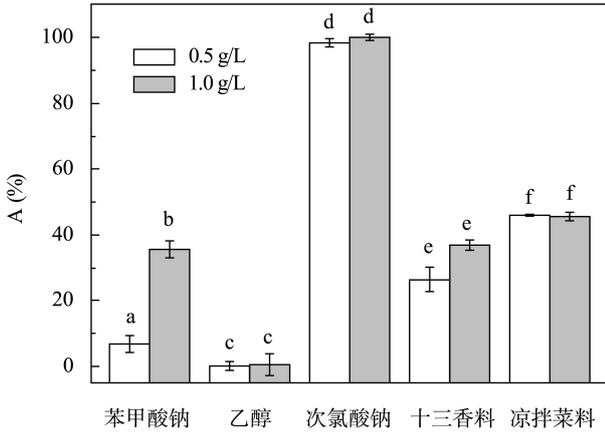


图 1 添加成分对单核李斯特菌生长的抑制作用

Fig. 1 Inhibition of additives on *Listeria monocytogenes* growth

表 5 不同食品基质菌落总数
Table 5 Total bacterial number in matrix

食品基质	菌落总数(cfu/g)
菜地土壤	>10 ⁸
猪肉糜	4~6×10 ⁵
鱼肉糜	5~7×10 ⁴
鸡蛋	3~5×10 ⁴
混合果蔬	4~6×10 ³
火腿肠	<10 ³
自来水	<10 ²

当添加高浓度单增李斯特菌时(10²~10³ cfu/mL), 较低微生物污染背景的基质中目标菌的检出结果为

阳性(自来水、火腿肠、混合果蔬、鸡蛋、鱼肉和猪肉), 土壤中目标菌的检测结果仍为阴性。经选择性增菌后, 添加 10² cfu/mL 菌液的样品基质中单增李斯特菌的数量见表 7。不同基质中单增李斯特菌的数量符合自来水>火腿肠>混合果蔬>鸡蛋~鱼肉>猪肉。与基质中背景微生物的数量呈反比。不同增菌液中单增李斯特菌数量符合 Fraser 肉汤>LB₂>FB₂, 所以增菌液对单增李斯特菌的增菌效果为 Fraser 肉汤>LB₂>FB₂。林赛君的试验结果表明^[11], 当单增李斯特菌污染剂量较低时(10¹ cfu/mL), 高微生物污染背景的基质干扰国标法和 mini-VIDAS 法对目标菌的检出; 当单增李斯特菌污染剂量较高时(10² cfu/mL), 检测结果基本不受基质影响。本实验与其结果相似。

4 结 论

检测方法性能研究表明: 两种检测方法对单增李斯特菌检测的特异性较好。选择不同的试剂盒, mini-VIDAS 法可以区分李斯特菌属的不同种。国标法对李斯特菌属内不同种的分辨效果不好, 需借助 VITEK 试验确定。国标法检测单增李斯特菌的灵敏度为 10⁴~10⁵ cfu/mL。mini-VIDAS 法的检测灵敏度为 10⁵ cfu/mL, 与国标法基本相当。国标法的抗干扰性稍强, 1/10⁴ 混合干扰菌液中国标法仍可检测出目标菌。所以, 从方法的性能上看, 国标法和 mini-VIDAS 法对单增李斯特菌的检测效果基本相当。但是从时效性考虑, mini-VIDAS 法大大缩短了检测时间, 当存在大量待测样品时, 可作为初筛的良好工具。

表 6 人工污染的基质中检出结果(低添加浓度 10⁰~10¹ cfu/mL)

Table 6 Detection results of *Listeria monocytogenes* in artificial contaminated samples (added low concentration 10⁰~10¹ cfu/mL)

检测方法	增菌液	纯菌	猪肉糜	鱼肉糜	混合果蔬	火腿肠	鸡蛋	土壤	自来水
国标法	LB ₂	+	-	-	+	-	-	-	++
	FB ₂	+	-	-	-	-	-	-	++
	Fraser	+	-	-	+	+	+	-	++
mini-VIDAS 法	LB ₂	+	-	-	+	-	-	-	++
	FB ₂	+	-	-	-	-	-	-	++
	Fraser	+	-	-	+	+	+	-	++

表 7 增菌后基质中单增李斯特菌数量(高添加浓度 10^2 cfu/mL)Table 7 Number of *Listeria monocytogenes* in matrix after selective enrichment (added high concentration 10^2 cfu/mL)

单增李斯特菌总数(单位: 10^7 CFU/mL)							
增菌液	纯菌	猪肉	鱼肉	混合果蔬	火腿肠	鸡蛋	自来水
LB ₂	12.0	2.0	3.2	5.2	5.8	3.5	7.0
FB ₂	9.0	1.2	2.0	2.5	3.4	2.3	4.2
Fraser	15.0	2.8	4.5	6.0	7.5	4.9	9.5

添加成分对单增李斯特菌检测效果的影响如下: 所试菌液浓度不影响添加成分对单增李斯特菌的检出结果(10^5 cfu/mL 和 10^6 cfu/mL)。所试添加成分中, 只有次氯酸钠影响目标菌的检出。根据不同处理在 mini-VIDAS 仪上的相对荧光值, 添加成分对单增李斯特菌生长的抑制作用符合乙醇<苯甲酸钠<十三香料<凉拌菜料<次氯酸钠。所以, 当检测加工食品或环境样品时, 适当加入添加成分中和剂是提高目标菌检出率的重要因素。

样品基质对单增李斯特菌检测效果的影响如下: 当基质中单增李斯特菌污染水平低时, 目标菌的检测结果受基质的影响大; 基质的背景微生物数量越高, 对目标菌的检测结果影响越大。不同增菌液对目标菌的增菌效果存在差异。对于单增李斯特菌来说, 选择性增菌效果符合 Fraser 肉汤>LB₂>FB₂。样品基质中单增李斯特菌数量与其背景微生物数量成反比。

因此, 综合以上结果, mini-VIDAS 法和国标法对单增李斯特菌的检测性能基本相当。但是从时效性考虑, mini-VIDAS 法大大缩短了检测时间, 当存在大量待测样品时, 可作为初筛的良好工具。但是其检测成本较高并存在假阳性现象, 阳性样品仍需要采用选择性培养基验证。所以, 国标法虽然耗时繁琐, 但仍是目前较通用且准确的方法。当采用国标法检测单增李斯特菌时, 需考虑样品基质本身的性质, 如微生物污染水平、添加成分等因素对检测效果的影响。并不断开发更有效的选择性增菌液和分离培养基, 以提高单增李斯特菌的检出率。

参考文献

- [1] Todd ECD, Notermans S. Surveillance of listeriosis and its causative pathogen, *Listeria monocytogenes* [J]. Food Control, 2011, 22(9): 1484-1490.
- [2] Meyer C, Fredriksson-Ahoma M, Kleta S, et al. Occurrence of *L. monocytogenes* in ready-to-eat poultry products available on the German market [J]. Food Res Int, 2012, 48(2): 944-947.
- [3] Lukinmaa S, Miettinen M, Nakari UM, et al. *Listeria monocytogenes* isolates from invasive infections: variation of sero- and genotypes during an 11-year period in Finland [J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(4): 1694-1700.
- [4] 周阳, 祝长青, 郭云昌, 等. 不同食品基质中单核细胞增生李斯特菌核酸提取方法的比较[J]. 食品与生物技术学报, 2013, 32(11): 1205-1211.
Zhou Y, Zhu CQ, Guo YC, et al. Comparasive study of nucleic acid extraction method of *L.monocytogenes* in the different kinds of food matrix [J]. J Food Sci Biotechnol, 2013, 32(11): 1205-1211.
- [5] 黄韵, 余以刚, 黄秀丽, 等. 单增李斯特菌非可培养状态的诱导与 PMA-qPCR 检测[J]. 食品工业科技, 2014, 35(1): 137-149.
Huang Y, Yu YG, Huang XL, et al. Induction and PMA-qPCR detection of *Listeria monocytogenes* in viable but non-culturable state [J]. Sci Technol Food Ind, 2014, 35(1):137-149.
- [6] Chen J, Zhang X, Mei L, et al. Prevalence of *Listeria* in Chinese food products from 13 provinces between 2000 and 2007 and virulence characterization of *Listeria monocytogenes* isolates [J]. Foodborne Pathog Dis, 2009, 6(1): 7-14.
- [7] 吕均, 郑华英. PCR 与 mini-VIDAS 相结合快速检测食品中单增李斯特菌[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(7): 1705-1706.
Lv J, Zheng HY. Combination use of PCR and mini-VIDAS in rapid detection of food for *Listeria monocytogenes* isolates [J], Chin J Health Lab Technol, 2010, 20(7): 1705-1706.
- [8] Ryser T, Elmer HM. Listeriosis and food safety[M]. Marcel Dekke Inc, 1991, 6(2):214-216.
- [9] 林涛, 兰敏, 黄伟, 等. 联用 VIDAS 法和 VITEK 法对食品中李斯特氏菌检验及分类[J]. 食品科技, 2008, 33(9): 236-239.
Lin T, Lan M, Huang W, et al. Detection and classification of *Listeria* species in foods by VIDAS-VITEK [J]. Food Sci

- Technol, 2008, 33(9): 236–239.
- [10] 王似锦, 高春. VIDAS 在保健食品沙门氏菌快速检测中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(2): 677–681.
Wang SJ, Gao C. Fast detection of *Salmonella* in health food by VIDAS method [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(2): 677–681.
- [11] 林赛君. 三种食源性致病菌酶联免疫荧光法的分析研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2007.
Lin SJ. The study of enzyme-linked fluorescence immunoassay for three food-borne pathogens [D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2007.
- [12] 刘佩红, 王建, 张苏华, 等. Mini-VIDAS、PCR 技术检测动物源性食品中沙门氏菌的应用研究[C]. 中国畜牧兽医学学会家畜传染病学分会第六届全国会员代表大会暨学术研讨会, 2005: 1099–1101.
Liu PH, Wang J, Zhang SH, *et al.* Application of mini-VIDAS and PCR to detect *Salmonella* in food of animal source[C]. the Sixth National Assembly and Symposium of Chinese Association Of Animal Science and Veterinary Medicine. 2005: 1099–1101
- [13] 黄宝莹, 余之蕴, 林耀文, 等. 四种方法检测食品中沙门氏菌的比较[J]. 食品工业科技, 2014, 35(15): 185–192.
Huang BY, Yu ZY, Lin YW, *et al.* Comparison of detection of *Salmonella* in food by four methods [J]. Sci Technol Food Ind, 2014, 35(15): 185–192.
- [14] GB 4789.4-2010 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菌检验[S]. 2010.
GB 4789.4-2010 National food safety standard food microbiological examination: *Listeria monocytogenes* [S]. 2010.
- [15] 陈慧燕, 洪程基, 李毅, 等. 食品中李斯特菌检测方法探讨及药敏结果分析[J]. 中国热带医学, 2005, 6(5): 770–772.
Chen HY, Hong CJ, Li Y, *et al.* The detection of *Listeria* in food and results of drug sensitivity test [J]. Chin Trop Med, 2005, 6(5): 770–772.
- [16] 林涛, 兰敏, 黄伟, 等. 荧光酶免疫分析仪-微生物鉴定仪在水产品沙门氏菌检测中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(8): 133–136.
Lin T, Lan M, Huang W, *et al.* Application on VIDAS-VITEK to detect *Salmonella* spp. in aquatic products [J]. Food Ferment Ind, 2008, 34(8): 133–136.
- [17] 范媛媛, 王树祥, 陈娜娜, 等. 5 种分离培养基对不同样品的分离效果比较[J]. 食品科技, 2011, 36(6): 35–39.
Fan Y, Wang SY, Chen NN, *et al.* Performance comparison of common culture media for isolation of *Salmonella* [J]. Food Sci Technol, 2011, 36(6): 35–39.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



马 晨, 助理研究员, 主要研究方向为食品和环境微生物。

E-mail: mc19860112@163.com