

食品中沙门氏菌快速检测技术研究进展

罗荣, 任秀, 崔生辉*

(中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要: 沙门氏菌的检验在食品微生物检验中具有十分重要的意义。本文主要针对基于免疫学的快速检测方法-酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、基于分子生物学的聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)、环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)和基于蛋白质的基质辅助激光解析电离飞行时间质谱法(matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)在食品中沙门氏菌快速检测的应用进行了分析与比较。基于3种不同原理的检测方法各有其优缺点, ELISA方法成本低, 操作简单但检出限高; PCR方法成本较高, 但检测快速、灵敏度高且检出限低; MALDI-TOF MS检出限低但需要完善的细菌库进行比对。因此建议将含内控的荧光定量PCR与LAMP法作为食品中检测沙门氏菌的主要方法。

关键词: 沙门氏菌; 酶联免疫吸附法; 聚合酶链反应; 环介导等温扩增; 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱

Research progress of rapid detection technique of *Salmonella* in food

LUO Rong, REN Xiu, CUI Sheng-Hui*

(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

ABSTRACT: Detection of *Salmonella* has an important significance in food microbiology inspection. The application of rapid methods for detection of *Salmonella* in food including immunological enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) based on immunology, polymerase chain reaction (PCR) and loop-mediated isothermal amplification (LAMP) based on molecular biology, and matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) based on protein were analyzed and compared. Test methods based on 3 different principles had both advantages and disadvantages. ELISA had low cost, simple operation but high detection limit; PCR had high cost, but rapid detection, high sensitivity and low detection limit; MALDI-TOF MS had low detection limit but need to improve the reservoir. Therefore, fluorescent quantitative PCR with internal amplification control (IAC) and LAMP method as the main methods for rapid detection of *Salmonella* in food were suggested.

KEY WORDS: *Salmonella*; enzyme-linked immunosorbent assay; polymerase chain reaction; loop-mediated isothermal amplification; matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry

1 引言

沙门氏菌(*Salmonella*)是一种革兰氏阴性肠杆菌,也是肠杆菌科中最主要的食源性致病菌,而蛋、家禽和肉类产品

是沙门氏菌的主要传播媒介^[1]。我国每年约有3亿人因沙门氏菌而患病,占病原菌食源性疾病总致病的70%~80%^[2]。人体感染沙门氏菌会导致胃肠炎、伤寒、副伤寒和败血症等严重疾病,会严重危害人民身体健康和生命安全^[3]。

*通讯作者: 崔生辉, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品微生物。E-mail: cuishenghui@aliyun.com

*Corresponding author: CUI Sheng-Hui, Professor, National Institutes for Food and Drug Control, No.2 Tiantan Xili, Beijing 100050, China. E-mail: cuishenghui@aliyun.com

目前,我国食品检测部门大多采用传统培养法检测食品样品,即根据 GB 4789.4-2010《食品微生物学检验 沙门氏菌检验》对样品进行前增菌、增菌、分离培养、生化试验及血清学试验来判断。虽然传统培养法可靠性高,但是它操作复杂、检测周期长,需要 4~7 d 才能确定结果,不能满足食品快速检测的要求。近年来,基于免疫学和分子生物学的沙门氏菌检测方法以其快速、准确、微量、可靠及灵敏等特点而得到了广泛的应用。本文针对基于免疫学的酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、基于分子生物学的聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)与环介导等温扩增法(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)及基于蛋白质的基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)在食品中沙门氏菌快速检测的应用进行了阐述分析,并指出了这些方法的不足和应对措施。

2 ELISA 在食品快速检测中的应用

ELISA 是一种将抗原-抗体特异性反应与酶的高效催化活性有机结合的一种生物应用技术^[4],其基本原理为:(1)抗原或抗体能物理性地吸附在固体载体表面,并保持其免疫学活性;(2)抗原或抗体可通过共价键与酶连接形成酶结合物,而此种酶结合物仍能保持其免疫学和酶学活性;(3)酶结合物与相应抗原或抗体结合后,根据加入底物的颜色反应的深浅与样品中相应抗原或抗体的量呈成正比^[5]。ELISA 技术主要包括双抗体夹心法、直接 ELISA 法、间接 ELISA 法、竞争 ELISA 法、斑点酶联免疫吸附法(Dot-ELISA)及 PCR-ELISA 法等。

20 世纪 70 年代初, Xu 等^[6]在放射免疫的基础上建立了酶免疫检测技术。Smith 等^[7]利用小鼠骨髓瘤蛋白质 M467 检测牛奶中沙门氏菌。Brigmon 等^[8]将 ELISA 用于猪肉、鸡皮和鸡蛋等食品中沙门氏菌的检测。黄金林等^[9]采用 ELISA 对 208 份虾仁、熟食、龙虾及鲜牛奶等样品进行沙门氏菌检测,同时采用 GB 4789.4-2010《食品微生物学检验 沙门氏菌检验》进行验证,其灵敏度和特异性分别为 100%和 97.3%。Wang 等^[10]利用鼠伤寒沙门氏菌的鞭毛蛋白的特异性建立了 ELISA 检测三明治中的鼠伤寒沙门氏菌的方法。现在市面上已经出现不同品牌的沙门氏菌 ELISA 检测试剂盒,其原理为^[11]:沙门氏菌的单克隆抗体被预包被在孔板中,样品中如存在沙门氏菌,将与抗体结合;随之加入酶标二抗,与已结合固定下来的沙门氏菌反应,加入底物后显色,其颜色深浅与沙门氏菌含量相关。ELISA 方法的优点是成本低、高通量、快速,通常大约 3 h 即可完成检测。

3 基于分子生物学的检测方法在食品快速检测中的应用

基于分子生物学的沙门氏菌检测方法包括普通 PCR、

荧光定量 PCR(quantitative fluorogenic real-time PCR)和 LAMP 等,具有快速、简便等特点,已被广泛用于食品中沙门氏菌的检测。

3.1 常规 PCR

根据沙门氏菌不同的靶基因,如靶基因 *invA*、*invE*、*hns*、*hut*、*sipB*、*sipC* 和 *stn* 等,设计沙门氏菌特异性引物,用以扩增沙门氏菌特异性 DNA 片段。

Rahn 等^[12]根据自行设计的引物,得到扩增产物长度为 284 bp 的沙门氏菌 *invA* 基因 DNA 片段。通过对 100 多种不同血清型的 630 株沙门氏菌进行检测,除 2 株 *S. litchfield* 和 2 株 *S. senftenberg* 外,其他 626 株都扩增出 284 bp 的特异性条带;并对 21 种非沙门氏菌进行检测,均未出现沙门氏菌特异性条带。刘胜贵等^[13]根据自行设计的引物,得到 662 bp 沙门氏菌 *phoP* 基因的特异性 DNA 片段,已知被沙门氏菌污染的样品均检测出特异性条带,而未知样品中有 2 个样品被检测出沙门氏菌污染。

PCR 方法检测沙门氏菌灵敏度高、特异性强且结果分析简单,但操作过程容易出现污染导致假阳性或者假阴性^[14]。在 PCR 的基础上产生了多重 PCR(multiplex PCR, *m*-PCR),即用多个沙门氏菌特异性基因检测食品样品是否被沙门氏菌污染。Malkawi 等^[15]用三重 PCR 检测 300 个食品样品中肠炎沙门氏菌,结果表明三重 PCR 检测结果比传统培养法灵敏度更高。

3.2 荧光定量 PCR

荧光定量 PCR 是 1996 年由美国 Applied Biosystems 公司推出的一种新定量试验技术,它是通过荧光染料或荧光标记的特异性的探针,对 PCR 产物进行标记跟踪,实时在线监控反应过程,结合相应的软件可以对产物进行分析,计算待测样品模板的初始浓度。根据所用技术的不同,可以分为 Taqman 荧光定量 PCR 和 SYBR Green 荧光定量 PCR。

Cheng 等^[16]利用设计的引物和 Taqman 探针检测了沙门氏菌 *invA* 的 262 bp 基因片段;美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)的西南太平洋实验室也利用此引物和探针在几个实验室开展了食品中沙门氏菌检测的验证^[17],对 145 种不同血清型的 328 株沙门氏菌和 56 种非沙门氏菌进行特异性和灵敏度检测,同时也对 420 份不同基质的食品样本进行了检测,检测结果表明此荧光定量 PCR 结果与按照传统细菌学分析手册检测(Bacteriological Analytical Manual, BAM)的结果一致性达 100%,这表明 Taqman 荧光定量 PCR 方法的特异性、敏感性能满足检测要求。Dario 等^[18]用 SYBR Green 荧光定量 PCR 技术检测了禽肉中肠炎沙门氏菌,检出限低于 10^3 CFU/mL,表明 SYBR Green 荧光定量 PCR 技术可用于沙门氏菌检测。荧光定量 PCR 还可以实现一管多检,选择多通道,检测多个目标项目^[19-22]。荧光定量 PCR 的在食源性致病菌检测中发挥着重大的优势,也成为日常重要的检测方法。

但通常的荧光定量 PCR 对于检测食品基质的样本可能出现假阴性,原因可能是食品基质复杂^[23,24],提取的沙门氏菌模板中含有抑制 PCR 扩增的成分,但可以通过构建内控质粒的模板,分别用 2 个探针来检测目的菌株和内控质粒,从而确认检测结果的准确性^[25-28]。Malorny 等^[25]建立含内控的实时荧光定量 PCR 法,并用 38 种不同血清型共 110 株沙门氏菌和 87 株非沙门氏菌对此方法进行评价,同时选择 110 份食品样本进行检测,结果与传统培养法结果一致。Hyeon 等^[27]建立含内控的双重荧光 PCR 方法,可同时检测沙门氏菌和阪崎肠杆菌,又可利用内控避免假阴性结果出现。2012 年此方法作为 FDA 婴幼儿配方奶粉中阪崎肠杆菌筛选和菌鉴定的官方标准方法^[29]。

3.3 LAMP

LAMP 是 2000 年 Notomi 等^[30]研究者开发的一种新的恒温核酸扩增方法,其特点是针对靶基因的 6 个区域设计 4 种特异引物,利用一种链置换 DNA 聚合酶在等温条件 60~65 °C 扩增 60 min,即可完成核酸扩增反应。

Hara-Kudo 等^[31]对 227 株不同血清型沙门氏菌和 23 种非沙门氏菌分别用 LAMP 方法及 PCR 方法进行检测,两种方法的检测结果一致;并对 9 株不同血清型沙门氏菌分别用 LAMP 方法和 PCR 方法进行灵敏度检测,检测结果表明 LAMP 方法检测灵敏度优于 PCR 方法,检出限为 2.2 CFU/管;同时选择肠炎沙门氏菌作为人工污染蛋液,试验结果也表明 LAMP 方法检测灵敏度优于 PCR 方法,检出限为 2.8 CFU/反应管。Ohtsuka 等^[32]对自然条件下被沙门氏菌污染的蛋液同时用 LAMP 法、PCR 法和传统培养法进行检测,结果表明 LAMP 法和传统培养检测结果一致,而 PCR 法检出率比其他 2 种方法低。

与常规 PCR 相比,LAMP 方法不需要模板的热变性、温度循环、电泳及紫外等过程,而是经等温条件 60~65 °C 扩增后会产生大量 PCR 产物和焦磷酸镁白色沉淀^[33],此沉淀可直接用肉眼观察;或在反应体系中加入染料,根据颜色的变化进行检测;还可以利用浊度仪,根据扩增产物混浊度的不同对原始核酸分子进行实时定量分析。

LAMP 方法具有简单、快速、特异性强及灵敏度高等特点,其灵敏度、特异性和检测范围等^[22, 34-36]指标均优于 PCR 技术,不依赖专门的仪器设备就可实现现场高通量快速检测,检测成本远低于荧光定量 PCR。

4 基于蛋白质的检测方法在食品快速检测中的应用

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)是近年来发展起来的新技术,它是通过对多肽和蛋白质的分析来检测鉴定微生物,其原理是将微生物样品和基质分别点加在样品板上,试剂挥发后形成样品和基质的共结晶;通过激光轰击,基质从激光中吸收能量使样品解吸,

基质与样品之间发生电荷转移使得样品分子电离,经过飞行时间检测器,采集数据并获得图谱,从而通过软件分析得到鉴定结果^[37]。

Sparbier 等^[38]建立了 MALDI-TOF MS 检测沙门氏菌的方法,并对 4847 个样品进行沙门氏菌检测,分离出 108 个阳性样品,其中 66 个样品是划线在 Hertoen 琼脂平板上检测单个菌落,其中 34 个样品检测选择增菌肉汤,即 MALDI-TOF MS 可检测出沙门氏菌。战晓微等^[39]也建立了利用 MALDI-TOF MS 对食品中沙门氏菌的快速检测方法,并与 BD 公司的全自动生化检测仪检测方法进行比较,结果表明 2 种方法的鉴定结果一致。目前, MALDI-TOF MS 已在微生物检测中得到广泛应用^[40-47]。MALDI-TOF MS 检测方法优点在于操作简单,且检测时间短,准确率高^[48,49]。

5 讨论

5.1 目前沙门氏菌检测存在的问题

目前对食品中沙门氏菌检测大多采用细菌分离、生化鉴定和血清分型等方法,此方法工作量大,费时费力,而有些肠杆菌的生化反应比较相近,较难分辨不同的肠杆菌。免疫学方法与传统方法相比,具有操作简单、周期短等特点,但也有不足,如制备抗体较困难、不能同时检测多种成分,对实验人员技巧性要求高,易出现交叉污染且检出限较高(需达到 10^6 CFU/mL)^[50]等。分子生物学方法具有高灵敏度、准确、快速等优点,但需要专门仪器设备,易污染,对检验人员要求较高。蛋白多肽检测方法快速、简便,但需要建立完善的细菌库。

5.2 应对措施

食品中沙门氏菌检测可选择含有内控的荧光定量 PCR 方法,不仅可以克服常规 PCR 和普通荧光定量 PCR 的缺点,且具有操作简单、定量准确性高等优点;也可选择 LAMP 法检测食品中沙门氏菌,此方法具有对实验仪器要求低,灵敏度高且易操作等特点。在建立了完善的细菌库的情况下, MALDI-TOF MS 将会是适合的检测方法。

参考文献

- [1] Yang Q. Evaluation of loop-mediated isothermal amplification for the rapid, reliable, and robust detection of *Salmonella* in produce [J]. Food Microbiol, 2015, 46: 485-493.
- [2] World Health Organization. WHO/ CDS/ 2000 Overcoming antimicrobial resistance [Z].
- [3] 王巍, 闫磊, 曾庆祝. 沙门氏菌的检验技术与方法[J]. 现代食品科技, 2007, 23(5): 82-85.
Wang C, Yan L, Ceng QZ. Detection technologies and methods of *Salmonella* [J]. Mod Food Sci Technol, 2007, 23(5): 82-85.
- [4] 李玉珍, 林亲录, 肖怀秋. 酶联免疫吸附技术及其在食品安全检测中的应用研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2006, (3): 108-110.
Li YZ, Lin QL, Xiao HQ. Enzyme-linked immunosorbent assay and study

- advance of ELISA in food safety detections [J]. *China Food Addit*, 2006, (3): 108–110.
- [5] 张也, 刘以祥. 酶联免疫技术与食品安全快速检测[J]. *食品科学*, 2003, 24(8): 201–204.
Zhang Y, Liu YX. Enzyme-linked immune technology and the rapid detection of food safety [J]. *Food Sci*, 2003, 24(8): 201–204.
- [6] 徐亚辉. 免疫学检验现状与发展[J]. *现代中西医结合杂志*, 2005, 14(19): 2609–2611.
Xu YH. Immunology test present situation and the development [J]. *Mod J Integ Tradit Chin West Med*, 2005, 14(19): 2609–2611.
- [7] Smith A M, Jones C. Use of murine myeloma protein *M467* for detecting *Salmonella* spp. in milk [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1983, 46(4): 826–831.
- [8] Brigmon RL., Zam SG Wilson. Detection of *Salmonella* enteritidis in eggs and chicken with enzyme-linked immunosorbent assay [J]. *Poult Sci*, 1995, 74(7): 1232–1236.
- [9] 黄金林, 焦新安, 文其乙, 等. 直接 ELISA 和 PCR 相结合快速检测样品中的沙门氏菌[J]. *中国人兽共患病杂志*, 2004, 20(4): 321–327.
Huang JL, Jiao XN, Wen QY, et al. Combination of direct ELISA and PCR for rapid detection of *Salmonella* [J]. *Chin J Zoonoses*, 2004, 20(4): 321–327.
- [10] Wang W. A highly sensitive ELISA and immuno chromatographic strip for the detection of *Salmonella typhimurium* in milk samples [J]. *Sensors (Basel)*, 2015, 15(3): 5281–5292.
- [11] Kumar R, Surendran PK, Thampuran N. Evaluation of culture, ELISA and PCR assays for the detection of *Salmonella* in seafood [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2008, 46(2): 221–226.
- [12] Rahn K. Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella* [J]. *Mol Cell Probes*, 1992, 6(4): 271–279.
- [13] 刘胜贵, 魏麟. 应用 PCR 技术检测猪肉中沙门氏菌的研究[J]. *食品科学*, 2007, 28(03): 254–256.
Liu SG, Wei L. Study on detection of *Salmonella* in Pork by polymerase chain reaction [J]. *Food Sci*, 2007, 28(03): 254–256.
- [14] Amavisit P. Rapid PCR detection of *Salmonella* in horse faecal samples [J]. *Vet Microbiol*, 2001, 79(1): 63–74.
- [15] Malkawi HI. Gharaibeh. Multiplex PCR for the direct detection of *Salmonella enterica* from chicken, lamb and beef food products [J]. *J Basic Microbiol*, 2003, 43(4): 328–336.
- [16] Cheng CM. Rapid detection of *Salmonella* in foods using real-time PCR [J]. *J Food Prot*, 2008, 71(12): 2436–2441.
- [17] Cheng CM. Interlaboratory validation of a real-time PCR 24-hour rapid method for detection of *Salmonella* in foods [J]. *J Food Prot*, 2009, 72(5): 945–951.
- [18] De Medici D. Evaluation of DNA extraction methods for use in combination with SYBR green I real-time PCR to detect *Salmonella enterica* serotype enteritidis in poultry [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2003, 69(6): 3456–3461.
- [19] N Jothikumar. Real-time multiplex SYBR green I-based PCR assay for simultaneous detection of *Salmonella* serovars and *Listeria monocytogenes* [J]. *J Food Prot*, 2003, 66(11): 2141–2145.
- [20] Elodie Barbau-Piednoir. SYBR(R)Green qPCR *Salmonella* detection system allowing discrimination at the genus, species and subspecies levels [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2013, 97(22): 9811–9824.
- [21] Singh P, A Mustapha. Multiplex taqMan(R) detection of pathogenic and multi-drug resistant *Salmonella* [J]. *Int J Food Microbiol*, 2013, 166(2): 213–218.
- [22] Fan FX. The development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification method for the rapid detection of salmonella enterica serovar typhi [J]. *PLOS One*, 2015, 10(4): 1–13.
- [23] McGuinness S. Development and validation of a rapid real-time PCR based method for the specific detection of *Salmonella* on fresh meat [J]. *Meat Sci*, 2009, 83(3): 555–562.
- [24] Badosa E. Evaluation of ISO enrichment real-time PCR methods with internal amplification control for detection of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* in fresh fruit and vegetables [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2009, 49(1): 105–111.
- [25] Malorny B. Diagnostic real-time PCR for detection of *Salmonella* in food [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70(12): 7046–7052.
- [26] Hu S. Rapid detection of *Cronobacter sakazakii* by real-time PCR based on the *cgcA* gene and TaqMan probe with internal amplification control [J]. *Can J Microbiol*, 2016, 62(3): 191–200.
- [27] Hyeon J.Y. Development of multiplex real-time PCR with internal amplification control for simultaneous detection of *Salmonella* and *Cronobacter* in powdered infant formula [J]. *Int J Food Microbiol*, 2010, 144(1): 177–181.
- [28] Dan, X. Establishment and evaluation of a real-time IAC-PCR for the detection of *Salmonella* [J]. *Acta Microbiol Sinica*, 2011, 51(8): 1119–1127.
- [29] Chen, Y. Evaluation of a revised U.S. Food and drug administration method for the detection and isolation of *Enterobacter sakazakii* in powdered infant formula: precollaborative study [J]. *J AOAC Int*, 2009, 92(3): 862–872.
- [30] Notomi, T. Loop-mediated isothermal amplification of DNA [J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(12): 63.
- [31] Hara-Kudo Y. Loop-mediated isothermal amplification for the rapid detection of *Salmonella* [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2005, 253(1): 155–161.
- [32] Ohtsuka K. Detection of *Salmonella enterica* in naturally contaminated liquid eggs by loop-mediated isothermal amplification and characterization of *Salmonella* isolates [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71(11): 6730–6735.
- [33] Zhang G, E.W. Brown and N. Gonzalez-Escalona. Comparison of real-time PCR, reverse transcriptase real-time PCR, loop-mediated isothermal amplification, and the FDA conventional microbiological method for the detection of *Salmonella* spp. in produce [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2011, 77(18): 6495–6501.
- [34] Lim H.S. Evaluation of commercial kit based on loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of low levels of uninjured and injured *Salmonella* on duck meat, bean sprouts, and fishballs in Singapore [J]. *J Food Prot*, 2015, 78(6): 1203–1207.
- [35] Abdullah J. Rapid detection of *Salmonella Typhi* by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method [J]. *Braz J Microbiol*, 2014, 45(4): 1385–1391.
- [36] Zhuang, L. Detection of *Salmonella* spp. by a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method targeting *bcfD* gene [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2014, 59(6): 658–664.

- [37] 王晔茹, 崔生辉, 李凤琴, 等. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱在沙门氏菌检测和鉴定分型中的应用研究[J]. 卫生研究, 2008, 37(6): 685-689.
Wang YR, Cui SH, Li FQ, *et al.* Study on detection and identification of *Salmonella* species by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. J Hyg Res, 2008, 37(6): 685-689.
- [38] Sparbier, K. Rapid detection of *Salmonella* spp. by means of a combination of selective enrichment broth and Maldi-Tof MS [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2012, 31(5): 767-773.
- [39] 战晓微, 傅俊范, 郑秋月, 等. 沙门氏菌 MALDI-TOF MS 检测方法的建立[J]. 现代食品科学, 2011, 27(5): 595-597.
Zhan XW, Fu JF, Zheng QY, *et al.* Establishment of a MALDI-TOF-MS method for *Salmonella* detection [J]. Mod Food Sci Technol, 2011, 27(5): 595-597.
- [40] Van Veen S.Q., E.C. Claas, E.J. Kuijper. High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories [J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(3): 900-907.
- [41] Sauer, S. Classification and identification of bacteria by mass spectrometry and computational analysis [J]. PLOS One, 2008, 3(7): 2843.
- [42] Sauer S., M. Kliem. Mass spectrometry tools for the classification and identification of bacteria [J]. Nat Rev Microbiol, 2010, 8(1): 74-82.
- [43] Mellmann A. High interlaboratory reproducibility of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry-based species identification of nonfermenting bacteria [J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(11): 3732-3734.
- [44] Seng P. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. Clin Infect Dis, 2009, 49(4): 543-551.
- [45] Eigner U. Performance of a matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry system for the identification of bacterial isolates in the clinical routine laboratory [J]. Clin Lab, 2009, 55(7-8): 289-296.
- [46] Mellmann A. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry in comparison to 16S rRNA gene sequencing for species identification of nonfermenting bacteria [J]. J Clin Microbiol, 2008, 46(6): 1946-1954.
- [47] Marklein G. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for fast and reliable identification of clinical yeast isolates [J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(9): 2912-2917.
- [48] Loff M. 3M Molecular detection system versus MALDI-TOF mass spectrometry and molecular techniques for the identification of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. & *Listeria* spp [J]. J Microbiol Methods, 2014, 101: 33-43.
- [49] Schaumann R. Discrimination of Enterobacteriaceae and Non-fermenting Gram Negative Bacilli by MALDI-TOF Mass Spectrometry [J]. Open Microbiol J, 2013, 7: 118-122.
- [50] 张艳红, 杜元钊, 吴延功. 肠炎沙门氏菌快速检测方法的建立[J]. 中国动物检疫, 2002, 19(7): 25-28.
Zhang YH, Du YZ, Wu YG. Establishment of the rapid detection of *Salmonella enteritidis* method [J]. Chin J Animal Quarant, 2002, 19(7): 25-28.

(责任编辑: 姚菲)

作者简介



罗荣, 主要研究方向为食品微生物。
E-mail: luorong1124@163.com



崔生辉, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品微生物。
E-mail: cuishenghui@aliyun.com