

核酸法在食源性致病菌检测中的研究进展

孙 晶*

(辽宁省分析科学研究院, 沈阳 110015)

摘 要: 食源性疾病是指通过摄食而进入人体的致病因素使人患上感染性或中毒性的疾病, 主要是由食源性致病菌引起的, 包括细菌、病毒和真菌。分析食物中存在的食源性致病菌对于食品安全和降低食源性疾病的发生至关重要。传统的以培养为基础的检测食源性致病菌的方法灵敏度低、检测周期长。本文介绍的基于核酸的检测方法克服了传统方法在检测和鉴定方面的限制, 具有特异性强、灵敏度高、操作简单、检测周期短等特点。核酸法主要包括普通 PCR 法、多重 PCR 法、实时荧光 PCR 法、核酸依赖性扩增、环介导等温扩增和基因芯片技术等。本文主要概述了核酸法在国内外食源性致病菌检测中的应用情况, 总结了其优势和不足, 同时对核酸法的发展趋势进行了展望。

关键词: 食源性致病菌; 检测方法; 核酸法

Research progress of nucleic acid-based methods for detecting foodborne pathogens

SUN Jing*

(Liaoning Province Academy of Analytic Sciences, Shenyang 110015, China)

ABSTRACT: Foodborne diseases are caused by agents which enter the body through the ingestion of food. Most of them are infectious or toxic and are caused by foodborne pathogens which include bacteria, fungi and viruses. It is important to analyze foodborne pathogens in food in order to ensure food safety and minimize foodborne diseases. The conventional methods for detecting the foodborne pathogens are based on culture which are time-consuming and low sensitivity. This paper discussed the nucleic acid-based methods which were greatly sensitive, specific, time-saving and easy to operate, including PCR, multiple PCR, real-time quantitative PCR, nuclear acid sequence-based amplification, loop-mediated isothermal amplification and gene chips. It also summarized the applications of nucleic acid-based methods in foodborne pathogens testing, emphasized on the advantages and limitations, and prospected for the trend of future development of nucleic acid-based methods.

KEY WORDS: foodborne pathogens; detection method; nucleic acid-based methods

1 引 言

食源性疾病是世界性的公共健康问题, 其大规模爆

发在许多国家都经常发生^[1-4]。全球化的食品供应意味着食源性疾病可以在不同的国家快速传播蔓延, 严重危害人类健康^[5-8]。目前世界上大概有 250 种食源性疾病^[9]。高发病

基金项目: 辽宁省自然科学基金(20170540480)

Fund: Supported by Liaoning Province Natural Science Foundation (20170540480)

*通讯作者: 孙晶, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品质量安全及致病菌检测。E-mail: jingjing85678567@163.com

*Corresponding author: SUN Jing, Ph.D, Associate Professor, Liaoning Province Academy of Analytic Sciences, No.103, Wanliutang Road, Shenhe District, Shenyang 110015, China. E-mail: jingjing85678567@163.com

率以及特定人群如婴幼儿、老人、免疫力低下者中的高致死率是其主要特点^[10]。食源性疾病基本上都是由摄入被细菌、病毒、寄生虫或有毒的化学物质、生物毒素污染的水和食物等引起的^[11,12]。引起食源性疾病的致病菌叫做食源性致病菌,主要包括细菌、真菌和病毒^[10]。我国生物性食物中毒事件中,弯曲杆菌、沙门氏菌、副溶血性弧菌、单增李斯特菌、大肠杆菌 O157:H7、金黄色葡萄球菌和蜡样芽孢杆菌是主要的食源性致病菌,与多数食源性疾病的爆发有关^[13-17]。

在致病菌的检测方法中,传统的平板培养法是广泛使用的方法。其优点是操作简单、成本低。缺点是检测灵敏度低,工作量大,检测周期长,每次只能检出 1 种致病菌^[18]。对于“活的非可培养”状态细菌,传统的培养法会引起假阴性结果的产生,造成漏检,增加食源性疾病的传播几率。目前,已有 34 个属的 68 种细菌被证实可进入这一状态并保持毒力或致病性^[19,20]。

核酸法是食源性致病菌检测中普遍采用的一类方法,通过设计引物或探针,检测目标致病菌的特异 DNA 或 RNA 序列。其特点是快速、准确、灵敏,能够实现样品的痕量检测,在食品检验及食品突发事件应急处理中发挥重要作用。本文主要对核酸法在食源性致病菌检测中的研究进展进行概述。

2 核酸法种类

核酸法主要包括普通聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR), 多重 PCR(multiplex PCR, mPCR), 实时荧光定量 PCR(real-time quantitative PCR, qPCR), 核酸依赖性扩增(nuclear acid sequence-based amplification, NASBA), 环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)和基因芯片等^[18,21]。

2.1 普通 PCR 法

普通 PCR 是用一对寡核苷酸片段作为引物,在 DNA 聚合酶的作用下,按照半保留复制机制,通过变性、退火、延伸的多次循环,扩增目的片段。我国出入境检验检疫行业标准 SN/T 1869-2007^[22]规定了食品中多种致病菌的快速检测 PCR 法,主要有沙门氏菌、志贺氏菌、金黄色葡萄球菌、小肠结肠炎耶尔森菌、单增李斯特菌、空肠弯曲杆菌、肠出血性大肠埃希氏杆菌 O157:H7、副溶血性弧菌、霍乱弧菌和创伤弧菌。

普通 PCR 法的优点是耗时短,操作步骤简单。不足是易受 PCR 抑制剂影响,造成扩增效果不理想;只能鉴定单一致病菌;不能区分活细胞和死细胞,丧失活性的死细胞可作为 PCR 反应的模板,可能出现假阳性^[18,21]。

2.2 mPCR 法

mPCR 可同时扩增出多个核酸片段,它是在同一反应

体系中加 2 对以上特异性引物,可同时检测多种致病菌、进行微生物种属鉴定及分型。与普通 PCR 不同的是, mPCR 涉及多对引物和不同模板,所以在实验初期要对反应体系进行优化^[21]。研究发现分别以 *invA*、*stx* 和 *hlyA* 作为靶基因进行 mPCR,可同时快速检测食品中沙门氏菌、单增李斯特菌和大肠杆菌 O157:H7^[23]。

Ranjbar 等^[24]采用 mPCR 实现了同时对志贺氏菌属的福氏、鲍氏和宋内氏志贺菌的鉴定。冯可等^[25]建立可同时检测鲜切哈密瓜中单增李斯特菌、鼠伤寒沙门氏菌和大肠杆菌 O157:H7 的 mPCR 法,为快速检测鲜切哈密瓜中致病菌提供参考依据。此外, mPCR 还可同时对低脂牛奶中单增李斯特菌、大肠杆菌 O157:H7、蜡样芽孢杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌进行检测^[26]。我国出入境检验检疫行业标准 SN/T 4603-2016^[27]规定,出口食品及水体中产毒副溶血性弧菌的检测采用 mPCR 法。

mPCR 法的优点是可同时检测多个致病菌。不足是易受 PCR 抑制剂影响;不能区分活细胞和死细胞;对引物设计要求较高^[18,21]。

2.3 qPCR 法

qPCR,即实时监测 PCR 扩增产物并进行解析的方法,是在反应体系中加入荧光物质,并通过实时检测系统对反应进程中的荧光信号强度进行监测,并对实验数据进行分析处理的方法,主要包括荧光嵌合法和荧光探针法 2 类^[28]。初始细菌 DNA 模板的浓度可低至 10^{-5} ~ 10^{-6} 数量级^[29]。

Zhang 等^[30]设计特异性引物和探针,利用 qPCR 法检测空肠弯曲杆菌,以细菌培养中纯化的 DNA 为模板,检测限为 4.3 CFU/mL。我国出入境检验检疫行业标准 SN/T 1870-2016^[31]规定了出口食品中 12 种致病菌检测 qPCR 法。随着 PCR 技术的不断发展,在 qPCR 技术的基础上又衍生出了多重荧光 PCR 技术。Barletta 等^[32]采用多重荧光 PCR 法同时检测沙门氏菌 *invA*、志贺氏菌 *ipaH* 和空肠弯曲杆菌 16S rRNA 基因,检测限为 10^3 CFU/g。Park 等^[33]以 *hlyA*、*tlh*、*vvhA* 为靶基因设计特异性引物和探针,利用多重荧光 PCR 法同时检测霍乱弧菌、副溶血性弧菌和创伤弧菌,此法还应用到检测环境样本中的弧菌属。

qPCR 法的优点是灵敏度高;特异性好;可实时检测扩增产物。不足是易受 PCR 抑制剂影响;荧光素种类及检测光源的局限性,相对限制了 qPCR 的复合检测;耗材贵,成本较高;不能区分活细胞和死细胞^[18,21]。

2.4 NASBA 法

NASBA 是一种能在等温条件下进行序列特异性核酸体外扩增的技术。该技术是由 2 个特异性引物(P1: 3'端与靶序列互补,5'端具有被 RNA 聚合酶识别的启动子序列;P2: 5'端序列与靶 RNA 序列相同)介导的,AMV 反转录酶、T7 RNA 聚合酶、RNase H 催化的以单链 RNA 为模板的恒

温扩增技术, 2 h 内可将模板 RNA 扩增约 10^9 倍, 整个过程在水浴条件下完成^[34]。

雷质文等^[35]采用沙门氏菌 *invA* 基因为目的片段设计特异性引物, 建成可快速检测沙门氏菌的 NASBA 法, 灵敏度为 7.1×10^2 CFU/mL, 高于普通 PCR 法。倪鑫等^[36]以 *tth* 基因为靶基因设计特异性引物和探针, 建立快速扩增副溶血性弧菌的 NASBA 方法, 最小检出量为 5.1×10^2 CFU/mL, 高于普通 PCR 法, 且特异性好, 与其他种属的菌无任何交叉反应。钟响等^[37]建立了针对志贺氏菌的 NASBA 法, 根据志贺氏菌侵袭性质粒抗原 *ipaH* 基因设计引物, 扩增得单一目的条带, 灵敏度高, 检出限为 8.2 pg/ μ L, 且检测周期短, 适用于国境口岸现场快速检测。NASBA 简单便捷, 保真性高, 灵敏度好, 成本低, 已成功应用于病毒、细菌、霉菌、寄生虫和细胞因子等的检测^[38]。

NASBA 的优点是成本低; 不需要热循环仪; 可检测活细胞。不足是扩增产物是单链 RNA, 后续操作复杂^[18,21]。

2.5 LAMP 法

LAMP 是近些年发展起来的一种快速高效核酸等温扩增技术, 其原理是设计 4 条特异性引物, 在 *Bst* DNA 聚合酶的作用下, 使模板两端引物的结合处循环出现环状单链结构, 以实现恒温条件下(60~65 °C)的连续快速扩增, 通过电泳分析、荧光定量检测、副产物焦磷酸镁浊度检测、荧光目测比色等判断扩增结果。该技术已广泛应用于病原微生物、转基因以及食源性致病菌检测^[39]。

胡元庆等^[40]以 *tth* 为靶基因设计 4 条特异性引物, 建立了检测副溶血性弧菌的 LAMP 方法, 检测限为 1 CFU/mL。曹科峰等^[41]利用铜绿假单胞菌 *gbca* 基因, 设计 3 对引物快速检测铜绿假单胞菌, 灵敏度好, 未出现非特异性扩增。我国已发布的进出口行业检测标准 SN/T 2754-2011^[42]中, 共有 15 种致病菌的检测运用了 LAMP 法。

LAMP 法的优点是成本低, 不需要热循环仪。不足是引物设计复杂; 不适用于未知物的检测; 不能进行长链 DNA 扩增^[18,21]。

2.6 基因芯片法

基因芯片技术是利用核酸分子碱基之间互补配对的原理, 微生物样品 DNA 经 PCR 扩增并荧光标记后, 与芯片上的寡核苷酸杂交, 通过检测杂交信号的强弱确定样品中微生物的存在与丰度^[43]。

程晓燕^[43]利用基因芯片技术同时检测金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、副溶血性弧菌、志贺氏菌、单增李斯特菌、蜡样芽孢杆菌和溶藻弧菌, 灵敏度比常规 PCR 法高 10 倍。罗宇鹏^[44]利用基因芯片技术同时检测志贺氏菌、沙门氏菌、肺炎克雷伯菌、布鲁氏菌、奇异变形菌、金黄色葡萄球菌和空肠弯曲杆菌, 细菌纯培养物灵敏度为 5.0×10^2 CFU/mL, 检测分离菌株符合率为 100%, 为高通

量筛查检测病原菌提供思路。我国出入境检验检疫行业标准 SN/T 1543-2005^[45]规定了 11 种食源性致病菌的基因芯片鉴定方法。

基因芯片的优点是准确、快速、高通量, 可检测特异性血清型, 自动化程度高。不足是成本较高, 不能区分活细胞和死细胞, 需要寡核苷酸探针, 需要标记靶基因^[18,21]。

3 结 论

微生物性食源性疾病是全球食品安全问题之首。食品作为载体可传播多种食源性疾病, 增加某些食源性疾病大规模爆发的危险。我国国标中食源性致病菌的检测多沿用传统方法, 检测周期长, 难以应对和控制大规模食源性疾病的爆发。核酸法是目前广泛使用的有效检测食源性致病菌方法之一, 其特点是特异性好、灵敏度高、操作简单。但是在技术上也存在着一定的不足, 如易污染; 易出现假阳性或假阴性; 食品基质影响致病菌 DNA 的分离和提取, 造成漏检等。

针对不同类食品中的食源性致病菌, 将核酸法与免疫学、遗传学、生物信息学、计算机技术、自动化等相结合以实现样品的快速、高通量检测是未来检测技术的发展方向。目前, 基于多学科领域的全自动微生物分析系统被广泛使用, 实现了对食源性致病菌快速、精准的检测, 不足是价格昂贵, 检测成本高。因此, 对检验工作者来说, 需要根据具体的实际情况选择合适的微生物鉴定方法, 同时为了更加迅速准确的确定病原微生物, 可以多种方法联合使用。与此同时, 需要科研人员以核酸法为基础, 在检测仪器研发方面不断的进行技术创新, 在不影响特异性和灵敏度的前提下使食源性致病菌的检测达到简易经济的水平。

参考文献

- [1] Quade P, Nsoesie EO. A platform for crowdsourced foodborne illness surveillance: description of users and reports [J]. JMIR Pub Health Surveill, 2017, 3(3): e42.
- [2] Billington C, Hudson JA, D'Sa E. Prevention of bacterial foodborne disease using nanobiotechnology [J]. Nanotechnol Sci Appl, 2014, 7(7): 73-83.
- [3] Bancarz-Kisiel A, Szweda W. Yersiniosis-A zoonotic foodborne disease of relevance to public health [J]. Ann Agric Environ Med, 2015, 22(3): 397-402.
- [4] Nguyen VD, Bennett SD, Mungai E, et al. Increase in multistate foodborne disease outbreaks-United States, 1973-2010 [J]. Foodborne Pathog Dis, 2015, 12(11): 867-872.
- [5] Tauxe RV, Doyle MP, Kuchenmüller T, et al. Evolving public health approaches to the global challenge of foodborne infections [J]. Int J Food Microbiol, 2010, 139(S1): S16-S28.
- [6] Kirk MD, Pires SM, Black RE, et al. World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of 22 Foodborne bacterial,

- protozoal, and viral diseases, 2010: A Data Synthesis [J]. PLoS Med, 2015, 12(12): e1001921.
- [7] Torgerson PR, Devleesschauwer B, Praet N, *et al.* World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of 11 foodborne parasitic diseases, 2010: A data synthesis [J]. PLoS Med, 2015, 12(12): e1001920.
- [8] Coulombier D, Takkinen J. From national to international-challenges in cross-border multi-country, multi-vehicle foodborne outbreak investigations [J]. Eur Surveill, 2013, 18: 20423.
- [9] Fleury MD, Stratton J, Tinga C, *et al.* A descriptive analysis of hospitalization due to acute gastrointestinal illness in Canada, 1995-2004 [J]. Can J Pub Health, 2008, 99(6):489-493.
- [10] Priyanka B, Patil RK, Dwarakanath S. A review on detection methods used for foodborne pathogens [J]. Indian J Med Res, 2016, 144(3): 327-338.
- [11] Osei-Tutu B, Anto F. Trends of reported foodborne diseases at the Ridge Hospital, Accra, Ghana: A retrospective review of routine data from 2009-2013 [J]. BMC Infect Dis, 2016, 16:139.
- [12] Ramírez-Castillo FY, Loera-Muro A, Jacques M, *et al.* Waterborne pathogens: detection methods and challenges [J]. Pathogens, 2015, 4(2): 307-334.
- [13] Wang Y, Ye Z, Ying Y. New trends in impedimetric biosensors for the detection of foodborne pathogenic bacteria [J]. Sensors, 2012, 12(3): 3449-3471.
- [14] Wang H, Tang X, Su YC, *et al.* Characterization of clinical *Vibrio parahaemolyticus* strains in Zhoushan, China, from 2013 to 2014 [J]. PLoS One, 2017, 12(7): e0180335.
- [15] Yang X, Jin K, Yang F, *et al.* Nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis in Baoshan, Shanghai, China, from 2010 to 2014: An etiological surveillance and case-control study [J]. J Food Prot, 2017, 80(3): 482-487.
- [16] Zhang HN, Hou PB, Chen YZ, *et al.* Prevalence of foodborne pathogens in cooked meat and seafood from 2010 to 2013 in Shandong Province, China [J]. Iran J Public Health, 2016, 45(12): 1577-1585.
- [17] Ding T, Suo Y, Xiang Q, *et al.* Significance of viable but nonculturable *Escherichia coli*: Induction, detection, and control [J]. J Microbiol Biotechnol, 2017, 27(3): 417-428.
- [18] Zhao X, Lin CW, Wang J, *et al.* Advances in rapid detection methods for foodborne pathogens [J]. J Microbiol Biotechnol, 2014, 24(3): 297-312.
- [19] 赵黎黎, 包秋华, 赵国芬. 细菌 VBNC 态检测技术的研究进展[J]. 微生物学杂志, 2016, 36(4): 96-101.
- Zhao LL, Bao QH, Zhao GF. Advances in test techniques of viable but non-culturable state of bacteria [J]. J Microbiol, 2016, 36(4): 96-101.
- [20] Pinto D, Santos MA, Chambel L. Thirty years of viable but nonculturable state research: Unsolved molecular mechanisms [J]. Crit Rev Microbiol, 2015, 41(1): 61-76.
- [21] Law JW, Ab Mutalib NS, Chan KG, *et al.* Rapid methods for the detection of foodborne bacterial pathogens: principles, applications, advantages and limitations [J]. Front Microbiol, 2015, 5: 770-788.
- [22] SN/T 1869-2007 食品中多种致病细菌快速检测方法 PCR 法[S].
- SN/T 1869-2007 Rapid detection methods for pathogens in foods-PCR method [S].
- [23] Nguyen TT, Giau VV, Vo TK. Multiplex PCR for simultaneous identification of *E.coli* O157:H7, *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes* in food [J]. Biotech, 2016, 6(2): 205-213.
- [24] Ranjbar R, Afshar D, Tavana AM, *et al.* Development of multiplex PCR for Simultaneous detection of three pathogenic *Shigella* species [J]. Iran J Pub Health, 2014, 43(12): 1657-1663.
- [25] 冯可, 胡文忠, 姜爱丽, 等. 多重 PCR 法检测鲜切哈密瓜中 3 种食源性致病菌[J]. 食品科学, 2017, 37(6): 295-302.
- Feng K, Hu WZ, Jiang AL, *et al.* Establishment of multiplex PCR detection method for three foodborne pathogens on fresh-cut cantaloupe [J]. Food Sci, 2017, 37(6): 295-302.
- [26] Kim JH, Rhim SR, Kim KT, *et al.* Simultaneous Detection of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Bacillus cereus*, *Salmonella* spp., and *Staphylococcus aureus* in low-fatted milk by multiplex PCR [J]. Korean J Food Sci Anim Resour, 2014, 34(5): 717-723.
- [27] SN/T 4603-2016 出口食品及水体中产毒副溶血性弧菌常见致病基因检测方法 多重 PCR 及多重实时荧光 PCR 法[S].
- SN/T 4603-2016 Methods for the detection of toxicity *Vibrio Parahaemolyticus* pathogenic genes in water and food for export multiple PCR and real-time PCR method [S].
- [28] De-Souza GPA, Piechnik CA, De-Oliveira AC, *et al.* qPCR for the detection of foodborne *Trypanosoma cruzi* [J]. Parasitol Int, 2017, 66(5): 563-566.
- [29] 霍胜楠, 孟静, 杨振东, 等. 3 种食源性致病菌的实时荧光 PCR 快速检测[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(16): 143-147.
- Huo SN, Meng J, Yang ZD, *et al.* Rapid detection using real time-PCR for three foodborne pathogens [J]. Food Res Dev, 2016, 37(16): 143-147.
- [30] Zhang MJ, Qiao B, Xu XB, *et al.* Development and application of a real-time polymerase chain reaction method for *Campylobacter jejuni* detection [J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(20): 3090-3095.
- [31] SN/T 1870-2016 出口食品中食源性致病菌检测方法 实时荧光 PCR 法[S].
- SN/T 1870-2016 Method for the detection of pathogens in food for export Real-time PCR method [S].
- [32] Barletta F, Mercado EH, Lluque A, *et al.* Multiplex real-time PCR for detection of *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Shigella* [J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(9): 2822-2829.
- [33] Park JY, Jeon S, Kim JY, *et al.* Multiplex real-time polymerase chain reaction assays for simultaneous detection of *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, and *Vibrio vulnificus* [J]. Osong Pub Health Res Perspect, 2013, 4(3): 133-139.
- [34] 王英超, 王宁宁, 吴兴海, 等. NASBA 技术及其在检验检疫中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(12): 3823-3827.
- Wang YC, Wang NN, Wu XH, *et al.* Nucleic acid specific-based amplification and its application in inspection and quarantine [J]. J Food Saf Qual, 2014, 5(12): 3823-3827.
- [35] 雷质文, 姜英辉, 王妍婷, 等. 沙门氏菌的依赖于核酸序列恒温扩增检测方法的建立[J]. 食品安全质量检测学报, 2011, 2(5): 248-252.
- Lei ZW, Jiang YH, Wang YT, *et al.* Establishment of the nucleic acid sequence-based amplification method of detecting *Salmonella* [J]. J Food Saf Qual, 2011, 2(5): 248-252.
- [36] 倪鑫, 王志聪, 雷质文, 等. 依赖于核酸序列恒温扩增技术快速检测副溶血性弧菌方法的建立[J]. 中国预防兽医学报, 2011, 33(11): 882-886.
- Ni X, Wang ZC, Lei ZW, *et al.* Establishment of the nucleic acid sequence-based amplification method of detecting *Vibrio*

- parahaemolyticus* [J]. Chin J Prev Vet Med, 2011, 33(11): 882–886.
- [37] 钟响, 左锋, 韩辉. 国境口岸志贺氏菌的 NASBA 快速检测[J]. 口岸卫生控制, 2014, 19(6): 26–29.
- Zhong X, Zuo F, Han H. Rapid detection of *Shigella* using NASBA assay at frontier port [J]. Port Health Control, 2014, 19(6): 26–29.
- [38] 张英英, 谢鹏. 核酸序列依赖性扩增技术(NASBA)概述[J]. 重庆医科大学学报, 2008, 33(s1): 105–106.
- Zhang YY, Xie P. Overview of nucleic acid sequence-based amplification [J]. J Chongqing Med Univ, 2008, 33(s1): 105–106.
- [39] 杨粤, 付博宇, 张蕴哲, 等. 环介导等温扩增检测技术的应用与方法改进[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(4): 1526–1530.
- Yang Y, Fu BY, Zhang YZ, *et al.* Application and improvement of loop mediated isothermal amplification [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(4): 1526–1530.
- [40] 胡元庆, 黄玉萍, 李凤霞, 等. 水产品中副溶血性弧菌 LAMP 检测方法的优化[J]. 现代食品科技, 2017, 33(6): 1–8.
- Hu YQ, Huang YP, Li FX, *et al.* Optimization of loop-mediated isothermal amplification methods for detection of *Vibrio parahaemolyticus* in aquatic products [J]. Mod Food Sci Technol, 2017, 33(6): 1–8.
- [41] 曹科峰, 沈继录, 汪学龙. 环介导等温扩增技术检测铜绿假单胞菌的研究[J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52(3): 450–452.
- Cao KF, Shen JL, Wang XL. Rapid detection of *Pseudomonas aeruginosa* by loop-mediated isothermal amplification [J]. Acta Univ Med Anhui, 2017, 52(3): 450–452.
- [42] SN/T 2754-2011 出口食品中致病菌环介导恒温扩增(LAMP)检测方法[S].
- SN/T 2754-2011 Loop-mediated isothermal amplification detection method for pathogens in export food [S].
- [43] 程晓燕. 几种食源性致病菌快速检测技术的建立[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
- Cheng XY. The development of rapid detection technique for several foodborn pathogens [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012.
- [44] 罗宇鹏. 不同方法检测食源性致病菌的对比研究[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(7): 918–922.
- Luo YP. Comparative study of different methods for detecting foodborne pathogens [J]. Int J Lab Med, 2015, 36(7): 918–922.
- [45] SN/T 1543-2005 食源性致病菌基因芯片鉴定方法[S].
- SN/T 1543-2005 Gene chip methods for identification of foodborne pathogens [S].

(责任编辑: 姜 珊)

作者简介



孙 晶, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品质量安全与致病菌检测。
E-mail: jingjing85678567@163.com