

# 食品中单增李斯特菌快速检测技术研究进展

武鑫\*

(陕西省渭南市食品药品检验所, 渭南 714000)

**摘要:** 单核细胞增生性李斯特氏菌(简称单增李斯特菌)是一种广泛存在于自然界中可导致人畜共患病的病原菌, 同时也是一种常见的食源性致病菌。目前, 食品中单增李斯特菌的检测主要采用国标法, 传统检验方法虽然可操作性高, 但检验流程耗时过长。随着生活水平不断提高, 人们在饮食中摄入受单增李斯特菌污染的食品的风险增大, 如遇到食品安全突发事件, 传统检测不能及时得到检测结果, 无法保障人们的饮食安全。本文概述了基于分子生物学和免疫学发展起来的快速检测方法, 包括 PCR 法、实时荧光定量 PCR 法、环介导等温扩增法、酶联免疫吸附法、免疫层析试纸条, 其中环介导等温扩增法已经应用于食品致病菌的检测。通过分析对比以上快速检测方法, 为探索更灵敏高效且适用于基层食品检验的检测方法提供参考。

**关键词:** 食品; 单增李斯特菌; 快速检测

## Research progress of rapid detection of *Listeria monocytogenes* in food

WU Xin\*

(Weinan Institute of Food and Drug Control in Shaanxi Province, Weinan 714000, China)

**ABSTRACT:** *Listeria monocytogenes* is a pathogen that is widely found in nature and can cause zoonotic diseases, and is also a common foodborne pathogenic bacteria. At present, the detection of *Listeria monocytogenes* in food mainly adopts the national standard method. Although the traditional method is highly operable, the inspection process takes too long. As living standards continue to increase, there is an increased risk of people taking food contaminated with *Listeria monocytogenes* in their diet. In case of food safety emergencies, the traditional test cannot get the test results in time, which cannot guarantee people's food safety. This paper introduced some rapid detection methods based on molecular biology and immunology, including PCR, real-time fluorescence quantitative PCR, loop-mediated isothermal amplification, enzyme-linked immunosorbent assay, and immunochromatography strip, and loop-mediated isothermal amplification had been applied to the detection of food pathogens. By analyzing and comparing the above rapid detection methods, it provided a reference for exploring more sensitive and efficient detection methods suitable for basic food inspection.

**KEY WORDS:** food; *Listeria monocytogenes*; rapid detection

## 1 引言

单增李斯特菌(*Listeria monocytogenes*, LM)是一种重要的食源性致病菌, 而且是李斯特菌属中致病力最强的革

兰氏阳性无芽孢杆菌, 广泛存在于肉制品、奶产品、水产品、冷冻冷藏食品以及即食食品中<sup>[1,2]</sup>。LM 具有耐低温、酸性、高盐的生物学特性, 能通过受到污染的食品或已经感染病菌的动物进入人类食物链, 还可以在人的胃和肠道

\*通讯作者: 武鑫, 硕士, 助理工程师, 主要研究方向为食品微生物检测。E-mail: wux160901@163.com

\*Corresponding author: WU Xin, Master, Assistant Engineer, Weinan Institute of Food and Drug Control, Jingxian Street, High-tech Zone, Weinan 714000, China. E-mail: wux160901@163.com

中寄生<sup>[3-5]</sup>。免疫功能低下的人群(如老人、孕妇和儿童)更容易感染李斯特菌,临床表现从较轻的发热性胃肠炎到更严重的侵入性疾病,包括败血症、脑膜炎、菱形脑炎、围产期感染,LM 可诱发流产,导致胎儿死亡<sup>[6-8]</sup>。国外有关 LM 引起的食物中毒事件频发<sup>[9-11]</sup>,世界卫生组织(World Health Organization, WHO)更是将其列为 20 世纪 90 年代 4 大食源致病菌之一。为保护公众健康,我国在 2000 年开展了对食品中 LM 污染的检测<sup>[12,13]</sup>。

我国食品安全国家标准规定食品(预包装食品,不包括罐头类食品)中不得检出 LM<sup>[14]</sup>。吴福平等<sup>[15]</sup>通过对 2012 年张家港进境的 171 批冷冻猪肉进行检测,检出 14 株 LM,阳性率为 8.19%,结果表明冷冻肉制品中 LM 的污染较为严重。LM 不仅可以污染食品,而且对食品加工过程中接触的环境也会造成污染。炊慧霞等<sup>[16]</sup>对餐饮后厨环境和食品样品检测,结果显示在 607 份样品中,LM 阳性检出率分别为 13.27%、13.79%,说明食品加工环节中存在 LM 的污染。这与李素娥等<sup>[17]</sup>的研究结果相符,环境中 LM 的检出率并不比食品中的检出率低。因此,加强食品链各个环节 LM 的检测,对保障人民群众的身体健 康至关重要。

我国食品中 LM 的检测主要采用国标法,即传统的分离鉴定方法。通过分离培养得到可疑菌落,再进行生化试验、溶血试验、协同溶血试验等对可疑菌落进行鉴定<sup>[18]</sup>。整个检验流程耗时 6~10 d,无法满足快速检测要求。随着人们对食品安全问题的关注度逐渐提高,对基层食品检验的要求不断提高,因此探索适应基层发展的 LM 快速检测方法十分必要。

本文主要对 PCR 法、实时荧光定量 PCR 法、环介导等温扩增法、酶联免疫吸附法、免疫层析试纸条等基于分子生物学和免疫学发展起来的快速检测方法进行综述,为相关检测机构建立更加灵敏高效的单增李斯特菌检测方法提供参考。

## 2 分子生物学检测技术

### 2.1 PCR 及多重 PCR 技术

利用聚合酶链式反应(PCR)技术对食品中单增李斯特菌进行检测,根据 LM 的致病基因设计特异性引物进行 DNA 片段扩增。LM 致病基因分布在 2 个毒力岛,分别为 LIPI-1 毒力岛和 LIPI-2 毒力岛,LIPI-2 为内化素毒力岛。*hlyA* 基因位于 LIPI-1 毒力岛上,其编码形成的李斯特菌溶血素 O 是 LM 的主要致病因子<sup>[19]</sup>。张辉等<sup>[20]</sup>根据 *hlyA* 基因设计特异性引物,建立的 PCR 法可以区分 LM 和其他 3 种同属异种菌,分别是英诺克李斯特菌、绵阳李斯特菌、威尔斯李斯特菌。闫琳等<sup>[21]</sup>建立的增菌-PCR 法检测猪肉中的 LM,经过 2 步增菌后,检出限可达到 1.3 CFU/25 g。

多重 PCR 技术建立在常规 PCR 基础上,根据不同致

病菌的致病基因设计多对特异性引物,可同时检测多种致病菌,提高检测效率。胡冰雪等<sup>[22]</sup>根据单增李斯特菌的 *hlyA* 基因、荧光假单胞菌的 *gyrB* 基因和沙门氏菌的 *invA* 基因设计 3 对特异性引物,对冷却肉中荧光假单胞菌、沙门氏菌和单增李斯特菌的检测限分别为 9、5、70 CFU/mL。Razci 等<sup>[23]</sup>建立的多重 PCR 法,可同时检测食品样品中的单增李斯特菌、蜡样芽胞杆菌和空肠弯曲杆菌,检出限分别是 5、4、3 pg/ $\mu$ L。

### 2.2 实时荧光定量 PCR

实时荧光定量 PCR 是在 PCR 反应体系中加入荧光基团,在适宜波长下对荧光信号的积累进行扫描,绘制标准曲线对目标菌进行定量分析。与传统 PCR 相比,实时荧光 PCR 无需进行电泳分析,从而减少假阳性结果的产生以及对样品的污染。实时荧光 PCR 已经被应用到一些检测单增李斯特菌的研究中,如闫冰等<sup>[24]</sup>建立了以 mRNA 反转录为基础的实时荧光 PCR 方法来检测单增李斯特活菌,经过 3 h 增菌后的单增李斯特菌的检出限为 30 CFU/mL,人工污染牛乳样品经过 6 h 增菌后的检出限为 17 CFU/mL。整个检测过程只需 12~16 h,与传统方法相比检测时间大大缩短。Rodríguez-Lázaro 等<sup>[25]</sup>建立的快速检测肉制品中单增李斯特菌的实时荧光 PCR 方法,通过过滤和 DNA 纯化可以使检出限达到  $10^2\sim 10^3$  CFU/g,该方法不需进行培养,可快速获得检测结果。关棣锴等<sup>[26]</sup>研究检测染菌鲜切甜瓜中单增李斯特菌,最低检出限为  $6.28\times 10^2$  CFU/mL,质粒标准品检出限为  $1.12\times 10^2$  copies/ $\mu$ L,符合国际上制定即食食品中单增李斯特菌的限量标准。

此外,采用不同荧光基团对与扩增模板特异性结合的探针进行标染,可实现对食品样品中多种致病菌的同时检测。吴晓芳等<sup>[27]</sup>建立的双重荧光 PCR 方法,可同时对食品中单增李斯特菌和沙门氏菌进行快速检测,对单增李斯特菌和沙门氏菌纯培养物的最低检出限分别为  $10^2$ 、 $10$  CFU/mL。整个检测过程仅需 10 h,提高了检测效率。

实时荧光 PCR 技术对检测人员要求高,所需仪器设备价格较贵,但是在基层检验单增李斯特菌具有广阔的应用前景。Grady 等<sup>[28]</sup>分别采用实时荧光 PCR 和传统方法,对来自食品加工厂的 175 个随机样品和 31 个对照品进行单增李斯特菌检测,和传统检测方法相比,实时荧光 PCR 检测方法不仅将检测时间从 7 d 缩短到 2 d,而且检测特异性为 99.44%,灵敏度为 96.15%,准确度为 99.03%。

### 2.3 环介导等温扩增

环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)是通过设计 4 条特异性引物识别靶基因的 6 个区域,利用具有链置换活性的 *Bst* DNA 聚合酶,在 65 °C 的恒温条件下进行核酸扩增,检测结果通过肉眼观察离心管底部是否有白色沉淀生成进行判断<sup>[29]</sup>。杨爱华等<sup>[30]</sup>建立的

LAMP 快速检测方法, 单增李斯特菌的最低检测限为 3 CFU/mL, 但是扩增反应产物的沉淀重复性低。张蕾等<sup>[31]</sup>在 LAMP 检测的反应体系加入含有  $MnCl_2$  的钙黄绿素荧光染料, 故用肉眼观察是否产生绿色来判断反应结果。在食品样品检测中, 分别采用 LAMP、实时荧光 PCR、ISO 11290-1 方法<sup>[32]</sup>分别对 5 类食品共 45 批次进行检测, 结果一致。对添加食品基质的单增李斯特菌株采用 LAMP 法检测时, 最低检出限为 3 CFU/25 g, 但是采用实时荧光 PCR 法检测结果为阴性, 表明 LAMP 法较实时荧光 PCR 法有明显优势, 不易受到样品基质的影响。除此之外, 整个过程从 DNA 提取至检测完成只需 1.5 h 左右, 大大缩短了检测时间。

Cheng 等<sup>[33]</sup>通过比较分析 LAMP 方法和实时荧光 PCR 法检测单增李斯特菌时, 也得出同样的结论。目前, LAMP 已经发展到 5 重检测, 限制其发展主要原因是引物设计的复杂性<sup>[34,35]</sup>。LAMP 法因其反应成本低、扩增时间短的优点, 在食品安全检测方面具有良好的应用前景, 已经成功应用于一些食品致病菌的检测。姜侃等<sup>[36]</sup>建立的 3 重 LAMP 法, 可同时检测食品样品中的单增李斯特菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌, 与国标法的检测结果一致, 未出现假阳性或假阴性结果, 且 3 种致病菌 DNA 的检测灵敏度均为 10 fg/ $\mu$ L, 远高于 3 种菌 DNA 的 PCR 检测灵敏度。

### 3 免疫学检测技术

#### 3.1 酶联免疫吸附

酶联免疫吸附(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)的原理是通过酶标抗体催化底物出现颜色反应, 判断是否存在抗原抗体特异性结合。Kim 等<sup>[37]</sup>采用双抗夹心 ELISA 法检测食品中的单增李斯特菌, 将血清型为 4 b 的单增李斯特菌鞭毛纯化后作为抗原, 针对鞭毛蛋白的不同表位, 制备 5 种单克隆抗体和鸡免疫球蛋白, 结果显示该方法具有较高的特异性和灵敏度, 可以区分不同的李斯特菌属。段霞等<sup>[38]</sup>用多克隆抗体作为捕获抗体, 制备抗 LM *InlA* 单克隆抗体作为检测抗体, 建立双抗夹心 ELISA 方法, 可在 48 h 内报告结果, 单增李斯特菌纯培养液的最低检出限为  $1.7 \times 10^5$  CFU/mL。由于实际样品中 LM 无法达到 ELISA 的检出限要求, 因此需要进行前增菌。ELISA 检测对实验设备要求不高, 检测结果准确性较高, 比传统检测方法省时省力。

#### 3.2 免疫层析试纸条

免疫层析技术通常以胶体金为标记物, 观察条带显色对目标物进行定性或半定量分析。潘秀华等<sup>[39]</sup>利用重组 *InlA* 蛋白制备单克隆抗体, 研制胶体金免疫层析试纸条, 对 LM 纯培养物灵敏度为  $2.4 \times 10^5$  CFU/mL, 模拟猪肉样品的灵敏度为  $4.0 \times 10^6$  CFU/mL, 并且该层析试纸条在 4 °C 条

件下可以保存 16 周。相较于一次只能检测一种致病菌, 同时检测几种致病菌可以降低检测成本。张帅等<sup>[40]</sup>研制的胶体金免疫层析试纸可同时检测生鲜肉中的鼠伤寒沙门氏菌、单增李斯特菌和福氏志贺氏菌进行检测, 特异性良好, 3 种致病菌灵敏度均为  $1 \times 10^4$  CFU/g。

免疫学快速检测方法方便快捷, 是食品质量安全快速检测分析研究的热点, 但是免疫学方法容易出现假阳性, 主要与单克隆抗体的制备和特异性有关。对于部分弱阳性的样本还需鉴定检测。制备特异性较高的单克隆抗体, 通过识别致病菌上特定的表面蛋白达到检测的目的。Zhang 等<sup>[41]</sup>通过研究发现蛋白 LMOF2365-0639 作为单增李斯特菌的表面生物标志物, 与单克隆抗体特异性结合, 可用于临床、环境和食品样本中的单增李斯特菌检测、鉴定和分离。

### 4 展 望

传统的检测方法检测单增李斯特菌所需成本低, 对检测人员的操作要求没有分子生物学检测方法的要求高, 但是缺点是耗时过长。分子生物学和免疫学检测技术不断发展, 本文概述了 PCR 法、实时荧光定量 PCR 法、环介导等温扩增法、酶联免疫吸附法、免疫层析试纸条法, 其中 LAMP 法已经应用到食源性致病菌的实际检测中。分子生物学检测具有高特异性、高灵敏度的特点, 但是 PCR 及其衍生检测方法对检测人员的操作要求高, 所需设备和试剂价格昂贵, 在基层检验推广还需一定的时间。LAMP 法灵敏度高、特异性强、快速高效, 不需要精密的仪器和昂贵的试剂, 便于批量检测, 适合现场监测和基层实验室的应急检测工作。免疫学检测方法在数小时内可完成致病菌的检测, 但是在检测灵敏度上同分子生物学检测相比, 还有待提高。目前已有商品化的 ELISA 检测试剂盒可供使用。免疫层析试纸条携带方便, 适合现场快速检测, 检测人员操作简单, 但是对抗体特异性要求高, 容易出现假阳性。因此, 应用免疫学快检方法进行单增李斯特菌的检测, 为了保证检测准确性, 需要结合其他的快检方法进行检测。

随着生活节奏的加快, 越来越多的冷冻食品、即食食品进入人们的餐桌, 单增李斯特菌感染的风险性也随之增大。加强食品场所卫生以及食品加工各个环节的监督管理和检验检测, 才能有效降低单增李斯特菌的感染风险<sup>[42]</sup>。因此对已有的单增李斯特菌快检方法进行不断改进, 探索快速、高效的适合基层检验的快检方法对保障人民健康尤为重要。

#### 参考文献

- [1] Wing EJ, Gregory SH. *Listeria monocytogenes*: Clinical and experimental update [J]. J Infect Dis, 2002, (185): 18–24.

- [2] Buchanan RL, Gorris LGM, Haymana MM, *et al.* A review of *Listeria monocytogenes*: an update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments [J]. *Food Control*, 2017, (75): 1–13.
- [3] Gahan CGM, Hill C. *Listeria monocytogenes*: survival and adaptation in the gastrointestinal tract [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2014, 4(9): 1–7.
- [4] Marija Z, Konrad JD, Wolfgang K. Practical relevance of methodologies for detecting and tracing of *Listeria monocytogenes* ready-to-eat foods and manufacture environments [J]. *Food Sci Technol*, 2011, 44(2): 351–362.
- [5] Danny S, Stuart CHA, Carol AP. Oxygen limitation induces acid tolerance and impacts simulated gastro-intestinal transit in *Listeria monocytogenes* J0161 [J]. *Gut Pathog*, 2015, 7(1): 11.
- [6] Garner MR, Njaa BL, Wiedmann M, *et al.* Sigma B contributes to *Listeria monocytogenes* gastrointestinal infection but not to systemic spread in the guinea pig infection model [J]. *Infect Immun*, 2006, 74(2): 876–886.
- [7] Mead PS, Slutsker L, Dietz V, *et al.* Food-related illness and death in the United States [J]. *Emerg Infect Dis*, 1999, 5(5): 607–625.
- [8] Allerberger F, Wagner M. Listeriosis: A resurgent foodborne infection [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2010, 16(1): 16–23.
- [9] Matthias N, Sylvia K, Sascha AD. Antibiotic susceptibility of 259 *Listeria monocytogenes* strains isolated from food, food-processing plants and human samples in Germany [J]. *J Infect Public Health*, 2018, 11(4): 572–577.
- [10] Christine L, Pires SM, Gillespie IA, *et al.* Attribution of human *Listeria monocytogenes* infections in England and Wales to ready-to-eat food sources placed on the market: adaptation of the Hald *Salmonella* source attribution model [J]. *Foodborne Pathog Dis*, 2010, 7(7): 749–756.
- [11] European Food Safety Authority. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016 [J]. *EFSA J*, 2017, 15(12): 65–78.
- [12] 朱献忠. 单核细胞增生性李斯特菌研究进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(7): 1333–1335.
- Zhu XZ. Research progress of *Listeria monocytogenes* [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2007, 17(7): 1333–1335.
- [13] 沈晓盛, 郑国兴, 李庆, 等. 食品中单核细胞增生李斯特菌的危害及其检测[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(8): 87–91.
- Shen XS, Zheng GX, Li Q, *et al.* Hazard and detections of *Listeria monocytogenes* in Foods [J]. *Food Ferment Ind*, 2004, 30(8): 87–91.
- [14] GB 29921-2013 食品安全国家标准 食品中致病菌限量[S].
- GB 29921-2013 National food safety standard-Limit of pathogenic bacteria in food [S].
- [15] 吴福平, 王毅谦, 郭昉, 等. 2012年张家口口岸进境冷冻猪肉制品中单核细胞增生李斯特氏菌污染调查[J]. 口岸卫生控制, 2014, 19(1): 43–45.
- Wu FP, Wang YQ, Guo Y, *et al.* Investigation of the contamination status of frozen pork with *Listeria monocytogenes* at Zhangjiagang port in 2012 [J]. *Port Health Control*, 2014, 19(1): 43–45.
- [16] 炊慧霞, 吴玲玲, 李艳芬, 等. 2016年河南省部分地市餐饮环节后厨环境及相关食品中单核细胞增生李斯特菌污染调查[J]. 卫生研究, 2018, 47(3): 502–503.
- Cui HX, Wu LL, Li YF, *et al.* Investigation of the contamination status of kitchen environment and related food with *Listeria monocytogenes* in part of Henan province in 2016 [J]. *J Hyg Res*, 2018, 47(3): 502–503.
- [17] 李素娥, 刘岩. 关于食品中单核细胞增生性李斯特氏菌污染情况的调查分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(6): 1582.
- Li SE, Liu Y. Investigation on the contamination status of food with *Listeria monocytogenes* [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2013, 23(6): 1582.
- [18] 蒋原. 食源性病原微生物检测指南[M]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- Jiang Y. Guidelines for the detection of foodborne pathogenic microorganisms [M]. Beijing: Standards Press of China, 2010.
- [19] 崔焕忠, 乔立桥, 王义冲. 单核细胞增生性李斯特菌的主要毒力因子及其致病机理[J]. 中国畜牧兽医, 2010, 37(1): 128–133.
- Cui HZ, Qiao LQ, Wang YC. Main virulence factors and pathogenesis mechanism of *Listeria monocytogenes* [J]. *Chin Anim Husbandry Vet Med*, 2010, 37(1): 128–133.
- [20] 张辉, 王兴龙. 食品中单核细胞增生性李斯特氏菌 PCR 快速检测[J]. 食品科学, 2008, 29(4): 324–327.
- Zhang H, Wang XL. Rapid detection of *Listeria monocytogenes* in food by PCR [J]. *Food Sci*, 2008, 29(4): 324–327.
- [21] 闫琳, 王晓英, 郭云昌, 等. 增菌-PCR 法与传统方法检测猪肉中单增李斯特菌的比较研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(15): 3021–3024.
- Yan L, Wang XY, Guo YC, *et al.* Comparison of enrichment-PCR and traditional method for detection of *Listeria monocytogenes* in pork [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2013, 23(15): 3021–3024.
- [22] 胡冰雪, 舒沿沿, 潘道东, 等. 荧光假单胞菌、沙门氏菌和单增李斯特菌多重 PCR 检测方法的建立[J]. 食品科学, 2016, 37(20): 209–214.
- Hu BX, Shu YY, Pan DD, *et al.* A multiplex PCR method for simultaneous detection of *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* [J]. *Food Sci*, 2016, 37(20): 209–214.
- [23] Razei A, Sorouri R, Mousavi SL, *et al.* Presenting a rapid method for detection of *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter jejuni* in food samples [J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2017, 20(9): 1050–1055.
- [24] 闫冰, 姜毓君, 曲妍妍, 等. 实时 RT-PCR 检测存活于乳中的单核细胞增生性李斯特菌[J]. 食品科学, 2008, 29(2): 292–296.
- Yan B, Jiang YJ, Qu YY, *et al.* Detection of viable *Listeria monocytogenes* in milk by real-time RT-PCR [J]. *Food Sci*, 2008, 29(2): 292–296.
- [25] Rodríguez-Lázaro D, Jofré A, Aymerich T, *et al.* Rapid quantitative detection of *Listeria monocytogenes* in meat products by real-time PCR [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70(10): 6299–6301.
- [26] 关棣楷, 胡文忠, 朴永哲, 等. Taqman 探针法荧光定量 PCR 检测鲜切甜瓜中单核细胞增生性李斯特菌的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(19): 297–300.
- Guan DK, Hu WZ, Piao YZ, *et al.* Study on detection of *Listeria monocytogenes* in fresh-cut melon with taqman—based fluorescence quantitative PCR [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2014, 35(19): 297–300.
- [27] 吴晓芳, 韩建康, 纪蕾, 等. 多重实时荧光 PCR 快速检测沙门菌和单增李斯特菌[J]. 疾病监测, 2011, 26(3): 234–237.
- Wu XF, Han JK, Ji L, *et al.* Rapid simultaneous detections of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* by multiplex real-time PCR [J]. *Dis Surveil*, 2011, 26(3): 234–237.
- [28] Grady J, Margaret R, Sara SB, *et al.* Rapid detection of *Listeria monocytogenes* in food using culture enrichment combined with real-time PCR [J]. *Food Microbiol*, 2009, 26(1): 4–7.
- [29] Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, *et al.* Loop-mediated isothermal amplification of DNA [J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(12): 163–167.
- [30] 杨爱华, 李秀梅, 韩文瑜. 单增李斯特菌环介导等温扩增快速检测方法的建立[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2017, 33(2): 59–60.

- Yang AH, Li XM, Han WY. Establishment a rapid detection of loop-mediated isothermal amplification for *Listeria monocytogenes* [J]. Chin Anim Husb Veter Med, 2017, 33(2): 59–60.
- [31] 张蕾, 曾静, 马丹, 等. 环介导等温扩增方法检测食品中单核细胞增生李斯特菌的效果和评价[J]. 中华预防医学杂志, 2014, 48(3): 213–217.
- Zhang L, Zeng J, Ma D, *et al.* Application and evaluation of loop-mediated isothermal amplification method for detecting of *Listeria monocytogenes* in food [J]. Chin J Prev Med, 2014, 48(3): 213–217.
- [32] Scotter SL, Langton S, Lombard B, *et al.* Validation of ISO method 11290 part 2. Enumeration of *Listeria monocytogenes* in foods [J]. Int J Food Microbiol, 2001, 70(1/2): 121–129.
- [33] Cheng X, Wang YX, Liu JJ, *et al.* Detection of *Listeria monocytogenes* in dairy food by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) [J]. Agric Sci Technol, 2015, 16(8): 1584–1587.
- [34] 王大洲, 郭天笑, 郑实, 等. 核酸等温扩增技术在微生物快速检测中的研究进展[J]. 生物技术通报, 2017, 33(7): 49–61.
- Wang DZ, Guo TX, Zheng S, *et al.* Research progress on the isothermal nucleic acid amplification techniques in rapid detection of microorganisms [J]. Biotechnol Bull, 2017, 33(7): 49–61.
- [35] Chen Y, Cheng N, Xu Y, *et al.* Point-of-care and visual detection of *P. aeruginosa* and its toxin genes by multiple LAMP and lateral flow nucleic acid biosensor [J]. Biosens Bioelectron, 2016, (81): 317–323.
- [36] 姜侃, 吕沁风, 汪新, 等. 三重 LAMP 法检测食品中沙门氏菌、单增李斯特菌和金黄色葡萄球菌[J]. 食品科学, 2013, 34(24): 182–187.
- Jiang K, Lv QF, Wang X, *et al.* Development of multiplex LAMP method for the detection of *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in foods [J]. Food Sci, 2013, 34(24): 182–187.
- [37] Kim SH, Park MK, Kim JY, *et al.* Development of a sandwich ELISA for the detection of *Listeria* spp. using specific flagella antibodies [J]. J Vet Sci, 2005, 6(1): 41–46.
- [38] 段霞, 黄欣, 黄岭芳, 等. 双抗夹心 ELISA 方法检测食品中单核细胞增生李斯特氏菌[J]. 食品科学, 2010, 31(24): 272–276.
- Duan X, Huang X, Huang LF, *et al.* Detection of *Listeria monocytogenes* in food by sandwich ELISA [J]. Food Sci, 2010, 31(24): 272–276.
- [39] 潘秀华, 孟宪荣, 栗绍文, 等. 单增李斯特菌胶体金免疫层析试纸条的研制[J]. 中国食品卫生杂志, 2014, 26(2): 115–119.
- Pan XH, Meng XR, Li SW, *et al.* Development of colloidal gold strip for detection of *Listeria monocytogenes* [J]. Chin J Food Hyg, 2014, 26(2): 115–119.
- [40] 张帅, 齐颖颖, 张红星, 等. 快速检测生鲜肉中三种食源性致病菌[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(4): 939–945.
- Zhang S, Qi YY, Zhang HX, *et al.* Rapid detection of three foodborne pathogens in raw meat [J]. Jiangsu J Agric Sci, 2016, 32(4): 939–945.
- [41] Zhang CXY, Brooks BW, Huang H, *et al.* Identification of surface protein biomarkers of *Listeria monocytogenes* via Bioinformatics and antibody-based protein detection tools [J]. Appl Environ Microbiol, 2016, 82(17): 5465–5476.
- [42] 马彦宁, 赵悦, 郭云昌. 即食食品中单核细胞增生李斯特菌的血清学分型和毒力基因分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2017, 29(1): 14–18.
- Ma YN, Zhao Y, Guo YC. Serological typing and virulence-associated genes analysis of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat foods [J]. Chin J Food Hyg, 2017, 29(1): 14–18.

(责任编辑: 韩晓红)

## 作者简介



武 鑫, 硕士, 助理工程师, 主要研究方向为食品微生物检测。  
E-mail: wux160901@163.com