

实时荧光聚合酶链式反应技术与国标方法检测 致病菌的应用与研究

张焱鑫, 芦 云*, 王新宇, 岑 彦, 刘海涛, 王 芳, 薛晓晶

(中国检验检疫科学研究院综合检测中心, 北京 100123)

摘 要: **目的** 比较实时荧光聚合酶链式反应技术(real-time polymerase chain reaction, RT-PCR)与国标方法在食品致病菌检测中的异同。**方法** 应用 RT-PCR 法及国标 GB 4789 系列对采集的 60 件畜产品、禽产品、水产品以及乳及乳制品中的沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、单核细胞增生李斯特氏菌以及副溶血性弧菌同时进行检测。**结果** 除了金黄色葡萄球菌检测结果均为阴性外, 其他 3 种致病菌 2 种方法都有检出, 但 RT-PCR 方法的阳性率均高于国标方法。对于沙门氏菌, 国标方法阳性率为 1.67%, RT-PCR 方法阳性率 3.33%; 单核细胞增生李斯特氏菌国标方法阳性率为 7.50%, RT-PCR 方法阳性率为 15.00%; 副溶血性弧菌国标方法阳性率为 8.33%, RT-PCR 方法阳性率为 11.67%。**结论** 在本实验条件下, RT-PCR 技术的阳性检测结果多于国标 GB4789 系列, 并且结果可完全覆盖国标 GB4789。各企业实验室甚至政府主导的食品风险监测项目可根据产品特点, 合理应用 RT-PCR 技术以减少人员工作量, 方便产品放行并提高工作效率。

关键词: 实时荧光聚合酶链式反应技术; 国标 GB 4789; 致病菌; 沙门氏菌; 单核细胞增生李斯特氏菌; 副溶血性弧菌

Application and research of real-time polymerase chain reaction and national standard method for detection of pathogenic bacteria

ZHANG Yan-Xin, LU Yun*, WANG Xin-Yu, CEN Yan, LIU Hai-Tao, WANG Fang, XUE Xiao-Jing

(Chinese Academy of Inspection and Quarantine Comprehensive Test Center, Beijing 100123, China)

ABSTRACT: Objective To compare the similarities and differences between real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) and national standard methods in the detection of food pathogens. **Methods** *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and *Vibrio parahaemolyticus* in 60 livestock products, poultry products, aquatic products and dairy and dairy products were detected simultaneously by RT-PCR and GB 4789 series. **Results** Except for the negative results of *Staphylococcus aureus*, the other three pathogenic bacteria were detected by two methods, but the positive rate of RT-PCR method was higher than that of national standard method. For *Salmonella*, the positive rates of GB method and RT- PCR method were 1.67% and 3.33%, respectively. For *Listeria monocytogenes*, the positive rates of GB method and RT- PCR method were 7.50% and 15.00%, respectively. For *Vibrio parahaemolyticus*, the positive rates of GB method and RT-PCR method were 8.33% and 11.67%, respectively. **Conclusion** Under this experimental condition, RT-PCR technology has more positive detection results than the national standard GB 4789 series, and the results can completely cover the national standard GB

*通讯作者: 芦云, 高级工程师, 主要研究方向为食品微生物检测。E-mail: luyun@caiqtest.com

*Corresponding author: LU Yun, Senior Engineer, Chinese Academy of Inspection and Quarantine Comprehensive Test Center, No. Jia 3, Gaobeidian North Road, Chaoyang District, BeiJing 100123, China. E-mail: luyun@caiqtest.com

4789. Enterprise laboratories and even government-led food risk monitoring projects can reasonably apply RT-PCR technology to reduce personnel workload, facilitate product release and improve work efficiency based on product characteristics.

KEY WORDS: real-time polymerase chain reaction; national standard GB 4789; pathogenic bacteria; *Salmonella*; *Listeria monocytogenes*; *Vibrio parahaemolyticus*

1 引言

对于食品及初级农产品中致病菌的检测,一般采用食品安全国家标准 4789 系列。国家标准的检测流程从增菌、分离到培养鉴定,通常需要 4~5 d 甚至更长时间,对可疑菌的识别和鉴定受主观因素影响大。近十几年,随着各种新技术的诞生,越来越多的技术被应用于微生物检测,如免疫技术^[1-3]、聚合酶链式反应技术^[4-6]、环介导等温扩增技术^[7]、生物传感器^[8]、毛细管电泳技术^[9]、基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)^[10]、液滴微流控技术^[11]。在以上技术中,应用实时荧光聚合酶链式反应技术(real-time polymerase chain reaction, RT-PCR)原理的占很大的比例。RT-PCR 技术早在 1985 年就已经诞生^[12,13],但只有在近几年随着我国经济水平及文化水平的整体提高,RT-PCR 技术才应用到食品安全国家标准中,如“GB 4789.6-2016《食品安全国家标准 致泻大肠埃希氏菌检验》^[14]”、“GB 4789.42-2016《食品安全国家标准 诺如病毒检验》^[15]”。在实际样品检测中,企业更希望能减少检测周期,实现对原材料及产品的快速放行,政府在食品安全监管中也希望能逐渐应用快速检测方法从而提高检测效率。RT-PCR 方法相对于普通 PCR 方法来说特异性、准确性和简捷性都更高,也更容易操作。随着国内经济水平和文化水平的提高,RT-PCR 方法有了更广阔的应用空间。但较全面的国标 GB 4789 系列方法与 RT-PCR 方法的对比研究较少。

本研究从市场上购买了 4 类人类消费比例较大的产品^[16],同时采用 RT-PCR 技术与国标 GB 4789 方法进行检测,项目包括常见的 4 种致病菌:沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、单核细胞增生李斯特氏菌以及副溶血性弧菌,比较 2 种方法的检测结果以期了解针对各类实际样品检测时两种方法的应用效果及差异,可为企业、实验室及政府结合不同样品在选择方法时提供技术参考和依据。

2 材料与方法

2.1 样本

从农贸市场、超市采集各类食品,包括生鲜及熟制的畜产品、禽产品、水产品,乳及乳制品,共计 4 大类(乳制品、水产品、畜肉、禽肉)60 件样品。

2.2 培养基和试剂

培养基干粉(合成)及生化试剂(北京陆桥技术有限责任公司);沙门氏菌显色培养基、单核细胞增生李斯特氏菌显色培养基及弧菌显色培养基(法国科玛嘉公司);沙门氏菌诊断血清(A-S)(泰国 S&A Reagents Lab. Bangkok 公司);细菌基因组提取试剂盒(货号 DP302-02,天根生化科技(北京)有限公司)

2.3 主要仪器

BagMixer 400 均质器(法国 Interscience 公司);GI80TW 高压灭菌锅(厦门致微公司);BD-240 恒温培养箱(德国 Binder 公司);Vitek Compact2 30 全自动微生物鉴定仪(法国生物梅里埃公司);Eppendorf 5084R 离心机(德国 eppendorf 公司);ABI 7500 real-time PCR 仪(美国赛默飞公司)。

2.4 检测方法

2.4.1 国标 4789 微生物方法

GB 4789.4-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验^[17];

GB 4789.10-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验^[18](第一法);

GB 4789.7-2013 食品安全国家标准 食品微生物学检验 副溶血性弧菌检验^[19](定性);

GB 4789.30-2016 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^[20](第一法);

2.4.2 real-time PCR 方法

SNT 1870-2016 出口食品中食源性致病菌检测方法 实时荧光 PCR 法^[21]。

2.5 检测步骤

2.5.1 国标 GB 4789 检测方法

根据样品的特点,60 件样品均检测了沙门氏菌和金黄色葡萄球菌;针对水产及其制品检测了副溶血性弧菌,除水产及其制品之外的样品检测了单核细胞增生李斯特氏菌。

检测依据 2.4.1 中各检测标准。

2.5.2 RT-PCR 方法

采用试剂盒方法分别对金黄色葡萄球菌及副溶血性弧菌增菌液以及沙门氏菌和单核细胞增生李斯特氏菌国标第二步增菌液提取了基因组。分别取各增菌液 1mL,加入

到 1.5 mL 离心管中, 离心弃上清。

3 结果与分析

此次方法比对共计 60 个样品, 20 个乳制品、20 个水产品、14 个畜肉、6 个禽肉。除了金黄色葡萄球菌检测结果全部为阴性外, 其他 3 项 2 种方法都有检出, 但是结果不一致。

国标方法检测沙门氏菌, 经生化试验和血清学鉴定, 编号为 20 的鸡翅样品检出; RT-PCR 方法, 20 号鸡翅和 37 号带鱼检出。国标方法阳性率为 1.67%, RT-PCR 方法阳性率 3.33%; 对于单核细胞增生李斯特氏菌, 国标方法 6 号猪肉、15 号鸭腿、43 号发酵乳结果均检出。RT-PCR 方法, 除了以上 3 个样品检出外, 16 号鸭腿、17 号和 18 号鸡胸肉均检出。国标方法阳性率为 7.50%, RT-PCR 方法阳性率为 15.00%; 对于副溶血性弧菌, 国标方法 22 号虾、23 号和 24 号蛤蜊、38 号带鱼、40 号小黄鱼结果均为检出。RT-PCR 方法, 除了以上 5 个检出外, 26 号河鱼、28 号海鱼均检出。副溶血性弧菌国标方法阳性率为 8.33%, RT-PCR 方法阳性率为 11.67%。

RT-PCR 方法的阳性率均高于国标方法。以上结果可见表 1。

针对国标方法未检出而 RT-PCR 方法检出的所有样品, 实验室均再次用传统方法做了分离确认试验。

沙门氏菌 37 号样品, 实验室将留存的增菌液再次接种选择性平板进行分离。该样品增菌液在沙门氏菌科马嘉

显色培养基上, 有紫红色可疑菌落出现, 挑取多个可疑菌落进行后续生化鉴定, 赖氨酸、尿素等生化项与沙门氏菌不符, 血清不凝集, 排除。单核细胞增生李斯特氏菌 16-18 号样品, 再次用 LB2 增菌液接种科马嘉显色培养基。显色平板上均有蓝绿色菌落, 但只有 18 号样品的蓝绿色菌落有白色圆形浑浊带。经生化鉴定, 确为单核细胞增生李斯特氏菌。副溶血性弧菌, 针对 RT-PCR 检出的 26、28 号样品, 再次接种于选择性平板硫代硫酸盐柠檬酸盐胆盐蔗糖琼脂培养基以及弧菌显色培养基上, 在弧菌显色培养基上, 26 号样品未有可疑菌生长; 28 号样品有可疑菌; 挑取菌落分别用生化试验和 RT-PCR 方法验证, 两者结果一致, 均为副溶血性弧菌。

经过国标方法 2 次分离检测的样品结果, 依然与 RT-PCR 结果有差异。见表 2。

RT-PCR 方法为阳性的样品, 经过国标方法二次划线分离、生化确认, 只有 18 号、28 号二次检测结果为检出, 其他结果均不一致。分析两种方法结果差异的原因可能为: ① 样品中目标菌落含量低, 国标需要划线分离, 存在随机性。② 分离手段不同: 国标方法需要在选择性平板上分离到可疑菌落并从中挑取可疑菌, 需要依靠实验员的经验; 而 RT-PCR 方法无需分离出单菌落, 直接使用增菌液, 避免可能存在的漏检; ③ 检测原理不同: 国标方法检测到的是活菌; RT-PCR 检测的是核酸, 当菌死亡后, 前者无法检出, 而对后者没有影响^[22]。

表 1 2 种方法检测结果
Table 1 Test results of two methods

编号	样品名称	沙门氏菌		单增		副溶血性弧菌		编号	样品名称	沙门氏菌		单增		副溶血性弧菌	
		国标	qPCR	国标	qPCR	国标	qPCR			国标	qPCR	国标	qPCR	国标	qPCR
1	猪肉	-	-	-	-	-	-	31	鱿鱼丝	-	-	-	-	-	-
2	猪肉	-	-	-	-	-	-	32	鱿鱼丝	-	-	-	-	-	-
3	猪肉	-	-	-	-	-	-	33	小鱼干	-	-	-	-	-	-
4	猪肉	-	-	-	-	-	-	34	小鱼干	-	-	-	-	-	-
5	猪肉	-	-	-	-	-	-	35	鱼片	-	-	-	-	-	-
6	猪肉	-	-	+	+	-	-	36	鱼片	-	-	-	-	-	-
7	牛肉	-	-	-	-	-	-	37	带鱼	-	+	-	-	-	-
8	牛肉	-	-	-	-	-	-	38	带鱼	-	-	-	-	+	+
9	羊肉	-	-	-	-	-	-	39	小黄鱼	-	-	-	-	-	-
10	羊肉	-	-	-	-	-	-	40	小黄鱼	-	-	-	-	+	+
11	火腿	-	-	-	-	-	-	41	酸奶	-	-	-	-	-	-
12	火腿	-	-	-	-	-	-	42	酸奶	-	-	-	-	-	-
13	香肠	-	-	-	-	-	-	43	发酵乳	-	-	+	+	-	-

续表 1

编号	样品名称	沙门氏菌		单增		副溶血性弧菌		编号	样品名称	沙门氏菌		单增		副溶血性弧菌	
		国标	qPCR	国标	qPCR	国标	qPCR			国标	qPCR	国标	qPCR	国标	qPCR
14	香肠	-	-	-	-	-	-	44	发酵乳	-	-	-	-	-	-
15	鸭腿	-	-	+	+	-	-	45	鲜牛奶	-	-	-	-	-	-
16	鸭腿	-	-	-	+	-	-	46	鲜牛奶	-	-	-	-	-	-
17	鸡胸肉	-	-	-	+	-	-	47	全脂奶粉	-	-	-	-	-	-
18	鸡胸肉	-	-	-	+	-	-	48	全脂奶粉	-	-	-	-	-	-
19	鸡翅	-	-	-	-	-	-	49	营养奶粉	-	-	-	-	-	-
20	鸡翅	+	+	-	-	-	-	50	营养奶粉	-	-	-	-	-	-
21	虾	-	-	-	-	-	-	51	芝士片	-	-	-	-	-	-
22	虾	-	-	-	-	+	+	52	芝士片	-	-	-	-	-	-
23	蛤蜊	-	-	-	-	+	+	53	纯牛奶	-	-	-	-	-	-
24	蛤蜊	-	-	-	-	+	+	54	纯牛奶	-	-	-	-	-	-
25	河鱼	-	-	-	-	-	-	55	纯牛奶	-	-	-	-	-	-
26	河鱼	-	-	-	-	-	+	56	纯牛奶	-	-	-	-	-	-
27	海鱼	-	-	-	-	-	-	57	早餐奶	-	-	-	-	-	-
28	海鱼	-	-	-	-	-	+	58	早餐奶	-	-	-	-	-	-
29	海带	-	-	-	-	-	-	59	奶酪片	-	-	-	-	-	-
30	海带	-	-	-	-	-	-	60	奶酪片	-	-	-	-	-	-

注: +为检出, -为未检出, 下表同。

表 2 国标方法二次分离检测结果

Table 2 Test results of secondary separation of GB method

编号	样品名称	检测项目	国标二次确认	RT-PCR 方法
16	鸭腿	单核细胞增生李斯特氏菌	-	+
17	鸡胸肉		-	+
18	鸡胸肉		+	+
26	河鱼	副溶血性弧菌	-	+
28	海鱼		+	+
37	带鱼	沙门氏菌	-	+

4 结 论

相对于传统的国标方法, RT-PCR 方法具有较高的灵敏度和检出率。它的原理在很多文献^[23,24]中都有阐述。在本实验条件下应用 RT-PCR 技术所得结果可覆盖国标方法的结果。需要注意的是若采用初步增菌液或者二次增菌液菌体直接煮沸进行 DNA 的提取,可能会导致阳性对照扩增不出的现象,尤其采用四硫磺酸钠煌绿增菌液时尤为明显。分析四硫磺酸钠煌绿增菌液中含有 RT-PCR 抑

制剂^[22,25]从而影响正常反应进行。建议可通过离心等手段收集菌体,生理盐水悬浮冲洗以去除增菌液等基质对扩增体系的影响。

在使用国标方法时,尤其对于生、鲜样品,致病菌检测建议采用显色培养基进行分离^[26,27]。因目标菌在其上特征明显,容易识别,大大提高了检测效率,省时省力。需要注意的是分离副溶血性弧菌时,若使用硫代硫酸盐柠檬酸盐胆盐蔗糖琼脂培养基,则培养时间不能过长(标准规定 18~24 h),否则目标菌的菌落特征有所变化,可能漏检。其

次,副溶血性弧菌在显色培养基上为紫色菌落,但也存在由于来源不同,菌落表现形态不一致的情况。所以在选取可疑菌落时,除了以紫色为依据之外,各种菌落形态要覆盖,适当增加挑取菌落的数量。

金黄色葡萄球菌在检测过程中,选择性平板培养24 h即存在大量变形杆菌,给进一步分离可疑菌落造成很大的干扰,在此次检测的水产品中尤为明显。实验室经过多次试验发现,采取倾注的方法比平板上涂布并覆盖培养基更能有效抵抗蔓延性菌落的干扰。

本研究过程中的生化检测,沙门氏菌采用全自动生化鉴定系统,副溶血性弧菌采用传统生化管、单核细胞增生李斯特氏菌采用了API *Listeria* 10300。需要注意的是,因各个生化系统原理不同,相同的生化项目(比如三糖铁)表现的结果可能会不一样,没有互相参照的意义。

综上所述,RT-PCR技术与传统微生物方法检测致病菌相比较,无需分离出单个菌落,操作相对简单,节省时间。但其阳性率比传统方法要高,且检出阳性后仍然需要采用国标方法进行确认^[21],所以相对于传统方法来说,RT-PCR方法可作为筛选法从而节省时间,提高效率。但在应用时 also 需要注意样品类型,对于未经加工、未经卫生控制的生鲜产品,致病菌检出的可能性大,使用RT-PCR方法并不一定能提高效率,但对于预包装食品采用PCR方法作为筛选是非常有效的。各企业实验室甚至政府主导的食品风险监测项目,建议在定制检测方案时可结合产品特点,合理应用RT-PCR技术以减少人员工作量,方便产品放行并提高工作效率。

参考文献

- [1] 任常非,李滢倩,王潇.快速检测方法在食品微生物检测中的应用[J].食品科技,2019,21(35):110-111.
Ren CF, Li YQ, Wang X. Application of rapid detection method in food microbial detection [J]. Food Sci Technol, 2019, 21(35): 110-111.
- [2] Allent ST, Bennett W, Hait JM, et al. Bacteriological analytical manual chapter 13B staphylococcal enterotoxins detection methods [Z].
- [3] Official Method 2007.06 VIDAS SET 2 for detection of staphylococcal enterotoxins in selected foods [S].
- [4] 张丽琴,安艳苏,肖植国. BAXR SystemQ7 全自动病原微生物快速检测系统在食品致病菌检测中的运用[J]. 食品安全导刊, 2018, 36(39): 57-58.
Zhang LQ, An YS, Xiao ZG. Application of BAXR SystemQ7 automatic pathogen rapid detection system in food pathogen detection [J]. Chin Food Saf Magaz, 2018, 36(39): 57-58.
- [5] 谢婷艺. 多重PCR检测技术在食品微生物检测中的应用价值[J]. 食品安全导刊, 2017, 36(79): 106.
Xie TY. The application value of multiple PCR in the detection of food microorganisms [J]. Chin Food Saf Magaz, 2017, 36(79): 106.
- [6] 吴冰,蔡全全,郑传发. 数字PCR技术及其在微生物检测中的应用[J]. 现代食品, 2018, 2(24): 77-79.
Wu B, Cai XQ, Zheng CF. Research progress on the application of digital in microbial detection [J]. Mod Food, 2018, 22(24): 77-79.
- [7] 徐美迪,木兰,牛超. 环介导等温扩增技术在致病微生物检测中的应用[J]. 生物技术通讯, 2019, 30(1): 140-146.
Xu MD, Mu L, Niu C. Application of loop-mediated isothermal amplification tech-nique in detection of pathogenic microorganisms [J]. Lett Biotechnol, 2019, 30(1): 140-146.
- [8] Feng Y, Zhang XQ, Su LL. A supersensitive MSPQC bacterium sensor based on 16S rRNA and "DNA-RNA switch" [J]. Biosen Bioel, 2019, 5(7): 111302.
- [9] 王宇平,张建明. 毛细管电泳技术在微生物检测中的应用[J]. 中国环境卫生检疫杂志, 2014, 37(5): 357-360.
Wang YP, Zhang JM. Research on capillary electrophoresis in microorganism detection [J]. Chin Frontier Health Quarant, 2014, 37(5): 357-360.
- [10] 顾春华. MALDI-TOF MS 技术及其在食品微生物检测方面的应用[J]. 中国酿造, 2019, 38, (9): 24-27.
Gu CH. MALDI-TOF MS technique and its application challenges in food microbiology detection [J]. Chin Brew, 2019, 38(9): 24-27.
- [11] 郭肖杰. 液滴微流控技术在微生物分离分析中的应用[D]. 安徽: 中国科学技术大学, 2016.
Guo XJ. The Application of droplet microfluidic in microorganism separation and analysis [D]. Anhui: University of Science and Technology of China, 2016.
- [12] 陈永燕,李虹红. PCR 技术在食品微生物检测中的应用[J]. 现代食品, 2018, 2(17): 53-55.
Chen YY, Li HH. Application of PCR technology in food microbial detection [J]. Mod Food, 2018, 2(17): 53-55.
- [13] 李平兰. PCR 技术及其在食品微生物检测中的应用[J]. 食品科学, 1998, 19(7): 3-5.
Li PL. PCR technology and its application in food microbial detection [J]. Food Sci, 1998, 19(7): 3-5.
- [14] GB 4789.6-2016 食品安全国家标准 食品微生物检验 致泻大肠埃希氏菌检验[S].
GB 4789.6-2016 National food safety standard-Microbiological examination of food-Examination of purulent *Escherichia coli* [S].
- [15] GB 4789.42-2016 食品安全国家标准 食品微生物检验 诺如病毒检验[S].
GB 4789.6-2016 National food safety standard-Microbiological examination of food-Norovirus test [S].
- [16] 陈倩,骆海朋,赵春玲,等. 北京市食品中五种食源性致病菌污染状况调查研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13(5): 570-571.
Chen Q, Luo HP, Zhao CL, et al. Study investigation of contamination state of five foodborne pathogens in food of Beijing [J]. Chin J Health Lab Technol, 2003, 13(5): 570-571.
- [17] GB 4789.4-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验[S].
GB 4789.4-2016 National food safety standard-Microbiological examination of food-Salmonella test [S].
- [18] GB 4789.10-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验[S].
GB 4789.10-2016 National food safety standard-Microbiological examination of food-Staphylococcus aureus test [S].

- [19] GB 4789.7-2013 食品安全国家标准 食品微生物学检验 副溶血性弧菌检验[S].
GB 4789.7-2013 National food safety standard-Microbiological examination of food-*Vibrio parahaemolyticus* test [S].
- [20] GB 4789.30-2016 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 4789.30-2016 National food safety standard-Microbiological examination of food-*Listeria monocytogenes* test [S].
- [21] SNT 1870-2016 出口食品中食源性致病菌检测方法 实时荧光 PCR 法 [S].
SNT 1870-2016 Method for the detection of pathogen in food for export-Real-time PCR method [S].
- [22] 戴睿, 夏四清. PCR 技术在水体微生物检测中的应用[J]. 环境科学与技术, 2006, 29(9): 103-105.
Dai R, Xia SQ. Application of PCR technique in water microbial detection [J]. Environ Sci Technol, 2006, 29(9): 103-105.
- [23] Mullis K, Faloona F, Scharf S, *et al.* Specific enzymatic amplification of DNA *in vitro*: The polymerase chain reaction [J]. Cold Spring Harb Symp Quant Biol, 1986, 51(1): 263-273.
- [24] 徐世豪. 聚合酶链式反应技术及应用简介[J]. 解放军医学杂志, 1991, 16(6): 488.
Xu SH. Introduction to polymerase chain reaction technology and its application [J]. PLA Med J, 1991, 16(6): 488.
- [25] 陈诺, 唐善虎, 岑璐伽, 等. 多重 PCR 技术在食品微生物检测中的应用进展[J]. 中国畜牧兽医, 2010, 37(10): 72-75.
Chen N, Tang SH, Cen LJ, *et al.* Application of multiplex PCR in the detection of food microbes [J]. Chin Anim Husband Veter, 2010, 37(10): 72-75.
- [26] 吴清平, 周艳红, 蔡芷荷. 卫生微生物特异性显色培养基的研究与应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(1): 124-126.
Wu QP, Zhou YH, Cai ZH. Application and research of chromogenic culture media in detection and identification of sanitary microorganisms [J]. Chin J Health Lab Technol, 2005, 15(1): 124-126.
- [27] Manafi M. Fluorogenic and chromogenic enzyme substrates in culture media and identification tests [J]. Int J Food Microbiol, 1996, 31(3): 45-58.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



张焱鑫, 工程师, 主要研究方向为食品微生物检测。

E-mail: zhangyanxin@caiqtest.com



芦云, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: luyun@caiqtest.com