

可视化环介导恒温扩增法检测蔬菜产地 环境灌溉水源中沙门氏菌

吕新^{1,2}, 刘兰英^{1,2}, 陈丽华^{1,2}, 李玥仁^{1,2*}

(1. 福建省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 福州 350003;
2. 福建省农产品质量安全重点实验室, 福州 350003)

摘要: **目的** 建立可视化环介导恒温扩增体系(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)检测灌溉水源中沙门氏菌的分析方法。**方法** 以沙门氏菌侵袭蛋白 A (*invA*)基因序列设计特异性 LAMP 检测引物, 优化 LAMP 反应体系和反应条件后, 通过特异性实验、灵敏度实验对 LAMP 检测方法进行测试, 并与国标检测方法对比检测人工污染的灌溉水源样品, 验证该方法的准确性。**结果** 灵敏度实验结果显示本 LAMP 检测方法最低检出限为 7 CFU/25 μ L, 特异性实验结果显示本 LAMP 检测方法具有良好的特异性, 干扰菌株对本 LAMP 检测方法无影响。该方法在与国家标准检测方法对比, 检测人工污染的灌溉水源样品时具有相同的准确性, 检测灵敏度为 1×10^2 CFU/mL。**结论** 本研究建立了快速、准确、灵敏的恒温扩增体系, 可以应用于灌溉水源中沙门氏菌的快速检测。

关键词: 环介导等温扩增; 灌溉水源; 沙门氏菌

Determination of *Salmonella* in irrigated water of vegetable producing environment by visual loop-mediated isothermal amplification method

LV Xin^{1,2}, LIU Lan-Ying^{1,2}, CHEN Li-Hua^{1,2}, LI Yue-Ren^{1,2*}

(1. Institute of Agricultural Quality Standards and Testing Technology Research, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, China; 2. Fujian Key Laboratory of Agro-products Quality & Safety, Fuzhou 350003, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the detection of *Salmonella* in irrigated water by visual loop mediated isothermal amplification (LAMP). **Methods** One group of specific LAMP primers were designed based on the sequences of invasion protein A (*invA*) gene of *Salmonella*. After the LAMP reaction system and reaction conditions were optimized, the LAMP method for *Salmonella* detection was tested by specificity experiment and sensitivity test and verified by comparing with the national standard detection method through *Salmonella* detection in artificially contaminated irrigation water. **Results** The results of sensitivity test showed that the minimum limit of detection of the LAMP detection method was 7 CFU/25 μ L, the results of specificity test showed that the LAMP method had good specificity, and the genomic nucleic acid of interference strains had no effect on the LAMP method.

基金项目: 福建省省属公益类科研院所基本科研专项(2018R1018-6, 2019R1022-6)、院青年人才创新基金项目(YC2018-10)

Fund: Supported by the Special Scientific Research Funds for Public Scientific Research Institution of Fujian Province (2018R1018-6, 2019R1022-6), and Young Talent Innovation Fund of Fujian Academy of Agricultural Sciences (YC2018-10)

*通信作者: 李玥仁, 博士, 研究员, 主要研究方向为农产品质量安全。E-mail: yuerenli@yeah.net

*Corresponding author: LI Yue-Ren, Ph.D, Professor, Institute of Agricultural Quality Standards and Testing Technology Research, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, China. E-mail: yuerenli@yeah.net

Compared with the national standard method, the LAMP method had the same accuracy for *Salmonella* detection in artificially contaminated irrigation water, and the detection sensitivity for *Salmonella* was 1×10^2 CFU/mL.

Conclusion This study establishes a rapid, reliable and sensitive constant temperature amplification system, which can be applied to the rapid detection of *Salmonella* in irrigated water.

KEY WORDS: loop-mediated isothermal amplification; irrigated water; *Salmonella*

0 引言

沙门氏菌是全球范围内最重要的几种食源性病原微生物之一,由其引起的食物中毒占食物中毒病例的前2位^[1]。仅在2005—2011年,国外发生的19起因蔬菜中病原微生物污染而引起的食源性疾病案例中,有11起是由沙门氏菌污染引起的,占比高达58%^[2]。沙门氏菌也是我国食源性疾病的主要病原体,我国发生的细菌性食源性中毒事件中有80%左右由沙门氏菌引起^[3]。国内已有多篇研究文献发现胡萝卜、香菜、香葱、生菜等蔬菜中存在沙门氏菌污染风险^[4-6]。蔬菜的沙门氏菌污染可能发生在从农田到餐桌的每个环节^[7-8]。近年来深入研究蔬菜供应链主要环节中沙门氏菌污染风险和来源,发现沙门氏菌污染风险虽然贯穿供应链的每个主要环节,但仍以栽培环节,特别是灌溉水源中沙门氏菌污染风险最大,也是沙门氏菌检测和风险控制的重点^[8-11]。

目前蔬菜产地环境灌溉水源中沙门氏菌的检测仍采用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》^[12]方法,但该方法需要对待检样品进行预增菌、选择性分离、生化实验鉴定,操作烦琐,耗时费力,仅筛选出沙门氏菌可疑菌落需要3~4个工作日,后续的生化实验还需2~3个工作日^[13],满足不了大量样品时的快速检测的要求。而PCR技术和实时荧光定量PCR技术虽然检测速度快,但需要配套的PCR仪器,限制了该技术的推广应用。环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)自2000年由日本科学家NOTOMI^[14]发明报道后,因其可在恒温条件下(60~65℃)10 min内完成核酸的高倍扩增,

灵敏度比PCR技术高2~7个数量级,反应产物不仅可以通过琼脂糖电泳、浊度仪和定量PCR检测,也可以通过钙黄绿素、羧基萘酚蓝、SYBR Green I显色后观察^[15-16],从而成为继PCR技术之后又一更快速的检测技术,目前已成功应用于沙门氏菌、蜡样芽孢杆菌、副溶血弧菌、志贺氏菌等多种病原微生物的检测^[17-20]。

inv 基因簇是沙门氏菌编码吸附和侵袭上皮细胞表面蛋白的基因,与沙门氏菌对肠道上皮细胞的侵袭有关,包括*invA*、*invB*、*invC*、*invD*、*invE*等基因,其中以*invA*基因应用最为广泛。目前根据*invA*基因序列设计特异性引物已成功应用于乳品、肉类、蔬菜等食品中沙门氏菌的检测^[17-18,21],但国内尚未有关于灌溉水源中沙门氏菌LAMP检测方法的研究报道。为此,本研究针对沙门氏菌侵袭蛋白A(*invA*)基因序列设计特异性LAMP检测引物,建立基于钙黄绿素显色的蔬菜产地环境灌溉水源中沙门氏菌可视化快速检测方法,以期对蔬菜产地环境灌溉水源中沙门氏菌的快速检测和及时防控提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 菌株

本研究所用菌株见表1,7种菌株来自中国工业微生物菌种保藏管理中心(China's industrial culture collection, CICC),中国普通微生物菌种保藏管理中心(China general microbiological culture collection center, CGMCC)和美国典型培养物保存中心(American type culture collection, ATCC)。

表1 实验所用菌株
Table 1 Experimental bacteria strains

菌株名称	拉丁学名	菌株编号	菌株来源
鼠伤寒沙门氏菌	<i>Salmonella typhimurium</i>	1.1174	CGMCC
金黄色葡萄球菌	<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	ATCC
大肠埃希氏菌	<i>Escherichia coli</i>	25922	ATCC
产气肠杆菌	<i>Enterobacter aerogenes</i>	1.0876	CGMCC
大肠埃希氏菌 O157:H7	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	10907	CICC
单核细胞增生李斯特氏菌	<i>Listeria monocytogenes</i>	1.9136	CGMCC
英诺克李斯特氏菌	<i>Listeria innocua</i>	1.7730	CGMCC

1.2 试剂与材料

胰蛋白胨大豆肉汤(trypticase soy broth, TSB)、胰蛋白胨大豆琼脂(tryptose soya agar, TSA)(北京陆桥技术有限责任公司); DL2000 Marker、dNTP(日本 Takara 公司); *Bst* 2.0 DNA polymerase(美国 NEB 公司); 琼脂糖(电泳级, 西班牙 Biowest 公司), Betaine[生物试剂级, 生工生物工程(上海)股份有限公司]; $MnCl_2$ 、NaCl、Calcein(分析纯, 阿拉丁公司)。

灌溉水源样品采集自闽清县东桥镇绿辉蔬菜种植农场, 该农场灌溉水源为当地地面径流—主要为山泉和小溪汇聚而成, 具体灌溉水源理化指标如下: pH 为 7.32, 总氮(TN)为 0.85 mg/L, 总磷(TP)为 0.037 mg/L, 高锰酸钾指数为 10.51 mg/L, 氨氮(NH_4-N)为 0.35 mg/L。

1.3 仪器与设备

BIO-RAD™ S1000PCR 仪、BIO-RAD™ Gel Doc XR+凝胶成像系统(美国伯乐公司); DYY-6C 型电泳仪、DYCP-31DN 型电泳仪(北京六一仪器厂); HSW24 型恒温水浴锅、DHP-9082 恒温培养箱(上海恒一科学仪器有限公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 引物设计

根据 Genbank 登录的沙门氏菌特有侵袭蛋白 A (Invasion protein A, *invA*)基因序列(Accession: M90846.1), 采用 Primer Explorer 5.0 在线软件([http:// primerexplorer.jp/e/](http://primerexplorer.jp/e/))设计 3 对 LAMP 引物用于沙门氏菌检测, 包括 1 对外引物(F3/B3)、1 对内引物(FIP/BIP)和 1 对环引物(loop F/loop B)。引物交由上海生工生物工程公司合成。具体引物序列见表 2。

1.4.2 沙门氏菌培养、计数及基因组 DNA 提取

将 TSA 平板活化的沙门氏菌, 挑取单菌落接种于 5 mL TSB 液体培养基中, 37 °C、180 r/min 过夜培养, 以 1:100 比例转接于 100 mL TSB 液体培养基, 37 °C、180 r/min 培养 3 h 左右至细菌对数期($OD_{600} \approx 0.55$)。将菌液

用灭菌的生理盐水按 10 倍梯度依次稀释, 取 100 μ L 涂于 TSA 平板, 倒置 37 °C 培养 18~24 h 计数。

采用热裂解法提取沙门氏菌 DNA 模板, 取 1 mL 沙门氏菌菌液 10000 r/min 离心 5 min, 弃上清液, 沉淀重悬于 0.5 mL 生理盐水, 加入 0.5 mL 2 \times TZ 裂解液^[22], 于 99.5 °C 加热 10 min, 冰上冷却 2 min 后, 在 10000 r/min 离心 5 min, 取上清液即为沙门氏菌 DNA 模板, -20 °C 保存备用。

1.4.3 LAMP 反应体系和反应条件优化

针对 LAMP 反应体系中 dNTPs 浓度、 $MgSO_4$ 浓度和 Betaine 浓度, 反应条件中反应温度和反应时间进行优化, 其中 dNTPs 终浓度分别为 0.8、1.2、1.6、2.0、2.4 μ mol/L, $MgSO_4$ 终浓度分别为 2、4、6、8、10、12 mmol/L, Betaine 终浓度分别为 0.6、0.8、1.2、1.4、1.6 mol/L; 反应温度分别设置 60、61、62、63、64、65、66、67 °C, 反应时间分别为 30、40、50、60、70、80、90 min。选用 50 μ mol/L Calcein-500 μ mol/L $MnCl_2$ 作为指示剂^[23], 阳性反应显绿色, 阴性反应显橘黄色, 每个因子设置 3 个重复, 以确定最佳反应体系和反应条件。

1.4.4 LAMP 反应灵敏度检测

以 10 倍递减将沙门氏菌浓度稀释为 $7 \times 10^8 \sim 7 \times 10^2$ CFU/mL 7 个浓度, 以热裂解法提取沙门氏菌 DNA, 然后以不同浓度的沙门氏菌 DNA 为模板, 对 LAMP 反应灵敏度进行检测。结果直接肉眼观察, 阳性反应显绿色, 阴性反应显橘黄色, 并在 1.5% 琼脂糖凝胶电泳上检测。

1.4.5 LAMP 反应特异性检测

分别以鼠伤寒沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌、产气肠杆菌、大肠埃希氏菌 O157:H7、单核细胞增生李斯特氏菌和英诺克李斯特氏菌株为材料, 以热裂解法制备各菌株 DNA, 验证所建立 LAMP 检测方法的特异性。以各菌株的 DNA 为模板, 采取已优化的反应体系和条件进行特异性分析, 反应结束后, 以管内颜色变化判断阴阳性, 阳性为绿色, 阴性为橘黄色; 或将扩增产物在 1.5% 琼脂糖电泳上检测, 阳性反应可观察到特征性梯形带, 阴性反应则没有出现扩增条带。

表 2 环介导等温扩增引物
Table 2 Primers of loop-mediated isothermal amplification

引物名称	序列
FIP	5'-GCGCGGCATCCGCATCAATATGCCCGGTAAACAGATGAGT-3'
BIP	5'-GAACGGCGAAGCGTACTGGACATCGCACCGTCAAAGGAA-3'
F3	5'-CGGCCCGATTTTCTCTGG-3'
B3	5'-CGGCAATAGCGTCACCTT-3'
loop F	5'-GGCCTTCAAATCGGCATCAAT-3'
loop B	5'-AAGGAAAGCCAGCTTTACG-3'

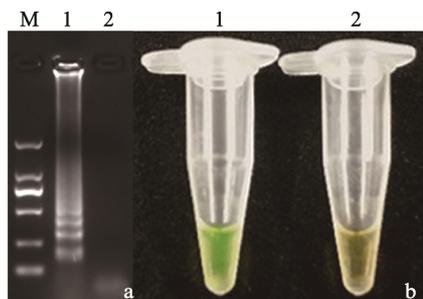
1.4.6 LAMP 检测方法与国家标准检测方法对比验证

取 1 mL 稀释至适宜浓度的沙门氏菌菌液至 24 mL 经国家标准检测为沙门氏菌阴性的灌溉水源样品,全部加入到 225 mL 蛋白胨缓冲水(peptone buffer water, BPW)的无菌均质袋中,以制备含沙门氏菌浓度为 0 、 1×10^2 、 4×10^2 、 1×10^3 、 4×10^3 、 1×10^4 、 4×10^4 CFU/mL 的人工污染灌溉水源样品。不同沙门氏菌浓度的人工污染灌溉水源样品各制备 1 份,其中 1 份置 37°C 预增菌 4 h 后,取 1 mL 预增菌液以热裂解法提取沙门氏菌 DNA,用于灌溉水源中沙门氏菌可视化 LAMP 检测,另外 1 份采用国家标准方法(GB 4789.4—2016《食品微生物学检验沙门氏菌检验》)进行检测^[12],对比验证所建立的灌溉水源中沙门氏菌可视化 LAMP 检测方法的准确性。

2 结果与分析

2.1 LAMP 检测方法的建立

通过优化反应温度和时间,确定 LAMP 最适反应温度为 65°C ,反应时间为 1 h。优化后灌溉水源中沙门氏菌 LAMP 检测最佳反应体系 25 μL 包括: 2.5 μL $10 \times$ Isothermal Amplification Buffer, 1.4 mmol/L dNTPs, 0.2 $\mu\text{mol/L}$ F3-B3, 1.6 $\mu\text{mol/L}$ FIP-BIP, 0.4 $\mu\text{mol/L}$ loop F-loop B, 0.8 mol/L Betaine, 6.0 mmol/L MgSO_4 , 8 U *Bst*2.0 DNA polymerase, 50 $\mu\text{mol/L}$ Calcein 和 500 $\mu\text{mol/L}$ MnCl_2 , DNA 模板 1 μL , 灭菌超纯水补足 25 μL 体积。优化的 LAMP 反应效果如图 1 所示。



注: a: LAMP 产物琼脂糖电泳检测结果;
b: LAMP 产物钙黄绿素显色结果。

M: DL2000 DNA Marker; 1: 鼠伤寒沙门氏菌; 2: 阴性对照。

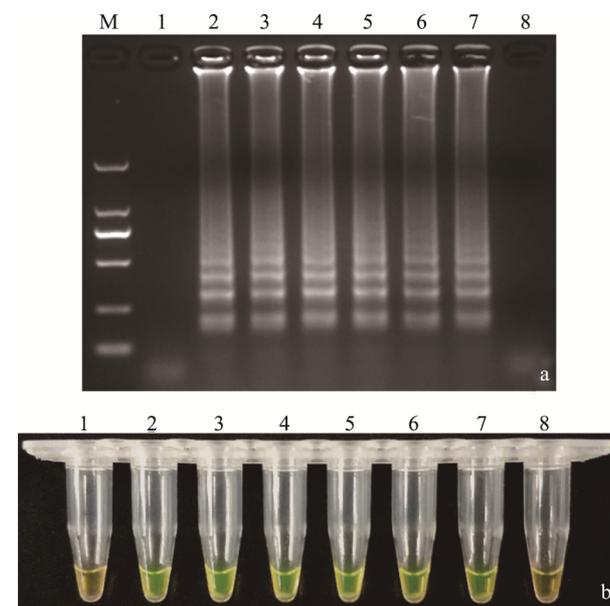
图 1 LAMP 体系检测沙门氏菌

Fig.1 Detection of *Salmonella* by LAMP system

2.2 灵敏度检测结果

分别以 7 个不同浓度沙门氏菌 DNA [$(7 \times 10^8 \sim 7 \times 10^2)$ CFU/mL] 为模板进行扩增,验证 LAMP 体系的灵敏度,琼脂糖凝胶电泳检测结果显示,在沙门氏菌 DNA 浓度为 $(7 \times 10^3 \sim 7 \times 10^8)$ CFU/mL 时,即 $7 \sim 7 \times 10^5$ CFU/25 μL 的模板

DNA 均可以出现 LAMP 产物特有的梯形条带(图 2a),而当沙门氏菌 DNA 浓度小于 7 CFU/25 μL 时没有出现任何条带。可视化显色结果与琼脂糖凝胶电泳结果一致(图 2b),说明 LAMP 反应体系可以检测到 7 CFU/25 μL 的沙门氏菌 DNA。



注: a: LAMP 产物琼脂糖电泳检测结果; b: LAMP 产物钙黄绿素显色结果。

M: DL2000 DNA Marker; 1: 阴性对照; 2-8: 25 μL 反应体系中分别含有 7×10^5 、 7×10^4 、 7×10^3 、 7×10^2 、 7×10^1 、7、0.7 CFU。

图 2 LAMP 方法检测沙门氏菌的灵敏度

Fig.2 Sensitivity analysis of LAMP assay in detection of *Salmonella*

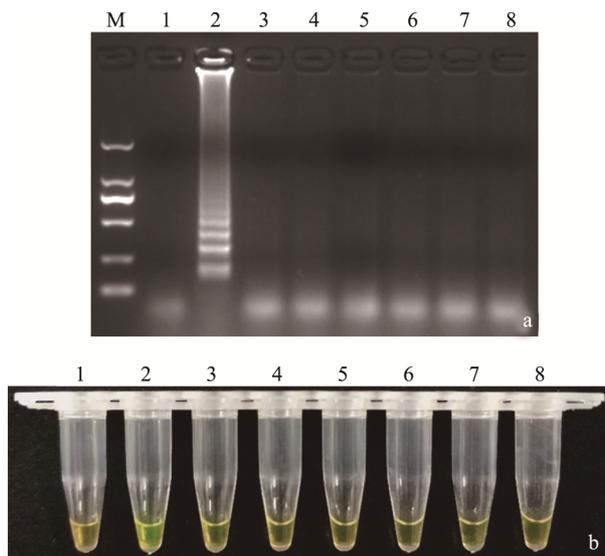
2.3 特异性检测结果

分别以鼠伤寒沙门氏菌菌株和非沙门氏菌菌株的 DNA 为模板进行 LAMP 反应特异性分析,结果表明,在 calcein- MnCl_2 指示剂的作用下, 65°C 温育 1 h 后,鼠伤寒沙门氏菌 LAMP 反应产物显绿色,而供试 6 个非沙门氏菌菌株的 LAMP 反应产物均显橘黄色(图 3a)。进一步取 2 μL 扩增产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测,结果除鼠伤寒沙门氏菌 LAMP 扩增产物出现梯形条带外,其他 6 个菌株均未出现任何条带(图 3b)。结果表明,本研究所建立的 LAMP 检测方法对沙门氏菌具有良好的特异性。

2.4 对比验证结果

为验证所建立的灌溉水源中沙门氏菌可视化 LAMP 检测方法的准确性,人工模拟沙门氏菌污染灌溉水源样品

经 37 °C 预增菌 4 h, 然后提取样品细菌总 DNA 进行扩增检测。实验分别设置 0、 1×10^2 、 4×10^2 、 1×10^3 、 4×10^3 、 1×10^4 、 4×10^4 CFU/mL 7 个不同沙门氏菌浓度梯度进行 LAMP 扩增检测, 见表 3。验证结果见表 3, LAMP 扩增检测 100 CFU/mL 的人工模拟沙门氏菌污染灌溉水源样品, 3 次重复检测实验均出现阳性结果, 与国家标准法(GB 4789.4—2016《食品微生物学检验沙门氏菌检验》)^[12]检测结果一致。结果表明, 本研究所建立的 LAMP 检测方法具有良好的准确性。



注: a: LAMP 产物琼脂糖电泳检测结果; b: LAMP 产物钙黄绿素显色结果。

M: DL2000 DNA Marker; 1: 阴性对照; 2: 鼠伤寒沙门氏菌; 3: 金黄色葡萄球菌; 4: 大肠埃希氏菌; 5: 产气肠杆菌; 6: 大肠埃希氏菌 O157:H7; 7: 单核细胞增生李斯特氏菌; 8: 英诺克李斯特氏菌。

图 3 LAMP 方法检测沙门氏菌的特异性

Fig.3 Specificity analysis of LAMP assay in detection of *Salmonella*

表 3 2 种方法对比检测沙门氏菌污染灌溉水源样品结果
Table 3 Comparison of results of detection of irrigated water for *Salmonella* by 2 different methods

方法	沙门氏菌浓度/(CFU/mL)						
	0	1×10^2	4×10^2	1×10^3	4×10^3	1×10^4	4×10^4
国标法	-	+	+	+	+	+	+
LAMP 法	-	+	+	+	+	+	+

注: +表示阳性结果, -表示阴性结果。

3 结 论

基于 LAMP 的快速检测方法与普通 PCR 相比具有更高的灵敏度和视觉判断性的优点。沙门氏菌侵袭蛋白 A (*invA*) 基因是最常用的沙门氏菌分子检测靶标, 根据 *invA* 基因序列已成功开发出多个沙门氏菌分子检测引物。HARA-KUDO 等^[24]以 *invA* 序列为靶点设计 6 条特异性引物对 9 种不同血清型沙门氏菌进行 LAMP 检测, 可以检出沙门氏菌最低浓度为 2.2 CFU/tube; 张宏伟等^[25]根据 *invA* 序列设计了 4 条沙门氏菌 LAMP 检测引物, 在食品样品中沙门氏菌最低检出限为 1.5 CFU/100 g; 王瑾等^[18]利用 *invA* 区域设计一组 LAMP 引物, 采用实时荧光环介导等温扩增技术, 可检测沙门氏菌最低浓度为 6 CFU/tube, 人工污染鸡肉的检出限为 450 CFU/g。本研究根据沙门氏菌侵袭蛋白 A (*invA*) 基因序列设计特异性 LAMP 引物, 建立一种基于颜色判定的简单、快速和灵敏的灌溉水源中沙门氏菌的快速检测方法, 其检测灵敏度可达 7 CFU/25 μ L。采用该 LAMP 方法对人工污染的灌溉水源样品中与国家标准检测方法对比验证, 结果表明 LAMP 检测结果与国家标准检测方法结果一致, 说明该方法能成功应用于灌溉水源中沙门氏菌的快速检测, 可为灌溉水源中沙门氏菌污染的及时防控提供技术支撑。

快速、经济地从样品中提取高质量和高产量的基因组 DNA 是进行 LAMP 快速检测的前提。传统的细菌基因组 DNA 提取方法多采用十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)方法, 虽然 DNA 浓度和纯度均较高, 但操作步骤复杂, 耗时长, 且提取过程中需要用到酚、氯仿等对人体有害的有机溶剂。为避免 DNA 提取中有毒、有害的有机溶剂, 国内外开发了多种细菌基因组 DNA 提取试剂盒, 这些试剂盒提取时间短, 操作步骤简单, 提取的 DNA 质量也较高, 但价格普遍昂贵, 在面对大量待检样品时将无疑大幅增加检测成本。而在本研究中采用热裂解法提取沙门氏菌基因组 DNA, 该方法更加经济、快捷, 单个样品的提取时间可控制在 10 min 内, 且只需台式离心机等简单仪器就可完成提取操作。

本研究成功建立了灌溉水源中沙门氏菌可视化 LAMP 快速检测方法, 弥补了国家标准检测方法和 PCR 方法检测灌溉水源中沙门氏菌的不足, 整个检测过程用时约 7 h, 可在 1 个工作日获得检测结果, 且整个反应在恒温水浴锅内便可完成, 检测结果通过反应管指示剂的颜色变化可直接肉眼判断, 不需要专门的检测仪器, 后续若结合灌溉水源中沙门氏菌快速富集技术, 将使灌溉水源中沙门氏菌的田间检测应用成为可能。

参考文献

- [1] YANG B, QU D, ZHANG X, *et al.* Prevalence and characterization of *Salmonella* serovars in retail meats of marketplace in Shaanxi, China [J]. *Int J Food Microbiol*, 2010, 141(1–2): 63–72.
- [2] OLAIMAT AN, HOLLEY RA. Factors influencing the microbial safety of fresh produce: a review [J]. *Food Microbiol*, 2012, 32(1): 1–19.
- [3] WANG Y, YANG B, WU Y, *et al.* Molecular characterization of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis on retail raw poultry in six provinces and two National cities in China [J]. *Food Microbiol*, 2015, 46: 74–80.
- [4] 方敏, 郑华英, 郭爱玲, 等. 自市售生食蔬菜胡萝卜中检出沙门菌报告 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2006, 16(12): 1537.
- FANG M, ZHENG HY, GUO AL, *et al.* Report on detection of *Salmonella* in carrots [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2006, 16(12): 1537.
- [5] 李秀桂, 黄彦, 唐振柱, 等. 南宁市生食蔬菜中病原菌污染监测 [J]. *应用预防医学*, 2008, 14(6): 361–363.
- LI XG, HUANG Y, TANG ZZ, *et al.* Monitoring of pathogen contamination in raw vegetables in Nanning [J]. *J App Prev Med*, 2008, 14(6): 361–363.
- [6] 吕新, 陈丽华, 李玥仁. 福州市生食蔬菜沙门氏菌污染状况分析 [J]. *福建农业学报*, 2016, 31(3): 297–300.
- LV X, CHEN LH, LI YR. *Salmonella* contamination of raw vegetables in Fuzhou [J]. *Fujian J Agric Sci*, 2016, 31(3): 297–300.
- [7] SANTANA AS, BARBOSA MS, DESTRO MT, *et al.* Growth potential of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in nine types of ready-to-eat vegetables stored at variable temperature conditions during shelf-life [J]. *Int J Food Microbiol*, 2012, 157(1): 52–58.
- [8] ILIC S, RAJIC A, BRITTON CJ, *et al.* A scoping study characterizing prevalence, risk factor and intervention research, published between 1990 and 2010, for microbial hazards in leafy green vegetables [J]. *Food Control*, 2012, 23(1): 7–19.
- [9] SCALLAN E, HOEKSTRA RM, MAHON BE, *et al.* An assessment of the human health impact of seven leading foodborne pathogens in the United States using disability adjusted life years [J]. *Epidemiol Infect*, 2015, 143(13): 2795–2804.
- [10] PARKER JS, WILSON RS, LEJEUNE JT, *et al.* An expert guide to understanding grower decisions related to fresh fruit and vegetable contamination prevention and control [J]. *Food Control*, 2012, 26(1): 107–116.
- [11] SCALLAN E, HOEKSTRA RM, ANGULO FJ, *et al.* Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens [J]. *Emerg Infect Dis*, 2011, 17(1): 7–15.
- [12] 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—Food microbiological examination: *Salmonella* [S].
- [13] 朱胜梅, 吴佳佳, 徐驰, 等. 环介导等温扩增技术快速检测沙门菌 [J]. *现代食品科技*, 2008, 24(7): 725–730.
- ZHU SM, WU JJ, XU C, *et al.* Rapid detection of *Salmonella* spp. by loop-mediated isothermal amplification method [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2008, 24(7): 725–730.
- [14] NOTOMI T, OKAYAMA H, MASUBUCHI H, *et al.* Loop-mediated isothermal amplification of DNA [J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(12): E63.
- [15] 戴婷婷, 陆辰晨, 郑小波. 环介导等温扩增技术在病原体检测上的应用研究进展 [J]. *南京农业大学学报*, 2015, 38(5): 695–703.
- DAI TT, LU CC, ZHENG XB. Application research progress of loop-mediated isothermal amplification in the pathogenic microorganism [J]. *J Nanjing Agric Univ*, 2015, 38(5): 695–703.
- [16] 魏栢元. 环介导等温扩增技术在食源性沙门氏菌检测中的应用研究进展 [J]. *江苏农业科学*, 2020, 48(3): 80–85.
- WEI ZY. Application research progress of loop-mediated isothermal amplification in detection of food borne *Salmonella* [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 2020, 48(3): 80–85.
- [17] 张童, 徐之雯, 时逸莹, 等. 牛乳中蜡芽孢杆菌高效环介导扩增检测方法建立 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(11): 3454–3459.
- ZHANG T, XU ZW, SHI YY, *et al.* Establishment of efficient loop mediated amplification method for *Bacillus cereus* detection in milk [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(11): 3454–3459.
- [18] 王瑾, 林丽萍, 邵彦彦, 等. 实时荧光环介导等温扩增快速检测鸡肉中沙门氏菌 [J]. *食品科学*, 2016, (24): 170–174.
- WANG J, LIN LP, GAO YY, *et al.* Development and application a real-time loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of *Salmonella enteric* ser. enteritis retrieved from chicken [J]. *Food Sci*, 2016, (24): 170–174.
- [19] 贾雅菁, 付博宇, 王羽, 等. 实时荧光环介导等温扩增技术检测牛乳中的蜡芽孢杆菌 [J]. *食品科学*, 2016, (6): 184–189.
- JIA YJ, FU BY, WANG Y, *et al.* Detection of *Bacillus cereus* in milk by real-time fluorescence loop-mediated isothermal amplification method [J]. *Food Sci*, 2016, (6): 184–189.
- [20] 丁盛, 陈刚毅, 李美, 等. 基于 LAMP 的病原菌一步等温可视化检测 [J]. *应用与环境生物学报*, 2019, 25(5): 1215–1221.
- DING S, CHEN GY, LI M, *et al.* One-step isothermal visual detection of pathogens based on LAMP [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2019, 25(5): 1215–1221.
- [21] WU GP, LEVIN RE. Rapid and sensitive detection of *Salmonella enterica* ser. enteritis retrieved from lettuce using a real-time loop-mediated amplification isothermal assay without enrichment [J]. *Food Biotechnol*, 2015, 29(3): 263–275.
- [22] ABOLMAATY A, VU C, OLIVER J, *et al.* Development of a new lysis solution for releasing genomic DNA from bacterial cells for DNA

amplification by polymerase chain reaction [J]. *Microbios*, 2000, 101(400): 181.

(责任编辑: 王欣)

[23] 陳麗璇. 鈣黃綠素(Calcein)於環形核酸增幅法(LAMP)之應用評估[J]. 家畜衛試所研報, 2011, 46: 1-8.

CHEN LH. Application of calcein in loop-mediated isothermal amplification reaction [J]. *Exp Rep AHRI*, 2011, 46: 1-8.

[24] HARA-KUDO Y, YOSHINO M, KOJIMA T, *et al.* Loop-mediated isothermal amplification for the rapid detection of *Salmonella* [J]. *Fems Microbiol Letters*, 2005, 253(1): 155-161.

[25] 张宏伟, 叶露萌, 彭杨思, 等. 利用环介导等温扩增技术对沙门氏菌进行检测[J]. *食品研究与开发*, 2009, 30(5): 115-118.

ZHANG HW, YE LM, PENG YS, *et al.* Development of LAMP detection of *Salmonella* in food [J]. *Food Res Dev*, 2009, 30(5): 115-118

作者简介



吕新, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为农产品质量安全。

E-mail: lux_ing@126.com



李玥仁, 博士, 研究员, 主要研究方向为农产品质量安全。

E-mail: yuerenli@yeah.net

“食品蛋白质结构与功能性质”专题征稿函

蛋白质是食品的重要组成成分, 不仅具有极高的营养价值, 而且具有多种重要的功能特性。加工过程中, 不同蛋白质的结构、功能特性会发生变化, 进而影响食品品质。

鉴于此, 本刊特别策划了“食品蛋白质结构与功能性质”专题, 由河南工业大学粮油食品学院刘昆仑教授担任专题主编。专题围绕但不限于动植物源食品蛋白质的组成、结构与性质, 蛋白质结构修饰技术, 生物活性蛋白与活性肽, 蛋白质的功能性质(如表面性质、水化性质、凝胶性质等), 蛋白质在食品加工中的可利用性, 食品加工过程中蛋白质的变化等方面, 或您认为有意义的相关领域开展论述和研究。

鉴于您在该领域丰富的研究经历和突出的学术造诣, 本刊主编吴永宁研究员、专题主编刘昆仑教授及编辑部全体成员特别邀请您为本专题撰写稿件。研究论文、综述、研究简报均可, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。

本专题计划于 2021 年 4 月出版, 请您于 2021 年 2 月 28 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

希望您通过各种途径宣传此专题, 并积极为本专题推荐稿件和约稿对象。

同时, 希望您能够推荐该领域的相关专家并提供电话和 E-mail。

感谢您的参与和支持!

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com(注明食品蛋白质结构与功能性质专题)

E-mail: jfoodsq@126.com(注明食品蛋白质结构与功能性质专题)

《食品安全质量检测学报》编辑部