

环介导等温扩增技术检测不同乳制品 常见食源性致病菌

徐文文, 宋惠月, 梁玉林, 刘 秀*, 尹建军, 宋全厚, 丁梦璇, 周鹏飞

(中国食品发酵工业研究院有限公司, 北京 100015)

摘要: **目的** 验证环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)试剂和仪器在不同乳制品常见食源性致病菌检测中的应用效果。**方法** 针对不同乳制品中常见食源性致病菌, 运用 LAMP 建立便捷、快速、高效地检测方法, 并以实验室储备菌株及人工污染乳制品样品评价 LAMP 检测引物试剂和仪器在快速筛查中的适用性。**结果** 选用的引物试剂仅对目标菌株核酸产生扩增, 其余菌株无扩增, 扩增检测灵敏度均达 10^1 fg/ μ L。用国家标准法和 LAMP 方法同时检测婴幼儿奶粉、奶酪样品, 检测结果完全一致, 对发酵奶样品进行检测时大肠杆菌 O157:H7 和金黄色葡萄球菌也呈现出良好的检测结果。检测总耗时不超过 30 min。**结论** 采用的 GenieII 实时荧光检测仪操作简单, 便携轻便, 可实时监测不同乳制品中的大肠杆菌 O157:H7、金黄色葡萄球菌及沙门氏菌污染, 特异性强、敏感度高, 适合企业批量现场快速检测。

关键词: 等温扩增; 乳制品; 食源性致病菌; 实时荧光; 现场快速检测

Detection of common food borne pathogens in different dairy products by loop-mediated isothermal amplification

XU Wen-Wen, SONG Hui-Yue, LIANG Yu-Lin, LIU Xiu*, YIN Jian-Jun, SONG Quan-Hou,
DING Meng-Xuan, ZHOU Peng-Fei

(China National Research Institute of Food & Fermentation industries Co., Ltd., Beijing 100015, China)

ABSTRACT: Objective To verify the application effect of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) detection reagents and instruments for the detection of common food borne pathogens in different dairy products. **Methods** Aiming at common foodborne pathogens in different dairy products, LAMP was used to establish a convenient, rapid and efficient detection method. The applicability of LAMP detection primer reagents and instruments in rapid screening were evaluated by laboratory reserved strains and artificially contaminated dairy samples. **Results** The selected primers could only amplify the nucleic acid of the target strain, and the other strains had no amplification. The detection sensitivity of amplification was 10^1 fg/ μ L. The national standard method and LAMP method were used to detect infant milk powder and cheese samples at the same time, and the detection results were completely consistent. When the fermented milk samples were detected, *Escherichia coli* O157: H7 and *Staphylococcus aureus* also showed good detection results. The total test time was less than 30 min. **Conclusion** The genie II real-time fluorescence detector is easy to operate and portable, and has strong specificity, high sensitivity, fast and accurate. It can monitor *Escherichia coli* O157: H7, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* in

*通信作者: 刘秀, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: xiuliu1979@163.com

*Corresponding author: LIU Xiu, Senior Engineer, China National Research Institute of Food & Fermentation industries Co., Ltd, Beijing 100015, China. E-mail: xiuliu1979@163.com

different dairy products in real time, which is suitable for enterprises to conduct rapid detection in batches.

KEY WORDS: isothermal amplification; dairy products; foodborne pathogens; real-time fluorescence; on-site rapid detection

0 引言

乳制品是人们日常生活中的常见品。据国家统计局统计结果显示, 2010—2017 年, 全国奶类产量在 3650~3870 万 t 间波动; 2018—2019 年奶类产量趋于稳定, 均在 3050 万 t 以上^[1]。巨大的生产消费在带动经济发展的同时对乳制品安全问题提出要求。据了解, 目前国内外对乳制品安全问题的关注主要集中在大肠杆菌 O157:H7^[2-3]、金黄色葡萄球菌^[4-6]、沙门氏菌^[7-8]污染。大肠杆菌 O157:H7 是世界范围内第一大食源性致病菌, 其不仅能通过食物、饮用水传播, 也可通过人际接触传播, 一旦感染, 或将产生严重疫情。金黄色葡萄球菌和沙门氏菌虽无法通过人际传播, 但其危害性也不容小觑。美国每年因金黄色葡萄球菌引起的食物中毒事件占总细菌性食物中毒事件 33%^[9], 沙门氏菌污染事件在 40000 例以上^[10], 因此发展一种高效快速的食源性致病菌检测方法对于预防和监控食源性疾病至关重要。

常见的乳制品食源性致病菌检测多采用传统培养法^[11-13]或聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR)^[14-15]进行。传统培养法为国家标准方法, 方法体系较成熟, 但耗时耗力, 无法及时为企业质量风险预警; PCR 技术虽有效解决了上述问题, 但对实验室和人员素质要求高, 难以在车间基层得到有效开展。随着分子生物学技术的发展, 环介导等温扩增技术 LAMP 因其特异性强、灵敏度高、实施性好的优点被广泛研究^[16-18]。本研究利用实验室的食源性致病菌多通道荧光检测系统 GenieII 实时荧光检测仪, 建立不同乳制品中大肠杆菌 O157:H7、金黄色葡萄球菌及沙门氏菌等温扩增方法, 并分别以国家标准为基准, 进行特异性、灵敏度、人工污染样品验证, 以此评价上述引物试剂和仪器效果。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

恒温荧光快速扩增系统试剂 (isothermal master mix, IMM) (英国 Optigene Limited 公司); 平板计数琼脂 (plate count agar, PCA)、脑心浸液肉汤 (brain heart infusion broth, BHI) (北京路桥技术股份有限公司); 细菌 DNA 提取试剂盒、去离子水 (DNase/RNase-Free Deionized Water) (天根生化科技有限公司); LAMP 扩增引物 [英潍捷基 (上海) 贸易有限公司合成]。

本研究所用菌株包括大肠杆菌 O157:H7 (*Escherichia coli* O157:H7) CICC21530、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) CICC10201、沙门氏菌 (*salmonella*) CICC21483、阪崎克罗诺杆菌 (*Cronobacter sakazakii*) CICC21546、单增李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*) CMCC54001、溶血性链球菌 (*Streptococcus pyogenes*) CICC10373、副溶血性弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*) CICC21617、铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) ATCC 27853、痢疾志贺氏菌 (*Shigella dysenteriae*) CICC23829 (中国工业微生物菌种保藏管理中心)。

1.2 仪器与设备

G49194G 微量移液器、5804R 型离心机、5424 型离心机 (德国 Eppendorf 公司); SX-700 高压灭菌锅 (日本 Tomy Digital Biology 公司); CPA323S 精密天平 (德国 Sartorius 公司); VORTEX-5 涡旋仪 (Kylin-bell 公司); AC2-4S1 生物安全柜 (新加坡 Esco 公司); Genie II 等温扩增荧光检测仪 (英国 OptiGene Limited 公司)。

1.3 LAMP 检测引物信息收集

选取 3 种乳制品常见食源性致病菌, 包括大肠杆菌 O157:H7、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌。通过查找搜寻相关文献, 获得 LAMP 引物信息^[19-21]。

1.4 3 种食源性致病菌 LAMP 检测体系的建立

对每 1 种菌种 LAMP 引物试剂建立 LAMP 检测体系, 其中 12.5 μ L 总反应体系中包括 7.5 μ L IMM, 3.5 μ L 混合引物 (其中外引物 F3、B3 为 2.5 pmol, 内引物 FIP、BIP 为 20 pmol, 环引物 LF、LB 为 10 pmol) 及 1.5 μ L 基因组 DNA。反应条件为 65 $^{\circ}$ C, 30 min。

1.5 LAMP 引物试剂的评价

1.5.1 菌株活化及 DNA 提取

取大肠杆菌 O157:H7、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌及其他 6 种菌株接种于脑心浸液肉汤中, 36 $^{\circ}$ C 培养 24 h, 离心收集菌体。以灭菌生理盐水对所得菌体进行重悬, 充分混匀后取 1 mL 制备的样品溶液于离心机中 5000 r/min 离心 10 min, 收集菌体沉淀并按照细菌 DNA 提取试剂盒操作步骤提取基因组 DNA, -20 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用。

1.5.2 特异性

按照国家标准规定, 确认菌种, 同时对每一种引物试剂, 使用 9 种菌株核酸进行扩增测试, 分析每组体系所得结果, 评估引物试剂特异性。

1.5.3 灵敏度

将提取的核酸以去离子水为稀释液进行 1/10 梯度

稀释, 选取 10^0 fg/ μ L~ 10^2 pg/ μ L 梯度核酸进行检测, 确定检测灵敏度。

1.6 检测仪器的评估

研究使用 GenieII 实时荧光检测仪和 PCR 仪 2 种扩增仪器进行。其中 GenieII 实时荧光检测仪基于 LAMP 技术与实时荧光技术研发, 通过收集荧光积累变化显示扩增结果。反应仪器内置 16 通道, 一次可同时扩增检测 16 个样品, 锂电供应仪器动能, 内置操作系统, 可将数据直接导出。在核酸提取后, 比较 GenieII 实时荧光检测仪和 PCR 仪扩增检测时间、特异性和灵敏度判定结果, 评估 GenieII 实时荧光检测仪实用性。

1.7 引物组试剂和仪器的应用

分别以婴幼儿配方奶粉、奶酪、发酵奶作为基质制备人工污染样品, 每个样品制作 10 份, 其中 3 份作为阴性样品对照, 7 份加入 10^0 CFU/mL 浓度的待检测菌株(实际菌量通过培养法进行计数获得)作为污染样品, 发酵奶样品污染菌量可提高至 10^1 CFU/mL 浓度。

对以上样品进行国家标准法和 LAMP 法检测, 其中国家标准作为 LAMP 方法的基准; LAMP 法按照国家标准法进行预增菌后, 取 1 mL 进行 DNA 提取和扩增检测, 探讨引物试剂组和仪器的实际应用价值。

2 结果与分析

2.1 引物试剂组评估结果

2.1.1 特异性实验

引物特异性验证结果如表 1。3 种引物均只对对应菌株的核酸进行扩增, 对其余菌株核酸无扩增, 说明引物特异性好, 可以用于大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌的检测。

2.1.2 灵敏度实验

以去离子水为稀释液对提取的菌株核酸进行梯度稀释, 验证不同菌种的反应灵敏度, 结果见表 2。依托 GenieII 实时荧光检测仪进行的大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌 LAMP 核酸检测最低灵敏度依次为 53、30、20 fg/ μ L, 而依托 PCR 仪进行的 PCR 核酸检测最低灵敏度多在 10^2 fg/ μ L 及以上。

表 1 特异性实验结果
Table 1 Results of specific experimental

检测项目 实验核酸	引物			LAMP 耗时	PCR 耗时
	大肠杆菌引物 LAMP/PCR 法	金黄色葡萄球菌引物 LAMP/PCR 法	沙门氏菌引物 LAMP/PCR 法		
大肠杆菌	+/+	-/-	-/-		
金黄色葡萄球菌	-/-	+/+	-/-		
沙门氏菌	-/-	-/-	+/+		
阪崎肠杆菌	-/-	-/-	-/-		
单增李斯特菌	-/-	-/-	-/-	≤30 min	≥3 h
溶血性链球菌	-/-	-/-	-/-		
副溶血性弧菌	-/-	-/-	-/-		
铜绿假单胞菌	-/-	-/-	-/-		
痢疾志贺氏菌	-/-	-/-	-/-		

注: “+”表示检出, “-”表示未检出。

表 2 灵敏度实验结果
Table 2 Test results of sensitivity

大肠杆菌		金黄色葡萄球菌		沙门氏菌	
核酸浓度	LAMP/PCR 法	核酸浓度	LAMP/PCR 法	核酸浓度	LAMP/PCR 法
530 pg/ μ L	+/+	300 pg/ μ L	+/+	200 pg/ μ L	+/+
53 pg/ μ L	+/+	30 pg/ μ L	+/+	20 pg/ μ L	+/+
5.3 pg/ μ L	+/+	3 pg/ μ L	+/+	2 pg/ μ L	+/+
530 fg/ μ L	+/+	300 fg/ μ L	+/+	200 fg/ μ L	+/-
53 fg/ μ L	+/-	30 fg/ μ L	+/-	20 fg/ μ L	+/-
5.3 fg/ μ L	-/-	3 fg/ μ L	-/-	2 fg/ μ L	-/-

注: “+”表示检出, “-”表示未检出。

2.2 反应仪器评估结果

如表1、表2所示,以GenieII实时荧光检测仪和PCR仪对同一菌种进行扩增检测,结果与国家标准方法检测结果一致,特异性为100%,此外以GenieII实时荧光检测仪进行的实验通过读取荧光值扩增曲线直接判断检测结果,30 min以内即可完成目标菌株定性鉴定,扩增判定灵敏度在 10^1 fg/ μ L,而以PCR仪进行的实验在扩增结束后还需进行电泳、测序进而完成结果判定,检测时间需3 h以上,灵敏度也低于前者1~2个数量级。因此本研究采用GenieII实时荧光检测仪更适用于实时监控食源性致病菌,结果判定直观方便。

2.3 引物组试剂和仪器的应用结果

2.3.1 婴幼儿配方奶粉样品应用结果

按照操作步骤中3种食源性致病菌污染样品制备方

式,制备婴幼儿配方奶粉污染样,预增菌培养后分别进行LAMP快检设备检测 and 国家标准法检测。结果如表3所示, 10^0 CFU/mL浓度的大肠杆菌O157:H7、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌污染样品,经36 °C增菌培养12 h,快速检测设备检出结果和国家标准法检出结果一致,未出现假阳性、假阴性结果。

2.3.2 奶酪样品应用结果

按照操作步骤中3种食源性致病菌污染样品制备方式,制备奶酪污染样,预增菌培养后分别进行LAMP快检设备检测 and 国家标准法检测。结果如表4所示: 10^0 CFU/mL浓度的大肠杆菌O157:H7、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌污染样品,经36 °C增菌12 h,快速检测设备检出结果和国家标准法检出结果一致,未出现假阳性、假阴性结果。

表3 婴幼儿配方奶粉样品实验结果统计表
Table 3 Statistical table of experimental results of infant formula milk powder samples

样品编号	大肠杆菌 O157:H7	金黄色葡萄球菌	沙门氏菌
	LAMP 法/国家标准法	LAMP 法/国家标准法	LAMP 法/国家标准法
1号	+/+	+/+	-/-
2号	-/-	-/-	+/+
3号	-/-	+/+	-/-
4号	+/+	+/+	+/+
5号	+/+	+/+	+/+
6号	-/-	+/+	-/-
7号	+/+	-/-	+/+
8号	+/+	+/+	+/+
9号	+/+	-/-	+/+
10号	+/+	+/+	+/+

注:“+”表示检出,“-”表示未检出。

表4 奶酪样品实验结果统计表
Table 4 Statistical table of experimental results of cheese samples

样品编号	大肠杆菌 O157:H7	金黄色葡萄球菌	沙门氏菌
	LAMP 法/国标法	LAMP 法/国标法	LAMP 法/国标法
1号	+/+	+/+	-/-
2号	+/+	+/+	+/+
3号	-/-	+/+	+/+
4号	+/+	-/-	+/+
5号	+/+	+/+	-/-
6号	-/-	-/-	+/+
7号	+/+	+/+	-/-
8号	+/+	+/+	+/+
9号	+/+	-/-	+/+
10号	-/-	+/+	+/+

注:“+”表示检出,“-”表示未检出。

2.3.3 发酵奶样品应用结果

按照操作步骤中3种食源性致病菌污染样品制备方式,制备发酵奶污染样,预增菌培养后分别进行LAMP快速检测设备检测和国家标准法检测。结果如表5所示:10⁰ CFU/mL浓度的大肠杆菌O157:H7污染样品和金黄色葡萄球菌污染样品,经增菌12 h、18 h在快速检测设备上分别检出7个阳性,和国家标准法检出结果一致,未出现假阳性、假阴性结果;而10⁰ CFU/mL浓度的沙门氏菌污染样品,经36℃增菌12 h、18 h后在快检设备上均未检出。提高沙门氏菌量至10¹ CFU/mL,污染样品增菌18 h在快速检测设备上检出4个阳性,同时国家标准法检出7个阳性,快速检测法和国家标准法检出结果不尽相同。

3 结论与讨论

传统乳制品中的食源性致病菌检测技术检测周期长、操作复杂,培养后需进行镜检和生理生化实验进一步确认分型,难以满足现场快速检测需求。近年来,很多新兴检测技术被研究应用,尤其是LAMP技术,在现场快速检测和基层应用方面表现出巨大的潜力^[16-18]。LAMP技术是在等温条件下针对6~8个目标区域进行碱基配对对核酸链延伸,保证扩增结果特异性的同时减少了对精密温控设备的依赖性;此外LAMP技术检测耗时短,整个扩增过程30 min内即可完成,极大地提高了检测效率且灵敏度高,最低检出限可达1拷贝^[22],与同样依托核酸扩增进行检测的PCR相比,灵敏度相对提高10~100倍。

研究中运用实验室成熟的LAMP检测体系,对婴幼儿奶粉、奶酪、发酵奶中的大肠杆菌O157:H7、金黄色葡

萄球菌、沙门氏菌进行检测。经验证,引物特异性强、灵敏度高。以10份婴幼儿奶粉、奶酪污染样品进行应用检验,结果低浓度的微生物污染样品经增菌12 h,快速检测设备的检出效果与国家标准法检出效果一致,但建立的常见食源性致病菌检测方法在发酵奶微生物检测中显示不佳,或因发酵奶中本身存在一些抑菌因子,导致一般的食源性致病菌不容易在发酵奶中快速生长,其中大肠杆菌O157:H7和金黄色葡萄球菌相对于沙门氏菌抗性较强,因此大肠杆菌O157:H7污染样品和金黄色葡萄球菌污染样品经增菌12 h、18 h,快速检测设备的检出效果与国家标准法检出效果一致,而沙门氏菌污染量即便增加到10¹ CFU/mL,快速检测设备检出结果仍然不理想,表明快速检测设备在低浓度沙门氏菌污染的发酵奶样品存在一定的漏检风险,后期需进一步优化。

研究中使用的GenieII实时荧光检测仪扩增检测时间短、灵敏度高、准确度高,能够在保证核酸等温扩增的同时实时监控荧光值累计变化,判断反应结果,减少了扩增后续检测操作。同时,在核酸扩增检测过程中仅需一次核酸加样,避免了反复开盖导致的核酸污染风险。仪器轻便,便于携带,一键式操作过程降低了对实验室和人员专业技术要求,根本上解决了仪器复杂和基层应用困难等问题,且仪器内含16个检测孔,可同时扩增检测16个样品,适合进行现场快速批量检测。

综上所述,基于LAMP试剂和GenieII实时荧光检测仪建立的不同乳制品常见食源性致病菌LAMP检测方法耗时短、灵敏度高、特异性强、准确性好,可广泛应用于婴幼儿配方奶粉、奶酪样品中常见食源性致病菌的微生物检测,为乳制品企业风险评估提供保障。

表5 发酵奶样品实验结果统计表
Table 5 Statistical table of experimental results of fermented milk samples

样品编号	大肠杆菌 O157:H7	金黄色葡萄球菌	沙门氏菌
	快检法/国标法	快检法/国标法	快检法/国标法
1号	+/+	+/+	-/-
2号	-/-	+/+	-/-
3号	+/+	-/-	+/+
4号	+/+	+/+	+/+
5号	+/+	+/+	-/+
6号	+/+	-/-	+/+
7号	-/-	+/+	+/+
8号	+/+	+/+	-/+
9号	+/+	+/+	-/-
10号	-/-	-/-	-/+

注:“+”表示检出,“-”表示未检出。

参考文献

- [1] 周子萸. 破除奶周期如何发力[J]. 农业知识: 科学养殖, 2017, (10): 20-20.
ZHOU ZY. How to break the milk cycle [J]. Agric Knowl: Sci Breed, 2017, (10): 20-20.
- [2] PAUL M, VAN HEKKEN DL, BREWSTER JD. Detection and quantitation of *Escherichia coli* O157 in raw milk by direct qPCR [J]. Int Dairy J, 2013, 32(2): 53-60.
- [3] 黄丽, 李玲, 杨攀, 等. PCR法检测水牛乳中致病性大肠杆菌 O157:H7 的研究[J]. 中国乳品工业, 2016, 44(4): 46-51.
HUANG L, LI L, YANG P, et al. Rapid PCR detection of *Escherichia coli* O157: H7 in buffalo milk [J]. China Dairy Ind, 2016, 44(4): 46-51.
- [4] YANG Y, SU XD, YUAN YW, et al. Detection of *Staphylococcus aureus* in dairy products by polymerase chain reaction assay [J]. Agric Sci China, 2007, 6(7): 857-862.
- [5] HEILO M, AL-MUSAWI J, TALIB M, et al. Culture and molecular detection of *Staphylococcus aureus* in dairy products of ahwaz [J]. Am J Plant Sci, 2014, 14(2): 103-107.
- [6] 周巍, 李月华, 孙勇, 等. 微滴式数字 PCR 技术定量检测发酵乳中金黄色葡萄球菌[J]. 食品科学, 2017, 38(16): 287-291.
ZHOU W, LI YH, SUN Y, et al. Quantitative detection of *Staphylococcus aureus* in yogurt by droplet digital PCR assay [J]. Food Sci, 2017, 38(16): 287-291.
- [7] SINGH J, BATISH VK, GROVER S. Simultaneous detection of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in dairy products using real time PCR-melt curve analysis [J]. J Food Sci Technol, 2011, 49(2): 234-239.
- [8] YUE M, ZHAO X, et al. *Salmonella* detection in powdered dairy products using a novel molecular tool [J]. J Dairy Sci, 2017, 100(5): 3480-3496.
- [9] 舒燕. 金黄色葡萄球菌 Fe 摄取调节蛋白 *SirA* 的原核表达及其功能的初步研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2011.
SHU Y. Prokaryotic expression of iron-uptake regulated protein *SirA* of *Staphylococcus aureus* and the characterization of its role in *Staphylococcus aureus* pathogenicity [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2011.
- [10] 刘刚. 做好动物疫病防控, 保证食品安全[J]. 中国畜牧兽医, 2014, 30(2): 16-17.
LIU G. Prevention and control of animal diseases to ensure food safety [J]. Chin Anim Husbandry Vet Med, 2014, 30(2): 16-17.
- [11] WANG H, YU HS, PIAO CH, et al. Optimization of culture medium for recombinant *Escherichia coli* pucrf using response surface analysis [J]. Food Sci, 2011, 32(9): 225-230.
- [12] 张哲, 李新圃, 杨峰, 等. 金黄色葡萄球菌培养基的筛选及发酵条件的优化研究[J]. 微生物学杂志, 2018, 38(3): 36-41.
ZHANG Z, LI XP, YANG F, et al. Culture medium screening and fermentation conditions optimization for *Staphylococcus aureus* [J]. Chin Soc Microbiol, 2018, 38(3): 36-41.
- [13] SVASTOVÁ A, SKALKKA B, SMOLA J. A modified medium for *Salmonella*-isolation by the selective motility test [J]. J Vet Med, 2015, 31(5): 396-399.
- [14] 李丹丹, 徐义刚, 邱索平, 等. 金黄色葡萄球菌实时荧光 PCR 快速检测方法的建立[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(3): 198-201.
LI DD, XU YG, QIU SP, et al. Development of a dual real-time PCR method for rapid detection of *Staphylococcus aureus* [J]. Food Ferment Ind, 2016, 42(3): 198-201.
- [15] 荣策, 赵彤彤, 许龙岩, 等. 实时荧光 PCR 法检测鼠伤寒沙门氏菌[J]. J Food Saf Qual, 2012, 3(4): 300-305.
RONG C, ZHAO TT, XU LY, et al. Detection of *Salmonella typhimurium* by real-time fluorescent PCR [J]. J Food Saf Qual, 2012, 3(4): 300-305.
- [16] CHEN Z Q, ZHANG K, YIN H, et al. Detection of *Salmonella* and several common *Salmonella* serotypes in food by loop-mediated isothermal amplification method [J]. Food Sci Hum Wellness, 2015, 4(2): 75-79.
- [17] LUCCHI NW, DEMAS A, NARAYANAN J, et al. Real-time fluorescence loop mediated isothermal amplification for the diagnosis of malaria [J]. PLoS One, 2010, 5(10): 73-73.
- [18] 周杰, 黄文胜, 邓婷婷, 等. 环介导等温扩增法检测 6 种转基因大豆[J]. 农业生物技术学报, 2017, 25(2): 335-344.
ZHOU J, HUANG WS, DENG TT, et al. Detection of six kinds of genetically modified soybean (*glycine max*) by LAMP method [J]. J Agric Biotechnol, 2017, 25(2): 335-344.
- [19] 梁玉林, 刘秀, 周鹏飞, 等. 基于反转录环介导等温扩增技术检测大肠杆菌 O157[J]. 生物技术通报, 2018, 34(6): 59-65.
LIANG YL, LIU X, ZHOU PF, et al. Detection of *Escherichia coli* O157 by reverse transcriptase loop-mediated isothermal amplification [J]. Biotechnol Bull, 2018, 34(6): 59-65.
- [20] 梁玉林, 刘秀, 周振森, 等. 基于反转录-环介导等温扩增技术检测金黄色葡萄球菌[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(1): 217-223.
LIANG YL, LIU X, ZHOU ZS, et al. *Staphylococcus aureus* detection by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification [J]. Food Ferment Ind, 2018, 44(1): 217-223.
- [21] 梁玉林, 刘秀, 周振森, 等. 基于反转录-环介导等温扩增技术检测沙门氏菌[J]. 微生物学通报, 2018, 45(10): 229-236.
LIANG YL, LIU X, ZHOU ZS, et al. Detection of *Salmonella* by reverse transcriptase loop-mediated isothermal amplification [J]. Microbiol China, 2018, 45(10): 229-236.
- [22] SONG TY, TOMA C, NAKASONE N, et al. Sensitive and rapid detection of *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli* by a loop-mediated isothermal amplification method [J]. Fems Microbiol Lett, 2005, 243(1): 259-263.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介

徐文文, 硕士研究生, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: 997223439@qq.com

刘 秀, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: xiuliuliu1979@163.com