3 种快速检测柳州螺蛳粉中热损伤沙门氏菌方法的比较分析

谢雨龙*, 覃巧思, 李佳连, 成林梢

(柳州市质量检验检测研究中心, 柳州 545500)

摘 要: 目的 比较实时荧光 PCR 法、全自动免疫分析仪法(vitek immune diagnostic assay system, VIDAS)和环介导等温扩增法(loop-mediatedisothermalamplification, LAMP)检测柳州螺蛳粉中热损伤沙门氏菌。**方法** 以预包装柳州螺蛳粉为样品, 利用 3 种热损伤沙门氏菌以人工添加的方式模拟污染样品, 污染水平为 4 CFU/25 g 和 12 CFU/25 g, 通过一步增菌和二步增菌后分别用实时荧光 PCR、VIDAS 和 LAMP 检测, 并与国家标准法比较。**结果** 当 3 种快速检测方法对只经过一步增菌的 3 种热损伤沙门氏菌进行检测时, 7 组 VIDAS 检测结果和 2 组 LAMP 检测结果出现假阴性; 对 40 份模拟样品检测结果显示, VIDAS 无法检测柳州螺蛳粉中低污染水平的热损伤亚利桑那沙门氏菌。**结论** 实时荧光 PCR 法相对 VIDAS 法和环介导等温扩增法更适合基质复杂且沙门氏菌污染水平低样品的快速检测。

关键词: 热损伤; 沙门氏菌; 柳州螺蛳粉; 快速检测

Comparative analysis of 3 rapid detection methods for thermal injury *Salmonella* in Liuzhou snail of rice noodle

XIE Yu-Long*, QIN Qiao-Si, LI Jia-Lian, CHENG Lin-Shao

(*Liuzhou Quality Inspection and Testing Research Center*, *Liuzhou* 545500, *China*)

ABSTRACT: Objective To compare the detection of thermal injured *Salmonella* in Liuzhou snail of rice noodle by the method of real-time PCR, the automated immunoassay analyzer (VIDAS) and loop-mediated isothermal amplification (LAMP), respectively. **Methods** Three thermal injured *Salmonella* strains were added to the sample of Liuzhou snail of rice noodle artificially, the addition was 4 CFU/25 g and 12 CFU/25g. Compared with national standard method, the samples were detected by the method of real-time PCR, the automated VIDAS and LAMP with one-step and two-step bacterial proliferation, respectively. **Results** When three rapid detection methods were used to detect three types of heat-damaged *Salmonella* only after one-step proliferation, the results of 7 groups of VIDAS and 2 groups of LAMP showed false negative results. Tests on 40 simulated samples showed that VIDAS was unable to detect the low contamination levels of heat-damaged *Salmonella* Arizona in Liuzhou snail rice noodle.**Conclusion** The real-time PCR is more effective in rapidly detecting the sample contained low level of *Salmonella* with complicate base than VIDAS and LAMP.

基金项目: 柳州市科技局项目(2018BK10505)

Fund: Supported by Liuzhou Science and Technology Bureau Project(2018BK10505)

***通信作者:** 谢雨龙, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品药品微生物检测。E-mail: xyulong0523@163.com

***Corresponding author:** XIE Yu-Long, Master, Engineer, Liuzhou Institute for Food and Drug Control, Yang He Industrial New District, Liuzhou 545500, China. E-mail: xyulong0523@163.com

KEY WORDS: thermal injury; *Salmonella*; Liuzhou snail of rice noodle; rapid detection

0 引 言

沙门氏菌是一种食源性致病菌，近年发生的细菌性食物中毒事件中由沙门氏菌引起的占据首位[1−2]。目前，基因芯片技术[3]、生物传感器技术[4−5]、纳米技术[6]、近红外技术[7]以及飞行时间质谱[8]等都运用到沙门氏菌的快速检测，但新技术对设备和人员要求比较高导致普及面相对较窄，且检测机构对沙门氏菌进行检测时一般选择比较成熟的检测方法。因此，检验机构对沙门氏菌进行检测时，已经建立标准的传统培养法[9]、酶联免疫检测法[10]、实时荧光 PCR 法[11]以及环介导等温扩增法[12]是检验机构主要选择。

沙门氏菌快速检测方法的比较研究在国内常有报道[13−14]。研究用的样品多数是蔬菜[15]、肉类[16−17]和乳制品[18]等基质简单的食品。但很多种类食品的基质比较复杂，基质中一些成分对某些快速方法造成影响，导致假阴性结果的出现[19−20]。预包装柳州螺蛳粉基质包含了发酵食品(酸笋和酸豆角)、膨化食品(腐竹)、油脂(辣椒油)、醋酸以及高盐的酱料。同时，预包装螺蛳粉加工有加热炒制过程，如果样品中污染了致病菌往往会受热损伤，而基质复杂的食品中受热损伤沙门氏菌的检测研究在国内鲜有报道。

本研究利用全自动免疫分析仪法(vitek immune diagnostic assay system, VIDAS)、环介导等温扩增法(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)和前期研究建立的螺蛳粉中沙门氏菌实时荧光 PCR 法[21]3 种方法对预包装柳州螺蛳粉中受热损伤的沙门氏菌进行检测，对比一步增菌和二步增菌的检测结果，并与国家标准法进行比较，为预包装柳州螺蛳粉选择最佳的沙门氏菌快速检测方法，同时为复杂基质食品中沙门氏菌快速检测方法的选择提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

本研究使用的菌株如表 1 所示。

预包装柳州螺蛳粉(市售)；生理盐水、缓冲蛋白胨水(buffered peptone water, BPW)、脑心浸出液肉汤(brain heart infusion broth, BHI)、四硫磺酸钠煌绿增菌液(tetrathionate broth, TTB)、亚硒酸盐胱氨酸增菌液(selenite cystine broth, SC)、木糖赖氨酸脱氧胆盐琼脂(xylose lysine deoxycholate agar, XLD)、沙门显色培养基、沙门氏菌鉴定试剂盒(广东环凯生物科技有限公司)；VIDAS 沙门菌属检测试剂盒；Premix Ex Taq^{TM}、细菌基因组 DNA 提取试剂盒[宝生物工程(大连)有限公司]；沙门氏菌鉴定试剂盒(广州某生物有限公司)。

引物和探针[21][宝生物工程(大连)有限公司]，序列见表 2。

1.2 仪器与设备

移液器(德国 Eppendorf 公司)；ABI7500 型实时荧光定量 PCR(美国 ABI 公司)；Sigma1-14 型离心机(德国 Sigma 公司)；MINI-VIDAS 全自动酶联荧光免疫分析仪(法国生物梅里埃公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 热损伤菌种制备

参考张佩佩等[22]的热失活曲线，本研究将乙型副伤寒沙门氏菌、鼠伤寒沙门氏菌、亚利桑那沙门氏菌分别接种至 BHI 中经过 37 ℃振荡培养 4 h 后，取 1 mL 培养液放入预先加热至 60 ℃的 9 mL 生理盐水中，并立即放置 60 ℃的水浴锅中处理 60 s 后迅速吸取 1 mL 放入 4 ℃预冷的 9 mL 生理盐水中，混匀并进行梯度稀释。

表 1 实验菌株信息

Table 1 Information of strains in this study

菌株名称	来源
乙型副伤寒沙门氏菌(*Salmonella paratyphi*)	中国医学细菌菌种保藏管理中(CMCC(B) 50094)
鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)	广西壮族自治区疾控预防中心
肠炎沙门氏菌(*Salmonella enteritidis*)	美国菌种保藏中心(ATCC13076)
亚利桑那沙门氏菌(*Salmonallaarizonae*)	美国菌种保藏中心(ATCC13314)
阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*)	本实验室
肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*)	本实验室

表 2　实时荧光反应的引物和探针
Table 2　Primers and probes of real-time fluorescence reactions

名称	详细序列
上游引物	CGGGTCAAGGCTGAGGAA
下游引物	TGCTGAAGTTGAGGATGTTATTCG
TaqMan 探针	ACTGCCAGAGGTCTGACGGATCCCT

1.3.2　样品的制备和增菌

称取 25 g 预包装柳州螺蛳粉样品, 以无菌水为对照样品, 以 0 CFU/25 g 为阴性对照, 通过平板计数法计数后按 4 CFU/25 g、12 CFU/25 g 添加受热损伤沙门氏菌。由于对预包装螺蛳粉进行风险监测时发现大肠菌群指标异常的概率比较大, 因此本研究额外加入总计约 200 CFU 的肺炎克雷伯氏菌和阴沟肠杆菌作为干扰菌模拟污染样品。

一步增菌: 模拟样品制备完成后, 加入 225 mL BPW 的增菌液, 均质拍打 1 min, 36 ℃增菌 18 h。

二步增菌: 模拟样品制备完成后, 加入 225 mL BPW 的增菌液, 均质拍打 1 min, 36 ℃增菌 8 h, 然后吸取 1 mL 分别加至 TTB 和 SC, SC 36 ℃培养, TTB 42 ℃培养 24 h。

1.3.3　DNA 模板制备

一步增菌法: 取 1 mL BPW 增菌液, 参照 SN/T 1870—2016《出口食品中食源性致病菌检测方法实时荧光》[11]的水煮法进行 DNA 提取后放置-20 ℃备用。

二步增菌法: 各取 0.5 mL 的 TTB 和 SC 增菌液合并成 1 mL, 参照 SN/T 1870—2016[11]的水煮法进行 DNA 提取后放置–20 ℃备用。

1.3.4　国家标准法

按 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》[9]中 5.1 和 5.2 进行增菌, 按 5.3 进行分离后挑取疑似菌落, 按 5.4.1 和 5.4.2 进行生化实验。

1.3.5　VIDAS 检测法

一步增菌法: 取 0.5 mL BPW 增菌液, 131 ℃加热 15 min 后, 冷却至室温, 上机检测。

二步增菌法: 各取 0.25 mL 的 TTB 和 SC 增菌液合并成 0.5 mL 测试液, 131 ℃加热 15 min 后, 冷却至室温, 上机检测。

1.3.6　实时荧光 PCR 法

实时荧光 PCR 体系[21]包含 10 μL Premix Ex Taq(2×)、引物终浓度为 0.2 μmol/L、0.2 μL 参比荧光、2 μL 的基因组 DNA, 分别用无菌水补足剩余的体积。实时荧光 PCR 仪反应程序参照 Premix Ex TaqTM 说明书为: 95 ℃预变性 30 s, 随后是 40 个循环的 95 ℃变性 5 s 以及 60 ℃复性和延伸 34 s。

1.3.7　环介导等温扩增法

参照沙门氏菌鉴定试剂盒说明书建立每份 23 μL 反应体系, 包括 22 μL 反应液和 1 μL 聚合酶, 最后用 20 μL 密封液密封。反应程序: 63 ℃预热 15 s, 随后是 45 个循环的 63℃保温 15 s, 63 ℃收集荧光 45 s。

2　结果与分析

2.1　VIDAS 法检测结果

制备样品, 利用 VIDAS 法分别对一步增菌和二步增菌后的培养液进行检测, 结果见表 3, 共 7 组 VIDAS 法检测结果与国家标准法不一致。在无干扰菌的情况下, 以无菌水作为样品对 3 种沙门氏菌进行检测时, 利用 VIDAS 法检测结果与国家标准法检测结果一致; 以柳州螺蛳粉为样品污染 4 CFU/25 g 水平的亚利桑那沙门氏菌及污染 12 CFU/25g 水平的乙型副伤寒沙门氏菌经过一步增菌后利用 VIDAS 法进行检测的结果与国家标准法不一致; 当含有螺蛳粉基质且存在干扰菌时, 进行二步增菌的亚利桑那沙门氏菌组 VIDAS 法检测结果为未检出, 与国家标准法不一致。

2.2　实时荧光 PCR 法检测结果

制备样品, 按 1.2.3 分别对一步增菌和二步增菌的培养液进行 DNA 提取后上机检测, 结果如表 3 所示。实时荧光 PCR 除了污染 12 CFU/25g 水平的乙型副伤寒沙门氏菌经二步增菌后的检测结果和国标法出现差异, 其他结果均与国家标准法检测结果一致。

2.3　环介导等温扩增法检测结果

制备样品, 按 1.2.3 分别对一步增菌和二步增菌的培养液进行 DNA 提取后上机检测, 结果如表 3 所示, 以预包装螺蛳粉为样品污染 12 CFU/25 g 水平的乙型副伤寒沙门氏菌实验组, 及含有干扰菌的污染 4 CFU/25 g 亚利桑那沙门氏菌实验组一步增菌后的利用环介导等温扩增法检测结果为阴性, 与国家标准法结果不一致。

2.4　模拟样品检测结果

表 3 的结果显示含有干扰菌的亚利桑那沙门氏菌实验组进行二步增菌后利用 VIDAS 进行检测时仍出现阴性的结果。为验证该结果的准确性, 本研究以人工添加受热损伤的亚利桑那沙门氏菌的方式模拟污染样品, 并利用 4 种方法对 40 份模拟样品进行检测, 污染水平见表 4, 结果显示当柳州螺蛳粉含有干扰菌时, VIDAS 无法检测低污染水平的热损伤亚利桑那沙门氏菌, 而实时荧光 PCR 和环介导等温扩增均得到良好的结果。

表 3 4 种检测方法的检测结果

Table 3 Detection results of four methods for simulated polluted *Salmonella* samples

菌种	样品	人工污染水平 CFU/25 g		VIDAS 法		环介导等温扩增法		实时荧光 PCR 法(*Ct* 值)		国家标准法
		沙门氏菌	干扰菌	一步增菌	二步增菌	一步增菌	二步增菌	一步增菌	二步增菌	
乙型副伤寒沙氏门菌	柳州螺蛳粉	4	0	−	−	−	−	−	−	−
		12		−	+	−	+	+	+	+
		4	2.0×10^2	−	−	−	−	−	−	−
		12		−	−	−	−	−	+	−
	无菌水	4	0	+	+	+	+	+	+	+
		12		+	+	+	+	+	+	+
		4	2.0×10^2	−	+	+	+	+	+	+
		12		+	+	+	+	+	+	+
鼠伤寒沙门氏菌	柳州螺蛳粉	4	0	+	+	+	+	+	+	+
		12		+	+	+	+	+	+	+
		4	2.0×10^2	−	+	+	+	+	+	+
		12		−	+	+	+	+	+	+
	无菌水	4	0	+	+	+	+	+	+	+
		12		+	+	+	+	+	+	+
		4	2.0×10^2	+	+	+	+	+	+	+
		12		+	+	+	+	+	+	+
亚利桑那沙门氏菌	柳州螺蛳粉	4	0	−	+	+	+	+	+	+
		12		+	+	+	+	+	+	+
		4	2.0×10^2	−	−	−	+	+	+	+
		12		−	−	+	+	+	+	+
	无菌水	4	0	+	+	+	+	+	+	+
		12		+	+	+	+	+	+	+
		4	2.0×10^2	+	+	+	+	+	+	+
		12		+	+	+	+	+	+	+
阴性对照	柳州螺蛳粉	0	2.0×10^2	−	−	−	−	−	−	−
	无菌水			−	−	−	−	−	−	−

表 4 4 种方法对亚利桑那沙门氏菌的检测结果

Table 4 Detection results of four methodsfor simulated polluted *Salmonallaarizonae*samples

数量	人工污染水平 CFU/25 g		VIDAS (阳性)		实时荧光 PCR (阳性)		LAMP (阳性)		国家标准法(阳性)
	亚利桑那沙门氏菌	干扰菌	一步增菌	二步增菌	一步增菌	二步增菌	一步增菌	二步增菌	
10	5±1	0	8	9	9	9	9	9	9
10	20±2		10	10	10	10	10	10	10
10	5±1	2.0×10^2	0	0	10	10	10	10	10
10	20±2		0	0	10	10	10	10	10

3　讨论与结论

在前期研究中发现柳州螺蛳粉基质和干扰菌会抑制沙门氏菌的生长[21]。在本研究中, 4 种检测方法对未添加沙门氏菌的阴性对照组检测结果均为阴性; 以人工污染沙门氏菌的无菌水作为样品且无干扰菌时 VIDAS 法、实时荧光 PCR 法、环介导等温扩增法均得到与国家标准法一致的结果。当添加干扰菌或以柳州螺蛳粉为样品时, 只通过一步增菌的 VIDAS 法对 3 种热损伤的沙门氏菌检测结果都出现了假阴性, 由于该检测方法的抗干扰能力比较弱且灵敏度相对较低, 样品中含菌量少于 10^5 CFU/mL 时容易出现假阴性结果[13]; 且当选择性增菌液不能抑制干扰菌的生长时会导致干扰菌和沙门氏菌之间产生营养竞争作用进而影响沙门氏菌的增殖也会出现假阴性的结果, 在本研究中发现当样品中含有干扰菌时即使进行二步增菌 VIDAS 法仍然无法检测出柳州螺蛳粉中低污染水平的亚利桑那沙门氏菌。

前期研究和本研究中均发现实时荧光 PCR 结果与国家标准法检测结果不一致的现象[21], ALMEIDA 等[23]发现相同的现象, 在接种量很低情况下用实时荧光 PCR 检测样品时出现了 34~39 的 *Ct* 值, 而其他阳性结果的 *Ct* 值一般为 16~19, 原因可能是实时荧光 PCR 灵敏度高于传统方法或是出现了假阳性。但是, 同样是基于分子检测的 LAMP 法在本研究中对亚利桑那沙门氏菌进行检测时却出现了假阴性的结果, 这可能是因为 LAMP 法对不同血清型沙门氏菌灵敏度不同[24], 也可能是鼠伤寒沙门氏菌对热的耐受力要高于另外 2 种沙门氏菌[22], 再加上增菌液中沙门氏菌在一个比较低水平时 LAMP 法的假阴性结果概率将会增加[25], 导致一步增菌的 LAMP 法对 3 种沙门氏菌的检测结果出现了差异。但令人疑惑的是 LAMP 法对 40 份污染亚利桑那沙门氏菌样品的检测结果中并无发现假阴性的现象, 因此 LAMP 法对乙型副伤寒沙门氏菌和亚利桑那沙门氏菌检测出现假阴性结果还需要进一步确认。

另外在本研究中发现含有干扰菌的乙型副伤寒实验组中在 4 CFU/25g 和 12 CFU/mL 的污染水平上 4 种方法均未检出, 无菌水的对照组却可以检出阳性, 而在前期实验中发现干扰菌对沙门氏菌生长的抑制作用比样品基质抑制性强[21], 但是在该组实验中同样的污染水平, 以预包装螺蛳粉为样品的检测结果是未检出, 而含干扰菌的无菌水样品检测结果则是检出。由于微生物在低浓度是泊松分布, 在人工污染时不能排除是由于取样时没有吸取到目标菌造成的结果偏差; 另一种可能是螺蛳粉中的基质对热损伤的乙型副伤寒沙门氏菌细胞修复作用产生影响, 导致其无法在选择性增菌液中进行增殖, 从而出现未检出的结果, 但是目前对受热损伤沙门氏菌的研究较少, 具体原因还需要进一步研究。

综上所述, 由于 VIDAS 法灵敏度相对较低, 适合应用于基质简单或沙门氏菌污染量较大样品的检测; 实时荧光 PCR 法和环介导等温扩增法更加适合检测污染水平较低且基质复杂的样品, 而当对检测时效有特殊要求时, 只需进行一步增菌的实时荧光 PCR 则更具优势。但是, 假阳性似乎是高灵敏度检测法的弊端, 在以往报道中实时荧光 PCR 法和环介导等温扩增法低概率的出现假阳性结果[23,25]。因此, 当利用快速检测方法鉴定出阳性结果时为了保证结果的准确性建议用国家标准法进行确认。

参考文献

[1] 王霄晔, 任婧寰, 王哲, 等. 2017 年全国食物中毒事件流行特征分析[J]. 疾病监测, 2018, 33(5): 359–364.
WANG XY, REN JH, WANG Z, *et al*. Epidemiological characteristics of food poisoning events in China, 2017 [J]. Dis Surveill, 2018, 33(5): 359–364.

[2] 王霄晔, 吴晓旻, 王锐, 等. 2018 年第三季度全国食物中毒事件流行特征分析[J]. 疾病监测, 2019, 34(8): 741–745.
WANG XY, WANG XY, WANG R, *et al*. Analysis of epidemic characteristics of food poisoning incidents in China in the third quarter of 2018 [J]. Dis Surveill, 2019, 34(8): 741–745.

[3] 许俊钢. 基因芯片快速检验细菌的临床应用[J]. 中国实用医药, 2016, (1): 33–34.
XU JG. Clinical application of gene chip for rapid bacterial detection [J]. China Pract Med, 2016, (1): 33–34.

[4] 王月, 吴海燕, 孙秀伟, 等. 基于核酸横流生物传感器的沙门氏菌快速、可视化检测方法[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2018, 30(6): 63–68.
WANG Y, WU HY, SUN XW, *et al*. Rapid and visual detection method of *Salmonella*based on lateral flow nucleic acid biosensor [J]. J Heilongjiang Bayi Agric Univ, 2018, 30(6): 63–68.

[5] MELO AMA, ALEXANDRE DL, OLIVEIRA MRF, *et al*. Opti–mization and characterization of a biosensor assembly for detection of *Salmonella*, typhimurium [J]. J Solid State Electr, 2018, 22(5): 1–10.

[6] 刘慧玲, 涂晓波, 吕敬章, 等. 基于纳米探针检测食源性肠炎沙门氏菌技术初探[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, (11): 4318 –4321.
LIU HL, TU XB, LV JZ, *et al*. Preliminary study of foodborne *Salmonella enteritidis* detection based on nanoprobe technology [J]. J Food Saf Qual, 2017, (11): 4318–4321.

[7] 张捷, 高静, 赵琢, 等. 快速检测沙门氏菌的荧光免疫试纸的研制[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(17): 119–124.
ZHANG J, GAO J, ZHAO Z, *et al*. Development of an immunoassay test dipstick for detection of *Salmonella* [J]. Food Res Dev, 2017, 38(17): 119–124.

[8] 梁达炜, 梁权辉, 方艳平, 等. 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱快速鉴定沙门菌临床分离株[J]. 中国人兽共患病学报, 2016, 32(7): 600–603.
LIANG DW, LIANG QW, FANG YP, *et al*. Rapid identification on *Salmonella* isolated from clinical specimens by matrix–assisted laser desorption ionization time of flight massspectrometry [J]. Chin J Zoon, 2016, 32(7): 600–603.

[9] 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 microbiology examination: *Salmonella* [S].

[10] GB/T 22429—2008 食品中沙门氏菌、肠出血性大肠埃希氏菌 O157 及单核细胞增生李斯特氏菌的快速筛选检验酶联免疫法[S].
GB/T 22429—2008 Rapid screening for *Salmonella*, *Escherichia coli* O157 and *Listeriamonocytogenes* in food–Enzyme–Linked immunoassay method [S].

[11] SN/T 1870—2016 出口食品中食源性致病菌检测方法实时荧光 PCR[S].
SN/T 1870—2016 Method for the detection of pathogens in food for export–Real–time PCR method [S].

[12] DBS 13/008—2017 肉及肉制品中沙门氏菌环介导等温扩增检测方法[S].
DBS 13/008—2017 Detection of *Salmonella* in meat and meat products by ring–mediated isothermal amplification [S].

[13] 黄宝莹, 佘之蕴, 林耀文, 等. 四种方法检测食品中沙门氏菌的比较[J]. 食品工业科技, 2014, 35(15): 185–187.
HUANG BY, YU ZY, LIN YW, *et al*. Comparison of detection of *Salmonella* in food by four methods [J]. Sci Tech Food Ind, 2014, 35(15): 185–187.

[14] 谢雪钦. 4 种不同方法检测审核样本中沙门氏菌的比较研究[J]. 食品科技, 2015, 40(4): 381–384.
XIE XQ. A comparative study on 4 different methods in detection of *Salmonella* from measurement audit sample [J]. Food Sci Technol, 2015, 40(4): 381–384.

[15] 郭蔷, 江洁, 武晓松. 采用荧光定量 PCR 方法快速检测蔬菜中沙门氏菌[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(7): 123–127.
GUO Q, GANG J, WU XS. Real time flourescence quantitative PCR method for rapid detection *Salmonella* in vegetables [J]. Food Res Dev, 2016, 37(7): 123–127.

[16] 张帅, 张红星, 刘慧, 等. 双抗夹心 ELISA 快速检测冷鲜肉中的六种沙门氏菌[J]. 食品科学, 2016, (16): 211–21.
ZHANG S, ZHANG HX, LIU H, *et al*. Rapid Detection of six *Salmonella*serotypes in chilled fresh meat by double antibody sandwich ELISA [J]. Food Sci, 2016, (16): 211–21.

[17] 吕观, 常彦磊, 石磊. 免疫磁珠–环介导等温扩增快速检测牛肉中的鼠伤寒沙门氏菌与金黄色葡萄球菌[J]. 肉类研究, 2019, 33(7): 42–48.
LV G, CHANG YL, SHI L. Rapid detection of*Salmonella* typhimurium and *Staphylococcus aureus* in beef by immunomagnetic separation combined with loop–mediated isothermal amplification method [J]. Meat Res, 2019, 33(7): 42–48.

[18] 姚笛, 徐磊, 佐兆杭, 等. 牛乳中沙门氏菌的荧光定量 PCR 检测方法的建立[J]. 中国乳品工业, 2019, (7): 42–45.
YAO D, TU L, ZUO ZH, *et al*. Establishment of fluorogenic quantitative PCR method for detection of *Salmonella* in milk [J]. China Dairy Ind, 2019, (7): 42–45.

[19] LUSK TS, STRAIN E, KASE JA. Comparison of six commercial DNA extraction kits fordetection of *Brucellaneotomae* in Mexican and central American–style cheese and other milk products [J]. Food Microbiol, 2013, 34(1): 100–105.

[20] PARK SH, AYDIN M, KHATIWARA A, *et al*. Current and emerging technologies for rapid detection and characterization of *Salmonella* in poultry and poultry products [J]. Food Microbiol, 2014, 38(4): 250–262.

[21] 谢雨龙, 覃巧思, 罗璐, 等. 预包装柳州螺蛳粉沙门氏菌实时荧光 PCR 快速检测[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(7): 2197–2203.
XIE YL, QIN QS, LUO L, *et al*. Rapid detection of *Salmonella* in prepackaged Liuzhou river snail rice noodles by real–time PCR [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(7): 2197–2203.

[22] 张佩佩, 牛会敏, 李苗云, 等. 不同介质中甲型副伤寒沙门氏菌的热失活特性[J]. 食品科学, 2017, (14): 65–70.
ZHANG PP, NIU HM, LI MY, *et al*. Thermal inactivation properties of *Salmonellaparatyphi* A in different media [J]. Food Sci, 2017, (14): 65–70.

[23] ALMEIDA C, CERQUEIRA L, AZEVEDO NF, *et al*. Detection of *Salmonella enterica* serovar enteritidis using real time PCR, immunocapture assay, PNA FISH and standard culture methods in different types of food samples [J]. Int J Food Microbiol, 2013, 161(1): 16–22.

[24] 罗荣, 李慧, 欧静堃, 等. 沙门氏菌商品化核酸检测试剂盒评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(7): 39–44.
LUO R, LI H, OU JK, *et al*. Evaluation of *Salmonella* commercial nucleic acid kit [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(7): 39–44.

[25] 唐皓轩, 邵雪阳, 倪培恩, 等. 温荧光定量沙门氏菌快速检测试剂盒的评价与应用[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2017, (6): 80–85.
TANG HX, SHAO XY, NI PE, *et al*. Evaluation and application of a quantitative isothermal amplification fluorescence kit for rapid detection of *Salmonella* [J]. J Shanghai Jiaotong Univ (Agric Sci Ed), 2017, (6): 80–85.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介

谢雨龙, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品药品微生物检验。
E-mail: xyulong0523@163.com