

# 环介导等温扩增法检测动植物源性单核细胞增生李斯特氏菌

郑 兰<sup>1</sup>, 高 飞<sup>2</sup>, 曹 进<sup>2</sup>, 游延军<sup>3</sup>, 谢代超<sup>3</sup>, 杨艳芳<sup>1\*</sup>

(1. 四川大学华西公共卫生学院/四川大学华西第四医院, 成都 610041; 2. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050;  
3. 四川省食品药品检验检测院无源器械室, 成都 611731)

**摘 要:** **目的** 采用环介导等温扩增技术检测动植物源性单核细胞增生李斯特氏菌。**方法** 在北京市范围内各业态餐厅购买 600 份凉菜样品为研究对象, 以单核细胞增生李斯特氏菌的 *hlyA* 基因为目标基因, 设计 4 条特异性引物, 使用环比等温扩增法(loop-to-isothermal amplification, LAMP)创建凉菜中单核细胞增生李斯特氏菌快速检测方法并将其应用于鉴定凉菜中分离的单核细胞增生李斯特氏菌。**结果** 通过细菌分离培养法对 600 份凉菜进行检测, 一共检测分离出 37 株致病菌菌株, 其中包括 7 株单核细胞增生李斯特氏菌、10 株沙门氏菌和 20 株大肠埃希氏菌, 单核细胞增生李斯特氏菌的检出率为 1.2%。用 LAMP 对样品中的菌株进行测定, 7 株凉菜中分离的单核细胞增生李斯特氏菌为阳性, 其他菌株为阴性。通过 LAMP 方法检测动植物源性凉菜中分离的单核细胞增生李斯特氏菌平均检出限为  $2.2 \times 10$  CFU/ $\mu$ L、特异性为 100%。动物源性凉菜中的致病菌含量较高。**结论** 环介导等温扩增法具备灵敏、快速、操作简便的特点, 适合用于餐饮行业的现场快速检测领域。

**关键词:** 环介导等温扩增; 单核细胞增生李斯特氏菌; 动植物源性

## Detection of *Listeria monocytogenes* in animal and plant derived food by loop-mediated isothermal amplification

ZHEGN Lan<sup>1</sup>, GAO Fei<sup>2</sup>, CAO Jin<sup>2</sup>, YOU Yan-Jun<sup>3</sup>, XIE Dai-Chao<sup>3</sup>, YANG Yan-Fang<sup>1\*</sup>

(1. West China School of Public Health and West China Fourth Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China;  
2. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China;  
3. Sichuan Institute for Food and Drug Control, Chengdu 611731, China)

**ABSTRACT: Objective** To detect *Listeria monocytogenes* of animal and plant origin by loop-mediated isothermal amplification. **Methods** Total of 600 cold dish samples were purchased from restaurants of various formats in Beijing. Taking the *hlyA* gene of *Listeria monocytogenes* as the target gene, 4 specific primers were designed, and the *Listeria monocytogenes* in cold dishes was rapidly detected using loop-to-isothermal amplification (LAMP), which was also used to identify *Listeria monocytogenes* isolated in cold dishes. **Results** A total of 600 cold dishes were tested by bacterial isolation and culture, and 37 strains of pathogenic bacteria were detected, including 7 strains of *Listeria monocytogenes*, 10 strains of *Salmonella*, and 20 strains of *Escherichia coli*. The detection rate of *Listeria monocytogenes* was 1.2%. LAMP was used to determine the strains in the samples. Seven strains of *Listeria*

\*通讯作者: 杨艳芳, 副教授, 主要研究方向为流行病学。E-mail: yang2009@scu.edu.cn

\*Corresponding author: YANG Yan-Fang, Associate Professor, West China School of Public Health and West China Fourth Hospital, Sichuan University, No.17, Renmin South Road, Wuhou District, Chengdu 610041, China. E-mail: yang2009@scu.edu.cn

*monocytogenes* isolated from the cold dishes were positive, and other strains were negative. The average detection limit of *Listeria monocytogenes* in cold dishes of animal and plant origin by the LAMP method was  $2.2 \times 10$  CFU/ $\mu$ L and the specificity was 100%. The content of pathogenic bacteria in cold dishes of animal origin was high.

**Conclusion** The loop-mediated isothermal amplification method is sensitive, fast, and easy to operate, which is suitable for on-site rapid detection in the restaurant industry.

**KEY WORDS:** loop-mediated isothermal amplification; *Listeria monocytogenes*; animal and plant origin

## 1 引言

致病菌引起的食源性疾病是我国食品安全的主要问题之一<sup>[1]</sup>。目前,国内甚至世界范围内由动植物源性致病菌造成的中毒事件不断发生,单核细胞增生李斯特氏菌、沙门氏菌及大肠埃希氏菌等致病菌的感染对人们的身体健康、社会活动等方面都产生了严重的负面影响,人主要通过食用未充分加热的食品导致感染<sup>[2]</sup>。近来,单核细胞增生性李斯特菌导致的食物源性中毒事件引起了人们的重视<sup>[3]</sup>。单增李斯特菌感染所导致的死亡率较高,它分布在自然界中,能够寄生于生物体中,人类感染该菌之后会导致败血症、脑膜炎及血液单核细胞增生等多种病症,因此被世界卫生组织列为食品中的四大致病菌之一<sup>[4]</sup>。单核细胞增生李斯特菌的检测方法主要有3种,分别为PCR法、免疫学方法及传统分离鉴定方法<sup>[5]</sup>,其中,PCR方法检测的时间较短,并且具有较高的灵敏性,所以在研究单核细胞增生李斯特氏菌中具有重要的现实意义,但是其对仪器设备的要求较高。环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)方法是一种新型的核酸扩增方法,相较PCR方法更加简单、操作方便,只需要针对靶基因的6个区域设计2条特异性内引物和2条特异性外引物,通过链置换DNA聚合酶在等温条件下反应几十分钟即可<sup>[6]</sup>。

冷食类凉菜中的食品安全问题屡见不鲜,根据《北京市餐饮服务单位食品安全量化分级管理办法》,冷食类是餐饮监督的必检项目。LAMP法应用于动植物源性的冷食类食品检测在国内的报道较少,该方法利用DNA聚合酶在恒温条件下1h内即可完成核酸扩增反应,特异性较高,所用模板也无需预热变性,有效降低了检测的时间,与餐饮食品快速准确的检测要求相一致<sup>[7]</sup>。因此,本研究创建了LAMP法用于检测动植物源性单核细胞增生李斯特氏菌,以期为餐饮行业的现场快速提供技术参考。

## 2 材料与方法

### 2.1 样品来源

随机采集本市中小型饭店凉菜600份,其中300份植物源性凉菜,300份动物源性凉菜,种类包括拌黄瓜、拌豆腐皮、拌生菜、拌牛肉等。

### 2.2 菌株来源

菌株使用GB4789.30-2016<sup>[8]</sup>与GB4789.4-2016<sup>[9]</sup>、GB4789.36-2016<sup>[10]</sup>方法于600份凉菜中分离出37株致病菌,分离菌株包括:单核细胞增生李斯特氏菌7株、沙门氏菌10株和大肠埃希氏菌20株。

标准菌株信息详见表1。

表1 标准菌株信息  
Table 1 Standard strain information

序号	菌种	来源	菌株编号
1	沙门氏菌	American Tissue Culture Collection(ATCC)	CICC 21482
2	单核细胞增生李斯特氏菌	China Center of Industrial Culture Collection(CICC)	ATCC19115
3	大肠埃希氏菌	China Medical Culture Collection(CMCC)	CMCC(B)44113

### 2.3 仪器与试剂

试剂:改良EC肉汤、蛋白胨大豆肉汤、缓冲蛋白胨水(buffered peptonewater, BPW)、亚硫酸盐环丝氨酸琼脂基(sulfite cycloserine agar base, SC)、CT-SMAC平板、月桂基硫酸盐胰蛋白胨肉汤-MUG(MUG-LST)、沙门氏菌、单核细胞增生李斯特氏菌。DNA聚合酶、甜菜碱、LAMP引物、dNTPs、DNA Marker、FTA滤膜(北京陆桥生物技术有限公司)。

仪器:CP48-A实时浊浊器(北京中西远大科技有限公司);ASPS-EINTHOVEN全自动螺旋接种仪(北京伟恩斯技术有限公司);XINW-08均质器(上海鑫翁科学仪器有限公司);4000R凝胶成像系统(美国柯达公司);VITEK2全自动微生物鉴定仪(法国生物梅里埃股份有限公司)。

扩增单核细胞增生李斯特氏菌溶血素基因(*hlyA*)的LAMP引物设计采用PrimerPremier 5.0软件。

### 2.4 实验方法

#### 2.4.1 传统细菌培养法分离凉菜中致病菌

将各种样品严格按照GB 4789.1-2016<sup>[11]</sup>中的相关方法进行实验,具体方法如下:

单核细胞增生李斯特氏菌的增菌与分离:取25g样品及225mL Luria Broth 1(LB1)LB1,均质1~2min,将其

放置到 30 °C 的温箱中 24 h。取 0.1 mL 加入 10 mL Luria Broth 2(LB2)LB2 培养液中, 放置到 30 °C 的温箱中 24 h, 使用单核细胞增生李斯特氏菌显色平板及 PALCAM Listeria Selective Agar(PALCAM 平板)平板进行分离培养, 将平板放置到 36 °C 的培养箱中 48 h 后挑选可疑菌落转种 TSA-YE 平板进行培养后染色镜检并进行木糖、鼠李糖试验, 观察生化反应结果。

沙门氏菌: 取 25 g 样品加入 225 mL BPW, 均质 2 min, 将其放置到 36 °C 培养箱中 18 h, 取 1 mL 转种于 10 mL 四硫磺酸钠煌绿(sodium tetrathionate, TTB), 放置到(42±1) °C 的温箱中 18~24 h。另外取 1 mL 转种于 10 mL SC 中, 将其放置到(36±1) °C 温箱中 18~24 h。使用亚硫酸铋琼脂平板、沙门菌显色平板及 Xylose Lysine Deoxycholate Agar(XLD 琼脂)平板放置于 36 °C 培养箱中培养 24 h。挑选可疑菌落转种三糖铁琼脂平板, 观察生化反应结果。

大肠埃希氏菌: 取 25 g 样品加入 225 mL 改良 EC 肉汤, 均质 1~2 min, 划线改良山梨醇麦康凯 CT-SMAC 平板和大肠埃希氏菌 O157 显色琼脂平板置 36 °C 温箱中 20 h, 挑选可疑菌落转种于三糖铁琼脂平板, 置于 36 °C 培养箱中培养 24 h, 挑选可疑菌落转种于月桂基硫酸盐胰蛋白胨肉汤-MUG(MUG-LST)后, 置于 36 °C 培养箱中培养 24 h 并读取结果, 同时挑选可疑菌落使用 VITEK2 进行生化检测。

#### 2.4.2 LAMP 反应引物的设计和合成

将分离出的 7 株单核细胞增生李斯特氏菌 *HlyA* 基因的序列进行对比, 选择具有较高同源性的部分, 使用专门设计 LAMP 引物在线软件(Primer Explorer)设计 LAMP 反应引物, 之后使 RN 软件对被选引物的二级结构进行分析和挑选, 从而得到特异性引物序列。

LAMP 反应体系及流程: LAMP 反应引物包括 FTA 滤

波吸附的 DNA、FTP、BIP、F3、B3、甜菜碱及 BST DNA 聚合酶。LAMP 反应流程为: 除了酶以外的反应混合物在 95 °C 的温度下加热 5 min, 之后在冰上进行冷却, 再加入 8 U 的 Bst DNA 聚合酶, 在 63 °C 下孵育 1 h 后加热到 80 °C, 持续加热 10 min 即可。

#### 2.4.3 LAMP 法评价

灵敏度测试: 挑取生化检定确认后的 1 株单核细胞增生李斯特氏菌菌落制备成菌悬液, 取 1 mL 菌悬液进行螺旋涂布计数, 同时进行 DNA 的提取, 将其作为模板, 根据 LAMP 反应体系及流程进行扩增, 之后通过肉眼进行观察其中是否具有焦磷酸镁沉淀, 之后将扩增物在 2% 的琼脂糖凝胶中电泳, 使用凝胶成像系统观察电泳的结果, 并成像。

特异性测试: 将单核细胞增生李斯特氏菌及沙门氏菌的细菌 DNA 进行提取, 分别作为 LAMP 的反应模板, 根据 LAMP 反应体系及流程进行反应, 在扩增之后使用肉眼观察是否具有焦磷酸镁沉淀, 之后将产物在 2% 琼脂糖凝胶中电泳, 使用凝胶成像系统观察电泳的结果。

准确性测试: 将凉菜中分离的株单核细胞增生李斯特氏菌的扩增产物在 2% 琼脂糖凝胶中电泳, 使用凝胶成像系统观察电泳的结果。

## 3 结果与分析

### 3.1 采用国标方法对从凉菜中分离的致病菌的检测结果

将检测分离出的 37 株菌株进行分离培养, 不同选择性平板上菌株的生长具有不同特征, 通过与标准菌株对比确定了阳性菌落的特征, 详情见表 2。

### 3.2 凉菜检测结果

共检测凉菜 600 份, 其中包括拌黄瓜、拌猪耳、拌牛肉、拌豆皮、拌生菜等, VITEK 2 检测结果见表 3。

表 2 菌株平板分离培养结果  
Table 2 Results of bacterial strain plate isolation and culture

菌株	分离平板	菌落特征	结果
沙门氏菌	BS 平板	无菌生长	生长不良
	XLD 平板	粉红色、中心黑色、湿润、圆形	易判断
	沙门菌显色平板	紫色	易判断
单核细胞增生李斯特氏菌	Palcam 平板	棕褐色、灰绿色	易判断
	单核细胞增生李斯特氏菌显色平板	蓝色、白色水解环	易判断
大肠埃希氏菌	大肠埃希氏菌 O157 显色平板	紫红色、菌落周围有红色水解环	易判断
	CT-SMAC 平板	深紫色、金属光泽	易判断

表 3 凉拌菜检测结果  
Table 3 Test results of salad

凉拌种类	凉拌数量	沙门氏菌	大肠杆菌	单增李斯特氏菌
拌黄瓜	120	0	0	0
拌猪耳	120	2	7	2
拌牛肉	120	6	6	5
拌豆皮	120	2	5	0
拌生菜	120	0	2	0
合计	600	10	20	7
检出率/%		1.7	3.3	1.2

### 3.3 LAMP 反应引物的设计

通过 Primer-设计软件选择针对单核细胞增生李斯特氏菌的目标基因 *HlyA*, 设计 LAMP 反应引物, 详细结果见表 4 及图 1。

表 4 扩增单核细胞增生李斯特氏菌溶血素基因 LAMP 引物  
Table 4 LAMP primers for the hemolysin gene of amplified *Listeria monocytogenes*

<i>HlyA</i> 基因	序列	引物长度
F3	TGCACTTCGCAATA	14
B3	CAARAACTTACGGGT	16
FIP	GAAGGTGGGCTTCCCGGAAAATA	25
BIP	TGAACTTTAGAGGTTTCATATACAG	27

### 3.4 LAMP 方法对单核细胞增生李斯特氏菌的检测结果

#### 3.4.1 灵敏度试验结果

经过螺旋涂布计数, 单核细胞增生李斯特氏菌的菌悬液初始浓度为  $2.2 \times 10^8$  CFU/ $\mu$ L, 也就是凉拌菜中的单核细胞增生李斯特氏菌原始浓度为  $2.2 \times 10^8$  CFU/ $\mu$ L, 进行 LAMP 扩增, 通过肉眼观察产物能够看见焦磷酸镁沉淀, 将扩增产物电泳, 详见图 1。

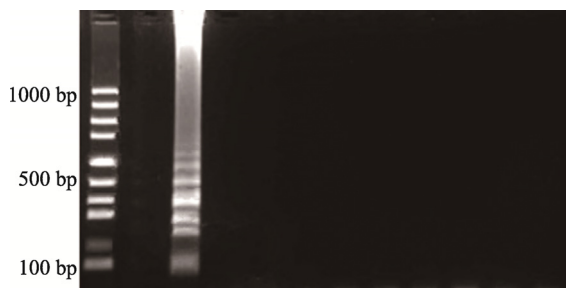


图 1 单核细胞增生李斯特氏菌 LAMP 反应灵敏度结果  
Fig.1 LAMP sensitivity of *Listeria monocytogenes*

#### 3.4.2 特异性试验结果

将凉拌菜中分离出的单核细胞增生李斯特氏菌的 LAMP 扩增产物及沙门氏菌和大肠埃希氏菌的 PCR 扩增产物进行电泳, 结果见图 2。通过图 2 可以看出, 单核细胞增生李斯特氏菌扩增出特异性片段, 其他菌株呈现为阴性, 此种方法具有良好的特异性。



图 2 单核细胞增生李斯特氏菌 LAMP 反应特异性结果  
Fig.2 LAMP reaction specificity of *Listeria monocytogenes*

#### 3.4.3 准确度试验结果

将凉拌菜中分离的 7 株单增李斯特氏菌及 1 株单核细胞增生李斯特氏菌标准菌株进行 LAMP 扩增, 凝胶成像系统观察电泳的结果, 8 株单核细胞增生李斯特氏菌均出现明显的阶梯状扩增条带。结果如图 3 所示。

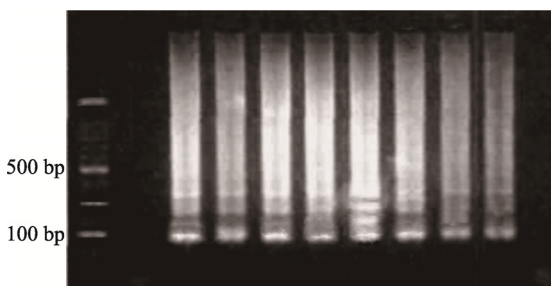


图 3 单增李斯特氏菌 LAMP 反应准确性结果  
Fig.3 LAMP reaction accuracy of *Listeria monocytogenes*

#### 3.4.4 国标方法与 LAMP 方法检测单核细胞增生李斯特氏菌的对比结果

LAMP 方法检出的单核细胞增生李斯特氏菌检出率为 1.2%, 与国标方法完全一致, 2 种方法的对比结果见表 5。

## 4 结 论

对动植物源性凉拌样品进行检测, 结果显示凉拌菜中存在大肠埃希氏菌、沙门氏菌及单核细胞增生李斯特氏菌, 尤其是动物源性的凉拌菜更容易感染上述的致病菌; LAMP 方法在单核细胞增生李斯特氏菌中的检测, 检出限较低; 特异性良好, 准确度较高, 与国标方法完全一致。

表 5 凉拌菜中单核细胞增生李斯特氏菌的检测结果  
Table 5 Detection results of *Listeria monocytogenes* in salad

凉拌种类	检测数量	LAMP 方法检测 阳性结果	国标方法检测 阳性结果
拌黄瓜	120	0	0
拌猪耳	120	2	2
拌牛肉	120	5	5
拌豆皮	120	0	0
拌生菜	120	0	0
合计	600	7	7
检出率/%		1.2	1.2

## 5 讨 论

本研究通过 LAMP 法进行动植物源性单核细胞增生李斯特氏菌的检测, 具有快速、准确的特点, 在今后的餐饮现场快速检验工作中具有良好的应用价值。该方法针对单增李斯特氏菌 *hlyA* 基因, 使用专用元件设计 LAMP 反应引物, 采用 FTA 滤膜技术提取模板 DNA, 优化 LAMP 反应条件, 以完成 LAMP 检测<sup>[11]</sup>。

在动植物源性致病菌检测技术还不熟练的时候, 要将标准菌株作为质控样品<sup>[12]</sup>, 对实验步骤进行质量监控, 为了得到目的致病菌株, 最关键的一步就是增菌后的分离培养及目标菌落的选取, 分类培养的主要目的就是使目标菌更加容易辨认, 提高检出率<sup>[13]</sup>。

本研究中发现沙门氏菌 BS 平板生长不良, 在显色平板中为紫色, XLD 中的菌落为中心黑色, 菌落特征容易判断。单增李斯特氏菌显色板中的菌落为蓝色和白色的晕圈, PALCAM 平板中的菌落为灰绿色及棕褐色圈, 比较容易辨别。显色平板中的菌落特点尤为明显, 但价格较高。

本研究中使用单核细胞增生李斯特氏菌培养实现灵敏度试验, 检出限为  $2.2 \times 10$  CFU/ $\mu$ L, 检出限较低。同时对比国标方法, LAMP 检测法具备操作简便快速的特点且 LAMP 检测方法并不需要较为昂贵的试剂, 并且具有较高的特异性<sup>[14-16]</sup>, 在高效扩增的同时会产生焦磷酸镁产物, 为白色浑浊沉淀, 能够通过肉眼进行观察, 更加直观。LAMP 检测方法的特点是针对靶基因的 6 个区域设计 4 种特异性引物, 保证了扩增的高度特异性, 利用 DNA 聚合酶在恒温条件下 1 h 内即可完成核酸扩增反应, 模板也无需热变性, 有效降低了检测的时间, 所用设备简单, 比较适合餐饮食品的现场快速检测<sup>[17]</sup>。

以上研究结果提示餐饮单位要加强卫生意识, 提高食品卫生质量, 监管部门应加强食源性致病菌检测以防止类似国外所发生的危害食品安全事件发生<sup>[18]</sup>。凉拌菜的种类较多, 植物源性和动物源性的营养具有一定的差别。研

究发现, 动物源性的凉拌菜中的致病菌繁殖速度也较快, 国家相关部门应制定相应的凉拌菜食品卫生标准, 从而有利于食品检测工作及食品安全的控制<sup>[19]</sup>。

综上所述, 可以认为 LAMP 检测法快速、准确、对仪器设备要求简单, 在餐饮食品的快速检测领域具有重要的应用价值。

## 参考文献

- 余艳玲, 彭昊, 冯世文. 罗非鱼无乳糖链球菌环介导等温扩增(LAMP)检测技术的建立及应用[J]. 江苏农业科学, 2019, (13): 200-203.  
Yu Y, Peng H, Feng SW. Establishment and application of Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) in tilapia *Streptococcus agalactiae* [J]. Jiangsu Agric Sci, 2019, (13): 200-203.
- 曾思思, 杨丽霞. 实时荧光环介导等温扩增检测铜绿假单胞菌[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, (9): 2684-2688.  
Zeng SS, Yang LX. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* by real-time fluorescence loop mediated isothermal amplification [J]. J Food Saf Qual, 2019, (9): 2684-2688.
- 赵远洋, 王瑾, 林丽萍. 基于实时荧光环介导等温扩增快速检测鸡肉中的大肠杆菌 O157:H [J]. 中国食品学报, 2019, (3): 281-288  
Zhao YY, Wang J, Lin LP. Rapid detection of *E.coli* O157:H in chicken based on real-time fluorescence loop mediated isothermal amplification [J]. Chin J Food Sci, 2019, (3): 281-288.
- 李庆玲, 沈丹宇, 于佳, 等. 基于环介导等温扩增技术快速检测瓜果霉菌[J]. 南京农业大学学报, 2018, (1): 79-87  
Li QL, Shen DY, Yu J, et al. Rapid detection of melon and fruit rot mold based on loop - mediated isothermal amplification [J]. J Nanjing Agric Univ, 2018, (1): 79-87.
- 张海艳, 周赞虎, 胡元庆, 等. 肠炎沙门菌环介导等温扩增快速检测方法的建立[J]. 检验检疫学刊, 2017, (6): 5-9.  
Zhang HY, Zhou ZH, Hu YQ, et al. Establishment of a rapid detection method for *Salmonella enteritis* by loop-mediated isothermal amplification [J]. J Inspect Quarant, 2017, (6): 5-9.
- 杨柳, 张一, 陈宇飞, 等. 环介导等温扩增技术在农村食源性致病菌检测中的应用分析[J]. 中国农村卫生事业管理, 2016, (2): 212-213.  
Yang L, Zhang Y, Chen YF, et al. Analysis on the application of loop-mediated isothermal amplification in the detection of foodborne pathogens in rural areas [J]. Chin Rur Health Serv Admin, 2016, (2): 212-213.
- 黄朱梁, 薛超波, 孙瑛, 等. 食品中单核细胞增生李斯特氏菌实时浊度(LAMP)检测方法的建立[J]. 食品工业, 2015, (1): 277-280.  
Huang ZL, Xue CB, Sun Y, et al. Establishment of real-time turbidity test (LAMP) for *Listeria monocytogenes* in food [J]. Food Ind, 2015, (1): 277-280.
- GB 4789.1-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验[S].  
GB 4789.1-2016 National food safety standard-Food microbiological inspection [S].
- 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 inspection-*Salmonella* test [S].
- GB4789.36-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠埃希氏



- 菌 O157:H7/NM 检验  
GB4789.36-2016 National food safety standard-Food microbiological inspection- Escherichia coli O157:H7/NM test [S].
- [11] 顾思宇, 张红星, 金君华, 等. LAMP 法检测单核细胞增生性李斯特菌的研究[J]. 食品科技, 2016, (8): 297-301.  
Gu SY, Zhang HX, Jin JH, *et al.* Study on the detection of *Listeria monocytogenes* by LAMP [J]. Food Sci Technol, 2016, (8): 297-301.
- [12] 刘宁伟, 邹大阳, 董德荣, 等. 多重环介导等温扩增快速检测沙门菌、副溶血弧菌和单核细胞增生性李斯特菌方法的建立[J]. 军事医学, 2016, 40(9): 767-772.  
Liu NW, Zou DY, Dong DR, *et al.* Establishment of a method for rapid detection of *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Listeria monocytogenes* by multiple loop mediated isothermal amplification [J]. Militar Med, 2016, 40(9): 767-772.
- [13] 李敏, 綦国红. 实时荧光定量 PCR 技术在食源性致病菌检测中的应用[J]. 中国食品与营养, 2014, (8): 13-17.  
Li M, Qi GH. Application of real-time fluorescent quantitative PCR in detection of foodborne pathogens [J]. Chin Food Nutr, 2014, (8): 13-17.
- [14] 袁耀武, 张亚爽, 马晓燕, 等. LAMP 检测单核细胞增生性李斯特氏菌的研究[J]. 中国食品学报, 2009, 9(3): 168-173.  
Yuan YW, Zhang YS, Ma XY, *et al.* Detection of *Listeria monocytogenes* by LAMP [J]. Chin J Food Sci, 2009, 9(3): 168-173.
- [15] 张亚爽. LAMP 和 PCR 检测单核细胞增生性李斯特氏菌的研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2008.  
Zhang YS. Detection of *Listeria monocytogenes* by LAMP and PCR [D]. Baoding: Hebei Agricultural University 2008.
- [16] 姚栋, 张如胜, 欧新华, 等. 快速检测单核细胞增生李斯特菌 LAMP 方法的建立[J]. 江苏大学学报医学版, 2012, 22(5): 394-397.  
Yao D, Zhang RS, Ou XH, *et al.* Establishment of LAMP method for rapid detection of *Listeria monocytogenes* [J]. Med J Jiangsu Univ, 2012, 22(5): 394-397.
- [17] 程潇, 汪永信, 刘娟娟, 等. 应用 LAMP 检测方法检测乳制品中的单核细胞增生李斯特氏菌[J]. 农业科学技术, 2015, 16(8): 1584-1587.  
Cheng X, Wang YX, Liu JJ, *et al.* *Listeria monocytogenes* in dairy products were detected by LAMP [J]. Agric Sci Technol, 2015, 16(8): 1584-1587.
- [18] Denschlag C, Vogel RF, Niessen L. *Hyd5* gene based analysis of cereals and malt for gushing-inducing *Fusarium* spp. by real-time LAMP using fluorescence and turbidity measurements [J]. Int J Food Microbiol, 2013, 162(3): 245-251.
- [19] 薛超波, 黄朱梁, 孙琰, 等. 海产品中创伤弧菌实时浊度 LAMP 检测方法的建立[J]. 中国预防兽医学报, 2013, 35(11): 912-915.  
Xue CB, Huang ZL, Sun Y, *et al.* Establishment of real time turbidimetric LAMP for *Vibrio vulnificus* in seafood [J]. Chin J Prev Vet Med, 2013, 35(11): 912-915.

(责任编辑: 陈雨薇)

### 作者简介



郑 兰, 本科, 主要研究方向为流行病学。

E-mail: 524205998@qq.com



杨艳芳, 博士, 副教授, 主要研究方向为流行病学。

E-mail: yang2009@scu.edu.cn