

李静,段永生,王建昌,孙晓霞,胡连霞.实时荧光单引物等温扩增检测阪崎克罗诺杆菌方法的建立[J].中国食品卫生杂志,2015,27(5):524-530.

实时荧光单引物等温扩增检测阪崎克罗诺杆菌方法的建立

Establishment of the real-time fluorescence single primer isothermal amplification for the detection of Cronobacter sakazakii

投稿时间: 2015-03-16

DOI:

中文关键词: [实时荧光](#) [单引物](#) [等温扩增](#) [阪崎克罗诺杆菌](#) [OmpA基因](#) [婴儿配方奶粉](#) [食源性致病菌](#)

Key Words: [Real-time fluorescence](#) [single primer](#) [isothermal amplification](#) [Cronobacter sakazakii](#) [OmpA gene](#) [infant formula milk powder](#) [foodborne pathogenic bacteria](#)

基金项目: 质检公益性科研专项项目(201210128 ; 201310126)

作者	单位	E-mail
李静	河北出入境检验检疫局检验检疫技术中心,河北 石家庄 050051	13603397511@163.com
段永生	河北出入境检验检疫局检验检疫技术中心,河北 石家庄 050051	
王建昌	河北出入境检验检疫局检验检疫技术中心,河北 石家庄 050051	
孙晓霞	河北出入境检验检疫局检验检疫技术中心,河北 石家庄 050051	
胡连霞	河北出入境检验检疫局检验检疫技术中心,河北 石家庄 050051	

摘要点击次数: 378

全文下载次数: 586

中文摘要:

建立实时荧光单引物等温扩增(SPIA)检测阪崎克罗诺杆菌的方法。方法 本文以阪崎克罗诺杆菌OmpA基因特异序列为靶序列,设计RNA-DNA组合引物和链终止序列,优化反应体系,对4株不同来源阪崎克罗诺杆菌和21株其他食源性致病菌进行实时荧光SPIA特异性分析,通过不同浓度梯度阪崎克罗诺杆菌悬液灵敏度的检测和添加有阪崎克罗诺杆菌的婴儿配方奶粉样品检出限的确定,评价方法的准确度。结果 除4株阪崎克罗诺杆菌外,其他细菌均未出现特异性荧光扩增曲线,具有良好的特异性。在40 min内,实时荧光SPIA检测阪崎克罗诺杆菌纯培养基因拷贝灵敏度为每反应1 copies,相应活菌数为 1.6×10^{-1} cfu/ml;对婴儿配方奶粉模拟样品中阪崎克罗诺杆菌的检出限是 1.5×10^0 cfu/100 g。结论 本研究建立的方法具有灵敏度高、特异性强、耗时短、操作简单等优点,适用于实验室快速检测阪崎克罗诺杆菌OmpA基因。

Abstract:

Establishment of real time fluorescence single primer isothermal amplification method for detection of Cronobacter sakazakii.Methods Taking Cronobacter sakazakii OmpA gene specific sequence as the target sequence, the RNA-DNA combination primer and chain termination sequence was designed, and the reaction system was optimized. 4 different strains of Cronobacter sakazakii strains and 21 other foodborne pathogens were detected by the method, and the specificity of the real-time fluorescent SPIA was analyzed.The sensitivity was analyzed by different dilution of Cronobacter sakazakii and the detection limit was determined by spiked infant formula. Results Only Cronobacter sakazakii could be detected and showed the typical fluorescence curve. The method has good specificity. In 40 min, the sensitivity of real-time fluorescent SPIA for the detection of Cronobacter sakazakii in pure culture was 1 copies/reaction. The corresponding number of the living bacteria was 1.6×10^{-1} cfu/ml. The detection limit of Cronobacter sakazakii in infant formula is 1.5×10^0 cfu/100 g.Conclusion The method has the advantages of high sensitivity, strong specificity, less time-consuming.

[查看全文](#) [查看/发表评论](#) [下载PDF阅读器](#)

您是第27851816位访问者 今日一共访问113次

版权所有:《中国食品卫生杂志》编辑部 京ICP备12013786号-3

地址:北京市朝阳区广渠路37号院2号楼501室 邮编:100022

E-mail:spws462@163.com 电话/传真:010-52165456/5441(编辑室) 010-52165556(主编室)

未经授权禁止复制或建立镜像

技术支持:北京勤云科技有限公司

