

# 添加扩增内标的PCR方法 快速检测食品中的沙门氏菌

付绪磊<sup>1</sup>, 张德福<sup>1,2,\*</sup>, 汤轶伟<sup>1</sup>, 白凤翎<sup>1</sup>, 殷喆<sup>2</sup>, 杨文慧<sup>2</sup>, 赵丽红<sup>1</sup>, 张义全<sup>3</sup>, 李春<sup>4</sup>, 励建荣<sup>1,\*</sup>

(1.渤海大学食品科学与工程学院, 辽宁省食品安全重点实验室, 生鲜农产品贮藏加工及安全控制技术国家地方联合工程研究中心, 辽宁锦州 121013;

2.军事医学科学院微生物流行病学研究所, 病原微生物生物安全国家重点实验室, 北京 100071;

3.江苏大学医学院, 江苏镇江 212013;

4.渤海大学数理学院, 辽宁锦州 121013)

**摘要:**为了建立一种含扩增内标的沙门氏菌PCR检测方法,以细菌16S rRNA为扩增内标对照,以沙门氏菌*invA*基因为靶基因设计了一对引物,并优化了PCR反应体系。通过对20种细菌进行PCR检测显示,该方法对沙门氏菌具有良好的特异性。灵敏度实验表明,该检测方法对沙门氏菌纯DNA模板的检测灵敏度为61.1 fg/μL,对沙门氏菌纯培养物的检测灵敏度为 $2 \times 10^2$  cfu/mL。对人工污染蛋清的检测实验显示,沙门氏菌接种量为2 cfu/25 mL的鸡蛋清样品经过8 h增菌培养后,可被该方法检出。结果表明,该检测方法特异性强、灵敏度高,能排除沙门氏菌PCR检测方法中可能出现的假阴性现象,适用于鸡蛋等食品中沙门氏菌的快速检测。

**关键词:**沙门氏菌, PCR检测, 扩增内标对照, 假阴性

## Establishment of a PCR method with an internal amplification control for rapid detection of *Salmonella* in foods

FU Xu-lei<sup>1</sup>, ZHANG De-fu<sup>1,2,\*</sup>, TANG Yi-wei<sup>1</sup>, BAI Feng-ling<sup>1</sup>, YIN Zhe<sup>2</sup>, YANG Wen-hui<sup>2</sup>, ZHAO Li-hong<sup>1</sup>, ZHANG Yi-quan<sup>3</sup>, LI Chun<sup>4</sup>, LI Jian-rong<sup>1,\*</sup>

(1.College of Food Science and Project Engineering, Bohai University, Food Safety Key Lab of Liaoning Province, National & Local Joint Engineering Research Center of Storage, Processing and Safety Control Technology for Fresh Agricultural and Aquatic Products, Jinzhou 121013, China;

2.Institute of Microbiology and Epidemiology, Academy of Military Medical Sciences, State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity, Beijing 100071, China;

3.School of Medicine, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;

4.College of Mathematics and Physics, Bohai University, Jinzhou 121013, China)

**Abstract:** A PCR assay was developed for the rapid detection of *Salmonella* using 16S rRNA as internal amplification control. Primers were designed to detect the gene of *invA* in *Salmonella* and the assay was optimized and assessment. Detection of various bacterias by PCR indicated that this PCR assay was specific for *Salmonella*. The sensitivity of detection for *Salmonella* purified genomic DNA was 61.1 fg/μL and  $2 \times 10^2$  cfu/mL for pure cultures. The detection for artificially contaminated egg white showed that *Salmonella* could be detected after eight hours enrichment culture when the *Salmonella* inoculation was 2 cfu/25 mL. This detection method had a good specificity and sensitivity, and could eliminate false-negative results in the PCR detection method for *Salmonella*, and suitable for rapid detection of *Salmonella* in food.

**Key words:** *Salmonella*; PCR detection; Internal amplification control; false-negative

中图分类号: TS201.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)24-054-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.24.002

收稿日期: 2015-04-17

作者简介: 付绪磊(1991-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食源性病原微生物的快速检测, E-mail: 634820815@qq.com。

\* 通讯作者: 张德福(1983-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 食品安全, E-mail: zhangdf@bhu.edu.cn。

励建荣(1964-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 水产品和果蔬贮藏加工, 食品安全, E-mail: lijrg491@163.com。

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划项目(2012BAD29B06); 辽宁省重点实验室开放课题(LNSAKF2013018); 辽宁省高等学校创新团队项目(LT2014024); 病原微生物生物安全国家重点实验室开放课题(SKLPBS1417, SKLPBS1438); 渤海大学博士科研启动项目(BSQD022)。

沙门氏菌(*Salmonella*)是目前世界上最重要的食源性致病菌之一,食物传播被认为是人类感染沙门氏菌的主要途径,肉、蛋、奶等动物源性食品是最容易被沙门氏菌污染的食品<sup>[1]</sup>。人类食用被沙门氏菌污染的食品会引发恶心、呕吐、腹痛、腹泻、痉挛、发烧及头痛等症状<sup>[2]</sup>,严重时可导致脱水死亡<sup>[3]</sup>。在世界范围内,沙门氏菌引起的中毒事件曾占全部食品中毒事件的第一位或第二位<sup>[4]</sup>。虽然目前世界上沙门氏菌病总的发病趋势有所下降,但几乎每年都有不同程度的沙门氏菌中毒事件的报道<sup>[5]</sup>。为有效的预防和控制沙门氏菌疾病发生,建立快速有效的沙门氏菌检测方法是必要的。目前,法定的沙门氏菌检测方法仍采用传统培养法,操作繁琐,耗时较长,且肠杆菌科的细菌间生化反应多有交叉<sup>[6]</sup>。主流的LAMP检测方法敏感性较高,极易污染造成假阳性,且引物设计要求较高。不能满足现代社会对沙门氏菌快速检测的需求。基于聚合酶链式反应(PCR)的检测技术,因其快速、灵敏、特异性强等优点,在病原微生物检测中具有巨大的优势,已广泛应用于病原微生物的检测。

近年来有报道指出,在PCR实际检测过程中,由于环境和中间处理环节带来的一些潜在PCR反应抑制剂影响PCR反应,其结果会出现假阴性现象<sup>[7]</sup>。虽然研究人员对PCR技术进行了不断的研究和改进,但仍未有消除抑制因素的有效方法,这限制了PCR技术在病原微生物检测中的应用。有研究指出,在PCR反应体系中添加指示假阴性的扩增内标对照(internal amplification control, IAC)可以有效的提高PCR检测结果的准确性,减少假阴性的扩增结果<sup>[8-9]</sup>。PCR反应体系中采用16S rRNA的通用引物27F和1492R作为扩增内标引物,只要被检测样品中含有任意细菌,即可在电泳结果中观察到一条大小为1465 bp的电泳条带,所以整个PCR反应体系只需要加入扩增内标引物27F和1492R,不需要添加扩增内标片段,就可以达到指示假阴性结果的目的。在反应体系中,若食品样品未受沙门氏菌污染,应有扩增内标片段的扩增产物。而当PCR反应没有产生任何扩增产物时,说明反应可能受到了抑制,产生了假阴性,需重新处理待检食品样品。

*invA*基因是位于沙门氏菌毒力岛1上的一段高度保守序列<sup>[10]</sup>,几乎所有血清型的沙门氏菌均含有*invA*基因<sup>[11]</sup>,目前*invA*基因已成为沙门氏菌检测的重要靶向基因<sup>[12]</sup>。本研究以细菌16S rRNA为扩增内标对照,以编码沙门氏菌侵袭蛋白的*invA*基因为靶基因设计引物,建立了快速检测鸡蛋及蛋制品中沙门氏菌的快速PCR检测方法,并从特异性、纯DNA和纯培养物灵敏度以及人工污染鸡蛋清样品三个方面对该检测方法进行评价。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

实验用的20株菌株 来源见表1;Taq-PCR Master Mix、细菌基因组DNA提取试剂盒、DNA Marker D2000 生工生物工程(上海)股份有限公司;琼脂

糖 Sigma公司;LB培养基 北京奥博星生物技术有限公司。

表1 实验用菌株及其PCR结果

Table 1 Bacteria strains used in this study and the results of PCR

菌种名称	菌株来源	PCR检测结果	
		27F/1492R	<i>invA</i> / <i>invA</i> R
沙门氏菌	CMCC(B) 50041	+	+
单增李斯特菌	ATCC 19115	+	-
阪崎肠杆菌	ATCC 29004	+	-
志贺氏菌	CMCC(B) 51572	+	-
大肠杆菌O157:H7	ATCC 43889	+	-
嗜水气单胞菌	实验室分离鉴定	+	-
蜡样芽胞杆菌	CMCC 63301	+	-
金黄色葡萄球菌	CMCC(B) 26001	+	-
副溶血弧菌	ATCC 33847	+	-
哈维弧菌	实验室保存	+	-
创伤弧菌	实验室保存	+	-
溶藻弧菌	实验室保存	+	-
腐败希瓦氏菌	ATCC 8071	+	-
铜绿假单胞菌	ATCC 9027	+	-
地衣芽孢杆菌	ATCC 14580	+	-
粘质沙雷氏菌	ATCC 14041	+	-
河流弧菌	实验室分离鉴定	+	-
温和气单胞菌	实验室分离鉴定	+	-
荧光假单胞菌	实验室分离鉴定	+	-
鲁氏耶尔森氏菌	实验室分离鉴定	+	-

注:+, 扩增有目的片段;- , 未扩增到目的片段。

Mastercycler pro梯度PCR仪、5424R冷冻离心机 德国艾本德股份有限公司;DYY-8C型电泳仪 北京市六一仪器厂;Cheimd Doc XRS型凝胶成像仪 美国Bio-Rad公司;NanoDrop 2000超微量分光光度计 美国赛默飞世尔科技公司;DL-CJ-2N型超级洁净工作台 东联哈尔(北京)仪器制造有限公司;LRH系列生化培养箱 上海一恒科学仪器有限公司;LC-08拍击式均质器 宁波立成仪器有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 沙门氏菌培养及DNA提取 将实验室保存的菌种于LB平板上划线,37 °C培养过夜。挑单菌落于LB液体培养基内,37 °C培养10 h。采用细菌基因组DNA提取试剂盒提取沙门氏菌的基因组DNA,提取的DNA溶液置于-20 °C冰箱保存。

1.2.2 沙门氏菌基因组DNA浓度 使用NanoDrop 2000超微量分光光度计测定提取的沙门氏菌基因组DNA浓度。

1.2.3 引物设计和筛选 选择沙门氏菌特异性基因*invA*(GenBank:NC\_003197.1),利用软件Primer 5.0设计引物,经PCR反应验证筛选出一对特异性良好的沙门氏菌检测引物:*invA*F/*invA*R。采用细菌16S rRNA扩增通用引物27F和1492R作为PCR反应内标对照引物。实验所用引物序列如表2所示。

1.2.4 PCR检测方法的建立 根据Taq PCR Master

表2 引物序列  
Table 2 Primer sequence

引物	序列(5'→3')	扩增长度(bp)
<i>invAF</i>	GGAACGAACTAATTCAGCGATA	435
<i>invAR</i>	AGATGTCATTAACCTTGTGGAG	
27F	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	1465
1492R	TACGGYTACCTTTGTTACGACTT	

Mix说明书所建议的PCR反应体系对PCR反应体系的各组分含量以及扩增程序进行微调,最终确定PCR反应最佳条件为:总体积25  $\mu\text{L}$ ,其中Taq PCR Master Mix 12.5  $\mu\text{L}$ ,DNA模板1  $\mu\text{L}$ ,16S rRNA引物和沙门氏菌引物终浓度均为0.4  $\mu\text{mol/L}$ ,补充无菌水至25  $\mu\text{L}$ 。以无菌水作为空白对照。

PCR反应程序:94  $^{\circ}\text{C}$ 预变性4 min,35个循环,每个循环94  $^{\circ}\text{C}$ 变性30 s、53.3  $^{\circ}\text{C}$ 退火30 s、72  $^{\circ}\text{C}$ 延伸90 s,最后72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸10 min。PCR产物使用1.5%的琼脂糖凝胶进行电泳,凝胶成像仪下观察结果。

1.2.5 特异性验证 使用细菌基因组DNA提取试剂盒提取表1中细菌的基因组DNA,并用建立的含扩增内标的PCR检测方法对所有细菌的基因组DNA进行检测,验证该PCR检测方法的特异性。

#### 1.2.6 灵敏度评价

1.2.6.1 纯DNA灵敏度评价 将提取的沙门氏菌基因组DNA用无菌超纯水进行10倍梯度稀释,取浓度在 $6.11 \times 10^8 \sim 6.11 \text{ fg}/\mu\text{L}$ 之间的DNA溶液进行PCR扩增,凝胶成像后能得到肉眼可见条带的DNA溶液浓度即为该PCR反应的DNA灵敏度。

1.2.6.2 纯培养物灵敏度评价 将活化的沙门氏菌接种于LB液体培养基中,37  $^{\circ}\text{C}$ 培养10 h后,用无菌生理盐水进行10倍梯度稀释,取 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$ 四个稀释度的菌悬液进行平板计数。沙门氏菌浓度测定后,用无菌超纯水进行10倍梯度稀释,每个稀释度取1 mL置于1.5 mL离心管中。参照刘斌等<sup>[10]</sup>的方法提取沙门氏菌的基因组DNA。离心管中的菌液12000 r/min离心5 min,吸弃上清液,收集沙门氏菌菌体。用100  $\mu\text{L}$ 无菌超纯水重新悬浮菌体,在沸水浴中煮10 min。从沸水浴中取出后,立即在-20  $^{\circ}\text{C}$ 放置30 min。在37  $^{\circ}\text{C}$ 解冻后4000 r/min离心5 min,所得上清液作为模板进行PCR扩增,检测沙门氏菌在纯培养状态下的灵敏度。

1.2.7 人工污染食品样品实验 取10份鸡蛋清,每份25 mL,在超净工作台中紫外杀菌30 min。将浓度为 $2 \times 10^9 \text{ CFU/mL}$ 的沙门氏菌菌液1 mL接种于无菌蛋清中,使蛋清中沙门氏菌接种量分别为2、20、200 cfu/25 mL,每组做3个平行对照。另取1 mL 0.85%的无菌生理盐水加入无菌蛋清中做为空白对照,即接菌量为0。将上述10份人工污染样品添加到225 mL LB培养基中,37  $^{\circ}\text{C}$ ,150 r/min的摇床中增菌培养,每隔2 h取1 mL菌液放入1.5 mL离心管中。收集的菌液12000 r/min离心5 min,吸弃上清液,再用无菌超纯水重新悬浮菌体。离心洗涤3次后采用1.2.6.2中的实验方法提取沙门氏菌的基因组DNA作为模板进行PCR

扩增。

1.2.8 食品样品检测 采集新鲜肉、鸡蛋、牛奶三种食品样品,共50份,每份样品取25 g或25 mL。鲜肉样品加入到盛有225 mL LB培养基的无菌均质袋中,使用拍击式均质器拍打2 min,鸡蛋及牛奶样品不进行均质,直接与培养基混匀。无菌操作将样品转移至锥形瓶中,37  $^{\circ}\text{C}$ ,150 r/min的摇床中增菌培养8 h。使用1.2.6.2中的方法提取基因组DNA,并用建立的PCR检测方法进行检测。

## 2 结果与分析

### 2.1 基因组DNA浓度

提取的沙门氏菌基因组DNA溶液,经超微量分光光度计测定浓度为611.12 ng/ $\mu\text{L}$ 。

### 2.2 特异性验证

PCR检验结果如表1所示,只有沙门氏菌基因组DNA能全部扩增出大小为435 bp的检测条带和大小为1465 bp的扩增内标对照条带,而它细菌基因组DNA只能扩增出大小为1465 bp的扩增内标对照条带。表明实验所设计的引物*invAF/invAR*的特异性良好。

### 2.3 灵敏度评价

2.3.1 纯DNA灵敏度实验 如图1所示,沙门氏菌基因组DNA经10倍梯度稀释至61.1 fg/ $\mu\text{L}$ 时,PCR检测结果仍有肉眼可见条带,可视为沙门氏菌基因组DNA的检测限为61.1 fg/ $\mu\text{L}$ 。

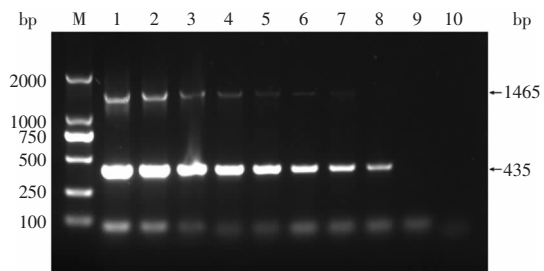


图1 沙门氏菌基因组DNA检测灵敏度

Fig.1 Sensitivity of detection for *Salmonella* genomic DNA  
注:M: D2000 DNA ladder; 1~9沙门氏菌基因组DNA浓度分别为 $6.11 \times 10^8 \sim 6.11 \text{ fg}/\mu\text{L}$ ; 10: 阴性对照。

2.3.2 纯培养物灵敏度实验 对培养好的沙门氏菌菌液进行平板菌落计数,沙门氏菌液浓度为 $2 \times$

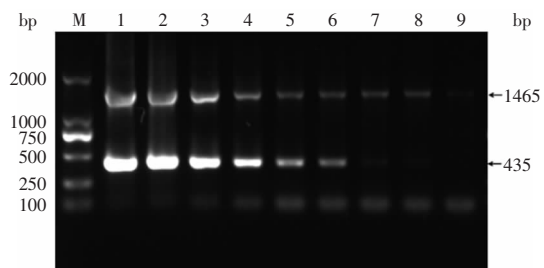


图2 沙门氏菌纯培养物检测灵敏度

Fig.2 Sensitivity of detection for *Salmonella* pure cultures  
注:M: D2000 DNA ladder; 1~8:沙门氏菌菌体浓度 $2 \times 10^7 \sim 2 \text{ CFU/mL}$ ; 9: 阴性对照。



$10^9$  CFU/mL。如图2所示,沙门氏菌菌液稀释到 $2 \times 10^2$  CFU/mL时,PCR检测结果仍有肉眼可见条带,可视为沙门氏菌纯培养物检测限为 $2 \times 10^2$  CFU/mL。

#### 2.4 人工污染食品样品实验

蛋清样品中接种的三个浓度的菌量分别为200、20、2 cfu/25 mL。PCR检测结果如表3所示,接菌量为200 cfu/25 mL的蛋清样品,在增菌培养6 h后即可检出。接菌量为2 cfu/25 mL和20 cfu/25 mL的蛋清样品,在增菌培养8 h后可以检出。这表明,该PCR检测方法最多经8 h增菌培养后,即可鉴定食品样品是否被沙门氏菌污染。

表3 人工污染食品样品检测结果

Table 3 Artificially contaminated food sample test results

时间 (h)	接菌量(cfu/25 mL)									
	200	200	200	20	20	20	2	2	2	0
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

注: +: 扩增到目的片段; -: 未扩增到目的片段。

#### 2.5 食品样品检测结果

50份食品检测结果如表4所示,总计50份样品中19份扩增出目的条带和扩增内标条带,表明食品样品受沙门氏菌污染;28份样品中只扩增出扩增内标条带,无目的条带,表明食品未受沙门氏菌污染,3份样品未扩增出任何条带,表明样品检测过程中PCR反应受到抑制。对3份未扩增出条带的样品培养液进行稀释处理,重新检测结果显示3份样品均仅能扩增出一条内标条带。结果显示,实验采集的50份食品样品中19份受到沙门氏菌污染。

表4 食品样品检测结果

Table 4 Food sample test results

样品	样品数量	阳性结果( <i>invA</i> /16S rRNA)	假阴性结果
鲜肉	20	8/17	3
鸡蛋	20	9/20	0
牛奶	10	2/10	0
总计	50	19/47	3

### 3 结论

实验结果表明,以细菌16S rRNA为扩增内标对照,以沙门氏菌*invA*基因为检测基因建立的PCR反应体系特异性强,灵敏度高。在扩增内标存在的条件下,从沙门氏菌菌体中提取的纯基因组DNA检测灵敏度为 $61.1 \text{ fg}/\mu\text{L}$ ,沙门氏菌纯培养物检测灵敏度可达 $2 \times 10^2$  CFU/mL,与刘斌、杨晋、Singh等的报道大致相同<sup>[3,13-14]</sup>。实验过程中,采用简单的煮沸裂解法代替繁琐的传统DNA提取方法提取样品中沙门氏菌的基因组DNA,既能确保低丰度的微生物被检测到,又具

有步骤少、耗时短、成本低等优点<sup>[5]</sup>。沙门氏菌接种量为200、20、2 cfu/25 mL的人工污染蛋清样品,经6 h和8 h增菌培养后即可检出。这表明,在实际样品检测过程中,一般增菌6~8 h,就可满足该PCR检测方法的检出限,加上DNA模板提取、PCR扩增和电泳分析过程,整个检测至多需要12 h,远低于传统培养检测方法的4~5 d。

本研究建立的含扩增内标的沙门氏菌PCR检测方法,检测时间短,特异性好,灵敏度高,可有效排除检测过程中存在的假阴性现象。因此,该检测方法在检测沙门氏菌方面具有良好的性能,可以满足沙门氏菌快速检测的需求。

#### 参考文献

- [1] Hassena A B, Barkallah M, Fendri I, et al. Real time PCR gene profiling and detection of *Salmonella* using a novel target: The *siia* gene[J]. Journal of Microbiological Methods, 2015, 109(1):9-15.
- [2] 黄文宇,柳陈坚. 食源性沙门氏菌检测方法的研究进展[J]. 生物技术, 2009, 19(3):95-98.
- [3] 杨晋,曾庆梅,张笛,等. 添加扩增内标的沙门氏菌PCR检测方法[J]. 生物技术通报, 2014, 30(7):54-59.
- [4] Manzano M, Cocolin L, Astori G, et al. Development of a PCR microplate-capture hybridization method for simple, fast and sensitive detection of *Salmonella* serovars in food[J]. Molecular and Cellular Probes, 1998, 12(4):227-234.
- [5] 王军,郑庆忍,王晶钰. 动物源性食品中沙门氏菌的风险评估[J]. 中国动物检疫, 2007, 24(4):23-25.
- [6] 陈金顶,索青利,廖明,等. 沙门氏菌的*invA*基因序列分析与分子检测[J]. 中国人兽共患病杂志, 2004, 20(10):868-871.
- [7] Malorny R, Tassios P T, Radstrom P, et al. Standardization of diagnostic PCR for the detection of foodborne pathogens[J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 83(1):39-48.
- [8] Zhang W J, Cai Q, Guan X, et al. Detection of peanut (*Arachis hypogaea*) allergen by Real-time PCR method with internal amplification control[J]. Food Chemistry, 2015, 174:547-552.
- [9] Hoorfar J, Malorny B, Abdulmajjood A, et al. Practical considerations in design of internal amplification controls for diagnostic PCR assays[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2004, 42(5):1863-1868.
- [10] Malorny B, Hoorfar J, Bunge C, et al. Multicenter validation of the analytical accuracy of *Salmonella* PCR: towards an international standard[J]. Applied & Environmental Microbiology, 2003, 69(1):290-296.
- [11] Daum LT. Real-time PCR detection of salmonella in suspect foods from a gastroenteritis outbreak in Kerr county, Texas[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2002, 40(8):3050-3052.
- [12] Zhang D, Yan Y, Li Q, et al. Label-free and high-sensitive detection of *Salmonella* using a surface plasmon resonance DNA-based biosensor[J]. Journal of Biotechnology, 2012, 160(3-4):123-128.
- [13] 刘斌,史贤明. 扩增内标在沙门氏菌PCR检测方法中的应用[J]. 微生物学通报, 2006, 33(2):156-161.

(下转第63页)

以先采用试纸条对样品进行大规模的初步筛查,确定阳性样品,然后采用HPLC等方法对相关样品进行定量分析,既能节约检测时间,还可以节约检测成本,故说明该试纸条具有较好的实用性。

### 3 结论

本实验将标记好的金标抗体按照 $14 \mu\text{L}/\text{cm}$ 喷于金标垫上, $200 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的检测抗原 $\text{FB}_1\text{-BSA}$ (T线)和 $1.0 \text{ mg}/\text{mL}$ 的羊抗鼠二抗(C线)按照 $0.74 \mu\text{L}/\text{cm}$ 喷涂于硝酸纤维素膜(NC膜),然后组装成试纸条,该试纸条检出限为 $20 \text{ ng}/\text{mL}$ ,检测时间只需 $5 \text{ min}$ ,试纸条稳定性可达12个月无需专业人员和仪器,可直接目测其结果,特别适合现场快速检测。

### 参考文献

- [1] Maragos C M, Busman M. Rapid and advanced tools for mycotoxin analysis: a review[J]. Food Addit Contam Part A, 2010, 5(27): 688-700.
- [2] Shier W T, Abbas H K, Karam M A, et al. Fumonisin: abiogenic conversions of an environmental tumor promoter and common food contaminant[J]. J Toxicolo Toxin Reviews, 2003, 22(4): 591-616.
- [3] Voss K A, Riley R T, Waes J G. Fumonisin B<sub>1</sub> induced neural tube defects were not increased in LM/Bc mice fed folate-deficient diet[J]. Mol Nutr Food Res, 2014, 58: 1190-1198.
- [4] International Agency for Research on Cancer (IARC), Fumonisin B<sub>1</sub>[J]. IARC, 2002, 82: 301-366.
- [5] 钱鸣蓉, 吴俐勤, 章虎, 等. 液相色谱-串联质谱法测定牛奶中伏马菌素 $\text{FB}_1$ 和 $\text{FB}_2$ 及其水解代谢物[J]. 分析化学, 2012, 40(5): 757-761.
- [6] 许杨, 邹龙, 刘师文, 等. 伏马菌素 $\text{B}_1$ 单克隆抗体制备及化学发光免疫检测方法的建立[J]. 分析化学, 2012, 40(11): 1735-1739.
- [7] 李淑群, 曹碧云, 常化仿, 等. 胶体金免疫层析法快速检测牛奶、奶粉、饲料中的三聚氰胺. 分析化学, 2013, 41(7): 1025-1030.
- [8] 黄艳梅, 刘道峰, 赖卫华, 等. 集成免疫磁珠富集和免疫层析的黄曲霉毒素M1快速检测法[J]. 分析化学, 2014, 42(5): 654-659.

- [9] Dzantiev B B, Byzova N, Urusov A, et al. Immunochromatographic methods in food analysis[J]. Trends in Anal Chem, 2014, 55: 81-93.
- [10] Venkataramana M, Navya K, Chandranayaka S, et al. Development and validation of an immunochromatographic assay for rapid detection of fumonisin B<sub>1</sub> from cereal samples[J]. J Food Sci Technol, 2014, 9(51): 1920-1928.
- [11] Wang S, Quan Y, Lee N, et al. Rapid determination of fumonisin B<sub>1</sub> in food samples by enzyme-linked Immunosorbent assay and colloidal gold immunoassay[J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(7): 2491-2495.
- [12] Shiu C M, Wang J J, Yu F Y. Sensitive enzyme-linked immunosorbent assay and rapid one-step immunochromatographic strip for fumonisin B<sub>1</sub> in grain-based food and feed samples[J]. J Sci Food Agric, 2010, 90(6): 1020-1026.
- [13] Li Y S, Zhou Y, Lu S Y, et al. Development of a one-step test strip for rapid screening of fumonisins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> and B<sub>3</sub> in maize [J]. Food Control, 2012, 24(1-2): 72-74.
- [14] Wang Y K, Shi Y B, Zou Q, et al. Development of a rapid and simultaneous immunochromatographic assay for the determination of zearalenone and fumonisin B<sub>1</sub> in corn, wheat and feedstuff samples[J]. Food Control, 2013, 31(1): 180-188.
- [15] Wang Y K, Yan Y X, Ji W H, et al. Rapid simultaneous quantification of zearalenone and fumonisin B<sub>1</sub> in corn and wheat by lateral flow dual immunoassay[J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(21): 5031-5036.
- [16] 刘师文, 何庆华, 邹龙, 等. 谷物中伏马菌素 $\text{B}_1$ 酶联免疫分析法的建立[J]. 食品科学, 2010, 31(18): 350-354.
- [17] Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity[J]. Nature, 1975, 256(5517): 495-497.
- [18] Xu Y, Huang Z B, He Q H, et al. Development of an immunochromatographic strip test for the rapid detection of deoxynivalenol in wheat and maize[J]. Food Chem, 2010, 119(2): 834-839.
- [19] 李岩松. 玉米中伏马菌素免疫学快速筛查方法的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2011.

(上接第53页)

- 1237.
- [20] Oscar TP. Predictive models for growth of *Salmonella typhimurium* DT104 from low and high initial density on ground chicken with a natural microflora[J]. Food Microbiology, 2007, 24:

640-651.

- [21] Zhou K, Zhong KC, Long C, et al. Development and validation of a predictive model for the growth of *Salmonella enterica* in chicken meat[J]. Journal of Food Safety, 2014, 34: 326-332.

(上接第57页)

- [14] Singh P, Mustapha A. Development of a real-time PCR melt curve assay for simultaneous detection of virulent and antibiotic resistant *Salmonella*[J]. Food Microbiology, 2014, 44: 6-14.

- [15] 夏乐先, 孙文娟, 沈振, 等. 煮沸裂解法和试剂盒法提取浸矿菌基因组DNA的比较[J]. 现代生物医学进展, 2014(1): 31-35, 17.