

## ·研究进展·

## 沙门菌 PCR 检测技术应用进展

黄丽华,唐保晖

**摘要** 沙门菌是引起食物中毒的主要致病菌之一,其传统检测方法包括选择性培养、生化鉴定等步骤,耗时长、灵敏性差,很难满足快速检测要求。聚合酶链反应(PCR)技术是近年来广泛应用于食品中沙门菌快速检测的方法之一,其检测目的基因多种多样,主要包括属特异性引物基因、血清群特异性引物基因与血清型特异性引物基因。本文主要概述 PCR 技术应用于沙门菌检测的各种目的基因,并简要介绍常规 PCR、多重 PCR 及实时定量 PCR 等技术的应用。

**关键词** 沙门菌;PCR 技术;基因

中图分类号:R378.2<sup>+</sup>2 文献标识码:A 文章编号:1009-9727(2012)1-105-04

Research progress in detection of Salmonella by polymerase chain reaction. HUNG Li-hua, TANG Bao-hui. (Hechi Municipal Center for Disease Control and Prevention, Hechi 547000, Guangxi, P. R. China)

**Abstract** Salmonella spp. is one of the principal bacteria causing food poisonings. The conventional detection of Salmonella spp. include selective culture, biochemical identification, etc., that were time-consuming and low sensitivity and difficult to meet the rapid detection demand. Polymerase chain reaction (PCR) is one of the recently developed methods for rapid detection of Salmonella spp. in various kinds of foods. The objective gene to be detected by PCR is diversified, mainly covering species-specific prime gene, serogroup-specific gene and serotype-specific prime gene. In this paper, the various objective genes of Salmonella spp. to be detected by various PCR techniques were discussed.

**Key words:** Salmonella; PCR technique; Gene

沙门菌是引起食物中毒的主要致病菌之一,而在引起沙门菌中毒的食品中,约 90%是肉、蛋、奶等畜禽产品。肉、蛋、奶等畜禽产品中含有多种丰富的营养成分,非常适宜于沙门菌的生长繁殖,同时沙门菌在外环境中的生活力较强,在水、牛乳及肉类食品中能生存几个月,人吃了含有大量沙门菌的畜禽产品,沙门菌就会产生毒素而引发食物中毒,沙门菌的污染已对食品安全构成了严重威胁<sup>[1]</sup>。目前沙门菌的检测大都沿用传统的细菌培养、生化反应、血清学实验等程序<sup>[2]</sup>,至少需 4~7d,费时费力,难以适应快速简便的要求。因此,加强食品中沙门菌快速检测技术的研究具有重要的现实意义。近年来,随着聚合酶链反应(PCR)技术的广泛应用,国内外学者已经将这一技术引入食品中沙门菌和其它食源性致病快速检测领域。PCR 技术不但可以定性检测也可以定量检测,对沙门菌的检测一般通过检测多种特异性基因进行。

利用 PCR 技术检测食品中沙门菌的关键问题是引物的特异性,用来设计 PCR 引物的基因主要分 3 类,即属特异性引物基因、血清群特异性引物基因与血清型特异性引物基因<sup>[3]</sup>。

## 1 沙门菌基因分类

### 1.1 属特异性引物基因。

1.1.1 *hut* 基因 编码组氨酸转运操纵子。黄金林等<sup>[4]</sup>根据沙门菌组氨酸转运操纵子基因序列设计引物,对沙门菌属 A~F 各群中共 15 株沙门菌标准菌株、27 株沙门菌现场分离菌株和其他 10 株非沙门菌菌株进行聚合酶链反应(PCR)扩增,结果沙门菌均出现 495 bp 特异性 DNA 扩增条带,所有对照均未出现特异条带,显示了具有很强的沙门菌属特异性。

1.1.2 *inv* 基因簇 编码吸附和侵袭上皮细胞表面蛋白。*ZnU* 基因簇与沙门菌对肠道上皮细胞的侵袭有关,包括 *invA*、*invB*、*invC*、*invD*、*invE* 等基因。众多研究者均证实基于 *inv* 基因簇设计的引物具属特异性,可用于鉴别沙门菌。李业鹏等<sup>[5]</sup>根据 *invA* 基因设计引物,优化了 PCR 检测条件,建立最适 PCR 反应体系检测食品中的沙门菌,用该反应体系对传统方法鉴定的 77 株沙门菌和 24 株非沙门菌进行特异性检测,符合率为 100%,并且可以在 19h 内检出含有沙门菌 102cfu/g 的食品。

1.1.3 *hilA* 基因 编码侵袭基因正调节蛋白。*hilA* 是 *inv* 基因的正转录调节蛋白。张敬平等<sup>[6]</sup>根据 *hilA* 基因设计引物,优化了 PCR 反应条件,对沙门菌和非沙门菌进行特异性引物的 PCR 扩增,鉴定沙门菌,所检测沙门菌株和模拟样品均出现特异性扩增条带。

1.1.4 *fimA* 基因 编码 1 型菌毛主要的亚单元。*fimA* 基因编码沙门菌工型菌毛主要的亚单元,介导与上皮细胞表面的特异受体相结合。H.J.Cohen 等<sup>[3]</sup>根据 *fimA* 基因设计特异引物,检测出牛奶等食品中的沙门菌。

1.1.5 *hns* 基因 编码与蛋白质结合的 DNA。*hns* 基因编码与蛋白质结合的 DNA。

1.1.6 *spy* 基因 编码沙门菌毒性质粒相关的毒力因子。*spy* 基因编码与沙门菌毒性质粒相关的毒力因子,与沙门菌的致病性有关。J.Mahon 等<sup>[3]</sup>根据鼠伤寒沙门菌 *spvR* 基因设计引物,特异性检测到具有该毒力相关基因的沙门菌,而不含质粒和质粒无该毒力相关基因的菌株则表现阴性。

1.1.7 16S rRNA 基因 李君文等<sup>[7]</sup>将常规 PCR 与半套式 PCR

作者单位:河池市疾病预防控制中心 广西 河池 547000

作者简介:黄丽华(1964~),女,大专,主管技师,主要从事微生物检验工作。

相结合,以沙门菌中最保守的 16S rRNA 基因为模板设计了一对沙门菌属的特异性引物,经过优化反应条件,敏感性提高到 3cfu/ml。

1.2 血清群特异性引物基因(rfb 基因) 编码沙门菌的菌体抗原(O 抗原)。O 抗原与沙门菌对宿主细胞的黏附、侵袭和在宿主细胞间扩散有关,是沙门菌主要的致病因子之一,刺激机体产生 IgM 抗体。目前沙门菌属分为 A~Z、O51~O63、O65~O67 等 46 个血清群。Luk 等<sup>[3]</sup>根据 rfb 基因序列分别设计群特异性引物,成功用于 A、B、C2、D 群沙门菌的检测。

1.3 血清型特异性引物基因 沙门菌的 H 抗原(鞭毛抗原)本质是蛋白质,是沙门菌重要的毒力因子,决定其对宿主细胞表面的吸附、侵入和定居过程,刺激机体产生 IgG 抗体。沙门菌的 H 抗原分为 H1 相和 H2 相,根据 O 抗原的不同分为 46 个血清群,各血清群再根据 H 抗原各相的不同而分成不同的血清型。

1.3.1 fliC 基因 编码 H1 相抗原。H1 相又称特异相,特异性高,大多数沙门菌都具有 H1 相抗原,目前型特异性引物的设计多是针对该基因。Wei 等<sup>[3]</sup>测出沙门菌几种不同的 fliC 基因序列,经序列对比分析后将沙门菌的 fliC 基因分为 8 个区,其中工区和 区的保守性达到 100%,李景鹏等<sup>[3]</sup>利用自行设计的工区引物扩增沙门菌,证实该引物具有属特异性。此外对 PCR 扩增产物进行限制性内切酶酶切,进行限制性片段长度多态性分析(RFLP)也可区分不同的血清型。

1.3.2 fljB 基因 编码 H2 相抗原。H2 相也称非特异相,特异性低。

1.3.3 via 基因 编码 vi 抗原。vi 抗原不稳定,易丢失,只可作为辅助检验。也可将沙门菌几种抗原结合起来,从而直接确定沙门菌特定的血清型。

1.3.4 16S~23S rRNA 基因间序列 利用 PCR 扩增 16S~23S rRNA 基因间序列(RNA 指纹图谱),也区分沙门菌不同的血清型。

## 2 PCR 技术

聚合酶链反应(Polymerase Chain Reaction, PCR)是 1985 年诞生的一项体外扩增 DNA 的方法,具有特异性强、灵敏度高、快速准确、自动化程度高等特点,自问世以来,已在医学、生命科学、农业科学、环境科学、考古学等许多领域得到了广泛的应用,并结合其他技术衍出了许多 PCR 优良技术,如反转录 PCR、不对称 PCR、错配 PCR、PCR-RFLP、PCR-SSCP、PCR-ASO、RAPD-PCR、DDRT-PCR、免疫 PCR、多重 PCR、实时荧光 PCR 等。

2.1 PCR 技术的基本原理 PCR 是在体外合适条件下,以单链 DNA 为模板,以 1 对人工合成的寡核苷酸为引物,在热稳定 DNA 聚合酶作用下特异性扩增 DNA 片段的技术。整个反应过程通常由 20~40 个 PCR 循环组成,每个 PCR 循环包括高温变性-低温复性-适温延伸 3 个步骤。方法是首先将靶 DNA 双链加热变性为单链,然后加入 2 段人工合成的与靶 DNA 端邻近序列互补的寡核苷酸片段作为引物,即左端引物和右端引物,该对引物与互补的 DNA 单链碱基互补结合后,在有 DNA 多聚酶和 4 种 dNTPs 底物存在的情况下,引物沿模板 DNA 链(靶 DNA 单链)按 5'末端向 3'末端方向延伸,自动合成新的 DNA 双链,新合成的 DNA 双链又可作为扩增的模板,继续重复以上的 DNA 聚合酶反应。经过 25~35 次循环,可将靶 DNA 序列扩增近百万倍。

## 2.2 PCR 技术在沙门菌检测中的应用

2.2.1 常规 PCR 通常是目的基因中的特异性片段经 PCR 扩增后,PCR 扩增终产物经琼脂糖凝胶电泳,后用凝胶成像仪来观察特异性条带位置,与标准条带比较,定性分析扩增产物的分子量大小,以初步判定是否检测到目的基因中的特异性片段。李岩等<sup>[8]</sup>以沙门菌的侵袭蛋白基因 invA 为靶细胞设计引物,进行 PCR 扩增并对 PCR 反应体系中引物量、模板量、dNTP、退火温度和 PCR 循环数等进行优化,以确定适宜的 PCR 反应体系和 PCR 扩增反应程序。吴永生等<sup>[9]</sup>采用 PCR 技术通过两对引物扩增伤寒沙门菌鞭毛抗原基因 区一段特异性 DNA 片段及 invA 和 invE DNA 片段,并用其它致病菌作为对照,结果仅伤寒沙门菌各出现一条特异性扩增带,与已知阳性对照相符,建立了伤寒沙门菌的快速检测方法。詹铭等<sup>[10]</sup>选择沙门菌的 hliA 基因来设计引物,扩增片段在 497bp,建立了沙门菌 PCR 检测技术,从而使沙门菌检测判定周期大幅缩短,同时也大大提高检测的准确度及灵敏度。汪琦等<sup>[11]</sup>以 invA 为目的基因进行 PCR,琼脂糖凝胶电泳检测,两天时间即能得到明确结果。以全脂奶粉、生牛肉和加工过的鸡肉为实验对象,人为添加沙门菌,检测结果与传统培养方法和 BAX(r)系统检测结果一致,实验检出限为 100cfu/25g,准确性达 100%。

尽管 PCR 检测方法灵敏、快速、特异,但也存在一定的缺陷,一是 PCR 技术不能区分有活性的和没有活性的细菌,而食物中毒等致病菌的检测则需检测到有活性的细菌才有意义。另一问题是常规 PCR 在操作过程易发生污染,极其微量的污染即可造成假阳性的产生,然而,随着 PCR 技术的飞跃发展,常规 PCR 易污染的问题已得到有效地解决。

2.2.2 多重 PCR 一般 PCR 仅应用一对引物,通过 PCR 扩增产生一个核酸片段,主要用于单一致病因子等的鉴定。多重 PCR(Multiplex PCR),又称多重引物 PCR 或复合 PCR,它是在同一 PCR 反应体系里加上二对以上引物,同时扩增出多个核酸片段的 PCR 反应,其反应原理,反应试剂和操作过程与一般 PCR 相同。且具有高效、系统性以及经济简便等优点,大大提高了检测的实效性。多重 PCR 在沙门菌等食源性致病菌的检验上已得到较好应用,可以同时检测一种致病菌的多个基因,也可以同时检测多种致病菌。文献<sup>[12-14]</sup>报导的关于沙门菌多重 PCR 检测方法,都取得理想的结果。在文献<sup>[15-21]</sup>报导的采用多重 PCR 同时检测沙门菌、志贺菌和致泻性大肠菌群等食源性致病菌,提高了检测效率。

多重 PCR 既保留了常规 PCR 的特异性、敏感性,又减少了操作步骤及试剂使用量。但也存在明显的不足,例如扩增效率不高、敏感性偏低,扩增条件需摸索与协调;可能出现引物间干扰等。因此,需要根据实验的要求、目的以及所设计的引物等因素,对反应条件进行优化,对多重 PCR 中的各种影响因素进行组合、调整,以寻找到一个最优的扩增条件,建立最适的多重 PCR 反应体系,是今后广大科研工作者共同探索研究解决的问题。

2.2.3 实时荧光定量 PCR(Real-time PCR) 实时荧光定量 PCR 技术,是在反应体系中加入荧光基团,利用荧光信号积累实时监测整个 PCR 进程,最后通过标准曲线对未知模板进行定量分析



的方法。从而实现了每一轮循环均检测一次荧光信号的强度并记录在电脑软件之中,通过对每个样品 Ct 值(每个反应内的荧光信号到达设定的域值所经历的循环数 Cycle threshold)计算,再根据标准曲线进行定量。

实时荧光定量 PCR 技术于 1996 年由美国 Applied Biosystems 公司推出,由于该技术不仅实现了 PCR 从定性到定量的飞跃,而且与常规 PCR 相比,它具有特异性更强、有效解决 PCR 污染问题、自动化程度高等特点,目前在沙门菌等检测领域已得到广泛应用。岳昌武等<sup>[22-23]</sup>用荧光定量 PCR 技术检测豆豉和动物中沙门菌,其灵敏度达 10 cfu/g,整个检测时间在 4h~10h 以内,能快速、准确地检测豆豉和动物中沙门菌。郑友限等<sup>[24]</sup>用鼠伤寒标准菌和 60 份食品样本进行实时荧光定量 PCR 法的特异性、敏感性和重复性试验,并与常规法和科玛嘉平板分离法做比较。其灵敏度达 102cfu/ml,从增菌至完成检测仅需 24h 左右,是一种快速检测沙门菌的敏感、特异的新方法。钟伟军等<sup>[25]</sup>根据编码鼠伤寒沙门菌肠毒素 stn 基因的核苷酸序列设计 1 对引物和荧光探针,通过对荧光定量 PCR 反应体系和反应条件的摸索,建立了检测沙门菌的核酸荧光定量 PCR 方法。方平等<sup>[26]</sup>应用 SYBR Green I 染料能选择性结合双链 DNA 的特点,可检测到沙门菌 fimI 基因特异性靶序列扩增所产生的荧光信号,通过熔解曲线可知其熔点值约为 85.6℃,而对其他非沙门菌则检测不到荧光信号。建立了一种肉品中的沙门菌 Real-time PCR 检测方法,用该方法检测市售牛肉、香肠中的沙门菌,其检测灵敏度分别为 13,12cfu/25g,从样品的处理到得出检验结果可以在 10h 内完成,显示该检测方法具有简便、快速、特异性强、敏感度高等特点。

实时荧光定量 PCR 技术特异性好,准确性高,假阳性低,灵敏度高,可定量检测,误差小,操作简单,自动化程度高,产物的扩增和检测闭管一步完成,交叉污染和污染环境机会少,无后处理,不需电泳、拍照。但仍有些问题需解决,如自动化仪器、试剂及其检测的成本等。

### 3 结语

综上所述,PCR 技术应用于食品中沙门菌等致病菌的检测具有快速、灵敏、准确等传统方法无可比拟的优势,其研究近年来突飞猛进,目前检验技术的快速发展,各种新技术、新方法层出不穷,但是各种方法的结果其意义是不同的。传统的病原分离培养技术虽然耗时费力,检出敏感性也较差,但迄今不论在疾病的诊断还是在卫生学评价中仍是不可缺少的金标准,是分子生物学技术等检验方法不能代替的。尽管 PCR 技术具备许多优点,然而欲将该技术真正运用到常规检验工作中,仍存在相当的难度。原因主要包括:①相当多的基层实验室未配备 PCR 仪;②用于 PCR 检测的试剂较昂贵,费用高,难以承担;③食品中致病菌的含量低,种类往往较为复杂,又存在着影响目标 DNA 的提取及 PCR 扩增反应的物质等。为此,建议从以下几点着手改进:①争取相关部门的支持,加大投入力度,更新检测设备,满足检测工作需要,减轻劳动强度;②研究并开发灵敏度高、检测速度快、操作简便、成本较低的 PCR 检测试剂;③研究更有效的富集目的菌的方法,缩短前增菌时间,以及如何排除食品中的干扰物质;④如何确定针对每种致病菌的特异基因序列,并力求通过多重 PCR 等手段提高检测效率,更符合快速检

测的需求等。总之,PCR 技术应用于沙门菌等致病菌方面的研究还有待于更进一步的探讨。

### 参考文献:

- [1] Wang Y, Liang QY, Cao JJ. Rapid detection of Salmonella by SYBR Green real-time PCR[J]. Chin J Food Health, 2006, 18(4): 314-317. (In Chinese)  
(王耀, 郑秋月, 曹际娟. SYBR Green 实时 PCR 快速检测沙门菌[J]. 中国食品卫生杂志, 2006, 18(4): 314-317.)
- [2] GB 4789.4-2008 Hygienic and microbiological test of Salmonella[S]. Beijing: China Norm Press, 2008, 1-6. (In Chinese)  
(GB 4789.4-2008, 食品卫生微生物学检验沙门菌检验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008: 1-6.)
- [3] Liu HW, Guo AG, Ma LN, et al. Application of PCR technique in detection of Salmonella [J]. J Animal Medial Progress, 2004, 25(6): 55-58. (In Chinese)  
刘华伟, 郭蔼光, 马立农, 等. PCR 技术在沙门氏菌快速检测中的应用[J]. 动物医学进展, 2004, 25(6): 55-58.
- [4] Huang JL, Jiao XA, Wen QY, et al. Rapid detection of Salmonella by using polymerase chain reaction [J]. J Yangzhou University (Agricultural and life science edition), 2002, 23(3): 4-7; 11 (In Chinese)  
(黄金林, 焦新安, 文其乙, 等. 应用聚合酶链反应快速检测沙门氏菌[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2002, 23(3): 4-7, 11)
- [5] Li YP, Zhong K, Yang BL, et al. Establishment of detection of Salmonella by PCR [J]. Chin J Food Health, 2006, 18(1): 17-22. (In Chinese)  
(李业鹏, 钟凯, 杨宝兰, 等. 食品中沙门菌 PCR 检测方法的建立[J]. 中国食品卫生杂志, 2006, 18(1): 17-22.)
- [6] Zhang JP. Study on the detection of hilA gene of Salmonella by PCR [J]. Chin J Health Inspection, 2008, 18(12): 2608-2609, 2708.  
张敬平. PCR 检测沙门菌 hilA 基因的方法研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(12): 2608-2609, 2708.
- [7] Li JW. Detection of Differentiation of Salmonella by PCR[J]. Chin J Health Insp, 2000, 20(3): 269-272 (In Chinese).  
李君文. 肠道致病菌 PCR 检测与鉴定研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2000, 20(3): 269-272.
- [8] Li Y, Liu HY, Cui HB, et al. Optimization of condition for detection of Salmonella by PCR[J]. J Meat Res, 2010, 3: 58-61. (In Chinese)  
(李岩, 刘红玉, 崔洪斌, 等. PCR 技术检测沙门氏菌反应条件的优化[J]. 肉类研究, 2010, 3: 58-61.)
- [9] Wu YS, Zhang SH, He J, et al. Application of PCR in rapid detection of Sallmonella typhi [J]. J Travel Med Sci, 2002, 8(1): 40-42. (In Chinese)  
(吴永生, 张少华, 何浩, 等. 应用 PCR 技术快速检测伤寒沙门氏菌[J]. 旅行医学科学, 2002, 8(1): 40-42.)
- [10] Zhan M, Shen XM, Zhao Y, et al. Detection of Salmonella by PCR [J]. J Prac Prev Med, 2006, 13(6): 1624-1626. (In Chinese)  
(詹铭, 沈小明, 赵冰, 等. 应用 PCR 法检测沙门菌[J]. 实用预防医学, 2006, 13(6): 1624-1626.)
- [11] Wang Qi, Zhang X, Zhang HY, et al. Rapid detection of Salmonella from foods by using PCR [J]. J Lab Quar Sci, 2005, 15(6): 26-28 (In Chinese)

- (汪琦,张昕,张惠媛,等.利用 PCR 方法快速检测食品中的沙门氏菌[J].检验检疫科学,2005,15(6):26-28.)
- [12] Shao BY,Chen B,Tang MY et al. Establishment of double PCR method for detection of Salmonella [J]. J Food Sci,2007,28(10):489-492. (In Chinese)  
(邵碧英,陈彬,汤敏英,等.沙门氏菌多重 PCR 检测方法的建立[J].食品科学,2007,28(10):489-492.)
- [13] Feng F. Detection of Salmonella typhimurium by double PCR technique [J]. Chin J Bioeng,2011,31(1):65-69. (In Chinese)  
冯飞.鼠伤寒沙门氏菌多重 PCR 检测方法的研究[J].中国生物工程杂志,2011,31(1):65-69.
- [14] Zhang JM. Detection of H1 and O antigen of Salmonella paratyphi A by double PCR [J]. J Food Sci,2010,20(6):1415-1416. (In Chinese)  
(张家敏.二重 PCR 检测甲型副伤寒沙门菌 H1 及 O 抗原基因的研究[J],2010,20(6):1415-1416.)
- [15] Chen N,Tang SH,Cghen JH et al. Detection of Salmonella and Caplyobacter jejuni by double PCR [J]. J Food Sci,2010,31(22):403-406 (In Chinese)  
(陈诺,唐善虎,陈进会,等.双重 PCR 方法检测沙门氏菌和空肠弯曲菌[J].食品科学,2010,31(22):403-406.)
- [16] Yu XF,Hai JC,Meng DM et al. Detection of Salmonella, Shizhella and diarrheal Escherichia coli by multiple PCR [J]. Chin J Prev Med,2007,41(6):465 (In Chinese)  
于新分,潘劲草,孟冬梅,等.多重实时 PCR 检测沙门菌、志贺菌和致泻性大肠埃希菌[J].中华预防医学杂志,2007,41(6):461-465.
- [17] Hao YQ,Sun JY,Li A et al. Detection of three food-borne bacteria by orthogonal optimized multiple PCR [J]. J Anhui Agricul Sci,2010,38(2):602-605. (In Chinese)  
(郝玉芹,孙皆宜,李艾,等.正交优化多重 PCR 反应体系检测 3 种食源性致病菌的研究[J].安徽农业科学,2010,38(2):602-605.)
- [18] Yang XP,Wu QP,Zhang JM et al. Detection of four pathogenic bacteria from harmfree poultry meat and aquatic products[J]. Bull Microbiol,2005,32(3):101 (In Chinese)  
(杨小鹏,吴清平,张菊梅,等.多重 PCR 检测无公害畜禽肉和水产品中 4 种致病菌[J].微生物学通报,2005,32(3):95-101.)
- [19] Liu JY,Long Y,Su MQ et al. Establishment of PCR-based multiple system for detection of Shizhella, Salmonella and Cholera [J]. J PLA,2007,32(11):1190-1191 (In Chinese)  
(刘家云,龙钢,苏明权,等.志贺菌、沙门菌和霍乱弧菌多重 PCR 快速检测体系的建立[J].解放军医学杂志,2007,32(11):1190-1191.)
- [20] Yang XP,Wu QP,Zhang JM et al. Detection of Salmonella and E. coli O157 from domestic animal and poultry meat by multiple PCR [J]. Bull Microbiol,2008,35(3):470-474 (In Chinese)  
杨小鹏,吴清平,张菊梅,等.畜禽肉沙门氏菌和大肠杆菌 O157 多重 PCR 检测研究[J].微生物学通报,2008,35(3):470-474.)
- [21] Huang JL,Pan ZM,Yan W et al. Establishment and application of multiple PCR for detection of L. monocytogenes and Salmonella [J]. Chin J Zoonoses,2006,22(12):1121-1123. (In Chinese)  
(黄金林,潘志明,颜卫,等.沙门菌、产单核细胞李斯特菌多重 PCR 检测方法的建立及应用[J].中国人兽共患病学报,2006,22(12):1121-1123.)
- [22] Yue CW,LV YH,Chen ZH et al. Rapid detection of Salmonella from fermented soya beans by absolute quantitative PCR[J]. J Chin Ferment,2009,10:127-129 (In Chinese)  
(岳昌武,吕玉红,陈泽会,等.绝对定量 PCR 快速检测豆豉沙门菌[J].中国酿造,2009,10:127-129.)
- [23] Yue CW,LV YH,Liu KX et al. Rapid Detection of Salmonella from contaminated food[J]. Bul Chin Agricul,2009,25(20):95-99 (In Chinese)  
(岳昌武,吕玉红,刘坤祥,等.定量 PCR 快速检测动物食品中沙门菌污染[J].中国农学通报,2009,25(20):95-99.)
- [24] Zheng YX,Yang YH,Chen PR et al. Rapid detection of Salmonella by Tapman probe and fluorescent real time PCR,2006(4):311-313 (In Chinese)  
(郑友限,杨育红,陈培蓉等. TaqMan 探针法实时荧光定量 PCR 快速检测沙门菌的探讨[J],中国食品卫生杂志,2006(4):311-313.)
- [25] Zhong WJ,Zhao MQ,Deng ZP et al. Establishment and application of fluorescent quantitative PCR for rapid detection of Salmonella from foods[J]. Chin J Prev Veteri,2008,30(3):220-224 (In Chinese)  
(钟伟军,赵明秋,邓中平,等.荧光定量 PCR 快速检测食品中沙门氏菌方法的建立及初步应用,中国预防兽医学报,2008,30(3):220-224.)
- [26] Fang P,Yang YL,Yang B et al. Detection of Salmonella from meat by using real-time PCR [J]. J Shanxi Agricul Sci,2010,38(8):71-76 (In Chinese)  
(方平,杨永莉,杨宝,等. Real-time PCR 方法检测肉品中的沙门氏菌[J].山西农业科学,2010,38(8):71-76.)

收稿日期:2011-04-01 编辑:谢永慧