

# 食源性致病菌分子生物学检测技术研究进展

景建洲<sup>1,2,3</sup>, 李红利<sup>1</sup>, 孙新城<sup>1,2,3</sup>,  
胡金强<sup>1,2,3</sup>, 耿尧<sup>1,2,3</sup>, 高辉<sup>1,2,3</sup>, 张华<sup>1,2,3</sup>

- (1. 郑州轻工业学院 食品与生物工程学院, 河南 郑州 450001;
2. 河南省食品安全国际联合实验室, 河南 郑州 450001;
3. 食品生产与安全河南省协同创新中心, 河南 郑州 450001)

**摘要:**随着分子生物学的不断进步,对食源性致病菌的检测已经发展到了研究生物大分子阶段. 综观目前出现的一些检测食源性致病菌的新型技术,发现 DNA 探针技术、PCR 技术等检测技术,具有敏感、特异和快速的特点,已经成为食源性致病菌检测的重要工具. 未来食源性致病菌的检测将向着高敏感性、高特异性、操作便捷的方向发展,这就依赖于目前已有技术的改进创新、多种检测技术的联合使用及一些新技术和新方法的出现.

**关键词:**食源性致病菌;分子生物学;检测技术

**中图分类号:**TS201.6;TS207.4 **文献标志码:**A **DOI:**10.3969/j.issn.2095-476X.2015.5/6.006

## Progress in molecular biology detection technology for food-borne pathogens

JING Jian-zhou<sup>1,2,3</sup>, LI Hong-li<sup>1</sup>, SUN Xin-cheng<sup>1,2,3</sup>, HU Jin-qiang<sup>1,2,3</sup>,  
GENG Yao<sup>1,2,3</sup>, GAO Hui<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Hua<sup>1,2,3</sup>

- (1. College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;
2. International Joint Research Laboratory for Food Safety of He'nan, Zhengzhou 450001, China;
3. Collaborative Innovation Center of Food Production and Safety, Zhengzhou 450001, China)

**Abstract:** Along with the advance of molecular biology, the detection of food-borne pathogens have been developed to study phase of biological macromolecules. Through summarizing some new detection technologies for food-borne pathogens it was found that DNA probe techniques, PCR techniques et al, had become important tools for detection of food-borne pathogens with their characteristics of sensitivity, specificity and rapidness. The future detection of food-borne pathogens would toward the direction of high sensitivity, high specificity, and convenient operation, which depended on the improvement and innovation of the existing technology, combined use of a variety of detection technology and the emergence of some new technology and new methods.

**Key words:** food-borne pathogens; molecular biology; detection technology

收稿日期:2015-06-05

基金项目:“十二五”国家科技支撑计划项目(2012BAD37B07);河南省重点攻关项目(142102310062);郑州市重大科技专项项目(131PZDZX073);郑州市普通科技攻关项目(141PPTGG347);郑州轻工业学院2014年研究生科技创新基金项目(2014022)

作者简介:景建洲(1964—),男,山西省临猗县人,郑州轻工业学院教授,博士,主要研究方向为食品安全检测与评价.

## 0 引言

世界卫生组织对食品安全(food safety)的定义是:“食物中有毒、有害物质对人体健康影响的公共卫生问题”。随着人们经济条件和生活水平的不断提高,食品安全的受关注程度也在逐年提升。

研究发现,食源性致病菌可能会导致严重的传染性疾​​病,单核细胞增生李斯特菌、沙门氏菌、蜡样芽孢杆菌等多种食源性致病菌还可能引起感染<sup>[1-3]</sup>。近几年已陆续报道出志贺氏菌、肠出血性大肠杆菌 O157:H7 等的散发性感染和暴发流行<sup>[4-5]</sup>。

传统的检测食源性致病菌的技术,需要对样品进行前增菌、选择性分离、生化实验、血清学分型等一系列的实验,存在耗时、实验过程繁琐等缺点。一些免疫学技术如胶体金检测技术、酶联免疫吸附试验等,又缺乏灵敏度和特异性。随着分子生物学的不断进步,对食源性致病菌的检测已经发展到了研究生物大分子的阶段,实现了巨大的飞跃。DNA 探针技术、PCR 技术等先进的检测技术,具有敏感、特异和快速的特点,已经成为食源性致病菌检测的重要工具。

## 1 DNA 探针技术

DNA 探针是经过某种标记物(放射性同位素、酶、荧光素、化学发光物、镧系元素等)标记过的单链 DNA<sup>[6]</sup>,它在合适的条件下按照碱基互补配对的原则,能与靶 DNA 形成杂交 DNA 分子,然后通过检测杂交信号可判断样品中是否含有目标微生物。通常选择待测微生物的特异性保守基因序列为目标 DNA,以该序列的互补 DNA 为杂交探针。DNA 探针的特异性,保证了检测结果的高度特异性<sup>[7]</sup>。

早期的杂交方法是利用同位素来标记探针,可能对人体造成危害,也不利于实验室的安全,且生物素标记的探针在紫外线下容易分解,现在主要利用液相杂交方法通过化学发光法或比色法进行检测。近年来,DNA 探针技术以其高度的特异性等优点,已经广泛应用于食品中多种食源性致病菌的检测。Y. Zeng 等<sup>[8]</sup>设计出磁珠-DNA 双探针,其中一条探针是经过荧光基团修饰的捕获探针,另一条是带有磁性微粒的信号探针,可以实现对目的菌的定量分析,克服了以前 DNA 探针技术只能定性分析的缺点,并且检测灵敏度高,其检测限达到  $14 \times$

$10^{-12}$  mol/L。随着 DNA 探针技术的不断发展和改进,其应用前景非常广阔。

## 2 聚合酶链式反应技术

聚合酶链式反应技术 PCR(polymerase chain reaction)技术是在体外合适的条件下,将靶 DNA 先通过变性形成单链作为反应的模板,两段人工设计合成的寡核苷酸作为引物,4 种脱氧核糖核苷酸为底物,在耐热 DNA 聚合酶作用下使引物沿着靶 DNA 5'→3'方向按碱基互补配对的原则合成新的双链,该双链又可作为新的模板进行下一轮复制。每个 PCR 循环包括高温变性、低温退火和适温延伸 3 个步骤,通过 20~45 个 PCR 循环,能保证在短时间内,使目的基因扩增到几百万个拷贝,实现快速扩增。近些年,用 PCR 检测食源性致病菌的技术很多,如常规 PCR,多重 PCR,实时荧光定量 PCR,逆转录 PCR 和原位 PCR 等<sup>[9-10]</sup>。

### 2.1 常规 PCR 技术

利用 PCR 法检测食源性致病菌,要先经过离心沉淀或膜过滤等方法收集菌体,然后通过菌体裂解以释放其 DNA,菌体 DNA 经纯化后由 PCR 法扩增靶 DNA 的特异性序列,最后由凝胶电泳检测信号。常规 PCR 技术不仅检测准确性好、速度快,而且特异性好、灵敏度高。在食源性致病菌的检测方面已得到了广泛的应用。

常规 PCR 技术检出限低,检测样品中即使有微量的目的菌也可以引发反应发生,与传统的检测方法比较,不仅大大减少了样品前增菌的时间而且显示出较高的灵敏度。巢强国等<sup>[11]</sup>通过 16 h 前增菌处理后,大肠杆菌 O157:H7 型菌株原活菌浓度约 2.0 CFU/mL 也能检测出来,总的检测时间在 24 h 内,耗时短、灵敏度高。K. K. Bonnstetter 等<sup>[12]</sup>利用 PCR 技术来检测金黄色葡萄球菌(CA-MRSA) USA300,检测结果准确快速。

常规 PCR 技术选择特异的靶序列作为检测对象,避免了假阳性的出现。王攀等<sup>[13]</sup>用 PCR 技术快速检测食品中沙门氏菌、志贺氏菌和金黄色葡萄球菌,结果准确率高达 99% 以上,并且假阳性率低于 1%,同时避免了假阴性的出现。

### 2.2 多重 PCR 技术(m-PCR)

多重 PCR 技术是建立在常规 PCR 技术基础上的一种新型扩增技术,常规 PCR 技术 1 次只能检测出 1 种致病菌,而多重 PCR 技术能同时扩增出两个

或多个目的片段,因此多重 PCR 技术比常规 PCR 技术更有优势.多重 PCR 技术主要分为两种:

第一种是检测多种致病菌.在同一个反应体系中,加入多对特异性引物,这些引物属于不同目标菌,若体系中存在与之对应的模板,则能同时扩增出1种或多种目的DNA,达到一次性检测多种致病菌的目的.A. Sjoling 等<sup>[14]</sup>用多重 PCR 法检测引起腹泻的肠道致病菌,能同时检测致泻性大肠杆菌、血性腹泻病原菌和其他可引起腹泻的致病菌,该多重 PCR 板显示了高度的特异性,对能够快速诊断流行病具有重要意义.万志刚等<sup>[15]</sup>建立了五重 PCR 反应体系,达到同时检测5种食源性致病菌的目的,节省了实验的试剂.蔡军等<sup>[16]</sup>建立并优化了多重 PCR 的反应体系,可同时检测金黄色葡萄球菌、沙门氏菌和志贺氏菌,最低检出限达1 pg,具有高灵敏性的优点.

第二种是检测单一致病菌.该技术可以对同一种菌分别设计多对特异性引物,在一个体系中扩增出1种或多种目的DNA,可对比较复杂的血清型致病菌进行简单的分型,提高了检测的特异性,并且减少了假阳性的出现.楼秀芹等<sup>[17]</sup>以阪崎肠杆菌 ITS 序列、16s rDNA 和 ompA 基因为靶基因,设计3对引物,结果显示其抗干扰能力优异,其他高浓度的杂菌不会影响结果的准确性.A. Cano-Gomez 等<sup>[18]</sup>用多重 PCR 技术对海水中的弧菌进行分型,仅需3~5 h.

多重 PCR 技术不仅保留了常规 PCR 技术特异性高、敏感性好的优点,而且简化了操作步骤、节省了实验的试剂和时间.但它同样存在一些缺点,比如加样的过程比较繁琐,扩增体系需要进行不断的优化和摸索,体系中同时存在多对引物,易出现相互竞争、干扰等.但是多重 PCR 技术对于检测多种菌的混合感染具有重大的意义,是今后检测食源性致病菌的发展方向.

### 2.3 实时荧光定量 PCR 技术

实时荧光定量 PCR 技术,是在普通 PCR 反应体系中加入荧光物质,通过收集荧光信号达到实时监测整个 PCR 反应进程的目的,最终通过标准曲线即可对未知菌进行定量分析.荧光化学物质主要有荧光染料和荧光探针,荧光染料主要有 SYBR Green I, YOPRO, 溴化乙锭, SYBR Glod 等,其中 SYBR Green I 应用最广泛;荧光探针又可分为水解探针、分子信标、双杂交探针和复合探针等,目前较常见

的荧光探针有 TaqMan 探针和 LightCycler 双探针<sup>[19]</sup>.

由于传统的 DNA 染料染色灵敏度要远低于荧光信号检测,因此实时荧光定量 PCR 在检测灵敏度方面表现优越.武鑫等<sup>[20]</sup>建立 SYBR Green I 实时荧光定量 PCR 检测致病性沙门菌,是目前检测沙门菌灵敏度最高的方法,其灵敏度是常规 PCR 的100倍.胡朝友等<sup>[21]</sup>根据大肠埃希菌的 ydiJ 基因,用 TaqMan 探针实时荧光 PCR 技术对大肠埃希菌进行检测,不仅特异性好,而且检测限和定量下线均很低.

在反应体系中同时加入不同的荧光基团,还可以进行多重荧光 PCR,能同时检测多种食源性致病菌.韩春来<sup>[22]</sup>用发射波长相差较大的不同荧光素标记了探针5端,可以同时检测3种食源性致病菌,特异性强,检测效率高.张驰等<sup>[23]</sup>设计双标记 TaqMan 探针,同时构建阳性质粒内参,建立了3种常见菌的多重 RTi-PCR 方法,节省了检测时间.

实时荧光 PCR 技术实现了 PCR 技术从定性到定量的飞跃,它可以通过计算机对扩增产物直接进行精确的定量分析,显著提高了灵敏度.该法采用全密闭管检测,不需要再进行繁琐的电泳、紫外线观察,不仅简化了实验步骤而且避免了电泳对扩增产物的污染及其产生的误差,具有效率高、重复性好和自动化程度高等优点,有重要的应用价值.

### 2.4 逆转录 PCR 技术

逆转录 PCR (RT-PCR) 技术与常规 PCR 技术相比略有不同,需要先通过逆转录酶的作用将样品中的 RNA 反转录成 cDNA,再以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增.

常规 PCR 技术是以 DNA 为检测基础,无法有效区分死菌与活菌,容易造成检测结果的假阳性,而 RT-PCR 技术能很好地解决这一点.mRNA 是细胞存活的一个重要标志,通过 RT-PCR 技术检测目的基因的 mRNA 是否存在,可有效避免假阳性的出现.刘静宇等<sup>[24]</sup>利用荧光 RT-PCR 的方法,可特异性检测活的非可培养状态下的副溶血性弧菌,还能监测其毒力基因表达情况,检测结果更加客观准确.N. Molaei 等<sup>[25]</sup>通过 RT-PCR 法检测饮用水中活的大肠杆菌,无假阳性结果,并发现与 16s rRNA 作引物相比,使用 EF-Tu 作引物可降低假阳性结果的发生率.

## 2.5 原位 PCR 技术

原位 PCR (in situ PCR, IS-PCR) 技术是 1990 年由 Haase 等人建立,其原理是将 PCR 技术与原位杂交技术相结合.该技术先对靶序列进行原位 PCR 扩增,反应发生在单细胞或组织切片上,然后通过原位杂交技术、免疫组化或荧光检测技术对目的序列进行检测和有效定位<sup>[26]</sup>.一般 IS-PCR 技术操作包括以下几步:细胞固定、蛋白酶消化、原位 PCR 扩增、扩增产物检测.

该技术结合 PCR 技术的高效特异性扩增和原位杂交技术的精准细胞定位,具有快速、灵敏和可原位监测的优点.吴彩云等<sup>[27]</sup>对副溶血弧菌进行原位 PCR 扩增,结合使用流式细胞仪对菌体进行检测,开发了基因水平转移研究的新技术,该技术可以同时进行微生物的分选和检测.但是存在重复性差、操作复杂、价格昂贵和不能定量分析等缺点,还有待进一步研究、改进.

## 2.6 环介导等温扩增 LAMP 技术

LAMP 技术是在体外的恒温条件下(60 ~ 65 °C),由链置换 DNA 聚合酶(Bst 酶)引发的自动链循环取代反应,反应不需要使用 PCR 仪,也不需要扩增产物进行电泳、紫外观察,因此可以方便地进行现场的快速检测<sup>[28]</sup>.

LAMP 技术引物设计和传统的 PCR 技术相比较复杂,它需要分别设计一对特异性内引物和一对特异性外引物<sup>[29]</sup>,但由于其特异、高效、快速、简便等优点,在食源性致病菌快速检测方面应用广泛.

LAMP 技术能快速检测食源性致病菌,徐义刚等<sup>[30]</sup>由金黄色葡萄球菌的 Sa442 基因,设计出 4 条 LAMP 引物,仅耗时 40 ~ 60 min,效率高. LAMP 技术中 4 条引物可识别靶序列上 6 个特异区域,因此灵敏度比常规 PCR 技术更高,陈传等<sup>[31]</sup>对 LAMP 技术和常规 PCR 技术进行了比较, LAMP 技术最低检出限为  $10^{-5}$ ,而常规 PCR 的检出下限仅为  $10^{-3}$ ,灵敏度是其 100 倍. LAMP 技术不需要使用昂贵的仪器和试剂,反应结束后只需用肉眼观察浑浊度变化,根据是否有白色磷酸镁沉淀,即可判断是否有目的菌,因此很适合在基层医疗卫生单位推广和进行现场及时试验.

## 3 生物芯片技术

生物芯片技术是将生物大分子有序地固定在硅片、玻璃片、尼龙膜等固相载体的表面,通过这些

生物大分子与目的基因的化学反应,实现对靶基因的快速检测.生物芯片技术具有高通量的优点,在一块很小的芯片上能同时检测成千上万种生物分子,便于实现自动化和微型化.生物芯片技术主要分为基因芯片技术、蛋白质芯片技术、组织芯片技术及芯片实验室,前三者都是源于分子特异性结合的原理,芯片实验室是该技术的终极目标<sup>[32]</sup>.目前,以基因芯片和蛋白质芯片应用最广泛.

### 3.1 基因芯片技术

基因芯片技术先要在固相支持物表面有序地固定探针,这些探针是 cDNA, DNA 片段或寡核苷酸,它们通过显微点样或原位合成技术实现固定,然后按碱基互补配对原理与样品杂交,最后分析得出结果<sup>[33]</sup>.

近来有学者将基因芯片技术与其他检测方法结合使用,有较好的检测效果. H. Zhang 等<sup>[34]</sup>在塑料板上固定探针形成 DNA 微阵列,又通过 ELISA 技术对扩增结果进行显色,既能实现可视化,又有高通量、高灵敏度的优点.高兴等<sup>[35]</sup>把基因芯片技术与多重 PCR 技术相结合,能同时特异性检测 11 种(株)食源性致病菌,具有良好的应用前景.

基因芯片技术能同时检测成千上万的靶 DNA 或者基因序列,实现了快速、高效、高通量等检测要求,具有巨大的应用潜力<sup>[36]</sup>.但是该技术仍存在一些缺点,如无法鉴定种以下的细菌、环境中的相关基因容易造成实验污染等<sup>[37]</sup>.

### 3.2 蛋白质芯片技术

蛋白质芯片技术是一种蛋白质微阵列,不同于基因芯片利用碱基互补配对原理实现结合,它是利用蛋白质之间的相互作用,如抗原与抗体之间、酶和底物之间的反应来进行检测.随着蛋白质芯片技术的不断发展和完善,该技术也逐渐应用于食源性致病菌的检测.王亚丽等<sup>[38]</sup>建立了液相芯片检测体系来检测金黄色葡萄球菌,并且与其他食源性致病菌没有交叉反应,与国标法检测结果基本相符.

蛋白质芯片技术是一项新兴技术,其发展前景是光明的,但在保持蛋白质活性、蛋白质固定方法、检测灵敏度等方面还存在一些问题<sup>[39]</sup>,还需要进一步研究和优化.

## 5 结语

随着分子生物学的不断进步,出现了一些检测食源性致病菌的分子生物学技术,如 DNA 探针技

术、PCR 技术等,这些技术因具有灵敏度高、特异性强和速度快等优点,逐渐被业内认可和青睐。

未来食源性致病菌的检测将向着高敏感性、高特异性、操作便捷的方向发展,这就依赖于目前已有技术的改进创新和多种检测技术的联合使用,如基因芯片技术、ELISA 技术、多重 PCR 技术的结合;并且也依赖于一些新技术、新方法的出现,如 LAMP 技术在普通水浴锅内即可完成扩增反应,操作简单且耗时短。然而,这些新技术还有待于作进一步的完善和开发,以期找到更有利于实际检测应用的最佳方法。分子生物学检测技术可为人们的食品安全保驾护航,能有效应对突发性的公共卫生事件,防控疾病的发生蔓延、保障人民的生命安全。

### 参考文献:

- [1] Ikeda M, Yamaguchi N, Tani K, et al. Rapid and simple detection of food poisoning bacteria by bead assay with a microfluidic chip-based system [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2006, 67(2):241.
- [2] García-Cano I, Serrano-Maldonado C E, Olvera-García M, et al. Antibacterial activity produced by *Enterococcus* spp. isolated from an artisanal Mexican dairy product, Cotija cheese [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2014, 59(1):26.
- [3] Zunabovic M, Domig K J, Kneifel W. Practical relevance of methodologies for detecting and tracing of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods and manufacture environments—A review [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2011, 44(2):351.
- [4] 任慧婧, 刘芸, 王美会, 等. 志贺氏菌检测方法的研究进展 [J]. *河南农业*, 2015(14):52.
- [5] 孙强, 李昱洁, 任科研, 等. 大肠杆菌 O157:H7 检测技术的概况 [J]. *吉林畜牧兽医*, 2013(7):61.
- [6] 田晓艳, 刘长江, 刘延吉, 等. 生物技术在食品质量与安全中的应用 [J]. *食品科学*, 2010, 31(Z1):160.
- [7] 谢修志. 生物技术在食品检测方面的应用 [J]. *生物技术通报*, 2010, (1):68.
- [8] Zeng Y, Wan Y, Zhang D, et al. A novel magneto-DNA duplex probe for bacterial DNA detection based on exonuclease III-aided cycling amplification [J]. *Talanta*, 2015, 132:59.
- [9] Wei J, Zhou XM, Xing D, et al. Rapid and sensitive detection of *Vibrio parahaemolyticus* in sea foods by electrochemiluminescence polymerase chain reaction method [J]. *Food Chemistry*, 2010, 123(3):852.
- [10] Wei J, Zhou X, Xing D, et al. Rapid and sensitive detection of *Vibrio parahaemolyticus* in sea foods by electrochemiluminescence polymerase chain reaction method [J]. *Food Chemistry*, 2010, 123(3):852.
- [11] 巢强国, 杨学明, 葛宇, 等. PCR 法检测食品中大肠杆菌 O157:H7 [J]. *食品科学*, 2010, 31(8):212.
- [12] Bonnstetter K K, Wolter D J, Tenover F C, et al. Rapid multiplex PCR assay for identification of USA300 community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2007, 45(1):141.
- [13] 王攀, 王萍, 高林. PCR 法快速检测三种食源性致病菌的研究 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2013, 4(3):917.
- [14] Sjöling Å, Sadeghipoorjahromi L, Novak D, et al. Detection of major diarrheagenic bacterial pathogens by multiplex PCR panels [J]. *Microbiological Research*, 2015, 172:34.
- [15] 万志刚, 汤慕瑾, 吕敬章, 等. 多种食源性致病菌检测的多重 PCR 方法的研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2012, 12(11):2177.
- [16] 蔡军, 李慧, 欧静莹, 等. 3 种食源性致病菌多重 PCR 检测体系的建立 [J]. *食品科技*, 2015(3):324.
- [17] 楼秀芹, 斯国静, 戚建江, 等. 食品中阪崎肠杆菌多重 PCR 检测方法的建立 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2014, 24(2):159.
- [18] Cano-Gomez A, Hoj L, Owens L, et al. A multiplex PCR-based protocol for identification and quantification of *Vibrio harveyi*-related species [J]. *Aquaculture*, 2015, 437:195.
- [19] 张惟材. 生物实验室系列实时荧光定量 PCR [M]. 北京:化学工业出版社, 2013:5-10.
- [20] 武鑫, 张宇霞, 史晗, 等. 致病性沙门菌 SYBR Green I 实时荧光定量 PCR 检测方法的建立 [J]. *中国兽医科学*, 2015, 45(3):270.
- [21] 胡朝友, 傅春玲, 陆巧荣, 等. TaqMan 探针荧光 PCR 定量检测大肠埃希菌方法研究 [J]. *现代预防医学*, 2014, 41(6):1070.
- [22] 韩春来. 三种食源性致病菌多重荧光 PCR 检测方法的建立 [J]. *家禽科学*, 2012(8):11.
- [23] 张驰, 杨军, 刘新梅, 等. 食品中 3 种致病菌的 Taqman 多重荧光定量 PCR 检测 [J]. *食品研究与开发*, 2011, 32(4):151.
- [24] 刘静宇, 凌莉, 邓翼惠, 等. 活的非可培养状态副溶血性弧菌实时荧光逆转录 PCR 检测方法的建立及其毒力研究 [J]. *中国食品卫生杂志*, 2013, 25(4):309.
- [25] Molaee N, Abtahi H, Ghannadzadeh M J, et al. Application of reverse transcriptase-PCR (RT-PCR) for rapid de-

- tection of viable *Escherichia coli* in drinking water samples[J]. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 2015, 13(1):24.
- [26] Amaro Filho S M, Nicol A F. The utility of in situ detection, including RT in situ PCR of viral nucleic acid and the co-localization of the cytokine response to the study of viral pathogenesis[J]. *Methods*, 2010, 52(4):332.
- [27] 吴彩云, 蔡俊鹏, 杨汝德. 结合流式细胞仪检测技术的菌体原位 PCR 扩增[J]. *微生物学报*, 2004, 44(3):399.
- [28] 彭乃才. 环介导等温扩增技术检测食源性致病菌的研究进展[J]. *肉类工业*, 2014(5):32.
- [29] 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.
- [30] 徐义刚, 李苏龙, 李丹丹, 等. 食品中金黄色葡萄球菌 DNA 环介导恒温扩增快速检测方法的建立与应用[J]. *中国农业科学*, 2010, 43(8):1655.
- [31] 陈传, 凌霄, 郭震, 等. LAMP 技术在食源性病原微生物检测中的应用[J]. *生命科学研究*, 2014, 18(2):140.
- [32] 孟勋. 生物芯片及其应用研究[J]. *中国科技信息*, 2015(3):35.
- [33] Stears R L, Martinsky T, Schena M. Trends in microarray analysis[J]. *Nature Medicine*, 2003, 9(1):140.
- [34] Zhang H, Zhang Y, Lin Y, et al. Ultrasensitive detection and rapid identification of multiple foodborne pathogens with the naked eyes[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015, 71:186.
- [35] 高兴, 辛文文, 高姗, 等. 11 种(株) 食源性细菌基因芯片检测方法的建立[J]. *生物技术通报*, 2013(12):123.
- [36] 孔金明. 生物芯片技术在食品安全领域的应用综述[J]. *郑州轻工业学院学报: 自然科学版*, 2013, 28(1):1.
- [37] 王颖. 生物芯片技术及其应用研究[J]. *科学教育*, 2010, 16(1):91.
- [38] 王亚丽, 蔡阳, 刘韬, 等. 金黄色葡萄球菌液相芯片检测方法的建立及应用[J]. *中国生物制品学杂志*, 2012, 25(10):1383.
- [39] 尹俐. 生物芯片技术在食源性疾病诊断中的应用[J]. *疾病监测与控制杂志*, 2010, 4(8):457.

(上接第 26 页)

- [12] Yaylayan V A, Kaminsky A. Isolation and structural analysis of Maillard polymers: caramel and melanoidin formation in glycine/glucose model system [J]. *Food Chemistry*, 1998, 63(1):25.
- [13] Cho E J, Piao X L, Jang M H, et al. The effect of steaming on the free amino acid contents and antioxidant activity of *Panax ginseng*[J]. *Food Chemistry*, 2008, 107(2):876.
- [14] 章银良, 周文权. 均匀试验优化酪蛋白-木糖美拉德反应产物的抗氧化活性[J]. *食品工业*, 2013, 34(1):27.
- [15] Yen G C, Hsieh P P. Antioxidative activity and scavenging effects on active oxygen of xylose-lysine Maillard reaction products[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1995, 67(3):415.
- [16] Labuza, Theodore P. Maillard reactions in Chemistry, Food and Health[M]. UK(Cambridge): Royal Society of Chemistry, 1994.
- [17] O'Brien J, Nursten H E, Crabbe MJ. et al. The Maillard Reaction in Foods and Medicine[M]. UK(Cambridge): Royal Society of Chemistry, 1998.
- [18] 陈华. 影响食品中美拉德反应的因素[J]. *四川食品与发酵*, 1998(3):21.
- [19] 章银良. 食品与生物试验设计与数据分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2010.