

综述

# 食源性致病菌检测方法研究进展 —— 传统检测方法

焦振泉 郭云昌 裴晓燕 刘秀梅

(中国疾病预防控制中心营养与食品安全研究所,北京 100050)

**摘要:**为方便对食品生产和流通的整个过程进行卫生监督和管理,就常规方法的改进和自动化、生物发光方法、细胞计数方法、阻抗测定方法和免疫学方法等食品中微生物的快速检测方法进行了综述。

**关键词:**食源性致病菌;食品;变态反应和免疫学

## Current Progress in Methods for Detection of Foodborne Pathogens

### Part : Traditional Detection Methods

JIAO Zhen-quan, GUO Yun-chang, PEI Xiao-yan, LIU Xiu-mei

(National Institute for Nutrition and Food Safety, China CDC, Beijing 100050, China)

**Abstract:** To facilitate supervision and management of food production and circulation, rapid methods for detection of foodborne pathogens, such as improvement and automatization of conventional methods, bioluminescent method, cytometry, impedancemetry and immunological methods were reviewed.

**Key word:** Foodborne pathogen; Food; Allergy and Immunology

传统的细菌检验方法灵敏度高,费用低,能够得到食品样品中细菌数量和特性等方面的定性及定量结果。但是传统的检测方法耗时费力,获得结果通常需要几天的时间,并且要求所要检测的细菌增殖为可见菌落。培养基制备、细菌培养、菌落计数和生化指标的检测都增加了实验室的工作量。无论是食品工业中生产流程的监测和终产品的质量的控制,还是政府部门对食品安全的管理和监控,都迫切需要快速的食源性致病菌检测方法。

微生物的检测快速检测方法和自动化是应用微生物学中一个迅速发展的领域。近 10 年来,这方面的研究日益发展,在微生物的分离、早期鉴定、特性描述和计数方面不断有新的方法产生。这些快速方法主要利用微生物学、化学、生物学、生理学、分子生物学、免疫学和血清学原理对细菌进行早期诊断,并对分离物的性状进行测定。本文主要对常规方法的改进和自动化、生物发光方法、细胞计数方法、阻抗测定方法、免疫学方法等方法进行综述。

### 1 常规方法的改进和自动化

为了提高实验室的效率,使传统的琼脂培养方法能够更方便和经济实用,研究者们从食物样品的

制备、平板技术、菌落计数和鉴定系统方面对相应技术做了很大改进并提高了自动化程度。

1.1 食品试样的制备 如何对食品样品进行处理进而获得最佳的检测结果一直是微生物学家们长期关注的问题。在这方面产生了多种自动化仪器,例如重量稀释器能够在对试样进行均质之前自动加入相应数量的稀释液。Stomacher (Colworth 公司,英国)在一次性的灭菌袋中对试样进行研磨,从而避免了再次灭菌和使用搅拌器。Pulsifier (Kalyx 公司,美国)通过高频(3 500 r/min)击打一次性灭菌袋表面,产生冲击波和强烈搅拌,进而将微生物打成悬浮液<sup>[1]</sup>。研究证实<sup>[2]</sup>利用 Stomacher 和 Pulsifier 这 2 种方法制备食物试样稀释液在菌落计数方面没有显著区别。

1.2 平板技术 目前有多种方法可以将试样的均质液加到琼脂平板上。旋转接种仪可以将小体积的试样液利用螺旋方式加到琼脂表面,从平板的中心到边缘形成 10<sup>4</sup> 的稀释度。沿着螺旋路径生长的菌落可以手工计数或电子自动计数,因为在每个点加入的试样量是已知的,这种计数可以省略在铺平板前对试样进行梯度稀释,并且减少了菌落计数所需的时间。Dipslides 最早应用于临床检测尿液中微生物的数量,既可检测液体试样又可对物体表面微生物进行计数。将含有选择或非选择性培养基的琼脂切片压在待测表面,并且可以戴无菌手套进行替换,培养后,就可以对切片上生长的菌落进行计数和分

基金项目:国家自然科学基金项目(30400357)

作者简介:焦振泉 男 副研究员 课题负责人

离<sup>[3]</sup>。

另外,也可以在分离平板上利用含发光底物或者荧光底物的选择性培养基直接进行检测、计数和鉴定,从而不再需要再次培养和随后的生化鉴定。选择性培养基中的底物和特异性细菌酶或代谢产物反应产生颜色或者荧光,大部分产生荧光的酶底物是香豆素的衍生物,例如 4-甲基伞形酮,能发光的酶底物主要来自酚的衍生物。许多能发光和产生荧光的底物都已有商品出售,并且已经应用在一些商品化的系统和培养基中。荧光和发光的培养基已经广泛地应用于检测和计数肠杆菌和大肠杆菌,这些培养基利用  $\beta$ -D-葡萄糖苷酶 ( $\beta$ -D-glucuronidase, GUD) 作为指示剂来检测大肠杆菌,因为这种酶存在于 94%~95% 的大肠杆菌菌株中,但在 O157 血清型中没有。为检测 GUD 活性,主要应用荧光底物 4-甲基伞形酮  $\beta$ -D-葡萄糖苷酸 (4-Methylumbellifery  $\beta$ -D-Glucuronic acid, MUG) 和发光底物 5-溴-4-氯-3-吲哚葡萄糖苷酸 (5-brom-4-chloro-3-indolyl-glucuronic acid, X-Guc 或 BCIG)。X-Guc 或 BCIG 的灵敏度尽管不如 MUG,但主要优点是其典型菌落不需要紫外灯就可以识别,吲哚酚从 X-Guc 中释放出来就被快速氧化为靛青,后者是非水溶性的,可以在细菌体内积聚,从而使大肠杆菌菌落变蓝。利用 MUG 的另一个缺点是荧光素可能在琼脂的全部表面扩散,从而增加菌落鉴别的难度。但是, X-Guc 因为价格较高而在实践中受到很大限制。另外,在食物样品中可能含有 GUD,从而使大肠杆菌的检测带来假阳性的结果<sup>[4]</sup>。

Petrifilm 系统 (3M 公司,美国) 主要应用于酵母和霉菌计数、菌落总数、大肠菌群、大肠杆菌计数<sup>[5]</sup>。利用 Petrifilm 平板对水中的大肠杆菌进行计数比标准的方法要快捷和准确<sup>[6]</sup>。利用这种方法检测禽、肉和海产品中的大肠杆菌的平均对数值和传统的 MPN 法没有显著的区别<sup>[7]</sup>。动力富集 (motility enrichment) 主要是用来快速分离和检测弯曲杆菌、弓形菌<sup>[8]</sup> 和沙门菌等。疏水性网膜过滤法 (Hydrophobic grid membrane filter, HGMF) 主要应用在需氧菌的平板计数、霉菌和酵母、沙门菌、肠杆菌和大肠杆菌 O157 方面<sup>[1,9,10]</sup>。

1.3 菌落计数 传统的菌落计数方法耗时费力,现在已经采取了一些方法将微生物计数阶段自动化,以便提高效率 and 降低实验操作时间。目前常用的菌落计数系统有 Colonycount 公司的 MACE 系统、Perceptive 器材公司的 Sorcerer 菌落计数系统、A2C2 公司的旋转接种和菌落自动计数系统、Geno-Tech 公司的 SC-2010 型全自动彩色菌落计数仪等。各种菌

落计数仪及成像系统是大型实验室中,特别是一些工业系统中不可缺少的检测工具。平板的成像还可以被保存、浏览、打印或者转入其他程序中。使用者可以设定一些变量,如光的最高和最低强度及菌落大小,从而去除散射和背景的影响。另外,还可以通过和其他技术相结合从而提高检测器对琼脂平板上生长菌落的早期感应、提高电子显微镜对菌落的感应或活性菌落的染色及样品的最可能数 (MPN) 等改进菌落计数的过程<sup>[11]</sup>。

1.4 鉴定系统 随着细菌分类学的深入发展,传统的用于细菌鉴定的试管和平板试验已经远远满足不了实际需求,一些商品化的鉴定试剂盒可以通过生理和生化方法简捷方便地对单个微生物进行自动鉴别。相应的自动化微生物鉴定系统也产生了很多,如 API 系列、VIDAS 系统、Vitek 系统、Minitek、Enterotube、BBL-crystal、Biolog 细菌鉴定仪等。这些自动化的鉴定方法和经严格质量控制的商品化试剂盒等,减少了人为误差,并且可以明显地节省时间。随着分子生物学技术的不断发展,也产生了相应的分子水平的自动鉴定系统,如利用 16S rDNA 序列进行鉴定的美国 Applied Biosystems 公司生产的微生物鉴定试剂盒和数据库,利用毛细管电泳和激光激发荧光的鉴定系统<sup>[12]</sup>。

## 2 生物发光方法

食物成分中的微生物含有 ATP,可以通过荧光素酶复合物进行检测。试样所释放出来的光的强度和样品中 ATP 含量直接相关,并且可以通过照度计进行定量检测。这种方法至少需要  $10^4$  个细菌才能产生光信号。通过检测细菌和非细菌微生物的 ATP,该方法可以用来检测器皿表面的清洁程度。从几秒到几分钟的快速反应时间使这种方法适用于在 HACCP 中进行实时监测<sup>[13]</sup>。目前许多公司已有 ATP 卫生监测试剂盒并且相互进行了对比研究<sup>[14]</sup>。上述方法也有缺点,pH、温度、荧光素酶抑制物的存在和其他一些因素都可能影响反应结果。当使用干洗系统或者样品中含有少量或者不含 ATP 时,ATP 生物发光方法就不能用来进行卫生监测<sup>[15]</sup>。将来的发展趋势是针对有特异性病原菌的 ATP 方法。另外,在卫生监督方面还有许多其他生物发光方法,如过氧化氢酶的检测、直接蛋白检测等。这些方法都很简单,并且几分钟就可以获得结果。近来,BioControl 公司的蛋白质检测试剂盒 (FLASH),可以实时检测与食物接触的物品表面是否存在蛋白质,接触食物的物体表面可以使棉签的颜色在 5 s 内由黄色变为绿色或者蓝色。

### 3 细胞计数

流质细胞计数是一种以光学为基础的在复杂的基质中分析单个细胞的方法。悬浮在液体中的微生物通过激光束,光被散射并且被微生物吸收,散射的宽度和自然特性作为微生物的固有特性,可以利用透镜和光电元件收集散射光,进而评估微生物的数量、大小和形状。这种技术的灵敏度较高,可以达到每毫升 $10^2$ 的酵母细胞或 $10^{2-3}$ 的细菌,几分钟内就可以获得实验结果。所以流质细胞计数适合检测液体(如牛奶、饮料或漂洗液)中的微生物。然而,由于这种技术需要没有干扰颗粒的均质溶液进入分析系统,使其在食品微生物领域的应用(特别是对于复杂的固体食物)受到了限制。该方法的另一个缺点是不能区分活的和死亡的细胞,并且受食品基质的影响。另外,对于特异性致病菌,还需要试样的处理和增菌或选择性分离,如免疫磁珠分离技术。特异性的细菌通常被荧光标记的多克隆或单克隆抗体染色,这种免疫荧光流式细胞仪(Flow Cytometer, FCM)技术已经被应用来检测生牛肉、果汁和牛奶中的大肠杆菌 O157 H7<sup>[16]</sup>及乳制品中的鼠伤寒沙门菌<sup>[17]</sup>。

直接落色荧光滤光器技术(Direct Epifluorescent Filter Technique, DEFT)是根据微生物和荧光染料丫啶橙结合的特性对微生物进行计数。这种方法首先用于测定生牛奶中的细菌总数,在肉和鱼类食品中也有应用<sup>[18]</sup>。食品试样通过清洁剂和蛋白水解酶进行处理,经聚碳酸酯膜过滤,利用丫啶橙染色,在荧光显微镜下进行检测。活细菌的数目根据膜上的橙色细菌的计数和放大因子相乘获得。这个放大因子是根据检测的显微镜的区域、过滤的试样数量和所使用的光学系统参数计算出来的。尽管用这种方法检测菌落总数可以在10 min内完成,但对于检测特异性的细菌还是比较复杂的,因为它需要试样的前处理、增菌、免疫捕获或前增菌来提高检测低数量特异性致病菌试验的灵敏度<sup>[19]</sup>,还需要特异性致病菌抗体标记的荧光染料。近来利用荧光原位杂交和DEFT相结合的方法已经被应用来检测大肠杆菌 O157 H7、沙门菌和李斯特菌<sup>[20,21]</sup>。利用DEFT对生肉末中活细菌进行计数和标准的平板计数结果是一致的<sup>[22]</sup>。这些技术在卫生监测中很有用途<sup>[23]</sup>。

近年来,固相细胞计数方法(Solid-phase cytometry, SPC)作为一种新的检测方法可以在单个细胞水平进行快速检测,而不需要培养生长的阶段<sup>[24]</sup>。尤其是适用于某些需要长时间培养的苛养菌,如牛奶中的副结核分枝杆菌和体细胞<sup>[25]</sup>。这种方法是根据流质细胞计数和落射荧光显微镜计数方法发展来的,在食品微生物学检测中具有很大的发

展前景。

### 4 阻抗测定技术

阻抗测定技术是利用微生物在培养基中生长和代谢时电导力的变化来测定的。电导力达到极限值所需要的时间、检测时间和接种物的初始量呈反比。现在,一些根据阻抗滴定原理的自动系统已经商品化。这些系统可以同时检测成百上千的样品,一些设备已经全部自动化并且计算机化,可以同时持续监测样品中的电导力的变化,结果以电导力曲线的形式出现,可以和校正曲线进行对比从而评估样品中微生物的数量,大部分的阻抗分析可以在24 h内完成。这些系统经常用来评估细菌总数和对大量的样品进行筛选,可以节省时间和实验耗材,但是这种方法不利于检测微生物含量较低的样品,另一个缺点是食物的基质可能影响分析结果,从而需要对每个食物基质测定校正曲线<sup>[26]</sup>。这种方法已经被用来检测沙门菌、李斯特菌和空肠弯曲菌,其中,检测沙门菌是根据在沙门菌生长过程中三甲胺-N-氧化物的代谢可导致电导力的较大变化<sup>[27]</sup>。

### 5 免疫学方法

免疫学方法的基本原理是抗原和抗体的特异性反应。为了检测特异性的微生物和微生物毒素,越来越多的抗体被应用于各种类型的免疫学反应。在免疫学反应中大部分的抗体来源于兔或羊血清。这些抗体主要依赖于他的特异性,多克隆抗血清含有不同细胞来源的各种类别的抗体,也就有不同的特异性。在免疫学反应中应用多克隆抗血清的不利之处是动物免疫反应的可变性和特异性,单克隆抗体通过提供一致和可靠来源的特征性抗体从而促进了免疫学方法的发展<sup>[28]</sup>。免疫学反应可以分为均相和异相反应。

在均相反应中没有必要将结合抗体和非结合抗体分离,形成的抗原抗体复合物直接肉眼可见或者直接测量。培养时间一般比较短。均相免疫反应常见的有粘合反应、免疫扩散和比浊法。其中,定性的凝聚反应和定量的比浊法都被广泛地应用。在乳胶粘合实验中,包被抗体的乳胶珠和特异性的抗原粘合形成更易见的沉淀物。这些方法对于大多数的病原菌是可行的。

在异相反应中,未结合的抗体必须利用标记物和结合的抗体分离。在典型的三明治实验中,捕获抗体固定在固相支持物上,常用的是聚苯乙烯管或微孔板。加入待测试样培养后,未结合的试样被冲洗掉,然后加入标记抗体结合物。经过一段时间培

养后,冲洗掉未结合的标记抗体结合物,加入标记抗体的底物。标记物信号的强度和样品中特异性抗原含量相对应。标记抗体可以被荧光分子标记,直接检测荧光强度;标记抗体也常和酶(如辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、-半乳糖酶)结合,形成的抗体-酶复合物与加入的特异性底物相结合,产生可以通过比色或荧光检测的物质,即常见的酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)。用来检测微生物和微生物毒素的商品化免疫实验应用的是大量的支持物和标记系统。这些系统往往不需要特定的仪器,如洗板机和酶标仪,可以在最小配备的实验室进行。ELISA检测病原菌的范围是 $10^3 \sim 10^5$  CFU/ml,所以直接在食品样品中检测病原菌是不可能的,至少需要16~24 h的细菌增殖。用来检测细菌毒素的试剂盒主要是免疫学方法,但是使用这些试剂盒不能获得毒素的生物学特性<sup>[29]</sup>。

以免疫捕获为基础的分离和浓缩技术包括免疫结合(捕获),随后从混合的富集培养基中物理分离目的微生物,从而获得浓缩的目的微生物。这种技术应用免疫磁性分离(Immunomagnetic Separation, IMS),将样品和包被目的微生物抗体的磁珠混合,样品中的目的微生物和免疫磁珠结合,从而和样品中的其他物质分离,目的微生物就留在磁场区。磁珠加入培养基中,培养过夜。免疫磁珠分离技术已经被特异性地用来检测食品中的 *E. coli* O157<sup>[30]</sup>。

抗体技术比较易于自动化和降低成本。例如,用于沙门菌和产肠毒素葡萄球菌等食源性致病菌快速检测的胶体金免疫层析技术,所用试剂简单、操作方便,而且不需要任何仪器。用来检测食品中病原菌的 Vitek 免疫诊断实验系统(VIDAS 系统)的基本原理就是定性酶联荧光免疫技术。在这个系统中,煮沸的液体富集培养基加入包被抗体的试剂条中,试剂条包含准备好的所有必需试剂(洗脱液、结合物和底物)。所有的实验步骤都由仪器自动化完成,最后,荧光强度通过仪器中的光学扫描仪进行检测,并通过计算机进行自动化分析。抗体技术未来的发展方向是生物传感器,他由微芯片系统来分析抗原抗体复合物的形成<sup>[31]</sup>。

## 参考文献

[1] SHARPE A N, HEARN E M, KOVACS-NOLAN J. Comparison of membrane filtration rates and hydrophobic grid membrane filter coliform and *Escherichia coli* counts in food suspensions using paddle-type and pulsifier sample preparation procedures[J]. *J Food Prot*, 2000, 63(1):126-130.

[2] BEUMER R R, GALAVAZI R, DIAVATOPOULOS T, et al. Evaluation of the pulsifier for preparation of food homogenates. In: International ISO/IDF/AOAC symposium foodborne pathogens:

Detection and typing[M]. The Hague, the Netherlands, De Ware-chemicus. 1998, 28:8.

[3] SALO S, ALANKO T, SJOBERG A M, et al. Validation of the Hygicult E dipslides method in surface hygiene control: a Nordic collaborative study[J]. *J AOAC Int*, 2002, 85(2):388-394.

[4] DE BOER E. Update on media for isolation of Enterobacteriaceae from foods[J]. *Int J Food Microbiol*, 1998, 45(1):43-53.

[5] SIBERNAGEL K M, LINDBERG K G. 3M Petrifilm enterobacteriaceae count plate method for enumeration of enterobacteriaceae in selected foods: collaborative study[J]. *J AOAC Int*, 2003, 86(4):802-814.

[6] VAL J H, MORGAN R, MERINO C R, et al. Enumeration of waterborne *Escherichia coli* with petrifilm plates: comparison to standard methods[J]. *J Environ Qual*, 2003, 32(1):368-373.

[7] GANGAR V, CURIALE M S, LINDBERG K, et al. Dry rehydratable film method for enumerating confirmed *Escherichia coli* in poultry, meats, and seafood: collaborative study[J]. *J AOAC Int*, 1999, 82(1):73-78.

[8] DE BOER E, TILBURG J J, WOODWARD D L, et al. A selective medium for the isolation of *Arcobacter* from meats[J]. *Lett Appl Microbiol*, 1996, 23(1):64-66.

[9] ENTIS P. Improved hydrophobic grid membrane filter method, using EF-18 agar, for detection of *Salmonella* in foods: collaborative study[J]. *J AOAC Int*, 1990, 73(5):734-742.

[10] ENTIS P. Direct 24-hour presumptive enumeration of *Escherichia coli* O157 H7 in foods using hydrophobic grid membrane filter followed by serological confirmation: collaborative study[J]. *J AOAC Int*, 1998, 81(2):403-418.

[11] SMITH W L, MCGARVEY K L, CULLOR J S. The use of spiral plating and microscopic colony counting for the rapid quantitation of *Mycobacterium paratuberculosis* [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2003, 36(5):293-296.

[12] SHINTANI T, YAMADA K, TORIMURA M. Optimization of a rapid and sensitive identification system for *Salmonella enteritidis* by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2002, 210(2):245-249.

[13] VAN DER ZEE H, HUIS in't VELD J H. Rapid and alternative screening methods for microbiological analysis[J]. *J AOAC Int*, 1997, 80(4):934-940.

[14] COLQUHOUN K O, TIMMS S, FRICKER C R. A simple method for the comparison of commercially available ATP hygiene-monitoring systems[J]. *J Food Prot*, 1998, 61(4):499-501. Comment in: *J Food Prot*. 1998, 61(7):781-782.

[15] GRIFFITHS M W. Rapid microbiological methods with hazard analysis critical control point[J]. *J AOAC Int*, 1997, 80:1143-1150.

[16] SEO K H, BRACKETT R E, FRANK J F. Rapid detection of *Escherichia coli* O157 H7 using immunomagnetic flow cytometry in ground beef, apple juice, and milk[J]. *Int J Food Microbiol*, 1998, 44(1-2):115-123.

[17] MCLELLAND R G, PINDER A C. Detection of *Salmonella typhimurium* in dairy products with flow cytometry and monoclonal antibodies[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1994, 60(12):4255-4262.

[18] HERMIDA M, TABOADA M, MENENDEZ S, et al. Semi-automated direct epifluorescent filter technique for total bacterial count

综述

# 食品中农药残留分析前处理技术应用进展

陈小萍 林升清

(福建省疾病预防控制中心,福建 福州 350001)

**摘要:**对近年来食品中农药残留分析试样前处理技术中得到迅速发展和广泛应用的固相萃取、超临界流体萃取、基质固相分散萃取进行评述;同时对新兴的分子识别技术-分子印迹聚合物在固相萃取中的应用及影响因素加以讨论。

**关键词:**食品; 农药残留量; 预处理; 化学, 分析

食品样品中农药残留分析是一项复杂混合物中痕量组分的分析技术。因存在同系物、异构体、降解产物或代谢产物的影响,且由于环境的迁移作用,通过根系吸收、传导等途径,农药进入农作物组织内部,以及待测样品的增加从而加大了检测难度。近十年来,随着样品萃取净化技术的迅速发展和现代分析仪器分辨能力、分析速度与仪器自动化程度的大大提高,农药残留的分离、在线分析已成为分析化学领域中最活跃的前沿课题之一,国内外学者在这方面做了许多工作,已发表了一些综述和评论<sup>[1-4]</sup>。

农药残留分析试样的预处理包括提取与净化,

大多数传统的提取与净化方法已无法满足现代食品安全性分析快速、准确的要求。上世纪 80 年代起国际上针对传统提取与净化技术的不足,发展了一些新的试样前处理技术并不断被引进。本文就近年来在食品中农药残留分析的试样制备技术领域中得到迅速发展和广泛应用的固相萃取(solid-phase extraction, SPE)、超临界流体萃取(supercritical fluid extraction, SFE)、基质固相分散萃取(matrix solid-phase dispersion extraction, MSPDE)的方法进行评述并对分子印迹合成受体技术(molecular imprinting technique, MIT)在固相萃取中的应用及影响因素加以讨论。

in raw milk [J]. J AOAC Int, 2000, 83(6):1345-1348.

[19] CLOAK O M, DUFFY G, SHERIDAN J J, et al. Development of a surface adhesion immunofluorescent technique for the rapid detection of *Salmonella* spp. from meat and poultry[J]. J Appl Microbiol, 1999, 86(4):583-590.

[20] RESTAINO L, CASTILLO H J, STDWART D, et al. Antibody-direct epifluorescent filter technique and immunomagnetic separation for 10-h screening and 24-h confirmation of *Escherichia coli* O157:H7 in beef[J]. J Food Prot, 1996, 59(10):1072-1075.

[21] TORTORELLO M L, REINEKE K F, STEWART D S. Comparison of antibody-direct epifluorescent filter technique with the most probable number procedure for rapid enumeration of *Listeria* in fresh vegetables [J]. J AOAC Int, 1997, 80(6):1208-1214.

[22] BOISEN F, SKOVGARRD N, EWALD S, et al. Quantitation of microorganisms in raw minced meat using the direct epifluorescence filter technique:NMKL collaborative study[J]. J AOAC Int, 1992, 75:465-473.

[23] HOLAH J T, BETTS R P, THORPE R H. The use of direct epifluorescence microscope and the direct epifluorescent filter to assess microbial populations on food contact surface [J]. J Appl Bacteriol, 1988, 65:215-221.

[24] D'HAESE E, NELIS H J. Rapid detection of single cell bacteria as a novel approach in food microbiology[J]. J AOAC Int, 2002, 85(4):979-983.

[25] D'HAESE E, NELIS H J, REYBROECK W. Determination of somatic cells in milk by solid phase cytometry [J]. J Dairy Res, 2001, 68(1):9-14.

[26] WAVERLA M, EISGRUBER H, SCHALCH B, et al. Zum Einsatz der Impedanzmessung in der Lebensmittelmikrobiologie [J]. Arch Lebensmittelhyg, 1998, 49:73-89.

[27] GIBSON D M, COOMBS P, PIMBLEY D W. Automated conductance method for the detection of *Salmonella* in foods: collaborative study[J]. J AOAC Int, 1992, 75:231-236.

[28] BARBOUR W M, TICE G. Genetic and immunologic techniques for detecting foodborne pathogens and toxins [M]//Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ (Eds). Food Microbiology, Fundamental and frontiers, ASM Press, New Technologies, Marcel Dekker, New York, 1997, 249-264.

[29] BRETT M M. Kits for the detection of some bacterial food poisoning toxins: problems, pitfalls and benefits [J]. Symp Ser Soc Appl Microbiol, 1998, 27:110S-118S.

[30] HEUVELINK A E, ZWARTKRUIS J T M, DE BOER E. Evaluation of media and tests kits for the detection and isolation of *Escherichia coli* O157 from minced beef[J]. J Food Prot, 1997, 60:817-824.

[31] ROBISON B J. Immunodiagnosics in the detection of foodborne pathogens//Tortorello M L, Gendel S M (Eds). Food Microbiological analysis-New Technologies, Marcel Dekker, New York, 1997, 77-89.

[收稿日期:2006-10-20]

中图分类号:R15;Q9333 文献标识码:E 文章编号:1004-8456(2007)01-0058-05

作者简介:陈小萍 主任技师

