

实验技术与方法

实时荧光 PCR 检测弯曲菌感染病例的粪便和肛拭子样本

邹林¹, 贾楠², 张萍¹, 甄博珺¹, 郭晓晨¹, 王芳¹, 冀国强², 闫爱霞², 康颖², 马红梅², 李颖²

(1. 北京市通州区疾病预防控制中心, 北京 101100; 2. 北京市顺义区疾病预防控制中心, 北京 101300)

摘要:目的 通过对 3 起弯曲菌暴发事件中粪便和肛拭子样本采用实时荧光 PCR 和培养法检测结果的比较, 为实验室快速有效地应对此类事件奠定基础。方法 收集 3 起弯曲菌感染暴发事件中病例的生物样本; 使用过滤培养法进行弯曲菌培养检测, 分别使用原始样本、增菌 24 h 和增菌 48 h 样本提取 DNA 进行弯曲菌实时荧光 PCR 检测; 使用 Kappa 检验对实时荧光 PCR 检测结果和培养法结果进行一致性分析。结果 原始样本、增菌 24 h 和增菌 48 h 实时荧光 PCR 检测灵敏度分别为 90.91%、97.22% 和 100%, 特异度分别为 75.00%、84.00% 和 78.95%, 与培养法结果一致性分析的 Kappa 值分别为 0.643、0.813 和 0.785。结论 实时荧光 PCR 检测与培养法结合使用是弯曲菌暴发事件处置的有效实验室检测方法。

关键词: 弯曲菌; 荧光定量聚合酶链式反应; 培养法; 腹泻病例; 食源性致病菌

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2024)04-0389-05

DOI: 10.13590/j.cjfh.2024.04.004

Detection of the stool and anal swab samples from outbreaks caused by *Campylobacter* by real-time PCR

ZOU Lin¹, JIA Nan², ZHANG Ping¹, ZHEN Bojun¹, GUO Xiaochen¹, WANG Fang¹, JI Guoqiang², YAN Aixia², KANG Ying², MA Hongmei², LI Ying²(1. Tongzhou District Center for Disease Prevention and Control, Beijing 101100, China;
2. Shunyi District Center for Disease Prevention and Control, Beijing 101300, China)

Abstract: Objective To lay the foundation of quickly and effectively response to such epidemics for laboratories, the detection of the real-time PCR and culture test results of stool and anal swab samples from 3 outbreaks caused by *Campylobacter* was compared. **Methods** Biological samples from the 3 outbreaks of *Campylobacter* were collected. Bacterial culture was performed on the samples using filter culture method. DNA was extracted from the original samples, 24 h enriched samples and 48 h enriched samples. Kappa test was used to analyze the results of real-time PCR and culture method. **Results** The real-time PCR detection sensitivity of original samples, 24 h enriched samples and 48 h enriched samples were 90.91%, 97.22% and 100%. And the detection specificity were 75.00%, 84.00% and 78.95%, respectively. Kappa value for the consistency analysis in culture method with real-time PCR based on original samples, 24 h enriched culture samples and 48 h enriched samples were 0.643, 0.813 and 0.785, respectively. **Conclusion** The combination of real-time PCR detection and culture detection is an effective laboratory testing method for the respond of *Campylobacter* outbreaks.

Key words: *Campylobacter*; real-time PCR; bacterial culture; diarrhea cases; foodborne pathogens

弯曲菌在许多国家都是导致腹泻的重要食源性致病菌^[1]。在我国,因肠杆菌耐药较为严重,基于抗生素抑制杂菌分离弯曲菌的传统培养法很难从病例粪便中成功分离弯曲菌^[2-3]。2000年后,我国腹泻监测中弯曲菌检出率低于0.5%^[2-3]。2016年开始推广

弯曲菌过滤培养方法^[4-5],弯曲菌在腹泻病原学监测中检出率达到5%~15%;也出现多起弯曲菌导致腹泻、胃肠炎暴发的相关报告^[6-9]。

弯曲菌暴发事件中常存在以下特征:感染潜伏期较长,为1~5 d,识别暴发事件时部分病例已感染时间较长;弯曲菌感染病例带菌可长达数周^[10],对机体损伤较严重,空肠弯曲菌部分血清型可导致人格林-巴利综合征^[11];弯曲菌对临床常用药(喹诺酮)耐药严重^[12-13],治疗效果差。基于以上原因,在弯曲菌暴发事件中实验室病原学检测的时效性意义重大,但该菌通常需要3~4 d培养周期,无法满足暴发

收稿日期:2023-03-24

作者简介:邹林 男 副主任技师 研究方向为病原微生物
E-mail:39890303@qq.com

通信作者:李颖 男 副主任技师 研究方向为病原微生物
E-mail:liyings19830805@126.com

事件应对需求,因此优化的弯曲菌分子筛查方案对事件处置具有重要的应用价值。

实时荧光 PCR Taq-Man 探针检测方法因具有较好的灵敏度和特异度,被广泛应用于细菌性食物中毒的筛查检测中。实时荧光 PCR 检测基于细菌 DNA 提取,原始生物样本(未增菌)DNA 提取通常采用机提法(磁珠法),增菌后样本 DNA 提取通常采用水煮法。2018—2021 年,北京市发生多起弯曲菌感染暴发事件^[6-8],本研究收集事件实验室检测中使用采集自病例的原始样本、增菌 24 h 样本和增菌 48 h 样本分别提取 DNA 进行实时荧光 PCR 检测,并进行灵敏度、特异度以及与培养法结果一致性的分析,旨在优化弯曲菌暴发实验室快速筛查方案为事件处置提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 粪便和肛拭子样本的采集

本研究共收集 3 起被定性为弯曲菌感染暴发事件中病例的生物样本(粪便和肛拭子),其中第 1 起事件发生在 2019 年 8 月 23 日,地点为北京市东北部某区,共调查到急性胃肠炎病例 16 人,其中收集

到采集自 7 个病例的粪便样本 7 件,采集自 9 个病例的肛拭子样本 9 件;第 2 起事件发生在 2021 年 7 月 15 日,地点为北京市东部某区,共调查并采集到急性胃肠炎病例 64 人,其中收集到采集自 49 个病例的粪便样本 49 件,采集自 15 个病例的肛拭子样本 15 件;第 3 起事件发生在 2021 年 8 月 4 日,地点为北京市东北部某区,调查到急性胃肠炎病例 7 人,其中收集到采集自 3 个病例的粪便样本 3 件,采集自 4 个病例的肛拭子样本 4 件。

3 起事件合计收集 59 个病例的粪便样本 59 件,收集到采集自 28 个病例的肛拭子样本 28 件,合计 87 件。每个病例仅采集单一类型(粪便或肛拭子)样本 1 件。所有样本均在暴发事件处理时由调查人员现场采集,粪便样本放置于无菌便盒,肛拭子样本保存于 Cary-Blair 培养基,2 h 内 4 °C 运送至疾控中心。所有样本经实时荧光 PCR 法或培养法均未检出沙门菌、志贺菌、致泻大肠埃希菌、副溶血性弧菌、霍乱弧菌、小肠结肠炎耶尔森氏菌、诺如病毒、札如病毒、轮状病毒、肠道腺病毒和星状病毒。通过病原菌分离培养和菌种鉴定,第 1 起事件和第 3 起事件最终判定由空肠弯曲菌感染导致;第 2 起事件最终判定由结肠弯曲菌感染导致。

表 1 暴发事件收集病例样本和用于不同类型检测数量分布

Table 1 Collection of case samples during outbreaks and distribution of quantity for different types of testing

暴发事件编号	发生时间	暴发事件最终 定性感染病原	采集到样本 病例数/人	采集样本数*/件			用于实时荧光 PCR 检测数/件								
				粪便	肛拭子	合计	原始样本			增菌 24 h			增菌 48 h		
							粪便	肛拭子	合计	粪便	肛拭子	合计	粪便	肛拭子	合计
1	2019-08-23	空肠弯曲菌	16	7	9	16	7	9	16	7	9	16	7	9	16
2	2021-07-15	结肠弯曲菌	64	49	15	64	21	6	27	48	15	63	36	15	51
3	2021-08-04	空肠弯曲菌	7	3	4	7	3	4	7	3	4	7	3	4	7
合计			87	59	28	87	31	19	50	58	28	86	46	28	74

注:*,本研究每个病例仅采集 1 件生物标本,即粪便或肛拭子样本中的一种。所有粪便和肛拭子样本全部进行培养法检测

1.1.2 主要仪器与试剂

微需氧袋(日本三菱 MGC),实时荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad CFX96),全自动磁珠法核酸提取仪(SSNP-9600A,江苏硕世生物科技股份有限公司),全自动磁珠法核酸提取试剂盒(SDKF60102,江苏硕世生物科技股份有限公司)。

ZC-CAMPY-001 粪便样本弯曲菌检测试剂盒(内含促生长因子增菌液、双孔板培养基和 0.45 μm 直径滤膜)、ZC-CAMPY-010 弯曲菌生化鉴定试剂盒(青岛中创生物科技股份有限公司),含有弯曲菌属靶基因(弯曲菌 *16s rRNA* 基因)的多重荧光 PCR 检测试剂盒(A552L-50T,北京卓诚生物科技股份有限公司);所有试剂均在有效期内使用。

1.2 方法

1.2.1 弯曲菌培养法检测

取少许粪便加入到弯曲菌促生长增菌液,肛拭

子直接插入促生长增菌液,将增菌液管盖拧松,放置于 42 °C 微需氧环境(5% O₂、10% CO₂、85% N₂)培养 24 h;打开双孔板培养基,暴露放置于生物安全柜内吹干 20 min,将 0.45 μm 直径滤膜平铺于双孔板培养基(karmali 和哥伦比亚血平板培养基)表面;分别取 300 μL 的培养悬液加到双孔板上平铺的滤膜表面,在生物安全柜中风干 40 min 后,放入 42 °C 微需氧环境培养 48 h;挑选可疑弯曲菌菌落进行鉴定。

1.2.2 粪便和肛拭子原始样本的实时荧光 PCR 检测

取 200 mg(μL)粪便分别使用磁珠法提取 DNA,肛拭子在进行增菌前首先溶于 1 mL 生理盐水,然后取 200 μL 使用磁珠法提取 DNA,提取方法均参照试剂盒说明书。DNA 核酸用于弯曲菌属 *16S rRNA* 基因实时荧光 PCR 检测,体系配制和扩增条件均参照试剂盒说明书,扩增曲线为典型 S 型

且 Ct 值 ≤ 30 判定为阳性, Ct 值 > 35 判定为阴性, $30 < Ct$ 值 ≤ 35 则重复实验并按照是否复现 S 型扩增曲线判定阳性或阴性。

1.2.3 弯曲菌增菌液实时荧光 PCR 检测

在增菌 24 h 和 48 h 分别取 200 μ L 弯曲菌增菌液, 8 000 r/min 离心 5 min, 弃去上清, 将沉淀用去离子水重悬, 100 $^{\circ}$ C 煮沸 10 min, 8 000 r/min 离心 5 min, 上清即为扩增核酸, 用于弯曲菌属 16S rRNA 基因实时荧光 PCR 检测, 体系配制和扩增条件参照试剂盒说明书, 扩增曲线为典型 S 型且 Ct 值 ≤ 30 判定为阳性, Ct 值 > 35 判定为阴性, $30 < Ct$ 值 ≤ 35 则重复实验并按照是否复现 S 型扩增曲线判定阳性或阴性。

1.2.4 统计学分析

试验结果用 Excel 2010 进行数据整理, 用培养结果来分组, 同一样本(即同一人的单一类型样本)不同检测方法结果的一致性分析使用 SPSS 20.0 软件 Kappa 检验, Cohen's Kappa 系数值在 0.81~1.00 之间为一致性“强”, 在 0.61~0.80 之间为一致性“较强”, 在 0.41~0.60 之间为一致性“中等”, 在 0.21~0.40 之间为一致性“一般”, 小于 0.20 为一致性“较差”。原始样本(或 24 h 增菌样本或 48 h 增菌样本)的实时荧光 PCR 灵敏度和特异度均基于同时完成培养法和原始样本(或 24 h 增菌样本或 48 h

增菌样本)实时荧光 PCR 检测的样本。

灵敏度=实时荧光 PCR 和培养法均为阳性的样本数(DP)/培养法为阳性的样本数(CP)

特异度=实时荧光 PCR 和培养法均为阴性的样本数(DN)/培养法为阴性的样本数(CN)。

2 结果

2.1 粪便样本和肛拭子样本检测结果分布

采集自 59 个病例的 59 份粪便样本全部做培养法检测。在粪便样本实时荧光 PCR 检测中, 有 31 件样本直接提取了 DNA(即原始样本), 有 58 件样本增菌 24 h 后提取了 DNA, 有 46 件样本增菌 48 h 后提取了 DNA, 见表 1。采集自 28 个病例的 28 份肛拭子样本全部进行了培养法检测。在肛拭子样本实时荧光 PCR 检测中, 有 19 件样本直接提取了 DNA(即原始样本), 有 28 件样本增菌 24 h 后和 48 h 后分别提取 DNA, 见表 1。粪便样本和肛拭子样本整体基于培养法检出率为 41.38%(36/87), 其中粪便标本检出率为 33.90%(20/59), 肛拭子标本检出率为 57.14%(16/28)。粪便样本和肛拭子样本整体原始样本、增菌 24 h 和增菌 48 h 实时荧光 PCR 检测灵敏度分别为 90.91%、97.22% 和 100%, 特异度分别为 75.00%、84.00% 和 78.95%, 具体见表 2。

表 2 荧光 PCR 检测弯曲菌的灵敏度和特异度分布

Table 2 Sensitivity and specificity distribution of fluorescent PCR detection

样本类型	检测方法	总数	阳性数	灵敏度/%(DP/CP) ^a	特异度/%(DN/CN) ^b
粪便	培养法	59 ^c	20	—	—
	原始样本实时荧光 PCR	31	18	92.86(13/14)	70.59(12/17)
	增菌 24 h 实时荧光 PCR	58	25	100(20/20)	84.21(32/38)
	增菌 48 h 实时荧光 PCR	46	26	100(20/20)	76.92(20/26)
肛拭子	培养法	28 ^d	16	—	—
	原始样本实时荧光 PCR	19	9	87.50(7/8)	81.82(9/11)
	增菌 24 h 实时荧光 PCR	28	17	93.75(15/16)	83.33(10/12)
	增菌 48 h 实时荧光 PCR	28	18	100(16/16)	83.33(10/12)
合计	培养法	87 ^e	36	—	—
	原始样本实时荧光 PCR	50	27	90.91(20/22)	75.00(21/28)
	增菌 24 h 实时荧光 PCR	86	42	97.22(35/36)	84.00(42/50)
	增菌 48 h 实时荧光 PCR	74	44	100(36/36)	78.95(30/38)

注:a:原始样本(或 24 h 增菌样本或 48 h 增菌样本)的实时荧光 PCR 灵敏度基于同时完成培养法和原始样本(或 24 h 增菌样本或 48 h 增菌样本)实时荧光 PCR 检测的样本, 灵敏度计算方法为:实时荧光 PCR 和培养法均为阳性的样本数(DP)/培养法为阳性的样本数(CP);b:原始样本(或 24 h 增菌样本或 48 h 增菌样本)的实时荧光 PCR 特异度基于同时完成培养法和原始样本(或 24 h 增菌样本或 48 h 增菌样本)实时荧光 PCR 检测的样本, 特异度计算方法为:实时荧光 PCR 和培养法均为阴性的样本数(DN)/培养法为阴性的样本数(CN);c:所有粪便样本(59 件)均进行了培养法检测, 进行原始样本、增菌 24 h 和 48 h 实时荧光 PCR 检测的样本均包含在内;d:所有肛拭子样本(28 件)均进行了培养法检测, 进行原始样本、增菌 24 h 和 48 h 实时荧光 PCR 检测的样本均包含在内

2.2 实时荧光 PCR 方法与培养法检测结果一致性分析

50 个病例的 50 件样本同时完成原始样本实时荧光 PCR 检测和培养法检测, 同一样本(即同一人

的单一类型样本)一致性分析的 Kappa 值为 0.643; 共有 86 件样本同时完成增菌 24 h 实时荧光 PCR 检测与培养法检测, 同一样本(即同一人的单一类型样本)一致性分析的 Kappa 值为 0.813, 共有 74 件

样本同时完成增菌 48 h 实时荧光 PCR 检测和培养法检测,同一样本(即同一人的单一类型样本)一致

性分析的 Kappa 值为 0.785。具体统计结果分布见表 3。

表3 实时荧光PCR检测和培养法检测结果一致性分析

Table 3 Consistency analysis of real-time fluorescence PCR detection and culture method detection

样本类型	方法1	方法2	一致数	不一致数	符合率/%	Kappa系数	P
粪便	培养法	原始样本实时荧光PCR	25	6	80.65	0.619	<0.001
		增菌24h实时荧光PCR	53	5	91.38	0.820	<0.001
		增菌48h实时荧光PCR	40	6	86.96	0.743	<0.001
肛拭子	培养法	原始样本实时荧光PCR	16	3	84.21	0.682	0.003
		增菌24h实时荧光PCR	25	3	89.29	0.779	<0.001
		增菌48h实时荧光PCR	26	2	92.86	0.851	<0.001
合计	培养法	原始样本实时荧光PCR	41	9	82.00	0.643	<0.001
		增菌24h实时荧光PCR	78	8	90.70	0.813	<0.001
		增菌48h实时荧光PCR	66	8	89.19	0.785	<0.001

3 讨论

弯曲菌已经被证实是导致腹泻的重要病原菌^[4,12],随着弯曲菌过滤培养法在中国的推广普及^[4,9],基于过滤培养法被识别的弯曲菌暴发事件在近年来也被多次报道^[6-9]。2016年过滤培养法推广使用前,弯曲菌在中国的流行强度以及该病原导致暴发事件的重要性被低估^[2-3]。本研究以2起空肠弯曲菌事件和1起结肠弯曲菌事件中收集样本为资源(后证实3次暴发均为单一克隆导致的急性胃肠炎暴发事件),进行基于弯曲菌属16S rRNA基因为靶标的实时荧光PCR检测和培养法检测结果的一致性分析,为优化弯曲菌暴发事件快速筛查方案奠定基础。

因本研究是对既往3起暴发事件收集样本检测结果的回顾性分析,虽然全部样本使用的培养法和实时荧光PCR检测方法均基于相同规范性操作,但未能对全部原始样本、增菌24h以及增菌48h样本都同步开展实时荧光PCR检测,统计分析基于暴发检测中留存数据资料开展,这是本研究存在的局限性。

弯曲菌暴发事件中的原始生物样本(未增菌的粪便或肛拭子)实时荧光PCR检测具有最佳时效性,从样本采集到获得检测结果仅需要2~3h。本研究发现,原始样本实时荧光PCR检测灵敏度为90.91%(粪便样本和肛拭子样本分别为92.86%和87.50%),原始样本实时荧光PCR检测与培养法检测结果一致性较强(Kappa系数0.643),说明原始样本基本可满足快速筛查需求。文献报道很少菌量的弯曲菌定殖就可能感染^[13],病例标本中菌量较少,达不到实时荧光PCR方法检出限(通常为100 cfu/mL),但过滤培养法检出限可以低到小于1~10 cfu/mL^[5,14-16],继而造成实时荧光PCR方法出现假阴性。本研究中原始样本实时荧光PCR检测

特异度为75.00%,这可能与部分样本中弯曲菌载量低,未能达到培养法检出限,但却达到实时荧光PCR检出限;也可能与部分病例服用抗生素导致样本中仅携带“死菌”,实时荧光PCR可检测到“死菌”但却无法成功培养,继而造成实时荧光PCR方法呈现“假阳性”结果有关。但这种“假阳性”的出现很有可能由“金标准方法”培养法存在局限性所导致。因此实时荧光PCR检测与培养法检测的结合使用是诊断感染以及事件处置的有效实验室检测方法。

弯曲菌过滤培养法首先要经过24h的增菌,增菌液也可用于分子筛查检测,虽然其检测时效性不如原始菌样本强,但可比培养法提前至少48h(弯曲菌分离培养及鉴定时间)获得检测结果。本研究中,增菌24h样本实时荧光PCR检测灵敏度为97.22%(粪便样本和肛拭子样本分别为100%和93.75%),与培养法检测结果一致性强(Kappa系数0.813);增菌48h样本实时荧光PCR检测灵敏度为达到100%,与培养法检测结果一致性较强(Kappa系数0.785)。粪便标本和肛拭子标本分别在未增菌、增菌24h和增菌48h3个时间点的实时荧光PCR检测均呈现检测灵敏性上升,提示我们有必要在开展过滤培养法的同时基于增菌液进一步开展弯曲菌的实时荧光PCR筛查,尽早获得较为准确的分子筛查结果辅助事件的研判。

综上,弯曲菌导致暴发事件中,病例粪便样本和肛拭子样本进行弯曲菌实时荧光PCR检测结果与培养法检测结果一致性较高,可见实时荧光PCR检测与培养法检测的结合使用是诊断感染以及事件处置的有效实验室检测方法。

参考文献

- [1] 徐建国, 阙颀, 张建中. 现场细菌学[M]. 北京: 科学出版社, 2011: 139-149.

- XU J G, KAN B, ZHANG J Z. Field bacteriology[M]. Beijing: Science Press, 2011: 139-149.
- [2] ZHANG Z K, LAI S J, YU J X, et al. Etiology of acute diarrhea in the elderly in China: A six-year observational study[J]. PLoS One, 2017, 12(3): e0173881.
- [3] WANG X, WANG J, SUN H, et al. Etiology of childhood infectious diarrhea in a developed region of China: Compared to childhood diarrhea in a developing region and adult diarrhea in a developed region[J]. PLoS One, 2015, 10(11): e0142136.
- [4] 王园园, 李颖, 张爽, 等. 2017年北京市顺义区腹泻患者弯曲菌流行特征及耐药性分析[J]. 疾病监测, 2018, 33(12): 1048-1053.
- WANG Y Y, LI Y, ZHANG S, et al. Infection status and drug resistance of *Campylobacter* in diarrhea patients in Shunyi district of Beijing, 2017[J]. Disease Surveillance, 2018, 33(12): 1048-1053.
- [5] 佚名. “基于滤膜通透性弯曲菌新检测方法及弯曲菌超级耐药岛筛查技术”培训班会议纪要[J]. 疾病监测, 2016, 31(5): 10001.
- No Name. A new detection method for campylobacter based on membrane permeability and super tolerance of *Campylobacter* minutes of the training course on drug island screening technology[J]. Disease Surveillance, 2016, 31(5): 10001.
- [6] 邹林, 李颖, 周贵兰, 等. 一起空肠弯曲菌导致急性胃肠炎暴发事件的病原特征分析[J]. 中华流行病学杂志, 2020, 41(10): 1692-1696.
- ZOU L, LI Y, ZHOU G L, et al. Laboratory investigation for one gastroenteritis outbreak caused by *Campylobacter jejuni*[J]. Chinese Journal of Epidemiology, 2020, 41(10): 1692-1696.
- [7] LI Y, ZHOU G L, GAO P, et al. Gastroenteritis outbreak caused by *Campylobacter jejuni*—Beijing, China, August, 2019[J]. China CDC Weekly, 2020, 2(23): 422-425.
- [8] LI Y, GU Y X, LV J C, et al. Laboratory study on the gastroenteritis outbreak caused by a multidrug-resistant *Campylobacter coli* in China[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2020, 17(3): 187-193.
- [9] 张新, 曲梅, 梁志超, 等. 滤膜驱动分离培养法在一起空肠弯曲菌腹泻疫情中的应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2019, 29(11): 1281-1283.
- ZHANG X, QU M, LIANG Z C, et al. Application of filter driven selective culture method in diarrhea outbreak caused by *Campylobacter jejuni* detection[J]. China Industrial Economics, 2019, 29(11): 1281-1283.
- [10] 张茂俊, 张建中. 空肠弯曲菌病与格林-巴利综合征[J]. 中华流行病学杂志, 2008, 29(6): 618-621.
- ZHANG M J, ZHANG J Z. Campylobacteriosis and guillain barre syndrome[J]. Chinese Journal of Epidemiology, 2008, 29(6): 618-621.
- [11] LI Y, ZHANG S, HE M, et al. Prevalence and molecular characterization of *Campylobacter* spp. isolated from patients with diarrhea in Shunyi, Beijing[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 52.
- [12] 付燕燕, 顾一心, 宋立, 等. 空肠弯曲菌喹诺酮类抗生素敏感性检测及其耐药机理分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2018, 34(2): 105-108, 117.
- FU Y Y, GU Y X, SONG L, et al. Antibiotics susceptibility and genetic characteristics analysis for quinolone resistant *Campylobacter jejuni* isolated from China[J]. Chin J Zoonoses, 2018, 34(2): 105-108, 117.
- [13] 刘夏阳, 于俊峰, 顾一心, 等. 感染性腹泻患者弯曲菌感染的实验室检测及监测[J]. 疾病监测, 2014, 29(05): 354-358.
- LIU X Y, YU J F, GU Y X, et al. Laboratory detection and surveillance of *Campylobacter jejuni* infection [J]. Disease Surveillance. 2014. 29(05): 354-358.
- [14] DE BOER P, RAHAOUI H, LEER R J, et al. Real-time PCR detection of *Campylobacter* spp.: A comparison to classic culturing and enrichment[J]. Food Microbiology, 2015, 51: 96-100.
- [15] LUND M, NORDENTOFT S, PEDERSEN K, et al. Detection of *Campylobacter* spp. in chicken fecal samples by real-time PCR [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2004, 42(11): 5125-5132.
- [16] HILSCHER C, VAHRSON W, DITTMER D P. Faster quantitative real-time PCR protocols may lose sensitivity and show increased variability[J]. Nucleic Acids Research, 2005, 33(21): e182.