

食源性变形杆菌簇致病菌的检测

陈双雅* 张永祥 陈伟玲 王群力 谢明星 刘棠 彭小莉

(厦门出入境检验检疫局 福建 厦门 361026)

摘要: 为建立食源性变形杆菌簇致病菌的检测方法,对富集培养基、选择性平板分离培养基和生化特性进行了筛选比较。结果表明,肠杆菌富集肉汤培养基更有利于变形杆菌簇致病菌的检出,平板分离培养基可用 EMB 琼脂培养基和 SS 琼脂培养基(或麦康凯琼脂培养基),初筛方法为革兰氏反应和苯丙氨酸脱氨酶实验,最后用其他生化反应进行确认。该方法检出率高,检测范围较宽,可为建立变形杆菌簇致病菌的检验标准提供实验依据。

关键词: 变形杆菌簇,致病菌,检测

Detection of Food Borne *Proteeae* Pathogens

CHEN Shuang-Ya* ZHANG Yong-Xiang CHEN Wei-Ling WANG Qun-Li
XIE Ming-Xing LIU Tang PENG Xiao-Li

(Xiamen Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Xiamen, Fujian 361026, China)

Abstract: To establish a detection method of food borne *Proteeae* pathogens, we compared different enrichment broths and different selective agars on *Proteeae* pathogen growth, correlated with the biochemical characteristics of the pathogens. The results showed that EE enrichment broth was more efficient than GN broth, and the selective agars were EMB agar plus SS agar (or MacConkey agar). The preliminary screen methods were Gram-stain reaction and phenylalanine deaminase reaction. The *Proteeae* pathogens were finally confirmed by other biochemical tests. This method was sensitive and had a broad scope of detection, could provide experimental basis for new standard.

Keywords: *Proteeae*, Pathogen, Detection

变形杆菌广泛存在于水、土壤、腐败的有机物和动物的肠道中,食品在加工、销售、贮藏、运输、保管等环节上很容易受到污染。受污染的熟食品在较高的温度下存放较长的时间,细菌大量繁殖,食用前不再回锅加热或加热不彻底,食后会引起中毒。变形杆菌食物中毒是我国常见的细菌性食物中毒之一。据调查报告,食品污染率为 3.8%–8.0%,中

毒食品主要以动物性食品为主,其中以水产品和肉类染菌率较高,其次为豆制品和凉拌菜。近些年来,多次发生由变形杆菌簇致病菌污染食物导致的重大食物中毒事件^[1–3]。

变形杆菌的致病性体现在两个方面,一是摄入含有大量变形杆菌的食物后,变形杆菌进入人体胃肠道中,先在小肠内生长繁殖,从而引起感染。同

时,变形杆菌还能够产生肠毒素,此肠毒素为蛋白质和碳水化合物的复合物,具抗原性,会引起人的中毒性胃肠炎。特别是奇异变形杆菌可引起败血症,病死率较高。另一种是由于摩根摩根氏菌产生很强的脱羧酶,在这种脱羧酶的强力催化下,食品中的组氨酸脱羧生成组胺,从而使人体产生过敏型中毒^[4-5]。

引起食物中毒的变形杆菌主要是普通变形杆菌、奇异变形杆菌、产碱普罗菲登斯菌和摩根摩根氏菌^[1-3,6-7]等。然而除了卫生部行业标准《WS/T 9-1996 变形杆菌食物中毒诊断标准及处理原则》^[8]附录中的检测方法(主要是用于对食物中毒病人病料的检测),目前还没有对食品变形杆菌进行检测的标准。我国现有法规虽没把变形杆菌列为输入动物和食品传染病检验检疫对象,但该类细菌对养殖业和公共卫生有不良影响。因此为提升我国进出口食品卫生安全的监测水平、保障人类健康和促进进出口贸易,建立食品中变形杆菌的检测方法具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌种: 标准菌株分别购自美国标准生物品收藏中心(ATCC)、中国普通微生物菌种保藏中心(CGMCC)和中国医学微生物菌种保藏管理中心(CMCC)(表 1)。所有试验菌株在营养琼脂斜面上 37°C 培养 18–24 h。

1.1.2 培养基和试剂: 营养肉汤培养基(Nutrient broth, NB)、营养琼脂培养基(Nutrient agar, NA)、肠杆菌富集肉汤培养基(Enterobacteria enrichment broth, EE)、GN 富集肉汤培养基(Gram negative enrichment broth, GN)、SS 琼脂培养基(Salmonella/Shigella agar, SS)、EMB 琼脂培养基(Eosin-methylene blue agar, EMB)、麦康凯琼脂培养基(MacConkey agar, MAC)购自北京路桥技术有限公司。生化试剂(苯丙氨酸脱氨酶实验管、甘露糖发酵管、鸟氨酸脱羧酶反应管、尿素酶反应管、吲哚反应管、麦芽糖发酵管、核糖醇发酵管和肌醇发酵管等)购自广东环凯微生物有限公司。API 20E 生化鉴定试剂盒和 VITEK GNI⁺生化鉴定卡购自法国梅里埃生物制品公司。

表 1 菌株
Table 1 Strains

菌种名称 Bacterial species	菌株号 Strain No.	数量 No. of strains
<i>Proteus vulgaris</i>	CMCC 49027	1
<i>Proteus vulgaris</i>	本室从对虾分离	3
<i>Proteus mirabilis</i>	CMCC 49106	1
<i>Morganella morganii</i>	ATCC 8019	1
<i>Morganella morganii</i>	本室从快餐分离	1
<i>Providencia rettgeri</i>	ATCC 9250	1
<i>Providencia rettgeri</i>	本室从冻虾仁分离	1
<i>Providencia alcalifaciens</i>	CMCC 42010	1
<i>Providencia alcalifaciens</i>	本室从冻罗非鱼分离	2
<i>Providencia stuartii</i>	ATCC 25825	1
<i>Providencia rustigianii</i>	ATCC 12013	1
<i>Escherichia coli</i>	AS 1.3373	1
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 43888	1
<i>Salmonellae enteritidis</i>	CMCC 50041	1
<i>Salmonellae typhi</i>	CMCC 50488	1
<i>Shigella dysenteriae</i>	CMCC 51528	1
<i>Shigella flexneri</i>	AS1.1868	1
<i>Enterobacter sakazakii</i>	CMCC 45401	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CMCC 46109	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	CMCC 45301	1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	AS1.489	1
<i>Citrobacter freundii</i>	AS1.1732	1

1.2 方法

1.2.1 富集培养基的选择: 将普通变形杆菌 CMCC 49027、摩根摩根氏菌 ATCC 8019 和产碱普罗菲登斯菌 CMCC 42010 分别接种到 NB, 37°C 培养 18–24 h, 比浊法测定浓度后, 用无菌生理盐水 10 倍稀释至 10^4 、 10^3 、 10^2 、 10^1 和 10^0 CFU/mL。每个稀释度分别取 1 mL 接种 9 mL GN 和 EE, 37°C 培养 18–24 h 后, 划线 SS 平板和 EMB 平板观察生长情况。

1.2.2 分离平板的选择: 将所有菌株在 NB 中活化, 在 SS 平板、EMB 平板和 MAC 平板上划线接种, 37°C 培养 18–24 h, 观察各细菌种的菌落形态。

1.2.3 菌种保存: 将各菌株接种于营养琼脂斜面, 37°C 培养 18–24 h 后放 4°C–6°C 冰箱保存。

1.2.4 生化反应和检测流程: 苯丙氨酸脱氨酶实验、甘露糖发酵、鸟氨酸脱羧酶反应、尿素酶反应、吲哚反应、麦芽糖发酵、核糖醇发酵和肌醇发酵等生化反应按生化管说明书进行, API 20E 生化鉴定试剂盒和 VITEK GNI⁺生化鉴定卡按厂家说明书进行。

按富集、分离目标菌、初筛和生化确认的程序制定检测流程。

1.2.5 人工污染样品的定量检测: 将普通变形杆菌 CMCC49027 接种 NB, 37℃ 培养 18–24 h, 比浊法调整浓度约 10^8 CFU/mL, 用灭菌生理盐水进行 10 倍系列稀释。分别称取 50 g 阴性鸡肉样品、阴性冻罗非鱼样品和阴性冻斑节虾样品, 加入 450 mL 灭菌生理盐水, 均质, 制成混悬液。其中 250 mL 混悬液添加 10^4 CFU/mL 培养物稀释液 1 mL, 使之含目标菌 10^2 CFU/mL; 另外 250 mL 混悬液添加 10^3 CFU/mL 培养物稀释液 1 mL, 使之含目标菌 10^1 CFU/mL。按制定的检测流程进行检测。

1.2.6 实际样本的定性检测: 按制定的检测流程对市售烧鸡、烤鸭、卤味等 11 个样品, 出口冷冻对虾、斑节虾、罗非鱼、猪肉松、猪肉干、牛肉干等 45 个样品, 进口冻鸡脚、冻鱿鱼、冻带鱼、冻牛蛙腿和冷冻快餐等 26 个样品进行检测, 同时用卫生部行业

标准 WS/T 9-1996 附录中的检测方法作为参照。

2 结果与分析

2.1 富集培养基的选择

富集培养基的选择将直接影响到检测结果。目前肠杆菌科的富集培养基主要为 EE。GN 作为富集培养基分离得到变形杆菌也有多例报道^[3,9]。《WS/T 9—1996 变形杆菌食物中毒诊断标准及处理原则》附录 A 也推荐使用 GN 为富集培养基。本实验以 3 个变形杆菌标准菌株为对象, 将 EE 和 GN 两种富集培养基的增菌效果进行了比较。

实验结果(表 2)表明, $\leq 10^3$ CFU/mL 的变形杆菌菌液接种 GN, 不能获得增殖, 在 SS 平板和 EMB 平板上均不能获得菌落; 而 $\geq 10^0$ CFU/mL 的菌液接种 EE, 均能得到增殖, 在 SS 平板和 EMB 平板上均能得到菌落。为了防止漏检情况的发生, 富集培养基选择 EE, 37℃ 培养 18–24 h。

表 2 不同富集液的增菌效果比较
Table 2 Comparison of different enrichment broth

菌株 Stains	10 ⁴ CFU/mL		10 ³ CFU/mL		10 ² CFU/mL		10 ¹ CFU/mL		10 ⁰ CFU/mL	
	GN	EE	GN	EE	GN	EE	GN	EE	GN	EE
<i>P. vulgaris</i> CMCC 49027	+	+	+	+	–	+	–	+	–	+
<i>M. morganii</i> ATCC 8019	+	+	–	+	–	+	–	+	–	+
<i>P. alcalifaciens</i> CMCC 42010	+	+	–	+	–	+	–	+	–	+

注: +: SS 平板和 EMB 平板可见菌落生长; –: SS 平板和 EMB 平板未见菌落生长。

Note: +: Colonies observed both on SS agar and EMB agar; –: Colonies observed neither on SS agar nor on EMB agar.

2.2 分离培养基和菌落形态

实验采用了肠杆菌科细菌常用的分离培养基——SS、EMB 和 MAC, 它们作为变形杆菌的分离培养基均有文献报道^[1–3,6–7,9], 实验以 2 株变形杆菌菌株为例, 测试了实验菌株在 3 种培养基上的生长情况。

将稀释至 10^2 – 10^0 CFU/mL 的普通变形杆菌 CMCC 49027 和产碱普罗菲登斯菌 CMCC 42010 的培养物分别在 SS 平板、EMB 平板和 MAC 平板上涂布计数, 结果三者的计数没有显著差异(表 3), 表明 SS、EMB 和 MAC 均可作为分离培养基。

将标准菌株在 NB 中活化, 在 SS 平板、EMB 平板和 MAC 平板上划线接种, 37℃ 培养 18–24 h, 观察各细菌种的菌落形态, 结果见表 4。

由于不能发酵乳糖, 所有实验变形杆菌菌株在 SS 平板和 MAC 平板上均为圆形, 扁平, 无色至淡

表 3 平板计数结果
Table 3 Result of plate count

菌株 Strains	菌液浓度 Concentration (CFU/mL)	培养基 Media		
		SS	EMB	MAC
<i>P. vulgaris</i> CMCC49027	10^2	232	238	234
	10^1	26	24	22
	10^0	3	2	3
<i>P. alcalifaciens</i> CMCC 42010	10^2	175	181	169
	10^1	16	20	18
	10^0	0	1	1

粉色, 半透明的菌落, 表面光滑; 在 EMB 平板上, 菌落呈灰白色、半透明、圆形、光滑。由于志贺氏菌在 SS 平板和 MAC 平板上的菌落形态与变形杆菌菌株类似, 建议分离平板同时采用两种平板: EMB 平板+SS 平板(或 MAC 平板)。

表 4 不同平板上菌株的菌落特征
Table 4 Colony characteristics on different plate

Strains	SS	EMB	MAC
<i>P. vulgaris</i> CMCC49027	无色, 半透明	灰白, 半透明	无色透明
<i>P. mirabilis</i> CMCC49106	无色, 半透明	灰白, 半透明	无色透明
<i>M. morganii</i> ATCC 8019	无色, 半透明	灰白, 半透明	无色透明
<i>P. rettgeri</i> ATCC 9250	无色, 半透明	灰白, 半透明	无色透明
<i>P. alcalifaciens</i> CMCC 42010	无色, 半透明	灰白, 半透明	无色透明
<i>P. stuartii</i> ATCC 25825	无色, 半透明	灰白, 半透明	无色透明
<i>E. coli</i> AS1.3373	粉红	紫色	红色
<i>E. cloacae</i> CMCC45301	粉红	紫色	红色
<i>E. aerogenes</i> AS1.489	粉红	紫色	红色
<i>E. sakazakii</i> CMCC45401	粉红	紫色	红色
<i>S. enteritidis</i> CMCC50041	透明, 黑心	灰紫色	无色透明
<i>S. dysenteriae</i> CMCC 51528	无色透明	灰紫色	无色透明
<i>K. pneumoniae</i> CMCC 46109	粉红	紫色	红色
<i>C. freundii</i> AS1.1732	粉色, 黑心	紫黑色	粉色

2.3 生化实验和检测流程

2.3.1 苯丙氨酸脱氨酶实验: 由于变形杆菌属、摩根摩根氏菌属和普罗菲登斯菌属均为肠杆菌科细菌, 参考《伯杰氏细菌鉴定手册》第 8 版^[10]和《常见细菌系统鉴定手册》^[11]发现, 它们都具有非常独

特的苯丙氨酸脱氨酶阳性的生化特性。Senior^[12]对 198 株变形杆菌簇的菌株、O’Hara^[13]对 103 株变形杆菌簇的菌株进行了测试, 所有菌株均为苯丙氨酸脱氨酶阳性。本实验中变形杆菌簇的所有实验菌株均为苯丙氨酸脱氨酶阳性, 其他实验菌株均为苯丙氨酸脱氨酶阴性。因此, 实验采用的策略是在选择性培养基上分离出单菌落后, 通过革兰氏染色和苯丙氨酸脱氨酶实验初筛目标菌, 再进一步通过生化实验确认目标菌。

文献报道, 肠杆菌科中只有变形杆菌簇细菌均为苯丙氨酸脱氨酶阳性^[12], 因此苯丙氨酸脱氨酶反应可作为初筛手段, 将其与其他肠杆菌科细菌区分开。阪崎肠杆菌、成团肠杆菌的苯丙氨酸脱氨酶反应可变^[11], 但阪崎肠杆菌和成团肠杆菌由于发酵乳糖在 EMB 平板上呈紫色菌落, 因此可被筛除。

2.3.2 生化确认: 在得到苯丙氨酸脱氨酶阳性菌落后, 通过进一步的生化鉴定即可确定是否含有目标菌。

实验验证了普通变形杆菌 CMCC 49027、奇异变形杆菌 CMCC 49106、摩根摩根氏菌 ATCC 8019、雷氏普罗菲登斯菌 ATCC 9250 和产碱普罗菲登斯菌 CMCC4 2010 的生化特性。结果(表 5)与常见细菌系统鉴定手册完全一致。由于目前 *P. myxofaciens* 只从舞毒蛾中分离到一个菌株^[14], 而 *P. Hauseri* 是 O’Hara 等 2000 年鉴定发表的一个新种, 目前有两个菌株, 与人和动物的关系未知, 分离源未知^[15], 这两个种的生理生化特征仍需进一步完善, 因此表 5 不包括这两个菌株的描述。

表 5 变形杆菌簇菌株的生化特性
Table 5 Biochemical characteristics of *Proteae* strains

生化特性 Biochemical characteristics	普通变形杆菌 <i>P. vulgaris</i>	奇异变形杆菌 <i>P. mirabilis</i>	彭氏变形杆菌 <i>P. penneri</i>	摩根摩根氏菌 <i>M. morganii</i>	产碱普罗菲登斯菌 <i>P. alcalifaciens</i>	雷氏普罗菲登斯菌 <i>P. rettgeri</i>	斯氏普罗菲登斯菌 <i>P. stuartii</i>	拉氏普罗菲登斯菌 <i>P. rustigianii</i>	海氏普罗菲登斯菌 <i>P. heimbachae</i>
Phenylalanine deaminase	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Acid production from D-Mannose	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Ornithine decarboxylase	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Acid production from Maltose	+	-	+	-	-	-	-	-	+
Indole production	+	-	-	+	+	+	+	+	-
Urase	+	+	+	+	-	+	v	-	-
Acid production from D-Adonitol	-	-	-	-	+	+	-	-	+
Acid production from Inositol	-	-	-	-	-	+	+	-	v
Acid production from D-Xylose	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Hydrogen sulfide	+	+	v	-	-	-	-	-	-
Gelatin hydrolysis (22°C)	+	+	v	-	-	-	-	-	-

注: +: 阳性; -: 阴性; v: 可变。
Note: +: Positive; -: Negative; v: Variable.

变形杆菌簇其他种的生化特征鉴定见表 5。

2.3.3 检测流程: 综合上述结果, 制定了变形杆菌簇致病菌的检测流程。

(1) 样品 25 g (mL) 加 225 mL EE 得到 1:10 稀释液, 进而用 EE 进行 10 倍系列稀释。根据对检样污染情况的估计, 选择 3 个连续的适宜稀释度, 最高稀释度应能达到获得阴性结果。每个稀释度接种 3 支含有 9 mL EE 的试管, 每管接种 1 mL。于 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 18–24 h 进行富集。

(2) 在 EMB 平板 + SS 平板(或 MAC 平板)上划线分离单菌落。挑取可疑菌落进行革兰氏染色、镜检和苯丙氨酸脱氨酶试验。革兰氏阴性和苯丙氨酸脱氨酶阳性的菌株继续用其他生化试验, 或用 API 20E 鉴定试剂盒或 VITEK 全自动微生物分析系统进行菌株鉴定。

(3) 根据每一稀释度证实生化特性鉴定结果为阳性的试管管数, 查最可能数(MPN)表, 报告每克(毫升)样品中变形杆菌的最近似数。

2.4 人工污染样品的定量检测

检测结果见表 6。

表 6 人工样品检测结果 Table 6 Results of synthetic samples				
样品 Sample	含菌量 Bacterial concentration (CFU/g)	检测结果 Result (MPN/g)	含菌量 Bacterial concentration (CFU/g)	检测结果 Result (MPN/g)
鸡肉 Chicken		240		23
冻罗非鱼 Frozen tilapia	10^2	240	10^1	43
冻斑节虾 Frozen prawn		240		43

2.5 实际样本的定性检测

在 82 个样品中, 检出变形杆菌 7 份, 其中 6 份为冷冻产品, 分别为冻鸡脚 1 份, 冻对虾 2 份, 冻罗非鱼 1 份, 冻带鱼 1 份, 烧鸡 1 份, 速冻快餐 1 份。检出的变形杆菌经鉴定分别为普通变形杆菌、奇异变形杆菌、摩根摩根氏菌和雷氏普罗菲登斯菌。按卫生部行业标准 WS/T 9-1996 附录中的检测方法从 82 个样品中未检出变形杆菌。表明本文建立的方法可以更有效地富集和分离致病菌, 更有利于变形杆菌致病菌的检出。

3 结论

目前国外没有对食品中的变形杆菌进行检测的标准方法。只有一些对于变形杆菌鉴定方法的研究^[12–13,16–17]。本研究参考了 Senior^[12]和 O'Hara^[13]的研究结果, 确立了通过革兰氏染色和苯丙氨酸脱氨酶实验初筛目标菌的实验策略。Merlina^[16]和 Mazoyer^[17]的研究发现, 显色培养基 CHROMagar Orientation 和 CPS ID2 培养基对变形杆菌簇的细菌有选择性。考虑到这两种培养基不易获得而且价格昂贵, 基层实验室不便采用, 本研究未采用这两种培养基。

国内一直采用卫生部行业标准 WS/T 9-1996 附录中的检测方法对导致中毒的食物中的变形杆菌进行检测, 由于该方法采用 GN 富集肉汤培养基进行富集培养, 灵敏度不高, 而且该方法只对变形杆菌属的细菌进行鉴定, 因此, 应用该方法将不能检出可能导致食物中毒的其他变形杆菌簇的致病菌。虽然目前也有一些利用分子生物学方法^[18–19]检测变形杆菌的报道, 然而, 这些方法均只针对变形杆菌属的细菌, 易造成漏检。

本研究建立的方法采用了 EE 富集肉汤培养基进行富集培养, 提高了检出率; 并可以对变形杆菌簇的多种致病菌进行鉴定, 扩大了检测范围。该方法采用传统的富集培养结合生化鉴定的方法, 有利于基层实验室的推广和应用, 对食品中变形杆菌簇致病菌的监测具有重要意义。

参考文献

- [1] 李秀彬, 陈萌莉, 杨东霞, 等. 一起奇异变形杆菌食物中毒的病原学鉴定. 中国食品卫生杂志, 2002, 14(2): 15–16.
- [2] Murata T, Iida T, Shiomi Y, et al. A large outbreak of foodborne infection attributed to *Providencia alcalifaciens*. *Journal of Infectious Diseases*, 2001, 184(8): 1050–1055.
- [3] 张东林. 一起由 2 种变形菌混合污染引起的食物中毒. 中国卫生检验杂志, 2001, 11(5): 636.
- [4] Lorca TA, Gingerich TM, Pierson MD, et al. Growth and histamine formation of *Morganella morganii* in determining the safety and quality of inoculated and uninoculated bluefish (*Pomatomus saltatrix*). *Journal of Food Protection*, 2001, 64(12): 2015–2019.
- [5] Taylor SL, Guthertz LS, Tillman MLF, et al. Histamine

production by food-borne bacterial species. *Journal of Food Safety*, 2007, **1**(3): 173–187.





- [6] 邓辉. 一起由普通变形杆菌、奇异变形杆菌混合感染致食物中毒的病原菌检验. 中国自然医学杂志, 2005, **7**(2): F004.
- [7] 王艳, 关菲, 李连洁. 一起奇异变形菌引起食物中毒的检验报告. 中国公共卫生, 2002, **18**(7): 868.
- [8] 刘以贤. WS/T 9-1996 变形杆菌食物中毒诊断标准及处理原则. 北京: 中国标准出版社, 1996.
- [9] 夏慧勇. 引起食物中毒的变形杆菌的检验分析. 临床和实验医学杂志, 2007, **6**(5): 170–171.
- [10] RE 布坎南. 伯杰氏细菌鉴定手册. 第 8 版. 北京: 科学出版社, 1984: 454–458.
- [11] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册. 北京: 科学出版社, 2001: 76–87.
- [12] Senior BW. Media and tests to simplify the recognition and identification of members of the *Proteeae*. *Journal of Medical Microbiology*, 1997, **46**(1): 39–44.
- [13] O'Hara CM, Brenner FW, Miller JM. Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. *Clinical Microbiology Reviews*,

2000, **13**(4): 534–546.

- [14] Cosenza BJ, Podgwaite JD. A new species of *Proteus* isolated from larvae of the gypsy moth *Porthetria dispar* (L.). *Antonie van Leeuwenhoek*, 1966, **32**(1): 187–191.
- [15] O'Hara CM, Brenner FW, Steigerwalt AG, *et al.* Classification of *Proteus vulgaris* biogroup 3 with recognition of *Proteus hauseri* sp. nov., nom. rev. and unnamed *Proteus* genomospecies 4, 5 and 6. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2000(50): 1869–1875.
- [16] Merlina J. Application of CHROMagar Orientation in the identification and differentiation of *Proteeae* from other *Enterobacteriaceae*. *Australian Journal of Medical Science*, 1997(18): 20–23.
- [17] Mazoyer MA, Orenga S, Doleans F, *et al.* Evaluation of CPS ID2 medium for detection of urinary tract bacterial isolates in specimens from a rehabilitation center. *Journal of Clinical Microbiology*, 1995, **33**(4): 1025–1027.
- [18] 毕水莲, 唐书泽, 陈守义, 等. PCR 方法快速检测变形杆菌的研究. 食品工业科技, 2008, **29**(7): 246–253.
- [19] 沙丹, 凌霞, 肖勇, 等. 三种食源性致病菌多重 PCR 检测方法的建立及初步应用. 检验医学, 2009, **24**(3): 177–181.

征订启事

2010 年中科院微生物所期刊联合编辑部联合征订全面启动!

	《微生物学报》月刊(每月 4 日出版), 单价 55.00 元, 全年定价 660 元。刊号: ISSN 0001-6209; CODEN WSHPA8。国内邮发代号: 2-504; 国外邮发代号: BM67。
	《生物工程学报》月刊(每月 25 日出版), 单价 65.00 元, 全年定价 780 元。刊号: ISSN 1000-3061; CODEN SGXUED。国内邮发代号: 82-13; 国外邮发代号: BM5608。
	《微生物学通报》月刊(每月 20 日出版), 单价 48.00 元, 年价 576 元。刊号: ISSN 0253-2654; CODEN WSWPDI。国内邮发代号: 2-817; 国外邮发代号: BM413。
	《菌物学报》双月刊(单月 15 日出版), 单价 80 元, 全年定价 480 元。刊号: ISSN 1672-6472; CODEN JXUUAЕ。国内邮发代号: 2-499; 国外邮发代号: Q723。
订阅	欢迎广大读者直接与本刊发行部联系订购, 我们将按期免费为您邮寄
	汇款地址: (100101)北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中科院微生物所 B401
	收信人: 《 》编辑部; 电话: 010-64807521; E-mail: bjb@im.ac.cn
	请在附言处注明“订刊费”及所订期刊名称、年代、卷、期和数量