

## 大肠杆菌 O157 显色培养基检测效果的评价

卢勉飞<sup>1</sup> 蔡芷荷<sup>1</sup> 陈霖熙<sup>1</sup> 邱国建<sup>1</sup> 吴清平<sup>2\*</sup> 杨宁<sup>1</sup>

(1. 广东环凯微生物科技有限公司 广东 广州 510663)

(2. 广东省微生物研究所 广东 广州 510070)

**摘要:**【目的】评价显色培养基对大肠杆菌 O157:H7 (*Escherichia coli* O157:H7)的检测效果。

【方法】本实验室研制的大肠杆菌 O157 显色培养基(HKM), 与国外梅理埃、科玛嘉及国内厂家的同类产品 & 传统培养基 CT-SMAC 作比较, 对相关菌株以及污染样品和实际样品进行对比测试。【结果】实验室研制的 HKM 大肠杆菌 O157 显色培养基与科玛嘉同类产品 & 在特异性、灵敏度及检测效果方面均无明显差异, 均优于梅里埃、国内厂家产品及 CT-SMAC。【结论】HKM 大肠杆菌 O157 显色培养基具有高检出率及高特异性的特点, 具有较好的应用价值和前景。

**关键词:** 显色培养基, 大肠杆菌 O157, 检测效果

## Evaluation of the detecting effect for chromogenic *Escherichia coli* O157 medium

LU Mian-Fei<sup>1</sup> CAI Zhi-He<sup>1</sup> CHEN Lin-Xi<sup>1</sup> QIU Guo-Jian<sup>1</sup> WU Qing-Ping<sup>2\*</sup>  
YANG Ning<sup>1</sup>

(1. Guangdong Huankai Microbial Sci. & Tech. Co., Ltd., Guangzhou, Guangdong 510663, China)

(2. Guangdong Institute of Microbiology, Guangzhou, Guangdong 510070, China)

**Abstract:** [Objective] To evaluate the efficacy of chromogenic medium for *Escherichia coli* O157:H7. [Methods] A new *Escherichia coli* O157 chromogenic medium (HKM) was compared with CHROMagar, BioMerieux, Domestic company and CT-SMAC for detection of *Escherichia coli* O157 by reference strains, artificially contaminated samples and natural samples. [Results] The selectivity, highly specificity and detection efficiency of HKM were as same as that of CHROMagar, and were better than that of BioMerieux, Domestic company and CT-SMAC. [Conclusion] The HKM *E. coli* O157 chromogenic medium has a good effect and invaluable in detecting *E. coli* O157:H7, because it has high specificity and selectivity.

**Keywords:** Chromogenic medium, *Escherichia coli* O157, Detecting effect

基金项目: 广东省重大科技专项项目(No. 2012A080203014); 广州市科技计划项目(No. 2013000000074)

\*通讯作者: Tel: 86-20-87688132; 邮箱: wuqp203@163.com

收稿日期: 2013-09-01; 接受日期: 2013-10-30; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-01-30

大肠埃希氏菌俗称大肠杆菌, 而大肠杆菌 O157:H7 (*Escherichia coli* O157:H7, *E. coli* O157:H7) 是肠出血性大肠埃希菌(EHEC)众多血清型中非常重要的一组。目前被认为是世界范围内引起腹泻暴发和流行的主要原因, 对该菌的控制已成为世界性问题<sup>[1-6]</sup>。大肠杆菌 O157:H7 检测方法的研究是目前比较热门的话题, 建立快速、准确的检测方法是临床快速诊断的重要内容。大肠杆菌 O157 传统的检测方法利用的是常规生化原理<sup>[7]</sup>, 由于 EHEC O157:H7 除不发酵或迟缓发酵山梨醇以及编码的  $\beta$ -葡萄糖醛酸苷酶无活性外, 其它常见的特征与大肠埃希氏菌基本相似, 在传统改良山梨醇麦康凯琼脂培养基(CT-SMAC)中选择效果不明显, 可疑菌落不易识别, 而且当有其它的肠道菌群存在时会影响大肠杆菌 O157 的检出, 给检测技术人员带来极大的工作量与不确定性。随着现代科学技术的不断发展, 特别是免疫学、生物化学、分子生物学的不断发展, 不少快速、简便、特异、敏感、低耗且适用 *E. coli* O157:H7 的检测方法, 如 PCR 法、金标试纸法、免疫法、乳胶凝集试验和 DNA 探针技术等快速检验方法, 已经得到不断扩大应用<sup>[8-12]</sup>。然而这些方法需要较高的技术, 仪器试剂的成本较高, 而且酶联免疫吸附法、乳胶凝集试验等会与大肠杆菌的多种血清型出现交叉反应。相比以显色培养基为基础的特异性显色生化鉴定技术在当前能更好地与传统方法相接轨, 这种技术可以把检测、计数和初步鉴别一次完成, 大幅度提高检测的速度和准确性, 检测成本较低, 因此其应用前景广阔<sup>[13-17]</sup>。

近年来, 国外商品化的显色培养基, 已被许多国家的政府和检测机构采用, 应用于食品、临床和环境监测等领域, 给检测工作提供了很大方便, 但由于成本因素国内小企业及基层的卫生检验和监督机构较少使用进口产品。我国在 2008 年修订了食品安全国家标准 食品微生物学检验-大肠埃希氏菌 O157:H7/NM 的检验方法, O157 显色培养基首次进入我国的国家标准<sup>[7]</sup>。与国际及国家标准接

轨的良好应用环境, 必将会进一步促进显色检测技术在全国范围内得到更广泛的应用。目前, 国内外已有不少应用显色培养基进行 *E. coli* O157:H7 分离的文献报道<sup>[18-25]</sup>。

为探讨显色法的实用价值, 本实验室研究试制了 HKM *E. coli* O157 显色培养基, 并用该培养基与国内外同类商品化产品测试了有一定代表性的菌株和食物样品。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 菌株:** *E. coli* O157:H7 NCTC12900, *E. coli* O157:H7 CMCC(B)882364, *E. coli* O157:H7 FSCC(I)149011, *E. coli* O157:H7 FSCC(I)149012, *E. coli* O157:H7 DTB20102, *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC8739, *E. coli* CMCC(B)44102, *E. coli* HK70115, 产气肠杆菌(*Enterobacter aerogenes*) CMCC(B)45103、阴沟肠杆菌(*E. cloacae*) CMCC(B)45301, 费氏柠檬酸杆菌(*Citrobacter freundii*) ATCC8090, 亚利桑那沙门氏菌(*Salmonella arizona*) CMCC(B)47001, 阪崎肠杆菌(*E. sakazakii*) ATCC51329、DTB 20501, 普通变形杆菌(*Proteus vulgaris*) CMCC(B)49027, 粪肠球菌(*Streptococcus faecalis*) ATCC29212、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) ATCC6538, 非 O<sub>1</sub> 霍乱弧菌(*Vibrio cholerae non O<sub>1</sub>*)。

**1.1.2 培养基及试剂:** HKM 大肠杆菌 O157 显色培养基(简称 HKM)由本实验室研制; 梅里埃大肠杆菌 O157 显色培养基(简称梅里埃/BioMerieux)由法国梅里埃公司生产; 科玛嘉大肠杆菌 O157 显色培养基(简称科玛嘉/CHROMagar)由法国科玛嘉公司生产; 国内厂家的大肠杆菌 O157 显色培养基由国内一家公司生产(简称国内厂家)。营养琼脂、改良山梨醇麦康凯琼脂培养基(CT-SMAC)、改良 EC 肉汤(mEC)由广东环凯微生物科技有限公司提供。MIDA+B 鉴定条由英国 Microgen 公司提供。

**1.1.3 样品:** 试验所用实际样品均采集于市内超市和

市场,猪肉 17 份,鸡肉 8 份,牛肉 5 份,共 30 份。

**1.1.4 主要仪器:**美国 SBI 公司 AP4000 全自动螺旋接种仪;杭州迅数 HR3 菌落计数仪。

## 1.2 方法

**1.2.1 培养基制备:**各种培养基均按配制说明书制备成平板或斜面备用。

**1.2.2 特异性试验:**将 24 株菌采用营养琼脂复苏,37 °C 培养 24 h 后,分别划线接种 HKM、梅里埃、科玛嘉、国内厂家 4 种大肠杆菌 O157 显色培养基平板及 CT-SMAC 平板上,37 °C 培养 18–24 h。观察不同细菌在平板上的菌落特征,比较各种培养基对试验菌株的特异性。

**1.2.3 灵敏度试验:**阳性菌 *E. coli* O157:H7 NCTC12900, *E. coli* O157:H7 CMCC(B) 882364, *E. coli* O157:H7 FSCC(I)149011, *E. coli* O157:H7 FSCC(I)149012 和 *E. coli* O157:H7 DTB20102 在营养琼脂复苏 24 h 后,稀释到合适的浓度,用螺旋接种法分别接种 HKM、梅里埃、科玛嘉 3 种大肠杆菌 O157 显色培养基及 CT-SMAC 和营养琼脂,37 °C 培养 24 h,计算菌落总数。

**1.2.4 人工污染样品试验:**将 *E. coli* O157:H7 NCTC12900, *E. coli* O157:H7 FSCC(I)149011 稀释到合适的浓度待用,各取 25 mL 纯牛奶置于 225 mL 已灭菌的 mEC 肉汤中,分别添加不同浓度的 *E. coli* O157:H7 稀释液,41 °C 培养 18 h。各取一环增菌液,划线接种于不同显色培养基平板上,37 °C 培养 18–24 h,观察记录菌落颜色和形态,比较 4 种显色培养基对目标菌的检出情况。

表 1 结果的判读表	
Table 1 Interpretation table of results	
可疑菌株	<i>E. coli</i> O157:H7
Suspicious strains	
HKM	蓝绿色菌落
CHROMagar	品红色菌落
BioMerieux	蓝绿色菌落
国内厂家	紫红色菌落
Domestic company	
CT-SMAC	无色菌落

**1.2.5 天然污染样品试验:**取 25 g 处理过的样品置于 225 mL mEC 肉汤中,41 °C 培养 18 h,增菌液分别划线在 4 种显色培养基平板上,37 °C 孵育 24 h,挑取可疑菌落进行鉴定(表 1)。

## 2 结果与分析

### 2.1 特异性试验

培养基的特异性结果见表 2。在特异性显色方面,5 株 *E. coli* O157:H7 在 HKM、科玛嘉和 CT-SMAC 平板上均显示出了阳性的特征性色泽,但在梅里埃和国内厂家的平板上, *E. coli* O157:H7 CMCC(B)882364、DTB20102 和 FSCC(I)149011 均不能显示阳性的特征性色泽;而且,其它非大肠杆菌 O157 的菌,在 HKM 和科玛嘉平板(除亚利桑那沙门氏菌外)上均可以与大肠杆菌 O157 相区分,但阪崎肠杆菌、普通变型杆菌、霍乱弧菌、金黄色葡萄球菌和 *E. coli* HK70115 在 CT-SMAC 上不可以与大肠杆菌 O157 相区分;国内厂家以及梅里埃对其它非大肠杆菌 O157 的菌显色效果相当,均存在部分假阳性菌,不能区分两株阪崎肠杆菌和 *E. coli* HK70115。表明 HKM 大肠杆菌 O157 显色培养基与科玛嘉平板在特异性显色方面均无明显差异,均优于 CT-SMAC、国内厂家及梅里埃产品。

### 2.2 灵敏度试验

培养基的灵敏度试验结果见表 3。在检测灵敏度方面,对 5 株大肠杆菌 O157:H7 的检出率, HKM 与科玛嘉和营养琼脂相当,均优于 CT-SMAC 与梅里埃;在菌落大小方面,5 株大肠杆菌 O157:H7 在科玛嘉平板上均比较大,大肠杆菌 O157:H7 CMCC(B)882364 和大肠杆菌 O157:H7 DTB 20102 在梅里埃平板上稍小, HKM 与营养琼脂无明显差异,均大于 SMAC。表明 HKM 大肠杆菌 O157 显色培养基与科玛嘉平板在检测灵敏度方面无明显差异,均优于 CT-SMAC 及梅里埃产品。

### 2.3 人工污染试验

显色培养基对人工污染样品的检测结果见表 4。对纯牛奶中添加大肠杆菌 O157:H7 NCTC 12900,

表 2 培养基特异性的检测效果 Table 2 The specificity of test strains on media					
菌株 Strains	HKM	CT-SMAC	国内厂家 Domestic company	BioMerieux	CHROMagar
<i>E. coli</i> O157:H7 NCTC12900	蓝绿色	无色	紫红色	蓝绿色	品红色
<i>E. coli</i> O157:H7 CMCC(B)882364	蓝绿色	无色	紫红色	蓝绿色	品红色
<i>E. coli</i> O157:H7 DTB20102	蓝绿色	无色	暗蓝-紫红	暗紫红色	品红色
<i>E. coli</i> O157:H7 FSCC(I)149011	蓝绿色	无色	暗蓝-紫红	紫罗兰	边红心蓝
<i>E. coli</i> O157:H7 FSCC(I)149012	蓝绿色	无色	紫红色	蓝绿色	品红色
亚利桑那沙门氏菌 <i>Salmonella arizona</i>	桃红色	桃红色	暗蓝色	乳红色	品红色
阴沟肠杆菌 <i>E. cloacae</i>	桃红色	黄绿色	暗蓝色	乳蓝色	蓝绿色
产气肠杆菌 <i>E. aerogenes</i>	桃红色	黄绿色	暗蓝色	乳红色	蓝绿色
阪崎肠杆菌 ATCC51329 <i>E. sakazakii</i> ATCC51329	桃红色	无色	紫红色	蓝绿色	蓝绿色
<i>E. sakazakii</i> DTB20501	桃红色	无色	紫红色	蓝绿色	蓝绿色
<i>E. coli</i> HK70115	深蓝色	无色	紫红色	蓝绿色	蓝绿色
<i>E. coli</i> ATCC8739	桃红色	红色	暗蓝色	乳蓝色	蓝绿色
<i>E. coli</i> CMCC(B)44102	桃红色	红色	暗蓝色	乳红色	蓝绿色
<i>E. coli</i> ATCC25922	桃红色	红色	暗蓝色	乳蓝色	蓝绿色
费氏柠檬酸杆菌 <i>Citrobacter freundii</i>	桃红色	红色	暗蓝色	乳红色	蓝绿色
普通变型杆菌 <i>Proteus vulgaris</i>	无色	无色	无色	无色	无色
非 O <sub>1</sub> 霍乱弧菌 <i>V. cholerae non O<sub>1</sub></i>	桃红色	无色	紫红色	黄绿色	无色
粪肠球菌 <i>Streptococcus faecalis</i>	红色	桃红色	暗蓝色	乳红色	蓝绿色
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	红色	无色	暗蓝色	乳红色	无色

表 3 <i>E. coli</i> O157:H7 在培养基上的灵敏度试验 Table 3 The sensitivity of <i>E. coli</i> O157:H7 on medium					
样品 Sample	HKM	BioMerieux	CHROMagar	CT-SMAC	营养琼脂 Nutrition agar
<i>E. coli</i> O157:H7 NCTC12900	3.84×10 <sup>9</sup>	1.90×10 <sup>9</sup>	3.80×10 <sup>9</sup>	1.26×10 <sup>9</sup>	3.70×10 <sup>9</sup>
<i>E. coli</i> O157:H7 CMCC(B)882364	1.32×10 <sup>9</sup>	5.40×10 <sup>8</sup>	1.78×10 <sup>9</sup>	8.00×10 <sup>7</sup>	2.96×10 <sup>9</sup>
<i>E. coli</i> O157:H7 DTB20102	3.84×10 <sup>9</sup>	1.92×10 <sup>9</sup>	4.40×10 <sup>9</sup>	不长	4.34×10 <sup>9</sup>
<i>E. coli</i> O157:H7 FSCC(I)149011	3.83×10 <sup>9</sup>	5.00×10 <sup>8</sup>	5.20×10 <sup>9</sup>	不长	6.96×10 <sup>9</sup>
<i>E. coli</i> O157:H7 FSCC(I)149012	2.84×10 <sup>9</sup>	2.23×10 <sup>9</sup>	3.72×10 <sup>9</sup>	1.50×10 <sup>9</sup>	3.96×10 <sup>9</sup>

表 4 人工污染样品中的 <i>E. coli</i> O157:H7 检测				
Table 4 The detection of <i>E. coli</i> O157:H7 in artificially contaminated samples				
样品 Sample	HKM	BioMerieux	国内厂家 Domestic company	CHROMagar
纯牛奶 Pure milk	桃红色	乳蓝色	暗蓝色	蓝绿色
<i>E. coli</i> O157:H7 FSCC(I)149011	蓝绿色	暗蓝	蓝紫红	边红心蓝
Pure milk +120 CFU	蓝绿色	暗蓝	蓝紫红	边红心蓝
<i>E. coli</i> O157:H7 FSCC(I)149011	蓝绿色	乳蓝色	蓝紫红	边红心蓝
Pure milk +15 CFU	蓝绿色	蓝绿色	紫红色	品红色
<i>E. coli</i> O157:H7 NCTC12900	蓝绿色	蓝绿色	紫红色	品红色
Pure milk +90 CFU	蓝绿色	蓝绿色	紫红色	品红色
<i>E. coli</i> O157:H7 NCTC12900	蓝绿色	蓝绿色	紫红色	品红色
Pure milk +10 CFU	蓝绿色	蓝绿色	紫红色	品红色
<i>E. coli</i> O157:H7 NCTC12900	蓝绿色	蓝绿色	紫红色	品红色

4 种显色培养基均能达到 10 CFU 的检出限；对纯牛奶中添加大肠杆菌 O157:H7 FSCC (I) 149011，在添加较高浓度的菌量(120 CFU)情况下 4 种显色培养基均能检出，但在添加较低浓度的菌量(15 CFU)情况下，HKM 与国内厂家和科玛嘉均能检出，而梅里埃不能检出,可能与大肠杆菌 O157:H7 FSCC (I) 149011 在梅里埃显色平板上的特征性不强有关。表明 HKM 大肠杆菌 O157 显色培养基与科玛嘉和国内厂家平板对模拟样品的检测效果相当，优于梅里埃产品。

2.4 天然污染样品试验

如表 5 所示，在检测的 30 份肉类样品中，HKM、梅里埃和科玛嘉以及国内厂家平板上的可疑菌落检出率分别为 26.67%、33.33%、26.67%和 26.67%，但经生化鉴定确证后的符合率分别为 100%、80%、100%和 100%。结果表明，HKM、科玛嘉以及国内厂家对可疑菌落的检出率及符合率均没有显著差异，可以达到相同的检测限，且均优于梅里埃产品。

表 5 天然污染样品中的 <i>E. coli</i> O157:H7 检测								
Table 5 The detetion of <i>E. coli</i> O157:H7 in natural samples								
样品(数量) Sample (number)	HKM		BioMerieux		CHROMagar		国内厂家 Domestic company	
	可疑菌落 Suspected colonies	证实菌落 Confirmed colonies	可疑菌落 Suspected colonies	证实菌落 Confirmed colonies	可疑菌落 Suspected colonies	证实菌落 Confirmed colonies	可疑菌落 Suspecte colonies	证实菌落 Confirmed colonies
牛肉(5) Beef (5)	1	1	1	1	1	1	1	1
鸡肉(8) Chicken (8)	2	2	3	2	2	2	2	2
猪肉(17) Pig (17)	5	5	6	5	5	4	5	4
总计 Total	8	8	10	8	8	8	8	8
检出率 Detection rate (%)	26.67		33.33		26.67		26.67	
符合率 Accord rate (%)	100		80		100		100	

### 3 讨论

显色培养基是根据酶的特征设计的对微生物进行快速检测的一种分离培养基,基本原理是:在分离培养基中加入检测某些菌种的特异性酶底物,该底物为人工合成,由产色基团和微生物可代谢物质组成,通常为无色,但在特异性酶作用下游离出发色基团并显示一定颜色,直接观察菌落颜色即可对菌种做出初步鉴定,具有快速、简便和经济的特点<sup>[13-17]</sup>。

本实验的结果表明,显色培养基具有较高的灵敏度和特异性,与传统培养基相比较,它可以大大减少由假阳性菌所产生的可疑菌落,减少一系列后续的生化鉴定,从而节省大量的人力和物力,比较适用于大量样本的检验,在 24 h 内可得到粗筛阳性结果<sup>[13-17]</sup>。本文作者从事显色培养基多年的研究发现,本研究也不例外,显色培养基对酶的特异性是相对的,正如 97%的大肠埃希氏菌含有  $\beta$ -葡萄糖醛酸酶,约 10%的沙门氏菌属中也含有此酶一样,某些肠毒性大肠埃希氏菌(ETEC)和致泻性大肠埃希氏菌(EPEC)与大肠杆菌 O157 相似,都缺少  $\beta$ -葡萄糖醛酸酶,导致这两种菌中的某些株在大肠杆菌 O157 显色培养基中表现出假阳性,故显色培养基也具有一定的缺点<sup>[4-5,8]</sup>。但由于本研究的配方中还含有一些抑菌剂,可以抑制样品中杂菌(如革兰氏阳性球菌、变形杆菌、其它非 O157 的大肠杆菌等)的生长,而且配方中还添加了其它细菌对应的酶的底物(与梅里埃、国内厂家原理不完全相同)与生化物质如碳水化合物和酸碱指示剂中性红(与科玛嘉同类产品原理不完全相同),可以使具有与大肠杆菌 O157 相同特异性酶的其他细菌(如 *E. coli* HK70115 和阪崎肠杆菌等)呈现出其它添加的底物或由于酸碱度变化而指示的色泽,从而与大肠杆菌 O157:H7 相区分。通过这些措施最大程度降低了显色培养基的假阳性率。大肠杆菌 O157:H7 除具有特殊的血清型外,还具有迟缓发酵或不发酵山梨醇的生化特征,可作为鉴定本菌的重要依据。

但目前已经发现大肠杆菌 O157:H7 的一些菌株可发生变异,变成发酵山梨醇的菌株<sup>[6]</sup>,同样导致沿用 CT-SMAC 时出现假阴性的结果。故检验中会出现假阳性及假阴性现象,但这是任何选择性培养基都无法避免的问题。与普通选择性培养基比较,显色培养基的假阳性、假阴性的机率相对要低得多。

由于本实验所涉及的样品种类和数量有限,实际样品中可能还会出现各种各样不可预知的情况,所以要评价大肠杆菌 O157 显色培养基的应用效果,还需要大量样本加以验证。从上述实验的灵敏度、特异性比对结果来看,不同厂家的同类培养基其灵敏度、特异性也有高低不同,主要与配方中所添加的混合酶所对应的底物及生化体系有关,同时也与配方体系中所添加的不同抑菌剂及其浓度有关。搭配得当,可以提高培养基的灵敏度和特异性;搭配不当,可能会引起负面的效应,如抑菌剂浓度过高导致目标菌生长受抑制等。所以,要进一步提高大肠杆菌 O157 显色培养基的特异性和灵敏度,还需对这些显色培养基进行进一步改良,或是选择更优的前处理增菌以及其它协助的办法,如免疫磁珠捕获法等。

### 参 考 文 献

- [1] Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, et al. Foodborne illness acquired in the United States-major pathogens[J]. *Emerging Infectious Disease*, 2011, 17(1): 7-15.
- [2] Slutsker L, Ries AA, Greene KD, et al. *Escherichia coli* O157:H7 diarrhea in the United States: clinical and epidemiologic features[J]. *Annals of Internal Medicine*, 1997, 126(7): 505-513.
- [3] Gerber A, Karch H, Allerberger F, et al. Clinical course and the role of shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection in the hemolytic-uremic syndrome in pediatric patients 1997-2000 in Germany and Austria: a prospective study[J]. *Journal of Infectious Diseases*, 2002, 186(4): 493-500.
- [4] Wagner M, Allerberger F, Manafi M, et al. Characterization of pathogenic *Escherichia coli* isolated from humans in Austria: phenotypes, toxin gene types and epidemiology[J]. *Journal of Veterinary Medicine Series B*, 2004, 51(6): 288-292.
- [5] 孟宪梅. 食品的大肠杆菌 O157污染检测及预防控制[J]. *肉品卫生*, 2004(11): 30-33.
- [6] 遇晓杰, 姜晓明, 袁玉兰, 等. 从市售蔬菜和熟肉制品

- 中检测出 O157:H7大肠杆菌[J]. 中国卫生检验杂志, 1999, 11(3): 20-22.
- [7] GB/T 4789.36-2008. 食品安全国家标准 食品微生物学检验-大肠埃希氏菌 O157:H7/NM 检验[S]. 北京: 中国标准出版社.
- [8] 王燕琴, 朱建勇. 肠出血性大肠杆菌 O157: H7检测方法研究进展[J]. 内蒙古农业科技, 2010(3): 113-114.
- [9] De Boer E, Heuvelink AE. Methods for the detection and isolation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*[J]. Symposium Series (Society for Applied Microbiology), 2000, 88(S1): 133S-143S.
- [10] Fratafico PM, Bagi LK. Detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in ground beef using the GeneDisc real-time PCR system[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2012(2): 152-156.
- [11] Arthur TM, Bosilevac JM, Nou X, et al. Evaluation of culture- and PCR-based detection methods for *Escherichia coli* O157:H7 in inoculated ground beef[J]. Journal of Food Protection, 2005, 68(8): 1566-1574.
- [12] 朱文冠, 薛素强, 洪洁心, 等. 多重 PCR 方法检测大肠杆菌 O157:H7的初步研究[J]. 中国人兽共患病学报, 2006, 22(5): 428-432.
- [13] 卢勉飞, 吴清平, 刘云林, 等. 特异性酶反应在食源性致病菌检测中的应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(3): 354-356.
- [14] 吴清平, 周艳红, 蔡芷荷. 卫生微生物特异性显色培养基的研究与应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(1): 124-126.
- [15] 卢勉飞, 蔡芷荷, 吴清平, 等. 显色培养基快速检测食品中大肠杆菌的应用研究[J]. 中国热带医学, 2009, 9(7): 1194-1196.
- [16] 卢勉飞, 蔡芷荷, 吴清平, 等. 阪崎肠杆菌显色培养基的应用研究[J]. 微生物学通报, 2009, 36(11): 1789-1793.
- [17] 卢勉飞, 蔡芷荷, 吴清平, 等. 一种副溶血性弧菌显色培养基的应用研究[J]. 微生物学通报, 2010, 37(5): 701-707.
- [18] Bettelheim KA. Studies of *Escherichia coli* cultured on rainbow agar O157 with particular reference to enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC)[J]. Microbiology and Immunology, 1998, 42(2): 265-269.
- [19] Yoshitomi KJ, Jinneman KC, Zapata R, et al. Detection and isolation of low levels of *E. coli* O157:H7 in cilantro by real-time PCR, immunomagnetic separation, and cultural methods with and without an acid treatment[J]. Journal of Food Science, 2012, 77(8): 481-489.
- [20] Restaino L, Frampton EW, Turner KN, et al. A chromogenic plating medium for isolating *Escherichia coli* O157:H7 from beef[J]. Letters in Applied Microbiology, 1999, 29(1): 26-30.
- [21] Fratafico PM, Bagi LK. Comparison of methods for detection and isolation of cold- and freeze-stressed *Escherichia coli* O157:H7 in raw ground beef[J]. Journal of Food Protection, 2007, 70(7): 1663-1669.
- [22] Kalchayan N, Arthur TM, Bosilevac JM, et al. Chromogenic agar medium for detection and isolation of *Escherichia coli* serogroups O26, O45, O103, O111, O121, and O145 from fresh beef and cattle feces[J]. Journal of Food Protection, 2013, 76(2): 192-199.
- [23] Bettelheim KA. Studies of *E. coli* cultured on rainbow agar O157 with particular reference to enterohaemorrhagic *E. coli* EHEC[J]. Microbiology and Immunology, 1998, 42(4): 265-269.
- [24] Manafi M, Kremsmaier B. Comparative evaluation of different chromogenic/fluorogenic media for detecting *Escherichia coli* O157:H7 in food[J]. International Journal of Food Microbiology, 2001, 71(2): 257-262.
- [25] Wallace JS, Jones K. The use of selective and differential agars in the isolation of *Escherichia coli* O157 from dairy herds[J]. Journal of Applied Bacteriology, 1996, 81(6): 663-668.