DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260331004
引用格式: 徐秋琼, 黎秀娟, 黄志铭, 等. 基于 Luminex xMAP 液相芯片技术多重检测 7 种食源性致病菌[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(15): 257–266.
Xu Qiuqiong, Li Xiujuan, Huang Zhiming, et al. Multiplex detection of 7 kinds of foodborne pathogens based on Luminex xMAP liquid-phase microarray technology [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(15): 257–266. (in Chinese with English abstract).

基于 Luminex xMAP 液相芯片技术多重检测 7 种食源性致病菌

徐秋琼*, 黎秀娟, 黄志铭, 陈庆胜

[广州市黄埔区疾病预防控制中心(广州市黄埔区卫生监督所), 广州 510535]

摘 要: 目的 建立基于 Luminex xMAP 液相芯片技术同时检测副溶血性弧菌、霍乱弧菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌 O157、单核细胞增生李斯特氏菌、空肠弯曲菌 7 种重要食源性致病菌的高通量快速检测方法。**方法** 分别以 7 种致病菌的特异性基因 *TLH*、*gspD*、*invA*、*nuc*、*rfbE/eae*、*hlyA*、*hipO* 为检测靶标, 设计并合成携带 TAG 序列及生物素标记的特异性引物; 对多重聚合酶链式反应技术(polymerase chain reaction, PCR)扩增体系与液相芯片杂交条件进行优化, 系统评价该方法的特异性、灵敏度及重复性, 并采用 172 株临床分离菌株开展实际应用验证。**结果** 7 种目标致病菌均呈现特异性扩增, 与非目标菌株无交叉反应; 对 7 种致病菌 10^1~10^5 CFU/mL 菌液的藻红蛋白荧光中位数数据进行双 log 线性回归分析, 结果显示浓度与藻红蛋白荧光中位数呈极显著正相关(R^2>0.994, P<0.001), 斜率具轻微物种特异性。PCR 定量检出限为 10^2 CFU/mL, 定性检出限接近 10^1 CFU/mL。7 种致病菌在低、中、高浓度组的批内实验变异系数(coefficient of variation, CV)分别为 0.9%~4.6%、0.4%~2.3%和 0.1%~0.8%; 批间实验 CV 分别为 1.5%~4.8%、0.2%~1.7%和 0.1%~0.9%, 具备优异的批内精密度与批间稳定性; 对 172 株实际分离菌株检测总符合率为 96.5%, Kappa 检验一致性分析显示, 整体 Kappa 系数为 0.928 (P<0.001); 各菌株 Kappa 均大于等于 0.8, 证明该方法阳性检出一致性可靠, 无系统性偏差, 可满足临床检测与食品安全监测的准确性要求。**结论** 本研究建立的 Luminex xMAP 液相芯片检测方法具有特异性强、灵敏度高、通量高、快速稳定等优点, 可实现 7 种食源性致病菌的同步筛查, 适用于食品安全监测、食物中毒应急处置及临床快速检测。

关键词: Luminex xMAP 液相芯片技术; 食源性致病菌; 多重聚合酶链式反应技术; 高通量检测; 快速筛查
中图分类号: TS207.4 **文献识别码:** A **文章编号:** 2095–0381(2026)15–0257–10

Multiplex detection of 7 kinds of foodborne pathogens based on Luminex xMAP liquid-phase microarray technology

XU Qiu-Qiong*, LI Xiu-Juan, HUANG Zhi-Ming, CHEN Qing-Sheng

[*Guangzhou Huangpu District Center for Disease Control and Prevention* (*Guangzhou Huangpu District Health Inspectorate*), *Guangzhou* 510535, *China*]

收稿日期: 2026-03-31
基金项目: 广州市卫生健康科技项目(20251A040013)
第一作者/*通信作者: 徐秋琼(1982—), 女, 副主任技师, 主要研究方向为病原微生物检验工作。E-mail: cdcxuqq@163.com

ABSTRACT: Objective To establish a method for simultaneous detection of 7 kinds of important foodborne pathogens, including *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibriocholerae*, *Salmonella*, *Staphylococcusaureus*, *Escherichiacoli* O157, *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter jejuni* by high-throughput and rapid detection method based on Luminex xMAP liquid-phase microarray technology. **Methods** Specific genes of the 7 kinds of pathogens, namely *TLH*, *gspD*, *invA*, *nuc*, *rfbE/eae*, *hlyA* and *hipO*, were selected as detection targets, and specific primers tagged with TAG sequence and biotin were designed and synthesized. The multiplex polymerase chain reaction (PCR) amplification system and suspension array hybridization conditions were optimized, and the specificity, sensitivity and repeatability of the method were systematically evaluated. A total of 172 clinically isolated strains were used for practical application verification. **Results** All 7 kinds of target pathogens showed specific amplification without cross-reaction with non-target strains. Double log linear regression analysis of median fluorescence intensity values of the 7 kinds of pathogens at concentrations ranging from 10^1 to 10^5 CFU/mL, showed an extremely significant positive correlation between bacterial concentration and median fluorescence intensity value (R^2>0.994, P<0.001), with a slight species-specific slope. The quantitative limits of detection of PCR was 10^2 CFU/mL, and the qualitative limit of detection was close to 10^1 CFU/mL. The intra-assay coefficient of variation (CV) of the 7 kinds of pathogens at low, medium and high concentrations were 0.9%–4.6%, 0.4%–2.3% and 0.1%–0.8% respectively; the inter-assay CV were 1.5%–4.8%, 0.2%–1.7% and 0.1%–0.9% respectively, indicating excellent intra-assay precision and inter-assay stability. The total coincidence rate of detection for 172 clinically isolated strains was 96.5%. Modified Kappa consistency test showed that the overall Kappa coefficient was 0.928 (P<0.001), and the Kappa value of each pathogen was no less than 0.8, proving that the method had reliable positive detection consistency without systematic deviation, and could meet the accuracy requirements of clinical detection and food safety monitoring. **Conclusion** The Luminex xMAP liquid-phase microarray assay established in this study has the advantages of high specificity, high sensitivity, high throughput, rapidity and stability. It can realize simultaneous screening of 7 kinds of foodborne pathogens, and is suitable for food safety monitoring, emergency disposal of food poisoning and rapid clinical detection.

KEY WORDS: Luminex xMAP liquid-phase microarray technology; foodborne pathogens; multiplex polymerase chain reaction; high-throughput detection; rapid screening

0 引 言

食源性疾病是全球范围内重要的公共卫生问题，严重威胁公众健康与食品安全[1]。副溶血性弧菌、霍乱弧菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌 O157、单核细胞增生李斯特菌、空肠弯曲菌等 7 种致病菌在食物中毒暴发、食源性感染及临床腹泻病例中检出率高，具有传播速度快、危害程度大、易引发聚集性疫情等特点[2–8]，亟需高效、灵敏、高通量的同步检测技术为风险监测与应急处置提供支撑。

目前，食源性致病菌的分子检测技术呈现多元化发展态势。其中，多重聚合酶链式反应技术(polymerase chain reaction, PCR)结合毛细管电泳技术应用广泛，其凭借琼脂糖凝胶电泳或毛细管凝胶电泳根据扩增片段大小差异区分靶标，检测成本低、电泳条带判读直观，是中小型实验室开展多重病原体检测时最易实施的技术路径之一，例如江西省检验检测认证总院已建立了同时检测 5 种食源性致病菌的多重 PCR-毛细管电泳方法[9]。多重荧光实时 PCR 作为当前应用最成熟的技术平台，通过标记不同荧光基团的探针实现多通道同步扩增，在各级疾控中心与临床检验机构中具备完善的设备基础，但其通量受荧光检测通道数量的制约[10]。此外，等温扩增技术如重组酶介导等温扩增可在 37~42 ℃恒温下快速完成核酸扩增，对精密仪器依赖度低，适合应急筛查和现场快速检测场景[11]；数字 PCR 尤其是微滴式数字 PCR (droplet digital PCR, ddPCR)实现了核酸分子的绝对定量[12]、灵敏度进一步提升，但设备昂贵限制了基层推广。

然而，上述方法均存在各自的局限性。常规 PCR 通常仅能单重检测；实时荧光 PCR 虽灵敏度高，但受荧光通道限制，单次反应最多实现 4~6 重靶标检测，且探针设计复杂、荧光信号间存在相互干扰，难以满足多病原同步同体系高通量筛查的实际场景[13–15]。Luminex xMAP 液相芯片技术整合了流式细胞术、荧光编码微球与多重核酸扩增技术，凭借其独特的荧光编码微球体系，可将检测通量提升至数百重级别，且磁珠与 PCR 产物杂交后通过流式方式读取，兼具定量分析能力和通量优势，具有高通量、高特异性、高灵敏度及可定量等特点，大批量样本集中筛查时可

大幅缩减人工、耗材与时间综合成本, 已在微生物检测、传染病筛查等领域得到广泛应用[16–20]。目前, 同时覆盖上述 7 种重要食源性致病菌的高通量液相芯片检测方法仍较为缺乏, 靶标基因选择、多重 PCR 扩增及芯片杂交体系的优化尚有待完善[21–22]。为此, 本研究以 7 种食源性致病菌的特异性基因为靶标, 建立多重 PCR 结合 Luminex xMAP 液相芯片的同步检测方法, 并对其特异性、灵敏度、重复性及实际应用效果进行系统评价, 为食品安全监管、食物中毒溯源及临床快速诊断提供可靠技术支撑。

1　材料与方法

1.1 材　料

1.1.1　菌　株

标准菌株[副溶血性弧菌(ATCC17802)、霍乱弧菌(VBO ATCC14035)、沙门氏菌(ATCC14028)、金黄色葡萄球菌(ATCC25923)、大肠杆菌 O157 (ATCC43895)、单核细胞增生李斯特菌(ATCC19115)、空肠弯曲菌(ATCC33560)]和非目标菌株[大肠埃希菌(ATCC25922)、肠聚集性大肠杆菌(样本分离株)、阪崎肠杆菌(样本分离株)、阴沟肠杆菌(样本分离株)、福氏志贺氏菌(样本分离株)、创伤弧菌(样本分离株)、拟态弧菌(样本分离株)、表皮葡萄球菌(样本分离株)、结肠弯曲菌(CICC23925)、英诺克李斯特氏菌(样本分离株)用于特异性验证]均购置于广州环凯微生物科技有限公司。

实验菌株: 172 株致病菌分离自 2018—2025 年食品风险监测及食源性疾病临床样本, 其中副溶血性弧菌 32 株, 霍乱弧菌非 O1/O139 型 18 株, 霍乱弧菌 O1 稻叶型 1 株, 沙门氏菌 42 株、金黄色葡萄球菌 38 株, 大肠杆菌 O157 15 株、单核细胞增生李斯特氏菌 11 株, 空肠弯曲菌 15 株, 经 GB 4789 方法分离鉴定保存。

1.1.2　仪器与试剂

Luminex xMAP 液相芯片检测系统[路明克斯贸易(上海)有限公司]; T100PCR 扩增仪(美国 Bio-rad 伯乐公司); Smart32 核酸提取仪(广州达安基因股份有限公司); VITEK DENSICHEK Display Base 细菌浊度计(法国梅里埃公司)。

QIAGEN Multiplex PCR Plus Kit (100 人份/盒, 德国 QIAGEN GmbH 公司); 链霉亲和素藻红蛋白[1 mg/mL, 美国 Life Technologies Corporation (invitrogen) 公司]; MagPlex-xTAG 磁珠 (2.5×10^6/mL, 美国 Luminex Corporation 公司); 杂交 buffer (1 mol/L, 分析纯, 美国 Sigma-Aldrich 公司); 核酸提取试剂盒(32 人份/盒, 广州达安基因股份有限公司); 平板计数琼脂(250 g/瓶, 广东环凯微生物有限公司), 所有试剂均在有效期内使用。

1.2　方　法

1.2.1　核酸提取

挑取新鲜培养菌落, 参照试剂盒说明书提取细菌基因组 DNA, –80 ℃保存备用。

1.2.2　引物设计与合成

针对 7 种致病菌的特异性保守基因设计引物, 上游引物 5'端连接 TAG 序列与 C12 间隔臂, 下游引物 5'端标记生物素, 引物序列、扩增片段及磁珠编号见表 1。

表 1　7 种致病菌引物序列及磁珠编号

Table 1　Primers sequences of 7 kinds of pathogenic bacteria and magnetic bead numbers

目标致病菌	靶基因	引物编号	序列(5'-3')	产物大小/bp	微球编号
副溶血性弧菌	*TLH*	TLH-F	TAG-C12-AGAGCCAACCTTATCACCAGAA	185	44
		TLH-R	(Biotin)-TCCACCAGTAGCCGTCAATG		
霍乱弧菌	*gspD*	gspD-F	TAG-C12-GGACAGCCGACCACTTCAA	111	63
		gspD-R	(Biotin)-CACTTCCAGCATCGCATTCAT		
沙门氏菌	*invA*	invA-F	TAG-C12-CCAACAATCCATCAGCAAGGT	92	45
		invA-R	(Biotin)-TTCCGCAACACATAGCCAAG		
金黄色葡萄球菌	*nuc*	nuc-F	TAG-C12-CCGAAGTGGCAAGTAGACATC	108	28
		nuc-R	(Biotin)-CTGTAACCGCTATGGCATCAAT		
大肠杆菌 O157	*rfbE*	rfbE-F	TAG-C12-CTAACTAGGACCGCAGAGGAA	102	52
		rfbE-R	(Biotin)-CATTGGCATCGTGTGGACAG		
	eae	eae-F	TAG-C12- GGCGGTCAGATTCAGCATAG	252	27
		eae-R	(Biotin)-AGTAATGGTATCGGCGTTATCC		
单核细胞增生李斯特氏菌	*hlyA*	hlyA-F	TAG-C12- CCTATCCAGGTGCTCTCGTAA	104	37
		hlyA-R	(Biotin)-TGGCAAATCAATGCTGAGTGT		
空肠弯曲菌	*hipO*	hipO-F	TAG-C12-CTTCTTGTGAACAATGCGGTAG	180	56
		hipO-R	(Biotin)-GTTAAATCCACCTTCAGGACCT		

1.2.3 多重 PCR 扩增

建立多重 PCR 反应体系前，先对 8 对特异性引物进行单重 PCR 扩增验证后再构建 7 种食源性致病菌多重 PCR 检测体系。采用 QIAGEN Multiplex PCR Plus Kit 试剂盒进行扩增，总反应体系为: 25 μL，其中 2×PCR 预混液 12.5 μL，10 μmol/L 上下游引物各 0.25 μL(终浓度 0.1 μmol/L)，模板 DNA 5 μL(约 100 ng)，剩余体积用无核酸酶水补足。PCR 扩增程序: 95 ℃预变性 5 min; 95 ℃变性 30 s, 60 ℃退火 90 s, 72 ℃延伸 30 s，共 40 个循环; 68 ℃终延伸 10 min，扩增产物 4 ℃保存备用。

1.2.4 液相芯片杂交与检测

将偶联特异性 anti-TAG 序列的 xTAG 编码微球以 1×杂交缓冲液充分重悬混匀，按每反应约 2500 个微球的用量配制微球混合液。取 10 μL 微球混合液，与 2.5 μL PCR 产物及 37.5 μL 质量浓度为 2 μg/mL 链霉亲和素-藻红蛋白组成总体积为 50 μL 的杂交体系，轻柔混匀后于 PCR 仪中 45 ℃孵育 45 min，使 PCR 产物上的 TAG 序列与微球表面 anti-TAG 序列特异性互补配对。杂交反应结束后，采用 Luminex xMAP 液相芯片检测系统进行上机检测，以仪器默认参数读取各微球分类信号及藻红蛋白荧光中位数(median fluorescence intensity, MFI)。以阈值=阴性对照 MFI 均值+3×标准偏差为判定标准，确定阳性临界值并完成多重靶标的同步判读。

1.2.5 方法学评价

(1)特异性

选取目标菌株及非目标菌株开展检测试验，检测菌株间有无交叉反应，验证该方法的检测特异性。

(2)灵敏度

将标准菌株进行 10 倍梯度稀释，配制浓度为 10^1~10^5 CFU/mL 的菌悬液，上机检测并记录 MFI，对检测数据进行线性回归分析，确定方法的最低检出限。

(3)重复性

选用高、中、低 3 个浓度梯度的标准菌株，分 3 个独立批次检测，每批次内各浓度、各菌种均设置 3 次平行重复，分别计算批内、批间变异系数(coefficient of variation, CV)，评价方法的精密度与重现性。

(4)应用性

以 172 株临床分离菌株为研究对象，采用 Luminex xMAP 液相芯片法开展检测；同步设置纯菌液组与阴性食品基质加标组，选取 10^3 CFU/mL 为特征浓度，分别在饮用水、生鲜鸡肉、新鲜生菜中完成 7 种致病菌混合加标回收试验，每组设置 3 次技术平行。将本研究检测结果与 GB 4789 系列国家标准方法比对，计算检测符合率，综合验证该方法的实际应用效果与基质适应性。

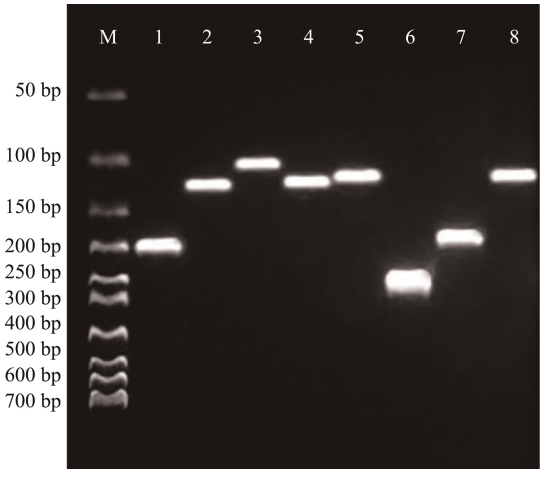
1.3 数据处理

本研究所有实验均设置 3 次技术平行，实验数据采用 Excel 2019 软件完成基础整理、平均值、标准偏差及 CV 计算；使用 SPSS 26.0 统计软件开展统计学分析，组间差异性检验采用单因素方差分析，两种检测方法的一致性评价采用 Kappa 检验，检验水准 α=0.05，P<0.05 为差异具有统计学意义。菌株浓度与荧光信号的双对数线性回归分析、PCR 电泳图谱及线性关系图均采用 Origin 2021 软件绘制与拟合。阳性判定标准: 以阴性对照 MFI 平均值+3 倍标准偏差作为阳性临界值，加标回收率、CV 按照食品微生物检测通用公式计算。

2 结果与分析

2.1 特异性试验结果

采用本研究建立的多重 PCR-Luminex xMAP 液相芯片检测体系，分别对 7 种目标食源性致病菌及多种非目标对照菌株进行检测，同步开展普通琼脂糖凝胶电泳验证。电泳结果显示，7 种目标致病菌均可扩增出与预期片段大小一致的特异性核酸条带，无非特异性杂带、引物二聚体等干扰现象(图 1)。液相芯片上机检测结果如表 2 所示: 7 种目标菌株对应的靶标基因 MFI 均显著升高，信号值远高于阴性对照(NTC)水平；而大肠埃希菌、肠聚集性大肠杆菌、阪崎肠杆菌、阴沟肠杆菌、福氏志贺氏菌、创伤弧菌、拟态弧菌、表皮葡萄球菌、结肠弯曲菌、英诺克李斯特氏菌等 10 余种非目标菌株，各检测通道 MFI 值均与阴性对照基本持平，未出现阳性信号。结合本研究设定的阳性判定阈值(MFI>227)进行判读，所有非目标菌株检测结果均为阴性，仅 7 种目标致病菌呈现阳性反应，组间无交叉扩增、交叉杂交现象。上述结果表明，本研究设计的特异性引物与 TAG 杂交体系靶向性强，可特异性识别 7 种目标致病菌的保守基因序列，不受常见杂菌、近缘菌株干扰。



注: M: 50 bp Ladder DNA Marker; 1: 副溶血性弧菌(ATCC17802)(*TLH*); 2: 霍乱弧菌(VBO ATCC14035) (*gspD*); 3: 沙门氏菌(ATCC14028) (*invA*); 4: 金黄色葡萄球菌(ATCC25923) (*nuc*); 5: 大肠杆菌(O157 ATCC43895) (*rfbE*); 6: 大肠杆菌 O157 (ATCC43895) (*eae*); 7: 空肠弯曲菌(ATCC33560) (*hipO*); 8: 单核细胞增生李斯特菌(ATCC19115) (*hlyA*)。

图 1 8 对引物特异性验证 PCR 电泳结果

Fig.1 Specificity verification of PCR electrophoresis results of 8 pairs of primers

表 2　液相芯片技术检测 7 种食源性致病菌特异性实验结果

Table 2　Specific experimental results of 7 kinds of foodborne pathogenic by liquid-phase microarray technology

菌株名称	*TLH* 基因	*gspD* 基因	*invA* 基因	*nuc* 基因	*rfbE* 基因	*eae* 基因	*hipO* 基因	*hlyA* 基因
NTC	158.0	126.0	159.0	188.0	182.0	185.0	160.0	169.0
副溶血性弧(ATCC17802)	2109.0	178.0	194.0	165.0	183.0	194.0	166.0	172.0
霍乱弧菌(VBO ATCC14035)	185.0	2376.0	195.0	171.0	181.0	198.0	191.0	182.0
沙门氏菌(ATCC14028)	172.0	165.0	2327.5	169.0	176.5	181.0	164.0	160.0
金黄色葡萄球菌(ATCC25923)	190.0	185.0	190.0	1095.0	191.0	189.0	188.0	178.5
大肠杆菌(O157 ATCC43895)	176.0	173.0	192.0	168.0	2410.0	2087.0	171.0	186.0
空肠弯曲菌(ATCC33560)	179.0	174.0	185.0	174.0	179.0	182.0	1235.5	168.0
单核细胞增生李斯特菌(ATCC19115)	168.0	173.0	176.0	180.0	179.5	172.0	179.0	1117.0
大肠埃希菌(ATCC25922)	152.0	148.0	141.0	158.0	153.0	158.0	156.0	151.0
肠聚集性大肠杆菌(样本分离株)	152.0	149.0	142.0	158.0	152.0	158.0	148.0	154.0
阪崎肠杆菌(样本分离株)	55.5	53.0	43.0	61.0	53.0	58.0	155.0	157.0
阴沟肠杆菌(样本分离株)	144.0	144.0	137.0	151.0	147.0	152.0	146.0	163.0
福氏志贺氏菌(样本分离株)	152.0	149.0	139.0	156.0	148.0	158.0	158.0	171.0
创伤弧菌(样本分离株)	150.0	148.0	142.0	157.0	149.0	155.0	166.0	173.0
拟态弧菌(样本分离株)	153.0	152.0	144.0	162.5	153.0	160.0	171.0	173.0
表皮葡萄球菌(样本分离株)	153.0	153.0	146.0	162.0	156.0	159.0	166.0	156.0
结肠弯曲菌(CICC23925)	147.0	147.0	139.0	157.0	150.0	156.0	152.0	149.0
英诺克李斯特氏菌(样本分离株)	153.0	148.0	159.0	143.0	158.0	163.0	173.0	160.0

2.2　灵敏度试验结果

本研究对 7 种致病菌不同浓度菌液(10^1~10^5 CFU/mL)的 MFI 检测数据展开分析, 经双 log 转换后线性回归分析结果显示, 各菌株 log(菌液浓度)与 log(MFI 平均值)均呈极显著线性正相关(R^2>0.994, r>0.997, P<0.001), 回归斜率具轻微物种特异性, 推测与致病菌 DNA 提取效率不同相关, 但整体检测信号变化规律稳定。以 7 种致病菌 NTC 的 MFI 值为基础, 采用“阈值=阴性对照 MFI 平均值+3 标准偏差”的统计学方法确定阳性判定临界值。由于大肠杆菌 O157 是双基因靶标检验, 计算时把两个靶标信号值相加取均值后, 作为该致病菌的信号值, 经计算, 7 组阴性对照 MFI 值(158.5、126.0、159.5、188.0、189.0、157.0、161.0)的总平均值为 162.7, 样本标准偏差为 21.4, 3 倍标准偏差为 64.1, 最终确定检测体系的阳性判定阈值为 226.8(取整为 227)。该阈值作为区分样品阴阳性的核心临界值, 当实测样品 MFI 值大于 227 时判定为阳性, 表明检出目标致病菌; MFI≤227 时判定为阴性, 未检出目标致病菌。结合该阈值与线性模型推导检出限, 发现 10^1 CFU/mL 为临界检出浓度, 其 MFI 值略低于阈值, 而 10^2 CFU/mL 及以上浓度 MFI 值均远高于阈值且与拟合趋势高度契合, 确定该检测体系对 7 种致病菌的最低定量检出限为 10^2 CFU/mL, 最低定性检出限接近 10^1 CFU/mL。对比同批次传统 PCR 电泳结果可见: 常规琼脂糖电泳在 10^1 CFU/mL 浓度无特异性扩增条带, 仅 10^2 CFU/mL 及以上可观察到清晰目的条带; 液相芯片在低浓度区间检出灵敏度优于普通 PCR, 且可实现 7 种致病菌同步高通量检测, 依靠仪器 MFI 数值定量、结果客观, 而 PCR 依靠肉眼判读条带仅能定性、无法精准定量。综上所述, 该液相芯片检测体系线性优良、检出灵敏, 相较传统 PCR 电泳在灵敏度、通量与定量性能上具备明显优势。结果见表 3 及图 2。

表 3　7 种致病菌不同浓度梯度的 MFI 值

Table 3　MFI values of 7 kinds of pathogenic bacteria at different concentration gradients

菌液浓度/(CFU/mL)	副溶血性弧菌	霍乱弧菌	沙门氏菌	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌 O157	空肠弯曲菌	单核细胞增生李斯特氏菌
NTC	158.5	126.0	159.5	188.0	189.0	157.0	161.0
10^5	5625.0	5250.0	5986.0	6375.0	5850.0	4875.0	5400.0
10^4	2925.0	2700.0	3027.0	3375.0	3001.0	2475.0	2775.0
10^3	1162.0	1180.0	1218.5	1350.0	1201.5	1098.0	1110.0
10^2	464.5	483.0	500.0	499.0	469.5	439.0	421.0
10^1	203.5	201.0	212.0	194.0	193.5	189.0	198.0

2.3 重复性试验结果

为系统评价该多重食源性致病菌检测方法的重复性与稳定性, 本研究基于 3 个独立批次的重复检测数据, 按低浓度组(10^1 CFU/mL)、中浓度组(10^3 CFU/mL)和高浓度组(10^5 CFU/mL)及 NTC 空白对照, 每批次、每浓度、每细菌均设置 3 次平行重复检测, 开展批内与批间重复性检验。批内实验重复性结果显示, 7 种致病菌在低、中、高浓度组的批内 CV 分别为 0.9%~4.6%、0.4%~2.3% 和 0.1%~0.8%, NTC 对照批内 CV 为 1.8%~5.2%, 97.1%的检测组 CV≤5%, 批内精密度良好。批间实验重复性结果显示, 低、中、高浓度组批间 CV 分别为 1.5%~4.8%、0.2%~1.7% 和 0.1%~0.9%, NTC 对照批间 CV 为 2.5%~6.3%, 均低于 10%阈值; ANOVA 分析显示批次间无显著差异(P=0.512>0.05), 批间一致性优异。综上所述, 该方法在 10^1~10^5 CFU/mL 范围内具备优异的批内精密度与批间稳定性, 可满足食源性致病菌定量检测的方法学要求。结果见表 4。

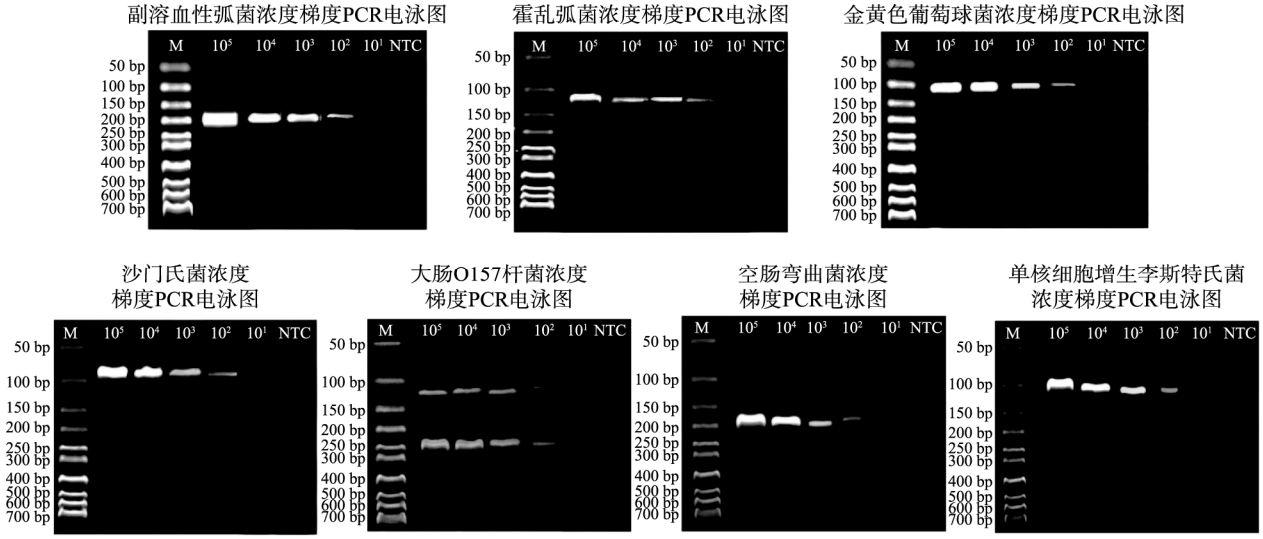


图 2 7 种致病菌浓度梯度 PCR 电泳图

Fig.2 Concentration gradient PCR electrophoresis plot of 7 kinds of pathogenic bacteria

表 4 7 种致病菌批间与批内重复性试验结果

Table 4 Results of inter-batch and intra-batch repeatability tests for 7 kinds of pathogenic bacteria

致病菌	第一批次				第二批次				第三批次			
	10^1CFU/mL	10^3CFU/mL	10^5CFU/mL	NTC	10^1CFU/mL	10^3CFU/mL	10^5CFU/mL	NTC	10^1CFU/mL	10^3CFU/mL	10^5CFU/mL	NTC
副溶血性弧菌	202.5	1168.0	5625.0	159.0	190.0	1178.0	5630.0	166.0	198.0	1177.0	5637.0	162.0
	199.0	1189.0	5608.0	162.0	211.0	1169.0	5618.0	150.0	201.0	1180.0	5608.0	158.0
	204.0	1190.0	5627.0	160.0	204.0	1195.0	5625.0	160.0	206.0	1199.0	5625.0	160.0
霍乱弧菌	202.0	1208.0	5269.0	128.5	202.0	1200.0	5260.0	128.5	199.0	1202.0	5259.0	138.5
	200.5	1185.0	5232.0	127.0	212.0	1189.0	5259.0	130.0	212.0	1189.0	5229.0	132.0
	198.0	1201.0	5242.0	129.0	198.0	1212.0	5242.0	129.0	201.0	1218.0	5244.0	125.0
沙门氏菌	214.0	1215.0	5986.0	162.0	208.0	1223.0	5990.0	156.0	218.0	1230.0	5988.0	166.0
	212.0	1220.0	5965.0	159.0	210.0	1220.0	5955.0	150.0	212.0	1219.0	5955.0	155.0
	220.0	1198.0	5959.0	164.0	229.0	1198.0	5979.0	164.0	229.0	1200.0	5969.0	154.0
金黄色葡萄球菌	198.0	1352.0	6375.0	190.0	198.0	1332.0	6389.0	188.0	197.0	1338.0	6377.0	190.0
	200.5	1358.0	6348.0	195.0	199.0	1368.0	6359.0	195.0	208.0	1358.0	6349.0	191.0
	202.0	1367.0	6388.0	187.0	215.0	1367.0	6388.0	187.0	215.0	1350.0	6388.0	185.0
大肠杆菌 O157	196.0	1208.0	5850.0	186.0	180.0	1218.0	5857.0	190.0	199.0	1220.0	5867.0	196.0
	196.5	1217.0	5836.0	195.0	200.0	1217.0	5856.0	195.0	201.0	1215.0	5873.0	185.0
	200.0	1209.0	5849.5	188.0	200.0	1201.0	5869.0	178.0	200.0	1211.0	5859.0	188.0
空肠弯曲菌	192.0	1098.0	4852.5	164.0	192.0	1088.0	4868.0	154.0	190.0	1098.0	4858.0	157.0
	197.0	1106.0	4867.0	157.0	213.0	1106.0	4867.0	177.0	200.0	1109.0	4877.0	167.0
	201.0	1086.0	4878.0	155.5	201.0	1096.0	4878.0	165.5	201.0	1127.0	4868.0	175.0
单核细胞增生李斯特菌	201.0	1133.0	5378.0	168.0	209.0	1116.0	5387.0	168.0	210.0	1137.0	5383.0	158.0
	198.0	1120.0	5400.0	159.5	189.0	1120.0	5400.0	162.0	188.0	1110.0	5399.0	172.0
	210.0	1115.0	5412.0	170.0	210.0	1115.0	5412.0	170.0	208.0	1122.0	5412.0	170.0

注: 表中数据为 MFI 值。

2.4　实际应用检测结果

2.4.1　纯菌液检测符合率

为验证 Luminex xMAP 液相芯片技术的检测准确性, 以 GB 4789 系列方法为参照, 对 172 株临床分离食源性致病菌(2020—2025 年食物中毒及食源性疾病临床样本)进行检测, 结果显示 7 种致病菌的液相芯片技术检验结果与 GB 4789 方法对比总符合率达 96.5% (166/172 株), 满足方法学验证“符合率大于等于 95%”的优秀标准。Kappa 检验一致性分析显示, 整体 Kappa 系数=0.928 (P<0.001), 一致性等级为“极强”; 各菌株 Kappa 值均大于等于 0.8, 证明两种方法阳性检出一致性可靠, 无系统性偏差。结果见表 5。

表 5　7 种致病菌工作分离株检测符合率
Table 5　Detection concordance rate of 7 kinds of pathogenic bacteria in clinical isolates

菌株名称	菌株数/株	阳性菌株数/株	符合率/%
沙门氏菌	42	41	97.6
金黄色葡萄球菌	38	37	97.4
副溶血性弧菌	32	31	96.9
空肠弯曲菌	15	14	93.3
单核细胞增生李斯特氏菌	11	10	90.9
霍乱弧菌	19	19	100.0
大肠杆菌 O157	15	14	93.3

2.4.2　食品基质加标实验结果

本研究以 10^3 CFU/mL 为加标浓度, 在饮用水、新鲜生菜、生鲜鸡肉 3 类典型食品基质中完成 7 种致病菌混合加标回收试验, 同步设置纯菌液空白对照, 每组设置 3 次技术平行, 通过扣除基质空白本底得到净 MFI 值, 计算各组加标回收率与 CV, 结果显示: 纯菌液对照组无基质抑制杂质干扰, 平均净 MFI 值达到 1020.3±22.6, 回收率 100.0%±2.2%, 可作为回收率基准参照。饮用水基质组分简单, 无蛋白、脂肪、多酚等扩增抑制物, 基质空白本底荧光值偏低, 样品平均净 MFI 值为 928.0±9.0, 回收率 90.9%±0.9%, CV 仅 0.9%, 检测重复性最佳。新鲜生菜含植物有机酸、多酚与纤维杂质, 会轻微抑制多重 PCR 扩增, 平均净 MFI 值降至 909.3±22.5, 回收率 89.1%±2.2%, 平行 CV 2.5%, 存在轻度基质干扰但整体稳定。生鲜鸡肉富含血红蛋白、脂肪与蛋白质, 核酸提取阶段易共提取强扩增抑制物, 对 PCR 扩增干扰最显著, 平均净 MFI 值仅 817.3±8.3, 回收率 80.1%±0.8%, 为所有组别最低。

从评价指标来看, 全部基质组别加标回收率均落在 70%~130%行业合格区间, 且各组平行样本 CV 均低于 3%, 符合微生物分子检测方法学要求。基质抑制强度表现为生鲜鸡肉>新鲜生菜>饮用水, 动物性基质中蛋白、脂类是主要干扰来源, 植物基质干扰程度次之, 水体基质几乎无抑制。

综上所述, Luminex xMAP 液相芯片检测方法具备较好的基质耐受性, 可适配果蔬、饮用水、生鲜肉类等常见食品样本筛查; 但高脂高蛋白肉类基质仍存在明显扩增抑制, 后续可优化核酸纯化步骤, 降低基质杂质干扰, 进一步提升复杂动物性食品样本检测回收率。结果见表 6。

表 6　7 种致病菌加标回收试验结果汇总表
Table 6　Summary table of test results for spiked recovery of 7 kinds of pathogenic bacteria

实验分组	3 次平行样品 MFI 值			对应基质空白 MFI 值			平均净 MFI 值	加标回收率/%	CV/%
纯菌液对照组	1188.0	1165.0	1155.0	146.0	143.0	158.0	1020.3±22.6	100.0±2.2	2.2
饮用水加标组	1102.0	1098.0	1100.0	165.0	179.0	172.0	928.0±9.0	90.9±0.9	0.9
生菜加标组	1080.0	1100.0	1072.0	180.0	165.0	179.0	909.3±22.5	89.1±2.2	2.5
鸡肉加标组	1002.0	1012.0	998.0	182.0	188.0	190.0	817.3±8.3	80.1±0.8	1.0

3　讨论与结论

综合本研究全部试验结果分析, 该检测体系具有优异的核心性能: 特异性实验中, 仅对副溶血性弧菌、霍乱弧菌等 7 种目标菌株产生特异性阳性信号, 与 10 余种非目标菌株无交叉反应, 特异性达到 100%; 灵敏度验证中, 7 种致病菌的定性检出限接近 10^1 CFU/mL, 定量检出限为 10^2 CFU/mL, 且各菌株 log(菌液浓度)与 log(MFI 平均值)的相关系数 R^2 均大于 0.994 (P<0.001), 线性响应关系良好; 重复性实验中, 低、中、高浓度组的批内 CV 为 0.1%~4.6%, 批间 CV 为 0.1%~4.8%, 均低于 10%的行业可接受阈值, 且批次间无显著差异(P=0.512>0.05); 实际样本验证中, 172 株临床分离菌株的检测总符合率达 96.5%, 修正 Kappa 系数为 0.928 (P<0.001), 与国标方法检测结果高度一致, 具备较好的基质耐受性, 可适配果蔬、饮用水、生鲜肉类等常见食品样本筛查, 充分证实了该方法的实用性与可靠性。

相较于现有检测技术, 本研究建立的方法有效弥补了传统分离培养方法耗时久、通量低、人工成本高的短板, 解决了普通单重 PCR、多重荧光 PCR 检测通量受限、需分管检测、综合筛查成本偏高的问题, 同时兼顾优异的灵敏度与检测稳定性; 整套操作流程标准化, 试剂盒配套试剂市面易采购。前文提及 ddPCR 虽可实现核酸绝对定量、灵敏度顶尖, 但整机购置、配套耗材长期使用成本高昂,

基层机构难以负担; 本研究采用的 Luminex xMAP 液相芯片技术虽同样存在前期仪器采购投入偏高的短板, 但二者成本结构存在明显差异: ddPCR 单样本单靶标检测耗材支出居高不下, 批量筛查无成本优势; 而液相芯片依托数百重高通量特性, 单份样本一次反应同步检出上百种致病菌, 省去多管扩增、多次上机、分批次鉴定的耗材与人工开销, 大批量样本集中筛查场景下长期综合运营成本显著低于 ddPCR 与多管分检荧光定量 PCR, 更适合基层疾控中心及食品检验机构大批量样本常态化筛查, 在食源性疾病应急处置、食品安全常态化监测及临床诊断中具有显著的应用优势。

结合彭延[23]、凌春榕等[13]的相关研究, 本方法在灵敏度、重复性上均达到同类技术的先进水平, 且通过优化多重 PCR 体系与杂交条件, 进一步提升了检测效率与实用性。与食源性致病菌检测领域的其他主流技术相比, Luminex xMAP 液相芯片系统展现出独特的综合优势: (1)通量拓展性。常规多重荧光实时 PCR 受荧光通道数目限制(通常 4~6 重), 通过引物设计差异区分靶标的多重 PCR-凝胶电泳需依赖片段大小差异, 扩增片段过多时易出现电泳条带重叠; 而 Luminex 技术利用荧光编码微球与 TAG 标签的互补配对机制, 单次反应理论可检测高达 500 种靶标, 具备极高的通量拓展上限; (2)相对定量能力。传统凝胶电泳只能依据条带明暗进行半定量判断, 实时荧光 PCR 依赖 Ct 值可定量但标准曲线构建较为复杂, 而液相芯片系统直接输出各靶标的 MFI 值, 双对数线性回归可稳定解析菌液浓度与荧光信号的量效关系, 在食品安全风险分级中具有实际应用价值; (3)样本需求少与结果客观稳定。相比传统琼脂糖电泳需较大上样量、人工判读受主观经验影响, 液相芯片检测所需样本体积小, 上机读取自动化且结果数据化, 有效降低了人为误判风险。此外, 相较于基因芯片等固相平台, 液相芯片采用液相杂交体系, 反应动力学更优、杂交效率更高、重复性更好, 且磁珠分离洗涤环节可有效清除未结合杂质, 有利于复杂食品基质样本的检测[24–26]。

同时本研究也存在局限性, 结合实验结果可进一步分析: (1)开管操作环节的交叉污染风险: 液相芯片技术检测流程涉及多重 PCR 扩增后的开管、移液和杂交孵育等人工操作步骤, 需将 PCR 产物转移至新的反应孔中与磁珠完成杂交。这一开管操作使扩增后高浓度产物暴露于空气中, 一旦操作不当极易形成气溶胶, 造成样本间交叉污染, 进而诱发假阳性结果。因此, 在实际检测中必须严格执行分区操作原则(试剂配制区、核酸提取区、扩增区、产物分析区严格分离), 配合使用带滤芯吸头、定期消毒及设立多类质控对照(如阴性提取对照、无模板对照), 以最大限度降低污染风险[27–28]。与液相芯片的开管检测特点相比, 多重荧光实时 PCR 的扩增与信号读取在同管封闭条件下完成, 无需开管操作, 显著降低了扩增产物交叉污染的概率, 这也是后者在临床检验中应用更为便捷的技术优势之一。(2)实际样本验证中, 单核细胞增生李斯特菌、空肠弯曲菌、大肠杆菌 O157 的检测符合率略低于其他菌株(90.9%~93.3%), 推测与部分临床菌株靶标基因变异、核酸提取过程中基质干扰有关[29], 这也是后续优化的重点方向; (3)检测靶标仅覆盖 7 种高发食源性致病菌, 未能涵盖国家食源性致病菌监测网中其他常见致病菌, 难以满足全品类筛查需求[30–31]; (4)灵敏度验证主要基于纯菌液体系, 对食品、体液等复杂基质的适应性有待进一步验证[32–33]。基于以上研究结果与局限, 后续研究可针对性开展优化工作: 针对开管操作导致的交叉污染风险, 可通过全自动核酸提取与反应体系构建等自动化方案减少人工操作环节; 针对实际样本检测符合率的问题, 可优化核酸提取方法, 为每种致病菌增加 1~2 个备用靶标基因, 避免单一基因变异导致的漏检[34–35]; 拓展靶标库增加更多高风险食源性致病菌的靶标, 建立更全面的多重检测体系; 优化复杂样本适应性, 提升方法在复杂环境中的检测性能。

综上所述, 本研究建立的基于 Luminex xMAP 液相芯片技术的 7 种食源性致病菌多重检测方法, 核心性能优异、实际应用效果良好, 有效解决了传统检测技术的短板, 为食源性致病菌的快速精准检测提供了可行的技术方案。该方法的建立与优化, 不仅丰富了食源性致病菌检测的技术储备, 也为食品安全防控、食源性疾病溯源及公共卫生应急处置提供了有力的技术支撑, 具有重要的学术价值与实际应用意义。后续通过针对性优化, 有望进一步提升该方法的适用性与推广性, 为食源性致病菌检测技术的优化与推广提供坚实的实验依据与理论支撑。

参考文献

[1] World Health Organization. WHO global strategy for food safety 2022—2030: towards stronger food safety systems and global cooperation [R]. Geneva: World Health Organization, 2022.

[2] 张健, 王大虎, 罗健梅, 等. 广州市网络外卖食品中食源性致病菌污染状况监测与分析[J]. 医学动物防制, 2022, 38(5): 444–447.
Zhang Jian, Wang Dahu, Luo Jianmei, et al. Investigation on the foodborne pathogens of online takeaway food in Guangzhou [J]. Journal of Medical Pest Control, 2022, 38(5): 444–447.

[3] Zhao Zhijie, Wei Xiaoyue, Wang Aimei, et al. A foodborne outbreak associated with ST59-*spa* t441-SCC*mec* IVa methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* producing enterotoxins a and B-Puyang City, Henan Province, China, September 2024 [J]. China CDC Weekly, 2025, 7(33): 1093–1098.

[4] 王同瑜, 郭云昌, 吴阳博, 等. 基于圆形分布法的中国大陆食源性致泻大肠埃希氏菌暴发事件时间分布特征分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(5): 1048–1053.
Wang Tongyu, Guo Yunchang, Wu Yangbo, et al. Analysis of seasonal characteristics of foodborne diarrheagenic *Escherichia coli* outbreaks based on circular distribution method in China's Mainland [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2022, 34(5): 1048–1053.

[5] 韩依辛, 田雅, 马广宇, 等. 广东10个屠宰场猪肉中3种食源性致病菌的检测[J]. 动物医学进展, 2021, 42(2): 50–54.

Han Yixin, Tian Ya, Ma Guangyu, et al. Detection of three food-borne pathogens in pork from 10 slaughterhouses in Guangdong [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2021, 42(2): 50–54.

[6] 李海麟, 刘于飞, 张维蔚, 等. 广州市市售食品中单核细胞增生李斯特氏菌监测结果分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(7): 2711–2715.
Li Hailin, Liu Yufei, Zhang Weiwei, et al. Analysis of monitoring results of *Listeria monocytogenes* in foods sold in Guangzhou [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(7): 2711–2715.

[7] 王礼法, 陈仕菊, 杨贵清, 等. 深圳市罗湖区禽畜肉中空肠弯曲菌的流行状况及分子分型[J]. 中国卫生检验杂志, 2022, 32(14): 1761–1764.
Wang Lifa, Chen Shiju, Yang Guiqing, et al. Prevalence and molecular typing of *Campylobacter jejuni* in meat and poultry from Luohu District, Shenzhen City [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2022, 32(14): 1761–1764.

[8] 谭云鹤. 我国食源性疾病监测现状和展望[J]. 右江医学, 2024, 52(2): 183–186.
Tan Yunhe. Present state and prospect of surveillance of foodborne diseases in China [J]. Chinese Youjiang Medical Journal, 2024, 52(2): 183–186.

[9] 范宏伟, 朱应飞, 翟平平, 等. 多重聚合酶链式反应-毛细管电泳技术检测 5 种食源性致病菌[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(1): 180–186.
Fan Hongwei, Zhu Yingfei, Zhai Pingping, et al. Detection of 5 kinds of foodborne pathogens by multiplex polymerase chain reaction and capillary electrophoresis technology [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(1): 180–186.

[10] 杨露瑶, 任小东, 毛怡心, 等. 六种食源性病原微生物多重定量聚合酶链式反应检测方法的建立[J]. 疾病监测, 2025, 40(4): 512–519.
Yang Luyao, Ren Xiaodong, Mao Yixin, et al. Establishment of a multiplex quantitative polymerase chain reaction assay for detections of six foodborne pathogens [J]. Disease Surveillance, 2025, 40(4): 512–519.

[11] 齐欣, 王龙祥, 徐文英, 等. 等温核酸扩增技术在沙门氏菌快速检测中的研究进展[J]. 中国口岸科学技术, 2026, 8(1): 30–35.
Qi Xin, Wang Longxiang, Xu Wenying, et al. Research progress on isothermal nucleic acid amplification technology in the rapid detection of *Salmonella* [J]. China Port Science and Technology, 2026, 8(1): 30–35.

[12] 唐琪, 刘静, 曹若蕾, 等. 数字 PCR 在肉类及肉制品食源性致病菌检测中的应用进展[J]. 河北省科学院学报, 2026, 43(1): 57–63, 81.
Tang Qi, Liu Jing, Cao Ruolei, et al. Advances in the application of digital PCR for detecting foodborne pathogens in meat and meat products [J]. Journal of the Hebei Academy of Sciences, 2026, 43(1): 57–63, 81.

[13] 凌春榕, 秦剑冉, 牟康义, 等. 食源性致病菌快速检测方法的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(16): 100–112.
Ling Chunrong, Qin Jianran, Mu Kangyi, et al. Research progress on the rapid detection technology for foodborne pathogens [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(16): 100–112.

[14] 黄嘉源, 张子桦, 吴耀冰, 等. 液相芯片多重检测技术在临床检验应用的研究进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2025, 46(2): 159–166.
Huang Jiayuan, Zhang Zihua, Wu Yaobing, et al. Research progress on clinical application of liquid phase chip multiple detection technology [J]. Journal of Qiqihar University of Medicine, 2025, 46(2): 159–166.

[15] 汉聪慧, 曹广进, 张福真, 等. 液相芯片技术与实时荧光定量 P CR 在检测儿童感染性腹泻病原体的比较[J]. 基础医学与临床, 2020, 40(4): 523–527.
Han Conghui, Cao Guangjin, Zhang Fuzhen, et al. Comparison of liquid-phase chip and real-time fluorescent quantitative P CR for the detection of infectious diarrhoeal pathogens in children [J]. Basic & Clinical Medicine, 2020, 40(4): 523–527.

[16] 周晓芳, 盛海刚. Luminex 系统的技术原理与应用[J]. 临床检验杂志, 2010, 28(4): 247–249.
Zhou Xiaofang, Sheng Haigang. Technical principle and application of Luminex system [J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2010, 28(4): 247–249.

[17] 陈铮铮, 吕火烊. 液相芯片技术进展及在检验医学中应用[J]. 现代实用医学, 2021, 33(8): 981–983.
Chen Zhengzheng, Lv Huoyang. Progres of liquid chip technology and its application in laboratory medicine [J]. Modern Practical Medicine, 2021, 33(8): 981–983.

[18] Dunbar S A. Applications of Luminex xMAP technology for rapid, high-throughput multiplexed nucleic acid detection [J]. Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry, 2006, 363(1–2): 71–82.

[19] 温来欣. Luminex 液相芯片在微生物多重检测中的应用[J]. 职业与健康, 2014, 30(16): 2355–2358.
Wen Laixin. Application of Luminex liquichip in microbial multiple detection [J]. Occupation and Health, 2014, 30(16): 2355–2358.

[20] 李永清, 段招军. Luminex xMAP 技术在感染性疾病中的应用[J]. 病毒学报, 2010, 26(2): 158–161.
Li Yongqing, Duan Zhaojun. Application of Luminex xMAP technology in infectious diseases [J]. Chinese Journal of Virology, 2010, 26(2): 158–161.

[21] 姚见儿. Luminex 高通量检测技术的应用和挑战[J]. 临床检验杂志, 2010, 28(4): 250–251.
Yao Jianer. Application and challenge of luminex qualcomm measurement technology [J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2010, 28(4): 250–251.

[22] 谢冲, 王国民. Luminex 液相芯片的发展及应用[J]. 复旦学报(医学版), 2010, 37(2): 241–244.
Xie Chong, Wang Guomin. Development and application of luminex liquichip [J]. Fudan University Journal of Medical Sciences, 2010, 37(2): 241–244.

[23] 彭延, 余波, 张静玲, 等. xTAG 液相芯片技术检测多种食源性致病菌方法的研究[J]. 公共卫生与预防医学, 2022, 33(5): 54–56.
Peng Yan, Yu Bo, Zhang Jingling, et al. Development of a luminex xTAG assay for the rapid detection of common food borne pathogens [J]. Journal of Public Health and Preventive Medicine, 2022, 33(5): 54–56.

[24] 邵彪, 黄伟东, 周鸣镝, 等. 多重荧光定量 PCR 检测食品污染菌[J]. 中国食品学报, 2012, 12(1): 176–181.
Shao Biao, Huang Weidong, Zhou Mingdi, et al. Multiplex fluorescence quantitative PCR detection of food contaminative bacteria [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2012, 12(1): 176–181.

[25] 李俊杰, 王惺雅, 杨浩楠, 等. 基于多重巢式聚合酶链式反应和毛细管电泳检测三种食源性致病菌[J]. 食品与发酵工业, 2026, 52(4): 242–250.
Li Junjie, Wang Xingya, Yang Haonan, et al. Detection of three foodborne pathogenic bacteria based on multiplex nested PCR and capillary electrophoresis [J]. Food and Fermentation Industries, 2026, 52(4): 242–250.

[26] Cao Zhichun, Wan Junfang, Zhong Houcao, et al. Detection technology for food pathogenic bacteria based on multiplex real-time fluorescence quantitative PCR [J]. International Journal of Food Engineering, 2025, 21(7): 475–485.

[27] 薛秀荣, 来祝檩, 韩惠云. 浅谈核酸检测实验室防污染措施[J]. 中国卫生产业, 2018, 15(26): 144–145.
Xue Xiurong, Lai Zhulin, Han Huiyun. Discussion on pollution prevention measures in nucleic acid detection laboratory [J]. China Health Industry, 2018, 15(26): 144–145.

[28] 李敏, 许友强, 刘静, 等. 第三方核酸检测实验室核酸污染防控策略概述[J]. 基层医学论坛, 2023, 27(1): 87–90.
Li Min, Xu Youqiang, Liu Jing, et al. Overview of prevention and control strategies of nucleic acid pollution in third-party nucleic acid testing laboratories [J]. The Medical Forum, 2023, 27(1): 87–90.

[29] 刘娜, 王亚萍, 王学硕, 等. 九种核酸提取裂解剂对 PCR 扩增效率影响研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2023, 35(6): 843–848.
Liu Na, Wang Yaping, Wang Xueshuo, et al. Study on the effect of nine nucleic acid extraction lysing reagents on PCR amplification efficiency [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2023, 35(6): 843–848.

[30] 党亚丽, 周亭屹, 么春艳, 等. 食源性致病菌液相芯片高通量快速检测技术的应用进展[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(8): 192–195.
Dang Yali, Zhou Tingyi, Yao Chunyan, et al. Application progress on the high-flux and rapid detection technolgy of the suspension array for the food borne [J]. Food Research and Development, 2017, 38(8): 192–195.

[31] 高莉, 杨海霞. 多种致病菌同步检测技术在食品安全中的应用[J]. 食品安全导刊, 2025, 19(36): 111–113.
Gao Li, Yang Haixia. Application of simultaneous detection technology for multiple pathogenic bacteria in food safety [J]. Journal of Food Safety Guide, 2025, 19(36): 111–113.

[32] 张聪. 基于环介导等温扩增技术的中药饮片病原菌核酸检测方法研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2023.
Zhang Cong. Methodological study for detecting pathogens in Chinese herbal pieces based on loop-mediated isothermal amplification [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2023.

[33] Zheng Juping, Huang Tiantian, Li Chao, et al. Antimicrobial peptide-based magnetic separation combined with multiplex PCR for the simultaneous detection of multiple foodborne pathogens in food samples [J]. LWT, 2026, 251: 119582.

[34] 牛娜, 刘莹, 金晓蕾, 等. 食品中产志贺毒素大肠埃希氏菌检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(9): 199–207.
Niu Na, Liu Ying, Jin Xiaolei, et al. Research progress on detection technology of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in food [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(9): 199–207.

[35] Tschiedel E, Goralski A, Steinmann J, et al. Multiplex PCR of bronchoalveolar lavage fluid in children enhances the rate of pathogen detection [J]. BMC Pulmonary Medicine, 2019, 19(1): 132.

(责任编辑: 蔡世佳 韩晓红)