

[11] 吴惠玲, 张大莲, 高晓玲, 等. 肾性贫血患者网织红细胞参数的变化及临床意义[J]. 现代诊断与治疗, 2008, 19(6): 324-325.

[12] 袁利月, 宋欣, 诸越谨. 不同类型贫血患者网织红细胞相关参数检测及临床意义[J]. 现代实用医学, 2012, 24(5): 533-534.

[13] 汪建军, 余艳丽, 任超杰, 等. 网织红细胞参数在大细胞贫血诊断中的初探[J]. 临床输血与检验, 2013, 15(1): 39-41.

[14] 黄开泉, 张淑芳, 刘漪. 贫血患者网织红细胞及其荧光强度检测的临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(10): 879-881.

[15] 虞秀兰, 何友华, 王雪明. 未成熟网织红细胞参数在骨髓移植中的应用[J]. 中国血液流变学杂志, 2005, 15(4): 668-670.

[16] 顾瑛, 刘薇芬, 雷鸣. 肿瘤患者化疗构成中网织红细胞参数的动态分析[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(12): 1136-1137.

[17] 郭学松, 王潮, 蔡妹. 网织红细胞成熟指数在恶性肿瘤化疗前后动态变化的临床意义[J]. 现代医药卫生, 2011, 27(10): 1497-1498.

[18] 储洁, 黄先国. 网织红细胞相关参数在肝脏疾病的临床应用[J]. 安徽医科大学学报, 2004, 35(5): 409-410.

[19] 林静华, 焦晓阳, 陈晓洁, 等. 网织红细胞参数在肝硬化患者中的变化及意义[J]. 中国热带医学, 2008, 8(6): 975-976.

[20] 郑扣龙, 张清. 急性心肌梗死患者外周网织红细胞绝对值的相关研究[J]. 黑龙江医药, 2010, 16(23): 924-925.

[21] 刘艳红, 李艳, 何颖, 等. 静脉全血放置时间对网织红细胞参数结果的影响[J]. 检验医学, 2013, 28(2): 134-136.

[22] 李雪光, 梁月桂, 王薇, 等. 采血后体外放置时间对网织红细胞计数的影响[J]. 中华检验医学杂志, 1996, 19(6): 32.

[23] 杨平, 贾娟, 李桂才, 等. 温度及存放时间对网织红细胞计数的影响及实验室各参数参考值的建立[J]. 职业与健康, 2013, 29(11): 1335-1337.

[24] 刘成玉. 临床检验基础[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 39.

(收稿日期: 2015-05-10)

• 综 述 •

## 布鲁菌感染临床实验诊断技术研究进展

贾 微<sup>1</sup>综述, 陶元勇<sup>2△</sup>审校

(1. 潍坊医学院医学检验学系, 山东潍坊 261053; 2. 潍坊医学院附属医院检验科, 山东潍坊 261031)

关键词: 布鲁菌病; 诊断; 检测

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2015. 15. 051

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)15-2246-03

布鲁菌病是由布鲁氏杆菌引起一种人兽共患传染病, 感染的患者大多以长期发热、多汗、关节痛及肝脾肿大为主要症状。近年来, 我国布鲁菌病形势严峻, 发病率逐年增长, Li 等<sup>[1]</sup>研究表明在 2004~2010 年间布鲁菌病的流行及复发呈现空间多相性分布, 成年人发病男性多于女性, 且多集中在 30~49 岁。另外, 分布于中国北部的病患以农牧居多, 而在中国南方则主要集中于餐饮服务者, 工人及退休人员, 城市地区发病率有所上升。面临如此严峻的形势, 加强临床实验室的检测力度并形成统一的筛选及确诊检验模式是十分重要的。本文就临床实验室的人类布鲁菌病检测研究进展作一综述。

### 1 细菌学培养技术

细菌学培养技术是临床实验室最常用的分离方法, 是布鲁菌病疫情判定, 临床诊断中最直接的证据。目前血液中布鲁氏菌的分离率呈上升趋势<sup>[2]</sup>。现临床采取菌血症时期双侧双瓶的策略进行标本的留取, 通常经 BACT/ALERT 3D 全自动血培养仪培养 3~5 d 左右, 仪器需氧瓶阳性结果报警, 转种至血琼脂平板经 37℃、5%CO<sub>2</sub> 培养 24 h, 光滑型菌落形态为湿润、透明、光滑的小菌落, 粗糙型为灰褐色粘稠状, 镜下为细沙样革兰阴性球菌或球杆菌。经全自动细菌鉴定仪鉴定结果为布鲁氏菌。为了提高血培养的检出率, Mantur 等<sup>[3]</sup>利用溶解离心技术使急性病例的检出率可达 91%, 慢性病例可达 71%。除血培养之外, 骨髓、脓液、关节液、滑囊液均报道分离出该菌<sup>[4-5]</sup>。据报道, 金亮<sup>[6]</sup>在脑脊液标本中分离并鉴定出羊布鲁菌, 提示临床医生如遇诊断不明的脑膜炎患者, 应考虑脑脊液的细菌培养, 以排除布鲁菌性脑膜炎。目前细菌学培养是分离布鲁氏菌的“金标准”, 但由于其培养周期长, 分离鉴定困难, 因此易造成漏诊误诊。

### 2 免疫学检测技术

2.1 特异性血清凝集性试验 目前国内外用于检测诊断布鲁

菌病的特异性血清凝集性试验方法主要有平板凝集试验 (PAT)、虎红平板凝集试验 (RBPT)、试管凝集试验 (SAT)。PAT 和 RBPT 在临床上主要用于早期大面积快速筛查<sup>[7]</sup>, SAT 是布鲁菌病血清学检测的定量试验, 是我国法定布鲁菌病确诊试验<sup>[8]</sup>。这些方法都是针对血清中布鲁氏菌脂多糖 O-链的抗体进行检测, 但是其 O-链中含有的抗原位点与多种细菌极为相似, 如小肠结肠炎耶尔森菌 O: 9<sup>[9]</sup>、大肠埃希菌 O157: H7<sup>[10]</sup>、假单胞菌 555、福氏土拉伦菌、鼠伤寒沙门菌<sup>[11]</sup>、甲型副伤寒沙门菌<sup>[12]</sup>等。因此存在的交叉反应造成的假阳性增加了鉴别上的困难。为此, 国内外研究者对排除布鲁菌存在的交叉反应进行了诸多探索, 如免疫斑点试验、抗原吸收试验、应用 McAb 鉴别试验等。因此, 临床利用这些方法诊断时要充分考虑临床症状及交叉菌的检查排除。尽管如此, 特异性血清凝集性试验的优点仍不能被忽视, 其试剂稳定易保存, 操作简便, 且在国际上有统一的判定标准<sup>[13]</sup>, 故广泛应用于临床医疗机构及疾控中心。

2.2 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 我国从上世纪 80 年代初鲁齐发等就开启了 ELISA 方法在人类布鲁菌病诊断方面的诊断技术。他从布鲁菌病疫区获得的不同时期的布鲁菌病患者血清用 ELISA 进行检测, 与 SAT 和 CFT 进行比较, 得出在急性期、慢性期血标本 ELISA 试验的阳性率明显高于其他两种试验。同时 Mantecón Mde 等<sup>[14]</sup>发现 ELISA 检测抗 S 型布鲁菌 LPS 的 IgG 已经被用作区分人类布鲁菌病的急慢性感染的参考指标, 但仍需结合其他指标综合诊断。由于其酶的催化效率很高, 可使测定达到很高的灵敏度, 同时优化检测靶点, 大大提高了检测的特异性, 现国际上已成熟并广泛应用 ELISA 于人类布鲁菌病的诊断<sup>[15]</sup>。目前, 检测人类布鲁菌病的 ELISA 方法主要有间接 ELISA、夹心 ELISA、斑点 ELISA。

2.2.1 间接 ELISA (i-ELISA) 该法用于检测血清中布鲁杆

菌的抗体。Agasthya 等<sup>[16]</sup>共检测了 652 份不同时期布鲁菌病患者的血清,得出结论 i-ELISA 在人类布鲁菌病的检测中比传统血清学方法 RBPT 和 SAT 具有更高的灵敏度。此方法的缺点是不能区分人工免疫和自然感染。

**2.2.2 夹心 ELISA (s-ELISA)** 该法分为双抗体夹心法 (DAbs-ELISA) 和双抗原夹心法 (DAgS-ELISA)。贾剑峰等<sup>[17]</sup>应用研制的针对羊布鲁氏菌 O 链 M 抗原的单克隆抗体 2D10 和牛布鲁氏菌 O 链 A 抗原的单克隆抗体 4B8 建立了高特异度、灵敏度的检测人布鲁氏菌抗原的 DAbs-ELISA 方法。经检验该方法不与大肠杆菌 O157、小肠结肠炎耶尔森氏菌 O9 及鼠伤寒沙门氏菌发生交叉反应,具有较好的重复性,对阳性样品的检测 ELISA 与 SAT、分离培养的符合率均为 100%。寇增强等<sup>[18]</sup>应用 DAgs-ELISA 和 RBPT、i-ELISA、CFT、QD-Ags-ELISA (快速双抗原夹心法) 对 164 例处于不同时期的患者进行检测,结果显示对于急性期患者,DAgs-ELISA 的总一致性和约登指数最高,为 96.49% 和 93.44%,其假阴性率最低为 2.27%,以 SAT 作为金标准,DAgs-ELISA 的灵敏度达 97.73%,特异度达 95.71%。本研究还发现 DAgs-ELISA 法灵敏度、特异度都高于 i-ELISA,在检测急性期布鲁菌病患者灵敏度高、特异性强,明显优于其他方法。

**2.2.3 斑点 ELISA (dot-ELISA)** 此法主要用于检测血清中布鲁杆菌的抗体。Barbuddhe SB 等采用牛布鲁菌 S99 用于人血清中布氏菌抗体的检测,与 CFT 比较相对灵敏度达 88.88%,特异度达 76.92%。Batra 等<sup>[19]</sup>采用 dot-ELISA、SAT、RBPT 法对 120 份疑似布鲁菌病血清检测, dot-ELISA 所获的阳性例数最高,提示该法诊断布鲁菌病优于其他传统血清检测方法,是一个更敏感的,经济的筛选人类布氏杆菌病的快速检测方法。

**2.3 其他血清学检测方法** 补体结合实验 (CFT) 和抗人球蛋白试验 (Coombs) 被认为是目前血清学中比较准确的方法,且国际有统一的判定标准,得到了广泛应用。免疫胶体金技术 (GICA) 包括免疫层析技术与免疫渗滤技术。李洛梅等<sup>[20]</sup>对布氏菌胶体金免疫层析快速检测板 (CGIRST) 的使用效果进行评价,采用布氏菌纯蛋白衍化物做为该检测板的包被抗原,金标记 protein A,来检测人血液样品中的布鲁氏菌抗体,结果与 SAT 法进行比较,两法的阳性符合率为 100%。朱明东等<sup>[21]</sup>采用斑点金免疫渗滤法检测不同地区重点人群 2423 人,与 SAT 法进行比较,得出两者阳性符合率 96.66%,阴性符合率 99.92%。该法操作简便、快速、灵敏度高、特异度好,便于在基层单位开展,具有良好的应用前景。此外,荧光偏振技术 (FPA) 被认为是检测牛布鲁菌病抗体最稳定的血清学方法,现已用于北美和欧洲的布鲁菌病根除计划,是 OIE 规定的“贸易适用”方法<sup>[22]</sup>。但由于其检测费用昂贵,未见大规模应用于临床的相关报道。瞿占超等<sup>[23]</sup>应用 FPA 对 587 例患者进行检测,灵敏度达到 96.1%,特异度达到 97.9%,提示 FPA 技术可以进行人类感染布鲁菌病的快速检测,且可以对治疗过程及预后复发进行实时监控。由此可见,FPA 技术也是人类布鲁菌病诊断的一种发展趋势。

### 3 分子生物学技术 (PCR 技术)

在国际上,1996 年 PCR 技术首次用于人布鲁菌病的诊断研究。我国于 1997 年首次将 PCR 技术应用于人布鲁菌病的诊断。PCR 技术以其独特的优势解决了很多方法不能解决的问题,如不再像细菌培养接触活菌,且检测能低至 0.1 pgDNA<sup>[24]</sup>,克服了阳性标本培养不出的情况,适合布鲁菌这种高危险性病原的检测。同时,PCR 技术能诊断鉴定到分型,准确度

高,填补了 ELISA 方法不能分型的缺憾,也避免了细菌培养鉴定仪错误误报的可能。近年来,诊断布鲁菌病的 PCR 技术种类众多<sup>[25-26]</sup>,但能够成熟的应用于临床人布鲁菌病的诊断还存在广阔的研究空间。目前,PCR 技术主要分为传统 PCR 技术、多重 PCR、Real-time PCR 等。

**3.1 传统 PCR 技术** 传统 PCR 技术 (单对引物 PCR) 是最初较早用于布鲁菌的检测的 PCR 技术。此种方法的关键在于特异性的引物,所应用的模板多种多样,主要有 16SrRNA、BCSP31、IS711<sup>[27-28]</sup>。其中 BCSP31 是保守区段基因,编码所有布鲁菌外膜蛋白 omp31,具有免疫遗传性<sup>[29]</sup>。此段基因的检测常用于人类布鲁菌病的诊断,具有很高的灵敏度。2014 年 Garshashi 等<sup>[30]</sup>就根据 BCSP31 设计引物 B4/B5,在种属水平上准确鉴定了布鲁氏菌。

**3.2 多重 PCR** 又称多重引物 PCR 或复合 PCR,是指在 PCR 反应体系中加入两对以上的引物同时扩增出多个核酸片段的 PCR 反应。采用多重 PCR 可以对布鲁氏菌多个种型进行鉴定<sup>[31]</sup>。Mirnejad 等<sup>[32]</sup>设计了一种快速检测血液中布鲁氏菌种的双重 PCR,对 502 份可疑患者的血样本进行检测,采用 3 对引物进行扩增,结果可以识别人类主要病原布鲁菌,具有良好的特异度,可用于布鲁菌种属的快速鉴定。

**3.3 实时荧光定量 PCR (Real-time PCR)** Real-time PCR 技术实现了 PCR 技术中定性到定量的飞跃,与传统 PCR 技术相比,其具有更强的特异度,更高的自动化程度,并且有效地解决了 PCR 的污染问题<sup>[33]</sup>。刘艳红等<sup>[34]</sup>在布鲁菌基因组特有插入序列 IS711 设计一对引物和 TaqMan MGB 探针,建立了血液标本的布鲁菌 DNA 荧光定量检测方法,并对 157 份患者血液标本进行检测,所得结果与临床检查结果进行比对,阳性和阴性结果显示具有良好的符合率。Sohrabi 等<sup>[35]</sup>开发了一种针对 BCSP31 基因的 TaqMan 实时 PCR,该方法的特异度为 100%。Queipo-Ortuno 等<sup>[36]</sup>研究了 LightCycler 实时 PCR (LC-PCR) 检测,该法同样是对 BCSP31 基因进行扩增,并进行 DNA 测序分析验证了 PCR 产物的特异度。LC-PCR 检测结果显示,灵敏度可达 91.9%,特异度可达 95.4%。Real-time PCR 技术具有较好的稳定性,特异度和灵敏度,检测时间小于 2 h,重现性好,易于标准化,且能对临床治疗的效果进行监测和评估,可作为人类布鲁菌病快速诊断的实用方法。

### 4 结 语

综上所述,目前国内外实验室用于检测人类布鲁菌病的方法多种多样,但各种方法仍有其不足之处。传统的检测方法如细菌学检测方法,操作繁杂,实验室生物安全级别要求高,仪器鉴定结果有时会误判,造成误检漏检。传统的血清学凝集性试验是目前国际公认的标化方法,用于大范围筛选和确认试验,但由于交叉反应的存在,造成一定的假阳性,需与其他方法联合检测。酶联免疫吸附试验特异度和灵敏度较传统的血清学试验都有所提高,同时特异的检测靶点不断得以优化<sup>[37]</sup>,且弥补了某些传统血清凝集性试验不能定量只能定性的不足。分子生物学技术用于人类布鲁菌病的诊断具有广阔的发展前景,具有特异度强、灵敏度高、快速简便、易自动化、对诊疗过程的实时监控等优点,但国内研究者对文献记载的方法进行验证,所得结果表明重复性有待提高,大多数停留在实验室试用阶段,未普及推广。目前,有一种技术为免疫磁珠富集技术,能极大地提高检测的灵敏度和特异度,此项技术在国外已被熟练应用<sup>[38-39]</sup>。在国内,研究者已成功研制出小肠结肠炎耶尔森菌,志贺杆菌,产单核细胞李斯特菌<sup>[40]</sup>及大肠埃希菌 O157<sup>[41]</sup>等细菌的免疫磁珠。因此,可以考虑把布鲁菌的毒力因子包被到磁

珠上,再与 ELISA 或 PCR 技术相结合,以达到快速检测的目的。就未来的发展趋势而言,建立一种操作简便,微量快速,灵敏特异,可信度高,适合在各医疗机构广泛开展的检测方法,对于人类布鲁菌病的防控监测具有重要的意义。

## 参考文献

- [1] Li YJ, Li XL, Liang S, et al. Epidemiological feature and risk factors associated with the spatial and temporal distribution of human brucellosis in China[J]. BMC Infect Dis, 2013, 16(13): 547-588.
- [2] 欧内玉, 冯慧. 研究布鲁菌血培养阳性在不同时间段的阳性率[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(9): 1199-1200.
- [3] Mantur BG, Mangalgi SS. Evaluation of conventional castaneda and lysis centrifugation blood culture techniques for diagnosis of human brucellosis[J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(9): 4327-4328.
- [4] 袁红英, 刘志勇, 府伟灵. 血、骨髓培养分离马耳他布鲁菌 1 例的报道[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(9): 1197-1198.
- [5] 杨铭, 汪定成. 全自动血培养仪中布鲁菌阳性报警时间及与其他病原菌的比较[J]. 中国感染控制杂志, 2013, 12(6): 451-453.
- [6] 金亮. 脑脊液检出马耳他布鲁菌 1 例[J]. 临床荟萃, 2014, 29(2): 208-209.
- [7] 周梅. 布鲁杆菌实验室诊断技术研究进展[J]. 职业与健康, 2012, 28(23): 2971-2973.
- [8] 张相萍, 李洋. 两种凝集法检测布鲁菌病抗体的比较[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(17): 2225-2226.
- [9] Muñoz PM, Marin CM, Monreal D, et al. Efficacy of several serological tests and antigens for diagnosis of bovine brucellosis in the presence of false-positive serological results due to *Yersinia enterocolitica* O:9[J]. Clin Diag Lab Immunol, 2005, 12(1): 141-151.
- [10] Kim JY, Sunk SR, Lee K. Immunoproteomics of *Brucella abortus* RB51 as candidate antigens in serological diagnosis of brucellosis[J]. Vet Immunol Immunopathol, 2014, 160(3/4): 218-224.
- [11] 孙岩, 杜雅楠, 崔步云. 布鲁氏菌的分离、鉴定与分型技术研究进展[J]. 中国人兽共患病学报, 2014, 30(5): 511-515.
- [12] Li W. Shanxi province found salmonella paratyphi A and severe brucella serological cross reaction[J]. Endem Dis Bull, 2004, 19(4): 52-53.
- [13] Aliskan H. The value of culture and serological methods in the diagnosis of human brucellosis[J]. Mikrobiyol Bul, 2008, 42(1): 185-195.
- [14] Mantecon Mde L, Gutiérrez MP, Zarzosa Mdel P, et al. Influence of brucellosis history on serological diagnosis and evolution of patients with acute brucellosis[J]. Infect, 2008, 57(5): 397-403.
- [15] Fan WX, Zhong Q, He QN, et al. Comparison of diagnostic methods for brucellosis[J]. Chin J Anim Quarant, 2006, 23(6): 31-33.
- [16] Agasthya AS, Isloor S, Krishnamsetty P. Seroprevalence study of human brucellosis by conventional tests and indigenous Indirect enzyme Linked immunosorbent assay[J]. Sci World J, 2012, 20(1): 104239.
- [17] 贾剑锋, 张琴. 双抗夹心 ELISA 方法检测人布鲁氏菌抗原的研究及初步应用[J]. 当代医学, 2009, 15(24): 87-89.
- [18] 寇增强, 冯开军, 李忠. 双抗原夹心酶联免疫试验检测布鲁杆菌病患者方法的评价研究[J]. 预防医学论坛, 2011, 16(5): 385-387.
- [19] Batra HV, Agarwal GS, Rao PV. Evaluation of A newly developed Dot-ELISA kit for the diagnosis of human brucellosis[J]. J Commun Dis, 2003, 35(2): 71-73.
- [20] 李洛梅, 王燕, 王国治. 布氏菌胶体金免疫层析快速检测板使用效果评价[J]. 中国地方病学杂志, 2006, 21(3): 148-150.
- [21] 朱明东, 徐卫民, 洪林娣, 等. 斑点金免疫渗滤法在布鲁氏菌病监测地区的现场应用[J]. 疾病监测, 2007, 22(4): 220-221.
- [22] 刘志国, 任清华, 王妙. 布病特异性血清学检测技术应用概述[J]. 中国人兽共患病学报, 2013, 29(10): 1026-1031.
- [23] 普占超, 亢文华, 马英, 等. 荧光偏振技术在布鲁氏菌病检测中的应用[J]. 中国人兽共患病学报, 2014, 30(10): 1057-1061.
- [24] Huber B, Scholz HC, Lucero N, et al. Development of a PCR assay for typing and subtyping of *Brucella* species[J]. Int J Med Microbiol, 2009, 299(8): 563-573.
- [25] Al-Ajlan HH, Ibrahim AS. Comparison of different PCR methods for detection of *Brucella* spp. in human blood samples[J]. Pol J Microbiol, 2011, 60(1): 27-33.
- [26] Gemechu MY, Gill JP, Arora AK, et al. Polymerase chain reaction (PCR) assay for rapid diagnosis and its role in prevention of human brucellosis in Punjab, India[J]. Int J Prev Med, 2011, 20(3): 170-177.
- [27] Wang Y, Wang Z, Zhang Y, et al. Polymerase chain reaction-based assays for the diagnosis of human brucellosis[J]. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2014, 13(1): 31.
- [28] Baddour MM, Alkhalifa DH. Evaluation of three polymerase chain reaction techniques for detection of *Brucella* DNA in peripheral human blood[J]. Can J Microbiol, 2008, 54(5): 352-357.
- [29] 钟佑宏, 王鹏, 宋志忠. 布鲁杆菌病检测研究进展[J]. 中国地方病防治杂志, 2012, 27(2): 90-93.
- [30] Garshasbi M, Ramazani A, Sorouri R, et al. Molecular detection of *Brucella* species in patients suspicious of Brucellosis from Zanjan, Iran[J]. Braz J Microbiol, 2014, 45(2): 533-538.
- [31] 陆军, 崔步云, 赵鸿雁. 应用多重 PCR 鉴别布鲁氏菌种及猪种 5 个生物型研究[J]. 中国病原生物学杂志, 2013, 8(2): 126-128.
- [32] Mirnejad R, Mohamadi M, Piranfar V. A duplex PCR for rapid and simultaneous detection of *Brucella* spp. in human Blood samples[J]. Asian Pac J Trop Med, 2013, 6(6): 453-456.
- [33] 刘志国, 张利, 崔步云, 等. 应用 PCR 方法快速检测布鲁氏菌核酸的研究进展[J]. 疾病监测, 2010, 25(9): 746-751.
- [34] 刘艳红, 王清. Taqman MGB 探针实时荧光定量 PCR 检测布鲁菌病的研究[J]. 现代预防医学, 2013, 40(7): 1348-1351.
- [35] Sohrabi M, Mohabati Mobarez A, Khoramabadi N. Efficient Diagnosis and Treatment Follow-up of Human Brucellosis by a Novel Quantitative TaqMan Real-Time PCR assay; a Human Clinical Survey[J]. J Clin Microbiol, 2014, 20(1): 819-814.
- [36] Queipo-Ortuno MI, Colmenero JD, Reguera JM, et al. Rapid diagnosis of human brucellosis by SYBR Green I-based real-time PCR assay and melting curve analysis in serum samples[J]. Clin Microbiol Infect, 2005, 11(9): 713-718.
- [37] 夏淑婷, 王鹏, 宋志忠. 布鲁氏菌病血清学诊断靶点的研究进展[J]. 中国人兽共患病学报, 2014, 30(3): 324-328.
- [38] 何小曼, 曾崇启. 免疫磁珠分离技术在微生物学检测中的应用[J]. 中国生物制品学杂志, 2008, 21(11): 1030-1032.
- [39] 徐晓可, 吴清平, 张菊梅. 免疫磁珠分离技术在常见食源性致病菌检测中的应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(5): 1196-1198.
- [40] Wen YM, Li ZQ, Tong JY, et al. Rapid detection of *Listeria monocytogenes* by immunomagnetic separation combined with selective medium[J]. Chin J Biotech, 2013, 29(5): 672-680.
- [41] Tanaro JD, Leotta GA, Lound LH, et al. *Escherichia coli* O157 in bovine feces and surface water streams in a beef cattle farm of Argentina[J]. Foodborne Pathog Dis, 2010, 7(4): 475-477.