

综述

快速检测技术在食源性沙门氏菌检测中的应用研究进展

康招娣^{1,2}, 李红娜¹, 袁飞¹

(1. 中国检验检疫科学研究院, 北京 100176; 2. 青岛农业大学食品科学与工程学院, 山东 青岛 266109)

摘要:沙门氏菌是一种广泛存在于自然界中的食源性致病菌,能导致人食物中毒,引发胃肠炎、败血症等疾病,严重时危及生命。建立快速、准确的沙门氏菌检测方法是预防和控制沙门氏菌疾病的关键,发展快速灵敏的检测方法对于保障食品质量与安全具有重要意义。本文通过对免疫学检测技术、分子生物学技术和生物传感器检测技术等食源性沙门氏菌的检测方面的应用进行综合分析,阐明各种食源性沙门氏菌快速检测技术的原理、优缺点及研究进展,为优化食源性沙门氏菌快速检测方法提供参考。

关键词:食品安全; 沙门氏菌; 快速检测

中图分类号:R155 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2022)04-0848-08

DOI:10.13590/j.cjfh.2022.04.034

Research progress on the application of rapid detection technology for foodborne *Salmonella*KANG Zhaodi^{1,2}, LI Hongna¹, YUAN Fei¹

(1. Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100176, China; 2. College of Food Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Shandong Qingdao 266109, China)

Abstract: *Salmonella* is a foodborne pathogen widely existing in nature, which can cause human food poisoning, gastroenteritis, septicemia and other diseases, seriously endangering human health. Therefore, rapid and accurate detection methods for *Salmonella* are important to prevent and control *Salmonella* disease. The immunological technology, molecular biology technology and biosensor technology in the application of detecting foodborne *Salmonella* are analyzed in this paper. Advantages and disadvantages of different detection techniques are expounded to offer reference for developing rapid detection methods of foodborne *Salmonella*.

Key words: Food safety; *Salmonella*; rapid detection

沙门氏菌(*Salmonella*)属于肠杆菌科^[1],1885年由美国学者 Salmon 和 Smith 在霍乱流行时分离得到猪霍乱沙门氏菌,为纪念 Salmon,1990年将其命名为沙门氏菌属(*Salmonella* sp.)^[2]。沙门氏菌对生存环境适应能力较强,通常在肉制品、奶、蛋、面包和水产品中可存活很久,最长可以存活2年^[3]。误食含有沙门氏菌的食物可导致食物中毒,严重者会引发肠胃炎、败血症等症状,若不及时就医甚至会

有生命危险^[4]。据统计,我国每年由沙门氏菌污染而导致的食源性食物中毒事件占食源性食物中毒总体70%~80%,世界上每年有8000万~9400万人因沙门氏菌感染疾病,其中死亡人数达5.9万~15.5万人^[5]。目前食源性沙门氏菌的传统检测方法主要通过细菌分离、生化鉴定等技术方案进行鉴定,存在着检测周期较长,检测过程复杂的弊端,无法适应食品安全快速检测的要求。近年来,随着新技术的不断发展与完善,食源性致病菌的快速检测技术得到了快速发展,由于快速检测技术将检测过程简化,检测周期大大缩短,现已应用于食品安全检测领域^[6]。

目前比较成熟的快速检测食源性致病菌的方法主要有免疫学检测技术(Immunological detection technology)、分子生物学技术(Molecular biology technology)、代谢学检测技术(Metabolic detection technology)和生物传感器检测技术(Biosensor detection technology)等。本文通过介绍快速检测技

收稿日期:2022-02-24

基金项目:中国检验检疫科学研究院基本科研业务费项目(2019JK003);“十三五”国家重点研发计划重点专项(2018YFC1603500);中国检验检疫科学研究院基本科研业务费项目(2020JK012);“十三五”国家重点研发计划重点专项(2018YFC1603606)

作者简介:康招娣 女 在读研究生 研究方向为食品安全

E-mail: 1782977713@qq.com

通信作者:袁飞 女 研究员 研究方向为食品安全

E-mail: feyyuan@163.com

术在食源性沙门氏菌检测中的主要应用,为食源性沙门氏菌新型检测技术的建立与应用提供借鉴。

1 沙门氏菌的传统检测方法

现行的沙门氏菌传统标准检测方法以国际标准 ISO 6579-1—2017《Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella*-Part 1: Detection of *Salmonella* spp.》^[7]和国家标准 GB 4789.4—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验》^[8]为代表。传统的检测技术对沙门氏菌的检测主要分为预增菌、选择性增菌、分离和平板划线培养、生化鉴定和血清学分型五个不同的阶段^[9],这种检测技术比较成熟,且检查结果具有较高的准确性,程浩^[10]通过研究不同方法检测 63 份食品样品中沙门氏菌,结果表明利用传统国标 GB 4789.4—2016 方法检出 2 份阳性样品,检出率 3.2%,检测时长至少为 6 d,而基于澳澳生物核酸恒温扩增荧光检测技术和 MICRO FAST 沙门氏菌快速检测卡的方法均检出了 3 份阳性样品,检出率均为 4.8%,并且可以在 30 h 内出结果。可见传统检测方法操作比较繁琐,耗时费力,检测时间跨度最长可达 1 周才能得到检测结果,不能够满足现代大量快速的检测要求,而快速检测技术则很好地解决了这一难题。

2 沙门氏菌的快速检测方法

2.1 分子生物学检测方法

分子生物学是研究细胞以及蛋白质的组成、结构和相互作用的科学^[11]。在鉴定致病菌菌属时,可以在分子水平上利用其核酸的特异性,检测是否含有特异性基因片段^[12],这种方法称为分子生物学检测方法。目前能够用来检测食源性沙门氏菌的分子生物学检测方法主要有聚合酶链式反应(Polymerase chain reaction, PCR)技术、实时荧光 PCR 技术、基因芯片技术和核酸探针技术等,以上检测技术具有快速、高效、灵敏、准确的特点,现已被广泛地应用于微生物检测领域。

2.1.1 普通聚合酶链式反应技术

PCR 是一种能够实现体外扩增特定 DNA 片段的分子生物学技术。该技术最大优点是可应用于混合微生物标本,而无需事先分离单个细菌种类^[13]。并且该方法检测速度快、灵敏度高、特异性强,现已广泛应用在病原微生物检测^[14-15]。1991 年 PCR 技术被首次应用于沙门氏菌的检测^[16]。Öz 等^[17]开发了一种具有短预富集步骤的微滴式数字 PCR (Droplet digital PCR, ddPCR)筛选方法,经过 3 h 富

集后检测,检测限为 1.39 CFU/mL。KAUSHIK 等^[18]针对沙门氏菌的 *invA* 基因优化 PCR,从连续稀释的细菌培养物中发现 PCR 的检测灵敏度为 8×10^2 CFU/mL,而富集 4 h 后加标粪便样品的检测灵敏度高达 2×10^2 CFU/mL。YANG 等^[19]通过对直接培养、IMS/培养和多重 PCR (Multiplex PCR, MPCR) 三种方法检测沙门氏菌进行了比较,共有 83、95 和 104 个样本分别被发现沙门氏菌阳性。结果表明, MPCR 的灵敏度高于直接培养和 IMS/培养方法。

2.1.2 实时荧光 PCR 技术

实时荧光 PCR (Real-time fluorescent PCR) 技术是利用荧光共振能量转移 (Fluorescence resonance energy transfer, FRET) 的原理,由于核酸杂交和核酸水解能够导致荧光基团与淬灭基团结合或分开,可以通过选择合适的荧光基团和淬灭基团用来标记核酸探针或引物,建立不同类型的实时荧光 PCR 技术^[20]。刘冉等^[21]建立了一种基于 TaqMan 探针实时荧光 PCR 检测鸡伤寒沙门氏菌的检测技术,该方法的最低检测浓度为 5 CFU/mL。ZENDRINI 等^[22]利用短富集结合比色环介导等温扩增 (Loop-mediated isothermal amplification technology, LAMP) 和实时荧光 PCR 被污染禽肉中不同浓度的沙门氏菌和弯曲杆菌,研究表明,实时荧光 PCR 可以检测沙门氏菌和弯曲菌,富集时间比 ISO 参考规定的时间更短。HUANG 等^[23]使用裂解 Siphovirus 噬菌体 LPST10 建立了一种快速准确的沙门氏菌检测方法,食品基质中的检测限 < 30 CFU/mL,检测时长为 1.5 h。王凤军等^[24]同时使用 GB 4789.4—2016 标准和 TaqMan 实时荧光聚合酶链反应对沙门氏菌 ACAS-PT526 能力验证样品进行检测,得出的实时荧光 PCR 检测结果与常规培养法检测结果一致,并且实时荧光 PCR 检测更为简单快速,结果可信度高,能够实现大量样品中对沙门氏菌进行快速筛查。虽然实时荧光 PCR 仪检测速度快、灵敏度高、结果准确,但是检测过程中所用的试剂耗材价格相对较高,在检测过程中需要专业的人员进行操作,同时操作环境也是影响结果准确性的重要因素。

2.1.3 数字 PCR

数字 PCR (Digital PCR, dPCR) 是一种单分子目标核酸分子绝对定量技术^[25]。相对于定量 PCR 技术,数字 PCR 技术可以直接数出 DNA 分子的个数,能够对起始样品绝对定量^[26]。该技术在基因相对表达研究、miRNA 表达分析、单细胞基因表达分析等领域得到了广泛的应用。赵新等^[27]利用液滴数字 PCR 技术建立了沙门氏菌毒力特异性基因 *invA* 的检测方法。与传统的国家标准沙门氏菌检测方法

相比,该方法具有更高的特异性和灵敏度,并且样品实测与传统国标法对比,二者符合率100%。CREMONESI等^[28]开发了一种基于液滴dPCR检测食源性致病菌的方法,可用于检测干酪中的李斯特菌属、沙门氏菌属、产生细胞毒素的大肠杆菌和弯曲杆菌属,实际应用中表明该方法拥有更高的灵敏度,并且无需标准曲线。

2.1.4 基因芯片技术

Fodor在1991年提出了生物芯片的概念,从此关于生物芯片的研究拉开了序幕^[29]。基因芯片技术的原理是将核酸分子以阵列形式分布在对应的载体上,再将载体与标记的样品在一定的环境下进行核酸分子杂交,在此过程中利用检测设备通过检测杂交信号的强弱以及变化以实现检测样品基因的信息分析^[30-31]。基因芯片技术已广泛应用于生命科学研究、食品安全检测和医学检测等领域^[32]。刘莹^[33]通过对比基因芯片法与常规检测法检测食源性致病菌,得出了基因芯片技术能够较为快速检出食源性致病菌,可替代常规培养法对致病菌进行检测的结论。徐晓静等^[34]建立了一种能够对肠道菌进行检测和鉴定的基因芯片技术,在实践过程中发现其所制备的肠道菌基因芯片能够快速灵敏地鉴别出沙门菌属、志贺菌属、葡萄球菌属和耶尔森菌。SARENGAOWA等^[35]建立了一种用于检测鲜切果蔬中食源性致病菌的原位合成基因芯片,用于检测鲜切哈密瓜和生菜中的包含鼠伤寒沙门氏菌在内的五种致病菌,结果显示,该方法的最低检测限约为1000 CFU/g,检测时长为24 h。

2.1.5 环介导等温扩增技术

LAMP技术是一种新的核酸扩增技术,具有简单、快速、特异性强等特点^[36],该方法是通过靶基因的6个区域设计4种特异性引物,在链置换脱氧核糖核酸聚合酶的作用下,完成核酸扩增反应^[37]。LAMP技术不需要PCR仪和昂贵的试剂,但对引物的设计有着较为严格的要求。LI等^[38]建立了一种针对基因62181533的环介导等温扩增方法,用于检测食品中的沙门氏菌,LAMP在32种沙门氏菌菌株和25种非沙门氏菌菌株的测定中具有100%的特异性。SAROWSKA等^[39]采用LAMP和生物发光的替代方法分析食品样品中沙门氏菌的检测频率,结果显示在8种材料的399种测试食品样品中,LAMP对沙门氏菌的检出率为100%,且该方法的灵敏度和准确度极高。MASOJI等^[40]建立了内部环介导的等温扩增反应,并评估了沙门氏菌检测的敏感性和特异性,发现该方法特异性强,其灵敏度是优化后PCR法的10倍。

2.2 生物传感器技术

生物传感器能够将生物物质敏感的程度通过生物传感器将其转换为电信号,经特定的设备进行转换,从而实现对生物物质的检测^[41]。根据分子识别元件的不同,可以将生物传感器分为酶传感器(Enzyme sensor)、微生物传感器(Microbial sensor)、免疫传感器(Immunol sensor)、组织传感器(Tissue sensor)和细胞器传感器(Organelle sensor)五大类,常见的生物敏感材料识别元件主要有生物酶、DNA或RNA等生物活性物质^[42]。与现行的传统标准检测方法相比,生物传感器检测技术的检测结果灵敏度更高、专一性更强、速度更快^[43]。NIYOMDECHA等^[44]利用噬菌体作为生物传感器模型,建立了一种电容式生物传感器技术,用于检测食源性沙门氏菌,最低检测浓度为200 CFU/mL,回收率为100%~111%。LOPEZ-TELLEZ等^[45]基于*Hechtia argentea*凝集素的阻抗生物传感器检测沙门氏菌,发现随着沙门氏菌浓度的增加,细菌与生物传感器表面的结合增加了阻抗,实现了 $15\sim 2.57\times 10^7$ CFU/mL线性检测范围,检测限为5 CFU/mL。QUINTELA等^[46]使用寡核苷酸-金纳米颗粒通过光学生物传感检测食品和环境样品的沙门氏菌,结果表明,光学AuNP生物传感平台可以同时筛选19种活的沙门氏菌菌株,其特异性为100%,纯培养和复杂基质设置的检测限均<10 CFU/mL。高灵敏度比色检测系统可以显著改善复杂食品和环境基质中存在的活沙门氏菌菌株的筛选和检测,从而降低污染风险和食源性疾病的发生率。

2.3 免疫分析检测技术

抗原与抗体彼此之间可以特异性识别,免疫分析检测技术就是根据这一原理建立的^[47],在这段特异性识别的过程中同位素、酶等物质起到了非常重要的作用,这些物质不仅可以检测到的信号进行放大,还能将其以结果的形式显示出来^[48]。免疫分析技术具有灵敏度较高、检测时间短、高通量等优点^[49],在日常的检测工作中,该方法常被用于微生物检测、疾病诊断等。

2.3.1 酶联免疫技术

酶联免疫法(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)是根据抗原能够特异性的识别相对应的抗体,并牢牢结合的原理进行设计的一种免疫学检测技术,后期可以根据显色反应以观察检测的结果^[50]。酶联免疫法凭借着其操作简便、灵敏度高、稳定性强、重现性好的特点,现已广泛应用于医疗检测和食品卫生安全检测等领域中。黄嫦娇等^[51]利用自动荧光酶联免疫分析方法对食品中的食源

性沙门氏菌进行检测,研究表明,在使用全自动荧光酶联免疫检测法对沙门氏菌属和非沙门氏菌属标准株进行检测时,食物中沙门氏菌检出率为100%,并且在检测期间没有出现假阳性的情况。何一欣^[52]通过研制肠炎沙门氏菌纳米抗体,建立了基于纳米抗体 Nb13 的双抗体夹心 ELISA 免疫检测方法,经过优化,肠炎沙门氏菌检测灵敏度为 1.4×10^5 CFU/mL,在实际样品检测中,该方法检测沙门氏菌的检测灵敏度范围为 1~10 CFU/mL。KHOSRAVI 等^[53]基于血清学的检测方法向样品中添加辣根过氧化物酶(Horseradish peroxidase, HRP)偶联的抗沙门氏菌抗体,结果表明,该方法能在不到 20 min 内分别检测水、PBS、牛奶和粪便样品中至少 30 、 30×10^3 和 3×10^3 CFU/mL 的鼠伤寒沙门氏菌。此外,使用酶免疫测定抗体检测,可检测浓度范围为 $4.3 \sim 70$ $\mu\text{g/mL}$ 的抗体。HU 等^[54]开发了一种针对沙门氏菌属特定基因 *invA* 的双重 PCR-ELISA 方法,结果表明,该方法在使用 25 种非目标细菌菌株作为对照时具有特异性,并且检测限为 1 CFU/mL,研究建立的双链 PCR-ELISA 方法已被证明具有高度的特异性、敏感性和可重复性,具有应用于食源性疾病临床诊断、食品卫生监测、食品病原体检测等领域的潜力。

2.3.2 免疫荧光检测技术

免疫荧光技术(Immunofluorescence technique)又被叫作荧光抗体技术^[55],这种检测方法能够将能发出荧光的物质标记在所需抗原或抗体上,与被检测样品中的抗原或抗体特异性结合后,由于荧光物质能够在一定的条件下发出荧光,可借助荧光显微镜观察待测样品中是否有荧光产生^[56-57]。早在 1975 年, KARLSSON 等^[58]就开始了沙门氏菌直接和间接免疫荧光染色的定量研究。PANDEY 等^[59]以抗 Vi 抗体作为捕获剂,采用免疫荧光分析法特异性检测伤寒沙门氏菌,检出限为 10 CFU/mL。SINGH 等^[60]建立了一种以金纳米粒子作为标记物检测环境水样中的伤寒沙门氏菌,结果表明该方法的诊断敏感性和分析敏感性分别为 100% 和 86.7%。侧流免疫层析(Lateral flow immunoassay, LFIA)条带的特异性为 100%。沙门氏菌 LFIA 条带的准确度为 93.1%,LFIA 条带阳性预测值为 1,阴性预测值为 0.875。

2.3.3 免疫磁珠分离技术

免疫磁珠分离技术(Immunomagnetic beads separation techniques, IMBS)的原理是在磁珠上包被能够和抗原相结合的特异性抗体,加到样品中与目标抗原结合,然后施加磁场,由于磁珠的磁反应,目

标抗原被富集^[61]。免疫磁珠分离技术具有灵敏度高、特异性强、分离速度快、适用样品范围广等特点,现已广泛应用于食源性病原体的检测^[62]。BI 等^[63]利用实时 LAMP 和 IMBS 相结合检测即食肉中的沙门氏菌,该方法可以特异性检测 0.85% 盐水溶液中低至 5 CFU/mL 的沙门氏菌,并且整个检测过程可在 3 h 内完成。李亚茹等^[64]建立了一种基于免疫磁分离和实时荧光定量 PCR 相结合检测沙门氏菌的方法,该方法对鼠伤寒沙门氏菌的最低检测限为 5×10^1 CFU/25 g,对猪霍乱沙门氏菌的最低检测限为 5×10^2 CFU/25 g,对肠炎沙门氏菌和副伤寒 A 型沙门氏菌的最低检测限为 1×10^2 CFU/25 g。DAI 等^[65]研究了 PCR 技术结合免疫磁性分离的微米和纳米免疫磁珠以检测沙门氏菌,该方法的最低检测限为 10 CFU/25 g。该方法对沙门氏菌引起的食源性疾病的防控具有现实意义。

2.4 其他快速检测技术

纳米技术(Nanotechnology)是一种研究结构尺寸在 1~100 nm 范围内材料的应用和性质的技术^[66]。随着纳米技术不断发展和完善,纳米材料已成为一种具有独特物理化学性质的新型材料^[67],其中一些纳米材料已应用在食源性致病菌的检测中,例如氧化石墨烯、碳纳米管、等离子纳米金、银纳米粒子等^[68]。纳米检测技术具有灵敏度高和简便快捷的特点,可实现现场高通量检测^[69]。YU 等^[70]建立了一种基于杂交链式反应和 Fe_3O_4 纳米颗粒的荧光传感器检测沙门氏菌的方法。该方法设计了一对基于沙门氏菌基因 *invA* 的特异性引物,并用于不对称 PCR 以产生目标单链 DNA(Single stranded DNA, ssDNA),用 Fe_3O_4 纳米颗粒分离目标 ssDNA,与探针杂交后,荧光信号降低,缓冲液中检测限为 7.4×10^1 CFU/mL,在 spiked lettuce 中检测限为 6.9×10^2 CFU/g。ZHANG 等^[71]将免疫检测系统与纳米颗粒相结合,建立了一种用于检测和筛查沙门氏菌感染的技术。该方法用于检测水、牛奶和鸡蛋中的沙门氏菌,最低检测限为 9 CFU/mL,整个检测过程可在 50 min 内完成。WANG 等^[72]通过整合金纳米粒子(AuNPs)和 DNA 量子点(DNA-qds),构建了一种新型自组装核-壳结构荧光探针(DNA-qps/AuNPs, DQA)用来检测伤寒沙门氏菌。结果表明伤寒沙门氏菌的检出范围为 $10 \sim 1.0 \times 10^7$ CFU/mL,检出限为 13.6 CFU/mL。在这个研究中所获得的 DQA 探针具有较高的特异性和稳定性。由于 DQA 探针合成方便、可快速制备,能够让技术人员更快捷高效地检测沙门氏菌。

3 结论与展望

食品安全是人们正常生活的重要保障,食品检验是其中的重要组成部分。预防食源性沙门氏菌疾病是涉及人类健康的公共卫生问题,同时也是国内食品加工企业面临的共同难题。做好食品检验对人们健康和食品企业的正常发展具有重要意义。

传统的食源性沙门氏菌的检测方法需要经过复杂的操作过程才能得到结果,虽然得到的结果准确,但是耗时较长,很难快速有效地检测出沙门氏菌,从而不能够及时预防食源性沙门氏菌的感染。因此,建立快速、灵敏、准确的检测方法尤为重要。目前已建立的食源性沙门氏菌快速检测技术与传统的检测方法相比表现出很多优点,这些方法在待测样品基质的检测限、灵敏度、特异性和成本效率方面各有不同的优势,但同时也具有一定的缺陷。以分子生物学为基础衍生而来的PCR技术、实时荧光PCR技术、基因芯片技术和核酸探针技术等具有快速、高效、灵敏、准确、检测成本低等优点,能够进行大批量检测,但是对技术人员和操作环境的要求相对较高,否则会导致结果出现假阳性。以酶联免疫法为代表的免疫分析技术能够在很短的时间内特异性地检测出结果,但是其灵敏度还有待提高。生物传感器技术具有灵敏度更高、专一性更强的特点,并且可以与其他检测技术相结合。但该技术存在着使用不便捷,对操作人员和实验环境的要求也相对较高等缺点,不宜在各个检测机构中推广。纳米技术是近些年才兴起的新型检测技术,纳米技术与常规的快速检测技术相结合,能够快速、灵敏、大批量检测样品,但是其检测成本相对较高。此外,还有很多其他的检测方法能够满足对致病菌有效、快速、准确的检测要求。

在众多食源性沙门氏菌的检测方法中,将两种或两种以上的检测方法相结合使用已成为一种新型的检测趋势,这样做的好处是能够将两种技术取长补短,更加准确、高效地检测出食品中的沙门氏菌,从而提高食源性致病菌的检测水平。目前,大部分快速检测技术都有着技术要求高、成本费用高、操作环境要求高的特点。随着科学技术发展,开发简便、快速、准确、廉价的检测方法,将是科研人员今后研究的目标。因此,在未来几年内,继续研究快速检测技术在食品检验领域的应用具有重要意义。

参考文献

[1] 李晨. 沙门氏菌中sRNA伴侣蛋白Hfq靶基因的寻找[D]. 贵阳: 贵州大学, 2019.

- LI C. Screening of sRNA chaperone hfq target gene in *Salmonella*[D]. Guiyang: Guizhou University, 2019.
- [2] 李杰, 丁承超, 翟续昭, 等. 沙门氏菌检测技术研究进展[J]. 微生物学杂志, 2017, 37(4): 126-132.
- LI J, DING C C, ZHAI X Z, et al. Advances in *Salmonella* detection techniques[J]. Journal of Microbiology, 2017, 37(4): 126-132.
- [3] 梁智安. 浅谈对食品安全国家标准微生物学检验方法的理解与应用[J]. 科技信息, 2011(4): 37-38.
- LIANG Z A. Qiantan dui shipinanquan guojibiaozhun weishengwuxue jiancefangfa de lijie yu yingyong[J]. Science & Technology Information, 2011(4): 37-38.
- [4] ABDELHASEIB M U, SINGH A K, BAILEY M, et al. Fiber optic and light scattering sensors: Complimentary approaches to rapid detection of *Salmonella enterica* in food samples[J]. Food Control, 2016, 61: 135-145.
- [5] 刘卫德, 刘绪平, 章瑛, 等. 中成药中沙门氏菌实时荧光PCR检测法的建立及优化[J]. 中国医药生物技术, 2022, 17(1): 59-63.
- LIU W D, LIU X P, ZHANG Y, et al. Establishment and optimization of the real-time PCR detection method for *Salmonella* in Chinese patent medicine [J]. Chinese Medicinal Biotechnology, 2022, 17(1): 59-63.
- [6] 李双, 韩殿鹏, 彭媛, 等. 食品安全快速检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(17): 5575-5581.
- LI S, HAN D P, PENG Y, et al. Research progress of food safety rapid detection technology [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(17): 5575-5581.
- [7] ISO. Microbiology of the food chain—Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella*—Part 1: Detection of *Salmonella* spp.: ISO 6579-1—2017 [S]. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization, 2017.
- [8] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验: GB 4789.4—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- National Health and Family Planning Commission, National Food and Drug Administration. Food safety national standards, Food microbiological analysis, *Salmonella* testing: GB 4789.4—2016 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2016.
- [9] 伍燕华, 牛瑞江, 赖卫华, 等. 双抗夹心酶联免疫吸附法检测沙门氏菌[J]. 食品工业科技, 2014, 35(10): 62-65.
- WU Y H, NIU R J, LAI W H, et al. Detection of *Salmonella* by double antibody sandwich ELISA[J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(10): 62-65.
- [10] 程浩. 食品中沙门氏菌检测方法比较[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(30): 202-204.
- CHENG H. Comparison of detection methods of *Salmonella* in food[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2018, 46(30): 202-204.
- [11] SAHIB H. Molecular Biology: Lec 1 Molecular biology History of Molecular Biology [M/OL]. 2020. <https://www.researchgate.net/publication/347553382>
- [12] 杨柳, 胡文忠, 姜爱丽, 等. 分子生物学方法检测沙门氏菌的研究进展[J]. 食品工业科技, 2016, 37(9): 372-375, 379.

- YANG L, HU W Z, JIANG A L, et al. Research progress in molecular biology methods for detection of *Salmonella* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(9): 372-375, 379.
- [13] KIM K, PARK S, CHO Y, et al. Comparison of different primers and enrichment media for the rapid detection of *Salmonella* using polymerase chain reaction [J]. Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2014, 38(3): 69-73.
- [14] FITZGERALD C, COLLINS M, VAN DUYN S, et al. Multiplex, bead-based suspension array for molecular determination of common *Salmonella* serogroups [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2007, 45(10): 3323-3334.
- [15] KIM K, KIM D, SUN J S, et al. Comparative evaluation of the murine immune responses to *Salmonella enterica* serovars Enteritidis, Gallinarum and Typhimurium infection [J]. Korean Journal of Veterinary Research, 2013, 53(2): 95-101.
- [16] MALORNY B, HUEHN S, DIECKMANN R, et al. Polymerase chain reaction for the rapid detection and serovar identification of *Salmonella* in food and feeding stuff [J]. Food Analytical Methods, 2009, 2(2): 81-95.
- [17] ÖZ Y Y, SÖNMEZ Ö İ, KARAMAN S, et al. Rapid and sensitive detection of *Salmonella* spp. in raw minced meat samples using droplet digital PCR [J]. European Food Research and Technology, 2020, 246(10): 1895-1907.
- [18] KAUSHIK P, ANJAY, DAYAL S. Rapid PCR detection of *Salmonella* from stool samples [J]. Journal of Veterinary Public Health, 2014, 12(2): 71-74.
- [19] YANG X J, LI H G, WU Q P, et al. Comparison of direct culture, immunomagnetic separation/culture, and multiplex PCR methods for detection of *Salmonella* in food [J]. Food Science and Technology Research, 2015, 21(5): 671-675.
- [20] 李金明. 实时荧光 PCR 技术 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2007.
- LI J M. Real-time fluorescence PCR technology [M]. Beijing: People's Military Medical Press, 2007.
- [21] 刘冉, 赵玉琢, 孙铭英, 等. 建立实时荧光 PCR 快速鉴定鸡制品中鸡伤寒沙门氏菌的方法 [J]. 辽宁师范大学学报: 自然科学版, 2014, 37(2): 252-257.
- LIU R, ZHAO Y Z, SUN M Y, et al. The rapid identification method of *Salmonella gallinarum* by real-time fluorescent PCR [J]. Journal of Liaoning Normal University: Natural Science Edition, 2014, 37(2): 252-257.
- [22] ZENDRINI A, CARTA V, FILIPELLO V, et al. One-day molecular detection of *Salmonella* and campylobacter in chicken meat: A pilot study [J]. Foods: Basel, Switzerland, 2021, 10(5): 1132.
- [23] HUANG C X, MAHBOUBAT B Y, DING Y F, et al. Development of a rapid *Salmonella* detection method via phage-conjugated magnetic bead separation coupled with real-time PCR quantification [J]. LWT, 2021, 142: 111075.
- [24] 王凤军, 叶素丹. TaqMan 实时荧光 PCR 对沙门氏菌能力验证样品的快速检测与鉴定 [J]. 现代食品科技, 2020, 36(12): 300-306, 83.
- WANG F J, YE S D. Rapid detection and identification of *Salmonella* in proficiency testing samples by TaqMan real-time fluorescent PCR [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(12): 300-306, 83.
- [25] 李亮, 隋志伟, 王晶, 等. 基于数字 PCR 的单分子 DNA 定量技术研究进展 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2012, 39(10): 1017-1023.
- LI L, SUI Z W, WANG J, et al. Progress of digital PCR for single DNA quantification [J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2012, 39(10): 1017-1023.
- [26] 尚雷鹏, 刘金杰, 张庆霞. 数字 PCR 技术及其在法医学中的应用 [J]. 中国司法鉴定, 2019(6): 31-35.
- SHANG L P, LIU J J, ZHANG Q X. Digital PCR technology and its applications in forensic science [J]. Chinese Journal of Forensic Sciences, 2019(6): 31-35.
- [27] 赵新, 兰青阔, 陈锐, 等. 应用微滴数字 PCR 技术快速检测食用菌中沙门氏菌 [J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(3): 315-321.
- ZHAO X, LAN Q K, CHEN R, et al. Rapid detection of *Salmonella* spp. in edible fungi by droplet digital PCR [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2017, 36(3): 315-321.
- [28] CREMONESI P, CORTIMIGLIA C, PICOZZI C, et al. Development of a droplet digital polymerase chain reaction for rapid and simultaneous identification of common foodborne pathogens in soft cheese [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 1725.
- [29] LEE M. Microarray Technology [M]. US: Springer, 2004: 19-43.
- [30] 袁文龙, 康占海, 陶晔, 等. 基因芯片技术及其在植物中的应用 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(26): 14279-14280, 14297.
- YUAN W L, KANG Z H, TAO B, et al. Gene chip technology and its application in plants [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2010, 38(26): 14279-14280, 14297.
- [31] 米静, 吴移谋. 基因芯片在衣原体研究中的应用 [J]. 微生物学免疫学进展, 2014, 42(4): 72-75.
- MI J, WU Y M. Application of microarray in chlamydia study [J]. Progress in Microbiology and Immunology, 2014, 42(4): 72-75.
- [32] 尹超. 基因芯片技术在食品检测中的应用 [J]. 食品安全导刊, 2021(23): 191-192.
- YIN C. Application of microarray technology to food testing [J]. China Food Safety Magazine, 2021(23): 191-192.
- [33] 刘莹. 基因芯片法与常规检测法在食源性疾病中的应用对比分析 [J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(19): 6478-6482.
- LIU Y. Comparative analysis of application of gene chip method and routine detection method in foodborne diseases [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(19): 6478-6482.
- [34] 徐晓静, 文思远, 韩毅. 应用基因芯片方法检测几种肠道菌 [J]. 华北农学报, 2007, 22(1): 182-183.
- XU X J, WEN S Y, HAN Y. Detection and identification of intestinal bacteria by oligonucleotide array [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2007, 22(1): 182-183.
- [35] SARENGAOWA, HU W Z, FENG K, et al. An in situ-synthesized gene chip for the detection of food-borne pathogens on fresh-cut cantaloupe and lettuce [J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 10: 3089.
- [36] 刘永生, 丁耀忠, 张杰. 环介导等温扩增 (LAMP) 技术的应用研究 [J]. 中国农学通报, 2010, 26(8): 87-89.
- LIU Y S, DING Y Z, ZHANG J. Application and research of

- loop mediated isothermal amplification (LAMP) assay[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(8): 87-89.
- [37] 张萍, 冯芳. 沙门氏菌的检测技术和方法的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(5): 1834-1841.
- ZHANG P, FENG F. Research progress of *Salmonella* detection techniques and methods[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2015, 6(5): 1834-1841.
- [38] LI J J, ZHAI L G, BIE X M, et al. A novel visual loop-mediated isothermal amplification assay targeting gene *6218I533* for the detection of *Salmonella* spp. in foods[J]. Food Control, 2016, 60: 230-236.
- [39] SAROWSKA J, FREJ-MADRZAK M, JAMA-KMIECIK A, et al. Detection of *Salmonella* in foods using a reference PN-ISO method and an alternative method based on loop-mediated isothermal amplification coupled with bioluminescence[J]. Advances in Clinical and Experimental Medicine: Official Organ Wroclaw Medical University, 2016, 25(5): 945-950.
- [40] MASOJI V R, ZENDE R J, SURYAWANSHI R D, et al. Rapid detection of *Salmonella* spp. in animal origin foods by in-house developed loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay [J]. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 2017, 6(4): 2523-2532.
- [41] 潘宇祥. 生物传感器的研究进展综述[J]. 生物技术世界, 2014, 11(3): 127.
- PAN Y X. A review of the development of biosensors [J]. Biotech World, 2014, 11(3): 127.
- [42] 冯瑞华. 国外纳米生物传感器研究新进展[J]. 新材料产业, 2010(5): 64-67.
- FENG R H. New developments in foreign nanobiosensor research [J]. Advanced Materials Industry, 2010(5): 64-67.
- [43] 班美静, 满燕, 潘立刚. 核酸适配体生物传感技术在沙门氏菌定量检测中的应用[J]. 广东农业科学, 2019, 46(10): 114-122.
- BAN M J, MAN Y, PAN L G. Application of aptamer biosensor technology in the quantitative detection of *Salmonella*[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2019, 46(10): 114-122.
- [44] NIYOMDECHA S, LIMBUT W, NUMNUAM A, et al. Phage-based capacitive biosensor for *Salmonella* detection[J]. Talanta, 2018, 188: 658-664.
- [45] LOPEZ-TELLEZ J, SANCHEZ-ORTEGA I, HORNUNG-LEONI C T, et al. Impedimetric biosensor based on a *Hechtia argentea* lectin for the detection of *Salmonella* spp [J]. Chemosensors, 2020, 8(4): 115.
- [46] QUINTELA I A, DE LOS REYES B G, LIN C S, et al. Simultaneous colorimetric detection of a variety of *Salmonella* spp. in food and environmental samples by optical biosensing using oligonucleotide-gold nanoparticles[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 1138.
- [47] 周映霞, 焦必宁, 潘家荣. 免疫分析技术在杀菌剂残留检测中的应用[J]. 世界农药, 2010, 32(1): 53.
- ZHOU Y X, JIAO B N, PAN J R. Application of immunoassay technique in detection of fungicide residue [J]. World Pesticides, 2010, 32(1): 53.
- [48] 汤家宝, 李廷栋, 郭小怡, 等. 免疫检测信号放大技术研究进展[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2020, 40(2): 160-164.
- TANG J B, LI T D, GUO X Y, et al. Research progress in signal amplification for immunoassays[J]. Chinese Journal of Microbiology and Immunology, 2020, 40(2): 160-164.
- [49] 熊玉锋. 基于均相免疫分析技术检测蛋白质相互作用的方法建立及其在新药研发中的应用[D]. 广州: 南方医科大学, 2018.
- XIONG Y F. Development of A Novel Homogeneous Assay to Detect Protein-protein Interaction and Application to Screening of New Drugs [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2018.
- [50] 张奇亚, 桂建芳. 水生病毒及病毒病图鉴[M]. 北京: 科学出版社, 2012.
- ZHANG Q Y, GUI J F. Atlas of aquatic viruses and viral diseases[M]. Beijing: Science Press, 2012.
- [51] 黄嫦娇, 黄晓蓉, 郑晶, 等. 全自动荧光酶联免疫方法检测食品中沙门氏菌[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(10): 5320-5321, 5323.
- HUANG C J, HUANG X R, ZHENG J, et al. Detection of *Salmonella* in food samples by VIDAS method[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2010, 38(10): 5320-5321, 5323.
- [52] 何一欣. 肠炎沙门氏菌纳米抗体的制备及免疫分析检测方法的建立[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- HE Y X. The development of nanobody and construction of immunoassay towards *Salmonella enteritidis*[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2019.
- [53] KHOSRAVI M, GHARIBI D, MORADI N, et al. Evaluation of a rapid enzyme immunoassay test for diagnosis of contamination of milk, water and feces to *Salmonella Typhimurium*[J]. Veterinarski Arhiv, 2020, 90(5): 509-516.
- [54] HU J Q, HUANG R N, WANG Y, et al. Development of duplex PCR-ELISA for simultaneous detection of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 in food[J]. Journal of Microbiological Methods, 2018, 154: 127-133.
- [55] 朱兴全. 免疫荧光技术[J]. 甘肃畜牧兽医, 1988, 18(4): 37-39.
- ZHU X Q. Immunofluorescence technique[J]. Gansu Animal and Veterinary Sciences, 1988, 18(4): 37-39.
- [56] 邵惠训. 标记抗体技术与病毒快速诊断[J]. 生物工程进展, 1987, 7(6): 52-56.
- SHAO H X. Labeled antibody technology and rapid viral diagnosis[J]. Progress in Biotechnology, 1987, 7(6): 52-56.
- [57] 杨黎明, 任丽丽, 刘丽萍. 浅析免疫组化技术[J]. 医学信息, 2016, 29(21): 199-200.
- YANG L M, REN L L, LIU L P. Analysis of immunohistochemical techniques [J]. Medical Information, 2016, 29(21): 199-200.
- [58] KARLSSON K A, THORE A, KUDYNOWSKI J. Quantitative studies of direct and indirect immunofluorescent staining of *Salmonella* bacteria[J]. Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Section B Microbiology, 1975, 83B(1): 17-24.
- [59] PANDEY S K, VINAYAKA A C, RISHI D B, et al. Immunofluorescence based Vi capsular polysaccharide detection for specific recognition of *Salmonella enterica* serovar Typhi in clinical samples[J]. Analytica Chimica Acta, 2014, 841: 51-57.
- [60] SINGH J, SHARMA S, NARA S. Nanogold based lateral flow

- assay for the detection of *Salmonella typhi* in environmental water samples[J]. *Analytical Methods*, 2015, 7(21): 9281-9288.
- [61] 盛跃颖, 陈敏. 免疫磁珠分离技术在病原微生物检测中的应用[J]. *中国食品卫生杂志*, 2011, 23(5): 478-481.
SHENG Y Y, CHEN M. Application of immunomagnetic beads separation techniques in microbiology [J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2011, 23(5): 478-481.
- [62] 刘细霞, 涂俊铭. 免疫磁珠分离技术及其在食源性致病菌检测中应用的进展[J]. *中国抗生素杂志*, 2014, 39(12): 956-960.
LIU X X, TU J M. Immunomagnetic beads separation techniques and its application progress in detection of food borne pathogens [J]. *Chinese Journal of Antibiotics*, 2014, 39(12): 956-960.
- [63] BI Y, SHU M, ZHONG C, et al. A novel SDS rinse and immunomagnetic beads separation combined with real-time loop-mediated isothermal amplification for rapid and sensitive detection of *Salmonella* in ready-to-eat duck meat [J]. *Food Analytical Methods*, 2020, 13(5): 1166-1175.
- [64] 李亚茹, 周冬根, 夏杏洲, 等. 免疫磁珠分离-实时荧光PCR快速检测虾中沙门氏菌[J]. *现代食品科技*, 2017, 33(11): 235-242.
LI Y R, ZHOU D G, XIA X Z, et al. Rapid detection of *Salmonella* in shrimp by immunomagnetic separation combined with real-time PCR [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2017, 33(11): 235-242.
- [65] DAI F Y, ZHANG M, XU D X, et al. The development of methods for the detection of *Salmonella* in chickens by a combination of immunomagnetic separation and PCRs [J]. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2017, 64(6): 888-894.
- [66] 郭鸣华. 什么是纳米技术[J]. *当代检察官*, 2019, 4: 54.
- GUO M H. What is nanotechnology [J]. *Contemporary Prosecutor*, 2019, 4: 54.
- [67] 张金超, 杨康宁, 张海松, 等. 碳纳米材料在生物医学领域的应用现状及展望[J]. *化学进展*, 2013, 25(S1): 397-408.
ZHANG J C, YANG K N, ZHANG H S, et al. Application status and prospect of carbon-based nanomaterials in biomedical field [J]. *Progress in Chemistry*, 2013, 25(S1): 397-408.
- [68] KURT H, YÜCE M, HUSSAIN B, et al. Dual-excitation upconverting nanoparticle and quantum dot aptasensor for multiplexed food pathogen detection [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2016, 81: 280-286.
- [69] 黄菲, 周慧, 毛云飞, 等. 纳米电化学传感器在心血管系统药物检测领域的研究进展[J]. *江苏工程职业技术学院学报*, 2020, 20(4): 1-7.
HUANG F, ZHOU H, MAO Y F, et al. Research progress of nano electrochemical sensors in cardiovascular drugs testing [J]. *Journal of Jiangsu College of Engineering and Technology*, 2020, 20(4): 1-7.
- [70] YU S, TANG Y Z, YAN M Y, et al. A fluorescent cascade amplification method for sensitive detection of *Salmonella* based on magnetic Fe₃O₄ nanoparticles and hybridization chain reaction [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2019, 279: 31-37.
- [71] ZHANG L D, DU X W, CHEN Z X, et al. Instrument-free and visual detection of *Salmonella* based on magnetic nanoparticles and an antibody probe immunosensor [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(18): 4645.
- [72] WANG Q, CHENG X C, LI H H, et al. A novel DNA quantum dots/aptamer-modified gold nanoparticles probe for detection of *Salmonella typhimurium* by fluorescent immunoassay [J]. *Materials Today Communications*, 2020, 25: 101428.