

## 沙门氏菌分析检测方法研究进展

李傲, 贾波, 刘枫, 乔克, 陆娟\* (襄阳市公共检验检测中心, 湖北襄阳 441104)

**摘要** 沙门氏菌是一种常见的食源性致病菌, 可引发多种人畜共患病。在世界各国的细菌性食物中毒事件中, 沙门氏菌造成的中毒病例常居首位, 严重威胁着人畜的生命健康。对食品中的沙门氏菌进行准确、快速的分析检测可预防该致病菌引发的食源性疾病, 对于保障人畜的饮食安全具有重要意义。综述了检测沙门氏菌的几种典型分析方法及其优缺点, 并对沙门氏菌检测技术的发展进行了展望。

**关键词** 沙门氏菌; 食品安全; 检测方法; 研究进展

中图分类号 TS 207.4 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)02-0005-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.02.002



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

### Research Progress in Analysis and Detection Methods for *Salmonella*

LI Ao, JIA Bo, LIU Feng et al (Xiangyang Public Inspection and Testing Center, Xiangyang, Hubei 441104)

**Abstract** *Salmonella* is a common food-borne pathogen that can cause a variety of zoonotic diseases. Among the bacterial food poisoning incidents in various countries in the world, the poisoning cases caused by *Salmonella* are often the first, which seriously threatens the lives and health of both humans and animals. Accurate and rapid analysis and detection of *Salmonella* in food can prevent food-borne diseases caused by the pathogenic bacteria, which is of great significance for ensuring the safety of human and animal diets. This paper reviews several typical analytical methods for the detection of *Salmonella* with their advantages and disadvantages, and prospects for the development of *Salmonella* detection technology.

**Key words** *Salmonella*; Food safety; Detection methods; Research progress

沙门氏菌属肠杆菌科, 是革兰氏阴性肠道杆菌, 最早于 1885 年被美国细菌学家 Salmon 和 Smith 从霍乱中分离并发现<sup>[1]</sup>, 目前已发现近 3 000 种血清型<sup>[2]</sup>。沙门氏菌的生存能力较强, 对营养条件要求较低, 在肉、蛋、奶、面包等各类食品和土壤、粪便等基质中可存活 5 个月至 2 年, 因其在污染食品后不会出现明显的感官性状变化, 因而极易被人类和畜禽误食并引发食源性疾病<sup>[3]</sup>, 如人类胃肠炎、败血症、类伤寒等感染型食物中毒, 以及鸡白痢、猪霍乱、禽伤寒等动物性疾病。近年来, 沙门氏菌引发的食品安全事件在世界范围内频繁发生。通常, 正常人体摄入沙门氏菌食用量超过  $10^5$  CFU 即可造成感染, 而免疫功能低下或高度易感人群摄入 15~20 CFU 即可引起沙门氏菌感染<sup>[4]</sup>。人体在感染沙门氏菌后, 初期症状表现为发烧、腹泻、恶心、呕吐等, 若不及时进行治疗则会导致病情持续恶化, 最终死亡率可达 10%<sup>[5-6]</sup>, 因此, 沙门氏菌是食源性致病菌的重点监控对象, 对其进行准确、快速地检测, 是预防和控制由于沙门氏菌感染而导致的食源性疾病的有效手段。目前, 沙门氏菌的检测方法主要有传统的平板培养和生化鉴定法、免疫学检测方法、分子生物学检测方法, 以及近年来开发出的各种新型检测技术, 如基于适配体的生物传感器技术、微流控技术、量子点技术等, 这些方法为沙门氏菌的精准化检测提供了更多选择, 也为其进行即时检测启迪了新的思路。

#### 1 传统标准检测法

目前国际和国内用于检测食品中沙门氏菌的主要标准方法有国际标准 ISO 6579:2002《食品和动物饲料的微生物学沙门氏菌水平位置的检测法》<sup>[7]</sup>和《食品安全国家标准

食品卫生微生物学检验沙门氏菌检验》(GB 4789.4-2016)<sup>[8]</sup>。这 2 种标准方法都是基于沙门氏菌的生长及生化特性, 检测过程具体可分为 5 个步骤, 即 18~24 h 前增菌、24 h 选择性增菌、48 h 分离培养、生化鉴定以及血清分型等, 检测时长 4~7 d, 操作过程烦琐, 结果判定迟缓, 且由于肠杆菌科细菌间的生化反应多有交叉, 因而在快速、灵敏与特异性等方面有所不足。近年来, 有学者在传统检测方法的基础上尝试进行了改进工作, 如用疏水网膜法(HGMF)<sup>[9]</sup>提高菌体富集效率; 或用添加物质法<sup>[10]</sup>和显色培养基法<sup>[11]</sup>提高菌体的分离与鉴定效率。这些改进方法在不同程度上缩短了检测时长或降低了检测限, 但仍未从根本上改变传统生化鉴定法耗时费力、效率低下的现状, 因此有待开发更加快速、简便的检测方法。

#### 2 基于免疫学的检测方法

基于免疫学的检测方法检测致病菌的原理是以菌体表面抗原和其对应的单抗或多抗间的特异性结合反应为基础, 再辅以其他结果输出手段加以鉴定。由于免疫学的方法具有特异性较强、灵敏度较高的特点, 靶标菌可在较短的时间内被检出, 因此在食品微生物检测中的应用相对广泛。目前已经建立的沙门氏菌免疫学检测方法主要分为酶联免疫吸附法(ELISA)、免疫荧光法、免疫磁珠分离技术、以同位素标记抗体(放射免疫试验)为基础的方法, 以及其他多种以抗体为基础, 利用乳胶凝集、免疫传感器、免疫扩散、免疫印迹及免疫色谱技术等方法<sup>[12]</sup>, 其中, 以前 3 种的应用更为常见。

**2.1 酶联免疫吸附法** 酶联免疫吸附测定法(ELISA)用于检测食品中沙门氏菌的历史最早可追溯至 1977 年<sup>[13]</sup>, 该法至今仍被广泛用于食源性致病菌的检测。以双抗体夹心法为例, 其基本原理大致如下: 抗体预先结合在载体表面, 然后依次加入受检样品和酶标抗体使其与载体上的抗体发生反

**作者简介** 李傲(1993—), 男, 湖北襄阳人, 硕士, 从事食品安全检测研究。\*通信作者, 副主任药师, 从事食品药品质量控制及基础研究。

**收稿日期** 2021-05-16; **修回日期** 2021-06-16

应形成“固定化抗体-靶标抗原-酶标抗体”复合物,洗涤后加入酶反应底物,底物被复合物上的酶催化变为有色产物,最后通过定量分析有色产物即可确定样品中待测物的含量<sup>[14]</sup>。伍燕华等<sup>[15]</sup>以抗沙门氏菌多克隆抗体和抗沙门氏菌单克隆抗体分别作为捕获抗体和检测抗体,建立了快速检测沙门氏菌的双夹心 ELISA 法,该法可以同时检测 A、B、C、D、E 等多种类型沙门氏菌。此外,间接 ELISA 也常被应用于实际检测当中,有学者用该法分别成功检测了鼠伤寒沙门氏菌和肠炎沙门氏菌<sup>[16-17]</sup>。通常,常规 ELISA 法的检测限大致为  $10^4 \sim 10^5$  CFU/mL,检时长约为 48 h<sup>[18]</sup>,检测效率和检测通量相对于传统检测法有明显提高,但仍然耗时费力,无法避免检测前的长时间增菌过程,且在实际操作中如果洗板不彻底则易出现假阴性结果,洗板过度容易造成假阴性结果,因此对试验人员的操作技巧要求较高。

**2.2 免疫荧光法** 免疫荧光检测是一种结合了荧光标记技术的免疫学检测方法,用该法检测沙门氏菌的具体操作是先用荧光素标记抗沙门氏菌抗体制成荧光标记物,再以其作为分子探针检查样品中的沙门氏菌,最后在荧光显微镜下观察样品,并根据实际荧光情况定位和定量靶细菌<sup>[11]</sup>。研究发现,用免疫荧光法检测样品中的沙门氏菌,结果可以检测玻片样品 120 个/h,与传统检测法相比,准确率高达 96%;用该法检测沙门氏菌,可同时进行 14 个样品的检测工作,结果准确度高<sup>[19]</sup>。还有学者利用表面吸附的原理将检测样品吸附于一种薄膜上,然后在荧光显微镜下观察结果,检测限可达  $10^3 \sim 10^5$  CFU/mL<sup>[20]</sup>。Pandey 等<sup>[21]</sup>开发了一种夹心免疫荧光分析法用以检测伤寒沙门氏菌,该法以多黏菌素 B 和抗 Vi 抗体分别作为黏结剂和捕集剂,以碱性磷酸酶和对硝基苯酚磷酸盐分别为标记物和显色底物,最终的检测限达 10 CFU/mL。总之,这种检测方法检测速度快、灵敏度高、特异性较强,但是也不排除可能存在的非特异性染色、结果判定主观性较强等问题。

**2.3 免疫磁珠分离检测** 免疫磁珠分离技术就是将特异性抗体偶联至磁珠表面制得免疫磁珠,该磁珠可以在短时间内快速选择性地捕获液态食品中可能存在的少量靶标物(如致病微生物等),然后在外加磁场如磁力架的作用下,免疫磁珠带动靶标物定向移动,进而从食品基质中实现对靶标物的分离与富集,再结合其他快速检测技术作为信号输出手段,即可在几小时内完成检测全过程。该法检测效率高、适用范围广,因而在食源性致病菌检测中得到广泛的应用<sup>[22]</sup>。Skjerve 等<sup>[23]</sup>用此法实现了每 1 g 原始样品中 10~20 个沙门氏菌的分离效率,并在蔬菜和肉类食品中分离出靶标菌,检测限达 100 CFU/g。近年来,李亚茹等<sup>[24]</sup>用免疫磁珠分离技术结合实时荧光 PCR 技术在 6 h 内对虾中 4 种不同的沙门氏菌实现了快速检测,并在 40 份实际样品的检测中获得了与国际检测法一致的结果。Mansfield 等<sup>[25]</sup>曾比较过免疫磁珠分离技术和常规方法分别对沙门氏菌从食品基质中的分离效果,他们对生鸡肉等 120 种食物样品进行了测试,结果表明,免疫磁珠分离技术和标准富集方法的分离效果基本一致,不过

前者在检测时长方面占据绝对优势。免疫磁珠分离技术能捕获因受损伤而不具备增殖能力的靶细菌,而目前所用的几种常规方法则不具备这样的能力。

### 3 基于分子生物学的检测方法

近年来,以分子生物学技术为基础的分析检测方法发展迅速,其基本原理是通过检测特定核酸序列的特异性来分离鉴定不同种类或不同生理状态的微生物<sup>[26]</sup>。常用的分子生物学检测技术包括聚合酶链式反应(PCR)技术、环介导等温扩增(LAMP)技术、基因芯片(gene chip)技术等<sup>[27]</sup>,这些方法以其灵敏、特异、快速的优点而逐步应用于食源性致病菌的鉴定和检测。

**3.1 聚合酶链式反应(PCR)技术** PCR 检测法与传统的检测方法相比,具有特异性强、灵敏度和自动化程度都较高的优点,在生物检测领域中通常作为一种信号放大手段,尤其适合微量抗原的检测。Delibato 等<sup>[28]</sup>用实时荧光定量 PCR 法检测猪肉样品中的沙门氏菌,检测限低至 10 CFU/25g,并且结果表明,该法与 ISO 6579:2002 标准方法展现出了较好的一致性。Alves 等<sup>[29]</sup>首次运用了一种包含内部放大控制(internal amplification control, IAC)机制的多重实时荧光定量 PCR 法(multiplex real-time PCR)来同时检测鸡肉样品中的沙门氏菌和弯曲杆菌,未经富集培养和经过 24 h 富集培养得到的沙门氏菌检测限分别为  $10^6$  和 1 CFU/mL,实现了快速同时检测样品中沙门氏菌等致病菌的目标,其中 IAC 的使用可以有效规避假阴性问题,提高检测的准确性。王青龙等<sup>[30]</sup>通过实时荧光 PCR 法快速准确地检测出亚利桑那沙门氏菌和其他沙门氏菌,灵敏度可达 1~10 CFU/mL,程玲玲等<sup>[31]</sup>建立了一种无须核酸提取的直接 PCR 法检测鸡白痢沙门氏菌,检测限不超过  $10^3$  CFU/mL。总之,PCR 法具有较好的灵敏性,然而在样品实际检测的各环节中由于对引物设计有时要求较高,实验操作需相对精细,因此结果的重复性偶尔较差。

**3.2 环介导等温扩增(LAMP)技术** LAMP 技术是日本学者 Notomi 等<sup>[32]</sup>在 2000 年发明的一种基于 PCR 但无须变温的核酸扩增技术,其基本原理是在一种具有链置换活性的 DNA 聚合酶作用下,4 条特异性引物与靶基因在 60~65 °C 范围内恒温反应 1 h 即可实现对目的基因的高效扩增。Li 等<sup>[33]</sup>根据沙门氏菌高度特异性基因 62181533 建立了相应的 LAMP 法用以检测食品中的沙门氏菌,检测结果与标准方法基本一致,且检测限低至 4.1 CFU/mL。该法特异性强、灵敏度高、检测时间短、成本低,具有传统方法和 PCR 技术不可比拟的优势;该法对引物设计的要求较高,并且容易因操作环境和细菌种类等因素造成气溶胶污染和假阳性问题。近年来,LAMP 法被相继改进,特异性得到明显提高。郭澍强等<sup>[34]</sup>基于沙门氏菌 *invA* 特异性基因建立了一种灵敏度高于普通 PCR 的 LAMP 法,检测限为 10 CFU/mL,可用于食品样品中 6 个肠道沙门氏菌亚种的快速检测。王冠蕾<sup>[35]</sup>基于沙门氏菌 *siia* 基因建立了一种可视化的 LAMP 法用于检测婴幼儿配方奶粉中的沙门氏菌污染情况,检测限为 63 CFU/g,

总检测时长不超过 90 min。Zhang 等<sup>[36]</sup>开发了一种免疫捕获环介导的等温扩增 (IC-LAMP) 技术,用于快速且可视化地检测污水和牛奶样品中的沙门氏菌,检测限为 5 CFU/mL,检测时间仅为 50 min。由此可见,改进后的 LAMP 检测法特异性强、灵敏度高,检测用时短,具有良好的应用前景。

**3.3 基因芯片技术** 基因芯片检测技术是基于核酸杂交原理,将大量序列已知的核酸探针固定于基片上,可同时对多种核酸分子进行分析检测,是一种高通量且自动化程度较高的检测技术。许俊钢等<sup>[37]</sup>利用基因芯片技术检测了沙门氏菌等 4 种细菌的 30 份样本,8 h 内得到了准确的检测结果。祝儒刚等<sup>[38]</sup>对基因芯片技术和多重 PCR 技术进行了比较,结果发现前者比后者的灵敏度高出一个数量级;同时也建立了一种结合了多重 PCR 技术的基因芯片法,并成功用于沙门氏菌和志贺氏菌等 5 种食源性致病菌的快速检测。Sarengaowa 等<sup>[39]</sup>建立了一种原位合成的基因芯片法,该法在未经培养的条件下可在 24 h 内同时检测新鲜水果和蔬菜中的沙门氏菌等 5 种食源性致病菌。基因芯片技术融合了分子生物学与计算机科学的优势,一般可用于对多种食源性致病菌的同时检测,若再对核酸探针标记以荧光染料,则可对靶标进行可视化检测;然而,目前利用基因芯片技术检测沙门氏菌仍然存在技术成本(探针合成与固定、分子标记、数据读取与分析等方面)较高、重复性较差等问题,因而应用范围并不广泛。近年来,随着 POCT 的迅速发展,基因芯片检测法也有望得到进一步改进与完善。

## 4 沙门氏菌的新型检测方法

**4.1 生物传感器检测技术** 生物传感器具有接收、转换和放大信号的能力,对生物物质敏感并且可将其浓度信息转化为其他便于分析的信号进行检测,一般由固定化的生物敏感材料作为识别元件、适当的理化转换器和信号放大装置组成。目前用于沙门氏菌检测的生物传感器主要包括酶传感器、免疫传感器、电化学传感器、基因传感器、光敏传感器以及近年来发展迅速的各种复合型传感器(以适配体传感器居多)。徐连应等<sup>[40]</sup>建立了一种基于复合纳米材料和酶切信号放大的电化学适配体传感器检测沙门氏菌,该法充分利用了适配体对靶标菌响应的特异性以及电化学监测的灵敏性,检测限可达 200 CFU/mL,在羊奶样品检测中得到了理想的回收率,是一种简便、灵敏且低成本的检测方法。此外,基于光谱学的适配体传感器近年来也发展迅速,肖稳等<sup>[41]</sup>建立了一种羧甲基壳聚糖-分子信标-金纳米生物传感器用于检测鼠伤寒沙门氏菌,该法利用了适配体结合靶标时的构象变化和相继发生的金纳米团聚比色的原理进行分析,根据最终显色反应的吸光度情况来确定含有 SSeC 基因的靶标菌的数量,对靶标 DNA 的检测下限为 50 nmol/L;与之类似,Yi 等<sup>[42]</sup>也制备了一种由羧甲基壳聚糖和适配体修饰的金纳米粒子组合的复合物,用于比色法定测定鼠伤寒沙门氏菌,检测限可达 16 CFU/mL,特异性好,灵敏度高。除比色法外,拉曼光谱在分析检测中也日益广泛应用,Xu 等<sup>[43]</sup>建立了一种基于表面增强拉曼散射 (SERS) 的适配体生物传感器用于检测

鼠伤寒沙门氏菌,通过适配体修饰的纳米金作为捕获探针、带有 Cy3 基团的适配体互补链修饰的纳米金作为信号探针,当鼠伤寒沙门氏菌存在时即会破坏 2 种纳米金之间形成的热点,导致拉曼信号降低,最终信号值与该菌浓度在  $10^2 \sim 10^7$  CFU/mL 的对数值范围内呈现良好线性关系,检测限为 35 CFU/mL,检测时长仅为 1 h;Li 等<sup>[44]</sup>建立了一种基于双重信号放大系统的适配体生物传感器用以检测鼠伤寒沙门氏菌,该法先由特异性引发的杂交链式反应 (HCR) 进行一次信号放大,再以 SERS 进行二次信号放大并输出,最终检测限低至 6 CFU/mL,检测时长仅为 3.5 h;Yang 等<sup>[45]</sup>同样以信号放大的原理开发了一种基于三维 DNA 分子机器联合 SERS 策略的适配体生物传感器用于检测细菌,该法对鼠伤寒沙门氏菌的检测限低至 4 CFU/mL,是一种简便快速且灵敏的检测方法。这些以适配体生物传感器为基础的研究方法,其特异性得益于适配体对靶标的特异性,其广泛性在于不同微生物一般都能筛选到对应的适配体,其实用性在于适配体合成成本低廉且易于修饰和存储,因此对于各类微生物尤其是致病菌的检测而言,展现出了良好的发展前景。

**4.2 其他检测方法** 近年来,各类分析技术的发展日新月异,因此也催生了各种新奇的检测方法。微流控技术作为一种操纵微小流体的分析系统,尤其适合于微小尺寸靶标物的分析。Wang 等<sup>[46]</sup>开发了一种基于免疫磁分离、荧光标记和智能手机成像处理的微流控生物传感器用于在线检测沙门氏菌。首先使用免疫磁性纳米颗粒特异性分离并浓缩靶标细菌,然后用免疫荧光微球对其进行标记,最后将荧光标记的细菌连续注入基于智能手机荧光显微镜系统上的微流控芯片中,并使用手机上基于帧间差异算法的应用程序对荧光斑点进行在线计数,以获得目标细菌的数量;该法的检测限可达 58 CFU/mL,是一种简便直观的检测方法,并且这种生物传感器可通过使用不同的荧光材料而用于对多种食源性致病菌同时在线检测。还有学者建立了一种结合了 LAMP 和实时浊度监测的芯片设备用于“样品进-结果出”式地定量检测沙门氏菌,结果表明该设备能够在 1.5 h 内自动检测加标鸡肉上清液中低至 14 CFU/mL 的沙门氏菌,并有望用于室外检测<sup>[47]</sup>。此外,具有独特尺寸效应和表面效应等特征的纳米材料如量子点由于可在特定条件下发生相应的信号变化,因而近年来也逐渐应用于生物化学分析领域,并产生了纳米生物传感技术、纳米金免疫标记技术和纳米磁分离技术等。Wang 等<sup>[48]</sup>通过结合纳米金和 DNA 量子点而建立了一种自组装的核壳结构荧光探针,该探针可通过联合免疫磁分离来测试  $1 \times 10^1 \sim 1 \times 10^7$  CFU/mL 范围内的鼠伤寒沙门氏菌数量水平,检测限低至 13.6 CFU/mL;DNA 量子点探针具有合成简便的优点,在常规检测过程中也能展现出较高的特异性和稳定性。Hu 等<sup>[49]</sup>通过在聚合物纳米球表面上逐层组装量子点以制造量子点纳米珠 (QDNS),并以其为信号报告物来定量检测鼠伤寒沙门氏菌,该法在 10 min 内的可视化检测限为  $5 \times 10^3$  CFU/mL,具有简便、快速、准确和灵敏的优点。

## 5 小结与展望

近年来,随着“健康中国”发展战略的提出,人们比以往任何时刻更加重视食品安全。沙门氏菌作为一种典型的可引发人畜共患病的食源性致病菌,时常给人类食品安全造成巨大威胁,因此,建立高效快速的定量检测方法以提高对食物中沙门氏菌的检测速度和灵敏性对于实时保障食品安全,预防食源性疾病的发生具有重要意义。

目前,人们对沙门氏菌的认知水平在不断提高,沙门氏菌检测技术和方法得到了快速发展。传统生化检测法、免疫学检测法、分子生物学检测法仍是目前最常用的检测方法,其中以平板培养和生化鉴定为基础的传统检测法一直被视为沙门氏菌检测技术的“金标准”。传统检测方法的检测成本低廉,不需要使用贵重的仪器设备,是其他各种检测方法的基础,并常被用于判定各种新开发检测方法的有效性;但该法操作过程比较烦琐,耗时费力,不能及时对受检食品作出安全性评价。免疫学检测方法的特异性高,检测速度相较于传统检测方法大为提升,尤其是以 ELISA 为基础的检测试剂盒的应用,极大简化了沙门氏菌的检测流程,具有高效、经济和易于操作的优点;该法的局限性在于较多依赖抗体的质量,只有筛选到并制备出对应血清型的抗体才能有效保证最终的检测效果,因此目前的检测范围有限。同时,该法对操作人员的操作能力要求较高,对检测设备如酶标仪等也有一定需求。相对于免疫学检测方法而言,现代分子生物学检测技术在检测信号放大方面或高通量检测方面有所突破,具有快速、准确、灵敏等优点,不足之处仍然是对检测设备、试验环境和技术人员的要求较高,难以在日常生活中普及推广。

近年来涌现出的各种新型沙门氏菌检测方法如基于适配体生物传感器的检测方法、基于微流控技术或纳米材料的检测方法等不仅采用了新的检测技术,还融合了多种分析方法的原理以取长补短,最终在操作简便性、检测灵敏度、方法特异性和结果可视化等方面都取得了新的进展,尤其是与智能手机的联用,进一步增强了方法的实用性和即时检测的可能性,在不久的将来有望推广应用于日常生活中。

## 参考文献

- [1] MELO A M A, ALEXANDRE D L, FURTADO R F, et al. Electrochemical immunosensors for *Salmonella* detection in food [J]. *Applied microbiology and biotechnology*, 2016, 100(12): 5301–5312.
- [2] 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.
- [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.
- [4] KOKKINOS P A, ZIROS P G, BELLOU M, et al. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of *Salmonella* in food [J]. *Food analytical methods*, 2014, 7(2): 512–526.
- [5] 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.
- [6] 任防振, 徐国勋. 兼氧/好氧膜生物反应器处理食品废水研究 [J]. *上海理工大学学报*, 2007, 29(3): 285–288, 293.
- [7] ISO. Microbiology of food and animal feeding stuffs—Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.: ISO 6579:2002 [S]. International Standard Organization, 2002.
- [8] 中华人民共和国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, 2017.
- [9] 刘知奇, 周勇, 张健, 等. 鸡白痢的诊断与防治研究概况 [J]. *中国畜牧兽医学文摘*, 2013, 29(6): 119–120.
- [10] 黄文字, 柳陈坚. 食源性沙门氏菌检测方法的研究进展 [J]. *生物技术*, 2009, 19(3): 95–98.
- [11] 刘喆, 张书萧, 王少辉, 等. 沙门氏菌的检测技术进展 [J]. *中国动物传染病学报*, 2012, 20(2): 81–86.
- [12] 刘佩红, 屠益平, 徐锋, 等. 沙门氏菌检测技术研究进展 [J]. *上海畜牧兽医通讯*, 2005(6): 2–3.
- [13] KRYSINSKI E P, HEIMSCHE R C. Use of enzyme-labeled antibodies to detect *Salmonella* in foods [J]. *Applied and environmental microbiology*, 1977, 33(4): 947–954.
- [14] 张鲁. 食品中沙门氏菌检测方法的探讨 [J]. *安徽农业科学*, 2008, 36(2): 569–570.
- [15] 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.
- [16] BANG J, SHUKLA S, KIM Y H, et al. Development of indirect competitive ELISA for the detection of *Salmonella typhimurium* [J]. *Romanian biotechnology letters*, 2012, 17(2): 7194–7204.
- [17] 朱春红. 肠炎沙门氏菌 SEF14 菌毛功能探索 [D]. 扬州: 扬州大学, 2010.
- [18] BRANDÃO D, LIÉBANA S, PIVIDORI M I. Multiplexed detection of food-borne pathogens based on magnetic particles [J]. *New biotechnology*, 2015, 32(5): 511–520.
- [19] 刘佩红, 屠益平, 徐锋, 等. 沙门氏菌检测技术研究进展 [J]. *上海畜牧兽医通讯*, 2005(6): 2–3.
- [20] CLOAK O M, DUFFY G, SHERIDAN J J, et al. Development of a surface adhesion immunofluorescent technique for the rapid detection of *Salmonella* spp. from meat and poultry [J]. *Journal of applied microbiology*, 1999, 86(4): 583–590.
- [21] PANDEY S K, VINAYAKA A C, RISHI D B, et al. Immuno-fluorescence based Vi capsular polysaccharide detection for specific recognition of *Salmonella enterica* serovar Typhi in clinical samples [J]. *Analytica chimica Acta*, 2014, 841: 51–57.
- [22] 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的应用的进展 [J]. *中国抗生素杂志*, 2014, 39(12): 956–960.
- [23] SKJERVE E, OLSVIK Ø. Immunomagnetic separation of *Salmonella* from foods [J]. *International journal of food microbiology*, 1991, 14(1): 11–17.
- [24] 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.
- [25] MANSFIELD L P, FORSYTHE S J. Immunomagnetic separation as an alternative to enrichment broths for *Salmonella* detection [J]. *Letters in applied microbiology*, 1993, 16(3): 122–125.
- [26] 孙园园, 赵鹏, 刘骏, 等. 沙门氏菌检测方法研究进展 [J]. *中国畜牧兽医*, 2011, 38(1): 218–221.
- [27] 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.
- [28] DELIBATO E, RODRIGUEZ-LAZARO D, GIANFRANCESCHI M, et al. European validation of Real-Time PCR method for detection of *Salmonella* spp. in pork meat [J]. *International journal of food microbiology*, 2014, 184: 134–138.
- [29] ALVES J, HIROOKA E Y, DE OLIVEIRA T C R M. Development of a multiplex real-time PCR assay with an internal amplification control for the detection of *Campylobacter* spp. and *Salmonella* spp. in chicken meat [J]. *LWT-Food science and technology*, 2016, 72: 175–181.
- [30] 王青龙, 蔡雪凤, 周艳霞, 等. 实时荧光 PCR 法检测食品中亚利桑那沙门氏菌 [J]. *中国酿造*, 2018, 37(6): 179–182.
- [31] 程玲珍, 严伟, 侯岩彤, 等. 鸡白痢沙门氏菌直接-多重 PCR 检测体系的建立 [J]. *四川大学学报(自然科学版)*, 2019, 56(1): 149–154.
- [32] NOTOMI T, OKAYAMA H, MASUBUCHI H, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA [J]. *Nucleic acids research*, 2000, 28(12): 1–7.
- [33] LI J J, ZHAI L G, BIE X M, et al. A novel visual loop-mediated isothermal amplification assay targeting gene 62181533 for the detection of *Salmonella* spp. in foods [J]. *Food control*, 2016, 60: 230–236.
- [34] 郭树强, 贺生芳, 郝俊虎, 等. 沙门氏菌 LAMP 快速检测方法的建立 [J]. *中国兽药杂志*, 2019, 53(8): 23–29.
- [35] 王冠蕾. PMA-LAMP 法可视化检测乳中沙门氏菌 [J]. *中国乳品工业*, 2020, 48(4): 51–54, 64.
- [36] ZHANG L, DU X, CHEN G H, et al. Development of a rapid, one-step-visual method to detect *Salmonella* based on IC-LAMP method [J]. *Iranian journal of veterinary research*, 2020, 21(1): 20–25.

- tool in authentication of organic produce commercially available in western North America [J]. *Isotopes in environmental and health studies*, 2015, 51(2): 332-343.
- [17] 彭凯秀, 崔艳梅, 姜芳, 等. 不同产地三疣梭子蟹的稳定同位素比值特征及原产地溯源[J]. *应用生态学报*, 2021, 32(6): 2021-2027.
- [18] 吕军, 王东华, 杨黎明, 等. 利用稳定同位素进行牛肉产地溯源的研究[J]. *农产品质量与安全*, 2015(3): 32-36.
- [19] 孙淑敏, 郭波莉, 魏益民, 等. 羊组织中碳、氮同位素组成及地域来源分析[J]. *中国农业科学*, 2010, 43(8): 1670-1676.
- [20] 蔡德陵, 李红燕, 周卫建, 等. 无定河流域碳氮稳定同位素研究[J]. *地球化学*, 2004, 33(6): 619-626.
- [21] 王红云, 高占锋, 付才, 等. 大枣不同组织氮稳定同位素变化规律研究[J]. *华北农学报*, 2015, 30(S1): 429-434.
- [22] EVANS R D, BLOOM A J, SUKRAPANNA S S, et al. Nitrogen isotope composition of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. T-5) grown under ammonium or nitrate nutrition [J]. *Plant, cell and environment*, 1996, 19(11): 1317-1323.
- [23] 冯海强, 潘志强, 于翠平, 等. 利用<sup>15</sup>N自然丰度法鉴别有机茶的可行性分析[J]. *核农学报*, 2011, 25(2): 308-312.
- [24] 赵超超, 罗绪强, 袁忠秀, 等. 利用氮稳定同位素指纹技术验证市售有机食品真伪[J]. *贵阳学院学报(自然科学版)*, 2019, 14(4): 97-102.
- [25] LIM S S, CHOI W J, KWAK J H, et al. Nitrogen and carbon isotope responses of Chinese cabbage and chrysanthemum to the application of liquid pig manure [J]. *Plant soil*, 2007, 295(1/2): 67-77.
- [26] BATEMAN A S, KELLY S D, JICKELLS T D. Nitrogen isotope relationships between crops and fertilizer: Implications for using nitrogen isotope analysis as an indicator of agricultural regime [J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2005, 53(14): 5760-5765.
- [27] ROGERS K M. Nitrogen isotopes as a screening tool to determine the growing regimen of some organic and nonorganic supermarket produce from New Zealand [J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2008, 56(11): 4078-4083.
- [28] 刘星, 钱群丽, 姚春霞, 等. 基于稳定同位素的上海地产蔬菜种植模式及产地判别[J]. *核农学报*, 2020, 34(S1): 1-10.
- [29] FEIGIN A, SHEARER G, KOHL D H, et al. The amount and nitrogen-15 content of nitrate in soil profiles from two central Illinois fields in a corn-soybean rotation [J]. *Soil science society of America*, 1974, 38(3): 465-471.
- [30] SWAP R J, ARANIBAR J N, DOWTY P R, et al. Natural abundance of <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N in C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> vegetation of southern Africa: Patterns and implications [J]. *Global change biology*, 2004, 10(3): 350-358.
- [31] ARANIBAR J N, OTTER L, MACKO S A, et al. Nitrogen cycling in the soil-plant system along a precipitation gradient in the Kalahari sands [J]. *Global change biology*, 2004, 10(3): 359-373.
- [32] TI C P, MA S T, PENG L Y, et al. Changes of δ<sup>15</sup>N values during the volatilization process after applying urea on soil [J/OL]. *Environmental pollution*, 2021, 270 [2021-01-07]. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116204>.
- [33] BEDARD-HAUGHN A, VAN GROENIGEN J W, VAN KESSEL C. Tracing <sup>15</sup>N through landscapes: Potential uses and precautions [J]. *Journal of hydrology*, 2003, 272(1/2/3/4): 175-190.
- [34] PARDO L H, MCNULTY S G, BOGGS J L, et al. Regional patterns in foliar <sup>15</sup>N across a gradient of nitrogen deposition in the northeastern US [J]. *Environmental pollution*, 2007, 149(3): 293-302.
- [35] 张颖, 刘学军, 张福锁, 等. 华北平原大气氮素沉降的时空变异[J]. *生态学报*, 2006, 26(6): 1633-1639.
- [36] ZHANG Y, LIU X J, FANGMEIER A, et al. Nitrogen inputs and isotopes in precipitation in the North China Plain [J]. *Atmospheric environment*, 2008, 42(7): 1436-1448.
- [37] 周晓丽. 利用细叶小羽藓监测大气重金属及氮沉降的研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2019: 61.
- [38] 赵紫涵. 降雨量减少和氮沉降对羊草生物量及草地氮素分配的影响[D]. 长春: 东北师范大学, 2020: 38-39.
- [39] 山楠, 杜连凤, 毕晓庆, 等. 用<sup>15</sup>N肥料标记法研究潮土中玉米氮肥的利用率与去向[J]. *植物营养与肥料学报*, 2016, 22(4): 930-936.
- [40] CHOI W J, LEE S M, RO H M, et al. Natural <sup>15</sup>N abundances of maize and soil amended with urea and composted pig manure [J]. *Plant and soil*, 2002, 245: 223-232.
- [41] 郭佩. 施氮量对不同花生品种生长发育及不同氮源供氮特性的影响[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2021.
- [42] 2020.114050.
- [45] YANG E L, LI D, YIN P K, et al. A novel surface-enhanced Raman scattering (SERS) strategy for ultrasensitive detection of bacteria based on three-dimensional (3D) DNA walker [J/OL]. *Biosensors and bioelectronics*, 2021, 172 [2021-01-17]. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112758>.
- [46] WANG S Y, ZHENG L Y, CAI G Z, et al. A microfluidic biosensor for online and sensitive detection of *Salmonella typhimurium* using fluorescence labeling and smartphone video processing [J/OL]. *Biosensors & bioelectronics*, 2019, 140 [2021-01-17]. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111333>.
- [47] WANG S Y, LIU N, ZHENG L Y, et al. A lab-on-chip device for sample-in-result-out detection of viable *Salmonella* using loop-mediated isothermal amplification and real-time turbidity monitoring [J]. *Lab on a chip*, 2020, 20: 2296-2305.
- [48] WANG Q, CHENG X C, LI H H, et al. A novel DNA quantum dots/apptamer-modified gold nanoparticles probe for detection of *Salmonella typhimurium* by fluorescent immunoassay [J/OL]. *Materials today communications*, 2020, 25 [2021-01-17]. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2020.101428>.
- [49] HU J, TANG F, JIANG Y Z, et al. Rapid screening and quantitative detection of *Salmonella* using a quantum dot nanobead-based biosensor [J]. *The analyst*, 2020, 145(6): 2184-2190.

(上接第8页)

- [37] 许俊钢. 基因芯片快速检验细菌的临床应用[J]. *中国实用医药*, 2016, 11(1): 33-34.
- [38] 祝儒刚, 李拖平, 宋立峰. 应用基因芯片技术检测肉及肉制品中5种致病菌[J]. *食品科学*, 2012, 33(14): 211-215.
- [39] 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*, 2019, 10: 1-11.
- [40] 徐连应, 王毕妮, 张富新. 基于复合纳米材料和酶切信号放大电化学适配体传感器检测沙门氏菌[J]. *中国农业科学*, 2017, 50(21): 4186-4195.
- [41] 肖稳, 张海韵, 杨滔, 等. 羧甲基壳聚糖-分子信标-金纳米生物传感器检测鼠伤寒沙门氏菌[J]. *中国食物与营养*, 2019, 25(9): 33-36.
- [42] YI J C, WU P, LI G Y, et al. A composite prepared from carboxymethyl chitosan and aptamer-modified gold nanoparticles for the colorimetric determination of *Salmonella typhimurium* [J]. *Microchimica acta*, 2019, 186(11): 1-8.
- [43] XU X M, MA X Y, WANG H T, et al. Aptamer based SERS detection of *Salmonella typhimurium* using DNA-assembled gold nanodimers [J]. *Microchimica acta*, 2018, 185(7): 1-8.
- [44] LI A, ZUO P, YE B C. An aptamer biosensor based dual signal amplification system for the detection of *Salmonella typhimurium* [J/OL]. *Analytical biochemistry*, 2020, 615 [2021-01-17]. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2020.114050>.