DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260204003
引用格式: 李铭, 朱子媛, 黄曦, 等. 新型检测技术在食品中致病菌检测和鉴定中的应用进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(12): 23–32.
LI M, ZHU ZY, HUANG X, *et al*. Application progress of novel detection technologies in the detection and identification of pathogenic bacteria in food [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(12): 23–32. (in Chinese with English abstract).

新型检测技术在食品中致病菌检测和鉴定中的应用进展

李　铭, 朱子媛, 黄　曦, 朱飞如, 李　峰, 叶有芳, 黄海婷*

(北海市公共检验检测中心, 北海　536000)

摘　要: 食源性致病菌是导致食品安全事件的主要因素之一, 传统检测方法存在耗时长、灵敏度低、操作烦琐等局限性。近年来, 随着分子生物学、免疫学、生物传感技术以及即时检验(point-of-care testing, POCT)技术的快速发展, 多种食源性致病菌快速检测技术应运而生。本文系统综述了食品中致病菌快速检测领域的最新研究进展, 重点阐述了分子生物学技术(质谱技术、聚合酶链式反应及其衍生技术、等温扩增、高通量测序)、免疫学技术(酶联免疫吸附法、免疫层析、免疫传感器)的原理、特点以及由分子生物学技术、纳米技术、免疫学技术和信息技术交叉融合形成 POCT 技术的应用现状, 同时分析了各类技术面临的挑战, 并对未来发展趋势进行展望, 为食品中致病菌监测提供技术参考。

关键词: 食源性致病菌; 分子生物学技术; 免疫学技术; 即时检验技术

Application progress of novel detection technologies in the detection and identification of pathogenic bacteria in food

LI Ming, ZHU Zi-Yuan, HUANG Xi, ZHU Fei-Ru, LI Feng, YE You-Fang, HUANG Hai-Ting*

(*Beihai Public Inspection and Testing Center*, *Beihai* 536000, *China*)

ABSTRACT: Foodborne pathogenic bacteria are one of the major factors leading to food safety incidents. Traditional detection methods have limitations such as time consumption, low sensitivity and complicated operation. In recent years, with the rapid development of molecular biology, immunology, biosensor technology and point-of-care testing (POCT) technology, a variety of rapid detection technologies for foodborne pathogenic bacteria have emerged. This paper systematically reviewed the latest research progress in the field of rapid detection of pathogenic bacteria in food, focused on the principles and characteristiced of molecular biology technologies (mass spectrometry, polymerase chain reaction and its derivative technologies, isothermal amplification, high-throughput sequencing) and immunological technologies (enzyme-linked immunosorbent assay, immunochromatography, immunosensors). It also summarized the application status of POCT technology formed by the interdisciplinary

收稿日期: 2026-02-04
第一作者: 李铭(1975—), 男, 副主任药师, 主要研究方向为药物和食品及化妆品分析。E-mail: 2394323403@qq.com
***通信作者:** 黄海婷(1978—), 女, 副主任药师, 主要研究方向为药物和食品及化妆品分析。E-mail: 68776072@qq.com

integration of molecular biology, nanotechnology, immunology and information technology. Meanwhile, it analyzed the challenges faced by various technologies, and prospected the future development trends, aimed to provide technical references for the monitoring of pathogenic bacteria in food.

KEY WORDS: foodborne pathogenic bacteria; molecular biology technology; immunological technology; point-of-care testing technology

0 引 言

食品安全是关系到公众健康的重大社会问题，其中食源性致病菌污染是引发食品安全事件的主要原因之一。食品工业中食品微生物污染如沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、单核细胞增生李斯特菌、大肠杆菌 O157:H7 等致病菌可通过食物链传播，导致食物中毒和疾病暴发，对人体健康和生命构成威胁，同时还会给食品工业带来巨大经济损失，严重制约食品工业高质量发展。食源性致病菌的传统检测方法主要依赖培养法和生化鉴定，通常需要 3~7 d 才能获得结果，存在检测周期长、灵敏度低、特异性差等问题，难以满足现代食品安全监管对“快速、准确、便捷”的检测需求。

随着生物技术、纳米技术和信息技术的交叉融合，快速检测技术(质谱技术、聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)技术、等温扩增技术、免疫学检测技术、即时检测技术)取得显著突破。这些方法可在数小时甚至数十分钟内完成检测，且检测灵敏度高，部分检测技术灵敏度可达个位数菌落形成 CFU 水平，为食品安全风险预警和现场监管提供了强有力的技术支撑。本文将重点综述近年来食品致病菌快速检测领域的研究热点与技术进展，为食源性疾病暴发中致病菌的靶向分析提供理论支持和参考依据，有助于提升食品安全和公共卫生水平。

1 分子生物学检测技术

1.1 质谱技术

近年来，基于蛋白质组学的质谱技术由于其高灵敏度、高通量、快速在微生物检测和鉴定方面得到快速发展。特别是基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法(matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)目前研究最多，发展最快[1–4]。

1.1.1 MALDI-TOF MS 技术特点和原理

MALDI-TOF MS 是一种化学分类技术，通过分析特定科、属、种甚至微生物菌株特有的核糖体蛋白质来实现鉴定。分析过程如下：首先，将少量测试样品(10^5~10^6 个细胞；完整细胞或细胞提取物)转移至样品板；随后，将基质溶液施加到样品上。这些基质成分会渗透到微生物细胞中，提取细胞内蛋白质，使其可用于分析。细胞悬液中的溶剂蒸发后，会形成包含蛋白质分子和其他细胞成分的基质晶体(共结晶过程)。接下来，将干燥后的样品置于分析仪腔室中，在激光作用下，基质分子和微生物蛋白质发生解吸(释放)和电离(无降解)。由于基质具有强烈吸收激光能量的能力，在解吸和电离过程中发挥重要作用，促使分析物分子释放。生成的离子化分子在真空分析柱中加速，测量离子飞行时间(time of flight, TOF)。低质量离子先到达检测器，随后是高质量离子化带电分子。之后，MALDI-TOF MS 系统根据肽段的分子量、电荷和离子 TOF 分布，自动生成峰谱图(质谱图)，图中峰对应不同质荷比(m/z)的离子。获得的质谱图具有微生物特定物种的特征(即“指纹图谱”)。其作用机制见图 1。通过该技术可生成特定微生物的独特光谱指纹图谱，将其与综合光谱数据库匹配，即可实现准确的分类学鉴定[5]。

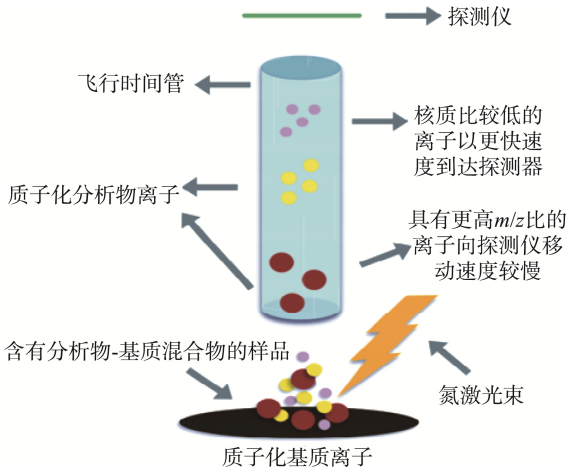


图 1 MALDI-TOF MS 作用机制示意图

Fig.1 Schematic diagram of the action mechanism of MALDI-TOF MS

1.1.2 MALDI-TOF MS 的优势和应用范围

MALDI-TOF MS 在速度、准确性、成本效益、通量和通用性等多个关键维度均比传统表型技术表现更优[6–8]。

(1)检测周期短。MALDI-TOF MS 最显著的优势或许是在获得纯菌落后，能在数分钟内完成微生物鉴定。相比之下，生化和表型方法通常需要 24~72 h 才能完成，而 MALDI-TOF MS 对单个分离株的高置信度鉴定可在 5 min 内完成，如果加上前处理时间、上机时间等能够在 1 h 内完成检测。(2)准确性和特异性高。MALDI-TOF MS 通过分析高度保守且具有物种特异性的核糖体蛋白，在属和种水平鉴定微生物时具有高特异性。(3)检测应用范围广。MALDI-TOF MS 可鉴定多种食源性致病菌，包括但不限

于肠炎沙门氏菌、大肠杆菌(包括肠出血性菌株)、单核细胞增生李斯特菌、空肠弯曲杆菌、产气荚膜梭菌、金黄色葡萄球菌和蜡样芽孢杆菌。这些微生物是全球食源性疾病的主要致病菌, 常与肉类、乳制品、家禽产品和加工食品相关[9–10]。MALDI-TOF MS 的另一个显著优势是在优化条件下能够区分亲缘关系较近的物种, 甚至区分致病菌和非致病菌菌株。例如, 若参考文库包含高质量的菌株水平数据, 它可区分大肠杆菌与志贺氏菌属, 或区分单核细胞增生李斯特菌与其他非致病性李斯特菌物种[11–14]。另外 MALDI-TOF MS 已被证明是快速鉴定各类食品基质(包括乳制品、肉类、鱼类、饮料和即食食品)中腐败相关微生物的有力工具。与传统微生物学方法(通常需要数天培养和大量生化试验)不同, MALDI-TOF MS 可在培养后 1 h 内完成物种水平鉴定, 显著加快食品生产和流通中的决策速度[9,15–16]。使用 MALDI-TOF MS 鉴定的常见腐败微生物包括假单胞菌属、布丘氏菌属、希瓦氏菌属、明串珠菌属、乳酸菌属、念珠菌属、酿酒酵母属和青霉属物种[17]。MALDI-TOF MS 还通过监测整个食品生产链中的微生物污染物或环境分离株支持可追溯性。通过构建特定设施、原料或加工步骤的微生物指纹图谱数据库, 可快速追踪污染或腐败的来源。这在即食食品或轻度加工产品中尤为重要, 这些产品的微生物控制至关重要, 且污染来源的鉴定必须快速准确[16,18–19]。

1.1.3　MALDI-TOF MS 的局限性和挑战

MALDI-TOF MS 设备系统价格比较昂贵, 初始投资相对较高, 长期投资回报取决于高样品通量和持续需求。对于偶尔或小批量检测场景, 其经济优势可能不太显著。依赖全面高质量的光谱参考数据库。亲缘关系较近菌株的区分能力有限。无法检测活的非可培养(viable but non-culture, VBNC)状态微生物: MALDI-TOF MS 鉴定通常需要纯培养分离株, 因此本质上无法检测 VBNC 状态的微生物或选择性培养基无效环境中的微生物。混合培养物的鉴定: MALDI-TOF MS 经过优化用于纯微生物分离株的分析。当单个点样区域存在多种微生物时, 所得光谱会成为重叠信号的复合物, 导致准确鉴定变得困难或无法实现。

1.1.4　MALDI-TOF MS 的总结和讨论

MALDI-TOF MS 技术已迅速成为食品微生物学领域的革命性技术, 在鉴定与食源性疾病、腐败和发酵相关的微生物方面具有无与伦比的检测速度、准确性和检测效率。其以最少的样品前处理和低运行成本生成物种特异性蛋白质组学指纹图谱的能力, 使其在工业和监管实验室中得到广泛应用。尽管该技术存在一定的局限性, 但随着全球食品系统日益复杂, 对先进、快速和可靠的微生物诊断工具的需求将继续增长。在这一背景下, MALDI-TOF MS 有望通过技术创新和策略整合到更广泛的食品安全框架中, 在食品微生物学中发挥更重要的作用。未来的发展将侧重于提高分辨率、扩大数据库多样性、增强自动化以及实现直接从样品中鉴定[20–22]。MALDI-TOF MS 未来的应用可能扩展到其他领域: 如真菌毒素、病毒和微生物代谢组学的检测。

1.2　PCR 技术及其衍生技术

PCR 技术最早应用于食品致病菌检测的分子生物学技术, 通过特异性引物扩增目标基因序列实现高灵敏检测。实时荧光定量 PCR (real-time fluomgenetic quantitative, qPCR)可实时监控扩增过程, 实现半定量或绝对定量分析, 已广泛应用于商业检测产品。多重荧光定量 PCR (multiplex quantitative real-time PCR, mqPCR)技术通过多组引物同时扩增多个致病菌目标片段, 显著提高了检测通量和效率, 适用于多种致病菌的同步筛查。数字 PCR (digital PCR, dPCR)作为新兴技术, 利用液滴或微反应单元实现高精度绝对定量, 尤其适用于痕量样品检测, 灵敏度可达单拷贝水平。芯片数字 PCR (chip-based digital PCR, cdPCR)将样本载入通过微加工技术制成的硅芯片微孔中, 进行热循环后, 通过荧光显微镜对芯片进行成像[23], 以确定 PCR 阳性微孔的数量[24]。目前 PCR 技术在现代科技的推动下, 已迈入了高度自动化的新阶段。这一进步不仅极大地提升了检测流程的便捷性与效率, 已广泛应用于生鲜食品、乳制品中致病菌(沙门氏菌、大肠杆菌 O157:H7、副溶血性弧菌、单增李斯特菌等)检测, 另外也应用于食品新鲜度评估和食品加工环境监控[25]。然而, 较高的设备成本和特异性核酸引物限制了其大规模推广应用。PCR 技术的局限性主要体现在需要较高的设备成本、高昂的试剂成本、样品前处理烦琐, 且在某些情况下无法区分活细胞与死细胞[26–29]。PCR 技术及其衍生技术总结与讨论: PCR 及其衍生技术具有巨大的食品致病菌检测潜力, 各种致病菌商品化试剂盒也日益发展, 目前已能检测食品中常见的各种致病菌, 但其各项实际应用的成功与否在很大程度上取决于待扩增核酸样本的质量。已发现多种 PCR 抑制剂会干扰实际样本的检测工作, 导致假阴性结果或提高检测下限[30], 目前免疫磁珠分离技术的发展可以帮助 PCR 技术简化从食品基质的干扰中分离和浓缩目标核酸样本, 提高检测准确性。

1.3　等温扩增技术

等温扩增技术无需热循环仪, 在恒定温度下即可完成核酸扩增, 具有快速、简便、适合现场检测的优势。环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)是一种在等温条件下进行 DNA 扩增的技术, 通过使用具有高链置换活性的 DNA 聚合酶和一组专门设计的引物扩增目标 DNA 链, 具有高特异性、高效率和快速性等特点。可在 1 h 内完成反应, 通过荧光或显色反应直接判读结果, 已在沙门氏菌、金黄色葡萄球菌等致病菌检测中展现出良好应用前景。有研究人员将 LAMP 技术与表面增

强拉曼光谱(surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS)相结合, 开发了一种快速检测肠炎沙门氏菌的方法, 进一步推进了 LAMP 终点检测技术的发展。研究表明, 使用拉曼活性金纳米颗粒标记的 SERS 检测具有极高的灵敏度(是 PCR 的 100 倍), 样本制备简单, 且通过减少假阳性结果提高了特异性和可靠性[31]。与 PCR 相比, LAMP 技术更易于使用, 有望推动分子生物学技术的发展。LAMP 技术的简便性还体现在结果分析方法上, 通过使用LAMP反应中的染料, 无需烦琐的扩增产物凝胶电泳步骤, 即可在自然光下或紫外光下通过肉眼观察比色变化直接评估结果。LAMP 技术的局限性: 由于 LAMP 技术的终产物是一条大型 DNA 链, 因此不适用于克隆或其他长序列的扩增分子生物学应用, 与 PCR 相比, 其通用性较差[32]。此外, LAMP 技术的多重扩增方法仍不如 PCR 成功, 因为多重扩增会增加实验设计和操作的难度[33]。LAMP 技术的显著特点是操作简便(仅需一个简单的恒温水浴锅)且快速。未来开发应用 LAMP 技术的移动生物传感器可能会带来重大进展。另外 LAMP 技术结合微流控装置也具有诸多优势, 如操作简便、体积小巧、产出率高、昂贵试剂消耗量减少且无需电力供应, 这也是 LAMP 技术的发展方向。其他等温扩增技术如逆转录 LAMP (reverse transcription-LAMP, RT-LAMP), 重组酶聚合酶扩增技术(recombinase polymerase amplification, RPA)和重组酶介导等温扩增技术(recombinase aided amplification, RAA)也逐渐应用于食品检测领域, 进一步丰富了快速检测技术体系。其中 RPA 与 RAA 技术的反应原理、反应条件、反应体系类似, 但相关重组酶来源不同, 其中 RPA 的重组酶来源于较难获得的 T4 噬菌体, RAA 的重组酶来源于更易获得细菌和真菌, 所以 RAA 技术发展应用更广泛。目前, RAA 技术可以与其他新型技术相结合, 包括实时荧光 RAA、免疫-RAA、CRISPR-Cas13a/Cas12a 辅助 RAA 法以及微流控芯片结合 RAA 法, 已应用于检测霍乱弧菌、肠出血性大肠杆菌 O157:H7、沙门氏菌、志贺氏菌、金黄色葡萄球菌、单核细胞增生李斯特氏菌和副溶血性弧菌[34]。LAMP 技术是一项具有突破性的基因扩增技术, 作为一种快速、简便的诊断工具, 可用于食品中的快速检测和鉴定, 已广泛用于大肠杆菌、大肠杆菌 O157、沙门氏菌、副溶血性弧菌、金黄色葡萄球菌、空肠弯曲杆菌、单核细胞增生李斯特菌、结肠弯曲杆菌、幽门螺杆菌。此外 LAMP 技术还被有效应用于检测多种多重耐药铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌, 未来随着开发的冻干型 LAMP 试剂和商业化的微生物特异性 LAMP 检测试剂盒性能越来越稳定, LAMP 技术可以有更广泛的应用领域。

1.4 高通量测序技术

高通量测序技术(high-throughput sequencing, HTS), 特别是全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)能够在短时间内对食品微生物群落进行全面解析, 无需预先知道目标菌基因序列即可精确识别多种致病菌及其变异株。该技术通过对病原体基因组的全部核苷酸序列进行全面分析从而在致病菌溯源分析和突发性污染事件识别方面具有独特优势。该技术能对食品供应链中的食源性致病菌和相关细菌群落进行分类、表征和定量。吴怡等[35]采用高通量测序检测米线中的食源性致病菌微生物, 发现多批米线检出的致病菌主要包括不动杆菌属、气单胞菌属、乳酸球菌属等。另外沙门菌属和芽孢杆菌属普遍存在于各米线样品中。王小龙等[36]采用 HTS 分析苏州市食源性单核细胞增生李斯特菌的毒力基因携带情况、分子分型、遗传进化谱系及遗传进化关系等分子特征。然而与较旧的亚型分析方法相比, WGS 的高昂成本限制了其在常规测试中的应用, 且其潜在益处并不足以证明常规项目的成本合理性。随着测序成本逐年下降, HTS 和 WGS 正从高端研究机构向中小型实验室扩展。然而, 数据分析的复杂性和检测周期长仍是限制其日常应用的主要障碍。HTS 的总结与讨论: HTS 特别是 WGS 已经能够检测常见食源性病原体(如沙门氏菌、产志贺毒素大肠杆菌、志贺氏菌、弯曲杆菌和单增李斯特菌)并且能够追踪溯源不同变体的进化模式和传播, 此外, 这些细菌具有各种机制来在食品加工和保存技术中存活。通过利用 WGS 分析方法, 可以识别这些细菌的遗传适应性, 从而有可能制定更有效的控制策略并加强食品安全措施。未来随着 WGS 技术的不断发展, 它最终可能成为传统致病菌监测方法的补充, 能够更全面和快速地响应食源性致病菌暴发, 表 1。

2 免疫学检测技术

免疫学检测技术在食品安全领域的应用已成为确保食品质量与安全的重要手段, 它是利用生物体免疫系统抗原与抗体之间的高度特异性结合, 通过特异抗体和目标细菌结合, 来识别和定量分析食品中的致病菌。近年来, 免疫学检测技术以其高灵敏度、高特异性和检测快速性已成为食品中的致病菌检测的重要技术手段, 表 2。

2.1 酶联免疫吸附法

酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)是一种经典的免疫学检测方法, 利用抗原与抗体之间的高度特异性结合, 通过酶与底物反应产生可测信号, 从而间接判断目标致病菌的存在与浓度。其检测原理主要包括将目标抗原固定于固相载体(如微孔板), 再依次加入特异性酶标抗体与底物, 最终通过比色读数判断反应强度。ELISA 检测具有较高的灵敏度和特异性, 检出限可达 10^2~10^3 CFU/mL, 适合食品中沙门氏菌、大肠杆菌 O157:H7 等常见病原菌的筛查与定量分析[37]。该技术已广泛应用于乳制品、肉制品、水产品等领域, 并已形成成熟

表 1　分子生物学检测技术总结

Table 1　Summary of molecular biology detection techniques

技术类型	技术优势	技术的局限和不足	致病菌检测的应用现状
质谱技术	检测周期短、准确性和特异性高、检测应用范围广; 可大批量、自动化检测, 检测效率高	设备系统价格昂贵、鉴定通常需要纯培养分离的菌株	检测涵盖食源性疾病的主要致病菌, 监测整个食品生产链中的微生物污染物或环境分离株可追溯性
PCR 技术及其衍生技术	检测灵敏度高、检测通量和效率高、自动化检测程度高	需要较高的设备成本、高昂的试剂成本、样品前处理烦琐、在某些情况下无法区分活细胞与死细胞	检测涵盖食源性疾病的各种主要致病菌, 可监测整个食品加工环境
等温扩增技术	检测特异性高、效率高和具有快速性, 可进行实时检测等特点	不适用于克隆或其他长序列的扩增分子生物学应用, 多重扩增检测技术不如 PCR, 检测通量低, 检测交叉污染风险高	已广泛应用于各类食品中常见致病菌的快速检测和鉴定
HTS	能精确识别多种致病菌及其变异株, 在致病菌溯源分析和突发食源性污染事件识别中有突出优势	设备价格昂贵, 数据分析处理复杂, 检测周期长	检测常见食源性病原体并能够追踪溯源不同病原体变体的进化模式和传播

表 2　免疫学检测技术总结比较

Table 2　Summary of immunological detection techniques

技术类型	技术优势	技术的局限和不足	在致病菌检测的应用现状
ELISA	有较高的检测灵敏度和特异性以及检出限低等优点; 可大批量、自动化检测, 检测效率高; 与新技术的结合可进行实时检测	对样品处理、操作步骤, 实验生化反应条件要求高; 商业化检测试剂盒价格昂贵, 储存条件要求严格; 存在基质干扰和抗体交叉反应影响准确性	检测涵盖食源性疾病的主要致病菌, 主要用于食品中的微生物污染物的快速筛查
免疫层析技术	检测周期短、快速、操作简便, 无需复杂仪器, 非常适合现场检测应用	检测的灵敏度有限, 稳定性差, 多重检测和高通量检测需进一步提高	新发展的侧向流免疫层析技术检测涵盖食源性疾病的各种主要致病菌, 也可用于其他领域的有害物质检测
新型免疫传感器技术	检测灵敏度高、特异性强和具有快速性,可进行实时检测等特点	检测的稳定性差, 检测结果的可重复性低, 检测线性范围窄	已应用于食品中常见致病菌(沙门氏菌、大肠杆菌、单增李斯特菌)的快速检测和鉴定

的商业化检测试剂盒。其优势在于方法标准化程度高、适合高通量检测, 便于实验室推广。然而, 该方法检测周期相对较长, 通常需要 2~5 h, 且对样品处理、操作步骤及酶反应条件要求较高、天然酶标记物通常存在稳定性低、成本高、储存困难等固有缺点, 另外商业化试剂盒价格昂贵, 存在一定的技术门槛, 不适用于即时现场检测。此外, ELISA 检测由于存在基质干扰和抗体交叉反应也可能影响结果准确性, 准确度较低等局限性, 针对这些问题, 近年来研究者正在通过纳米酶、多重 ELISA、等离子体酶联免疫吸附、表面增强红外吸收免疫检测及自动化平台等手段优化其性能。YILMAZ 等[38]利用基于胶体银纳米颗粒的表面增强红外吸收免疫检测, 通过独特的振动光谱区分白色念珠菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌等微生物, 凸显了 SEIRA 在病原体识别中的潜力。BAI 等[39]建立了基于纳米抗体的免疫磁分离平台, 通过将纳米抗体与磁性纳米颗粒偶联, 实现对目标细菌的高效捕获与富集, 结合双纳米抗体夹心酶联免疫吸附测定进行检测, 该方法检出限为 3.2×10^3 CFU/mL, 可在 4 h 内从食品样品中检测到 1 CFU 的沙门菌肠炎亚种, 显著缩短了富集培养时间, 有效避免了基质干扰。ELISA 技术的创新(如多重检测、纳米 ELISA 和即时检测 ELISA)显著提升了该技术的性能和实用性, 已在食品中致病菌检测中得到广泛应用。多重 ELISA 可在单个样本中同时检测多种致病菌, 提供全面的诊断信息, 显著提高了检测效率; 纳米 ELISA 整合纳米技术以提高了检测灵敏度和改善了检出限; 即时检测 ELISA 平台则支持该技术在非实验室环境中进行快速、便捷的检测。

2.2　免疫层析快速检测技术

免疫层析技术基于抗原-抗体反应和毛细作用, 通过胶体金、荧光微球等标记抗体实现快速筛查。该方法可在 15~30 min 内完成检测, 操作简便, 无需复杂仪器, 非常适合现场应用。近年来, 量子点、上转换纳米粒子等新型标记材料的应用显著提升了检测灵敏度和多重检测能力。随着纳米标记材料的不断发展, 纳米酶可作为天然酶催化底物发生颜色变化, 从而增强免疫层析测定的检测信号, 大大提高检测灵敏度。因此, 纳米酶作为标记物广泛应用于

免疫层析测定中。近年来不断发展的侧向流免疫层析(lateral flow immunochromatographic assays, LFIA)技术已成为食源性致病菌现场检测最常用的即时检测工具。HAN等[40]合成了增强型复合纳米酶 Pd@Pt NPs 作为纳米酶探针, 可以提供更多的催化活性位点, 并结合LFIA技术检测牛奶中的大肠杆菌O157:H7, T线的比色信号强度显著增强, 灵敏度低至 9.0×10^2 CFU/mL。虽然纳米酶能够提高天然酶的活性和稳定性, 但是催化活性仍相对较低、底物特异性较差以及选择性仍有待提高。另外 LFIA 的方法建立过程涉及特异性抗体、纳米颗粒、硝酸纤维素膜等的制备与合成, 这些因素均可能对检测结果产生未知影响。另外检测的灵敏度和稳定性仍需提高, 而且实现准确定量和高通量检测仍是LFIA 技术未来的发展目标。目前 LFIA 已应用于肉类、蔬菜、牛奶等多种食品中致病菌(沙门氏菌、大肠杆菌 O157、单增李斯特菌、金黄色葡萄球菌、空弯肠杆菌)检测, 除此之外, 该技术也可用于生物毒素、过敏原、非法添加剂、农药兽药残留等有害物质的检测, 所以应用前景广泛。

2.3 新型免疫传感技术

免疫传感器融合免疫识别与信号转换技术, 分为电化学型、光学型和压电型等。电化学免疫传感器通过电流、电压变化反映抗原抗体反应, 具有响应速度快、可微型化特点; 光学免疫传感器利用荧光或表面增强拉曼散射实现高灵敏可视化检测。结合纳米材料和微流控技术, 部分系统可实现单个细菌水平的检测。WANG 等[41]结合了免疫磁珠分离、尿素酶催化和电化学阻抗分析, 设计了一种新的等效电路模拟免疫生物传感器, 该免疫生物传感器在 3 h 内可检测到低至 1.6×10^3 CFU/mL 的单增李斯特菌, 适用于该菌的现场检测。合理设计的生物敏感元件如抗体、核酸探针等可特异性地识别病原菌表面的独特抗原、核酸序列, 将其与其他细菌、食品基质成分进行有效区分。引入磁性纳米颗粒等新材料有助于降低食品基质的非特异性干扰, 提高生物免疫传感器的特异性, 避免出现假阳性结果, 这显著提高了灵敏度、选择性和分子水平检测能力。目前, 量子点、金属纳米颗粒和碳纳米材料已被用于生物免疫传感器, 例如利用碳纳米管具有高导电性, 采用碳纳米管的免疫传感器, 用于检测食品样本中的沙门氏菌或大肠杆菌等病原体, 能够快速、准确地检测到这些细菌的极低浓度, 有助于提高食品安全。然而, 尽管新型免疫传感器具有检测灵敏度高, 可以微型化等特点, 但将这些设备与电化学、光学或压电读数器等测量系统集成仍然是一个挑战。必须确保整个系统在灵敏度、特异性和分析速度方面都得到优化, 这可能需要先进的工程和材料技术。新型免疫传感技术的特点是能够检测极低浓度的分析物(包括病原体), 这对于食品中低浓度的致病菌、人类疾病的早期诊断、环境污染监测以及化学和生物威胁的识别至关重要。它通过使用能够准确识别目标化学化合物的抗体或分子受体, 实现了高特异性。目前该类技术在食品中致病菌检测应用还不够广泛且多处于实验室研发阶段, 主要在生物受体(如抗体)的稳定性、测定结果的重复性、运行成本以及校准方法和数据分析缺乏标准化等方面仍面临挑战。尽管面临诸多挑战, 但免疫传感器以其独特的优势在未来应用前景广阔, 微技术和纳米技术的进步使得免疫传感器的微型化成为可能, 从而开发出便携式诊断设备。随着新材料、先进检测技术的发展以及与物联网等创新技术的融合, 它在食品致病菌以及其他领域都会有广泛的应用。

3 即时检测技术

随着科学技术的发展与分子生物学技术、纳米技术、免疫学技术和信息技术交叉融合, 即时检测技术逐步应用到食品检测领域, 并得到了快速发展与完善。本文重点讨论即时检测技术在食品致病菌检测领域的研究进展。目前即时检测技术主要是开发微流控芯片基设备[如聚甲基丙烯酸甲酯、聚二甲基硅氧烷基芯片]和纸基设备(如侧流试纸和三维纸基微流控设备), 这些设备在食品污染物检测中的应用日益广泛[42−43], 表 3。

表 3 即时检测技术总结比较

Table 3 Summary and comparison of real-time testing technologies

技术类型	技术优势	技术的局限和不足	在致病菌检测的应用现状
纸基设备技术	纸基设备具有简单、经济、可生物降解、易于制备、修饰和功能化等优点, 可大批量、自动化检测, 检测效率高, 与新技术的结合可进行实时检测	检测的灵敏度、特异性有限, 多重检测和高通量检测需进一步提高	与新技术的结合发展, 检测的灵敏度、特异性、多重性都大幅提高, 已能检测涵盖食源性疾病的主要致病菌, 主要用于食品中的微生物污染物的快速筛查
微流控芯片设备技术	检测的灵敏度、特异性高、检测快速、操作简便, 无需复杂仪器, 适合现场检测应用	检测的多重性和功能性仍需进一步提高	新发展的微流控芯片技术检测涵盖食源性疾病的各种主要致病菌, 也可用于其他领域的有害物质检测
其他即时检测基质设备技术	检测灵敏度高、特异性高和具有快速性, 可定量检测, 可进行实时检测等特点	检测设备的稳定性, 可靠性, 数据处理优化仍需提高和改善	该技术的发展已广泛应用于食品中各种常见致病菌的快速检测

3.1　纸基设备技术

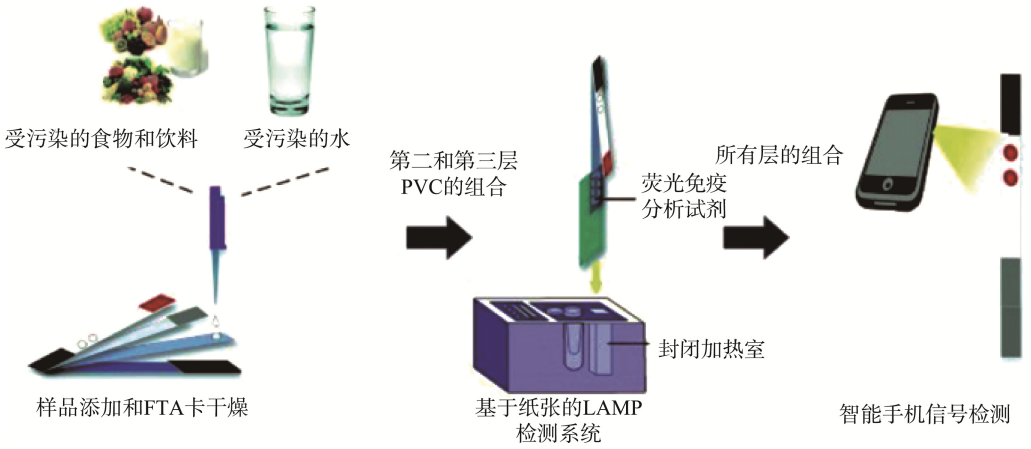
纸基设备(尤其是侧流试纸和微流控纸基分析设备)是食品安全分析中应用最广泛的即时检测(point-of-care, POC)设备之一。目前已开发出多种侧流试纸用于鉴定食品污染物, 如食源性致病菌、化学品和食品掺杂物。通常, 在侧流分析中, 可根据金纳米颗粒诱导的颜色变化估算目标物含量。阳性结果显示对照线和测试线均出现红色信号, 而阴性结果仅对照线出现红色信号[44–47]。为了解决纸基设备的灵敏度低的问题, 研究人员持续探索新一代侧流试纸, 以提高其检测灵敏度。近期研究致力于提高侧流试纸检测食品污染物的灵敏度。例如, 开发了基于适配体介导的链置换扩增技术的侧流试纸, 用于灵敏检测大肠杆菌 O157:H7[48]。近年来, 为了提高纸基设备的多重检测能力, 一项研究展示了开发一种双试纸旋转检测设备, 整合两个试纸以实现食源性致病菌的多重检测[49]。该设备包含 4 个测试线, 带有 4 种不同的捕获抗体, 在特定金纳米颗粒偶联抗体存在下, 可检测大肠杆菌 O157:H7、金黄色葡萄球菌、鼠伤寒沙门氏菌和蜡样芽孢杆菌, 从而实现目标分析物的多重检测。该设备无需外部样品富集步骤, 即可灵敏检测受污染生菜中的细菌, 检出限约为 1×10^4 CFU/g。此外, 由于荧光检测有很高的灵敏度, 故荧光技术也被应用到纸基设备, 目前已开发出多种基于荧光的侧流试纸用于检测食品污染物。这种基于荧光的试纸具有高灵敏度和特异性, 可作为传统胶体金免疫层析试纸的替代品。例如, 一项研究开发了基于铕(III)掺杂聚苯乙烯纳米颗粒的试纸, 用于检测大肠杆菌 O157:H7[50]。进一步研究发展, 开发出多种用于多重分析的纸基荧光设备。例如, 一项研究开发了一种基于上转换磷光体技术的 10 通道侧流设备, 用于同时检测多种食源性致病菌[51]。将 10 个独立试纸整合到单个设备中, 可快速检测 10 种致病菌: 大肠杆菌 O157:H7、甲型副伤寒沙门氏菌、乙型副伤寒沙门氏菌、丙型副伤寒沙门氏菌、鼠伤寒沙门氏菌、肠炎沙门氏菌、猪霍乱沙门氏菌、霍乱弧菌 O1 型、霍乱弧菌 O139 型和副溶血性弧菌, 灵敏度为 10^4~10^5 CFU/mL, 无需样品富集。该设备非常适合食品和水中食源性致病菌的快速检测和监测。最新的多项研究致力于开发用于食品微生物检测的全集成纸基“样品到结果”设备。例如, 近期一项研究成功将核酸扩增技术(nucleic acid amplification technology, NAT)的 3 个关键步骤(包括核酸提取、LAMP 和比色检测)整合到一个简单的四层集成纸基设备中[52](图 2)。

3.2　微流控芯片基设备技术

微流控芯片设备通过结合比色、荧光、电化学技术, 将样品前处理、反应、检测集成于微型平台, 实现“样品进-结果出”的全自动分析。该技术可大幅减少试剂用量, 缩短反应时间, 并与 PCR、免疫反应等多种技术兼容, 为开发便携化、集成化检测设备提供了有效途径。SUN 等[53]发明了一种微流控芯片, 该芯片完全整合了样品前处理和 NAT 的所有关键步骤(即 DNA 提取、LAMP 和荧光检测), 用于快速检测猪肉中的沙门氏菌属。该芯片有潜力作为“样品到结果”的 POC 平台, 用于实际食源性致病菌检测。另外免疫磁分离方法被证明可进一步提高芯片基设备检测致病菌(大肠杆菌 O157:H7)的灵敏度, 检出限极低, 但局限性是需要芯片外复杂的样品浓缩技术。因此, 未来的工作应涉及将简单的样品浓缩技术整合到芯片基电化学设备中, 以增强其在 POC 场景中的适用性。

3.3　其他即时检测基质设备

除纸基和微流控芯片基 POC 设备外, 还开发了其他基质设备(如纳米材料基、线程基、比色杯基、管基、圆盘基、载玻片基和微孔板基设备)用于 POC 食品安全分析[54–61]。具体而言, 这些设备的推出显著提高了纸基和芯片基设备的灵敏度和功能, 为实际应用提供了更有前景的选择。

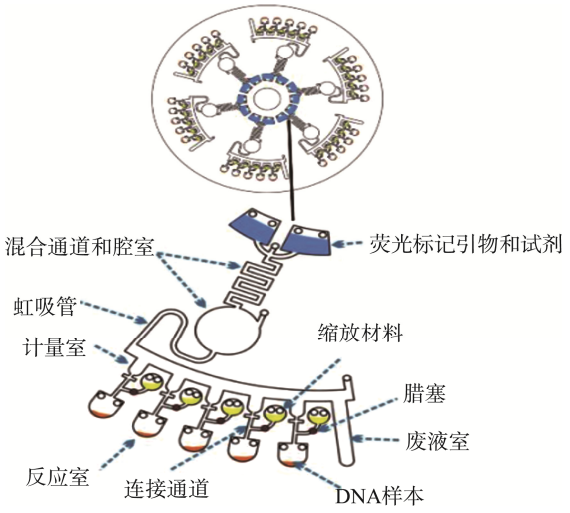


注: 一种集成的“样本到结果”纸基比色即时检测设备, 用于比色检测受污染食品与饮品中的大肠杆菌; PVC 为聚氯乙烯(polyvinyl chloride)。

图 2　NAT 的作用机制示意图

Fig.2　Schematic diagram of the action mechanism of NAT

石墨烯等纳米材料已用作基质，基于荧光猝灭增强荧光分析的检测灵敏度。一项研究开发了一种基于氧化石墨烯的设备，用于灵敏荧光检测牛奶样品中的鼠伤寒沙门氏菌[54]。另一项研究将智能手机与简单的圆盘基 LAMP 结合，用于现场荧光定量鸡肉中的食源性致病菌[55](图 3)。该设备能够同时检测 3 种食源性致病菌(包括大肠杆菌、沙门氏菌属和霍乱弧菌)，每种致病菌的检出限为 0.03 μg/μL。此外，该设备能够实现 LAMP 反应组件的原位储存，从试剂混合到信号检测的操作可通过调整圆盘转速简单控制，显著减少了用户操作步骤。这些设备可与带有应用程序的智能手机结合，用于现场目标物定量和数据分析。为实现多功能性，部分比色设备已实现试剂原位储存和“样品到结果”检测能力。



注：一种基于圆盘结构的 LAMP 设备，用于多重荧光检测食源性病原体(包括大肠埃希菌、沙门氏菌属及霍乱弧菌)在鸡肉中的存在。

图 3 圆盘基 LAMP 作用机制示意图

Fig.3 Schematic diagram of the action mechanism of disk-based LAMP

3.4 即时检测技术小结

即时检测设备的快速性、简便性、经济高效性和便携性在广泛应用中发挥着关键作用。该领域的最新进展已能够实现食品污染物的灵敏和特异性检测。此外，通过使用简单的智能手机应用程序也可实现定量，使未受过训练的用户无需实验室设备即可进行信号分析。未来研究应致力于通过自动化流体传输设计，以简便方式实现“样品到结果”的检测流程，最大限度减少用户操作。同时将即时检测系统与物联网集成,基于“智能传感+无线传输+远程监控”的检测系统逐步发展。通过集成蓝牙、WiFi 等通信模块，检测结果可实时上传至云平台，实现食品链关键节点的在线监测。结合机器学习算法的图像识别系统可自动读取试纸条结果，提高准确性和可追溯性。这类系统在冷链物流、餐饮终端等场景具有广阔应用前景。

4 结束语

尽管各种新型快速检测技术取得显著进展，仍面临若干挑战：(1)复杂食品基质干扰问题尚未完全解决：很多食品中含有大量蛋白质、脂肪、多糖以及大量食品添加剂等干扰物质，严重影响核酸的提取和扩增反应，这会导致 PCR 技术和 LAMP 技术在检测时出现假阴性或检测灵敏度下降；(2)部分新技术标准化程度不足，缺乏统一评价标准。如 MALDI-TOF MS 技术依赖全面高质量的光谱参考数据库。未知微生物的鉴定取决于其参考图谱在数据库中的存在与否，许多市售数据库不够全面，需要在全国建立完善统一的高质量的光谱参考数据库。另外国家要发布关于 MALDI-TOF MS 在食品致病菌检测中使用的全面指南或标准方案；(3)成本控制与商业化推广需要平衡。如 MALDI-TOF MS 技术需要用到 MALDI-TOF MS 仪，HTS 需要用到 WGS 仪，这些设备价格昂贵(100~300 万)，资金前期投入大，只有通过大批量样本检测平摊检测成本，另外就要扩展检测领域，包括疾病病毒、疾病病原学、药物基因组学、分子诊断，只有这样建立起成本价格和商业发展的平衡；(4)现场检测设备的稳定性和重复性有待提高。即时检测设备的稳定性、可靠性以及重复性是保证检测准确性的关键因素，现场检测受到实验外部环境多重复杂因素影响，因此必须要提供性能稳健、便携易用的即时检测设备。

未来发展趋势将呈现以下特点：(1)多技术联用。结合分子生物学、免疫学和纳米技术优势，开发协同增效的检测平台。如免疫磁珠分离技术与 PCR 技术或 LAMP 技术结合，提高致病菌目标物的核酸浓度，减少食品基质干扰；LAMP 技术与侧向流免疫层析技术结合提高了 LAMP 技术在食品致病菌检测的灵敏度和多重性；(2)智能化与自动化。集成微流控、物联网和人工智能技术，实现全流程自动化检测；(3)现场便携化。开发更多适合现场检测的即时检测产品；(4)标准化建设。建立完善的快速检测技术标准和质量控制体系。

食品中致病菌快速检测技术正朝着高灵敏度、高特异性、高通量、智能化和便携化方向发展。各类技术在实验室研究、现场筛查、在线监测等不同应用场景各展所长。通过多学科交叉融合，未来将构建覆盖食品生产、加工、流通全链条的快速检测技术体系，为食品安全监管和公众健康提供更有效的技术保障。

参考文献

[1] PAVLOVIC M, HUBER I, KONRAD R, *et al*. Application of MALDI-TOF MS for the identification of food borne bacteria [J]. The Open Microbiology Journal, 2013, 7(1): 135–141.

[2] LÉVESQUE S, DUFRESNE PJ, SOUALHINE H, *et al*. A side by side comparison of bruker biotyper and VITEK MS: Utility of MALDI-TOF MS technology for microorganism identification in a public health reference laboratory [J]. PLoS One, 2015, 10(12): e0144878.

[3] QUÉRO L, GIRARD V, PAWTOWSKI A, *et al*. Development and application of MALDI-TOF MS for identification of food spoilage fungi [J]. Food Microbiology, 2018, 81: 76–88.

[4] POMASTOWSKI P, ZŁOCH M, RODZIK A, *et al*. Analysis of bacteria associated with honeys of different geographical and botanical origin using two different identification approaches: MALDI-TOF MS and 16S rDNA PCR technique [J]. PLoS One, 2019, 14(6): e0217078.

[5] BEALE DJ, KARPE AV, JADHAV S, *et al*. Omics-based approaches and their use in the assessment of microbial-influenced corrosion of metals [J]. Corrosion Reviews, 2016, 34(1): 1–15.

[6] LI D, YI J, HAN G, *et al*. MALDI-TOF mass spectrometry in clinical analysis and research [J]. ACS Measurement Science Au, 2022, 2(6): 385–404.

[7] SANDRIN TR, GOLDSTEIN JE, SCHUMAKER S. MALDI TOF MS profiling of bacteria at the strain level: A review [J]. Mass Spectrometry Reviews, 2013, 32(2): 188–217.

[8] ASHFAQ MY, DA'NA DA, AL-GHOUTI MA. Application of MALDI-TOF MS for identification of environmental bacteria: A review [J]. Journal of Environmental Management, 2022, 305: 114359.

[9] DARIE-ION L, WHITHAM D, JAYAT-HIRTHA M, *et al*. Applications of MALDI-MS/MS-based proteomics in biomedical research [J]. Molecules, 2022, 27(20): 6196.

[10] ELBEHIRY A, MARZOUK E, HAMADA M, *et al*. Application of MALDI-TOF MS fingerprinting as a quick tool for identification and clustering of foodborne pathogens isolated from food products [J]. New Microbiology, 2017, 40(3): 269–278.

[11] JADHAV S, GULATI V, FOX EM, *et al*. Rapid identification and sourcetracking of *Listeria monocytogenes* using MALDI-TOF mass spectrometry [J]. International Journal of Food Microbiology, 2015, 202: 1–9.

[12] OJIMA-KATO T, YAMAMOTO N, TAKAHASHI H, *et al*. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) can precisely discriminate the lineages of *Listeria monocytogenes* and species of *Listeria* [J]. PLoS One, 2016, 11(9): e0159730.

[13] PAAUW A, JONKER D, ROESELERS G, *et al*. Rapid and reliable discrimination between Shigella species and *Escherichia coli* using MALDI-TOF mass spectrometry [J]. International Journal of Medical Microbiology, 2015, 305(5): 446–452.

[14] VAN-DEN-BELD MJ, ROSSEN JW, EVERS N, *et al*. MALDI-TOF MS using a custom-made database, biomarker assignment, or mathematical classifiers does not differentiate Shigella spp. and *Escherichia coli* [J]. Microorganisms, 2022, 10(2): 435.

[15] BÄCHLI P, BAARS S, SIMMLER A, *et al*. Impact of MALDI-TOF MS identification on anaerobic species and genus diversity in routine diagnostics [J]. Anaerobe, 2022, 75: 102554.

[16] SONG D, DONG K, LIU S, *et al*. Research advances in detection of food adulteration and application of MALDI-TOF MS: A review [J]. Food Chemistry, 2024, 456: 140070.

[17] KLUZ MI, WASZKIEWICZ-ROBAK B, MIROSLAVA KAÁNIOVÁ. The applications of MALDI-TOF MS in the diagnosis of microbiological food contamination [J]. Applied Sciences, 2020, 15(14): 22.

[18] CHEN L, GAO W, TAN X, *et al*. MALDI-TOF MS is an effective technique to classify specific microbiota [J]. Microbiology Spectrum, 2023, 11(3): e00307–23.

[19] DOU X, ZHANG L, YANG R, *et al*. Mass spectrometry in food authentication and origin traceability [J]. Mass Spectrometry Reviews, 2023, 42(6): 1772–1807.

[20] PHAM D, SIVALINGAM V, TANG HM, *et al*. Molecular diagnostics for invasive fungal diseases: Current and future approaches [J]. Journal of Fungi, 2024, 10(5): 447.

[21] YAMIN D, USKOKOVIĆ V, WAKIL AM, *et al*. Current and future technologies for the detection of antibiotic-resistant bacteria [J]. Diagnostics, 2023, 13(12): 3246.

[22] HAIDER A, RINGER M, KOTROCZÓ Z, *et al*. The current level of MALDI-TOF MS applications in the detection of microorganisms: A short review of benefits and limitations [J]. Microbiology Research, 2023, 14(1): 80–90.

[23] LI H, ZHANG H, XU Y, *et al*. Versatile digital polymerase chain reaction chip design, fabrication and image processing [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2019, 283: 677–684.

[24] ZHU Q, XU Y, QIU L, *et al*. A scalable self-priming fractal branching microchannel net chip for digital PCR [J]. Lab on a Chip, 2017, 17(9): 1655–1665.

[25] 王苑, 刘婧. PCR 技术在食品微生物检测中的应用分析[J]. 中国食品工业, 2024(21): 110–112.
WANG Y, LIU J. Application analysis of PCR technology in food microbial detection [J]. China Food Industry, 2024(21): 110–112.

[26] HENRIET T, BUT Z, ATTIL A, *et al*. Brief summary of the most important molecular genetic methods (PCR, qPCR, microarray, next-generation sequencing, *etc*.) [J]. Experientia Supplementum, 2019, 111: 33–52.

[27] GABALDÓN T. Recent trends in molecular diagnostics of yeast infections: From PCR to NGS [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2019, 43(4): 517–547.

[28] KAPROU GD, BERGŠPICA I, ALEXA EA, *et al*. Rapid methods for antimicrobial resistance diagnostics [J]. Antibiotics, 2021, 10(2): 209.

[29] SCHLABERG R, CHIU CY, MILLER S, *et al*. Validation of metagenomic next-generation sequencing tests for universal pathogen detection [J]. Archives of Pathology & Laboratory Medicine, 2017, 141(6): 776–786.

[30] SIDSTEDT M, RÅDSTRÖM P, HEDMAN J. PCR inhibition in qPCR, dPCR and MPS-mechanisms and solutions [J]. Analytica Chimica Acta, 2020, 412(9): 2009–2023.

[31] DRAZ MS, LU X. Development of a loop mediated isothermal amplification (LAMP)-surface enhanced raman spectroscopy (SERS) assay for the detection of salmonella enterica serotype enteritidis [J]. Theranostics, 2016, 6(4): 522–532.

[32] SAHOO PR, SETHY K, MOHAPATRA S, *et al*. Loop mediated isothermal amplification: An innovative gene amplification technique for animal diseases [J]. Veterinary World, 2016, 9(4): 465–469.

[33] DHAMA K, KARTHIK K, CHAKRABORTY S, *et al*. Loop-mediated

isothermal amplification of DNA (LAMP): A new diagnostic tool lights the world of diagnosis of animal and human pathogens: A review [J]. Pakistan Journal of Biological Sciences, 2014, 17(2): 151–166.

[34] 秦爱, 刘明明, 邓方进, 等. 重组酶介导等温核酸扩增技术在食源性致病菌检测中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(10): 279–286.
QIN A, LIU MM, DENG FJ, *et al*. Application of recombinase-mediated isothermal nucleic acid amplification technology in detection of foodborne pathogenic bacteria [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(10): 279–286.

[35] 吴怡, 刘露露, 吴永民, 等. 高通量测序检测米线中的食源性致病菌[J]. 食品科学, 2022, 24(6): 347–352.
WU Y, LIU LL, WU YM, *et al*. Detection of foodborne pathogenic bacteria in rice noodles by high-throughput sequencing [J]. Food Science, 2022, 24(6): 347–352.

[36] 王小龙, 汤全英, 邹文燕, 等. 苏州市食源性单核细胞增生李斯特菌的全基因组测序分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(8): 255–261.
WANG XL, TANG QY, ZOU WY, *et al*. Whole-genome sequencing analysis of foodborne *Listeria monocytogenes* in Suzhou City [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(8): 255–261.
TIZIANA DF, MARIA S, PIERINA V, *et al*. Development of a capture ELISA for rapid detection of Salmonella enterica in food samples [J]. Food Analytical Methods, 2019, 12(2): 322–330.

[37] YILMAZ H, MOHAPATRA SS, CULHA M. Surface-enhanced infrared absorption spectroscopy for microorganisms discrimination on silver nanoparticle substrates [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2022, 268: 120699.

[38] BAI MF, WANG YQ, ZHANG C, *et al*. Nanobody-based immunomagnetic separation platform for rapid isolation and detection of *Salmonella enteritidis* in food samples [J]. Food Chemistry, 2023, 422: 1346416.

[39] HAN JJ, ZHANG L, HU LM, *et al*. Nanozyme-based lateral flow assay for the sensitive detection of *Escherichia coli* O157:H7 in milk [J]. Journal of Dairy Science, 2018, 101(7): 5770–5779.

[40] WANG D, CHEN Q, HUO H, *et al*. Efficient separation and quantitative detection of *Listeria monocytogenes* based on screen-printed interdigitated electrode, urease and magnetic nanoparticles [J]. Food Control, 2017, 73(B): 555–561.

[41] LAW JWF, AB-MUTALIB NS, CHAN KG, *et al*. Rapid methods for the detection of foodborne bacterial pathogens: Principles, applications, advantages and limitations [J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 5: 770.

[42] ZENG D, CHEN Z, JIANG Y, *et al*. Advances and challenges in viability detection of foodborne pathogens [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 1833.

[43] HU J, CHOI JR, WANG S, *et al*. Multiple test zones for improved detection performance in lateral flow assays [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2017, 243: 484–488.

[44] GONG Y, HU J, CHOI JR, *et al*. Improved LFIAs for highly sensitive detection of BNP at point-of-care [J]. International Journal of Nanomedicine, 2017, 12: 4455–4466.

[45] YEW CHT, AZARI P, CHOI JR, *et al*. Electrospin-coating of nitrocellulose membrane enhances sensitivity in nucleic acid-based lateral flow assay [J]. Analytica Chimica Acta, 2018, 1009: 81–88.

[46] YEW C, AZARI P, CHOI J. Electrospun polycaprolactone nanofibers as a reaction membrane for lateral flow assay [J]. Polymers, 2018, 10(8): 1387.

[47] WU W, ZHAO S, MAO Y, *et al*. A sensitive lateral flow biosensor for *Escherichia coli* O157: H7 detection based on aptamer mediated strand displacement amplification [J]. Analytica Chimica Acta, 2015, 861: 62–68.

[48] SHIN JH, HONG J, GO H, *et al*. Multiplexed detection of foodborne pathogens from contaminated lettuces using a handheld multistep lateral flow assay device [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 66(1): 290–297.

[49] XING KY, PENG J, LIU N. Novel immunochromatographic assay based on Eu(III)-doped polystyrene nanoparticle-linker-monoclonal antibody for sensitive detection of *Escherichia coli* O157: H7 [J]. Analytica Chimica Acta, 2018, 998: 52–59.

[50] ZHAO Y, WANG H, ZHANG P. Rapid multiplex detection of 10 foodborne pathogens with an up-converting phosphor technology-based 10-channel lateral flow assay [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 21342.

[51] CHOI JR, HU J, TANG R. An integrated paper-based sample-to-answer biosensor for nucleic acid testing at the point of care [J]. Lab on a Chip, 2016, 16(3): 611–621.

[52] SUN Y, QUYEN TL, HUNG TQ, *et al*. A lab-on-a-chip system with integrated sample preparation and loop-mediated isothermal amplification for rapid and quantitative detection of *Salmonella* spp. in food samples [J]. Lab on a Chip, 2015, 15(9): 1898–1904.

[53] DUAN YF, NING Y, SONG Y, *et al*. Fluorescent aptasensor for the determination of *Salmonella typhimurium* based on a graphene oxide platform [J]. Microchimica Acta, 2014, 181(5): 647–653.

[54] SAYAD A, IBRAHIM F, UDDIN SM, *et al*. A microdevice for rapid, monoplex and colorimetric detection of foodborne pathogens using a centrifugal microfluidic platform [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2018, 100: 96–104.

[55] CHOI JR, NILGHAZ A, CHEN L, *et al*. Modification of thread-based microfluidic device with polysiloxanes for the development of a sensitive and selective immunoassay [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2018, 260: 1043–1051.

[56] LEVIN S, KRISHNAN S, RAJKUMAR S, *et al*. Monitoring of fluoride in water samples using a smartphone [J]. Science of the Total Environment, 2016, 551: 101–107.

[57] XIAO W, XIAO M, FU Q, *et al*. A portable smart-phone readout device for the detection of mercury contamination based on an aptamer-assay nanosensor [J]. Sensors, 2016, 16(11): 1871.

[58] LI Z, LI Z, ZHAO D, *et al*. Smartphone-based visualized microarray detection for multiplexed harmful substances in milk [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2017, 87: 874–880.

[59] LUDWIG SK, ZHU H, PHILLIPS S, *et al*. Cellphone-based detection platform for rbST biomarker analysis in milk extracts using a microsphere fluorescence immunoassay [J]. Analytica Chimica Acta, 2014, 406(24): 6857–6866.

[60] PANDEY CM, TIWARI I, SINGH VN, *et al*. Highly sensitive electrochemical immunosensor based on graphene-wrapped copper oxide-cysteine hierarchical structure for detection of pathogenic bacteria [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2017, 238: 1060–1069

(责任编辑: 蔡世佳 韩晓红)