孙笑天, 王俊颖, 龚莹婷, 等. 沙门氏菌智能可视化 SEA 检测方法的建立 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(1): 300−310. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120036

SUN Xiaotian, WANG Junying, GONG Yingting, et al. Development of an Intelligent Visual SEA Detection Method for *Salmonella*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(1): 300−310. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120036

· 分析检测 ·

沙门氏菌智能可视化 SEA 检测方法的建立

孙笑天[1], 王俊颖[1], 龚莹婷[1], 孟静南[1], 李　真[1], 赵岩岩[1,2], 翟立公[1,*]

（1.安徽科技学院食品科学与工程学院, 安徽滁州 233100;
2.功能农业与功能食品安徽省重点实验室, 安徽滁州 233100）

摘　要: 目的：建立一种基于链交换等温扩增技术（strand exchange amplification，SEA）与手机端检测程序（application，APP）结合的快速、可视化检测沙门氏菌的方法。方法：优化了富集样品核酸的壳寡糖修饰的二氧化硅膜（chitosan-modified silica membrane，CMSM），设计 SEA 等温扩增反应的引物，通过中性红显色开发的智能手机 APP“沙门智检”，并对方法的特异性、灵敏度、抗干扰能力和人工污染检测能力进行评估。结果：该检测平台对沙门氏菌的检测表现出较强的特异性，基因组 DNA 灵敏度为 10 pg/μL，菌落灵敏度为 1.5×10^2 CFU/mL，对猪肉自然背景菌群的干扰具有较好的抗性，人工污染猪肉样品中的检测灵敏度为 3.57×10^2 CFU/mL。结论：本研究建立的 SEA 智能可视化检测体系具有快速、灵敏、高特异性及智能可视化检测沙门氏菌的特点，可为食品中沙门氏菌的现场可视化快速筛查提供一种新型简便的策略。

关键词: 沙门氏菌, 链交换等温扩增, 壳寡糖, 可视化检测
中图分类号: TS207.4　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)01−0300−11
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120036　　本文网刊:

Development of an Intelligent Visual SEA Detection Method for *Salmonella*

SUN Xiaotian[1], WANG Junying[1], GONG Yingting[1], MENG Jingnan[1], LI Zhen[1], ZHAO Yanyan[1,2], ZHAI Ligong[1,*]

（1.Food Science and Engineering College, Anhui Science and Technology University, Chuzhou 233100, China;
2.Anhui Provincial Key Laboratory of Functional Agriculture and Functional Foods, Chuzhou 233100, China）

Abstract: Objective: This study aimed to develop a rapid and visual method for detecting *Salmonella* detection by integrating strand exchange amplification (SEA) with a smartphone-based application (APP). Methods: A chitosan-modified silica membrane (CMSM) was optimized for nucleic acid enrichment from samples. Primers for the SEA isothermal amplification reaction were designed, and a smartphone application "*Salmonella* Smart Detection" was developed based on neutral red coloration. The specificity, sensitivity, anti-interference capability, and detection performance for artificially contaminated samples were systematically evaluated. Results: The detection platform exhibited high specificity for *Salmonella*. The detection limit for genomic DNA was 10 pg/μL, while the sensitivity for bacterial colony detection was 1.5×10^2 CFU/mL. The method demonstrated strong resistance to interference from natural background bacterial flora in pork, achieving a detection sensitivity of 3.57×10^2 CFU/mL in artificially contaminated pork samples. Conclusion: The intelligent visual detection system based on SEA developed in this study demonstrates rapid performance, high sensitivity, strong specificity, and advanced intelligent visualization capabilities. This system offers an innovative and practical approach for on-site visual screening of S*almonella* in food products.

收稿日期: 2024−12−04
基金项目: 安徽高校自然科学研究重大项目（2023AH040277）; 横向合作项目: 食源性致病菌快速检测技术研究（20240767）; 2024 年安徽省高校优秀科研创新团队项目（2024AH010007）; 安徽科技学院科技创新团队项目（2023KJCXTD003）。
作者简介: 孙笑天（1999−）, 男, 硕士研究生, 研究方向: 食源性致病菌, E-mail: SXT15398173254@163.com。
*** 通信作者:** 翟立公（1983−）, 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食源性致病菌分子快速检测技术的开发及食源性致病菌抗逆机制的研究, E-mail: Gavin340@126.com。

Key words: *Salmonella*; strand exchange amplification (SEA); chitosan oligosaccharide; visual detection

沙门氏菌（*Salmonella*）是一种严重危害公共卫生安全的食源性致病菌，属革兰氏阴性杆菌，由其引起的食物中毒可导致发热、恶心、呕吐、腹泻及腹部绞痛等症状[1]。据统计，2022 年全国主动监测哨点医院收集的约 14 万腹泻病例生物样本中，沙门氏菌检出率约 6%，位列第一[2]。在欧洲，沙门氏菌是食品工业生产中最常引发污染的食源性致病菌之一[3]。因此，建立一种特异性强、灵敏度高的沙门氏菌快速检测方法是非常必要的。

壳寡糖/壳聚糖是一种可以在物体表面形成一层正电荷的阳离子聚合物，通过溶液中 pH 的变化能够实现样品中 DNA 吸附和解离[4]。相较于传统的液−液萃取法，这种吸附与释放机制的可逆性和对 pH 的敏感性，使得壳寡糖/壳聚糖在核酸检测中展现了高度的实用性和灵活性[5]。Gan 等[6] 采用壳聚糖修饰滤纸，可在热塑性微芯片上耦合核酸纯化，从稀释样品（50 pg/μL）中富集 62% 的 λ 噬菌体-DNA。该研究表明，壳寡糖/壳聚糖在核酸纯化过程中具有出色的高效性和稳定性，尤其适用于低浓度样品的检测。与传统的液−液萃取法相比，该方法在操作简便性、成本效益和自动化程度方面具有显著优势，在现场快速检测场景中展现出广泛的应用前景。

链交换等温扩增技术（strand exchange amplification, SEA）是 2016 年提出的新型等温扩增技术[7]。SEA 反应依赖于反应温度下 DNA 的“呼吸作用”而形成的单链泡状结构，通过局部碱基对打开产生的单链变性泡，短链核苷酸引物能够侵入变性泡并延伸。相较于环介导等温扩增技术（loop-mediated isothermal amplification, LAMP），SEA 的引物设计更简单、污染的风险更低[8]。Yang 等[9] 利用 SEA 方法，对肺炎支原体进行快速检测，可以在 1 h 内检测到低至 1.0×10^4 copies/mL 的基因组 DNA。在 SEA 反应过程中，由于 Bst DNA 聚合酶的催化扩增过程伴随着大量 H^+的积累，导致反应体系中 pH 的降低（从 pH8.0 降至 pH5.5）[10]。利用这一特性，通过选择合适的 pH 敏感染料实现对 SEA 反应结果的可视化检测。Du 等[11] 向 LAMP 反应产物中加入 $CuSO_4$，通过生成的沉淀实现可视化检测。然而，在低检测限条件下，观察沉淀物或颜色变化易受光源或个体色弱情况的影响，进而导致结果误判。 通过开发基于智能手机的颜色信号识别系统，可有效降低人为误判的可能，提高检测的可靠性与准确性。

本研究以沙门氏菌特异性基因为靶点建立一套集核酸富集−靶点等温扩增−智能化信号识别为一体的现场快速可视化检测平台。针对沙门氏菌检测过程中的前增菌步骤，采用壳寡糖修饰的二氧化硅膜（chitosan-modified silica membrane, CMSM）实现液相中 DNA 的高效富集。通过 SEA 等温扩增反应，结合开发的智能手机 APP“沙门智检”实时读取反应体系颜色的变化，实现对沙门氏菌的快速可视化检测。评估结果表明，该平台具备较高的特异性、灵敏度及抗干扰能力，展现出良好的现场快速检测（point-of-care testing, POCT）应用潜力，为食品中沙门氏菌的快速筛查提供了一种高效、低成本的检测方案。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

实验用菌株分别来源于中国医学细菌菌种保藏管理中心（National Center for Medical Culture Collections, CMCC）、中国工业微生物菌种保藏管理中心（China Center of Industrial Culture Collection, CICC）和美国菌种保藏中心（American Type Culture Collection, ATCC），菌株信息详见表 1；猪肉　购自凤阳县农贸市场；LB 培养基　海博生物技术有限公司；Ezup 柱式 DNA 抽提试剂盒、γ-缩水甘油醚氧丙基三甲氧基硅烷（3-glycidyloxypropyltrimethoxysilane, GPTMS）、十二烷基硫酸钠（sodium dodecyl sulfate, SDS）、4-吗啉乙磺酸（4-morpholineethanesulfonic acid, MES）、中性红（Neutral red）　上海生工生物工程有限公司；壳寡糖（分子量<5000 Da、<2000 Da）　青岛云宙生物科技有限公司；二氧化硅膜　北京艾比根生物科技有限公司；SEA 等温扩增通用试剂盒　青岛耐德生物技术有限公司；除另有说明外，所有其他化学品均为分析级。

表 1　实验用菌株信息

Table 1　Information of the strains used experimental

编号	菌种	拉丁名	菌种号
1	德尔卑沙门氏菌	*Salmonella* Derby	CMCC50719
2	鼠伤寒沙门氏菌	*Salmonella* Typhimurium	CMCC50115
3	海德堡沙门氏菌	*Salmonella* Heidelberg	CICC21487
4	乙型副伤寒沙门氏菌	*Salmonella* Paratyphi B	CICC21495
5	丙型副伤寒沙门氏菌	*Salmonella* Paratyphi C	CICC21512
6	猪霍乱沙门氏菌	*Salmonella* Choleraesuis	ATCC13312
7	都柏林沙门氏菌	*Salmonella* Dublin	CMCC21497
8	大肠杆菌	*Escherichia coli*	CICC21530
9	金黄色葡萄球菌	*Staphylococcus aureus*	CMCC26003
10	铜绿假单胞菌	*Pseudomonas aeruginosa*	ATCC27853
11	单增李斯特菌	*Listeria monocytogenes*	CICC21622
12	志贺氏菌	*Shigella*	CMCC51571
13	粪肠球菌	*Enterococcus faecalis*	ATCC12953

Super Mini Dancer 调速型迷你离心机　上海生工生物工程有限公司；TC-EA-48DA 基因扩增仪　杭州博日科技有限公司；NV3000C*超微量紫外可见分光光度计　美国威斯特；BSC-110011Ⅱ A2-X 生物安全柜　湖南湘仪实验仪器开发有限公司；ME403E 电子天平　梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司；LDZX-50KBS 立式高压蒸汽灭菌锅　上海三

发科学仪器有限公司；蔡司 sigma300 扫描电子显微镜　德国卡尔蔡司公司。

1.2　实验方法

1.2.1　引物来源　引物序列信息见表 2。*fimY* 基因的选用参考 Zhao 等[12] 对沙门氏菌检测的研究。从 NCBI 数据库中（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/）获得 *Salmonella fim*Y 特异性基因序列（GenBank：CP051213.1）。通过 NCBI 进行序列比对，使用 Primer Premier 5.0 软件，设计和筛选出针对沙门氏菌的特异性引物，引物由上海生工生物科技有限公司合成，引物序列信息见表 2。

表 2　引物序列信息
Table 2　Primer sequence information

目标菌	靶基因	引物	序列（5′-3′）	产物大小	来源
Salmonella	*fimY*	Pf1-F Pf1-R	TCGGTATCTGGTGGTGTAGC CCATCAACGAACGGGAC	49 bp	本文设计

1.2.2　菌种培养及基因组提取纯化　将表 1 中的菌株接种于 30 mL LB 液体培养基中，37 ℃ 培养 12 h，梯度稀释后取 100 μL 接种于 LB 琼脂培养基中，37 ℃ 培养 24 h，对菌落进行计数。使用 Ezup 柱式 DNA 抽提试剂盒提取上述各菌株基因组 DNA。使用超微量紫外可见分光光度计（260 nm 波长）测定 DNA 浓度[13]。−20 ℃ 保藏，作为后续实验的 DNA 模板。

1.2.3　壳寡糖修饰的二氧化硅膜（CMSM）制备　参考 Cao 等[14] 的方法并进行改进。将二氧化硅膜置于 70 ℃ 的食人鱼溶液（浓 H_2SO_4∶浓 H_2O_2=2∶1）中水浴 10 min。使用去离子水冲洗至洗出液中性为止，40 ℃ 干燥 12 h。将干燥后的二氧化硅膜浸入浓度为 1.0% 壳寡糖、1.0% GPTMS 和 50 mmol/L 乙酸的混合溶液中，室温孵育 8 h。使用 50 mmol/L 乙酸溶液冲洗多次，再用去离子水冲洗至洗出液中性为止，40 ℃ 彻底干燥。将其裁剪成直径约 3 mm、厚约 1 mm 的圆片，置于灭菌后的容器中保存。

1.2.4　CMSM 优化及核酸富集能力验证　参考金玉珠等[15] 的方法并进行改进。优化制备过程中的壳寡糖分子量、浓度及 GPTMS 浓度，评估 CMSM 富集的 DNA 总量和富集效率。使用分子量<2000 Da 和分子量<5000 Da 的壳寡糖，依照 1.2.3 中的方法，使用 1.0% 壳寡糖、1.0% GPTMS 和 50 mmol/L 乙酸的混合溶液制备 CMSM。将 CMSM 浸入 100 μL 初始 DNA 总量为 C_1=100 ng 的 DNA 溶液中（pH5），轻轻搅拌 4 min 后取出，使用超微量紫外可见分光光度计（260 nm 波长）测得剩余 DNA 总量 C_2（单位：ng），通过测定初始 DNA 总量与剩余 DNA 总量的差值，计算出 CMSM 富集的 DNA 总量 m（单位：ng）。m 的计算公式如下。

$$m = C_1 - C_2 \qquad 式（1）$$

式中，m 为富集的 DNA 总量（ng），C_1 为初始 DNA 总量（ng），C_2 为剩余 DNA 总量（ng）。

依照 1.2.3 中的方法，控制混合溶液中 GPTMS 与乙酸浓度不变，优化混合溶液中的壳寡糖浓度（0%、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%）。控制混合溶液中壳寡糖与乙酸浓度不变，优化混合溶液中的 GPTMS 浓度（0%、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%）。依照公式（1），计算各浓度条件下富集的 DNA 总量 m。每个浓度条件下进行三次重复实验，数据采用平均值和标准差进行统计分析。

评估 CMSM 富集的 DNA 总量和富集效率。将 CMSM 分别浸入 100 μL 初始 DNA 量为 C_1（10、20、50、100、150、200 ng）的 DNA 溶液中（pH5），轻轻搅拌 4 min 后取出。使用超微量紫外可见分光光度计（260 nm 波长）测得溶液中剩余的 DNA 总量 C_2（单位：ng），使用公式（1）计算出 CMSM 富集的 DNA 总量 m（单位：ng），得到 CMSM 的核酸富集效率 η（单位：%）。η 的计算公式如下。

$$\eta(\%) = \frac{m}{C_1} \times 100 \qquad 式（2）$$

式中，η 为富集效率（%），m 为富集的 DNA 总量（ng），C_1 为初始 DNA 总量（ng）。

1.2.5　CMSM 扫描电子显微镜（SEM）表征　参考 Wang 等[16] 文献中的描述。通过扫描电子显微镜（型号：蔡司 sigma300；能谱：牛津 Xplore30）对核酸富集前后的 CMSM 样品进行表征。在成像之前，将样品镀上一层约 10 nm 的金膜以增强导电性。将 SEM 的加速电压设置为 3.00 kV，放大倍数为 5.00 k×。采集高分辨率图像以观察 CMSM 的表面形貌，并评估表面形貌的相关变化。所有成像均在高真空条件下进行，以确保最佳分辨率。

1.2.6　引物特异性评估　以表 1 中 7 株不同血清型的沙门氏菌和 6 株非沙门氏菌的基因组 DNA 为模板，使用表 2 中设计的沙门氏菌特异性引物进行 PCR 扩增。PCR 反应体系如表 3 所示。

表 3　PCR 反应体系
Table 3　PCR reaction system

试剂	终浓度	体积（μL）
Taq PCR Master Mix	2×	12.5
DNA模板	10 ng/μL	1
Pf1−F	0.4 μmol/L	1
Pf1−R	0.4 μmol/L	1
dd H_2O		9.5
总体积		25

注：Taq PCR Master Mix：包含Taq DNA聚合酶、dNTP、$MgCl_2$、PCR buffer等。

PCR 反应程序：94 ℃ 变性 5 min，之后再 94 ℃ 变性 30 s，60 ℃ 退火 30 s，72 ℃ 延伸 45 s，以上过程进行 30 个循环，最后再 72 ℃ 延伸 10 min。PCR 扩增产物在 4% 的琼脂糖凝胶中进行电泳，并在凝胶成像仪中观察电泳结果，进而确定引物的特异性。

1.2.7　SEA 扩增时间的优化　按照 SEA 等温扩增通用试剂盒使用说明书配制 SEA 反应体系，将配制好的反应体系于 60 ℃ 下分别反应一段时间（10、20、30、40、50、60 min），将 SEA 扩增产物在 4% 的琼脂糖凝胶中进行电泳，并在凝胶成像仪中观察电泳结果，确定最优的扩增时间。

1.2.8　中性红溶液变色分析　参考铁德金等[17] 文献中的方法并进行改进。配制浓度 1.0 mg/mL 的中性红溶液，作为 SEA 可视化反应的指示剂，配制等梯度的 pH 缓冲溶液（pH4.5、5.5、6.5、7.5、8.5），取 25 μL pH 缓冲溶液，加入 1 μL 中性红溶液，室温下静置 5 min，确保染料与溶液充分平衡。观察溶液颜色变化情况，验证 SEA 可视化方法的可行性。

1.2.9　SEA 智能可视化反应体系建立与检测程序应用　参考 Li 等[18] 文献中的方法并进行改进。将表 1 中的菌株接种于 30 mL LB 液体培养基中，37 ℃ 培养 12 h。取 1 mL 菌液，加入 100 μL 裂解缓冲液（50 mmol/L Tris-HCl, 0.5% SDS, pH9.0），80 ℃ 水浴 6 min，促使细胞裂解释放核酸。向裂解体系中加入 300 μL 50 mmol/L MES 缓冲液（pH4.0），得到结合缓冲液（pH5.0）。将 CMSM 放入结合缓冲液中，轻轻搅拌 4 min，促使核酸吸附到膜上。使用 100 μL 的 MES 缓冲液对 CMSM 进行洗涤，洗去除核酸外的其他成分。随后将其作为模板直接加入到 SEA 反应体系中。CMSM 吸附的核酸可直接在 SEA 反应体系中（pH8.0）进行洗脱和原位扩增。SEA 智能可视化反应体系如表 4 所示。

表 4　SEA 智能可视化反应体系试剂信息

Table 4　SEA intelligent visualization reaction system reagent information

试剂	浓度	体积（μL）
Buffer A	1×	12.5
Buffer B	1×	2.5
中性红染料	1.0 mg/mL	1
Pfl-F	1.5×10^{-3} mol/L	3.75
Pfl-R	1.5×10^{-3} mol/L	3.75
dd H_2O		1.5
总体积		25

注：Buffer A主要为dNTP, $MgCl_2$, 缓冲液；Buffer B主要为Bst DNA聚合酶；为了确定无污染，以不含DNA模板的标准反应为阴性对照。

SEA 扩增程序：将试剂混合后，构成 25 μL 体系，吹打混匀，短暂离心以消除气泡，在 60 ℃ 恒温条件下反应 40 min 即可。

SEA 智能可视化检测程序：通过开发的手机 APP“沙门智检”进行检测分析。使用手机拍摄反应结果，对显色区域在 RGB 颜色模型（Red-Green-Blue, RGB）中的绿色通道值（G）和蓝色通道值（B）进行分析。以 G 值和 B 值的色值之差（B−G）为检测标准。当 B−G≤0 时，反应结果为阴性，当 B−G>0 时，反应结果为阳性。整个 SEA 智能可视化检测体系的示意图如图 1 所示。

1.2.10　软件参数测评　参考李晴等[19] 和卫玉钊[20] 文献中的方法并进行改进。对 APP 使用过程中的光源要求进行测试，对 APP 的拍摄高度进行优化。以华为 Mate 60 Pro 智能手机（5000 万像素）作为图片

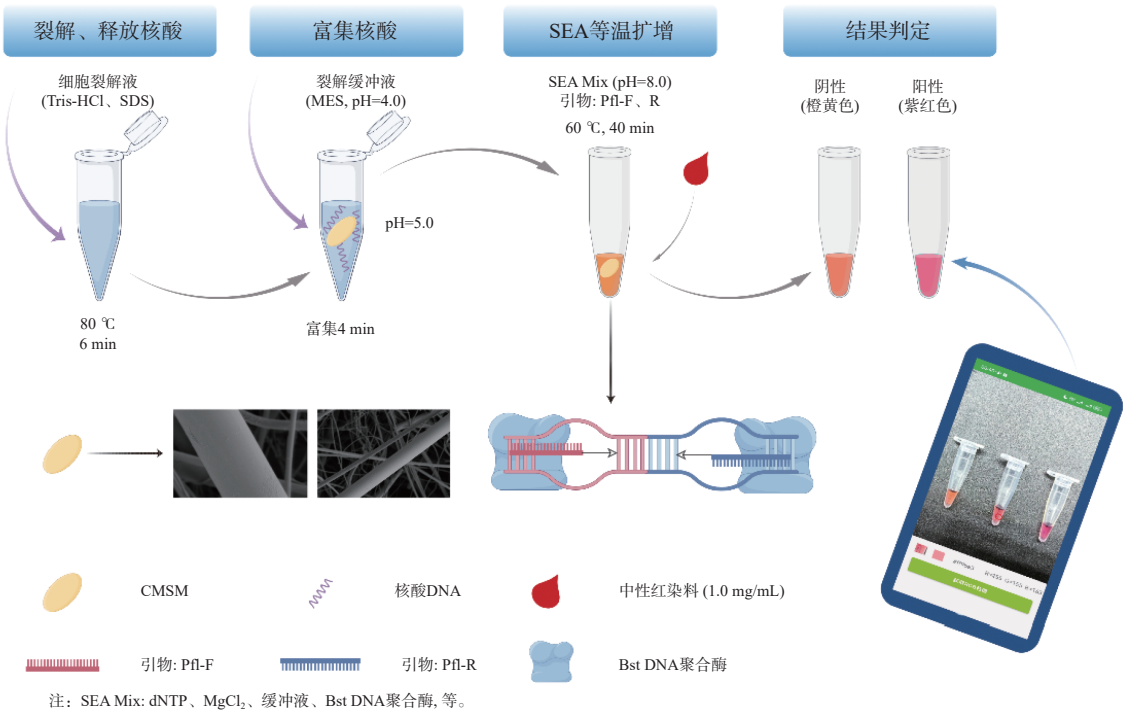


图 1　SEA 智能可视化检测平台示意图

Fig.1　Schematic diagram of the SEA smart visualization detection platform

注：流程图使用 Figdraw 绘制。

采集工具，选取三种不同模板 DNA 浓度（10^{-2}、10^{0}、10^{2} ng/μL）的 SEA 智能可视化反应作为样本，并以无模板反应作为阴性对照组（NTC），在自然光和 LED 光源下分别采集色值，评估光源对 APP 读取颜色信息的影响。选取模板 DNA 浓度为 10 pg/μL 的 SEA 智能可视化反应作为样本，在不同的拍摄高度（5、10、15、20、25、30、35、40 cm）下采集色值，分析拍摄高度对 APP 采集色值的影响，确定使用软件时的最佳拍摄高度。

1.2.11 软件性能测评 参考 Moussa 等[21] 文献中的方法并进行改进。评估手机像素及拍摄次数对 APP 采集色值和结果判定的影响。选取三种不同模板 DNA 浓度（10^{-2}、10^{0}、10^{2} ng/μL）的 SEA 智能可视化反应作为样本，并以无模板反应作为阴性对照组（NTC），使用不同的手机像素（1600、2000、5000 万）进行拍摄采集色值，评估手机像素对 APP 读取颜色信息的影响。选取模板 DNA 浓度为 10 pg/μL 的 SEA 智能可视化反应作为样本，每个样本采集 5 次色值，分析 APP 使用的稳定性。

1.2.12 SEA 智能可视化检测体系评价

1.2.12.1 反应体系灵敏度评价 参考 Hong 等[22] 文献中对于沙门氏菌的研究。对 SEA 智能可视化检测方法的基因组 DNA 灵敏度和纯菌液检测灵敏度进行评估。选取表 1 中的 *Salmonella* Derby 为目标菌株，依照 1.2.2 方法培养并提取全基因组 DNA 模板，将 DNA 浓度梯度稀释为 10^{-3}~10^{0} ng/μL。将 *Salmonella* Derby 菌液梯度稀释至终浓度（1.5×10^{7}~1.5×10^{0} CFU/mL）。按照 1.2.9 中的检测体系和检测程序进行 SEA 智能可视化反应，结束后观察反应体系颜色变化，使用 APP 进行智能分析检测。采用无模板的反应作为阴性对照组（NTC）。

1.2.12.2 抗干扰能力评估 在实际应用中，沙门氏菌的测定可能受食品中天然背景菌群的干扰影响[23]。选取表 1 中的 *Salmonella* Derby 菌株作为目标菌株，通过抗干扰实验验证该方法的准确性。对照国标 GB4789.4-2016 对猪肉样品进行检测，确认无沙门氏菌[24]。将 10 g 猪肉在 90 mL LB 液体培养基中 37 ℃ 培养 24~48 h，将猪肉背景菌群梯度稀释至 2.08×10^{8}~2.08×10^{1} CFU/mL。以 10^{6}:1、10^{5}:1、10^{4}:1、10^{3}:1、10^{2}:1、10^{1}:1、10^{0}:1 和 10^{-1}:1 的比例与 *Salmonella* Derby 等比例混合。取 1 mL 混合菌液，依照 1.2.9 中的检测体系和检测程序进行 SEA 智能可视化反应，结束后观察反应体系颜色变化，使用 APP 进行智能分析检测。采用无模板的反应作为阴性对照组（NTC）。

1.2.12.3 实际样品的人工污染评价 参考卢鑫等[25] 文献中的方法。从当地农贸市场购买猪肉样品，使用国标法（GB 4789.4-2016）检测不含沙门氏菌。选取表 1 中的 *Salmonella* Derby 菌株作为目标菌株，依照 1.2.2 中的方法培养 12 h，将菌液梯度稀释至 3.57×10^{7}~3.57×10^{0} CFU/mL，分别接种于 10 g 猪肉表面，与 90 mL LB 液体培养基混匀均质。取 1 mL 均质液，依照 1.2.9 中的检测体系和检测程序进行 SEA 智能可视化反应，结束后观察反应体系颜色变化，使用 APP 进行智能分析检测。

1.3 数据处理

采用无模板的反应作为阴性对照组（NTC），实验结果以均值±标准差表示，SPSS Statistics 26、Origin 2021 等软件进行分析及作图，$P<0.05$ 表示有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 CMSM 优化及核酸富集能力验证

为提高 CMSM 的核酸富集能力，本研究对其制备过程中的壳寡糖分子量、浓度以及 CPTMS 浓度进行了优化。图 2A 的结果显示，壳寡糖的分子量和浓度对 CMSM 富集 DNA 总量具有显著的影响。与 <5000 Da 的壳寡糖相比，壳寡糖浓度相同条件下，分子量 <2000 Da 的壳寡糖制备的 CMSM 富集的 DNA 总量更高。主要是由于其分子尺寸相对较小、修饰密度更高以及空间位阻较小，较小分子量的壳寡糖能够在 CMSM 表面形成均匀且高效的修饰层，从而增强与核酸的静电吸附作用，而分子量较大的壳寡糖可能因空间位阻效应导致修饰效率降低，限制了核酸的吸附能力。此外，随着壳寡糖浓度从 0% 增加至 1.0%，CMSM 富集的 DNA 总量显著增加（$P<0.05$），并在 1.0% 浓度时达到峰值。然而，随着壳寡糖浓度进一步增加至 2.0%，富集的 DNA 总量并未进一步增加。这是由于壳寡糖在 CMSM 的表面修饰达到了饱和状态，进一步提高壳寡糖浓度不能再增加表面阳离子层密度，从而无法进一步吸附核酸。由图 2 A 的结果分析可知，使用分子量<2000 Da、1.0% 浓度的壳寡糖制备的 CMSM 有较好的核酸吸附能力。

图 2B 为 GPTMS 浓度对 CMSM 富集核酸的影响。由图 2B 可知，随着 GPTMS 浓度从 0% 增加至 1.0%，CMSM 富集的 DNA 总量显著增加（$P<0.05$），并在 1.0% 浓度时达到峰值。然而，随着 GPTMS 浓度进一步增加至 2.0%，富集的 DNA 总量并未进一步增加。这是因为随着 GPTMS 浓度的增加（0%~1.0%），GPTMS 逐步促进壳寡糖修饰于二氧化硅膜表面，从而增强 CMSM 对 DNA 的静电吸附能力，当 GPTMS 浓度为 1.0% 时，已足够将二氧化硅膜表面完全修饰壳寡糖，使 CMSM 富集 DNA 的能力达到最大。因此，随着 GPTMS 浓度进一步增加，CMSM 并未能富集更多的核酸。综合图 2A 和图 2B 的结果表明：使用分子量<2000 Da、浓度 1.0% 的壳寡糖和浓度 1.0% 的 GPTMS 制备的 CMSM 具有较高的核酸吸附量。

由图 2C 的结果可知，当溶液中初始 DNA 总量

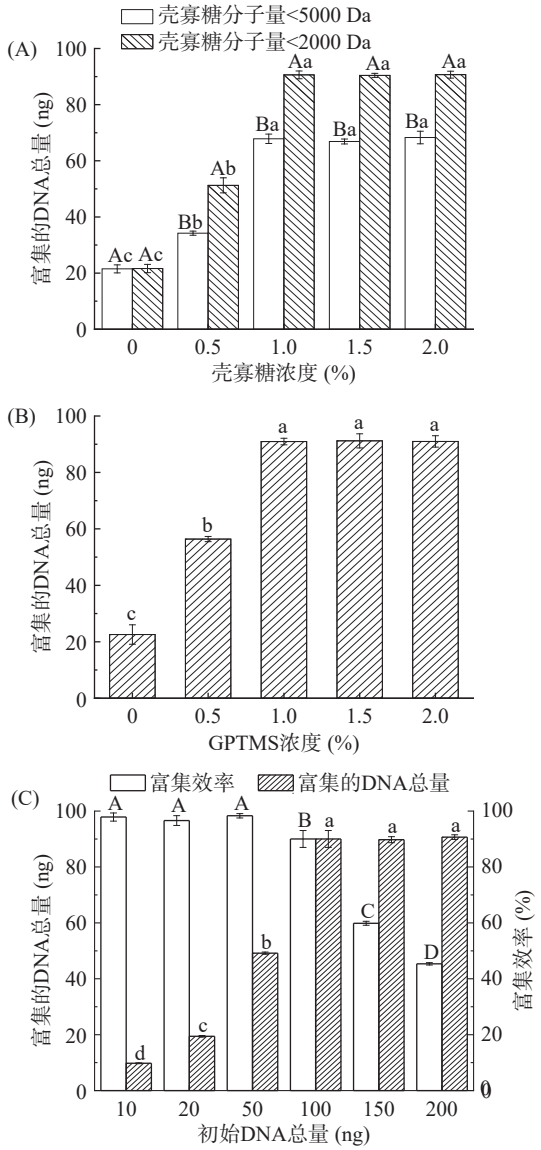


图 2　CMSM 优化及核酸富集能力分析

Fig.2　Optimization of CMSM and analysis of nucleic acid enrichment capacity

注：A: 壳寡糖分子量及浓度对 CMSM 富集核酸的影响；B: GPTMS 浓度对 CMSM 富集核酸的影响；C: 优化后的 CMSM 富集核酸的总量和效率；图 A 中 a~c 表示不同壳寡糖浓度对 CMSM 富集结果的显著性差异，A、B 表示相同浓度下壳寡糖分子量对 CMSM 富集结果的显著性差异；图 B 中 a~c 表示不同 GPTMS 浓度对 CMSM 富集结果的显著性差异；图 C 中 a~d 表示不同初始 DNA 量对 CMSM 富集结果的显著性差异，A~D 表示 CMSM 富集效率的显著性差异；差异性显著 $P<0.05$。

在 100 ng 以内时，CMSM 展现出相当高效的核酸吸附效率，其核酸富集效率(η)均保持在 90% 以上。随着初始 DNA 总量从 100 ng 逐渐增加，富集效率(η)急速下降，当初始 DNA 总量为 200 ng 时，富集效率从 90% 降至 45% 左右。综合图 2C 的结果表明，优化后的 CMSM 能够实现对溶液中 DNA 的高效富集，同时也说明 CMSM 对 DNA 的吸附量存在一定限制，经计算，一份直径 3 mm、厚度 1 mm 的 CMSM 最多可吸附约 90 ng 的 DNA。这些核酸可为沙门氏菌的快速检测提供足够扩增的模板。

2.2　CMSM 扫描电镜表征结果

采用扫描电子显微镜（SEM）对富集前后的 CMSM 表面形貌进行了表征。图 3A 显示，在富集前，CMSM 的表面较为光滑，无明显附着物，这表明，在富集之前，CMSM 的表面纤维结构完整且无外源分子干扰。相比之下，图 3B 显示，富集后的 CMSM 表面纤维呈现粗糙状态，且附着有大量明显的颗粒状物质。这种变化清晰地表明核酸分子成功吸附到 CMSM 的表面。通过对比富集前后的表面结构变化，验证了 CMSM 在优化条件下能够有效吸附 DNA 分子。

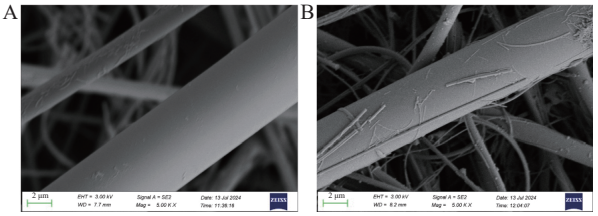


图 3　富集前、后的 CMSM 扫描电镜图对比

Fig.3　Comparison of scanning electron microscopy images of CMSM before and after enrichment

注：A: 未进行 DNA 富集的扫描电镜图；B: 富集 DNA 后的扫描电镜图。

2.3　引物特异性评价

针对 *Salmonella fim*Y 基因设计 SEA 智能可视化检测的引物 Pf1-F、Pf1-R，验证引物的特异性。电泳结果图 4 所示，Pf1 的扩增产物大小为 49 bp，图 4A 中，引物 Pf1 与表 1 中 7 种血清型沙门氏菌于 49 bp 处均成功扩增出目的条带，图 4B 中，引物 Pf1 与 1~6 泳道中的非沙门氏菌进行扩增时，均未出现目前条带，与 7 泳道中的德尔卑沙门氏菌成功扩增出目的条带。结果表明，引物 Pf1-F、Pf1-R 对 *Salmonella* 的检测具有较高的特异性，与大肠杆菌、单核增生李斯特菌等常见细菌无阳性反应。

2.4　SEA 扩增时间的优化

优化 SEA 智能可视化反应的反应时间，对不同反应时间下的扩增产物进行分析，电泳结果如图 5 所示，随着反应时间的增加，SEA 反应于 49 bp 处的扩增信号逐渐增强，当反应时间达 30 min 时，可观察到较暗目的条带，延长反应时间至 40 min 后，可观察到清晰的目的条带。此外，凝胶电泳中还观察到多个较高分子量的扩增产物。这些较高分子量的扩增产物实际上是由 49 bp 的目标产物经过不同重复次数形成的串联重复序列[26]。这一现象与反应时间相关，表明反应时间的延长促进了串联重复序列的生成。综合考虑扩增信号强度与反应时间之间的关系，本研究将 SEA 反应的最优反应时间设定为 40 min。

2.5　不同 pH 条件下中性红的变色情况

本研究中，利用 SEA 反应体系的 pH 变化（从 pH8.5 降至 pH4.5），使用 1 μL、浓度为 1.0 mg/mL

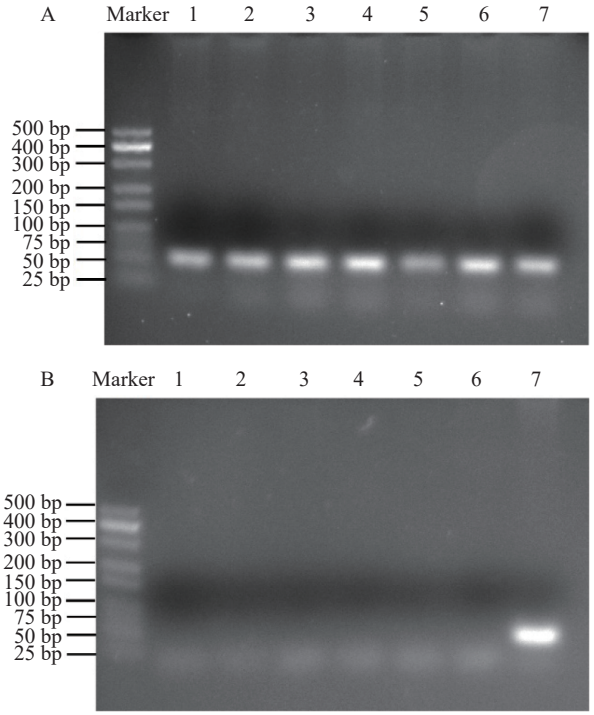


图 4 引物特异性分析结果

Fig.4 Prim-specific analysis results

注: A: 引物 Pf1 与 7 种血清型沙门氏菌扩增的电泳图, 1: 鼠伤寒沙门氏菌, 2: 海德堡沙门氏菌, 3: 乙型副伤寒沙门氏菌, 4: 德尔卑沙门氏菌, 5: 丙型副伤寒沙门氏菌, 6: 猪霍乱沙门氏菌, 7: 都柏林沙门氏菌; B: 引物 Pf1 与 6 种非沙门氏菌及德尔卑沙门氏菌扩增的电泳图, 1: 大肠杆菌, 2: 金黄色葡萄球菌, 3: 铜绿假单胞菌, 4: 单增李斯特菌, 5: 志贺氏菌, 6: 粪肠球菌, 7: 德尔卑沙门氏菌。

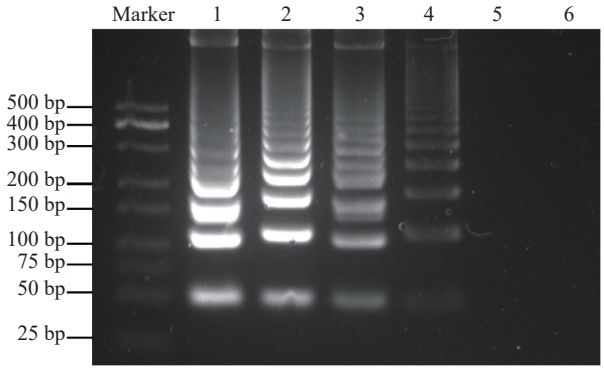


图 5 SEA 扩增时间优化

Fig.5 SEA amplification time optimization

注: 1: 60 min; 2: 50 min; 3: 40 min; 4: 30 min; 5: 20 min; 6: 10 min。

的中性红溶液作为比色指示剂。图 6 的结果表明, 当溶液 pH≥7.5 时, 溶液呈橙黄色。随着 pH 降至 6.5, 溶液颜色由橙黄色转变为橘黄色, 尽管此时颜色发生变化, 但尚未达到 SEA 反应后的 pH, 因此不应视为反应后的颜色标准。随着 pH 进一步下降至 4.5, 溶液颜色转为紫红色, 这一颜色变化明显且稳定, 具有良好的可辨识性。因此, 在 SEA 反应体系中, 若存在目标基因组, 即发生扩增反应, 体系 pH 下降, 体系颜色从橙黄色转变为紫红色, 通过观察颜色变化即可直观判断反应是否为阳性。

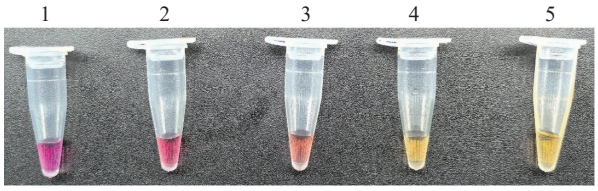


图 6 不同 pH 条件下中性红的变色情况

Fig.6 Color change of neutral red under different pH conditions

注: 1: pH4.5; 2: pH5.5; 3: pH6.5; 4: pH7.5; 5: pH8.5。

2.6 沙门智检软件使用参数及性能评估结果

2.6.1 软件使用参数评估结果 图 7A 显示, 使用不同浓度的模板 DNA 进行 SEA 智能可视化反应时, 分别使用 LED 光源和自然光光源, APP 所得的色值之差(B−G)绝对偏差最大为±0.48, 两种光源下的差异不具有统计学显著性, 表明在不同浓度的模板 DNA 条件下, 光源对软件的使用影响均较小。图 7B 显示, 当拍摄距离为 5~10 cm 时, 所得色值之差(B−G)的绝对偏差最大为±7.56, 且数值波动较大, 同时出现了假阴性结果, 推测可能是手机拍摄距离过近, 导致成像模糊所致。调整拍摄距离至 15~25 cm 时, 拍摄图像清晰且亮度适中, 多次测定所得色值之差(B−G)的绝对偏差最大为±2.00, 数值波动较小, 结果较为稳定。进一步增加拍摄距离至 30~40 cm 时, 多次测定所得色值之差(B−G)的绝对偏差最大为±4.22, 数值波动相对较小, 但容易出现假阴性结果, 推测可能是由于距离过远, 图片亮度不均。因

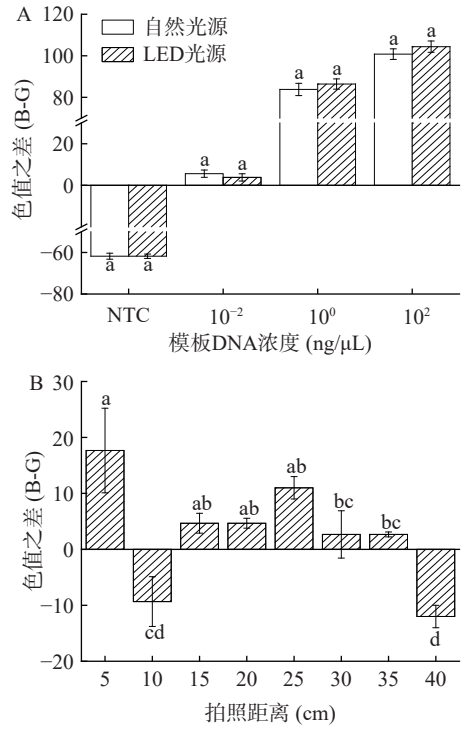


图 7 软件使用参数评估

Fig.7 Evaluation of mobile application usage parameters

注: A: 光源对软件获取色值之差的影响; B: 拍照距离对软件色值之差的影响; a, b, c, d 表示色值之差之间的显著性差异, 差异性显著 $P<0.05$。

此，考虑到实际应用并结合误差值，确定软件的最佳拍摄高度为 15~25 cm。

2.6.2　软件性能评估结果　图 8A 结果显示，在三种浓度的模板 DNA 进行 SEA 智能可视化反应时，使用不同的手机像素所得色值之差的绝对偏差分别为±2.72、±3.92 和±3.52，数值波动较小，且结果稳定一致，无显著性差异，表明手机像素对软件采集图像信息的影响极小，该软件可适用于不同像素的手机，具有较好的适应性。图 8B 结果显示，在低浓度模板 DNA 下（1 ng/μL）进行 SEA 智能可视化反应时，软件所得色值之差的绝对偏差最大为±3.11，多次测定结果相近，无显著性差异。这表明，软件在低检测限时采集颜色信息的稳定性较好，能够确保快速检测过程中数据的一致性与可靠性。

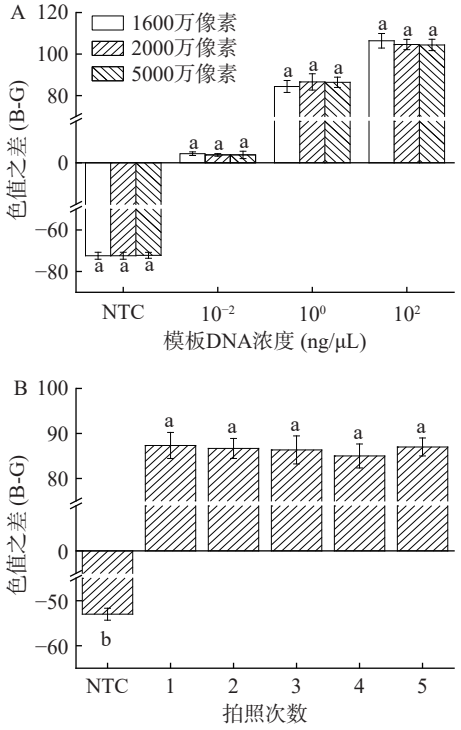


图 8　软件使用性能评估

Fig.8　Evaluation of mobile application performance

注：A：手机像素对软件获取色值之差的影响；B：软件的稳定性评估；a, b 表示色值之差之间的显著性差异，差异性显著 $P<0.05$。

2.7　SEA 智能可视化检测体系评价

2.7.1　基因组和菌落灵敏度评估　为了评估所建立的 SEA 智能可视化检测平台的灵敏度，对 *Salmonella* Derby 基因组 DNA 和纯菌液的检测灵敏度进行了评估。图 9 展示了对于 *Salmonella* Derby 基因组 DNA 的检测比色结果（图 9A）以及手机 APP 所对应的色值差（B−G）结果（图 9B）。图 9A 显示，当基因组 DNA 浓度低于 10 pg/μL 时，反应体系呈现橙黄色，显示为阴性结果，当基因组 DNA 浓度达到以及超过 10 pg/μL 时，反应体系变为紫红色，显示为阳性结果。同时，图 9B 结果显示，当基因组 DNA 浓度

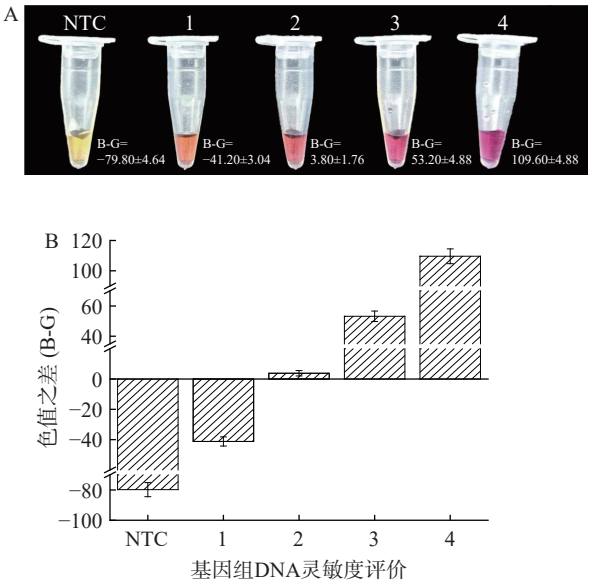


图 9　基因组 DNA 灵敏度评价

Fig.9　Sensitivity evaluation of genomic DNA

注：A：基因组 DNA 灵敏度比色结果；B：软件获得的色值之差结果；1：10^{-3} ng/μL；2：10^{-2} ng/μL；3：10^{-1} ng/μL；4：10^{0} ng/μL；NTC 为阴性对照。

为 1 pg/μL 时，此时的色值差 B−G<0（−41.20±3.04），当基因组 DNA 浓度为 10 pg/μL 时，色值差 B−G>0（3.80±1.76）。因此，将 SEA 智能可视化检测平台的最低基因组 DNA 灵敏度确定为 10 pg/μL。该结果与张雅薇等[27]通过重组酶介导的等温核酸扩增（recombinase aided amplification, RAA）技术结合荧光法检测鼠伤寒沙门氏菌所报告的 10 pg/μL 的灵敏度相当。优于 Zhang 等[28]使用 SEA 技术检测单增李斯特菌所报告的 1.0×10^{-13} mol/L 基因组 DNA 灵敏度。

图 10 为对 *Salmonella* Derby 纯菌液检测灵敏度的评估。图 10A 的比色结果显示，当菌落浓度低于 1.5×10^{2} CFU/mL 时，反应体系呈橙黄色，显示为阴性结果；当菌落浓度高于或等于 1.5×10^{2} CFU/mL 时，反应体系呈紫红色，显示为阳性结果。图 10B 显示，在菌落浓度为 1.5×10^{2} CFU/mL 时，APP 测得的 B−G 数值为 3.80±1.44，表现为阳性结果。因此，SEA 智能可视化检测平台在纯菌液中的检测灵敏度为 1.5×10^{2} CFU/mL。Priya 等[29]使用 LAMP 技术检测沙门氏菌，经过 6 h 和 12 h 的长时间富集后，基因组 DNA 灵敏度分别为 lg 2.5 CFU/g 和 lg 1.5 CFU/g。郦娟等[30]利用重组酶聚合酶等温扩增（recombinase polymerase amplification, RPA）结合侧流免疫层析法可检测 2.0×10^{2} CFU/mL 的沙门氏菌。章小洪等[31]建立的沙门氏菌实时荧光定量环介导等温扩增（quantitative loop-mediated isothermal amplification, qLAMP）检测体系中，经过 7 h 的长时间增菌，纯菌液的检测灵敏度仅有 100 CFU/mL。与上述针对沙门氏菌的研究相比，本研究建立的 SEA 智能可视化检测平台的菌落灵敏度更高，无需

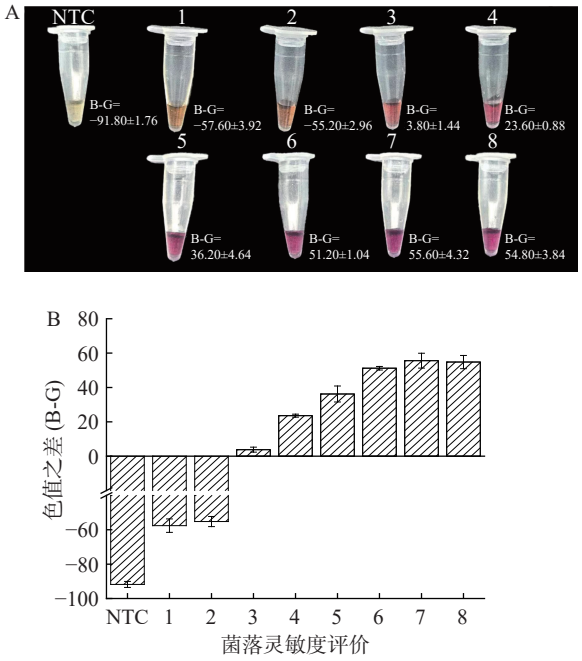


图 10 菌落灵敏度评价和软件判定结果

Fig.10 Colony sensitivity evaluation and the software determination results

注: A: *Salmonella* Derby 菌落灵敏度比色结果; B: 软件获得的色值之差结果; 1: 1.5×10^{0} CFU/mL; 2: 1.5×10^{1} CFU/mL; 3: 1.5×10^{2} CFU/mL; 4: 1.5×10^{3} CFU/mL; 5: 1.5×10^{4} CFU/mL; 6: 1.5×10^{5} CFU/mL; 7: 1.5×10^{6} CFU/mL; 8: 1.5×10^{7} CFU/mL; NTC 为阴性对照。

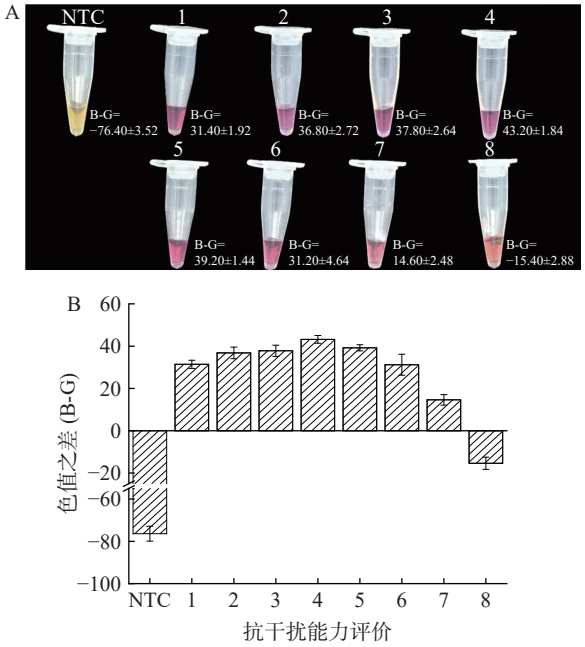


图 11 猪肉背景菌群下的抗干扰评价和软件判定结果

Fig.11 Anti-interference evaluation under pork background microbiota and the software determination results

注: A: 猪肉背景菌群与 *Salmonella* Derby 混合样本的抗干扰评价; B: 软件获得的色值之差结果; 1: 混合比例 10^{-1}:1; 2: 混合比例 10^{0}:1; 3: 混合比例 10^{1}:1; 4: 混合比例 10^{2}:1; 5: 混合比例 10^{3}:1; 6: 混合比例 10^{4}:1; 7: 混合比例 10^{5}:1; 8: 混合比例 10^{6}:1; NTC 为阴性对照。

长时间的前增菌步骤, 且无需频繁的开盖操作, 不易出现假阳性结果, 更适用于沙门氏菌的现场快速检测。

2.7.2 抗干扰能力评价 本试验的目的是验证在食品复杂环境下, 自然背景菌群对检测体系的影响。图 11 展示了以猪肉的天然背景菌群为干扰因子, 模拟自然环境下高浓度背景菌群对 SEA 智能可视化检测平台灵敏性的影响。由图 11A 的比色结果可知, 背景菌群与 *Salmonella* Derby 的混合比例达 10^{5}:1 时, 反应体系仍能表现出明显的颜色变化, 结合图 11B 中的 B−G 值结果分析, 此时 B−G 值为 14.60±2.48, 检测结果为阳性。尽管在更高的干扰比例下(10^{6}:1), 肉眼可能观察到颜色变化, 但数据显示其 B-G 值明显低于阳性阈值。这种视觉与数据之间的差异可能是在高浓度背景菌群干扰下, 目标扩增受到抑制, 不足以完成指示剂的完全变色, 但使其偏离了阴性的橙黄色。本研究采用客观量化标准(B-G>0)以消除主观视觉误差,第 8 组 B-G 值为-15.40±2.88, 严格落在预设阴性区间。因此, 将抗干扰界定于第 7 组(10^{5}:1)是基于其产生明确紫红色且 B-G 值为 14.60±2.48。该结果揭示了单纯依赖主观视觉判读方法在临界状态下可能存在误判风险。通过将颜色信息转化为客观量化标准, 为结果判定提供了一个统一、可靠的判读标准。现有研究结果表明, 背景菌群与目标菌的比例对检测结果的影响较大, 10^{5}:1 的比例已被认为是一个较高的干扰条件[32]。这表明 SEA 智能可视化检测平台即使在高浓度自然背景菌群的干扰下, 仍能保持显著的检测灵敏性。与任翔等[33] 使用 LAMP 方法检测实际样品中的沙门氏菌相比, SEA 智能可视化检测方法的抗干扰能力更强, 且在样品处理及核酸富集过程中的操作都较为简便、快速, 符合在复杂环境下对沙门氏菌进行快速、灵敏检测的需求。

2.7.3 实际样品的人工污染评价 为评估 SEA 智能可视化方法在实际样品中的适用性和可靠性, 本研究选取 *Salmonella* Derby 为目标菌株, 并以常见于污染的猪肉为样品进行了验证。结果如图 12 所示, 图 12A 显示, 当猪肉样品中的 *Salmonella* Derby 污染水平至 3.57×10^{2} CFU/mL 时, SEA 智能可视化反应平台仍能观察到明显的颜色变化, 结合图 12B 分析, 此时 B−G>0(3.00±0.80), 判定检测结果为阳性。实验结果表明, SEA 智能可视化方法可在人工加标猪肉样品中检出污染水平低至 3.57×10^{2} CFU/mL 的 *Salmonella* Derby, 该检测水平与纯菌液检测灵敏度达到同一数量级, 表明在本研究中猪肉样品基质对 SEA 智能可视化检测方法的灵敏度影响较小。与罗依宁[34] 使用 LAMP 检出 2.16×10^{4} CFU/m L 加标样本中沙门氏菌的方法相比, SEA 智能可视化检测体系在以猪肉为代表的受污染实际样品中, 表现出更优异的检测能力和效果。

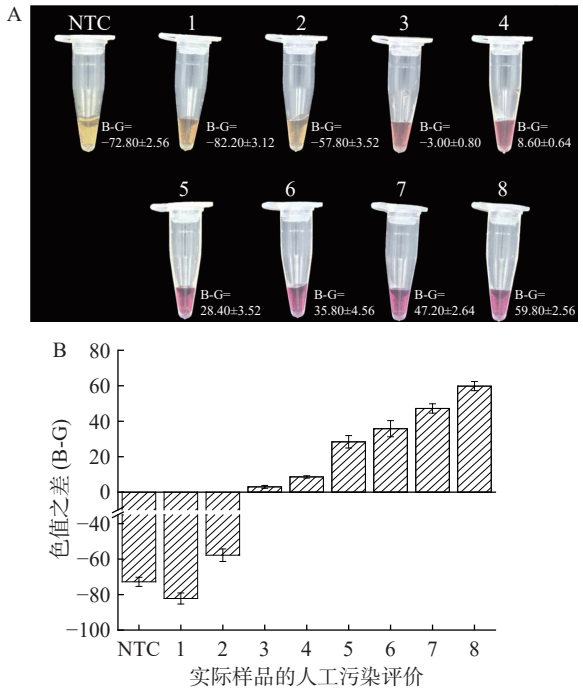


图 12　人工污染猪肉样品评价和软件判定结果

Fig.12　Evaluation of artificially contaminated pork samples and the software determination results

注：A：人工污染猪肉样品评价；B：软件获得的色值之差结果；1：3.57×10^{0} CFU/mL；2：3.57×10^{1} CFU/mL；3：3.57×10^{2} CFU/mL；4：3.57×10^{3} CFU/mL；5：3.57×10^{4} CFU/mL；6：3.57×10^{5} CFU/mL；7：3.57×10^{6} CFU/mL；8：3.57×10^{7} CFU/mL；NTC 为阴性对照。

3　结论

本研究建立了一套集核酸富集−靶点等温扩增−智能化信号识别为一体的现场快速可视化检测平台。通过优化的壳寡糖修饰的二氧化硅膜(CMSM)，可在 80 ℃ 条件下 6 min 内富集约 90 ng 的 DNA；SEA 等温扩增 40 min，使用开发的智能手机 APP “沙门智检”分析反应体系的颜色信息，实现了对沙门氏菌的快速可视化检测，并有效降低了人为误判的可能。本方法对沙门氏菌表现出较强的特异性，基因组 DNA 灵敏度为 10 pg/μL，菌落灵敏度为 1.5×10^{2} CFU/mL，对猪肉背景菌群有较好的抗干扰能力，人工污染猪肉样品中的检测灵敏度为 3.57×10^{2} CFU/mL。整个检测流程从核酸富集到结果呈现可在 1 h 内完成，具备操作简便、特异性强、灵敏度高、成本低等优点。在现场快速检测(POCT)领域具有广阔的应用前景，能够为食品安全监测提供更加便捷的解决方案。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] 翟立公. 沙门氏菌及其致病性血清型分子检测技术研究及在食品中的应用[D]. 南京：南京农业大学, 2015. [ZHAI Ligong. Molecular rapid detection method research of *Salmonella* and pathogenic serotypes in food[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2015.]

[2] 王艳艳, 肖兴宁, 李建, 等. 氮化碳与壳聚糖联合作用对沙门氏菌脂质代谢的影响[J]. 食品工业科技, 2024, 45(22): 208−216. [WANG Yanyan, XIAO Xingning, LI Jian, et al. Effects of carbon nitride combined with chitosan on lipid metabolism of *Salmonella typhimurium*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(22): 208−216.]

[3] 蔡秋慧, 龚莹婷, 李港回, 等. 一株猪源德尔卑沙门氏菌的分离鉴定、生物学特性以及全基因组序列分析[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(11): 18−26. [CAI Qiuhui, GONG Yingting, LI Ganghui, et al. Isolation, biological characterization, and whole genome sequence analysis of a porcine strain of *Salmonella* Derby [J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(11): 18−26.]

[4] 万千一. 一种集核酸提取与扩增一体化的快速检测新方法的研究[D]. 青岛：青岛科技大学, 2022. [WAN Qianyi. Research on a new rapid detection method integrating nucleic acid extraction and amplification[D]. Qingdao: Qingdao University of Science & Technology, 2022.]

[5] 刘婷宇, 董庆利, 李嘉铭, 等. 食品中食源性致病菌活菌检测方法研究进展[J]. 食品工业科技, 2025, 46(13): 395−403. [LIU Tingyu, DONG Qingli, LI Jiaming, et al. Research progress of detection technology of viable foodborne pathogens[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(13): 395−403.]

[6] GAN Wupeng, GU Yin, HAN Junping, et al. Chitosan-modified filter paper for nucleic acid extraction and “*in situ* PCR” on a thermoplastic microchip[J]. Analytical Chemistry, 2017, 89(6): 3568−3575.

[7] WANG Xuejiao, YAN Chunyu, WEI Manman, et al. On-site method for beef detection based on strand exchange amplification[J]. Analytical Sciences, 2019, 35(3): 337−341.

[8] 陈琼, 董华夏, 戴小芳, 等. 畜禽肉中金黄色葡萄球菌活菌可视化 LAMP 检测方法的研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(20): 235−240,245. [CHEN Qiong, DONG Huaxia, DAI Xiaofang, et al. Visualization LAMP detection method of living *Staphylococcus aureus* in livestock and poultry meat[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(20): 235−240,245.]

[9] YANG Chen, LI Yang, DENG Jie, et al. Accurate, rapid and low-cost diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* via fast narrow-thermal-cycling denaturation bubble-mediated strand exchange amplification[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2020, 412(30): 8391−8399.

[10] TAMMAM S N, KHALIL M A F, ABDUL GAWAD E, et al. Chitosan gold nanoparticles for detection of amplified nucleic acids isolated from sputum[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 164: 57−63.

[11] DU Zaihui, LIN Shenghao, LI Jiale, et al. Nano-gold-enhanced LAMP method for qualitative visual detection of *Salmonella* in milk[J]. Microchimica Acta, 2022, 189(9): 365.

[12] ZHAO Xiaoli, ZHANG Jian, DUAN Yake, et al. An ultrafast, one-step RNA amplification method for the detection of *Salmonella* in seafood[J]. Analytical Methods, 2022, 14(11): 1111−1116.

[13] 焦强, 陈万胜, 周楠, 等. 等温多自配引发扩增技术快速检测学校餐饮中三种食源性致病菌[J]. 食品工业科技, 2023, 44(18): 371−377. [JIAO Qiang, CHEN Wansheng, ZHOU Nan, et al. Rapid detection of three foodborne pathogenic bacteria in school catering by isothermal multiple self-matching-initiated amplifica-

tion technique[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(18): 371−377.]
[14] CAO Weidong, EASLEY C J, FERRANCE J P, et al. Chitosan as a polymer for pH-induced DNA capture in a totally aqueous system[J]. Analytical Chemistry, 2006, 78(20): 7222−7228.
[15] 金玉珠, 刘颖, 刘泰佑, 等. 二氧化硅/壳聚糖复合微球的制备及性能[J]. 化工新型材料, 2023, 51(11): 138−141. [JIN Yuzhu, LIU Ying, LIU Taiyou, et al. Preparation and properties of silica/chitosan composite microspheres[J]. New Chemical Materials, 2023, 51(11): 138−141.]
[16] WANG Xiudan, YAN Chunyu, WANG Xiaokun, et al. Integrated silica membrane-based nucleic acid purification, amplification, and visualization platform for low-cost, rapid detection of foodborne pathogens[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2020, 412(25): 6927−6938.
[17] 铁德金, 许美佳, 唐晓丹, 等. 一种可用于检测 pH 和 H_2O 的双比率荧光探针[J]. 应用化学, 2024, 41(10): 1491−1501. [TIE Dejin, XU Meijia, TANG Xiaodan, et al. A double ratio fluorescent probe for pH and water detection[J]. Chinese Journal of Applied Chemistry, 2024, 41(10): 1491−1501.]
[18] LI Yong, YAN Chunyu, CHEN Jiao, et al. An all-in-one nucleic acid enrichment and isothermal amplification platform for rapid detection of *Listeria monocytogenes*[J]. Food Control, 2022, 139: 109096.
[19] 李晴, 魏明杰, 鲁理平. 基于智能手机的便携式电化学传感器检测环境污染物的研究进展[J]. 化学试剂, 2024, 46(9): 81−91. [LI Qing, WEI Mingjie, LU Liping. Research progress on detection environment pollutants based on smartphone portable electrochemical sensor[J]. Chemical Reagents, 2024, 46(9): 81−91.]
[20] 卫玉钊. 横向免疫层析技术的图像采集系统研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2020. [WEI Yuzhao. Research on image acquisition system of lateral immunochromatography[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2020.]
[21] MOUSSA C, HARDAN L, KASSIS C, et al. Accuracy of dental photography: Professional vs. smartphone's camera[J]. BioMed Research International, 2021, 2021(1): 3910291.
[22] HONG Hanlu, SUN Chongzhen, WEI Shuang, et al. Development of a real-time recombinase polymerase amplification assay for rapid detection of *Salmonella* in powdered infant formula[J]. International Dairy Journal, 2020, 102: 104579.
[23] 高亮, 闫晓彤, 刘斌雄, 等. 杀菌技术在控制巴旦木中沙门氏菌的研究进展[J]. 食品工业科技, 2021, 42(23): 394−399. [GAO Liang, YAN Xiaotong, LIU Binxiong, et al. Research progress in the control of *Salmonella* in almond by sterilization technology[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(23): 394−399.]
[24] 中华人民共和国国家健康卫生委员会, 国家市场监督管理总局. GB 4789.4-2024 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2024. [National Health Commission of the People's Republic of China, State Administration for Market Regulation. GB 4789.4-2024 National food safety standard —food microbiology examination —examination of *Salmonella*[S]. Beijing: Standards Press of China, 2024.]
[25] 卢鑫, 王立娟, 郭威, 等. 食品中志贺氏菌检测技术研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(1): 410−416. [LU Xin, WANG Lijuan, GUO Wei, et al. Research progress of *Shigella* detection technology in food[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(1): 410−416.]
[26] SHI Chao, SHANG Fanjin, ZHOU Meiling, et al. Triggered isothermal PCR by denaturation bubble-mediated strand exchange amplification[J]. Chemical Communications, 2016, 52(77): 11551−11554.
[27] 张雅薇, 林碧莲, 张芳, 等. 两种基于重组酶介导扩增技术的沙门氏菌检测方法比较[J]. 现代食品科技, 2023, 39(3): 341−347. [ZHANG Yawei, LIN Bilian, ZHANG Fang, et al. Comparison of two *Salmonella* detection methods based on recombinase aided amplification technology[J]. Modern Food Science & Technology, 2023, 39(3): 341−347.]
[28] ZHANG Meiling, WANG Xiudan, HAN Lingzhi, et al. Rapid detection of foodborne pathogen *Listeria monocytogenes* by strand exchange amplification[J]. Analytical Biochemistry, 2018, 545: 38−42.
[29] PRIYA G B, AGRAWAL R K, PRINCE MILTON A A, et al. Rapid and visual detection of *Salmonella* in meat using invasin A (*invA*) gene-based loop-mediated isothermal amplification assay[J]. LWT, 2020, 126: 109262.
[30] 郦娟, 刘萍, 辛博, 等. 重大活动食品安全保障中沙门氏菌现场检测方法的建立[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(23): 234−240. [LI Juan, LIU Ping, XIN Bo, et al. Establishment of on-site testing methods for *Salmonella* in food safety assurance of major events[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(23): 234−240.]
[31] 章小洪, 张维波, 姜川, 等. 荧光定量环介导等温扩增法快速检测食品中沙门氏菌[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(20): 8056−8061. [ZHANG Xiaohong, ZHANG Weibo, JIANG Chuan, et al. Rapid detection of *Salmonella* in food by fluorescent quantitative loop-mediated isothermal amplification[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(20): 8056−8061.]
[32] 翟立公, 黄菊, 李港回, 等. 德尔卑沙门氏菌分子等温活菌检测体系的建立[J]. 微生物学通报, 2022, 49(3): 1214−1223. [ZHAI Ligong, HUANG Ju, LI Ganghui, et al. Establishment of an isothermal amplification method for detection of viable *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Derby[J]. Microbiology China, 2022, 49(3): 1214−1223.]
[33] 任翔, 邹颜秋硕, 汤晓召, 等. 基于 *ttrA* 基因优化环介导等温扩增技术检测食品中沙门氏菌[J]. 食品科技, 2024, 49(4): 353−360. [REN Xiang, ZOU Yanqiushuo, TANG Xiaozhao, et al. Detection of *Salmonella* in food using *ttrA* gene optimized loop-mediated isothermal amplification technology[J]. Food Science and Technology, 2024, 49(4): 353−360.]
[34] 罗依宁. 环介导等温扩增技术快速准确检测沙门氏菌方法的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2023. [LUO Yining. Study of rapid and accurate detection of *Salmonella* with loop-mediated isothermal amplification technique[D]. Nanchang: Nanchang University, 2023.]