乳制品中沙门氏菌检测技术现状及未来发展方向探究

宫靖昊[1]，徐佳薇[2]，刘灵帆[2]，于　玺[1]，薛瑞奇[1]，侯　璇[2]，张业尼[2*]

1 山东德正乳业股份有限公司，山东威海 264400
2 天津农学院食品科学与生物工程学院，天津 300384

摘　要：乳制品安全关乎公众健康，沙门氏菌作为其中常见的食源性致病菌，对其进行准确、快速检测至关重要。本文系统剖析现行四大检测体系：基于《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》的检测法虽具“金标准”地位，但存在3～7 天的检测周期瓶颈；分子检测法涵盖常规PCR、衍生PCR及新型CRISPR/Cas系统等，最低检出限可达到1.00 CFU/mL，但面临活/死细菌干扰难题；免疫学检测法包括ELISA与侧流层析试纸条等，最低检出限可达到1.04×10^2 CFU/mL，但乳制品中存在多种物质影响；生物传感器整合纳米材料与适配体技术，实现最低5.00 CFU/mL的检出限，其微型化特性适用于现场检测。当前沙门氏菌检测技术各有优劣，单一技术存在局限，而多模态联用技术可克服短板，结合前沿科技，有望为沙门氏菌检测带来变革，提升公共卫生安全保障。

关键词：沙门氏菌；国标法；分子检测法；免疫学检测法；传感器检测法

文章编号：1671–4393（2025）09–0108–10　　DOI:10.12377/1671–4393.25.09.16

0 引言

沙门氏菌（*Salmonella*，SALM）属于肠杆菌科，直径0.7～1.5 μm，长度2.0～5.0 μm，呈杆状，是自然界中常见的革兰氏阴性细菌。绝大多数沙门氏菌不具备荚膜结构，但存在鞭毛和菌毛具备运动能力。其中，少量沙门氏菌会吸附于细胞表面。沙门氏菌属于需氧或兼性厌氧细菌，对生存环境的耐受性有限，在过热、过酸或者过碱等极端条

基金项目：天津农学院校企合作项目–高蛋白健康乳粉深加工关键技术及产业化（TNHXKJ2025016）

作者简介：宫靖昊（1987–），男，山东威海人，博士，研究方向为乳制品开发；
徐佳薇（2001–），女，辽宁抚顺人，本科，研究方向为食品加工与安全；
刘灵帆（2004–），男，河南洛阳人，本科，研究方向为微生物检测；
于　玺（1982–），男，山东威海人，本科，研究方向为功能性乳制品开发；
薛瑞奇（2001–），男，山西怀仁人，本科，研究方向为乳源功能物质开发；
侯　璇（2001–），女，贵州岑巩人，本科，研究方向为微生物检测。
*通信作者：张业尼（1984–），女，山东济南人，博士，研究方向为病原微生物检测。

中国乳业线上阅读

件下，其耐受能力较弱，生存会受到显著影响[1]。

沙门氏菌是全球范围内导致腹泻病的四大主要致病菌之一。它常通过受污染的肉、蛋、果蔬及乳制品等食物传播，引起肠胃炎、肠伤寒、败血症等多种人畜共患病[2]，严重时可导致食入者剧烈腹泻，发生脱水甚至死亡[3]，因而成为备受关注的食源性致病菌。统计数据显示，沙门氏菌在全球具有显著的致病负担。每年约造成9 300万例肠道感染病例，其中约15.5 万人死亡[4]。在我国，沙门氏菌的威胁尤为突出，每年感染人数超过300 万，且在各类食物中毒事件中，由其引发的案例比例高达60%[5, 6]。根据世界卫生组织（WHO）的资料，目前已发现的沙门氏菌血清型超过2 500 种，主要归属于邦戈尔沙门氏菌和肠道沙门氏菌2 个物种[7]。

近年来，随着公众食品安全意识的日益增强，食品安全问题的重要性愈发凸显。乳制品富含蛋白质、脂肪等营养成分[8]，易与检测试剂发生非特异性结合，干扰检测信号。例如乳蛋白可能阻碍抗体与沙门氏菌抗原的特异性结合，导致免疫检测出现假阳性/假阴性结果。同时，乳制品中的乳酸菌、酵母菌等共生微生物会与沙门氏菌形成复杂群落，通过营养竞争抑制目标菌增殖，其代谢产物还可能干扰检测信号。此外，乳制品黏度过高易造成试剂扩散不均，pH值波动既影响菌体活性又威胁试剂稳定性。为应对这一严峻挑战，检测技术不断迭代升级。在传统检测方法的基础上，多个部门相继颁布一系列运用分子学、免疫学以及传感器等新型技术检测食品中沙门氏菌的标准，有力推动新型检测技术的持续涌现与发展。

1 国标法

基于《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》[9]的检测法是检测沙门氏菌的“金标准”。该法主要通过观察沙门氏菌在特定培养基里的生长形态以及生理生化特征来进行检测。主要步骤为：样品前处理、预增菌、选择性分离培养，再通过生化实验深入鉴定其特性，最后借助血清学鉴定精准判断样品中是否存在沙门氏菌。国标法涵盖多种沙门氏菌的血清型，检测流程稳定可靠，具有很高的准确性。然而，该法检测周期相对较长，通常需3 ~ 7天，且检测过程涉及多个生化反应及血清学鉴定步骤，检测成本较高。

2 分子检测法

2.1 聚合酶链式反应技术（PCR）

PCR技术具有高灵敏度、高特异性和快速性的特点。但其对结果的分析依赖于凝胶成像等设备，价格昂贵、不易携带，且无法区分活/死细胞，会导致假阳性结果。近年来，常规PCR技术不断创新，为克服不足，研发出多种PCR衍生技术，这些新技术在检测沙门氏菌方面优势显著，能够实现高通量的检测操作，同时兼具快速、灵敏的特点，与传统检测方法相比，检测效率得到大幅提升，为沙门氏菌的检测工作提供了更高效、精准的技术支持（表1）。

表 1 PCR 及其衍生技术检测沙门氏菌的优势 [10 ~ 18]

技术	检测优势
多重 PCR	高效性，操作简便、快速，节省时间
实时荧光定量 PCR	灵敏度高，特异性强
TaqMan 实时 PCR	高特异性，高通量
水杨醛吖嗪 Salicylaldazine 实时 PCR	灵敏度高，特异性强，定量准确、高效性
Ag/CuNCs 荧光探针实时 PCR	灵敏度高，选择性高
微滴数字 PCR	操作简便，检出率高，节省时间

2.1.1 多重PCR技术

多重PCR技术（Multiplex PCR）通过优化反应体系，同步加入多组特异性引物（≥2 对），在单一反应管内实现多个靶基因（如致病菌毒力基因）的并行扩增[10]。传统PCR技术一次只能检测一种病原菌，效率较低。而多重PCR扩增检测技术通过独

中国乳业杂志网络版

特的引物设计和对反应体系的优化，具备同时对多种致病菌进行高效检测的能力，大大提升了检测效率与准确性。刘继超等[11]在研究中利用多重PCR技术对原料乳中沙门氏菌、无乳链球菌和金黄色葡萄球菌进行检测。闫晗等[12]在乳制品大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和沙门氏菌的检测中，利用多重PCR技术实现了快速且同步检测。两者所得结果与传统PCR技术所得结果完全一致，且与传统PCR技术相比，多重PCR技术在时间上缩短了12～24 h。

2.1.2 实时荧光定量PCR技术

实时荧光定量PCR技术（Quantitative Real-time，qPCR）是一种扩增和定量目标DNA分子的检测技术，该法将PCR扩增与荧光染料/探针检测相结合，可对反应进行实时监测。qPCR技术是广泛使用的食品微生物检测方法之一，具有高特异性、高灵敏度，可定量分析，但扩增时间通常约需1 h，时效性不足[13]。qPCR技术常用方法有2 种：染料法和探针法。针对沙门氏菌的检测近年来以探针法为主，实验室常用探针有TaqMan探针、水杨醛叱嗪（Salicylaldazine）、Ag/CuNCs荧光探针等[13～15]。黎财慧等[16]建立了检测食品中沙门氏菌活菌的叠氮溴化丙锭（Propidium Monoazide，PMA）处理TaqMan实时PCR检测方法，首次将PMA光解设备应用于致病菌活菌检测，既能保障激发PMA的最佳发射波长，又可避免受热造成的活菌死亡。该方法对沙门氏菌纯培养物检测灵敏度达10^2 CFU/mL。

2.1.3 微滴数字PCR技术

微滴数字PCR技术（Droplet Digital PCR，ddPCR）的核心步骤是对反应体系进行精细入微的微滴化处理，将原本宏观的反应体系分割成众多微小单元，使每个微滴成为一个独立的PCR反应场所，互不干扰地进行扩增反应。PCR扩增过程圆满结束后，微滴分析仪以极高精度对每个微滴进行逐一检测。在此过程中，依据泊松分布原理，通过对阳性微滴的数量以及其在总微滴中所占的比例进行精确统计和深入分析，可准确无误地计算出靶分子在起始状态下的拷贝数或浓度数值[17]。Kong等[18]将下一代测序（Next-Generation Sequencing）与ddPCR结合，针对大肠杆菌O157：H7和鼠伤寒沙门氏菌分别以单拷贝基因Z3276和invA为靶点进行绝对定量。检测结果显示，在苹果汁和牛奶中，大肠杆菌O157：H7和鼠伤寒沙门氏菌的检测限为10^2～10^3 CFU/mL；而在鸡肉表面，检测限增至10^3～10^4 CFU/mL。目前，利用ddPCR检测沙门氏菌的试验大多集中在肉类，针对乳制品开展的相关研究相对较少。例如，赵丽青等[19]利用ddPCR检测鸡肉中沙门氏菌，其最低检出菌液浓度为50 CFU/mL。冯秋实等[20]建立PMA-ddPCR快速定量检测方法，能检测冷冻肉制品中的VBNC态沙门氏菌，且检出限可达10^2 CFU/mL。

2.2 核酸等温扩增技术

核酸等温扩增技术（Isothermal Amplification Technology，IAT）是在某一恒定温度下，通过添加不同活性的酶及各种特异性引物，实现对特定DNA或RNA片段的快速扩增。IAT条件温和、无需复杂的控温设备，大大降低对实验条件的要求。梁振瑞等[21]结合IAT与荧光技术，既能实时监控，又能降低对设备的要求，操作简单。利用IAT检测沙门氏菌，能精准检测低至5.28×10^{-2} ng/μL的沙门氏菌含量，是常规PCR灵敏度的100 倍。6 种常规IAT特性见表2。

表 2 6 种常规 IAT 特性[21～33]

IAT 方法	需要的酶	引物数（条）	温度（℃）	时间（min）
LAMP	Bst DNA 聚合酶	4～6	60～65	60
SRCA	Bst DNA 聚合酶	2	58～65	60
CPA	Bst DNA 聚合酶	4～8	60	60
RPA	重组酶蛋白、DNA 聚合酶、单链结合蛋白	2	37～42	20
RAA	重组酶蛋白、DNA 聚合酶、单链结合蛋白	2	37～42	15～20
ERA	重组酶蛋白、DNA 聚合酶、单链结合蛋白	2	37～42	15

中国乳业线上阅读

2.2.1 环介导等温扩增技术

环介导等温扩增技术（Loop-mediated Isothermal Amplification，LAMP）利用4 条能精准识别目标序列的6 个独特片段的特异性引物（2 条外引物和2 条内引物）和1 种链置换DNA聚合酶，通过复制起始阶段、循环扩增阶段和延伸阶段，在60～65 ℃恒温条件下，60 min内能扩增109～1 010 个扩增子[22]。徐文文等[23]使用Genie Ⅱ实时荧光检测仪对不同乳制品常见食源性致病菌进行LAMP检测，大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌最低灵敏度依次为5.3×10^{-2} ng/μL、3×10^{-2} ng/μL、2×10^{-2} ng/μL，而PCR仪进行的PCR核酸检测最低灵敏度多在10^{-1} ng/μL及以上。

2.2.2 跨越式滚环等温扩增技术

跨越式滚环等温扩增技术（Saltatory Rolling Circle Amplification，SRCA）利用Bst DNA聚合酶在恒温条件下，通过1 对特定的引物对单链DNA进行高效特异性扩增[24]，相较于传统RCA技术，SRCA避免了对挂锁探针和连接酶的需求[25]。董贺楠等[26]构建融合金纳米粒子（AuNPs）可视化技术的SRCA体系。在体系中，设计能特异性精准结合靶序列的探针并与AuNPs偶联。运用SRCA技术扩增靶序列，经高温处理使其变性为单链。单链靶序列与AuNPs上探针作用后，AuNPs从复合物中释放，$MgSO_4$使释放的AuNPs聚集，呈肉眼可见蓝色为阳性，保持紫色则为阴性。该方法最低检测限达5.5 CFU/mL，在牛奶样品人工污染沙门氏菌检测中，检出限低至3.7 CFU/mL。与GB 4789.4—2024中标准检测法相比，其敏感性100.00%，特异性97.87%，整体符合率98.00%。

2.2.3 交叉引物等温扩增技术

交叉引物等温扩增技术（Cross Priming Isothermal Amplification，CPA）作为中国在核酸扩增领域的一项重大技术突破，是首个拥有完全自主知识产权的核酸扩增技术。该技术主要在4～8 条特异性引物和具有链置换活性的聚合酶共同作用下，短时间内达到对靶序列大量扩增的目的[27]。扩增体系主要包括交叉引物、剥离引物、探针及链置换DNA聚合酶等。该技术目前尚未明确在乳制品中进行检测，但具有良好的发展前景。Hou等[28]在CPA检测中，首次采用分子信标技术区分非特异性扩增和消除气溶胶污染，所建立的MB-CPA检测方法对各种食物样品中肠沙门氏菌具有良好的检测效果。

2.2.4 重组酶聚合酶扩增技术、重组酶介导链替换核酸扩增技术、酶促等温扩增技术

重组酶聚合酶扩增技术（Recombinase Polymerase Amplification，RPA）、重组酶介导链替换核酸扩增技术（Recombinase Assisted Amplification，RAA）、酶促等温扩增技术（Enzymatic Recobinase Amplification，ERA）都是在37～42 ℃条件下进行的高效DNA扩增方法，利用特殊的重组酶与引物DNA紧密结合形成稳定聚合物。当引物在模板DNA上搜索到完全匹配的互补序列时，在单链DNA结合蛋白的帮助下打开DNA双链结构，最后在DNA聚合酶的作用下完成扩增产物的指数级扩增[29～31]。RPA、RAA、ERA的反应原理、反应条件、反应体系相同，然而，这3 种技术在关键重组酶来源上却有明显差异。RAA所采用的重组酶源自细菌和真菌；RPA的重组酶则是源自T4噬菌体；而ERA的重组酶源自低温噬菌体[34]。正是由于重组酶来源的差异，使得这3 种技术在实际应用中展现出不同优势和适用场景。刘洁[33]基于噬菌体化磁珠（O-1pMBs）建立的荧光RPA检测技术，在乳制品中的检出限为50 CFU/mL，与无O-1pMBs捕获相比检出限降低3～4 个数量级。Li等[34]利用改良单叠氮丙啶（PMAxx）处理结合RAA检测牛奶中的沙门氏菌，该法能有效消除假阳性结果，显著提升检测的准确性。具体而言，在磷酸盐缓冲液（PBS）和加标牛奶样品中，该法对沙门氏菌的检出限分别达2.8×10^3 CFU/mL和1.8×10^3 CFU/mL。

2.3 CRISPR/Cas 系统

CRISPR/Cas系统由成簇规律间隔短回文重复序列（clustered regularly interspaced short palindromic repeats，CRISPR）及其相关蛋白（CRISPR-

中国乳业线上阅读

associated protein，Cas）构成，是原核生物的适应性免疫系统，呈规律间隔结构，能特异性识别目标序列、具RNA导向切割活性，可干扰外源性核酸[35]。李丹等[36]以鼠伤寒沙门氏菌fliC基因为靶标，构建RPA-CRISPR/Cas12a检测体系，能特异性检测该菌，检出限达1 CFU/mL，对食品安全监测、临床诊断和公共卫生防控意义重大。

此外，有许多研究在探索使用CRISPR/Cas系统检测沙门氏菌。如有研究用CRISPR/Cas13a系统开发针对沙门氏菌特定RNA序列的检测方法[37]，操作简便快速，特异性和灵敏度高，为沙门氏菌快速筛查鉴定提供新技术。这些进展丰富了CRISPR/Cas系统应用领域，为食源性致病菌防控提供科技支撑。

3 免疫学检测法

在微生物检测领域，免疫学检测法特异性高、操作简便、节省时间，在检测家畜样本中沙门氏菌时应用广泛。无论是通过酶联免疫吸附测定法（Enzyme-Linked Immunosorbent Assay，ELISA）、免疫荧光技术，还是胶体金免疫层析技术等常见免疫学检测手段，利用抗原-抗体结合原理精准检测，都能有效在各类家畜样本（血液、组织匀浆等）中检测出沙门氏菌，为家畜疫病防控及畜牧业健康发展提供有力的技术支撑。乳制品成分复杂，易干扰抗原-抗体反应，影响结果准确性和灵敏度，且相关检测试剂和方法不成熟，缺乏系统研究。免疫学检测法在乳制品沙门氏菌检测中应用少，因此，仍有巨大的开发潜力和广阔的研究空间，亟待科研人员进一步探索和创新。

3.1 ELISA

ELISA是将抗原、抗体免疫反应所具备的特异性与酶的高效催化作用结合，以检测样品中含量极微的特异性抗原。Hou等[38]用基于重组PagN蛋白的沙门氏菌抗体建立的间接酶联免疫吸附测定法（iELISA）检测鸭沙门氏菌的结果与用市场ELISA试剂盒检测的结果一致性达94.1%，且具有更高特异性。Chen等[39]基于骆驼重链抗体（Camelid Heavy Chain Antibody，VHH）建立双抗体夹心法ELISA，对鼠伤寒沙门氏菌的检出限达1.04×10^2 CFU/mL。

3.2 化学发光免疫分析

化学发光免疫分析（Chemiluminescent Immunoassay，CLIA）运用免疫标记技术，将化学发光反应底物或者催化剂（酶或无机催化剂）标记在事先制备好的特定抗原或抗体之上，以免疫反应作为桥梁纽带，使待测物质的浓度和化学发光的强度之间建立对应关系，从而精准定量检测待测物质[40]。介明沙等[41]构建的化学发光磁酶免疫分析（CLMEIA）利用免疫磁纳米颗粒可加快捕捉目标物，同时具有分离富集并放大信号的作用。该方法对鼠伤寒沙门氏菌的检出限为3.0×10^3 CFU/mL。

3.3 免疫荧光法

免疫荧光法基于荧光标记抗体与目标抗原发生特异性结合。荧光标记抗体与抗原结合后，通过荧光显微镜可观察到特定的荧光信号，从而实现对抗原的检测。荧光信号的强度通常与抗原的量成正比，可以此进行定量分析[42]。Zhuang等[43]使用基于抗鼠伤寒沙门氏菌IgG-AuNCs的免疫荧光聚集法，对鼠伤寒沙门氏菌进行敏感、定量、快速、高特异性检测。在优化后的反应条件下，基于AuNCs的免疫荧光聚集法检测范围为$7.0\times10^3\sim3.0\times10^8$ CFU/mL，限制检测限为1.0×10^3 CFU/mL，反应时间为3 min。

3.4 侧流免疫层析

侧流免疫层析（Lateral Flow Immunoassay，LFIA）基于免疫试剂抗原抗体的特异性结合，再通过与有色纳米材料的结合、根据信号颜色的有无及信号的强弱判定结果的技术[44]。Zhao等[45]建立了一种基于多重PCR和LFIA试纸条同时检测鼠伤寒沙门氏菌、大肠杆菌O157：H7和单核增生乳杆菌的新方法，该法利用了PCR扩增和AuNPs标记的优势，具

中国乳业线上期刊

有较高灵敏度，引物和抗体的特异性也提高了该法的可靠性。

4 传感器法

4.1 电化学生物传感器

电化学生物传感器基于生物识别元件与电信号转导元件的协同作用。生物识别元件能精准捕捉目标分子，而电信号转导元件则负责将捕捉目标分子过程中产生的生化信号，高效转换为易于检测和分析的电信号。基于不同的电化学技术可分为安培测量、伏安法等。在安培测量中，恒定电位下产生的电流与目标分子的浓度成正比；而在伏安法中，可变电位下的电流-电压曲线用于定量分析[46]。

Deng等[47]提出的噬菌体靶向电化学生物传感器，构建过程较简便，通过静电将噬菌体固定在MXene纳米结构电极上，其最低检出限达5 CFU/mL。Wang等[48]基于丝网印刷电极，开发新型分子印迹聚合物传感器，该传感器对鼠伤寒沙门氏菌展现出良好的特异性，检出限约10 CFU/mL，可准确区分鼠伤寒沙门氏菌与大肠杆菌、单核增生李斯特菌等常见食源性致病菌。Cheng等[49]基于碳纳米管扩增效应，建立了沙门氏菌免疫检测传感器，采用CoFe-MOF-碳纳米管复合材料作为高导电性、稳定抗体固定和信号放大基质。该传感器最低检出限为37 CFU/mL，对沙门氏菌的特异性相对应答率达100%，而对非靶菌的相对应答率低至10%。Zamzami等[50]融合纳米技术与电化学技术，结合电化学阻抗谱（EIS）和循环伏安法（CV），构建由金（Au）电极构成的3 种几何形状的电化学免疫传感器，可检测低至10 CFU/mL的鼠伤寒沙门氏菌。

4.2 荧光 / 比色生物传感器

荧光/比色生物传感器基于待测目标物浓度的变化导致传感器颜色变化，可通过肉眼观察或使用分光光度计测量。荧光/比色生物传感器通常由识别元件（如抗体、核酸适配体或酶）和信号转换元件（如金纳米粒子、量子点或其他纳米材料）组成，能够与目标分子发生特异性反应，并通过颜色变化指示反应的发生。

黄荟娴等[51]构建了一种性能独特的传感检测平台，利用两性离子聚甲基丙烯酸磺基甜菜碱（SBMA），使棉签拭子具有卓越的抗污染性能。同时，通过EDC/NHS对蓝色乳胶微球/适配体进行激活处理，成功制备比色信号探针。该方法具备高效快速的特点，检测仅需20 min，且对沙门氏菌的检测限达117.80 CFU/mL，展现出良好的检测能力。

苑懿等[52]基于多孔金@铂纳米酶构建了一种比色型生物传感器。利用鼠伤寒沙门氏菌多克隆抗体对磁珠进行修饰，获得具有特异性结合能力的免疫磁珠；之后，用鼠伤寒沙门氏菌单克隆抗体标记多孔金@铂纳米酶，形成具有催化活性的免疫探针。当免疫探针与鼠伤寒沙门氏菌发生反应后，会形成免疫磁细菌复合物。检测过程中，多孔金@铂纳米酶被H_2O_2-TMB催化，此时可在652 nm处对其吸光度进行检测，以此判断牛乳中鼠伤寒沙门氏菌的含量。在对牛乳中鼠伤寒沙门氏菌进行检测时，该传感器展现出极高灵敏度，其最低检测限达81 CFU/mL。

Hu等[53]结合比色和荧光两种检测模式，建立一种红荧光纳米球（RNs）-Pt双信号传感器。Pt纳米粒子具有类过氧化物酶活性，能通过H_2O_2/TMB体系催化产生颜色变化，实现比色检测；而红色荧光纳米球（RNs）-Pt双信号传感器在紫外光激发下，可提供超强荧光信号。当RNs-Pt与抗体结合，形成的免疫RNs-Pt （IRNs-Pt）能与目标沙门氏菌特异性结合，进而产生荧光信号。

如表3所示，电化学生物传感器与荧光/比色生物传感器在检测沙门氏菌的应用中正朝着更高效、更智能的方向发展。比较两类传感器可发现，电化学生物传感器致力于高集成与微型化，通过与微流控结合，打造便携、自动化检测设备，方便现场快速筛查。同时，不断探索新型电极修饰材料和生物识别元件、优化适配体等，提升灵敏度与选择性。

中国乳业线上阅读

还将拓展多重检测能力，实现对多种病原体的同步检测。此外，借助无线通信和数据处理技术，实现智能化实时监测。荧光/比色生物传感器着重提升灵敏度和特异性，研发新型探针与试剂，结合纳米技术增强检测性能。通过与免疫、核酸扩增等技术联用，提高检测效率。并持续优化检测方法，让颜色变化更明显，借助智能手机等设备实现便捷可视化检测。同时，拓展高通量多元检测，探索体内检测应用，为沙门氏菌检测提供更多可能。

表 3 电化学生物传感器与荧光 / 比色生物传感器的比较

特性	电化学生物传感器	荧光生物传感器	比色生物传感器
灵敏度	极高（单细胞级）	中等	较低
检测速度	快（＜ 30 min）	快	快（＜ 15 min）
便携性	高（手持设备）	低	高
抗干扰性	强（不受光学干扰）	弱（易受基质荧光影响）	弱（易受基质颜色影响）
成本	中等	高	低
适用场景	实验室 / 现场定量检测	实验室精准分析	现场初筛

5 总结与展望

当前沙门氏菌的检测技术虽各具优势，却仍面临各自的局限与挑战。PCR及其衍生技术、CRISPR/Cas系统等实验室常用的分子生物学方法有极高灵敏度与特异性，在沙门氏菌精准识别方面占据核心地位。但这些先进技术设备成本高、操作流程复杂，在资源有限的环境或现场快速检测时受限。

免疫学检测操作简便、快速，是初筛和现场检测的理想之选。但该法存在明显的局限性。首先，抗体特异性的问题较为突出，交叉反应现象明显。尤其当检测具有多种血清型的沙门氏菌时，因不同血清型的沙门氏菌之间可能存在抗原相似性，导致抗体无法准确区分，使检测结果出现偏差，极大限制了免疫学检测方法在沙门氏菌检测领域的广泛应用。此外，抗体的质量和稳定性易受储存条件、样本成分等多种因素干扰。在储存过程中，温度、湿度等环境因素可能会影响抗体活性；而在检测样本时，样本中的某些成分可能与抗体发生非特异性结合，影响抗体的稳定性。这些因素会增加检测结果的不确定性，降低检测结果的可靠性和准确性。

传感器技术为快速筛查沙门氏菌带来新契机。这类小型、智能设备可实时监测，大幅缩短检测时间，适合现场或即时检测场景（POCT）。然而，传感器的校准、维护以及长期稳定性等问题，是大规模应用前急需突破的技术瓶颈。

在沙门氏菌检测领域，单一检测技术的局限性日益凸显，融合多元检测策略已成为提升检测水平的必然趋势。表4展示了传统单一技术与多模态联用技术的差异。传统单一技术在检测沙门氏菌时，往往只能获取某类单一数据（如判断活菌是否存在、检测特定DNA片段，或测定抗原浓度等），无法全面、深入解析病原体的生物学特性（包括毒力基因情况、代谢活性高低、耐药性等关键信息）。

表 4 传统单一技术与多模态联用技术的差异

	传统单一技术	多模态联用技术
检测效率	单步检测，依赖人工判读	全流程自动化，减少人为误差
信息深度	单一指标（如 DNA 或抗原）	多参数联合分析（基因型 + 表型 + 代谢活性）
适应性	受限于样本复杂度（如食品基质抑制）	集成预处理模块（如微滤、富集），抗干扰性强
可扩展性	功能固化，升级成本高	模块化设计，灵活兼容新技术（如新型 CRISPR 酶）

此外，传统单一技术在实际应用中还存在诸多问题。例如，qPCR高灵敏技术虽然检测精度高，但依赖复杂、昂贵的设备，难以在现场进行快速检测；侧流免疫层析等快速检测手段，灵敏度相对较低，对低载量样本易漏检。同时，食品基质（如肉类中的脂肪）和临床样本（如血液中的抑制剂）检测中，传统单一技术易受干扰，为获得准确结果，通常需冗长、繁琐的预处理步骤。

多模态联用技术通过整合多种技术，有效克服

中国乳业线上阅读

传统单一技术的“短板效应”。例如，免疫磁珠富集与CRISPR结合能显著提高复杂样本中低浓度病原体的检出率[54]；利用微流控芯片与AI图像分析，可实现病原微生物或其核酸/抗原的自动化分离、扩增以及结果判读，极大减少了人工干预[55]；拉曼光谱与代谢组学分析联用，可同步获取菌株种类、代谢活性以及抗生素响应等关键信息[56]。这种跨学科的深度交叉融合，不仅催生了一系列新型检测技术，更为沙门氏菌的快速、准确识别开辟了全新路径。

随着纳米技术、适配体技术、人工智能等前沿科技的迅猛发展，微生物检测领域正处于革命性变革的前沿位置。纳米材料凭借其独特的物理化学性质，在传感器中的应用将大幅提升传感器的灵敏度和稳定性；适配体技术以其精准的靶向能力，有望为免疫学检测带来新突破；人工智能的引入，能进一步优化整个检测流程，显著提高数据处理和分析效率。这些新技术的融合应用，不仅能降低检测成本、简化操作流程，还能更好地满足食品安全监管等现实场景的需求，为公共卫生安全提供更坚实可靠的技术保障。

参考文献

[1] 邹婕，杨漫漫，胡晓亮，等.沙门氏菌快速检测技术研究进展[J].质量安全与检验检测，2024，34（2）：73-78.

[2] 翟立公，蔡秋慧，李港回，等.沙门氏菌表型异质性的研究进展[J].食品与发酵工业，2024，50（3）：321-327.

[3] 孙燕明.权威解读2023年食品安全与健康十大热点[N].中国消费者报，2024-01-10（003）.

[4] Balasubramanian R，Im J，Lee J S，et al.The global burden and epidemiology of invasive non-typhoidal *Salmonella* infections[J].Human Vaccines & Immunotherapeutics，2019，15（6）：1421-1426.

[5] 骆业巧，王进，司波.一起由沙门氏菌和金黄色葡萄球菌混合引起的食物中毒病原分析[J].食品安全质量检测学报，2020，11（19）：6947-6951.

[6] Chen Z，Zhong H，Luo H，et al.Recombinase polymerase amplification combined with unmodified gold nanoparticles for *Salmonella* detection in milk[J].Food Analytical Methods，2019，12（1）：190-197.

[7] World Health Organization.*Salmonella*（non-typhoidal）[R].Geneva：WHO，2018.

[8] 王芯媛，姬玉梅.乳品的营养成分及免疫调节功能[J].中国乳业，2024（4）：91-95.

[9] 中华人民共和国国家卫生健康委员会，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].

[10] 钟泽澄，王进，张师音.多重PCR技术研究进展[J].生物工程学报，2020，36（2）：171-179.

[11] 刘继超，姜铁民，陈历俊，等.多重PCR检测原料乳中沙门氏菌、无乳链球菌和金黄色葡萄球菌的研究[J].中国食品学报，2010，10（6）：173-179.

[12] 闫晗，吕国钦，张洋，等.乳品中3 种常见细菌多重PCR检测方法的建立[J].食品与发酵工业，2015，41（7）：149-154.

[13] 郭瑞，赵林萍，韩小改，等.TaqMan探针双重荧光聚合酶链式反应技术检测食源性沙门氏菌和志贺氏菌[J].食品安全质量检测学报，2024，15（10）：261-269.

[14] Zhang H，Wang X，Xv Z，et al.A caprylate esterase-activated fluorescent probe for sensitive and selective detection of *Salmonella enteritidis*[J].Analytical and Bioanalytical Chemistry，2023，415（12）：2163-2172.

[15] Dou S，Liu M，Zhang F，et al.Silver/copper bimetallic nanoclusters integrating with cryonase-assisted target recycling amplification detection of *Salmonella typhimurium*[J].Mikrochimica Acta（1966），2023，190（10）：403.

[16] 黎财慧，游淑珠，王小玉，等.食品中沙门氏菌活菌的TaqMan实时荧光PCR检测方法研究[J].中国口岸科学技术，2023，5（4）：76-83.

[17] 赵治国，崔强，赵林立，等.微滴数字PCR技术应用进展[J].中国生物工程杂志，2017，37（6）：93-96.

[18] Kong J，Fan C，Liao X，et al.Accurate detection of *Escherichia coli* O157：H7 and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium based on the combination of next-generation sequencing and droplet digital PCR[J].Food Science & Technology，2022，168：113913.

[19] 赵丽青，房保海，殷培军，等.沙门氏菌微滴式数字PCR定量检测方法的建立[J].中国口岸科学技术，2024，6（6）：79-85.

[20] 冯秋实，程逸宇，吴海晶，等.PMA-ddPCR技术定量检测VBNC态沙门氏菌[J].食品科技，2024，49（7）：336-342.

[21] 梁振瑞，张薇，许绍坤，等.等温扩增荧光技术快速检测沙门氏菌的研究[J].食品安全导刊，2023（12）：121-123.

[22] Zhuang L，Gong J，Zhang P，et al.Research progress of loop-mediated isothermal amplification in the detection of *Salmonella* for food safety applications[J].Discover Nano，2024，19（1）：124.

[23] 徐文文，宋惠月，梁玉林，等.环介导等温扩增技术检测不同乳制品常见食源性致病菌[J].食品安全质量检测学报，

中国乳业线上阅读

2021，12（2）：546–551.

[24] 孟兆祥，张伟，檀建新，等.一种DNA扩增的新技术：利用热稳定的Bst DNA聚合酶驱动跨越式滚环等温扩增反应[J].中国生物化学与分子生物学报，2013，29（9）：892–898.

[25] 刘淑贞，张志庆，王芳，等.DNA的滚环扩增合成研究[J].物理化学学报，2017，33（10）：2052–2057.

[26] 董贺楠，张蕴哲，徐慧，等.跨越式滚环扩增（SRCA）结合金纳米粒子可视化检测食品中的沙门氏菌[J].中国食品学报，2024，24（3）：240–248.

[27] 丛秋实，师东方.鸡肠炎沙门氏菌可视化交叉引物等温扩增检测技术的建立及初步应用[J].中国预防兽医学报，2021，43（11）：1171–1177.

[28] Hou W，Du J，Liu T，et al.A novel fluorescence cross–priming amplification based on universal molecular beacon for rapid and specific detection of *Salmonella enterica* in food Samples[J].Food Analytical Methods，17（10）1394–1401.

[29] Lobato I，O'Sullivan C K.Recombinase polymerase amplification：Basics，applications and recent advances[J].TrAC Trends in Analytical Chemistry，2018，98：19–35.

[30] 毛迎雪，刘蒙达，张皓博，等.重组酶介导等温扩增技术（RAA）在病原微生物检测中的应用进展[J].中国动物检疫，2024，41（1）：60–66.

[31] 杨艳歌，王帅，李红娜，等.沙门氏菌ERA可视化快速检测方法的建立[J].中国食品学报，2023，23（10）：261–272.

[32] 刘洁.基于噬菌体化磁珠的RPA方法检测沙门氏菌[D].南昌：南昌大学，2024.

[33] Li Jingbin，Zhou Donggen，Xie Guoyang，et al.PMAxx combined with recombinase aided amplification technique for specific and rapid detection of *Salmonella* in Milk[J].Food Analytical Methods，2022，15（7）：1769–1777.

[34] 王帅，杨艳歌，吴占文，等.重组酶聚合酶扩增、重组酶介导等温扩增及酶促重组等温扩增技术在食源性致病菌快速检测中的研究进展[J].食品科学，2023，44（9）：297–305.

[35] 闫书宁，杨硕，杨汉银，等.CRISPR/Cas系统在寄生虫基因编辑与核酸检测中的应用进展[J].中国血吸虫病防治杂志，2024，36（3）：314–320.

[36] 李丹，袁梦君，王旭，等.鼠伤寒沙门氏菌CRISPR/Cas12a检测方法的建立与应用[J].食品安全质量检测学报，2024，15（12）：143–150.

[37] 高松.基于CRISPR–Cas13a系统的核酸检测方法应用于沙门氏菌检测[D].广州：华南理工大学，2021.

[38] Hou S，Wang S，Zhao X，et al.Establishment of indirect ELISA method for *Salmonella* antibody detection from ducks based on PagN protein[J].BMC Veterinary Research，2022，18（1）：424.

[39] Chen Y，Huang Y，Yang R，et al.Preparation of divalent camelid single–domain antibody and its application in immunoassays for *Salmonella* detection in food[J].Analytical and Bioanalytical Chemistry，2024，416（29）：7063–7072.

[40] 程博文，张宏顺.化学发光免疫分析技术的应用进展[J].中国工业医学杂志，2022，35（3）：237–240.

[41] 介明沙，蓝晟恺，万嘉芸，等.化学发光磁酶免疫分析法检测牛奶中鼠伤寒沙门氏菌[J].粮食与油脂，2023，36（11）：144–148.

[42] 黄智明.免疫荧光法在微生物快速检验中的应用分析[J].中国实用医药，2020，15（3）：93–94.

[43] Zhuang Q Q，He S B，Jiang Y C，et al.Immunofluorescent–aggregation assay based on anti–*Salmonella typhimurium* IgG–AuNCs，for rapid detection of *Salmonella typhimurium*[J].Mikrochimica Acta（1966），2022，189（4）：160.

[44] 闫灵芝.侧流免疫层析技术在食品安全检测中的研究进展[J].食品工业科技，2022，43（4）：1–11.

[45] Zhao D，Liu J，Du J，et al.A highly sensitive multiplex lateral flow immunoassay for simultaneous detection of *Listeria monocytogenes*，*Salmonella Typhimurium* and *Escherichia coli* O157：H7[J].Journal of Food Measurement and Characterization，2023，17（6）：6577–6587.

[46] Wu J，Liu H，Chen W，et al.Device integration of electrochemical biosensors[J].Nature Reviews Bioengineering，2023，1（5）：346–360.

[47] Deng T，Wu W，Zhou J，et al.An electrochemical biosensor for sensitive detection of live *Salmonella* in food via MXene amplified methylene blue signals and electrostatic immobilization of bacteriophages[J].Microchimica Acta（1966），2024，191（9）：550.

[48] Wang Y，He X，Wang S，et al.Rapid detection of *Salmonella typhimurium* in food samples using electrochemical sensor[J].Food science & technology，2024，206：116567.

[49] Cheng M，Zhang D，Cui J，et al.Immunodetection sensing platform for *Salmonella* based on carbon nanotube amplification[J].Journal of Food Measurement and Characterization，2024，18（8）：6541–6550.

[50] Zamzami M，Ahmad A，Alamoudi S，et al.A highly sensitive and specific Gold Electrode–Based electrochemical immunosensor for rapid On–Site detection of *Salmonella enterica*[J].Microchemical Journal，2024，199：110190.

[51] 黄荟娴，匡韵迪，张馨匀，等.两性离子聚合物改性抗污染棉签拭子检测牛奶中的沙门氏菌[J].中国食品学报，2023，23（11）：342–351.

[52] 苑懿，黄羽文，邢巾，等.基于多孔金@铂纳米酶的比色型生物传感器用于检测牛乳中鼠伤寒沙门氏菌研究[J].中国乳品工业，2023，51（12）：48–53.

[53] Hu J，Chen C，Wang L，et al.Multi–functional nanozyme–based colorimetric，fluorescence dual–mode assay for

中国乳业线上阅读

Salmonella typhimurium detection in milk[J].Microchim Acta（1966），2024，191（8）：464.

[54] Xiang X，Xing G，Liu Y，et al.Immunomagnetic separation combined with RCA-CRISPR/Cas12a for the detection of *Salmonella typhimurium* on a figure-actuated microfluidic biosensor[J].Journal of Agricultural and Food Chemistry，2023，71（36）：13518-13526.

[55] Xing G，Shang Y，Wang X，et al.A microfluidic biosensor for multiplex immunoassay of foodborne pathogens agitated by programmed audio signals[J].Chinese Chemical Letters，2024，35（10）：109491.

[56] He Y，Huang S，Zhang P，et al.Intra-ramanome correlation analysis unveils metabolite conversion network from an isogenic population of cells[J].mBio，2021，12（4）：e0147021.

Exploration of the Current Situation and Future Development Directions of *Salmonella* Detection Technologies in Dairy Products

GONG Jinghao[1]，XU Jiawei[2]，LIU Lingfan[2]，Yu Xi[1]，XUE Ruiqi[1]，HOU Xuan[2]，ZHANG Yeni[2*]

[1]Shandong Dezheng Dairy Co.，Ltd.，Weihai Shandong 264400

[2]College of Food Science and Bioengineering，Tianjin Agricultural University，Tianjin 300384

Abstract：The safety of dairy products is crucial to public health.As a common foodborne pathogen in dairy products，the accurate and rapid detection of *Salmonella* is of vital importance.This review systematically analyzed the current four major testing systems：Although the detection method based on GB 4789.4-2024 National Food Safety Standard - Microbiological testing of food - *Salmonella* Testing holds the status of a “gold standard”，it has a bottleneck in the testing cycle of 3 to 7 days.Molecular detection methods include conventiona PCR，derived PCR and novel CRISPR/Cas systems. The minimum detection limit can reach 1.00 CFU/mL，but struggle with the problem of interference from live/dead bacteria. Immunoassays include ELISA and lateral flow strips. The minimum detection limit can reach 1.04×10^2 CFU/mL， but there is matrix interference from various substances in dairy products.Biosensors integrate nanomaterials and aptamers to achieve a minimum detection limit of 5.00 CFU/mL. Its portability makes it suitable for on-site use.Current *Salmonella* detection technologies have its own advantages and disadvantages. A single technology shows limitations，but multimodal combined technology can overcome these shortcomings. By integrating cutting-edge technologies， it is expected to bring about a revolution in *Salmonella* detection and enhance public health protection.

Keywords：*Salmonella*；national standard method；molecular detection method；immunological detection method；sensor detection method

中国乳业线上阅读