

磁分离结合 qPCR 快速检测酱卤肉中的沙门氏菌

潘晖¹, 许银^{1*}, 王小红², 丁一峰², 王世双¹, 龚芳¹, 钟声扬¹

(1. 荆州市食品药品检验所, 湖北荆州 434000) (2. 华中农业大学食品与科技学院, 湖北武汉 430070)

摘要: 验证噬菌体磁分离结合实时荧光定量聚合酶链式反应, 快速检测方法对食品中沙门氏菌的检测效果。以一株鼠伤寒沙门氏菌的特异性噬菌体 T102 为分子识别元件, 首先将其与羧基化磁珠偶联, 制备获得噬菌体磁性颗粒 (Phage T102 Magnetic Beads) 复合物, 利用噬菌体磁性颗粒复合物从食品中特异性分离富集沙门氏菌, 然后利用实时荧光定量聚合酶链式反应检测富集后的沙门氏菌。该沙门氏菌快检方法检出限为 100 CFU/mL (0.1 CFU/PCR), 线性范围为 $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^9$ CFU/mL, 变异系数 2.1%, 特异性强, 检测时间为 6 h。实验选取 300 批食品安全抽检样品与 GB 4789.4-2016 标准《食品安全国家标准食品微生物学检验沙门氏菌检验》进行比对, 均未检出阳性样品, 结果一致。该方法可为噬菌体偶联纳米磁珠在食源性致病菌检测领域的应用提供参考依据。

关键词: 沙门氏菌; 噬菌体; 纳米磁珠; 磁分离; 实时荧光定量聚合酶链式反应

文章编号: 1673-9078(2023)09-330-336

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.9.0235

Magnetic Separation Combined with qPCR for the Rapid Detection of *Salmonella* in Sauce Meat

PAN Hui¹, XU Yin^{1*}, WANG Xiaohong², DING Yifeng², WANG Shishuang¹, GONG Fang¹, ZHONG Shengyang¹

(1. Jingzhou Institute for Food and Drug Control, Jingzhou 434000, China)

(2. College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: The efficacy of phage magnetic separation combined with fluorescent quantitative polymerase chain reaction (qPCR) for rapid detection of *Salmonella* in the food matrix was verified. The specific phage of *Salmonella typhimurium* (ATCC14028), T102, was used as a molecular recognition element and was first coupled with carboxylated magnetic beads to prepare a phage T102-magnetic beads complex. *Salmonella* was specifically isolated and enriched by the phage T102-magnetic beads complex from the food matrix and then quantified by qPCR. The detection limit of this rapid detection method for *Salmonella* was 100 colony-forming units CFU/mL (0.1 CFU/PCR). The method had high specificity, with a linear range of $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^9$ CFU/mL and a coefficient of variation of 2.1%. The overall detection procedure takes 6 h. Three hundred batches of food safety samples were tested and compared with the "National Standard for Food Safety, Food Microbiology Inspection, Salmonella Inspection" (GB 4789.4-2016). No positive samples were detected, and the results were consistent with the results of the GB 4789.4-2016 standard method. This method provides a reference for the application of phage-coupled magnetic nanoparticles in the detection of foodborne pathogens.

Key words: *Salmonella*; phage; magnetic nanoparticles; magnetic separation; fluorescent quantitative polymerase chain reaction

引文格式:

潘晖, 许银, 王小红, 等. 磁分离结合 qPCR 快速检测酱卤肉中的沙门氏菌[J]. 现代食品科技, 2023, 39(9): 330-336

PAN Hui, XU Yin, WANG Xiaohong, et al. Magnetic separation combined with qPCR for the rapid detection of *Salmonella* in sauce meat [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(9): 330-336

食源性疾病是一项重大公共卫生挑战, 粗略估算我国一年发生 2.1 亿人次以急性胃肠炎为典型症状的

收稿日期: 2023-02-28

基金项目: 湖北省市场监督管理局技术保障项目 (Hbscjc-JS202007)

作者简介: 潘晖 (1973-), 女, 本科, 高级工程师, 研究方向: 食品安全检测, E-mail: 1737382226@qq.com

通讯作者: 许银 (1995-), 男, 硕士, 助理工程师, 研究方向: 食品安全检测, E-mail: 447108188@qq.com

食源性疾病, 2018 年监测到食源性疾病事件 6 537 起, 涉及患者 41 750 人, 死亡 135 人。因微生物引起的食源性疾病者达到 12 226 人, 其中沙门氏菌感染导致的疾病位列微生物食源性疾病第二位^[1]。美国每年有 900 万人罹患食源性疾病, 56 000 人住院, 1 300 人死亡^[2], 根据美国 CDC 数据, 2009 至 2018 年期间监测到 8,131 起疫情, 131 525 起食源性疾病, 其中 5 986 (74%) 人有确诊或疑似病因, 在确诊或疑似病因中沙门氏菌

位列第2(诺如病毒2 798, 47%; 沙门氏菌1 191, 20%; 细菌毒素617, 10%和 STEC O157:H7, 3%)^[3]。当前多数研究把沙门氏菌列为除大肠杆菌O157:H7以外重点关注的病原体^[4]。

沙门氏菌作为世界第二大食源性致病菌, 是一种常见的食源性革兰氏阴性致病菌^[5,6], 在生鲜类产品中检出率较高, 特别是鸡肉和猪肉中^[7,8], 是食品安全检测领域中的重点监测对象之一, 消费者食用了被沙门氏菌感染的食物后, 4~48 h 发病, 因此开发灵敏、特异性的沙门氏菌快检方法, 对沙门氏菌引起的食源性食品安全事故进行早识别早预警一直是食品安全监督领域重点关注的问题。

目前国内食品中沙门氏菌快速检测方法主要分为免疫学方法、分子生物学方法和生物传感器法。在一定程度上缩短了沙门氏菌的检测时间, 提高了检测效率, 但也面临一些挑战, 例如上述方法均不能有效区分死细菌和活细菌。免疫学方法存在抗体生产成本高、批次不稳定、易出现假阳性等问题, 免疫磁分离技术(Immunomagnetic Separation, IMS)可在磁性微球上键合功能分子(抗体), 与抗原发生特异性结合, 在外加磁场的作用下实现病原菌的分离与富集, 一定程度上可取代增菌培养, 但IMS也存在一定局限性, 抗体对免疫磁分离效果影响极大, 且易产生抗药性, 筛选长效的特异性靶抗体^[9,10]是研究的关键要素。细菌噬菌体(简称为噬菌体)^[11]可有效克服上述检测方法的不足。噬菌体是世界上数量最庞大的非细胞生命, 是分布极广的特异性感染细菌的病毒。噬菌体作为寄生于细菌的病毒, 对宿主细胞具有特异性^[12,13]。噬菌体侵染寄主细胞的吸附识别是噬菌体编码的受体结合蛋白与细菌表面受体发生特异性结合的过程, 受体的性质随噬菌体而异, 对其他种、型不发挥作用^[14-17]。

本研究构建了基于噬菌体的磁分离探针, 并结合实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time Fluorescent Quantitative Polymerase Chain Reaction, qPCR)快速准确检测沙门氏菌的方法, 可有效区分死细菌和活细菌, 通过引入噬菌体磁性颗粒(Phage T102 Magnetic Beads, pMB)复合物, 利用超顺磁颗粒的特性, 借助外加磁场提高了在食品检测中, 高蛋白、高盐、高糖的复杂样品基质中沙门氏菌的分离富集效率; 验证了以鼠伤寒沙门氏菌 ATCC 14028 特异性噬菌体 T102 为新型分子识别物^[18,19], 利用噬菌体磁分离偶联物对样品中的沙门氏菌进行分离富集, 结合 qPCR 方法进行快速检测, 灵敏度高于部分文献报道^[20]; 同时选取 300 批市售的酱卤肉样品进行验证, 其结果与 GB 4789.4-2016 进行了比对。该研究结果可为完善沙门氏

菌的快检方法提供参考依据, 并且扩展了噬菌体在食品安全中的应用。

1 材料与方法

1.1 实验材料原料

1.1.1 菌株和样品

鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*) ATCC14028, 广东环凯微生物科技有限公司; 沙门氏菌噬菌体 T102, 食品安全监管抽检样品。

1.1.2 仪器和试剂

TS-100B 恒温摇床、双人超净工作台、BKQ-B50II 立式灭菌器, 山东博科消毒设备有限公司; SPX-150 型生化培养箱, 惠科电子有限公司; BD Phoenix™ 全自动细菌鉴定系统; DTD-3R 超声波清洗机, 湖北鼎泰恒胜科技设备有限公司; HH 数显三用恒温水箱, 江苏金坛市金城国胜实验仪器厂; PuriMag™ 磁分离器, 普睿迈格生物科技有限公司; MiniQ-10PC 迷你离心机、MiniQ-4C 离心机, 上海巴玖实业有限公司; MiniOpticon 双色荧光定量 PCR 仪, 伯乐生物科技有限公司; CF16RN 高速冷冻离心机, 日本 HITACHI 公司。

LB 肉汤、LB 琼脂, 广东环凯微生物科技有限公司; PuriMag™ G-COOH 羧基磁珠, 普睿迈格生物科技有限公司; EDC (1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐)、NHS (N-羟基琥珀酰亚胺钠盐), 上海麦克林生化科技有限公司; MES (2-吗啉乙磺酸) 缓冲液、PBS 缓冲液、BSA, 北京索莱宝科技有限公司; 沙门氏菌荧光定量 PCR 试剂盒, 南京诺唯赞生物科技股份有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 食品中沙门氏菌的富集与分离

1.2.1.1 宿主菌株复苏与培养

将冻存的鼠伤寒沙门氏菌(ATCC 14028)在LB液体培养基平板上划线37℃培养活化12h,然后在LB固体平板上进行划线培养1~2d。挑取单个典型菌落接种于LB液体培养基,37℃(180 r/min)培养6h,用稀释平板计数法确定细菌数,菌液4℃保存,备用。

1.2.1.2 噬菌体活化

将T102噬菌体(0.1 mL)和活化后的沙门氏菌液(0.1 mL)在LB液体培养基中,37℃震荡(160 r/min)活化12h,离心(9 000 r/min)15 min,0.22 μm 滤膜过滤,收集滤液,梯度稀释噬菌体菌液4℃保存备用。

1.2.1.3 pMB(噬菌体纳米磁珠)的制备

取100 μL 超声重悬后的羧基磁珠液(10 mg/mL,

200 nm) 于 2 mL EP 管中, 用 MES (50 mmol/L) 洗涤两次并重悬, 磁力架回收磁珠, 加入 80 μL EDC (50 mg/mL)、80 μL NHS (50 mg/mL)、240 L MES (50 mmol/L), 在 37 °C (180 r/min) 活化 30 min, 磁分离 3 min, 用等体积的 PBS (10 mg/mL) 冲洗磁珠 2 次后重悬, 加入 1 mL 噬菌体, 4 °C 孵化 12 h。吸推移液枪头偶联噬菌体纳米磁珠, 加入 500 μL BSA (5.0%), 37 °C (180 r/min) 封闭 30 min, 舍封闭液, 准确加入 1 mL PBS 缓冲液, 重悬得到 1 mg/mL 的偶联磁珠液, 保存于 4 °C, 备用。

1.2.1.4 pMB 富集分离沙门氏菌

称取 25 g 样品于 225 mL BPW 中均质, 取 100 μL 样液, 加入 25 μL 噬菌体-磁珠偶联液, 37 °C (180 r/min) 反应 20 min 富集待测样品中的沙门氏菌, 通过磁力架回收纳米磁珠。取偶联混合稀释液及宿主沙门氏菌稀释液 (10² CFU/mL 级) 进行涂布, 计算捕获率 C。

$$C = \frac{S-P}{S} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

C——噬菌体捕获率, %;

S——沙门氏菌菌数, 个;

P——偶联混合液菌数, 个。

1.2.2 qPCR 测定沙门氏菌

采用热裂解法 (沸水浴 10 min) 提取噬菌体纳米磁珠富集的沙门氏菌 DNA。根据 GenBank 中公布的沙门氏菌的 *invA* 基因序列, 选定上游引物: 5-gtgaattatcgccacgttcgggcaa-3, 下游引物: 5-tcatcgcaccg tcaaaaggaacc-3^[21-23]。qPCR 反应参数见表 1、表 2。

表 1 qPCR 扩增体系

组分	体积/μL
2 × TaqProUniversalSYBRqPCRMasterMix	10
Primer-F	0.4
Primer-R	0.4
TemplateDNA/cDNA	1
ddH ₂ O	upto20

表 2 qPCR 反应参数

Step	Temperature/°C	Time/s	Cycles
Pre-denaturation	95	3	1
Circularreaction	95	10	40
	60	30	

1.2.3 噬菌体纳米磁珠结合 qPCR 用于食品沙门氏菌的定量分析

称取 25 g 均质后阴性样品, 200 °C 灭菌 30 min,

加入 1 mL 10⁹ 沙门氏菌液参照 1.2.2 进行实验。每个浓度平行测定 2 次。计算本方法的检出限、精密度及线性范围。

1.2.4 300 批次对比实验

选取食品安全抽检样品 300 批, 与 GB 4789.4-2016《食品安全国家标准食品微生物学检验沙门氏菌检验》进行结果验证。

1.3 数据分析方法

采用 WPS 和 SPSS 19.0 统计软件进行数据处理与分析, 利用 Origin 软件进行作图。P<0.05 为显著差异。

2 结果与分析

2.1 沙门氏菌富集与分离效率评价

2.1.1 噬菌体效价测定

实验室自制 (4 °C 保存 6 个月) 的 T102 噬菌体测定效价为 2.7×10⁹ PFU/mL, 可满足实验需要。如图 1 所示。

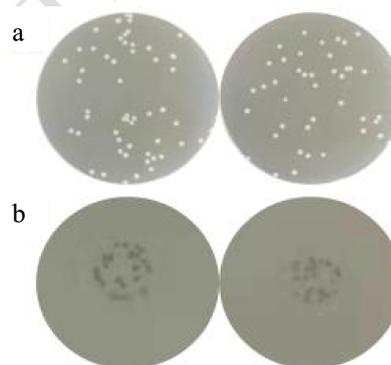


图 1 (a) 10⁻⁷ 沙门氏菌和 (b) 10⁻⁵ 噬菌体

Fig.1 (a) 10⁻⁷ *Salmonella* and (b) 10⁻⁵ Bacteriophage

2.1.2 沙门氏菌捕获率

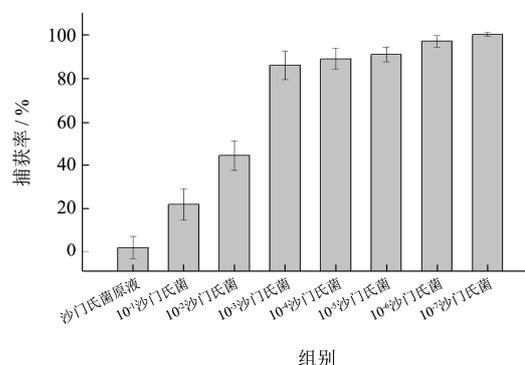


图 2 不同浓度沙门氏菌磁分离实验的捕获率

Fig.2 Capture rate of *Salmonella* in magnetic separation experiments with different concent rations

在 100 μL 梯度稀释的沙门氏菌液中, 加入 25 μL 偶联磁珠液 (10⁻⁵) 进行富集条件试验, 用平板涂布

实验计算捕获率以确定浓度范围。如图 2 所示, 结果表明: 当沙门氏菌的浓度小于 10^6 CFU/mL (10^{-3}), 捕获率大于 80.0%, 可满足检测需求。当沙门氏菌浓度为 10^2 CFU/mL (10^{-7}) 时, 捕获率达到 100%。

2.2 噬菌体磁分离结合 qPCR 检测沙门氏菌

以鼠伤寒沙门氏菌 ATCC 14028 为宿主菌, 噬菌体 T102 为特异性分子识别物, 探究了 *Rahn K* 针对沙门氏菌 *invA* 基因设计引物的可靠性, 选取腐败希瓦氏菌、大肠杆菌、柠檬酸杆菌等常见细菌作为沙门氏菌的干扰物进行特异性试验, 结果表明本方法有良好的特异性。其中沙门氏菌 Ct 值为 16.98 ($n=2$, 16.83、17.13), 其他细菌 Ct 值在 25~30 之间, 有显著差异, 如图 3A 所示; 沙门氏菌熔解曲线峰值 86.68, 其他细菌熔解曲线峰值均大于 88, 差值大于 1 如图 3B 所示。实验中设置阳性对照、阴性对照和空白对照。其中阳性对照以沙门氏菌为 DNA 模板, 阴性对照以 ddH₂O 为 DNA 模板, 空白对照不加模板 DNA, 用于检验是否存在 PCR 污染或形成引物二聚体等。

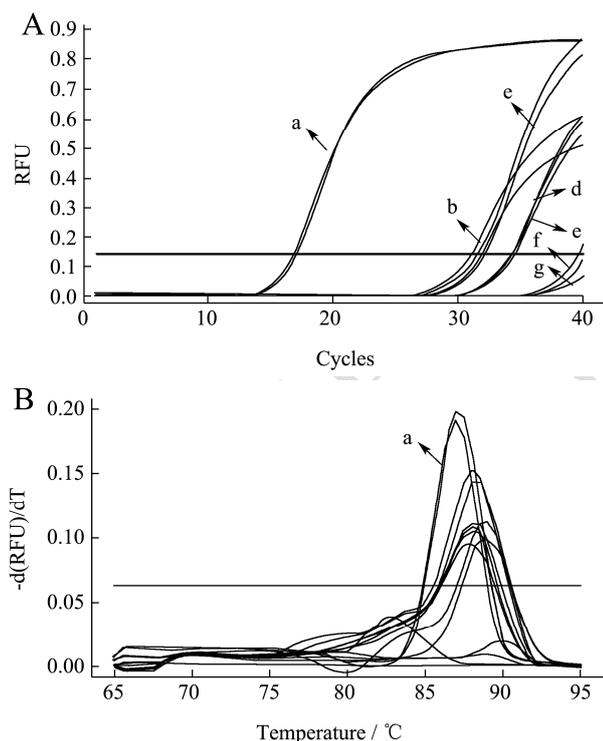


图 3 (A) 不同细菌的循环曲线图和 (B) 不同细菌的熔解曲线峰值图

Fig.3 (A) Circulation curved diagram of different bacteria and (B) Peak melting curved diagram of different bacteria

注: a 沙门氏菌; b 腐败希瓦氏菌; c 大肠杆菌 1; d 柠檬酸杆菌; e 大肠杆菌 2; f 无菌水。

对本实验的灵敏度进行评估, 以沙门氏菌最小可检出浓度定义检出限, 沙门氏菌浓度为 10^2 CFU/mL

时, Ct 值为 37.59, 本方法检测限为 100 CFU/mL 即 0.1 CFU/PCR 反应。如图 4b 所示。同其他方法比较见表 3, 本实验特异性为 91.2%, 结果见表 4。

提取梯度稀释的沙门氏菌 DNA, 取 1 μ L 进行荧光定量 PCR 检测, 实验结果表明, 沙门氏菌在 10^2 ~ 10^9 CFU/mL 浓度范围内呈现良好的线性, 如图 4c 所示线性方程为 $y=44.14-3.29X$, ($X=\lg[\text{沙门氏菌}(\text{CFU/mL})]$), $R^2=0.999$)。对 10^6 CFU/mL 级别浓度进行测定 ($n=4$), 相对标准偏差为 2.1%, 结果见表 5。

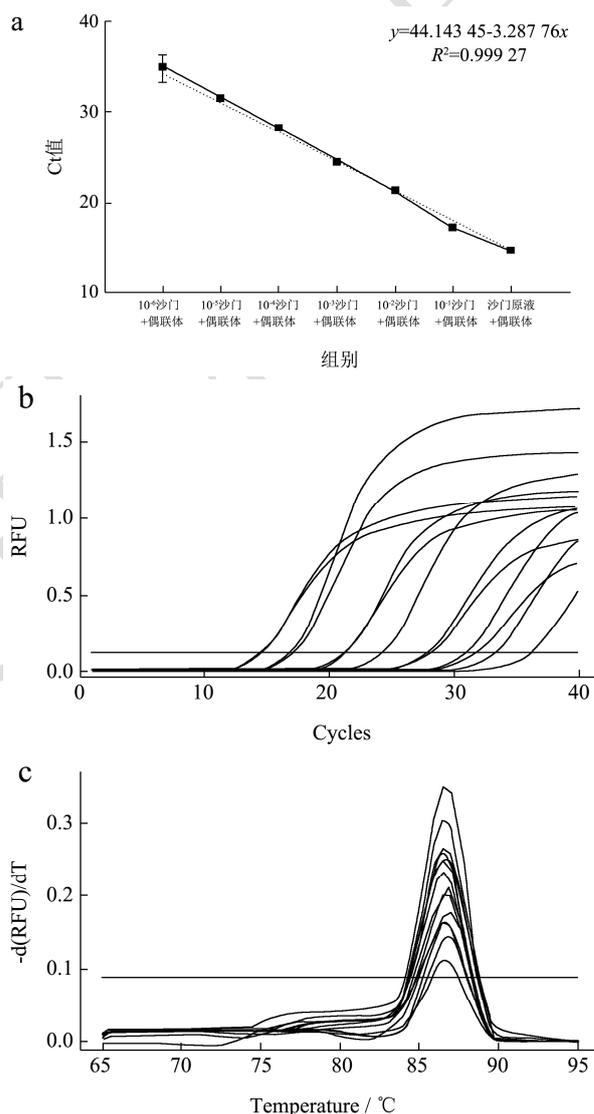


图 4 (a) 不同浓度沙门氏菌熔解分离实验与 Ct 值的线性关系图; (b) 不同浓度沙门氏菌磁分离实验的循环曲线图; (c) 不同浓度曲线峰值图

Fig.4 (a) The linear relationship between magnetic separation test and Ct values of *Salmonella* at different concentrations (b) Cyclic curves of magnetic separation experiments for *Salmonella* at different concentrations; (c) Peak diagram of melting curve for magnetic separation experiments of *Salmonella* with different concentrations

表 3 4 种方法检测时间与检出限的对比

Table 3 Comparison of detection time and detection limit of four methods

项目	本实验方法	方法 1	方法 2	方法 3
时间	6 h	96 h	/	/
检出限	100 CFU/mL (每 PCR 反应 0.1 CFU)	/	1 CFU/PCR 反应	1 000 CFU/g

注: 方法 1 为 GB 4789.4-2016; 方法 2 为 TaqMan 实时荧光 PCR 对沙门氏菌能力验证样品的快速检测与鉴定; 方法 3 为多重实时荧光定量 PCR 同时检测冷冻蔬菜中 4 种食源性致病菌^[24]。

表 4 快检方法的特异性率

Table 4 The specificity rate of the rapid detection method

项目	总实验数	假阳性数	假阴性数	假阳性率	假阴性率/%	特异性/%
结果	34	2	1	5.9	2.9	91.2

表 5 沙门氏菌的精密度测定

Table 5 Precision determination of *Salmonella*

n	Ct 值	检测浓度值/(CFU/mL)
1	24.41	1 004 616
2	24.42	997 930
3	24.36	1 040 639
4	24.35	1 047 852
相对标准偏差		2.1%

2.3 结果验证

表 6 300 批样品明细

Table 6 Details of 300 batches of samples

名称	批次	抽样地点
现场制售酱卤肉 (卤鸡腿、凤爪、鸭脖、鸭腿、牛肉、百叶、猪脚等)	282	农贸市场
生鸡蛋	8	超市
现场制售饮料	10	饮品店

表 7 7 株细菌的来源及鉴定结果

Table 7 Sources and identification results of 7 strains of bacteria

序号	英文名	中文名	样品来源
JX0001	<i>Citrobacter freundii</i>	弗氏柠檬酸杆菌	卤牛肉
JX0002	<i>Escherichia colia</i>	大肠杆菌	卤牛肉
JX0003	<i>Shewanellaputrefaciens</i>	腐败希瓦氏菌	卤猪脚
JX0004	<i>Escherichia colia</i>	大肠杆菌	饮料
JX0005	<i>Citrobacter freundii</i>	弗氏柠檬酸杆菌	饮料
JX0006	<i>Escherichia colia</i>	大肠杆菌	饮料
JX0007	<i>Citrobacter freundii</i>	弗氏柠檬酸杆菌	饮料

随机选取食品安全监督抽检样品(含酱卤肉制品、鸡蛋、饮料等) 300 批(见表 6) 样品进行检测, 按照 GB 4789.4-2016 《食品安全国家标准食品微生物学检验沙门氏菌检验》对沙门氏菌进行预增菌、增菌, 得到 7 株疑似沙门氏菌菌株, 经全自动细菌鉴定仪进行

生化鉴别, 发现均不是沙门氏菌, 鉴定结果见表 7。检测结果超过 96 h。

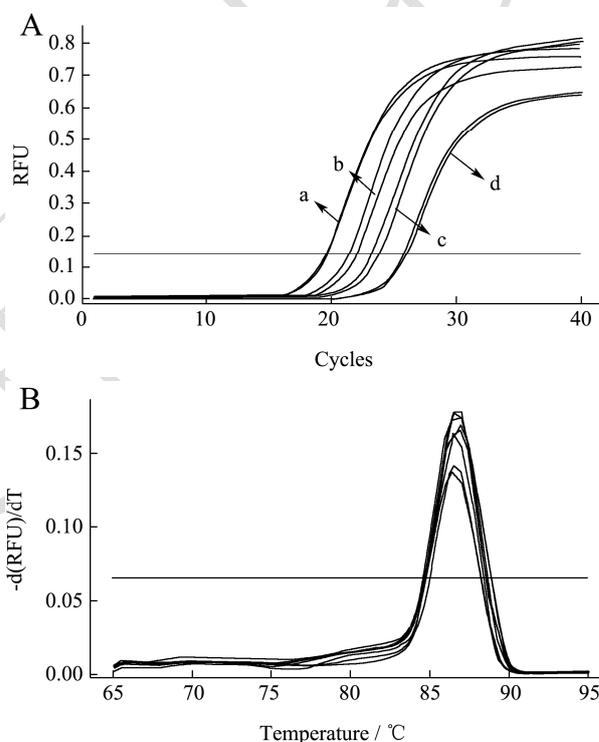


图 5 (A) 模拟实验循环曲线图和 (B) 模拟实样品+标+偶联磁珠熔解曲线峰值图

Fig.5 (A) Cyclecurve of simulated experiment and (B) Peak diagram of melting curve of simulated experiment

注: a 为样品+标; b 为 10^{-1} (样品+标); c 为样品+标+偶联磁珠; d 为 10^{-1} (样品+标+偶联磁珠)。

随后对抽检样品按本快检方法进行加标实验(如图 5), 本方法从环境样本中分离纯化得到沙门氏菌噬菌体, 使之与纳米磁珠偶联, 基于沙门氏菌复杂的抗原结构[菌体 (O)、鞭毛 (H) 和表面 (Vi)], 通过外磁场作用, 沙门氏菌抗原与包被在超顺磁纳米磁珠表面的沙门氏菌噬菌体抗体进行特异性结合。在外磁场的作用下, 使食品中沙门氏菌活体跟随噬菌体免疫磁珠滞留在磁场中, 不含沙门氏菌的非磁性样品溶液

被舍弃,从而实现食品中沙门氏菌的富集与分离。准确检测到添加至样品中的标准沙门氏菌菌液,同时探究了针对沙门氏菌 *invA* 基因设计引物的可靠性。

需要指出的此次批量检测的样品对象不含生鲜畜禽肉,主要为餐饮环节中现场制售的酱卤肉制品以及少量鸡蛋和饮料,没有检测到沙门氏菌。研究团队查阅了国家市场监督管理总局官网公布的2019~2021年公布的安全抽检数据,在公布的84345批次抽检中仅有1批次检出沙门氏菌,证实了本实验300批次样品沙门氏菌零检出结果的可靠性。沙门氏菌零检出率可能与抗生素过度使用及近年来严格的食品安全监管有关。值得注意的是在300批样品中,在猪脚、饮料等样品中筛出7例菌株,建议监管及卫健部门予以关注。

3 结论

自然界广泛存在的噬菌体为病原菌微生物的特异性检测提供了天然的宝库,噬菌体在活菌体内专一快速繁殖,能有效区分活菌与死菌。从环境样本中分离纯化得到的沙门氏菌噬菌体抗体,与待测样品中的沙门氏菌活体菌抗原进行专属性结合,以满足检测需求。但由于食品组分相对复杂,高盐、高糖和高蛋白基质不利于目标病原菌沙门氏菌的富集,因此在检测中为提高灵敏度一般需要进行增菌,增加了检测时间。

纳米磁珠与噬菌体的结合较好到解决了这一难题,当磁性纳米颗粒小于其极限尺寸(如 $\text{Fe}_3\text{O}_4 < 30 \text{ nm}$)后成为单畴颗粒,单畴颗粒集合体内总磁化强度为零,在有外加磁场存在时,表现出较强且有序的磁性,这一特性使得磁性纳米颗粒能够在外磁场的作用下方便定向分离并聚集,当外加磁场消失后磁性纳米颗粒又能在均匀地分散到待测样品中,在纳米磁珠表面键合沙门氏菌噬菌体抗体,在外加磁场的作用下能定向实现抗体抗原的特异性结合实现待测样品中沙门氏菌的分离与富集,从而减少预增菌及增菌环节。

该项目提供的噬菌体磁分离结合qPCR快速检测沙门氏菌方法可以作为传统国标检测方法的一个有力的补充,在实际食品微生物检验工作中,用qPCR结合噬菌体磁分离方法对样品进行初筛,得到阳性样品后再用传统方法进行验证,可以大大减轻工作量,提高工作效率,缩短检测时间。

参考文献

[1] 韩海红,寇柏洋,马洁,等.2018年中国大陆食源性疾病暴发监测资料分析[J].中国食品卫生杂志,2022,34(4):822-829.
[2] Scallan E, Hoekstra R M, Angulo F J, et al. Foodborne illness

acquired in the United States - Major pathogens [J]. Emerging Infectious Diseases, 2011, 17(1): 7-15.
[3] Alice E W, Alexandra R T, Cralg H, et al. Foodborne illness out breaks reported to national surveillance, United States, 2009-2018. [J]. Emerging infectious diseases, 2022, 28(6): 1117-1127.
[4] 刘素可,张彪,路娟娥,等.沙门氏菌在食品中的生存策略及其防控的研究进展[J].食品科学,2022,43(13):218-226.
[5] Guo Y, Li J, Islam M S, et al. Application of a novel phage vB_SalS-LPSTLL for the biological control of *Salmonella* in foods [J]. Food Research International, 2021, 147(4): 110492.
[6] Huang C X, Virk S M, Shi J C, et al. Isolation, characterization, and application of bacteriophage LPSE1 against *Salmonella enterica* in ready to eat (RTE) foods [J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 1046.
[7] 丁一峰,李昀怡,毕一兵,等.噬菌体对鸡肉表面耐药沙门氏菌的抑制作用[J].食品安全质量检测学报,2021,12(11): 4340-4345.
[8] 崔霞.猪肉中沙门氏菌的分离鉴定及PCR快速检测分析[J].食品安全导刊,2021,24:65-66.
[9] 温珍玉,张红霞,李美霞,等.沙门氏菌的检测与分离鉴定技术研究进展[J].广东畜牧兽医科技,2022,4:66-70.
[10] 林吉恒,黄朱梁,彭志兰,等.免疫磁珠分离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,2019,10(18): 5998-6005.
[11] Klimuszko D, Skaguz A S, Krutkiewicz A. Phagetherapy [J] Zycie Weterynaryjne, 2009, 84(8): 634-637.
[12] Loc-Carrillo C, Abedon S T. Pros and cons of phagetherapy [J]. Bacteriophage, 2011, 1(2): 111-114.
[13] Sillankorva S M, Oliveira H, Azeredo J. Bacteriophages and their role in food safety [J]. Int J Microbiol, 2012, 2012(1): 863945.
[14] 宋亚雄,王丽丽,李晓宇,等.噬菌体在畜禽细菌性疾病控制中应用研究进展[J].动物医学进展,2016,37(3):91-94.
[15] 吕阳,尹平,Mohamed Khairy Morsy,等.噬菌体在食品安全控制中的研究进展[J].食品科学,2018,39(15):240-246.
[16] 曹冬梅,袁慕云,史媛媛,等.食品中伤寒沙门氏菌TaqMan探针实时PCR检测方法[J].检验检疫学刊,2014,3:32-36,10.
[17] 聂若男,李晚宁,杨其乐,等.一株裂解性短尾沙门氏菌噬菌体T139生物学特性及其在牛奶和牛肉样品中的抑菌作用[J].食品科学,2019,40(18):130-136.
[18] 王小红,丁一峰,王佳,等.鼠伤寒沙门氏菌噬菌体T102及其在富集分离沙门氏菌中的应用:中国,CN113801855A[P]. 2021-12-17.
[19] Huang C X, Binti Y M, Ding Y F, et al. Development of a

- rapid *Salmonella* detection method via phage-conjugated magnetic bead separation coupled with real-time PCR quantification [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2021, 142(3): 111075.
- [20] 王凤军,叶素丹.TaqMan 实时荧光 PCR 对沙门氏菌能力验证样品的快速检测与鉴定[J].现代食品科技,2020,36(12): 300-306,83.
- [21] 杨德胜,朱燕秋,赖笑娴,等.沙门氏菌荧光 PCR 检测方法的建立与初步应用[J].黑龙江畜牧兽医,2016,10:278-280.
- [22] 袁京磊.沙门氏菌快速检测方法的研究进展[J].现代食品, 2022,28(2):118-120.
- [23] Rahn K, De Grandis S A, Clarke R C, et al. Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella* [J]. *Mol Cell Probes*, 1992, 6(4): 271-279.
- [24] 王晓.多重实时荧光定量 PCR 同时检测冷冻蔬菜中 4 种食源性致病菌[J].食品安全质量检测学报,2018,9(22):5917-5921.