

生物传感器检测食源性大肠杆菌 O157:H7 研究新进展

刘慧玲, 吕敬章, 朱智壕, 范放, 张恒*

(深圳市食品安全检测技术研发重点实验室, 深圳出入境检验检疫局食检中心, 深圳 518045)

摘要: 近年来, 生物传感器因具有快速、简便、灵敏度高、低成本等优势被广泛应用到临床检测、环境监测等领域。该技术在食品安全领域也逐步得到重视, 尤其在病原微生物的快速检测方面。本文从免疫识别和核酸识别两方面简要介绍生物传感器技术检测食源性大肠杆菌 O157:H7 研究的最新进展, 对生物传感器技术存在的问题及未来的研究方向进行了总结及展望。

关键词: 生物传感器; 大肠杆菌 O157:H7; 食品安全

New progress in detection of foodborne pathogenic *Escherichia coli* O157:H7 based on biosensors

LIU Hui-Ling, LV Jing-Zhang, ZHU Zhi-Hao, FAN Fang, ZHANG Heng*

(Shenzhen Key Research Laboratory of Detection Technology R&D on Food Safety, Food Inspection Center of CIQ-Shenzhen, Shenzhen Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shenzhen 518045, China)

ABSTRACT: In recent years, due to their advantage of rapid detection, easy-to-use, high sensitivity, low cost and so on, biosensors have been widely used in clinical test, environmental monitoring, etc. The biosensors have become more and more prominent in food safety, especially in rapid detection of pathogenic microorganism. In this paper, on the basic of both immunological recognition and nucleic acid recognition several biosensors methods for rapid detection of foodborne pathogenic *Escherichia coli* O157:H7 and their new progress were briefly reviewed. Finally, the existing problems and the research prospects of biosensor were also discussed.

KEY WORDS: biosensor; *Escherichia coli* O157:H7; food safety

1 引言

大肠杆菌 O157:H7(*Escherichia coli* O157:H7, *E.coli* O157:H7)属于肠杆菌科埃希菌属, 它是肠出血性大肠埃希氏菌(*Enterohemorrhage E.Coli*, EHEC)的

主要血清型, 可产生大量的 Vero 毒素, 引起出血性肠炎、溶血性尿毒综合症和血栓性血小板减少性紫癜等^[1-2]。因此, 对食源性大肠杆菌 O157:H7 的快速准确的鉴定, 对于预防疾病的传播具有重要的意义。传统的大肠杆菌 O157:H7 检测方法主要有 3 类: 细菌学培养

基金项目: 深圳出入境检验检疫局青年科技论坛项目(SZ2011210)、深圳市技术创新项目(CXZZ20120831160213589)

Fund: Supported by Shenzhen CIQ Young Science & Technology Forum Program (SZ2011210), and Shenzhen City Technology Innovation Program (CXZZ20120831160213589)

*通讯作者: 张恒, 博士, 工程师, 主要研究方向为食品安全快速筛查技术、纳米技术。E-mail: yzhangheng@163.com

*Corresponding author: ZHANG Heng, Ph.D Candidate, Engineer, Food Inspection Center of CIQ-Shenzhen, Shenzhen Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, No.1011, Fuqiang Road, Futian District, Shenzhen 518045, China. E-mail: yzhangheng@163.com

检测、免疫学检测及分子生物学检测。常规实验室对食源性病原菌的检测、鉴定依然停留在分离培养、形态观察、生化鉴定和血清学分型水平, 这些传统的方法操作复杂、检测周期较长, 而且无法对难以培养的病原菌进行检测; 而一些简单的分子生物学和免疫学方法假阳性率又较高, 也需要较为繁琐的样品前处理、洗涤等步骤, 大大限制了技术的应用范围。

生物传感器(biosensor)具有接受器与转换器的功能, 是一种对生物物质敏感并将其浓度转换为电信号进行检测的仪器, 是由固定化的生物敏感材料作为识别元件(包括酶、抗体、抗原、微生物、细胞、组织、核酸等生物活性物质)与适当的理化换能器(如氧电极、光敏管、场效应管、压电晶体等)及信号放大装置构成的分析系统。生物传感器具有高效、灵敏、特异、结构小巧、经济实用等诸多优点, 可以在物质分子层面进行快速、微量检测, 目前正成为一种强有力的通用分析工具。生物传感器技术的发展在致病微生物检测方面取得了长足的发展^[3-5], 虽该方法在致病菌检测方面还存在不足, 但其所具有的独特优势为其在实际检测工作中提供了一个新的思路和方向。该文就生物传感器技术在快速检测大肠杆菌 O157:H7 方面的最新进展进行简要综述, 并展望该技术在致病菌检测方面存在的难点与研究前景, 期望对该领域的研究提供一定的参考价值。

2 基于免疫识别的生物传感器快速检测大肠杆菌 O157:H7

从抗原-抗体识别角度来说, 若要实现大肠杆菌 O157:H7 的特异性检测, 第一步需要考虑的即是特异性识别问题, 而基于抗原-抗体的特异性识别大肠杆菌 O157:H7 所建立的传感器, 我们笼统的概括为大肠杆菌 O157:H7 免疫传感器。对于传感器的定义也没有明确的定论, 其概念比较广泛, 构成传感器的两大部分就是识别元件和信号传递元件。已有很多类型的免疫传感器用于大肠杆菌 O157:H7 的快速检测, 对于免疫型生物传感器从广义上来说, 主要分为两大类: 一是无需标记即可实现致病菌的检测; 二是借助酶、荧光、电传导等来实现致病菌的检测。

2.1 免标记生物传感器直接检测

2.1.1 电化学阻抗型传感器

电化学阻抗免疫传感器是通过检测修饰电极的

界面特性来检测样品中抗体/抗原目标物的一种有效方法。因该方法不需要标志物, 简化了传感器的制备, 被广泛应用到细菌的快速检测, 但该方法与传统培养法相比较, 其检测限较高, 样品分析系统尚不够完善^[6]。

Li 等^[7]在电化学阻抗法快速检测大肠杆菌 O157:H7 方面做了大量的工作。他们将 O157:H7 的捕获抗体交联到 ITO 电极表面, 一旦大肠杆菌 O157:H7 附着到电极表面, 电极阻抗就会发生变化, 该检测方法灵敏度达到 6×10^3 CFU/mL。另外, 该课题组^[8]还通过对样品中的大肠杆菌 O157:H7 首先采用磁性纳米进行富集分离, 再结合微流控-微电极免标记电化学阻抗法实现对大肠杆菌 O157:H7 的快速检测, 该方法能够检测培养基和牛肉样品中的大肠杆菌 O157:H7 的灵敏度分别为 1.6×10^2 、 1.2×10^3 CFU/mL。Chan 等^[9]借助生物功能化的磁性纳米结合纳米孔的矾土膜构建阻抗型生物传感器实现样品中大肠杆菌 O157:H7 的超灵敏检测, 其检测底限能达到 10 CFU/mL。

2.1.2 表面等离子共振型传感器

表面等离子共振(surface plasmon resonance, SPR)是一种光学物理现象。当生物分子结合到金属表面时, 会引起 SPR 折射率及入射角的变化, 因此通过监测生物反应过程中 SPR 角的动态变化, 得到生物分子之间相互作用的特异性信号, 可以用来研究生物分子间的相互作用^[10]。对于 SPR 生物传感器的研究在生物传感器领域已相对成熟, 包括 BIAcoreAB 生物传感器、SpreetaTM 生物传感器在内的成品仪器已应用到大肠杆菌 O157:H7 检测的研究。SPR 技术具有无需标记、实时监测、灵敏度高、非破坏性及高选择性等优点, 但 SPR 传感技术对于低浓度、小分子量的分子检测精度不高。

Fratamico 等^[11]使用 BIAcoreAB 检测 O157:H7, 该仪器是基于 SPR 原理的一种生物传感器。检测过程中, 他们利用抗原-抗体反应以及信号倍增放大的方式, 特异检测出 4 株大肠杆菌 O157:H7 细菌, 测得 10 min 内大肠杆菌 O157:H7 检出限为 5×10^7 CFU/mL, 且未发现与鼠伤寒沙门氏菌、小肠结肠炎耶尔森菌有交叉反应。Subramanian 等^[12]在 SPR 表面自组装构建“三明治”夹心法检测大肠杆菌, 其检测限为 10^3 CFU/mL。Waswa 等^[13]用基于 SPR 原理的 SpreetaTM 检测加标到牛奶、苹果汁以及碎牛肉中的

O157:H7, 约 30 min 后测得实验灵敏度为 $10^2\sim 10^3$ CFU/mL, 在有大肠杆菌 K12 和志贺氏菌的同时可以特异性检出 O157:H7。Wang 等^[14]利用基于表面等离子传感器的凝集素与病原菌表面的碳水化合物能够特异性识别的原理(其原理类似于抗原抗体的识别), 比较了 5 种类型的凝集素对大肠杆菌 O157:H7 的识别检测, 最终实现食品中大肠杆菌 O157:H7 检测限为 3×10^3 CFU/mL。

2.1.3 压电生物传感器

压电生物传感器是以压电材料为换能器的新型生物传感器, 是依靠测量质量的变化来实现目标物的测定。在生物化学反应过程中, 压电石英晶体表面被修饰, 选择性地与被检测物质作用, 继而在晶体表面出现异号极化电荷(又称为压电效应), 从而实现生物传感器的检测作用。压电生物传感器的特点是响应灵敏、特异性高、简便快速、样品无需标记, 方法易于自动化、集成化。

Su 等^[15]将亲和纯化的抗体组装到金电极表面, 当大肠杆菌 O157:H7 与电极表面的抗体结合时, 可引起电极表面信号变化。实验测得 30~50 min 内大肠杆菌 O157:H7 浓度可达 10^3 CFU/mL。Guo 等^[16]借助抗体修饰的纳米金作为检测信号放大载体, 构建了大肠杆菌 O157:H7 高灵敏的富集与检测平台。样品中的大肠杆菌 O157:H7 可与固定有捕获抗体的压电生物传感器-石英晶体微天平(quartz crystal microbalance, QCM)芯片结合, 经过 18 h 孵育, 大肠杆菌 O157:H7 可以特异性地富集到 QCM 芯片表面, 引起 QCM 频率改变, 从而实现目标物的检测。大肠杆菌 O157:H7 被捕获到芯片表面, 通过加入抗体功能化的金纳米用于进一步增强信号的变化, 该方法检出限为 $0\sim 1 \log$ CFU/mL(g)。

2.2 带标记生物传感器间接检测型传感器

2.2.1 酶标记型免疫传感器

酶标记法传感器主要有两种实现方式, 一是通过酶直接与底物作用产生的光学信号, 二是借助酶产生的电信号。多数情况下, 可以通过直接改变标记底物获得可检测的信号(荧光、化学发光, 电活性物质)。

Yacoub-George 等^[17]利用毛细管 ELISA 技术结合微型流体系统以及化学发光建立了化学发光多声道免疫传感器的检测方法, 24 min 内检测到大肠杆菌 O157:H7 的最低限为 10^5 CFU/mL。Muhammad-Tahir 等^[18]利用电化学传感器检测大肠杆菌 O157:H7。该实验利用了捕获蛋白、报告蛋白与检测样品的相互

作用, 10 min 内检测到约 7.8×10^1 CFU/mL 大肠杆菌 O157:H7。另外, 酶标记也可以用于安培法检测中, 这种方法用于测量电极表面上因氧化或还原而产生的电流。Abdel-Hamid 等^[19]将抗体用过氧化物酶标记并结合到安培传感器上, 过氧化物酶可以被捕获并催化碘离子与过氧化氢反应生成碘。这种安培传感器检测被灭活的大肠杆菌 O157:H7 的最低检测限为 10^2 CFU/mL。马静等^[20]利用静电吸附及抗原抗体特异性结合将大肠杆菌 O157:H7 固定在辣根过氧化物酶标记的电极表面, 制备检测大肠杆菌的酶免疫传感器, 检测线性范围为 $1\times 10^3\sim 1\times 10^5$ CFU/mL, 检测极限为 1×10^2 CFU/mL。此方法检测时间仅为 20 min, 与标准检测法相比大大缩短了检测时间。Akanda 等^[21]采用碱性磷酸酶标记的抗体结合亲和素修饰的 ITO 电极实现了样品中大肠杆菌 O157:H7 的检测, 该文比较 5 对不同的底物获得最佳的检测灵敏度, 能够在 $10^3\sim 10^8$ CFU/mL 浓度范围获得较理想的检测效果。Zhao 等^[22]通过构建了一种一次性的低成本丝网印刷碳电极, 在其电极表面引入多壁碳纳米管-海藻-壳聚糖复合物用于增强信号, 再通过辣根过氧化物酶标记的抗体进行获取及获得检测信号, 对大肠杆菌 O157:H7 的检测灵敏度达到 3.27×10^3 CFU/mL。Li 等^[23]采用二氧化硅包裹的金纳米、富勒烯和经酶修饰的 Pt 纳米链用于信号的放大, 构建一种灵敏的电化学免疫传感器用于检测大肠杆菌 O157:H7, 在 $3.2\times 10^1\sim 3.2\times 10^6$ CFU/mL 具有很好的线性, 其检测底限能达到 15 CFU/mL。

2.2.2 荧光标记型免疫传感器

近年来, 基于荧光标记方法构建生物传感器广泛应用到致病菌的检测中^[24-25]。Czajka 等^[26]固相荧光毛细管免疫法检测大肠杆菌 O157:H7, 首先用免疫磁珠法捕获到非经选择性培养基培养的大肠杆菌, 其最低可以检测到苹果样品中大肠杆菌 O157:H7 约 0.5 CFU/mL。Ho 等^[27]构建了基于流动注射脂质体免疫分析的免疫传感器。该系统的石英玻璃微细管表面带有被荧光染料封装脂质体的第二抗体, 在反应过程中, 脂质体被裂解, 染料因而得到释放, 荧光值被测定。实验测得灭活大肠杆菌 O157:H7 的检测限为 3.6×10^2 CFU/mL。Geng 等^[28]通过生物素-亲和素系统把抗体固定到聚苯乙烯光纤头上, 构建光纤生物传感器快速检测碎牛肉中的大肠杆菌 O157:H7。他们将抗大肠杆菌 O157:H7 抗体用 Alexa Fluor 647 染料标记, 检测生成的特定荧光信号。实验可检测到 10^3

CFU/mL 纯培养的大肠杆菌 O157:H7, 以及 1 CFU/mL 经 4 h 增菌的碎牛肉中的大肠杆菌 O157:H7。Ohk 等^[29]采用链霉亲和素包被的光导波管用生物素多克隆抗体固定后置于待测悬浮液中, 与致病菌免疫结合实现大肠杆菌 O157:H7、李斯特菌及沙门氏菌的多重检测, 其检出限为 1×10^3 CFU/mL。Miyajima 等^[30]构建一种三明治型的在线监测大肠杆菌 O157:H7 的光纤型免疫试验, 每个样品的检测时间可在 6~12 min 完成, 其检测范围在 $10^3 \sim 10^7$ CFU/mL 之间。Huang 等^[31]构建了一种长范围的表面增强荧光型生物传感器用于大肠杆菌 O157:H7 的检测, 其检测底限可达到 10 CFU/mL, 整个检测过程可在 40 min 内完成。

2.2.3 电导型免疫传感器

Muhammad-Tahir 等^[32]发明了一种电导免疫传感器用于检测大肠杆菌 O157:H7, 利用电化学夹心法测得在纯培养基中大肠杆菌 O157:H7 的检测限约为 7.9×10^1 CFU/mL。在 5 种细菌混合物(两株大肠杆菌 O157:H7, 非致病性大肠杆菌、汤普森沙门氏菌、鼠伤寒沙门氏菌各一株)中检测可特异性检测出大肠杆菌 O157:H7。该课题组采用该方法又开展了进一步研究, 对被污染的样品进行大肠杆菌 O157:H7 的检测, 首先通过滤膜对样本进行处理, 所测的最低检测限为 8.1×10^1 CFU/mL^[33]。Luo 等^[34]利用静电生物传感器检测了包含大肠杆菌 O157:H7 在内的两种微生物样品。这种静电生物传感器是在毛细管分离和电传导免疫基础上设计的, 在 8 min 内测得大肠杆菌 O157:H7 的检出限为 61 CFU/mL。

2.2.4 电致发光型免疫传感器

Yu 等^[35]提出用免疫磁性富集样品, 引入电致发光法检测大肠杆菌 O157:H7。1 小时内细菌在人工污染样品和纯缓冲液中的检出限分别为 $(1 \sim 2) \times 10^3$ CFU/mL 和 10^2 CFU/mL。实验中同时对大肠杆菌 O157:H7 进行了特异性检测, 发现该菌与其它不同大肠杆菌菌株的交叉反应性较低。Leach 等^[36]采用自动化的电致发光系统实现样本中大肠杆菌 O157:H7 的检测, 经 5 h 的富集之后, 检测灵敏度可以达到 0.1 CFU/g, 整个实验可以在 6.5 h 内完成。Magana 等^[37]借助一种自动的超滤系统处理 50 L 体积的样本, 再通过电致发光实验实现大肠杆菌 O157:H7 的检测, 采用该方法能够实现大容量样本中致病菌的检测。

3 基于核酸识别的生物传感器快速检测大

肠杆菌 O157:H7

核酸生物传感器是一种能将目的核酸的存在转变为可检测的电、光、声等信号的传感装置, 按照生物传感器上参与检测的核酸不同分为 DNA 生物传感器和 RNA 生物传感器两种。按照转换元件的不同, 基于核酸识别的生物传感器又可分为电化学 DNA 传感器、电化学核酸适配体传感器、压电晶体 DNA 传感器、表面等离子体共振 DNA 传感器、光学光纤 DNA 传感器等。下面针对参与检测的核酸不同对核酸生物传感器进行举例介绍。

3.1 DNA 生物传感器

目前用于食品中大肠杆菌 O157:H7 快速检测的 DNA 生物传感器主要有电化学 DNA 传感器和压电晶体 DNA 传感器两种。DNA 生物传感器具有响应快速、特异性高的优点, 但电极再生性较差。

Liao 等^[38]开发了一种新型的电化学 DNA 传感器检测大肠杆菌 O157:H7。该 DNA 传感器针对大肠杆菌 O157:H7 特异的 rfbE 基因, 竞争性结合靶基因 rfbE 以及被标记的报告基因。实验可检测到 0.75 amol 的 rfbE 基因。Mao 等^[39]借助纳米信号放大技术, 构建压电晶体 DNA 传感器, 用于检测大肠杆菌 O157:H7。先将大肠杆菌 O157:H7 eaeA 基因特异性的硫醇化单链 DNA 固定到 QCM 传感器表面, 使之与目的 DNA 结合, 通过质量改变引起 QCM 频率改变。反应过程中使用了链霉亲和素标记的 Fe_3O_4 纳米粒子以增强频率改变。通过对合成生物素标记的寡核苷酸探针和 151 个碱基对的大肠杆菌 O157:H7 eaeA 基因片段进行检测, 测得检测底限达到 2.67×10^2 CFU/mL, 在大肠杆菌 O157:H7 从 $2.67 \times 10^2 \sim 2.67 \times 10^6$ CFU/mL 浓度范围内, 线性频率变化和细菌细胞浓度之间呈现良好的对数关系。

3.2 RNA 生物传感器

RNA 生物传感器主要是指核酸适体生物传感器。核酸适体具有自身稳定性强、靶分子范围广、亲和性高、变性复性快速可逆、易功能化修饰与标记、可作为优良的纳米器件等诸多优点, 近些年来, 核酸适配体开始被用作生物传感器探针分子检测^[40]。由于 RNA 适配体比 DNA 适配体可得到更多不同的三维结构^[41], 因此, RNA 适配体更容易被筛选出来, 从而更加适用于生物传感器。

目前已有报道研制出针对大肠杆菌 O157:H7 的 RNA 适配体。Lee 等^[42]从大肠杆菌 K12 的 RNA 库中,

经过6轮消减细胞指数富集的配基系统进化技术(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX), 找到一种科特异性结合大肠杆菌 O157:H7 但不能与大肠杆菌 K12 结合的 RNA 适配体。Maeng 等^[43]利用 SELEX 技术筛选出大肠杆菌 O157:H7 RNA 适配体, 并将该适配体固定在载玻片上, 通过与目标致病菌结合达到检测目的。

4 结论与展望

大肠杆菌 O157:H7 的致病性与致死性都很强, 通过抗生素治疗还可加剧病情, 感染后具有暴发流行性、高度致病性和致死性的特点, 目前已成为全球性的公共卫生问题^[44]。利用生物传感器技术检测大肠杆菌 O157:H7 具有简捷、快速的特点^[45,46]。因生物传感器自身的特点如快速、灵敏、便携、易操作等, 决定了生物传感器将在食品安全中的病原菌检测将占有一席之地。目前利用生物传感器检测大肠杆菌 O157:H7 还处于起步阶段, 而生物传感器在致病菌检测上的应用也还存在很多缺陷如仪器不够微型化、耗时、稳定性差、需专人操作等, 所以该技术还都停留在实验室研究阶段, 无法商业化生产。

免疫型生物传感器分为免标记直接检测型和带标记间接检测型两种, 前者具有简单、花费低等优点, 但灵敏度较低, 限制了其应用; 而后者应用相对较为广泛。免疫型生物传感器与核酸型相比, 其优势在于无需繁琐的样品前处理, 但目前所研究的免疫型生物传感器时, 实际上会遇到一些难点如配对抗体的筛选, 以及抗体经修饰之后可能存在的活性降低影响检测灵敏度等等。开发高灵敏的耐受型核酸型生物传感器对于改善目前核酸型生物传感器具有重要的意义, 将对样品进行检测的处理, 无需繁琐的核酸提取就能实现高灵敏的目的片段的检测, 也将可能成为下一个研究的新热点。

生物传感器作为一种新兴的检测手段, 其分类并不是独立分隔的, 各种分类之间有其相互交叉的地方, 因此可以通过不同方法与传感器结合使用进行研究, 从而开拓出更多新型、功能完善的传感器, 例如可以将抗原抗体免疫法与表面等离子共振传感器结合, 将核酸杂交技术与压电生物传感器结合研究; 在提高检测灵敏度方面, 将目前研究热点——纳米技术与生物传感器结合; 将微阵列技术应用到生物传感器中实现多种致病菌的高通量同步检测等。今

后食源性病原菌的快速检测新方法的研究, 基于生物传感器的研究将是重点方向, 将多种方法相互融合, 取长补短实现检测的最终目标: 高通量、高灵敏、快速便携、易操作。

参考文献

- [1] Phillips CA. The epidemiology, detection and control of *Escherichia coli* O157 [J]. *J Sci Food Agr*, 1999, 79(11): 1367–1381.
- [2] 宋宏新, 李宏. 肠出血性大肠杆菌 O157, H7 的检测方法进展[J]. *食品科学*, 2007, 28(11): 607–610.
Song HX, Li H. Review of methods for detection EHEC O157:H7 [J]. *Food Sci*, 2007, 28(11): 607–610.
- [3] Syam R, Davis KJ, Pratheesh M, *et al.* Biosensors: a novel approach for pathogen detection [J]. *Vetscan*, 2012, 7: 14–18.
- [4] Darsanaki RK, Azizzadeh A, Nourbakhsh M, *et al.* Biosensors: functions and applications [J]. *J Biol*, 2013, 2(1): 53–61.
- [5] Gehring AG, Tu SI. High-throughput biosensors for multiplexed food-borne pathogen detection [J]. *Annu Rev Anal Chem*, 2011, 4: 151–172.
- [6] 程欲晓, 金利通. 电化学/生物传感器快速检测大肠杆菌的研究进展[J]. *化学传感器*, 2009, 29(1): 3–8.
Cheng YX, Jin LT. Development of rapid detection of *Escherichia coli* by electrochemical sensor and biosensor [J]. *Chem Sensor*, 2009, 29(1): 3–8.
- [7] Yang L, Li Y, Erf GF. Interdigitated Array Microelectrode-based electrochemical impedance immunosensor for detection of *Escherichia coli* O157:H7 [J]. *Anal Chem*, 2004, 76(4): 1107–1113.
- [8] Varshney M, Li Y, Srinivasan B, *et al.* A label-free, microfluidics and interdigitated array microelectrode-based impedance biosensor in combination with nanoparticles immunoseparation for detection of *Escherichia coli* O157: H7 in food samples [J]. *Sensor Actuat B-Chem*, 2007, 128(1): 99–107.
- [9] Chan KY, Ye WW, Zhang Y, *et al.* Ultrasensitive detection of *E. coli* O157:H7 with biofunctional magnetic bead concentration via nanoporous membrane based electrochemical immunosensor [J]. *Biosens Bioelectron*, 2013, 41(0): 532–537.
- [10] Velasco-Garcia MN, Mottram T. Biosensor technology addressing agricultural problems [J]. *Biosyst Eng*, 2003, 84(1): 1–12.
- [11] Fratamico P, Strobaugh T, Medina M, *et al.* Detection of *Escherichia coli* O157: H7 using a surface plasmon resonance biosensor [J]. *Biotechnol Tech*, 1998, 12(7): 571–576.
- [12] Subramanian A, Irudayaraj J, Ryan T. A mixed self-assembled

- monolayer-based surface plasmon immunosensor for detection of *E. coli* O157: H7 [J]. *Biosens Bioelectron*, 2006, 21(7): 998–1006.
- [13] Waswa J, Irudayaraj J, DebRoy C. Direct detection of *E. Coli* O157: H7 in selected food systems by a surface plasmon resonance biosensor [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2007, 40(2): 187–192.
- [14] Wang Y, Ye Z, Si C, *et al.* Monitoring of *Escherichia coli* O157:H7 in food samples using lectin based surface plasmon resonance biosensor [J]. *Food Chem*, 2013, 136(3–4): 1303–1308.
- [15] Su XL, Li Y. A self-assembled monolayer-based piezoelectric immunosensor for rapid detection of *Escherichia coli* O157: H7 [J]. *Biosens Bioelectron*, 2004, 19(6): 563–574.
- [16] Guo X, Lin CS, Chen SH, *et al.* A piezoelectric immunosensor for specific capture and enrichment of viable pathogens by quartz crystal microbalance sensor, followed by detection with antibody-functionalized gold nanoparticles [J]. *Biosens Bioelectron*, 2012, 38(1): 177–183.
- [17] Yacoub-George E, Meixner L, Scheithauer W, *et al.* Chemiluminescence multichannel immunosensor for biodetection [J]. *Anal Chim Acta*, 2002, 457(1): 3–12.
- [18] Muhammad-Tahir Z, Alocilja EC. Fabrication of a disposable biosensor for *Escherichia coli* O157: H7 detection [J]. *Sens J Ieee*, 2003, 3(4): 345–351.
- [19] Abdel-Hamid I, Ivnitiski D, Atanasov P, *et al.* Flow-through immunofiltration assay system for rapid detection of *E coli* O157: H7 [J]. *Biosens Bioelectron*, 1999, 14(3): 309–316.
- [20] 马静, 张伟尉, 李闻, 等. 基于纳米金固定大肠杆菌 O157, H7 酶免疫传感器的研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2007, 17(12): 2156–2158.
- Ma J, Zhang WW, Li W, *et al.* Enzyme immunosensor for *E. coli* O157:H7 based on nano Au associated immobilization [J]. *Chinse J Health Laboratory Technol*, 2007, 17(12): 2156–2158.
- [21] Akanda MR, Tamilavan V, Park S, *et al.* Hydroquinone diphosphate as a phosphatase substrate in enzymatic amplification combined with electrochemical-chemical-chemical redox cycling for the detection of *E. coli* O157:H7 [J]. *Anal Chem*, 2013, 85(3): 1631–1636.
- [22] Dou W, Tang W, Zhao G. A disposable electrochemical immunosensor arrays using 4-channel screen-printed carbon electrode for simultaneous detection of *Escherichia coli* O157:H7 and *Enterobacter sakazakii* [J]. *Electrochim Acta*, 2013, 97: 79–85.
- [23] Li Y, Fang L, Cheng P, *et al.* An electrochemical immunosensor for sensitive detection of *Escherichia coli* O157:H7 using C60 based biocompatible platform and enzyme functionalized Pt nanochains tracing tag [J]. *Biosens Bioelectron*, 2013, 49: 485–491.
- [24] Li B, Yu Q, Duan Y. Fluorescent labels in biosensors for pathogen detection [J]. *Crit Rev Biotechnol*, 2013 (0): 1–12.
- [25] Burris KP, Stewart CN. Fluorescent nanoparticles: sensing pathogens and toxins in foods and crops [J]. *Trends Food Sci Tech*, 2012, 28(2): 143–152.
- [26] Czajka J, Batt C. A solid phase fluorescent capillary immunoassay for the detection of *Escherichia coli* O157: H7 in ground beef and apple cider [J]. *J Appl Microbiol*, 1996, 81(6): 601–607.
- [27] Ho JA, Hsu HW, Huang MR. Liposome-based microcapillary immunosensor for detection of *Escherichia coli* O157: H7 [J]. *Anal Biochem*, 2004, 330(2): 342–349.
- [28] Geng T, Uknalis J, Tu SI, *et al.* Fiber-optic biosensor employing Alexa-Fluor conjugated antibody for detection of *Escherichia coli* O157: H7 from ground beef in four hours [J]. *Sens*, 2006, 6(8): 796–807.
- [29] Ohk SH, Bhunia AK. Multiplex fiber optic biosensor for detection of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* from ready-to-eat meat samples [J]. *Food Microbiol*, 2013, 33(2): 166–171.
- [30] Miyajima K, Koshida T, Arakawa T, *et al.* Fiber-optic fluoroimmunoassay system with a flow-through cell for rapid on-site determination of *escherichia coli* o157: h7 by monitoring fluorescence dynamics [J]. *Biosens*, 2013, 3(1): 120–131.
- [31] Huang CJ, Dostalek J, Sessitsch A, *et al.* Long-range surface plasmon-enhanced fluorescence spectroscopy biosensor for ultrasensitive detection of *E. coli* O157:H7 [J]. *Anal Chem*, 2011, 83(3): 674–677.
- [32] Muhammad-Tahir Z, Alocilja EC. A conductometric biosensor for biosecurity [J]. *Biosens Bioelectron*, 2003, 18(5): 813–819.
- [33] Muhammad-Tahir Z, Alocilja E. A disposable biosensor for pathogen detection in fresh produce samples [J]. *Biosyst Eng*, 2004, 88(2): 145–151.
- [34] Luo Y, Nartker S, Miller H, *et al.* Surface functionalization of electrospun nanofibers for detecting *E. coli* O157: H7 and BVDV cells in a direct-charge transfer biosensor [J]. *Biosens Bioelectron*, 2010, 26(4): 1612–1617.
- [35] Yu H, Bruno JG. Immunomagnetic-electrochemiluminescent detection of *Escherichia coli* O157 and *Salmonella typhimurium* in foods and environmental water samples [J]. *Appl Environ Microb*, 1996, 62(2): 587–592.
- [36] Leach KM, Stroot JM, Lim DV. Same-day detection of *escherichia coli* o157:h7 from spinach by using

- electrochemiluminescent and cytometric bead array biosensors [J]. *Appl Environ Microb*, 2010, 76(24): 8044–8052.
- Magana S, Schlemmer SM, Leskinen SD, *et al.* Automated dead-end ultrafiltration for concentration and recovery of total coliform bacteria and laboratory-spiked *Escherichia coli* O157:H7 from 50-liter produce washes to enhance detection by an electrochemiluminescence immunoassay [J]. *J Food Protect*, 2013, 76(7): 1152–1160.
- [37] Liao WC, Ho JA. Attomole DNA electrochemical sensor for the detection of *Escherichia coli* O157 [J]. *Anal Chem*, 2009, 81(7): 2470–2476.
- [38] Mao X, Yang L, Su XL, *et al.* A nanoparticle amplification based quartz crystal microbalance DNA sensor for detection of *Escherichia coli* O157:H7 [J]. *Biosens Bioelectron*, 2006, 21(7): 1178–1185.
- [39] Cho EJ, Lee JW, Ellington AD. Applications of aptamers as sensors [J]. *Ann Rev Anal Chem*, 2009, 2: 241–264.
- [40] Gopinath SCB. Methods developed for SELEX [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2007, 387(1): 171–182.
- [41] Lee YJ, Han SR, Maeng JS, *et al.* In vitro selection of *Escherichia coli* O157:H7-specific RNA aptamer [J]. *Biochem Bioph Res Co*, 2012, 417(1): 414–420.
- [42] Maeng JS, Kim N, Kim CT, *et al.* Rapid detection of food pathogens using RNA aptamers-immobilized slide [J]. *J Nanosci Nanotechno*, 2012, 12(7): 5138–5142.
- [43] 吕敬章, 刘慧玲, 黄季华, 等. 基于噬菌体特异性的新型荧光酶联方法检测食品中大肠埃希菌 O157:H7[J]. *中国食品卫生杂志*, 2012, 24(3): 222–225.
- Lv JZ, Liu HL, Huang LH, *et al.* A novel phage-derived ligand in enzyme-linked fluorescent assay for the detection of *Escherichia coli* O157:H7 in food [J]. *Chin J Food Hyg*, 2012, 24(3): 222–225.
- [44] Deisingh A, Thompson M. Strategies for the detection of *Escherichia coli* O157:H7 in foods [J]. *J Appl Microbiol*, 2004, 96(3): 419–429.
- [45] Tokarskyy O, Marshall DL. Immunosensors for rapid detection of *Escherichia coli* O157:H7-Perspectives for use in the meat processing industry [J]. *Food Microbiol*, 2008, 25(1): 1–12.

(责任编辑:赵静)

作者简介



刘慧玲, 硕士, 主管技师, 主要研究方向为食品卫生, 食品微生物检测。
E-mail: hlliu2007@163.com



张恒, 博士生, 工程师, 主要研究方向为食品安全快速筛查技术、纳米技术。
E-mail: yzhangheng@163.com