

食源性致病微生物的快速检测方法及其研究现状

魏子昊, 李汴生

(华南理工大学轻工与食品学院, 510640)

摘要: 随着人们生活水平的提升, 人们对食品的安全要求越来越高, 食源性致病微生物仍是引发食品安全事故的主要因素。食源性致病微生物的检测一直比较耗时的过程, 致病微生物的快速检测也引起越来越多科研人员的关注。论文综述了近年来快速发展的食源性致病微生物的快速检测方法, 包括免疫学分析法、PCR、核酸探针检测技术、阻抗法、基因芯片、生物传感器、蛋白质芯片和纳米金技术等, 这些方法的应用将为食品安全提供有力的保障, 同时促进我国食品工业的健康发展。

关键词: 食源性致病微生物; 食品安全; 快速检测

文章编号: 1673-9078(2013)2-438-442

Reviews of Rapid Detection Methods for Foodborne Pathogenic Microorganisms

WEI Zi-hao, LI Bian-sheng

(College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: With the improvement of people's living condition, demands for hygienic food are increasing. Foodborne pathogen is the main factor leading to food safety incidents. Since detection of foodborne pathogen is usually time-consuming, rapid detection of foodborne pathogen has attracted more and more attention. This paper reviewed the development of immunological analysis, PCR, nucleic acid probe detection technique, electrical impedance, gene chips, biosensors, protein chips and nanogold detection method in rapid detection of foodborne pathogen. Application of these methods can provide strong guarantee for food safety and promote the food industry in China.

Key words: foodborne pathogen; food safety; rapid detection

无论在发达国家还是在发展中国家, 食源性疾病都是危害公众健康的重要因素。其中, 由微生物引起的食源性疾病是影响食品安全的首要因素。在人的食物链中, 沙门氏菌、空肠弯曲菌、单增李斯特菌都是重要的食源性致病菌^[1]。如美国 2011 年下半年爆发了一起单增李斯特菌引起的食源性疾病暴发事件, 从 2011 年 7 月 31 日出现首例报告病例至 10 月 6 日共报告病例 109 例, 这是 10 多年来美国最严重的一起食源性疾病暴发事件, 此次暴发涉及到美国 24 个州。我国同样面临着这种现状, 这严重影响到了食品工业的发展和消费者对食品行业的信心。开发食品中微生物的快速检测技术, 已成为业内的共识。

对于微生物检测, 在准确的前提下, 与传统检测方法相比, 可以大幅度缩短检测时间, 即可视为快速检测方法。快速检测虽然不能作为最后的确证方法, 但是实际情况监管分散、样本分散以及样本量不均, 使用快速检测方法对样本进行初步筛选后再将可疑样

本进行仪器确证, 可以大大提高检测效率。由于食品快速检测技术具有检测快速、省力等优点, 受到了食品企业和监管检测部门的欢迎。本文就国内外食品致病微生物快速检测方法及其研究现状进行综述。

1 免疫学分析方法

免疫学分析方法是利用抗原抗体特异性结合反应检测各种物质(药物、激素、蛋白质、微生物等)的分析方法, 也是食品检验技术中的一个重要组成部分。其中酶联免疫吸附测定法的应用较为普遍。

酶联免疫吸附测定(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA)是在酶联免疫技术的基础上发展起来的免疫测定技术。它的工作原理是将抗原或抗体吸附在固相载体表面, 加入酶标抗体或抗原, 使抗原抗体反应在固相载体表面进行, 形成酶标记的免疫复合物, 经洗涤后, 游离的酶标抗体或抗原被冲洗掉, 酶标记的免疫复合物不会被冲洗掉, 加入酶的底物显色后, 便可进行定性或定量测定^[2]。由于酶的催化频率很高, 故可极大地放大反应效果, 从而使测定方法达到很高的敏感度。由于 ELISA 的技术条件要

收稿日期: 2012-07-30

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)重点项目(2007AA100405)

通信作者: 李汴生(1962-), 男, 教授, 研究方向为食品加工与保藏

求低,携带方便,常以试剂盒的形式出现且易商品化,它已成为一种应用最为广泛和发展最为成熟的生物检测与分析技术^[3]。

伤寒沙门氏菌是影响人们健康的一种致病菌。Jain^[4]等采用以下步骤处理黑色的聚碳酸酯膜,先依次在浓硝酸和水中清洗,后浸没在30%的氢硼化钠溶液中2 h,再用1X-PBS洗去氢硼化钠。最终制成修饰后的聚碳酸酯膜(mPC),再将伤寒沙门氏菌抗体吸附在薄膜上,将此作为ELISA的载体。同传统的用聚苯乙烯作为ELISA载体的方法相比,改进后的免疫实验可以灵敏地测出伤寒沙门氏菌,检测限可以达到 10^3 cells/mL,远远低于伤寒沙门氏菌的感染剂量(10^5 cells/mL),并且不需要样品预富集时间,能够在4.5 h之内完成。

2 PCR技术

聚合酶链反应(Polymerase Chain Reaction)简称为PCR技术,PCR反应极其迅速,可在短短几小时内,将极少量的基因组DNA或RNA样品中的特定基因片段扩增上百万倍。目前,该技术已成功应用于食品中多种致病菌的检测当中。

王文娟^[5]等选用目标菌高度保守的序列,根据大肠杆菌O157:H7的溶血素hlyAB基因、志贺氏菌的侵袭质粒抗原H基因ipaH和致病性蜡样芽孢杆菌的溶血素hblA基因设计PCR引物,特异地扩增出目的基因,从而实现了对3种致病微生物的快速检测。根据此原理研制的快速检测试剂盒可在5 h内(包括样品前处理时间)检出食品或其原料中的大肠杆菌O157:H7、志贺氏菌和致病性蜡样芽孢杆菌,具有特异、快速、灵敏的特点。

美国密苏里大学在对实时PCR技术改进的基础上发明了一种灵敏度更高的更为迅速的沙门氏菌检测方法,仅5~12 h就可完成测试。研究人员用单叠氮溴化乙锭染料结合PCR技术对试样进行了处理,单叠氮溴化乙锭进入死的沙门氏菌体内后与DNA分子进行结合,使得沙门氏菌细胞在染色后不能被溶解,同时染料不能穿透活细胞,这使得改进后的PCR技术容易区分活的和死的细胞,避免假阳性结果的出现^[6]。

3 核酸探针检测技术

核酸探针是指带有检测标记的已知核苷酸片段,能与互补核苷酸序列退火杂交,并可以被特殊的方法所探知。该项技术不仅具有特异性、灵敏度高的特点,而且兼备组织化学染色的可见性和定位性,从而特异地显示细胞的DNA或者RNA。

Hong等^[7]将尼龙薄膜用作支撑阵列。从14种引起食源性疾病的细菌和两种不相关的细菌提取含23S rRNA的突变区域,并将其选作辨别的目标。用一对通用的底料为23SrRNA基因的PCR扩增做准备,21种特异性探针被合成并且被安到尼龙薄膜上,再向14种病原菌的23SrRNA扩增产物杂交入寡核苷酸探针阵列,杂交结果用地高辛酶联显色反应分析。结果显示,九种食源性病原菌(大肠杆菌,空肠弯曲菌,痢疾杆菌,霍乱弧菌,副溶血性弧菌,变形杆菌,蜡样芽孢杆菌,单核细胞增多性李斯特菌和肉毒杆菌)有较高的敏感性和特异性,而沙门氏菌和小肠结肠炎耶尔森氏菌与大肠杆菌有交叉反应,但这并不影响检测。

近来寡核苷酸探针阵列技术已经被用于肠道细菌的检测当中,敏感性和特异性是衡量检测方法合适与否的重要指标,寡核苷酸探针技术有快速和高可靠性的优点,通过与PCR联用,该方法检测精度可以达到10 CFU/mL。同时地高辛酶联显色的方法可以使得结果被肉眼观测,因而普通的实验室都能实现这种既快速又准确的方法。

薛力刚等^[8]根据GeneBank公布的出血性大肠杆菌O157:H7血清型(Accession number AE005174)23srRNA的互补序列设计探针5'-gCagTCACCCCA(AE)TAAAAGAggCT-3'。然后利用核酸探针方法检测出血性大肠杆菌O157:H7,大大缩短了检测周期,而且特异性和敏感性较高。为细菌的鉴定和诊断提供了一种新方法。

此外薛力刚等^[9]根据GeneBank公布的金葡萄菌部分16S rRNA(NM:D83353)序列设计探针:5'-gAAGCAAgCT(AE)TCTCgTCCg-3',合成探针时引入一个烷胺基作手臂。经活化后接上吖啶酯,制成发光探针。整个鉴定过程无需物理分离,大大节约了时间,仅需40 min左右。通过对核酸探针方法和国标法同时对食品样品检测,结果表明两者检测结果一致。

4 阻抗法

阻抗法(impedance microbiology chip-based)是通过测量微生物代谢引起的培养基电特性变化来测定样品中微生物含量的一种快速检测方法。在培养过程中,微生物的新陈代谢作用可使培养基中电惰性的底物,如碳水化合物、蛋白质、脂肪等营养物质代谢为电活性的小分子产物,如氨基酸、乳酸盐、醋酸盐等。随着微生物的生长和繁殖。培养基中的电惰性分子逐渐被电活性物质取代,从而使培养基的导电性增加,电阻抗降低^[10]。

在微生物阻抗法中,常用一对浸没在培养基或者

反应物溶液中的电极来测定电阻的变化。该方法分为直接法和间接法。用直接法时,一对金属电极浸没在有待测细菌的培养基中,对电阻的变化进行时刻的监测,而电阻的变化是由活细胞产生的离子代谢物的释放产生的。在用间接法时,电极装在独立的溶液(通常为 KOH 溶液)中,由细菌产生的气体(主要是 CO₂)被 KOH 溶液吸收,这通常会导致碱溶液电导的下降。现在的电阻微生物已经发展到了生物芯片阶段,同时精细加工的迅猛发展也使得芯片技术减少样品的用量,扩大电阻信号并且减少检验时间^[11]。

阻抗法相对其他方法来讲还有其他优点,它可以区分活细胞和死细胞。由于死细胞通常没有致病性,因而对于保障食品安全来说检验活细胞的个数比检验活细胞和死细胞的总数有更加实际的意义。

但是,利用阻抗法来进行细菌快速检测时还要注意些问题。胡珂文等^[12]进行阻抗谱测量在微生物快速检测的研究时,发现当用阻抗模值|Z|的下降比率随时间的变化曲线表征微生物生长过程时,频率 500 Hz~10 kHz 以外的区域不适于阻抗监测。

5 基因芯片技术

基因芯片技术是在生命科学领域迅速发展起来的一项高新转基因检测技术,是综合了分子生物学、激光、半导体、化学染料、微电子等领域的最新科学技术,是生命科学和信息科学知识综合连接运用的桥梁,是当今世界上交叉度、综合度双高的前沿学科^[13]。

基因芯片,又称 DNA 微探针阵列(Microarray)。是生物芯片的一种。基因芯片产生的基础是分子生物学、微电子技术、高分子化学合成技术、激光技术和计算机科学的发展及其有机结合^[14]。

基因芯片技术同一些技术联用时会达到更好的效果。王大勇等^[15]在用浓缩富集和基因芯片的方法检测水体中致病微生物时,通过浓缩富集后提取核酸,然后用基因芯片检测试剂盒进行检测。同常规的方法相比,该法可以使整个的检测时间(以肠炎沙门氏菌为检测对象)从至少 2 d 缩短到 8 h 内,且检出率提高了 100 倍,同时该法还可以同时检测多种致病微生物。

刘国传等^[16]提出了基于变形模板技术的基因芯片杂交样点自动识别方法,且基于遗传算法的基因芯片杂交样点自动识别具有较高的计算效率,进化 70~80 代左右即可达到较为稳定的结果。

基因芯片技术具有高通量、高灵敏度和高特异性等优点。预计基因芯片检测食源性致病微生物技术将广泛应用于出入境检验检疫、食品质量控制、突发食品安全事件检测,为食品安全提供更有力的技术保障

^[17]。

6 传感器技术

6.1 生物传感器

生物传感器(Biosensor)研究起源于 20 世纪的 60 年代,1967 年 Updike 和 Hicks 把葡萄糖氧化酶(GoD)固定化膜和氧电极组装在一起,首先制成了第一种生物传感器,到 80 年代生物传感器研究领域已基本形成^[18]。

生物传感器是利用生物活性物质(即生物元件)做敏感器件,配以适当的换能器(即信号传导器)所构成的分析检测工具。生物传感器包括酶生物传感器、微生物传感器和免疫传感器 3 种,它具有体积小、成本低、灵敏度高的优点^[19]。此外,利用生物传感器还可以从腐败或者半腐败的食物中得到快速、实时、多样化的分析结果^[20]。

Kim 等^[21]设计了 IMC (immuno-magnetic concentration) 模块来进行与实时的分析系统相连,以提高传感器对单增李斯特菌的检测能力。通过生物传感器技术可以在数小时乃至数分钟内查出食源性致病微生物,大大减少了检测时间。但是生物传感器在预处理方面受到一些限制^[22]。

6.2 免疫传感器

免疫传感器(Immunosensor)是将免疫测定技术与传感技术相结合的一类新型生物传感器。在结构上与传统的生物传感器一样,可分为生物敏感元件、换能器和信号数据处理器 3 部分。当待测物与分子识别元件特异性结合后,所产生的复合物通过信号转换器转变为可以输出的电信号、光信号,从而达到分析检测的目的^[23]。

赵广英等^[24]在一次性免疫传感器快速检测阪崎肠杆菌的研究中,采用 [BMIM]PF₆/Nafion 基质将 HRP-anti-E Sakazakii 固定于 Nafion/MWCNT 修饰的丝网印刷碳电极上,制成检测阪崎肠杆菌的免疫电极,且该免疫电极拥有较好的电化学信号、选择性、重现性、准确性和储存稳定性,可以使实验的时间大大缩短。而按照 2010 年国家标准规定的方法检测时间长达 6~7 d,可操作性差^[25]。

7 蛋白质芯片技术

蛋白质芯片又称蛋白质阵列或蛋白质微阵列,它是将大量的蛋白质、蛋白质检测试剂或检测探针以预先设计的方式固定在玻片、硅片及纤维膜等固定载体上组成密集的阵列,能够高通量地测定蛋白质的生物活性,蛋白质与大分子和小分子的相互作用,或者用

于高通量定性和定量检测蛋白质^[26]。

Choi 等^[27]研究了使用 Protein G 在蛋白质芯片技术中的应用。他们使用了 Protein G 来赋予固体表面抗体分子的定位作用,接着排列好用 MUA 修饰过的固体金表面上的 Protein G,再用微型排阵设备将结肠炎耶尔森杆菌、大肠杆菌 O157:H7、伤寒沙门氏菌、嗜肺军团菌等四种菌的单克隆抗体放在 Protein G 点上,使用这种修饰后的膜可以同时检测出四种菌。这种检测不需要较长的预处理时间,而 ELISA 等方法往往需要 16~24 h 的预处理时间,因而可以更加省时。同时使用此种方法可以使大肠杆菌 O157:H7 的最低检测限降到 10^2 CFU/mL,灵敏度大大提高。

蛋白质芯片是一项实现蛋白质高通量分析和检测的新型技术,在生命科学的各个领域具有重要的应用前景^[28]。

8 纳米金技术

Faulk 和 Taylor 等 1971 年首次将“胶体金标记”引入免疫化学创立了免疫金染色法 (Immuno-Gold Staining, IGS)。该标记物为纳米级金颗粒,具有良好的生物相容性;金颗粒表面带有负电荷,因其静电的排斥力,故在水中能保持稳定,形成稳定的胶体^[29]。

纳米金 (nanogold) 即指金的微小颗粒其直径在 1~100 nm,具有高电子密度介电特性和催化作用,能与多种生物大分子结合,且不影响其生物活性。纳米金颗粒已经被广泛应用于免疫细胞化学及生物标记等生物技术中。通过在纳米金颗粒表面标记上特定的寡核苷酸探针以及对纳米金颗粒表面特性的处理,开发出了一系列新的生物检测系统。

金标记在食品检测中起到重要作用。目前基于金标记的快速检测研究在致病微生物方面比较多,检测的种类也比较多,最早 Hasan 以免疫磁性分离技术为基础的免疫胶体金技术已成功应用于霍乱弧菌 (*Vibrio cholerae*) O1 的检测^[30]。

洪帮兴^[31]等人对以硝酸纤维膜为载体纳米金显色的寡核苷酸芯片技术进行了研究,为在分子水平快速简便地鉴别致病微生物提供了可能,甚至可以检出致病微生物的耐药性变异,该芯片技术对大肠埃希氏菌、沙门氏菌、志贺氏菌、霍乱弧菌、副溶血弧菌、变形杆菌、单核细胞增生李斯特菌、蜡样芽孢杆菌、肉毒梭菌和空肠弯曲菌等具有高灵敏度和特异性,检出水平可低至 10 CFU/mL。

Chen^[32]等在压电生物传感器上利用寡核苷酸功能化的纳米金粒子的快速检测,可以在 3 h 内测出大肠杆菌 O157:H7 并使得检测限下降。

表 1 对几种方法进行归纳总结。

此外,还有很多快速检测食品致病微生物的方法,如喻勇新^[33]等采用金属氧化物气敏传感器检测了蜡样芽孢杆菌、单增李斯特菌、缓慢葡萄球菌三种细菌在 TSB 培养液中的挥发性代谢产物,可以鉴别出蜡样芽孢杆菌、单增李斯特菌、缓慢葡萄球菌。

表 1 致病微生物快速检测方法比较

Table 1 The comparison of different methods for foodborne pathogenic microorganisms detection

检测方法	所需时间	检测情况
免疫学分析法 测沙门氏菌	4.5 h	$<10^3$ CFU/mL
PCR 快速检测试剂盒法	5 h 内	可以同时检测多种致病菌
基因芯片法检测	8 h 内	灵敏度提高 100 倍, 可以同时检测多种致病菌
核酸探针检测金葡萄 沙门氏菌检测仪	40 min 5~12 h	无需传统法的物理分离 可区分活细胞和死细胞

Zhang 等^[34]利用基于 fimY 的环介导等温扩增法来检测食品中的沙门氏菌,总检测时间不到 5 h。而 Xu 等^[35]利用环介导等温扩增法快速检测多种金黄色葡萄球菌,总的检测时间大约 70 min。

德国 2011 年 5 月暴发了大肠杆菌疫情,对德国公众的健康造成了极大威胁,并且疫情在向欧洲其他地方蔓延^[36]。我国华大基因与军事科学医学院微生物流行病研究所的科研人员积极参与相关研究^[37]。他们对肠出血性大肠杆菌 (EHEC) 的诊断试剂盒进行研发,该法在收到样品后 2~3 h 内得到诊断结果,可以为疫情监控争取很多时间。

此外还有人利用电化学聚合酶链反应法来快速检测副溶血性弧菌,可以在 4 h 内完成实验^[38]。Pöhlmann 等^[39]等发现电化学生物芯片发可以区分革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌,该检测方法具有特异性和灵敏性强,检测快速的优点。

9 结论

9.1 技术对检测特异性要求越来越高,在测一种微生物的时候要尽量少受其他生物的影响,从而得到更准确的结果。

9.2 对微生物检测灵敏度的要求越来越高。随着人们对食品安全问题的重视和相关标准的完善,快速检测方法的灵敏度越来越高势在必行。

9.3 快速检测仪器微型化、智能化。微型化的设备可以节约空间,方便携带。而随着食品流通速度的加快,智能化的仪器将会体现出准确、方便的优点。

9.4 我国最近进行了 GB4789 食品微生物系列检验方

法的修订,对某些菌(如金黄色葡萄球菌)的检验要求已经由原来的不得检出变为了允许有一定的限量。

这也对食源性致病微生物快速检测技术提出了更高的要求,在满足定性要求的同时也要保证定量的需要。

9.5 尽管食品微生物快速检测技术的开发过程需投较多资金和较长时间,但是其简单、快速的优点使得该类技术在食品卫生检疫中有着广泛的应用价值和发展前景。

参考文献

- [1] Xu Y G, Cui L C, Tian C Y, et al. A multiplex polymerase chain reaction coupled with high-performance liquid chromatography assay for simultaneous detection of six foodborne pathogens [J]. *Food Control*, 2012, 25(2): 778-783
- [2] 赵杰文,孙永海.现代食品检测技术[M].北京:中国轻工业出版社,2008
- [3] 张也,刘以祥.酶联免疫技术与食品安全快速检测[J].食品科学,2008,24(8):200-204
- [4] Jain S, Chattopadhyay S, Jackeray R, et al. Highly sensitive detection of *Salmonella typhi* using surface aminated polycarbonate membrane enhanced-ELISA [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2012, 31(1): 37-43
- [5] 王文娟,赵宏坤.大肠埃希 O157:H7 等致病菌多重 PCR 法快速检测试剂盒的研制[J].中国食品学报, 2011,11(3):144-151
- [6] Wang L X, Mustapha A. EMA-Real-Time PCR as a reliable method for detection of viable *Salmonella* in chicken and eggs [J]. *Journal of Food Science*. 2010, 75(3): 134-139
- [7] Hong B X, Jiang L F, Hu Y S, et al. Application of oligonucleotide array technology for the rapid detection of pathogenic bacteria of foodborne infections [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2004, 58(3): 403-411
- [8] 薛力刚,王全凯,刘金华,等.大肠杆菌 O157:H7 核酸探针检测方法的建立[J].生物技术,2009,19(6):36-38
- [9] 薛力刚,刘金,王全凯等.第四届全国免疫诊断暨疫苗学术研讨会论文集[C].贵阳:中国生物制品学杂志社,2010
- [10] 唐佳妮,吕元,张爱萍等.阻抗法的研究进展及其在食品微生物检测中的应用[J].中华检验医学杂志,2010,10(3):186-192
- [11] Yang L J, Bashir R. Electrical/electrochemical impedance for rapid detection of foodborne pathogenic bacteria [J]. *Biotechnology Advances*, 2008, 26(2): 135-150.
- [12] 胡珂文,盖铃,叶尊忠等.阻抗谱测量在微生物快速检测研究中的应用[J].中国食品学报,2009,9(3):162-167
- [13] 李琳,石磊.食品安全快速检测技术的研究进展[J].中国科技成果,2008,(22):14-19
- [14] Wang J. From DNA biosensors to gene chips [J]. *Nucleic Acids Research*. 2000, 28(16): 3011-3016
- [15] 王大勇,肖进文,方振东等.浓缩富集+基因芯片快速检测水体中致病菌[J].后勤工程学院学报.2010,26(4):65-70
- [16] 刘国传,陆琳,汪琳.食源性微生物检测基因芯片图象自动识别方法的初步研究.仪器仪表学报.2009,30(3):641-646
- [17] 杨喻晓,张堞文,丁美会等.基因芯片技术在食品安全检测中的应用[J].粮油食品科技,2009,19(1):68-70
- [18] 张艳玲,黄俊生.生物传感器检测主要病原微生物研究进展[J].中国农学通报,2008,24(9):59-62
- [19] 熊强,史纯珍,刘钊.食品微生物快速检测技术的研究进展[J].食品与机械,2009,25(5):133-136
- [20] Arora P, Sindhu A, Dilbaghi N, et al. Biosensors as innovative tools for the detection of foodborne pathogens[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2011, 28(1): 1-12
- [21] Kim H-S, Cho I-H, Seo S-M, et al. *In situ* immuno-magnetic concentration-based biosensor systems for the rapid detection of *Listeria monocytogenes*. *Materials Science and Engineering: C*. 2012, 32(2): 160-166
- [22] Velusamy V, Arshak K, Korostynska O, et al. An overview of foodborne pathogen detection: In the perspective of biosensors [J]. *Biotechnology Advances*, 2010, 28(2): 232-254
- [23] 李业梅,代月.生物传感器的应用和发展趋势[J].邵阳师范高等专科学校学报,2004,24(3):42-45
- [24] 赵广英,张晓,窦文超等.一次性免疫传感器快速检测阪崎肠杆菌的研究[J].中国食品学报,2011,24(7):959-965
- [25] 中华人民共和国卫生部.GB/T4789.40-2010 食品卫生微生物学检验.阪崎肠杆菌检验[S].北京:中国标准出版社,2010
- [26] 梁建功,何治柯.蛋白质芯片及其分析应用新进展[J].分析化学.2004,32(2):244-247
- [27] Choi J-W, Kim Y-K, Oh B-K. The development of protein chip using protein G for the simultaneous detection of various pathogens [J]. *Ultramicroscopy*, 2008, 108(10): 1396-1400.
- [28] 沙莎,郑晓冬.蛋白质芯片构建技术进展[J].生物技术进展,2011,1(5):312-317
- [29] 杨刚刚,王华,李小欣,等.基于胶体金检测方法的蛋白芯片体系的建立[J].医学新知杂志,2009,19(2):84-90
- [30] Hasan J A, Huq A, Tamplin M L, et al. A novel kit for rapid detection of *Vibrio cholerae* O1 [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 1994, 32(1): 249-252
- [31] 洪帮兴,江丽,胡玉山,等.应用寡核苷酸芯片技术检测食源性感染常见致病菌[J].中华检验医学杂志, 2005, 28(3): 169-172

- [32] Chen S-H, Wu V C-H., Chuang Y-C, et al. Using oligonucleotide-functionalized Au nanoparticles to rapidly detect foodborne pathogens on a piezoelectric biosensor [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2008, 73(1): 7-17
- [33] 喻勇新, 刘源, 孙晓红等. 基于电子鼻区分三种致病菌的研究 [J]. *传感技术学报*, 2010, 23(1): 10-13
- [34] Zhang Y Q, Shan X X, Shi L. Development of a fimY-based loop-mediated isothermal amplification assay for detection of *Salmonella* in food [J]. *Food Research International*, 2012, 45(2): 1011-1015
- [35] Xu Z B, Li L, Chu J. Development and application of loop-mediated isothermal amplification assays on rapid detection of various types of *Staphylococci* strains [J]. *Food Research International*. 2011, 47(2): 2-8
- [36] Sprenger M. ECDC and the *Escherichia coli* outbreak in Germany [J]. *The Lancet*, 2011, 377(9784): 2180
- [37] Rohde H, Qin J, Cui Y, et al. Open-source genomic analysis of Shiga-toxin-producing *E. coli* O104:H4 [J]. *The New England Journal of Medicine*, 2011, 365(8): 718-724
- [38] Wei J, Zhou X M, Xing D, et al. Rapid and sensitive detection of *Vibrio parahaemolyticus* in sea foods by electrochemiluminescence polymerase chain reaction method [J]. *Food Chemistry*, 2011, 123(3): 852-858
- [39] Pöhlmann C, Wang Y R, Humenik M, et al. Rapid, specific and sensitive electrochemical detection of foodborne bacteria [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2009, 24(9): 2766-2771
- [40]