

食源性致病菌大肠杆菌 O157:H7 检测方法的 研究进展

樊晓洁*

(西安外事学院医学院护理系, 西安 710000)

摘要: 食源性致病菌是引起食物中毒的重要病原微生物, 严重威胁人类健康, 对食源性致病菌进行快速、准确的鉴定检测, 是预防和控制致病菌的有效方法, 而大肠杆菌 O157:H7 因其感染剂量低, 致病性强, 引起公众的广泛关注。本文综述了目前用于检测食源性致病菌大肠杆菌 O157:H7 的主要方法, 包括细菌分离法, 免疫学检测方法, 分子生物学检测方法, 并简单介绍了这些方法的优缺点, 以期检测大肠杆菌 O157:H7 时提供参考。

关键词: 食源性致病菌; 大肠杆菌 O157:H7; 检测方法

Research progress on detection methods of foodborne pathogenic *Escherichia coli* O157:H7

FAN Xiao-Jie*

(Department of Nursing, School of Medicine, Xi'an Foreign Affairs College, Xi'an 710000, China)

ABSTRACT: Food-borne pathogens are important pathogenic microorganisms that cause food poisoning, which seriously threaten human health. Fast and accurate identification and detection of food-borne pathogens is an effective method for preventing and controlling pathogens. *Escherichia coli* O157:H7 has attracted wide public attention due to its low infection dose and strong pathogenicity. This paper reviewed the main methods currently used to detect foodborne pathogens *E. coli* O157:H7, including bacterial isolation, immunological detection methods and molecular biological detection methods. It also briefly introduced the advantages and disadvantages of these methods in order to provide reference for the detection of *E. coli* O157:H7.

KEY WORDS: foodborne pathogen; *Escherichia coli* O157:H7; detection method

1 引言

食源性疾病是我国较为严重的公共卫生问题之一, 微生物病原是其主要诱因, 而细菌又占微生物病原的主要部分。食源性致病菌是一种以肉制品、蛋制品、水产品、果蔬及乳制品等生鲜食品为传播媒介, 随食物摄入人体或动物消化道后释放致病因子引起中毒的致病性细菌^[1-5]。在

食品中主要的微生物包括沙门氏菌、单增李斯特菌、大肠杆菌 O157:H7 等。其中大肠杆菌 O157:H7 是肠出血性大肠杆菌(enterohemorrhage *Escherichia coli*, EHEC)中最典型的一种, 自 1982 年美国首次报道由大肠杆菌 O157:H7 引起的感染性腹泻以来, 其引发的食物中毒, 在世界各地都有不同规模的暴发流行, 对人类的安全构成了严重的威胁。EHEC O157:H7 为革兰氏染色阴性的、有动力、两端钝圆

*通讯作者: 樊晓洁, 硕士, 讲师, 主要研究方向为基础医学。E-mail: z21170@163.com

*Corresponding author: FAN Xiao-Jie, Master, Lecturer, School of Medicine, Xi'an Foreign Affairs College, Xi'an, 710000, China. E-mail: z21170@163.com

的短杆菌。该类菌没有芽孢、有周鞭毛,大多数菌株有荚膜,其对热敏感,最适生长温度为 37 °C, 30~42 °C 时在肉汤中也生长良好,55 °C 经 60 min 仍有部分存活,在 75 °C 水中 1 min 可被杀死。但 O157:H7 对低温有较高的耐受力,且具有耐酸性,在 pH 4.0 的环境下仍然能够存活,50~100 个细菌即可引发感染,甚至低至 5 个细菌也可引发感染^[6-8]。因其感染剂量极低,致病性极强,感染 O157:H7 的致死率为 2%~10%^[9,10],感染大肠杆菌 O157:H7 主要引起婴幼儿腹泻和出血性结肠炎(haemorrhagic colitis, HC),并发溶血性尿毒综合征(haemolytic uraemic syndrome, HUS)、血栓性血小板减少性紫癜(thrombocytopenic purpura, TTP),严重时会导致死亡等,因此,其高毒性日益被公众所关注^[11-14],快速、准确的检测对于大肠杆菌 O157:H7 导致的病情进行早期筛查,诊断,治疗,监测和有效的控制至关重要^[15,16]。本文综述了目前常见的检测大肠杆菌 O157:H7 的方法及其优缺点,以期对相关工作者对该菌的快速检测提供参考依据。

2 细菌分离法

细菌分离法是一种传统的分离鉴定大肠杆菌 O157:H7 的方法,需要通过液体培养基培养提前增菌 10~20 h,后将其定量涂布到培养皿上,37 °C 培养 18~24 h。利用大肠杆菌 O157:H7 菌株一般不发酵山梨醇的特性,可以在山梨醇麦康凯琼脂培养基上进行初步分离,培养的大肠杆菌 O157:H7 菌落呈无色半透明。王静等^[17]通过优化实验得到一种选择性分离鉴别培养基,CTV-MUG-RSMAC 琼脂,发现该培养基不仅可以有效抑制杂菌的生长,还能鉴别大肠杆菌 O157:H7 的 3 种主要生化特征,方法可靠且灵敏度高。该方法耗时较长,达到 3~4 d,但因其需要设备简单、正确率高、操作简单的优点被广泛采用。有报道称研究了一种大肠杆菌 O157:H7 快速增菌培养基,8 h 培养时间内该快速增菌培养基对于冷损伤和热损伤的大肠杆菌 O157:H7 菌株具有良好的修复和增殖效果,因此该培养基对大肠杆菌 O157:H7 菌株具有良好的选择特异性,能够短时间内(8 h 内)有效富集培养大肠杆菌 O157:H7 菌株,是一种能够实现大肠杆菌 O157:H7 菌株快速高效、特异增殖的培养基,将其结合检测金标卡,能够实现 8 h 内快速检测,结果可信可靠^[16]。

3 免疫学检测方法

3.1 免疫磁珠法

免疫磁珠(immunomagnetic beads, IMB)是对具有超顺磁性的微粒表面进行化学修饰,使之与特异性抗体牢固结合,成为能捕获特异性抗原的磁珠。将免疫磁珠与待测溶液混合,若有相应抗原存在,免疫磁珠就会将其捕获,形

成抗原-免疫磁珠复合物,并在适当的磁场条件下分离出来,达到富集目标抗原的目的^[18,19]。IMB 技术选择性好、灵敏度高、特异性强,能将目标菌从复杂的食品基质中快速分离出来,但是小磁珠需要一次性的分离柱,成本较高,大磁珠可能对细胞造成机械压力,影响其生物学活性而不利于分离后培养^[19]。曲晓莹等^[20]研究了免疫磁珠-环介导恒温扩增技术,对牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)、酪蛋白(casein)、海藻糖(trehalose)、聚乙烯吡咯烷酮(polyvinyl pyrrolidone, PVP)、抗坏血酸(vitamin C)和防腐剂 ProClin 300 进行检测,发现免疫磁珠具有良好的特异性和广谱性。黄震等^[21]合成了一种核壳型的纳米磁珠,通过优化免疫纳米磁珠的用量和孵育时间,构建了高效的免疫磁分离方法。该方法能够在 35 min 内完成牛奶中大肠杆菌 O157:H7 的高效富集。侯楠楠等^[22]制备了一种表面包被大肠杆菌 O157:H7 单克隆抗体的纳米级免疫磁颗粒,用于样品中菌体的富集和分离;制备一种表面分别标记有大肠杆菌 O157:H7 多克隆抗体和生物素化核酸探针的胶体金颗粒;利用生物素-亲和素-酶系统信号放大作用,达到对目标菌的快速、灵敏检测。结果该方法可在 1 h 内完成菌体的分离和检测,检测限为 10 CFU/mL。

3.2 酶联免疫法

酶联免疫法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)是一种固相和液相结合的非放射性免疫标记分析技术,因其稳定性好和特异性强等优点受到研究者的青睐。该方法先将抗体固定在固相载体上,以具有生物活性的酶为信号“发生器”,有机的将抗原-抗体免疫应答和酶的高效催化特性结合在一起,实现对目标分子简单、快速且高效的检测^[23]。该方法特异性好、灵敏度高、检测时间短,但是缺点是其酶的纯度和反应过程易受环境因素影响,使其稳定性和重复性较差,因而易于造成漏检和假阳性。段妙林^[24]建立了酶联免疫法检测大肠杆菌 O57:H7 的方法,灵敏度达到 10 ng/mL。遇晓杰等^[25]用酶联免疫法快速检测 TecraTM 大肠杆菌 O157,并于经典培养方法进行比较,结果该方法准确度为 100%,特异度为 100%,检出限为 1 CFU/25 g。

3.3 蛋白芯片法

液相蛋白芯片法主要是通过单抗和多抗的夹心 ELISA 或者竞争 ELISA 方法以实现目标分子的检测。实验过程包括单抗偶联微球、获靶分子、加入多抗、以及荧光标记的二抗等多个步骤,此外,方法中还涉及了多次重悬、洗涤等过程。与常规液相蛋白芯片不同,该方法直接将染色后的菌体荧光作为报告分子,能够较为快速的实现大肠杆菌 O157:H7 的检测^[23],且灵敏度高、重复性好,但是其成本较高,需要一系列昂贵的仪器^[26]。方珍^[26]应用液相蛋白芯片技术检测食源性大肠杆菌 O157:H7,该方法

能检出阳性的最低浓度为 0.5 CFU/mL

3.4 胶体金免疫层析试纸法

胶体金免疫层析技术是以微孔膜(多为硝酸纤维素膜)为固相载体,在其上包被特异性抗(或抗原)作为检测线(T线),包被第二抗体(抗金标抗体的抗体)作为指控线(C线),胶体金标记物过定语玻璃纤维素膜上作为金标垫,其一端与微孔膜相接,另一端接样品垫,微孔膜的另一端连接吸水垫组成试纸条,该技术具有简单、快速、灵敏度高、特异性强、价廉、样品所需量少等优点,其灵敏度与常规的仪器分析一致,适合现场筛选,但是难以定量,目前只能用于定性分析^[27]。韩姣姣^[28]以 Pd-Pt 纳米粒子(nanoparticles, NPs)为标记物,采用双抗夹心模式,建立了一种定性和定量检测大肠杆菌 O157:H7 的免疫层析方法。发现该方法与传统的胶体金试纸条相比,灵敏度提高了 111 倍。崔希等^[29]将免疫磁珠分离和胶体金免疫层析法相结合应用于大肠杆菌 O157:H7 的现场快速检测中。结果表明 1 mL (7.6×10^3) CFU/mL 菌液经过免疫磁珠分离富集后,用胶体金免疫层析法检测可得到阳性结果。对于 10 CFU/g 大肠杆菌 O157:H7 污染的食品样本,经过 6 h 预增菌,免疫磁珠分离和胶体金试纸条检测 72 min 即可检出。李小萍等^[30]采用胶体金标记大肠杆菌 O157:ps 单克隆抗体,用另一株大肠杆菌 O157:ps 单克隆抗体和羊抗鼠 IgG,分别在 NC 膜上包被检测线和质控线。制备"双抗体夹心法"大肠杆菌 O157:H7 金标检测试剂盒,结果发现该试剂盒仅与大肠杆菌 O157:H7 反应,与其他受试肠道菌均不反应,具有较高的特异性,敏感性可达到 104 CFU/mL;对阴阳性质控品的符合率达到 100%,精密性良好。

4 分子生物学检测方法

分子生物学检测方法包括聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)、环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)、生物传感器等技术,其中荧光 PCR、LAMP 检测方法已经有商品化的产品出现。大肠杆菌 O157:H7 的全基因组已经获得,其基因组在 GenBank 中已有收藏^[31]。针对此全基因组,衍生出一系列的分子生物学方法,用于鉴定检测大肠杆菌 O157:H7。与传统生化鉴定方法相比,分子学检测方法的优点是快速、检测限低、准确度高。

4.1 聚合酶链式反应技术

聚合酶链式反应技术是主要用于检测大肠杆菌 O157:H7 的方法,通过对大肠杆菌 O157:H7 的特异性毒力基因,设计相应的引物用于扩增这一段基因,从而获得大量的待测基因确证为大肠杆菌 O157:H7。PCR 技术灵敏度高、特异性强、操作简便,被广泛用于食品中的大肠杆菌等致病菌的检测^[32]。刘鑫等^[33]建立牛乳中大肠杆菌

O157:H7 的 PCR 快速检测方法,该方法的特异性和灵敏性较好,能够检测到 0.1 ng/ μ L 的 DNA 模板,当牛乳中含有超过 100 CFU/mL 的大肠杆菌时,可利用该方法进行检测。黄丽等^[34]发现针对大肠杆菌 O157:H7 型菌株的志贺毒素 Stx I 和 II 基因的特异序列设计并合成两对引物,其中 Stx I 引物结合 PCR 技术可直接检测水牛乳中大肠杆菌 O157:H7,灵敏度高,检出限为 8.58×10^3 /mL,检测时间可控制在 24 h 内。董莲华等^[35]以大肠杆菌 O157:H7 *rfb E* 基因为靶基因,建立了可对其准确定量的微滴数字 PCR 方法,特异性验证结果表明,建立的方法特异性良好,对 13 份猪肉、牛肉和鸡肉样品的检测结果与定量 PCR 方法检出结果一致。潘素华等^[36]将叠氮溴化乙锭(ethidium azide bromide, EMA)与双重荧光 PCR 技术结合,建立 EMA 荧光 PCR 方法,能快速检测食品中活性大肠杆菌 O157:H7,可以避免死菌 DNA 造成的假阳性。

4.2 基因芯片技术

基因芯片技术主要是将多个寡聚核苷酸序列作为探针,有序的排列在硅胶板或者其他固体物质上,与待检目标物质的标记基因按照碱基互补配对原则进行杂交,接着通过荧光的激光共聚焦检测器对芯片进行扫描,最后信号输出到计算机,分析荧光信号,得到所需信息^[34]。金银芯片技术具强特异性、高灵敏度、高通量检测、简便快速、重复性好等有低钠,但是所用仪器设备价格高昂,导致成本升高^[37]。徐晓静^[38]等研制的基因芯片技术能特异、灵敏且快速的同时定性检测 O157:H7 和霍乱弧菌 O139。Ruan 等^[39]研发了检测大肠杆菌 O175:H7 的芯片,并结合使用免疫生物传感器,使得检测限降低至 6×10^3 CFU/mL。

4.3 环介导恒温扩增技术

环介导恒温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)是以目的基因的特异区设计引物,利用 Bst DNA 聚合酶在恒温下孵育完成目的基因的扩增。与仅需两条引物与目的基因的 2 个特异区匹配的 PCR 方法相比,该技术需要 4 条引物与目的基因的 6 个特异区匹配,因此该技术特异性更好^[40]。周杨等^[41]研究基于 LAMP 检测大肠杆菌 O157:H7(*Escherichia coli* O157:H7)的快速检测试剂盒,该试剂盒特异性好,灵敏度高,重复性好,储存方便,检测结果稳定、可靠,适用于对食品中大肠杆菌 O157:H7 的检测需求。刘辉等^[42]用 LAMP 法检测 6 种常见的致病菌,阴性与阳性符合率均为 100%,检出限达到 $3.0 \times 10^3 \sim 1.1 \times 10^4$ CFU/25 g,表明该技术检出限低、特异性好。

4.4 生物传感器

生物传感器也可用于检测食源性大肠杆菌 O157:H7,其是以固定的生物成分(蛋白质、酶、DNA、抗体等)或生

物体本身(细胞、微生物、组织等)作为敏感材料,与适当的化学物理换能器(如氧电极、光敏管、压电晶体等)及信号放大专职相结合构成的一种快速检测各种生物、化学物质的分析检测仪器。通过各种物理、化学换能器捕捉目标物与敏感材料之间的反应,将反应的程度转变为可测量的光信号和电信号,根据所测量信号的大小推算出被测物质的含量。生物传感器技术简单、快速、特异性强、灵敏度高,但是目前大多数生物传感器检测大肠杆菌 O157:H7 主要依赖抗体,需要进一步研究其他特异性识别分子^[43-45]。Guo 等^[46]基于 DNA 杂交链式反应和通过酶联免疫吸附测定的生物素-链霉亲和素信号放大检测大肠杆菌 O157:H7,在纯培养基中检测线为 1.08×10^2 CFU/mL。Wang 等^[47]构建了基于钙离子信号的 B 细胞生物传感器,运用 B 细胞对大肠杆菌 O157:H7 的特异性识别,进而介导 B 细胞内一系列信号通路的开启,导致胞质内钙离子浓度的升高,用胞内装载的化学钙离子指示剂 Fura-2 与钙离子结合前后的荧光比率来间接反应大肠杆菌 O157:H7 的浓度。该生物传感器可以在 10 min 内检测纯培养物和牛肉样品中大肠杆菌 O157:H7,检测线达 10^2 CFU/mL。

4.5 DNA 探针技术

DNA 探针技术是指在大肠杆菌 O157:H7 特异性的基因片段上标记荧光物质或放射性同位素用于制备可杂交的特异性 DNA 探针。最为广泛的大肠杆菌 O157:H7 的 DNA 探针是使用分子量为 3.3 kb 的 CVD419 片段,荧光修饰后,用于鉴定目标菌。DNA 探针制作方法简便、快速,在大肠杆菌 O157:H7 的检测中均有广阔的前景^[48,49]。黄丽等^[50]以大肠杆菌 O157:H7 的志贺氏毒素 Stx I 基因保守序列设计特异性引物,并进行 PCR 扩增,采用地高辛标记扩增的 DNA 片段以制备探针,对大肠杆菌 O157:H7 进行检测,结果表明大肠杆菌 O157:H7 的 Stx I 的 DNA 探针特异性较强。用该探针人工污染水牛乳进行检测,成功检出大肠杆菌 O157:H7,最低检出限为 8.58×10^2 CFU/mL,可应用于水牛乳中大肠杆菌 O157:H7 的快速检测。

5 总 结

大肠杆菌 O157:H7 的致病性与致死性都很强,目前已成为全球性的公共卫生问题,如何快速检测食源性大肠杆菌 O157:H7 已成为食品安全问题的关键。目前检测样品的前处理程序具有复杂、成本高和技术普及困难等缺陷。因此建立快速和准确的检测方法来提高检测灵敏度和准确性尤为重要。本文综述了目前用于大肠杆菌 O157:H7 检测的技术,可以发现不同检测方法有不同的优点和不足。因此,科研人员需要去探索更快速、简便、特异性好和灵敏度高的食源性致病菌检测技术,来应对突发性食品安全公共事件,从而保障食品安全及公共卫生健康。

参考文献

- [1] 陈锐. 两种新型酶联免疫分析法超灵敏检测单核增生李斯特菌和大肠杆菌 O157:H7[D]. 南昌: 南昌大学, 2017.
Chen R. Two novel enzyme-linked immunosorbent assays for the ultrasensitive detection of *Listeria monocytogenes* and *E. coli* O157:H7 [D]. Nanchang: Nanchang University, 2017.
- [2] 郭文燕, 董雅琪, 余雅琦, 等. ϵ -聚赖氨酸对大肠杆菌 O157:H7 和金黄色葡萄球菌的抗菌稳定性[J]. 中国食品学报, 2019, 19(4): 109-115.
Guo WY, Tong YQ, Yu YQ, et al. Antibacterial Stability of ϵ -Poly-L-lysine to *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2019, 19(4): 109-115.
- [3] 党苗苗, 李芳菲, 费楠, 等. 肠出血性大肠杆菌 O157:H7 的分子生物学检测及 PCR 检测[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(2): 523-527.
Dang MM, Li FF, Fei N, et al. Molecular biological detection and PCR detection of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(2): 523-527.
- [4] 闻道龙, 段晓萍. 肠出血性大肠杆菌 O157:H7 流行病学调查[J]. 中国现代医生, 2007, (8): 86-87.
Wen DL, Duan XP. Epidemiological investigation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 [J]. Mod Chin Doctor, 2007, 8: 86-87.
- [5] Steele M, Odumeru J. Irrigation water as source of foodborne pathogens on fruit and vegetables [J]. J Food Protect, 2004, 67(12): 2839-2849.
- [6] Hermos CR, Janineh M, Han LL, et al. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in children diagnosis and clinical manifestations of O157: H7 and non-O157: H7 infection [J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(3): 955-959.
- [7] Crozier L, Williamson JK. Isolation of *Escherichia coli* O157 from raw meat products [J]. Lett Appl Microbiol, 1999, 23(5): 5.
- [8] 王燕, 谢贵林, 杜琳. 大肠杆菌 O157:H7 感染流行概况[J]. 微生物学免疫学进展, 2008, (1): 51-58.
Wang Y, Xie GL, Du L. The prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 infection [J]. Prog Microbiol Immunol, 2008, (1): 51-58.
- [9] 杨悦熙. 免疫磁珠结合荧光免疫层析在检测大肠杆菌 O157:H7 的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2013.
Yang YX. Study on the detection of *E. coli* O157:H7 by immunomagnetic beads combined with fluorescence immunochromatography [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2013.
- [10] 王培育, 周梅. 肠出血性大肠杆菌 O157:H7 检测技术进展[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(19): 2570-2572.
Wang PY, Zhou M. Progress in detection technology of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 [J]. J Inter Lab Med, 2013, 34(19): 2570-2572.
- [11] Noris M, Remuzzi G. Hemolytic uremic syndrome [J]. J Am Soc Nephrol, 2005, 16(4): 1035-1050.
- [12] Bidet P, Mariani-Kurkdjian P, Grimont F, et al. Characterization of *Escherichia coli* O157: H7 isolates causing haemolytic uraemic syndrome in France [J]. J Med Microbiol, 2005, 54(1): 71-75.
- [13] 李亚茹. 对虾中大肠杆菌 O157:H7 和沙门氏菌的快速检测及耐冷胁迫机制研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2018.
Li YR. Rapid detection of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* in shrimp and cold stress resistance mechanism [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018.
- [14] 蔺露, 姚璐, 孙燕, 等. 市贩鸡肉中一株肠出血性大肠杆菌 O157:H7 的分离[J]. 中国兽医杂志, 2015, 51(12): 52-54.
Lin L, Yao L, Sun Y, et al. Isolation of a strain of enterohemorrhagic

- Escherichia coli* O157: H7 from chicken meat sold by the market [J]. *Chin Veter J*, 2015, 51(12): 52–54.
- [15] Deisingh A, Thompson M. Strategies for the detection of *Escherichia coli* O157: H7 in foods [J]. *J Appl Microbiol*, 2004, 96(3): 419–429.
- [16] 孟祥升, 辛崇兴, 邵晔, 等. 肠出血性大肠杆菌 O157: H7 检测方法综述[J]. *中国畜牧业*, 2012, 1: 29.
- Meng XS, Xin CX, Shao X, *et al.* Review of detection methods for enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 [J]. *Chin Anim Ind*, 2012, 1: 29.
- [17] 王静, 邱茂锋, 林修光. 食品中大肠杆菌 O157: H7 快速分离培养方法的研究[J]. *卫生研究*, 2002, 31(1): 44–46.
- Wang J, Qiu MF, Lin XG. Study on rapid isolation and culture of *Escherichia coli* O157:H7 in foods [J]. *Health Res*, 2002, 31(1): 44–46.
- [18] 赵璐, 苏战强, 周银萍, 等. 免疫磁珠法分离大肠杆菌 O157:H7 及毒力基因的 PCR 检测[J]. *中国兽医杂志*, 2015, 51(5): 77–79, 82, 54.
- Zhao W, Su ZQ, Zhou YP, *et al.* PCR detection of *Escherichia coli* O157:H7 and virulence genes by immunomagnetic beads method [J]. *Chin J Veter Med*, 2015, 51(5): 77–79, 82, 54.
- [19] 顾培科. 免疫磁分离结合胶体金免疫层析法快速检测大肠杆菌 O157:H7[J]. *大家健康(学术版)*, 2015, 9(2): 155–156.
- Gu PK. Rapid detection of *Escherichia coli* O157:H7 by immunomagnetic separation combined with colloidal gold immunochromatography [J]. *Health (Acad Ed)*, 2015, 9(2): 155–156.
- [20] 曲晓莹, 吴清平, 周杨. 检测大肠杆菌(*Escherichia coli*)O157:H7 免疫磁珠的制备、保存与应用[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(10): 2801–2810.
- Qu XY, Wu QP, Zhou Y. Preparation, preservation and application of *Escherichia coli* O157:H7 immunomagnetic beads [J]. *Microbiol Bullet*, 2019, 46(10): 2801–2810.
- [21] 黄震, 罗梅霞, 赖卫华. 免疫磁分离法高效富集牛奶中大肠杆菌 O157:H7[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(14): 4492–4497.
- Huang Z, Luo MX, Lai WH. Efficient enrichment of *Escherichia coli* O157:H7 in milk by immunomagnetic separation [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(14): 4492–4497.
- [22] 侯楠楠, 谌志强, 金敏, 等. 基于功能化纳米粒子的大肠杆菌 O157:H7 检测技术研究[J]. *环境与健康杂志*, 2010, 27(5): 410–412.
- Hou NN, Zhai ZQ, Jin M, *et al.* Study on detection technology of *Escherichia coli* O157:H7 based on functionalized nanoparticles [J]. *J Environ Health*, 2010, 27(5): 410–412.
- [23] 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.
- Zhang Y, Liu YX. Enzyme-linked immunosorbent assay and rapid detection of food safety [J]. *Food Sci*, 2008, 24(8): 200–204.
- [24] 段妙林. ELISA 检测 25-OH-VD₃ 和低背景免疫-HCR 方法检测大肠杆菌 O157:H7[D]. 南昌: 南昌大学, 2019.
- Duan ML. ELISA detection of 25-OH-VD₃ and low background immuno-HCR method for detection of *E. coli* O157: H7 [D]. Nanchang: Nanchang University, 2019.
- [25] 遇晓杰, 李天添, 董锐, 等. Tecra 大肠杆菌 O157 酶联免疫快速方法与经典培养方法的比较及其评价[J]. *中国初级卫生保健*, 2012, 26(12): 38–40.
- Yu XJ, Li TT, Dong R, *et al.* Comparison and application evaluation of Tecra *Escherichia coli* O157 enzyme-linked immunoassay and classical culture method [J]. *Chin Primar Health Car*, 2012, 26(12): 38–40.
- [26] 方珍. 应用液相蛋白芯片技术检测食源性大肠杆菌 O157: H7 的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2013.
- Fang Z. Study on the detection of foodborne *E. coli* O157: H7 by liquid-phase protein chip technology [D]. Changchun: Jilin University, 2013.
- [27] 符海英. 大肠杆菌 O157: H7 和乳源蛋白胶体金免疫层析试纸条的研制[D]. 西安: 陕西科技大学, 2012.
- Fu HY. Preparation of a colloidal gold immunochromatographic test strip for *E. coli* O157: H7 and milk-derived protein [D]. Xi'an: Shaanxi University of Science and Technology, 2012.
- [28] 韩姣姣. 免疫层析法快速检测氟苯尼考和大肠杆菌 O157:H7 的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2018.
- Han W. Rapid detection of florfenicol and *E. coli* O157:H7 by immunochromatography [D]. Nanchang: Nanchang University, 2018.
- [29] 崔希, 熊勇华, 山珊, 等. 免疫磁分离结合胶体金免疫层析法快速检测大肠杆菌 O157:H7[J]. *分析化学*, 2013, 41(12): 1812–1816.
- Cui X, Xiong YH, Shan S, *et al.* Rapid detection of *Escherichia coli* O157:H7 by immunomagnetic separation combined with colloidal gold immunochromatography [J]. *Chin J Anal Chem*, 2013, 41(12): 1812–1816.
- [30] 李小萍, 杜惠芬, 李克生, 等. 大肠杆菌 O157:H7 金标检测试剂盒的研制[J]. *中国免疫学杂志*, 2011, 27(S1): 1184–1187.
- Li XP, Du HF, Li KS, *et al.* Development of *Escherichia coli* O157:H7 gold standard detection kit [J]. *Chin J Immunol*, 2011, 27(S1): 1184–1187.
- [31] Perna NT, Plunkett G, Burland V, *et al.* Genome sequence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 [J]. *Nature*, 2001, 409(6819): 529–533.
- [32] Vijay SC, Yu H, Marlene E, *et al.* Evaluation of viability of *Escherichia coli* O157: H7 on chlorine and lactic acid treated spinach leaves using combined propidium monoazide staining and real-time PCR [J]. *LWT*, 2020, (1): 120–127.
- [33] 刘鑫, 姚笛, 郭瑜, 等. 牛乳中大肠杆菌 O157:H7 PCR 检测方法的建立[J]. *农产品加工*, 2016, (2): 42–44.
- Liu Xin, Yao D, Guo Y, *et al.* Establishment of PCR detection method for *Escherichia coli* O157:H7 in milk [J]. *Proc Agric Prod*, 2016, (2): 42–44.
- [34] 黄丽, 李玲, 杨攀, 等. PCR 法检测水牛乳中致病性大肠杆菌 O157:H7 的研究[J]. *中国乳品工业*, 2016, 44(4): 46–47, 51.
- Huang L, Li L, Yang P, *et al.* Study on detection of pathogenic *Escherichia coli* O157:H7 in buffalo milk by PCR [J]. *Chin Dair Ind*, 2016, 44(4): 46–47, 51.
- [35] 董莲华, 张玲, 姜君, 等. 大肠杆菌 O157: H7 微滴数字 PCR 定量方法的建立[J]. *分析化学*, 2015, 43(3): 319–324.
- Dong LH, Zhang L, Jiang J, *et al.* Establishment of digital PCR method for *Escherichia coli* O157:H7 microdroplet [J]. *Chin J Anal Chem*, 2015, 43(3): 319–324.
- [36] 潘素华, 欧阳小明, 苏伟霞, 等. EMA 和 qPCR 结合检测食品中活性肠出血性大肠杆菌 O157:H7 方法研究[J]. *现代预防医学*, 2018, 45(15): 2809–2813.
- Pan SH, Ouyang XM, Su WX, *et al.* Study on the detection of active enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in food by EMA and qPCR [J]. *Mod Prev Med*, 2018, 45(15): 2809–2813.
- [37] 崔益秋, 居兴云, 姜素兰, 等. 基因芯片技术快速诊断颅内细菌感染临

- 床应用[J]. 交通医学, 2014, 28(6): 616–617, 620.
- Cui YQ, Ju XY, Jiang SL, *et al.* Rapid diagnosis of intracranial bacterial infection using gene chip technology [J]. *Med J Commun*, 2014, 28(6): 616–617, 620.
- [38] 徐晓静, 文思远, 陈苏红, 等. 基因芯片技术鉴定出血性大肠杆菌 O157:H7 和霍乱弧菌 O139[J]. 军事医学科学院院刊, 2006, (2): 122–126, 130.
- Xu XJ, Wen SY, Chen SH, *et al.* Identification of hemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 and *Vibrio cholerae* O139 by gene chip technology [J]. *Proc Acad Milit Med Sci*, 2006, (2): 122–126, 130.
- [39] Ruan C, Yang L, Li Y. Immunobiosensor chips for detection of *Escherichia coli* O157:H7 using electrochemical impedance spectroscopy [J]. *Anal Chem*, 2002, 74(18): 4814–4820.
- [40] 彭乃才, 徐明悦, 卢可. 环介导等温扩增技术检测食源性致病菌的研究进展[J]. 肉类工业, 2014, (5): 32–37.
- Peng NC, Xu MY, Lu KK. Research progress on detection of foodborne pathogens by loop-mediated isothermal amplification technology [J]. *Meat Ind*, 2014, (5): 32–37.
- [41] 周杨, 万强, 蔡芷荷, 等. 基于环介导恒温扩增技术的大肠杆菌 O157:H7 快速检测试剂盒的评价[J]. 微生物学通报, 2017, 44(8): 1996–2004.
- Zhou Y, Wan Q, Cai YH, *et al.* Evaluation of *Escherichia coli* O157:H7 rapid detection kit based on loop-mediated constant temperature amplification technique [J]. *Microbiol Bull*, 2017, 44(8): 1996–2004.
- [42] 刘辉, 何艺梅, 王明阳, 等. 环介导等温扩增法快速检测食源性致病菌[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(16): 234–238.
- Liu H, He YM, Wang MY, *et al.* Rapid detection of foodborne pathogens by loop-mediated isothermal amplification method [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(16): 234–238.
- [43] 刘慧玲, 吕敬章, 朱智壕, 等. 生物传感器检测食源性大肠杆菌 O157:H7 研究新进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2013, 4(6): 1828–1834.
- Liu HL, Lv JZ, Zhu ZH, *et al.* Research progress in biosensor detection of foodborne *Escherichia coli* O157:H7 [J]. *J Food Saf Qual*, 2013, 4(6): 1828–1834.
- [44] 徐金雷, 陈熔熔, 张晏, 等. 免疫传感器在大肠杆菌 O157:H7 检测中的研究进展[J]. 科技视界, 2015, (25): 22–23.
- Xu JL, Chen RR, Zhang Y, *et al.* Research progress of immunosensor in the detection of *Escherichia coli* O157:H7 [J]. *Sci Technol*, 2015, (25): 22–23.
- [45] 李蓉卓, 刘霞, 李蕾, 等. 生物传感器在大肠杆菌 O157:H7 检测中的应用[J]. 化学传感器, 2013, 33(1): 12–17.
- Li RZ, Liu X, Li L, *et al.* Application of biosensor in detection of *Escherichia coli* O157:H7 [J]. *Chem Sens*, 2013, 33(1): 12–17.
- [46] Guo Q, Han JJ, Shan S, *et al.* DNA – based hybridization chain reaction and biotin-streptavidin signal amplification for sensitive detection of *Escherichia coli* O157:H7 through ELISA [J]. *Biosens Bioelectron*, 2016, 86: 990–995.
- [47] Wang L, Wang R, Kong BW, *et al.* B cells using calcium signaling for specific and rapid detection of *Escherichia coli* O157: H7 [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 10598.
- [48] 夏丹丹, 赵莹莹, 马盼盼, 等. 食源性微生物大肠杆菌检测方法的研究进展[J]. 河南大学学报(医学版), 2019, 38(4): 296–300.
- Xia DD, Zhao YY, Ma PP, *et al.* Research progress on detection methods of food-borne microorganism *Escherichia coli* [J]. *J Henan Univ (Med Ed)*, 2019, 38(4): 296–300.
- [49] 张奇志. DNA 探针和 PCR 技术在食品检测中的应用[J]. 广东农工商职业技术学院学报, 2007, (2): 53–56.
- Zhang QZ. Application of DNA Probes and PCR Techniques in Food Detection [J]. *J Guangdong Agric Technol Coll*, 2007, (2): 53–56.
- [50] 黄丽, 李玲, 杨攀, 等. DNA 探针法检测水牛乳及其制品中大肠杆菌 O157:H7 的研究[J]. 食品科技, 2016, 41(5): 308–311.
- Huang L, Li L, Yang P, *et al.* Determination of *Escherichia coli* O157:H7 in buffalo milk and its products by DNA probe method [J]. *Food Sci Technol*, 2016, 41(5): 308–311.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介

樊晓洁, 硕士, 讲师, 主要研究方向为基础医学。

E-mail: z21170@163.com