

基于核酸适配体的生物传感技术检测食源性 致病菌研究进展

秦铭灿^{1,2}, 田雪晴^{1,2}, 周俊兰^{1,2}, 方再郗^{1,2}, 周皓隆^{1,2}, 高仁姣³, 吕明生^{1,2}, 王淑军^{1,2*}

(1. 江苏海洋大学海洋生物资源与环境重点实验室/海洋生物技术重点实验室, 连云港 225005; 2. 江苏省海洋生物产业技术协同创新中心, 连云港 222000; 3. 江苏大学计算机科学与通信工程学院, 镇江 212013)

摘 要: 食品供应的全球化导致食源性疾病传播快、分布广, 严重威胁人类健康。病原检测需要特异性强和灵敏度高的方法。核酸适配体是可以识别并与多种类型靶标分子的单链 DNA 或 RNA 结合。基于核酸适配体的生物传感器特异性好、灵敏度高、易储存, 为食源性致病菌快速检测提供了新的方法。本文介绍了核酸适配体的特点和筛选技术, 综述了基于核酸适配体的电化学、比色、荧光、表面增强拉曼散射和质量生物传感器技术的基本原理及其在食源性致病菌检测中的应用, 以期开发高效、精准检测食源致病菌技术提供参考。

关键词: 食源性致病菌; 核酸适配体; 生物传感器

Research progress on the detection of foodborne pathogens by biosensor based on aptamers

QIN Ming-Can^{1,2}, TIAN Xue-Qing^{1,2}, ZHOU Jun-Lan^{1,2}, FANG Zai-Xi^{1,2}, ZHOU Hao-Long^{1,2}, GAO Ren-Jiao³, LV Ming-Sheng^{1,2}, WANG Shu-Jun^{1,2*}

(1. Jiangsu Key Laboratory of Marine Bioresources and Environment/Jiangsu Key Laboratory of Marine Biotechnology, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 225005, China; 2. Co-Innovation Center of Jiangsu Marine Bio-industry Technology, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222000, China; 3. College of Computer Science and Communication Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

ABSTRACT: The globalization of food supply may lead to the rapid spread and wide distribution of foodborne diseases, which seriously endanger human healthy. It is required for the technology of pathogen detection with highly specific and sensitive. Aptamers are single stranded DNA or RNA molecules which can recognize and bind to target molecules. Aptamers based biosensors are more specific and sensitive, easy to store, and provide new methods for rapid detection of foodborne pathogens. This paper introduced the characteristics and screening technology of aptamers, and summarized the basic principles of aptamers based electrochemical, colorimetric, fluorescence, surface enhanced Raman scattering and quality biosensor technology and its application in the detection of foodborne pathogen, in order to provide reference for the development of fast, efficient, and accurate detection technology of foodborne pathogens.

KEY WORDS: foodborne pathogens; aptamer; biosensor

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC0311106)、江苏省高等教育优势学科项目(PAPD)、江苏省研究生创新项目(SJCX19-1012、ZD201918)

Fund: Supported by the National Key R & D Plan (2018YFC0311106), Superior Subjects of Higher Education in Jiangsu Province (PAPD), and the Jiangsu Postgraduate Innovation Project (SJCX19-1012, ZD201918)

***通信作者:** 王淑军, 博士, 教授, 主要研究方向为海洋生物资源开发与利用、酶与酶工程。E-mail: sjwang@jou.edu.cn

***Corresponding author:** WANG Shu-Jun, Ph.D, Professor, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 225005, China. E-mail: sjwang@jou.edu.cn

0 引言

食源性疾病是全球食品安全问题之首,经常在许多国家大规模爆发^[1]。世界卫生组织(World Health Organization, WHO)把它定义为:通过摄食方式进入人体的各种致病因子引起的,通常具有感染或中毒性质的一类疾病^[2]。常见的食源性致病菌主要有沙门氏菌、大肠杆菌、李斯特菌、金黄色葡萄球菌、副溶血性弧菌、肉毒梭状芽孢杆菌、小肠结肠炎耶尔森氏菌等^[3],其对婴幼儿、老人等免疫力低下者的致死率高^[4]。根据美国疾病预防控制中心(Centers for Disease Control, CDC)估计,美国每年约六分之一(4800万)的人患食源性疾病,其中12.8万人住院,3000人死亡^[5]。我国每年食用受细菌污染的食物而造成的疾病报告病例数约占全部报告的40%~50%^[6]。全球化的食品供应意味着食源性疾病可以在不同的国家快速传播蔓延,严重危害人类健康^[7-8]。

食源性致病菌的检测方法主要有:分离鉴定^[9]、酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)^[10]、聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)^[11-12]等。分离鉴定是食源性致病菌检测的经典方法,通常包括增菌、分离、生化分析及血清学鉴定等步骤。该方法操作简便、稳定性好,但其劳动强度大,通常需要3~5 d,难以快速获得结果。ELISA以抗体为识别元件,利用酶催化底物反应产生颜色变化,进行定性或定量分析。该法特异性强、检测效率高,广泛应用于我国基层检测单位,然而制备成本高、灵敏性低。基于DNA扩增的PCR法灵敏度高、检测速度快,降低了分析难度。但DNA提取过程复杂易受食品基质干扰,易出现假阳性,对仪器和人员的要求高。因此,研发简单、迅速、准确的检测技术对食源致病菌的预防和诊断具有重要的现实意义。

核酸适配体(简称适配体, aptamer)通常是指通过指数级富集的配体系统进化技术(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)筛选得来的一段功能化寡核苷酸序列^[13-14]。它拥有靶标范围广^[15]、筛选周期短^[16]、亲和力高和特异性强的特点。追根溯源,适配体是在仿生学的基础上发展来的,如RNA适配体,实质就是对非编码RNA的一种模仿^[17]。其原理是单链寡核苷酸碱基形成具有空间构象的二级结构,如发卡、口袋、G-四聚体等^[18],通过空间构象匹配、带电基团之间的静电作用、序列中碱基的堆积作用、范德华力和氢键等作用实现与靶分子的特定识别。相较于传统的抗体或酶,温度、pH和离子强度的变化对适配体的影响小。与抗体相比,更容易合成和修饰,成本低,保存时间长,基于其优势,适配体构建的生物传感器获得了广泛关注^[19-21]。

基于核酸适配体的生物传感器拥有特异性强、灵敏度

高、分析速度快和简单易操作的优点,可以发展为便携、小型的分析装置,是食源性致病菌快速检测技术的重要研究方向之一^[22-24]。目前,适配体已经被应用于细菌和病毒检测、生物成像、癌症诊断与治疗等领域^[25-27],与生物传感器的结合实现了食源性致病菌的快速、准确和低成本检测^[28-30]。本文综述了基于适配体的电化学、比色、荧光、表面增强拉曼散射和质量生物传感器技术的基本原理及其在食源性致病菌检测中的应用,以期开发高效、精准检测食源致病菌技术提供参考。

1 基于核酸适配体的生物传感器

生物传感器主要包括感受器和换能器^[31-32](图1^[32])。其工作原理是基于生物感受器(如适配体、抗体、DNA、细胞和酶等)与待测目标物发生生化反应并产生浓度信号,经由光学、电化学、压电等技术设计成的换能器转换成可定量分析的光、电等信号,再经信号放大装置输出,从而获得目标分析物的数量和浓度信息^[33]。近年来,基于适配体的生物传感器在食品致病菌检测领域已取得了较多成果^[34]。

1.1 基于适配体的电化学生物传感器

基于适配体的电化学生物传感器具有操作简单、灵敏度高、方便携带等优势^[35-37]。其原理是基于适配体的生物识别元件捕获待测目标物后会引发传感器表面发生电流、电位、阻抗或电导等参数的变化,通过监测这些化学信号变化对目标分析物的浓度做出定量分析^[38](图2^[39])。

1.2 基于适配体的光学生物传感器

光学生物传感器具有灵敏度高、特异性强、重复性好、检测速度快等优点,被广泛应用于食源性致病菌检测^[40-41]。利用光纤和集成光学传感器的优势还可实现可视化检测分析。光学检测传感器根据吸收、反射和色散等参数还可进一步分为比色传感器、荧光生物传感器、表面增强拉曼光谱生物传感器。

1.2.1 基于适配体的比色生物传感器

比色法是基于样品对光的选择性吸收而产生的可视化颜色或依靠光学仪器检测光学变化的分析方法(图3^[42])。基于适配体的比色生物传感器提高了检测食源性致病菌的灵敏度,实现了可视化检测。

1.2.2 基于适配体的荧光生物传感器

荧光法是最常用的光学检测方法,因其灵敏度高、操作简单,在核酸适配体检测技术的发展中得到了广泛应用^[43]。荧光物质经过足够能量的光照射后,其含有的各原子被激发,处于激发态的原子间发生原子能级的跃迁,从而反射出各种可见光,使物质呈现荧光状态^[44]。基于适配体的荧光传感器以荧光基团、量子点、碳点、荧光纳米颗粒等发光材料标记核酸适配体,当靶标与适配体结合后会产生产生荧光偏振信号或改变荧光强度^[45-46]。利用发光材料标

记的适配体和靶标产生的催化荧光、荧光猝灭、荧光增强等现象可进行食源性病原菌的检测(图 4^[47])。

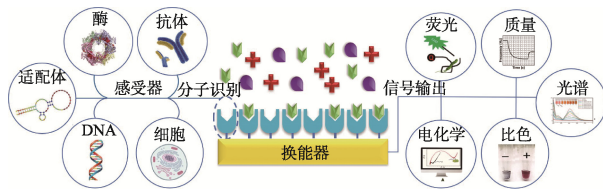


图 1 生物传感器的组成

Fig.1 Composition of the biosensor

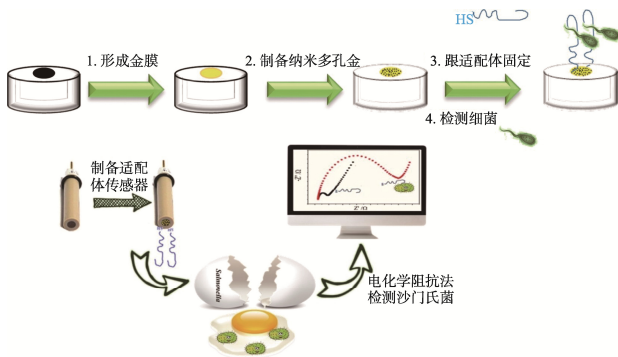


图 2 电化学适配体生物传感器

Fig.2 Electrochemical aptamer biosensor

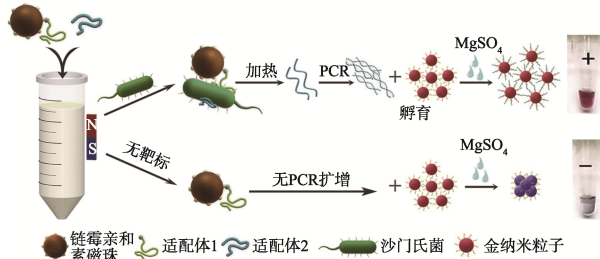


图 3 基于适配体的比色传感器

Fig.3 Colorimetric sensor based on aptamer

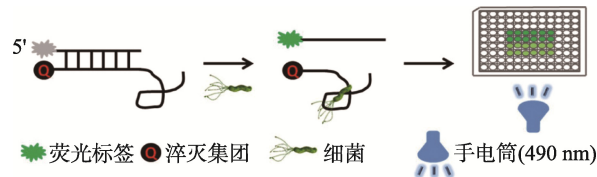


图 4 荧光适配体传感器

Fig.4 Fluorescent aptamer sensor

1.2.3 基于适配体的表面增强拉曼散射检测法

表面增强拉曼光谱(surface enhanced Raman spectroscopy, SERS)是基于被测分子吸附经特殊处理、具有纳米结构的金属表面并有极强拉曼散射增强效应的分子振动光谱技术^[28,48](图 5^[49])。因为使用样品量少、灵敏度高、采集速度快、无损分析和具有特征光谱的特性,在食源性

致病菌检测方面具有很大潜力。

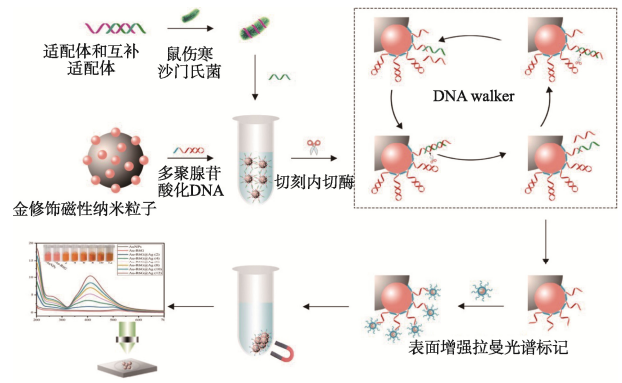


图 5 表面增强拉曼光谱适配体生物传感器

Fig.5 Surface-enhanced Raman spectroscopy aptamer biosensor

1.3 基于适配体的压电晶体生物传感器

石英晶体微天平(quartz crystal microbalance, QCM)是一种基于质量的压电生物传感器,它可以检测到纳克级以下的微小质量变化。基于压电效应,石英振荡的频移与沉积在石英表面的质量变化成正比。因此,QCM 非常适合实时监控晶体表面上的分子相互作用和无标记检测,与适配体的结合将使压电晶体生物传感器更灵敏、更准确。

基于 QCM 的适配体传感器(图 6^[50])。先将巯基十六烷酸固定在单分子膜修饰的电极表面,再对羧基进行活化并固定链霉亲和素。加入生物素化的适配体和链霉亲和素偶联,用聚乙二醇-硫醇对电极进行封闭后用于检测。

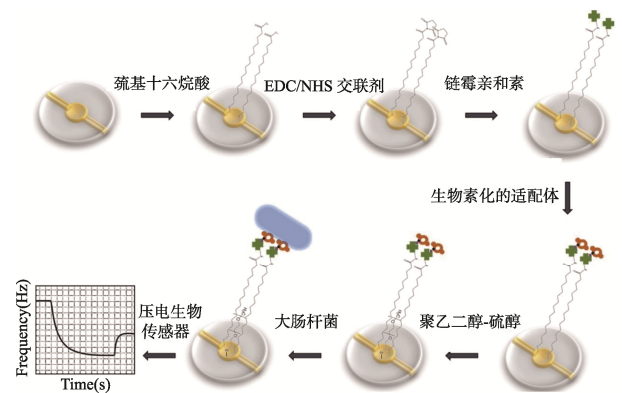


图 6 基于适配体的压电晶体生物传感器

Fig.6 Piezoelectric crystal biosensor based on aptamer

2 适配体生物传感技术在食源性致病菌检测中的应用

2.1 沙门氏菌的检测

沙门氏菌是最重要的食源性致病菌之一,世界各国细菌性食物中毒事件中,由沙门氏菌引起的食物中毒事件

占居首位^[51-52]。多种适配体生物传感技术已成功应用于检测沙门氏菌,并且具有检测时间短、检出限低的特点。RANJBAR 等^[39]制备的纳米多孔金的电化学适配体生物传感器检出限达到 1 CFU/mL, 40 min 可以获得检结果,不但可以重复使用,并且可区分细菌的死活。在实际样品鸡蛋的鼠伤寒沙门氏菌的检测中回收率达 84.6%~109.1%。相对于此,基于适配体的电化学法检测更快。HASAN 等^[53]设计的电化学适配体生物传感器能将检测时间缩短到 10 min,检出限则为 67 CFU/mL,但该电极把多壁碳纳米管沉积的铜锡氧化物连接到氨基修饰的沙门氏菌适配体,制作成本较高。

沙门氏菌适配体与多种方法结合,在可视化、重复使用和检测范围方面都取得了较好的效果。CHEN 等^[42]建立了基于金纳米粒子的双适配体三明治比色传感器,双适配体分别用于捕获鼠伤寒沙门氏菌和 PCR 扩增,检测时间为 60 min,检出限为 95 CFU/mL。虽然在速度和灵敏度上稍逊于电化学传感器,但可视化程度更高,适合没有检测工作基础的工作人员。YANG 等^[49]建立的 DNA walker 的表面增强拉曼光谱方法,由于“DNA walker”的信号放大效应,检出限为 4 CFU/mL, 40 min 完成检测。该传感器的优势是在低浓度($10\sim10^4$ CFU/mL)和高浓度($10^4\sim10^6$ CFU/mL)都呈现良好的线性关系,不足之外是难以用于现场检测。OZALP 等^[54]将固定化磁珠与适配体 QCM 系统结合,建立的快速检测鼠伤寒沙门氏菌的压电晶体传感器,检出限为 10^2 CFU/mL,该传感器可实现准确、实时和重复使用,但灵敏度稍低。

基于适配体的电化学法、比色法、表面增强拉曼光谱法、压电晶体法等方法,大幅提高了检测的特异性和灵敏度,缩短了检测时间。不足之处是仍需昂贵的仪器设备,难以应用于现场检测。

2.2 大肠杆菌的检测

大肠杆菌 O157:H7 可以引起出血性肠炎,对老人和儿童危害严重^[55]。研究人员立足于开发快速、准确、方便携带等特点,对传感器进行开发研究。BURRS 等^[56]开发出

基于适配体的电化学传感器,把大肠杆菌适配体与西兰花状纳米铂共价连接制作成电化学传感器,检出限低至 4 CFU/mL,检测时间仅为 12 min。WU 等^[57]用比色法构建了一个适配体-聚二乙炔(囊泡)光学传感器,实现了可视化检测。囊泡在 640 nm 处具有吸收峰,大肠杆菌 O157:H7 与囊泡结合,吸收峰蓝移至 540 nm 附近。在 2 h 内可以检测 $10^4\sim10^8$ 的菌体,特异性达到 100%。

适配体传感器在拓宽菌浓度检测范围和无损检测也方面取得了较好成果。LI 等^[58]构建的嵌入适配体的磁性纳米颗粒和互补 DNA 上转换纳米颗粒,共轭物的荧光强度随着大肠杆菌浓度的增加而逐渐降低,可以在 $5.8\times10^1\sim5.8\times10^7$ CFU/mL 范围内检测菌体,检出限为 10 CFU/mL, 60 min 完成检测。YU 等^[50]将适配体应用于 QCM 传感器实现样品的无损检测。检出限为 1.46×10^3 CFU/mL, 50 min 获得检测结果。

在基于适配体生物传感器的大肠杆菌检测中,荧光法和 QCM 法较比色法更快、更灵敏,荧光法虽然比 QCM 法速度慢,但具有更高的灵敏度,电化学法既快又灵敏,但制作较昂贵。

2.3 单核细胞增生李斯特菌的检测

单核细胞增生李斯特菌(李斯特菌)为革兰氏阳性短杆菌,是最致命的食源性病原菌之一^[59]。基于适配体的电化学和荧光生物传感器能够快速、灵敏的检测李斯特菌。HILLS 等^[60]通过在商用 Pt/Ir 电极上进行电沉积,滴铸还原了氧化石墨烯并形成纳米铂基层,并将适配体共轭在了电极表面,在菌体浓度为 $3\sim10^7$ CFU/mL 范围内检测效果好,17 min 可完成检测。LIU 等^[61]建立的适配体功能化的上转换纳米粒子识别并粘附到李斯特菌,荧光强度与菌体浓度相关。检测范围达到 $6.8\times10^1\sim6.8\times10^7$ CFU/mL,检出限为 8 CFU/mL,并在 60 min 完成检测。

目前,用于食源致病菌检测的适配体生物传感器已得到了广泛关注,基于电化学、比色、荧光、表面增强拉曼散射、压电晶体传感技术(表 1)展现出了广阔的应用前景。

表 1 基于适配体的生物传感器
Table 1 Biosensor based on aptamers

食源致病菌(样品)	检测方法	检测时间	检测值/(CFU/mL)	参考文献
鼠伤寒沙门氏菌(鸡蛋)	基于适配体的电化学法	40 min	1	[39]
鼠伤寒沙门氏菌(牛乳)	基于适配体的比色法	60 min	95	[42]
鼠伤寒沙门氏菌	基于适配体的表面增强拉曼光谱法	40 min	4	[49]
鼠伤寒沙门氏菌(鸡肉)	基于适配体的电化学法	10 min	67	[51]
大肠杆菌	基于适配体的电化学法	12 min	4	[57]
大肠杆菌 O157:H7	基于适配体的比色法	2 h 内	$10^4\sim10^8$	[58]

表 1(续)

食源致病菌(样品)	检测方法	检测时间	检测值/(CFU/mL)	参考文献
大肠杆菌(猪肉)	基于适配体的荧光法	60 min	10	[59]
大肠杆菌 O157:H7	基于适配体的压电晶体法	50 min	1.46×10 ³	[50]
大肠杆菌 O157:H7(水)	基于适配体的压电晶体法	10 min	400	[63]
李斯特菌	基于适配体的电化学法	17 min	3	[60]
李斯特菌(巴氏杀菌乳)	基于适配体的荧光法	60 min	8	[61]
幽门螺旋杆菌(猪肉、苹果汁)	基于适配体的荧光法	5 min	88	[47]
宋内氏志贺氏菌(鸡胸肉、牛奶)	基于适配体的表面增强拉曼光谱法	-	10~10 ⁶	[62]
金黄色葡萄球菌	基于适配体的表面增强拉曼光谱法	3 h	35	[64]

3 结论与展望

适配体生物传感器是基于多学科交叉的检测技术,对适配体传感器进行纳米等新型材料修饰,有利于提高传感器的亲和力和特异性。新材料,如金纳米粒子、多壁碳纳米管、上转换荧光纳米粒子等,因其优良的导电性和比表面积大而被广泛应用于食源致病菌的定量检测^[65]。电化学生物传感器响应速度快、可重复利用,化学稳定性好,具有微型化的研发潜力。光学生物传感器因操作快捷、检测效率高、可视化而广受欢迎。质量学生物传感器相比电化学和光学传感器在食源致病菌检测方面应用较少,但因其不用标记、成本低、操作简单仍有很大潜力。

基于适配体的生物传感器既有优势,也存在一定局限性。食品样品基质复杂,蛋白质和糖类物质容易干扰适配体的特异性结合。食品的 pH 和离子也会影响适配体的亲和力。食品样品中病原菌由于浓度低,虽然结合功能化磁珠富集靶标菌和滚环扩增放大信号等方法可以提高检出限,然而,精准的检测方法还有待进一步探索。因此,灵敏准确、便携、稳定性好、成本低、可用于现场检测食源致病菌的传感器依然是研究目标。多学科交叉,结合电化学的稳定性,光化学的可视化,质量检测的无损化,纳米新材料的信号放大与微电子芯片的小型化来实现优势互补,使食源致病菌检测更准确、更稳定和更便捷,是基于适配体生物传感器的发展方向。

参考文献

[1] 王晓辉, 徐涛涛, 黄铁群, 等. 表面增强拉曼光谱在食源性致病微生物检测中的应用研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2019, 39(1): 123–129.
WANG XH, XU TT, HUANG YQ, *et al.* Application of surface-enhanced Raman spectroscopy for foodborne pathogens detection [J]. Spectrosc Spect Anal, 2019, 39(1): 123–129.

[2] World Health Organization. Food-borne disease [EB/OL]. [2020-04-30]. <https://www.who.int/NEWS-ROOM/FACT-SHEETS/DETAIL/FOOD-SAFETY> [2021-03-25].

[3] BEGIĆ M, JOSIĆ D. Food borne bacterial pathogens and food safety-An outlook [J]. Ref Module Food Sci, 2021: 3–13. DOI: 10.1016/B978-0-08-100596-5.22825-4

[4] PRIYANKA B, PATIL RK, DWARAKANATH S. A review on detection methods used for foodborne pathogens [J]. Indian J Med Res, 2016, 144(3): 327–338.

[5] CDC. Estimates of foodborne illness in the United States [EB/OL]. [2011-12-20] <https://www.cdc.gov/foodborneburden/2011-foodborne-estimates.html> [2021-3-20].

[6] 陈小敏, 杨华, 桂国弘, 等. 2008–2015 年全国食物中毒情况分析[J]. 食品安全导刊, 2017, (25): 69–73.
CHENG XM, YANG H, GUI GH, *et al.* Analysis of food poisoning in china from 2008 to 2015 [J]. Chin Food Saf Magaz, 2017, (25): 69–73.

[7] LIN Q, CHOUSALKAR KK, MCWHORTER AR, *et al.* *Salmonella hessarek*: An emerging food borne pathogen and its role in egg safety [J]. Food Control, 2021, 125: 107996.

[8] SMOMORIN YM, ODEYEMI OA, ATEBA CN. *Salmonella* is the most common foodborne pathogen in African food exports to the European Union: Analysis of the rapid alert system for food and feed [J]. Food Control, 2021, 123: 107849.

[9] SUJONOPUTRI FR, KETTY MD, MARCELLO N, *et al.* Isolation, characterization, and application of bacteriophages against several pathogenic and food spoilage bacteria [J]. Int J Infect Dis, 2020, 101: 31.

[10] TABATABAI MS, ISLAM R, AHMED M. Applications of gold nanoparticles in ELISA, PCR, and immuno-PCR assays: A review [J]. Anal Chim Acta, 2021, 1143: 250–266.

[11] ZHANG Y, HU X, WANG Q. Sensitive and specific detection of *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in milk by microchip electrophoresis combined with multiplex PCR amplification [J]. Microchem J, 2020, 157: 104876.

[12] HUANG C, MAHBOUBAT BY, DING Y, *et al.* Development of a rapid *Salmonella* detection method via phage-conjugated magnetic bead separation coupled with real-time PCR quantification [J]. LWT-Food Sci Technol, 2021, 142: 111075.

[13] ELLINGTON AD, SZOSTAK JW. *In vitro* selection of RNA molecules that bind specific ligands [J]. Nature, 1990, 346(6287): 818–822.

[14] ZHAO YW, WANG HX, JIA GC, *et al.* Application of aptamer-based biosensor for rapid detection of pathogenic *Escherichia coli* [J].

- Sensors-Basel, 2018, 18(8): 2518.
- [15] 王巍, 贾凌云. 适配体筛选方法研究进展[J]. 分析化学, 2009, 37(3): 454–460.
- WANG W, GIA LY. Progress in aptamer screening methods [J]. Chin J Anal Chem, 2009, 37(3): 454–460.
- [16] 刘兆臣, 邴欣, 王琦. 基于适配体的食源性致病菌检测方法研究进展[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(16): 206–209.
- LIU ZC, BING X, WANG Q. Research progress of detection method of food-borne pathogenic bacteria based on aptamers [J]. Food Res Dev, 2016, 37(16): 206–209.
- [17] 解沛燕, 朱龙佼, 许文涛. 适配体在食源性致病菌检测中的应用进展[J]. 生物技术通报, 2016, 32(4): 48–62.
- XIE PY, ZHU LJ, XU WT. Application progress of aptamers in the detection of food-borne pathogenic bacteria [J]. Biotechnol Bull, 2016, 32(4): 48–62.
- [18] 戴邵亮. 基于适配体的沙门氏菌检测方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(14): 4589–4596.
- DAI SL. Research progress of detection method of *Salmonella* based on aptamer [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(14): 4589–4596.
- [19] 王琦, 颜春蕾, 高洪伟, 等. 基于核酸适配体传感器检测食品致病菌的研究进展[J]. 生物技术通报, 2020, 36(11): 245–258.
- WANG Q, YAN CL, GAO HW, *et al.* Research progress of DNA aptasensors for foodborne pathogen detection [J]. Biotechnol Bull, 2020, 36(11): 245–258.
- [20] WANG L, HUO X, QI W, *et al.* Rapid and sensitive detection of *Salmonella typhimurium* using nickel nanowire bridge for electrochemical impedance amplification [J]. Talanta, 2020, 211: 120715.
- [21] LUO K, KIM HY, OH MH, *et al.* Paper-based lateral flow strip assay for the detection of foodborne pathogens: Principles, applications, technological challenges and opportunities [J]. Crit Rev Food Sci, 2020, 60(1): 157–170.
- [22] CARDOSO AR, CABRAL G, REYES A, *et al.* Detecting circulating antibodies by controlled surface modification with specific target proteins: Application to malaria [J]. Biosens Bioelectron, 2017, 91: 833–841.
- [23] XIAO F, LIU R, ZHAN Z, *et al.* Research progress of biosensors in the detection of foodborne pathogens [J]. Chin J Biotechnol, 2019, 35(9): 1581–1589.
- [24] ARORA P, SINDHU A, DILBAGHI N, *et al.* Biosensors as innovative tools for the detection of food borne pathogens [J]. Biosens Bioelectron, 2011, 28(1): 1–12.
- [25] ZHANG Y, LAI BS, JUHAS M. Recent advances in aptamer discovery and applications [J]. Molecules, 2019, 24(5): 2142.
- [26] ILIUK AB, HU L, TAO WA. Aptamer in bioanalytical applications [J]. Anal Chem, 2011, 83(12): 4440–4452.
- [27] 李亚楠, 赵洁, 张傲哲, 等. 核酸适配体的体外筛选方法的最新研究进展[J]. 生物技术通报, 2017, 33(4): 78–82.
- LI YN, ZHAO J, ZHANG AZ, *et al.* The latest progress on the methods for in vitro screening aptamers [J]. Biotechnol Bull, 2017, 33(4): 78–82.
- [28] 曾慧君, 付诗慧, 晏涛, 等. 核酸适配体生物传感器在食源性致病菌检测中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(17): 277–284.
- ZENG HJ, FU SH, YAN T, *et al.* Research advances of oligonucleotide aptamer-based biosensor for foodborne pathogen detection [J]. Food Ferment Ind, 2020, 46(17): 277–284.
- [29] 李雪彤, 林英, 张园, 等. 食源性致病细菌适配体生物传感器研究进展[J]. 生物技术通报, 2019, 35(4): 125–138.
- LI XT, LIN Y, ZHANG Y, *et al.* Application progress on aptasensors in detection of food-born pathogenic bacteria [J]. Biotechnol Bull, 2019, 35(4): 125–138.
- [30] 陈秀琴, 黄梅清, 郑敏, 等. 食源性致病菌快速检测技术及其应用研究进展[J]. 福建农业学报, 2018, 33(4): 438–446.
- CHEN XQ, HUANG MQ, ZHENG M, *et al.* Advances on rapid detection of foodborne pathogens and the application [J]. Fujian J Agric Sci, 2018, 33(4): 438–446.
- [31] VELUSAMY V, ARSHAK K, KOROSTYNSKA O, *et al.* An overview of foodborne pathogen detection: In the perspective of biosensors [J]. Biotechnol Adv, 2010, 28(2): 232–54.
- [32] BRAZACA LC, SAMPAIO I, ZUCOLOTTO V, *et al.* Applications of biosensors in Alzheimer's disease diagnosis [J]. Talanta, 2020, 210: 120644.
- [33] ALI AA, ALTMIMI AB, ALHELFI N, *et al.* Application of biosensors for detection of pathogenic food bacteria: A review [J]. Biosensors-Basel, 2020, 10(6): 58.
- [34] 班美静, 满燕, 潘立刚. 核酸适配体生物传感技术在沙门氏菌定量检测中的应用[J]. 广东农业科学, 2019, 46(10): 114–122.
- BAN MJ, MAN Y, PAN LG. Application of aptamer biosensor technology in the quantitative detection of *Salmonella* [J]. Guangdong Agric Sci, 2019, 46(10): 114–122.
- [35] ZHANG Z, ZHOU J, DU X. Electrochemical biosensors for detection of foodborne pathogens [J]. Micromachines-Basel, 2019, 10(4): 222.
- [36] KAYA HO, CETIN AE, AZIMZADEH M, *et al.* Pathogen detection with electrochemical biosensors: Advantages, challenges and future perspectives [J]. J Electroanal Chem, 2021, 882: 114989.
- [37] WU Q, ZHANG Y, YANG Q, *et al.* Review of electrochemical DNA biosensors for detecting food borne pathogens [J]. Sensors-Basel, 2019, 19(22): 4916.
- [38] 万峰, 吴雅静. 应用生物传感器检测食品中食源性致病菌的研究进展[J]. 食品工业科技, 2021, 42(8): 346–353.
- WANG F, WU YJ. Research progress on detection of foodborne pathogens in food using biosensors [J]. Sci Technol Food Ind, 2021, 42(8): 346–353.
- [39] RANJBAR S, SHAHROKHIAN S, NURMOHAMMADI F. Nanoporous gold as a suitable substrate for preparation of a new sensitive electrochemical aptasensor for detection of *Salmonella typhimurium* [J]. Sensor Actuat B-Chem, 2018, 255: 1536–1544.
- [40] 许思齐, 金敏. 光学生物传感器在致病菌检测中的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(13): 192–199.
- XU SQ, JIN M. Research progress on optical biosensors for the detection of pathogenic bacteria [J]. Food Res Dev, 2019, 40(13): 192–199.
- [41] XIE Y, HUANG Y, LI J, *et al.* A trigger-based aggregation of aptamer-functionalized gold nanoparticles for colorimetry: an example on detection of *Escherichia coli* O157:H7 [J]. Sensor Actuat B-Chem, 2021: 129865.
- [42] CHEN S, YANG X, FU S, *et al.* A novel AuNPs colorimetric sensor for sensitively detecting viable *Salmonella typhimurium* based on dual aptamers [J]. Food Control, 2020, 115: 107281.
- [43] FENG C, DAI S, WANG L. Optical aptasensors for quantitative detection of small biomolecules: A review [J]. Biosens Bioelectron, 2014, 59:

- 64–74.
- [44] SHARMA R, RAGAVAN KV, THAKUR MS, *et al.* Recent advances in nanoparticle based aptasensors for food contaminants [J]. *Biosens Bioelectron*, 2015, 74: 612–27.
- [45] 黄邵军, 叶知秋, 金娟慧, 等. 常见纳米材料在食源性致病菌检测方面的研究进展[J]. *中国卫生检验杂志*, 2020, 30(19): 2428–2432.
- HUANG SJ, YE ZQ, JIN JH, *et al.* Research progress of common nanomaterials in the detection of foodborne pathogens [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2020, 30(19): 2428–2432.
- [46] ZHANG R, BELWAL T, LI L, *et al.* Nanomaterial-based biosensors for sensing key foodborne pathogens: Advances from recent decades [J]. *Compr Rev Food Sci F*, 2020, 19(4): 1465–1487.
- [47] WU H, GU L, MA X, *et al.* Rapid detection of *Helicobacter pylori* by the naked eye using DNA aptamers [J]. *ACS Omega*, 2021, 6(5): 3771–3779.
- [48] SHARMA B, FRONTIERA RR, HENRY AI, *et al.* SERS: Materials, applications, and the future [J]. *Mater Today*, 2012, 15(1): 16–25.
- [49] YANG E, LI D, YIN P, *et al.* A novel surface-enhanced Raman scattering (SERS) strategy for ultrasensitive detection of bacteria based on three-dimensional (3D) DNA walker [J]. *Biosens Bioelectron*, 2021, 172: 112758.
- [50] YU X, CHEN F, WANG R, *et al.* Whole-bacterium SELEX of DNA aptamers for rapid detection of *E.coli* O157:H7 using a QCM sensor [J]. *J Biotechnol*, 2018, 266: 39–49.
- [51] FERRARI R G, ROSARIO DKA, CUNHA-NETO A, *et al.* Worldwide epidemiology of *Salmonella* aerovars in animal-based foods: A meta-analysis [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2019, 85(14). DOI: 10.1128/AEM.00591-19
- [52] 戴冠苹, 张红云, 高海军, 等. 食品检测能力验证中沙门氏菌的分离鉴定[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(6): 2491–2496.
- DAI GP, ZHANG HY, GAO HJ, *et al.* Isolation and identification of *Salmonella* proficiency testing in food testing [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(6): 2491–2496.
- [53] HASAN MR, PULINGAM T, APPATURI JN, *et al.* Carbon nanotube-based aptasensor for sensitive electrochemical detection of whole-cell *Salmonella* [J]. *Anal Biochem*, 2018, 554: 34–43.
- [54] OZALP VC, BAYRAMOGLU G, ERDEM Z, *et al.* Pathogen detection in complex samples by quartz crystal microbalance sensor coupled to aptamer functionalized core-shell type magnetic separation [J]. *Anal Chim Acta*, 2015, 853: 533–540.
- [55] LU C, TANG L, GAO F, *et al.* DNA-encoded bimetallic Au-Pt dumbbell nanozyme for high-performance detection and eradication of *Escherichia coli* O157:H7 [J]. *Biosens Bioelectron*, 2021, 187: 113327.
- [56] BURRS SL, BHARGAVA M, SIDHU R, *et al.* A paper-based graphene-nanocauliflower hybrid composite for point of care biosensing [J]. *Biosens Bioelectron*, 2016, 85: 479–487.
- [57] WU W, ZHANG J, ZHEENG M, *et al.* An aptamer-based biosensor for colorimetric detection of *Escherichiacoli* O157:H7 [J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e48999.
- [58] LI H, AHMAD W, RONG Y, *et al.* Designing an aptamer based magnetic and up conversion nanoparticles conjugated fluorescence sensor for screening *Escherichia coli* in food [J]. *Food Control*, 2020, 107: 106761.
- [59] RADOSHEVICH L, COSSART P. *Listeria monocytogenes*: Towards a complete picture of its physiology and pathogenesis [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2018, 16(1): 32–46.
- [60] HILL KD, OLIVEIRA DA, CAVALLARO ND, *et al.* Actuation of chitosan-aptamer nanobrush borders for pathogen sensing [J]. *Analyst*, 2018, 143(7): 1650–1661.
- [61] LIU R, ZHANG Y, ALI S, *et al.* Development of a fluorescence aptasensor for rapid and sensitive detection of *Listeria monocytogenes* in food [J]. *Food Control*, 2021, 122: 107808.
- [62] WU S, DUAN N, HE C, *et al.* Surface-enhanced Raman spectroscopic-based aptasensor for *Shigella sonnei* using a dual-functional metal complex-ligated gold nanoparticles dimer [J]. *Colloid Surface B*, 2020, 190: 110940.
- [63] DONG ZM, ZHAO GC. Label-free detection of pathogenic bacteria via immobilized antimicrobial peptides [J]. *Talanta*, 2015, 137: 55–61.
- [64] ZHANG H, MA X, LIU Y, *et al.* Gold nanoparticles enhanced SERS aptasensor for the simultaneous detection of *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* [J]. *Biosens Bioelectron*, 2015, 74: 872–877.
- [65] CESEWSKI E, JOHNSON BN. Electrochemical biosensors for pathogen detection [J]. *Biosens Bioelectron*, 2020, 159: 112214.

(责任编辑: 郑丽王欣)

作者简介



秦铭灿, 硕士研究生, 主要研究方向为食品加工与安全。

E-mail: mcqin@jou.edu.cn



王淑军, 博士, 教授, 主要研究方向为海洋生物资源开发与利用、酶与酶工程。

E-mail: sjwang@jou.edu.cn