

# 食源性人兽共患病病原检测方法研究进展

朱宝康<sup>1,2</sup>, 田博<sup>3</sup>, 徐颖华<sup>4\*</sup>, 卢雪梅<sup>1\*</sup>

(1. 广东药科大学生命科学与生物制药学院 广东省生物活性药物研究重点实验室, 广州 510006; 2. 广东药科大学药学院, 广州 510006; 3. 北京中科助腾科技有限公司, 北京 100084; 4. 中国食品药品检定研究院, 中国医学细菌保藏管理中心, 卫生部生物技术产品检定方法及其标准化重点实验室, 北京 102629)

**摘要:** 食源性人兽共患病是指摄入被人与脊椎动物共同病原微生物污染的食物后, 在人与脊椎动物之间相互传播的疾病。随着饮食习惯及畜牧业的发展, 食源性人兽共患病对食品安全、人类公共卫生安全及畜牧业的持续发展发起了更加严峻的挑战。近几年全球范围内食源性人兽共患病的传播, 正是由人类的不良饮食习惯、对人与自然和谐共处意识的缺乏、对公共卫生风险防控能力的不足所导致的。因此, 了解目前对食源性人兽共患病的防治措施及防控检测手段, 进一步开发拓展对食源性人兽共患病病原安全有效、快速、经济的检测方法是十分必要的。本文综述了近年以细菌、病毒、寄生虫为代表的食源性人兽共患病病原的常用检测手段, 以期为食品质量安全控制提供参考, 同时也为新技术的开发提供研究基础。

**关键词:** 食源性人兽共患病; 食品安全; 病原检测

## Research progress on pathogen detection methods of food-borne zoonoses

ZHU Bao-Kang<sup>1,2</sup>, TIAN Bo<sup>3</sup>, XU Ying-Hua<sup>4\*</sup>, LU Xue-Mei<sup>1\*</sup>

(1. *Guangdong Provincial Key Laboratory of Pharmaceutical Bioactive Substances, School of Life Science and Biopharmaceutics, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China*; 2. *School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China*; 3. *Beijing Zoom Tech Science and Technology Co., Ltd., Beijing 100084, China*; 4. *Key Laboratory of the Ministry of Health for Research on Quality and Standardization of Biotech Products, Center for Medical Bacteriology, National Institute for Food and Drug Control, Beijing 102629, China*)

**ABSTRACT:** Food-borne zoonoses are diseases, usually after ingesting food contaminated by microorganisms common to humans and vertebrates, which can be transmitted between humans and vertebrates. With the development of dietary habits and animal husbandry, food-borne zoonoses has posed a more severe challenge to food safety, human public health safety and the sustainable development of animal husbandry. The global spread of food-borne zoonoses in recent years are precisely caused by human's bad dietary habits, lack of awareness of harmonious coexistence between human and nature, and insufficient ability of prevention and control of public health risks. Therefore, it is very necessary to understand the extant prevention and control measures and detection methods for food-borne zoonosis, and to further develop safe, effective, rapid and economical detection methods for food-borne

**基金项目:** 国家重点研发计划项目(2018YFC1603900)

**Fund:** Supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFC1603900)

**\*通信作者:** 徐颖华, 博士, 研究员, 主要研究方向为细菌性疫苗质量控制与微生物资源标准化研究。E-mail: xuyh@nifdc.org.cn

卢雪梅, 博士, 副研究员, 主要研究方向为生物活性物质筛选鉴定、功能与应用研究。E-mail: luxuemei@gdpu.edu.cn

**\*Corresponding author:** XU Ying-Hua, Ph.D, Professor, Key Laboratory of the Ministry of Health for Research on Quality and Standardization of Biotech Products, National Institute for Food and Drug Control, No.31 Huatuo Street, Daxing District, Beijing 102629, China. E-mail: xuyh@nifdc.org.cn

LU Xue-Mei, Ph.D, Associate Professor, School of Life Science and Biopharmaceutics, Guangdong Pharmaceutical University, 280 Wai Huan Dong Road, Guangzhou Higher Education Mega Center, Guangzhou 510006, China. E-mail: luxuemei@gdpu.edu.cn

zoonoses. This paper introduced the common detection means of foodborne zoonotic pathogens represented by bacteria, viruses and parasites, in order to provide a reference for food quality and safety control, and also provide a research basis for the development of new technologies.

**KEY WORDS:** food-borne zoonoses; food safety; pathogen detection

## 0 引言

人兽共患病(food-borne zoonoses)是由人与脊椎动物共同病原体如细菌、病毒和寄生虫等引发,在人与脊椎动物之间相互传播并具备流行病学特征的一类疾病。人、家畜、鸟类及其他野生动物是其主要的易感群体及传播群体<sup>[1]</sup>。目前已发现的人兽共患病病原大约有 200 种(常见病病原见表 1),其中细菌性病原(含衣原体、立克次体和真菌)有 50 余种,主要有鼠伤寒沙门氏菌、大肠杆菌、弯曲杆菌、单核细胞增生李斯特菌等<sup>[2-4]</sup>;病毒性病原有 50 余种,主要为诺瓦克样病毒、冠状病毒、轮状病毒、禽流感病毒、口蹄疫病毒、甲型及戊型肝炎病毒等<sup>[5-7]</sup>;寄生虫性病原有 60 余种,主要为旋毛虫、华支睾吸虫、蛔虫等<sup>[8-10]</sup>。人兽共患病传播途径可以分为直接传播和间接传播,直接传播是指感染者与被感染者以抓伤、舔舐及被咬伤等形式传播病原体,例如狂犬病的传播;而间接传播则包括摄入携带病原微生物的食物、水等传播<sup>[11]</sup>。

在 2016 年世界卫生组织发布的报告中,全球每年有近 1/10 人口因食物污染而患病,其中约 42 万人死亡,且多为儿童、青少年;尽管 5 岁以下儿童仅占全球人口的 9%,但他们却占食源性疾病死亡人数的 30%左右<sup>[12]</sup>。一旦人类患上这类疾病,轻则恶心呕吐、腹泻、机体发热,重则心衰、脏器器质性病变甚至休克死亡。食源性人兽共患病所引发的重大动物传染病不仅影响到畜牧业发展,对动物源性食品安全乃至人类公共卫生安全也产生了巨大威胁。本文对近几年出现的食源性人兽共患病病原的常用检测方法进行综述,以期为保障食品卫生安全及人畜生命安全提供一定支持。

## 1 食源性人兽共患病病原常用检测方法

### 1.1 免疫学检测法

免疫学检测是指基于免疫学理论设计的一系列用于测定抗原、抗体、免疫细胞及细胞因子的实验手段。该技术发展的背后,往往是人类对病原感染及机体应答的进一步认知。从 19 世纪末用于病原体感染诊断的免疫凝集试验及免疫沉淀试验等经典免疫测定技术,到 20 世纪 40 年代标记免疫测定技术,如放射免疫法、免疫荧光法、酶联免疫吸附法等检验方法的出现,这些技术的推进使得经典免疫检测法中灵敏度低、受限于定性检测的问题得以解决,但

多数样品的检测仍需在液体环境下进行。在细菌性、病毒性人兽共患病病原的免疫学检测当中以酶联免疫吸附法、免疫印迹法、免疫荧光法等为主要检测手段,这些方法操作简单,但是耗时较长,因此衍生出荧光酶联免疫法、近红外荧光层析免疫法、荧光猝灭-免疫层析技术等<sup>[13-15]</sup>诸多应用范围更广、准确度更高、特异性更好、灵敏度更高的针对食源性人兽共患病病原检测方法,以满足当今商品货物流通速度快、病原变化多样且迅速的需求。

#### 1.1.1 酶联免疫吸附法

酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)是将抗原或抗体结合到载体表面,在保持其免疫活性的前提下,用对应的抗体或抗原与某种酶连接标记,在加入酶反应底物后,底物被酶催化为有色产物,产物与受检抗体或抗原之间的量成比例关系,故可根据颜色深浅来进行定性或定量分析的方法,该方法在临床的检验中多用于各种蛋白质等大分子的检验,但要求对待检样品进行提纯。因其简单方便且相对环保安全,被迅速应用于各种生物活性物质的检测,并开始逐步成为临床及实验研究中的一类重要检测技术。

莫荣艳等<sup>[16]</sup>用世界动物卫生组织指定检测方法之一的液相阻断 ELISA 实验方法检测猪口蹄疫病毒 O 型灭活疫苗免疫的猪血清 80 份样品,其抗体保护率可达到 98%,提高了检测的工作效率。这类方法充分利用了抗原抗体特异性结合的特点,从而具备了较好的鉴别能力,但是却无法满足对人兽共患病病原快速、大批量、大范围的检测需求。而在传统酶联免疫吸附法基础上发展而来的荧光酶联免疫法,辅以荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)技术,并结合生化鉴定,相比传统方法在检测时间上得到缩短,也在准确性、特异性得到保证的情况下,一定程度上提高了灵敏度<sup>[17-18]</sup>。

#### 1.1.2 免疫层析法

免疫层析法(immunochromatography, ICA)是基于抗原抗体之间的特异性结合,将所捕获的抗原或抗体固定在层析膜上,以有色、荧光纳米材料标记抗体作为信号标记探针并预先装载于结合垫,通过在样品垫上滴加样品溶液进行快速信号检测,实现对靶标分析物的定性定量分析的检测方法。这类方法操作过程快速简便、成本低、检测结果也直观可见,但传统免疫层析技术灵敏度相对较低,液体化样品为主要的检测对象,大多只能提供定性或半定量结果。

表 1 常见食源性人兽共患病病原  
Table 1 Common food-borne zoonotic pathogens

主要病原种类	常见病原	来源	参考文献
细菌性病原	鼠伤寒沙门氏菌、大肠杆菌、弯曲杆菌、单核细胞增生李斯特菌等	生肉、鸡蛋、乳制品等	[2-4]
病毒性病原	诺瓦克样病毒、冠状病毒、轮状病毒、禽流感病毒、口蹄疫病毒、甲型及戊型肝炎病毒等	生肉、内脏、水产品等	[5-7]
寄生虫性病原	旋毛虫、华支睾吸虫、蛔虫等	生肉、鱼类等	[8-10]

晏许超等<sup>[19]</sup>基于传统免疫层析法开发的快速检测试纸条,采用近红外荧光染料标记单增李斯特菌单克隆抗体,并结合免疫侧向流技术制备,对食品中单增李斯特菌检测限可至 500 CFU/mL,不仅解决了传统免疫层析法无法准确定量分析的问题,且检测整个过程耗时仅 45 min,可用于食品样本中单增李斯特菌的即时检测。BU 等<sup>[20]</sup>则利用二维(2D)纳米片作为特殊的捕获探针和信号指示剂,进一步建立了一种用于肠炎沙门氏菌检测的免疫层析法,该法以纳米片-细菌-单克隆抗体夹心形式,能在没有常规标记的抗体探针的情况下直接结合到细菌表面,从而表现出强大的细菌捕获能力,获得具有高灵敏度和特异性的理想分析性能。

### 1.1.3 免疫荧光法

免疫荧光法(immunofluorescence, IFA)也称荧光抗体法,是指利用具有荧光特性的物质标记特异性抗原或抗体,在两者特异性结合以后实现精准定位和特异性检测的定性定量分析手段。免疫荧光是标记免疫技术中最早的一类检测方法(方法原理见图 1),虽然早期的放射免疫法能够实现完全定量分析,但因其实验废液对环境造成损害,也逐步被非放射性标记物建立的标记免疫检测方法所取代。同时,免疫荧光选择更加稳定的荧光物质也解决部分免疫层析法中信号物不稳定的问题。MOHAMMADI 等<sup>[21]</sup>用抗流产布鲁氏菌 19 kDa 外膜蛋白(outer membrane protein, OMP)抗体的免疫荧光实验来鉴定流产布鲁氏菌。在将布鲁氏菌 OMP19 基因在大肠杆菌细胞中合成、克隆并表达后,层析纯化制备得多克隆抗体,将该抗体与异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)结合,通过免疫荧光实验检测能够准确识别流产布鲁氏菌,检测灵敏度和特异性分别为 84.2%和 50%。PANDEY 等<sup>[22]</sup>基于 IFA 开发新型的夹心式荧光免疫分析方法,以阳离子受体分子多黏菌素 B 为结合剂,抗 Vi 抗体为捕获剂,该方法在常规诊断实验室中可用于特异性检测伤寒沙门氏菌,而且可以根据特定的标记物和受体用于检测其他革兰氏阴性菌。该类方法具备特异性强、反应迅速等特点,但是该技术受环境因素影响较大,有易猝灭的缺点,操作程序也相对复杂。

## 1.2 分子检测技术

分子检测技术主要是通过将病原微生物的遗传物质进行扩增后与收录标准进行对比,实现检测与判定的技术

手段。相较于免疫检测技术,分子检测技术能实现基因层次的检测,在准确度和灵敏度上有所提升,但如核酸分子杂交技术、聚合酶链反应技术等仍需获得样品中的 DNA 或 RNA 作为诊断材料。目前对食源性人兽共患病病原的分子检测技术主要有核酸分子杂交、聚合酶链反应和生物芯片技术等。

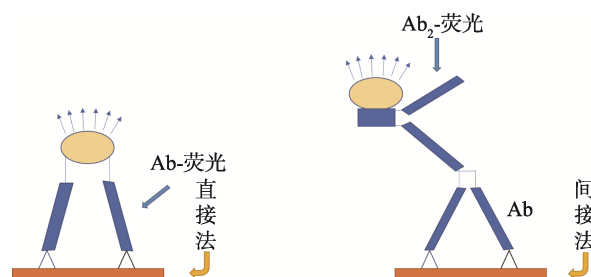


图 1 免疫荧光法原理

Fig.1 Principle of immunofluorescence method

### 1.2.1 核酸分子杂交技术

核酸分子杂交(hybridization)是将具有一定互补序列的核苷酸单链在液相或固相中按碱基互补配对原则缔合成异质双链,再利用已知序列探针进行特异性靶序列检测的方法,此方法具有较高的特异性及灵敏度。

吴珊等<sup>[23]</sup>采用基于分子信标的肽核酸(peptide nucleic acid, PNA)探针结合荧光扫描检测技术检测单核细胞增生李斯特菌,将具有单增李斯特菌特异性的肽核酸探针的 5'端和 3'端分别用报告荧光基团和淬灭基团标记形成分子信标 PNA 探针,再通过液相 PNA-FISH 与荧光扫描,进一步提高检测效率。与普通探针比较,分子信标 PNA 探针的使用有效地减少了假阳性和假阴性结果的发生。

而基于 DNA 分子杂交技术开发的一种新型肽核酸荧光原位杂交方法,通过将 PNA 探针 LmPNA1253 与新型阻断剂探针偶联,能够较好地特异性检测出食品中的单核细胞增生李斯特菌,并具备较高的准确性<sup>[24]</sup>。

### 1.2.2 聚合酶链反应

聚合酶链反应是以 DNA 为模板,在 DNA 聚合酶作用下,利用引物和 4 种 dNTP 发生的酶促聚合反应(反应原理见图 2)。核酸分子杂交技术往往要求样品具备一定的纯度和含量,而 PCR 技术的出现,使得对样品的要求大大降低,

应用范围也得以扩大。PCR 技术类型众多, 常见有反转录 PCR、定量 PCR、实时荧光 PCR 及巢式 PCR 等, 能够普遍运用于检测食源性细菌性、病毒性、寄生虫性人兽共患病<sup>[25-27]</sup>, 具有特异性强、灵敏度高、快速简便、对样品纯度要求低等特点, 但是结果可能出现假阴性或者假阳性的问题。

EL-KAFRAWY 等<sup>[28]</sup>对逆转录聚合酶链反应法(reverse transcription-PCR, RT-PCR)进行了优化, 用于检测急性呼吸综合征冠状病毒 2 型(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)即新型冠状病毒, 实现了在不需要提取核酸的条件下, 对鼻咽样品进行反转录扩增, 且该直接检测方案与标准方案的一致性为 100%。另外限制性片段长度多态性聚合酶链反应方法可用于疟原虫的检测, 该方法实验操作简单、检测限低、特异度高且检测结果易于判断, 但该方法需要内切酶的参与, 这在一定程度上提高了研究成本, 限制了该方法的广泛应用<sup>[29]</sup>。而多重荧光定量 PCR 方法能在荧光定量 PCR 的基础上针对寄生虫病原同时对多个目标基因片段进行特异性扩增, 在满足荧光定量的基本要求下, 具有较高的特异性和灵敏度<sup>[30]</sup>。

为了满足检测需求, 研究者利用多重磁捕获杂交、微液滴化处理、整合环介导等温扩增(loop mediated isothermal amplification, LAMP)方法和微流体芯片等技术对 PCR 技术进行改进, 在技术联合的背景下, 开发新的技术平台实现对细菌性病原的富集与检测<sup>[31]</sup>, 对病毒性病原定量与高特异性有效分析<sup>[32]</sup>。尤其是环介导等温扩增技术的开发, 使得检测能够在不依赖专业仪器的情况下, 摆脱温度循环等因素限制, 实现现场高通量快速检测。YUAN 等<sup>[33]</sup>利用该技术进行病毒检测, 其检测限为  $3.2 \times 10^2$  拷贝数/反应, 与常规 PCR 的符合率在 94% 左右, 具有较高的特异性, 且与其他病毒无交叉反应, 使得检测成本大大降低, 这为常规检测提供了极大便利。

聚合酶链反应的检测技术因其具有灵敏度高、特异性强、周期短的特点而成为主流方法, 针对人兽共患病原传播的特点, 能够广泛用于食品生产、流通、检验等各个环节, 弥补了早期免疫检测的不足。

### 1.2.3 生物芯片技术

生物芯片技术是近年发展起来的新型核酸分析检测技术, 该技术结合了分子生物学、微电子技术及计算机等学科。随着科技的发展, 这一技术从起初用于 DNA 序列测定、基因表达谱鉴定和基因突变体检测等核酸领域, 拓展到免疫反应、受体结合等非核酸领域, 如蛋白质芯片、细胞芯片、组织芯片等。目前的常规技术主要是通过对病原信息的捕获后与数据库中已有的病原序列比对, 从而实现食源性特定病原菌的检测<sup>[34]</sup>。以往的核酸分析检测技术往往自动化程度低、低通量, 对样品的质量要求也限制了

其应用范围, 而生物芯片的诞生则实现了高通量、微型化、自动化的目标, 但是同时该技术成本较高, 且重复性差。

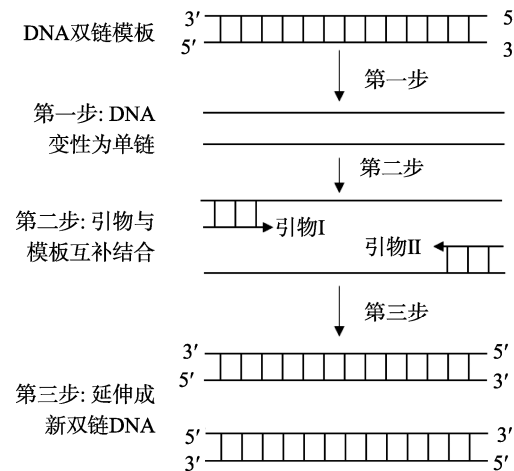


图 2 PCR 原理示意图

Fig.2 PCR principle diagram

从初始基因生物芯片衍生的 16S rRNA 基因生物芯片检测系统, 能够实现多种常见致病菌的多重检测, 在通过简单的预处理后, 无需纯化和扩增, 即可从多种食物基质中对细菌进行分离, 进而对食品中分离出来的多种常见致病菌进行快速、多重检测<sup>[35]</sup>, 这类检测方法可以在整个物流配送链过程中对食源性病原菌进行快速检测和监控。此外, 金纳米粒子(gold nanoparticles, GNP)、多重寡核苷酸连接 PCR 技术结合通用寡核苷酸微阵列技术, 经过对病原菌的靶片段富集检测、标记、捕获、信号增强等程序后, 可实现对食源性病原菌的检测, 该技术检测快速、成本低、特异性和灵敏度高, 能够用于常规的食源性病原菌的检测<sup>[36]</sup>。近年, 针对 SARS-CoV-2 即新型冠状病毒, 所设计的蛋白质组微阵列能够包含 28 种预测蛋白中的 18 种, 并能针对血清样本中 N 蛋白和 S1 蛋白抗原, 检测 IgG 和 IgM 抗体反应, 该方法能够揭示患者之间的联系与特性, 有利于新型冠状病毒检测诊断技术的进一步开发<sup>[37]</sup>。

生物芯片技术作为众多高精尖科技的合成产物, 涉及分子生物学、计算机学、微电子等多门前沿学科, 微量、痕量、高通量化将成为该类检测技术发展的主要方向, 但因其开发难度较高, 一定程度上限制了其发展。

### 1.3 生物传感器

生物传感器(biosensor)是由固定化的生物敏感材料作识别元件, 适当的理化换能器及信号放大装置构成的, 能够将物质浓度转换为电信号进行检测的仪器。生物传感器的产生则为实时检测提供了可能, 使得现代检测技术有望摆脱部分免疫学检测及分子检测中冗长烦琐的等待过程, 实现极短时间内对病原的检测分析。

AYDIN 等<sup>[38]</sup>开发了一种 DNA 传感器悬浮阵列系统对食源性疾病中常见的沙门氏菌进行鉴定,能够在 1 h 内检测出低至 100 fmol/L 的合成 DNA 和低至 100 CFU/mL 的多种沙门氏菌血清,在经过 6 h 富集后,该测定的灵敏度能进一步提高到 1 CFU/mL,不仅具有高通量的特点,还能准确、特异地鉴定出受试沙门氏菌株的血清型,而不会与其他常见食源性病原体发生交叉反应。

常规的生物传感器进行检测的方法只对特定的底物起反应,其操作简单,容易实现自动分析,且分析结果受影响因素少,能够进行快速分析,但其中的生物活性单位往往不稳定,具有易变性<sup>[39-41]</sup>。针对传感器中检测时间长导致的活性单位不稳定,使得结果不准确的情况,将丝网印刷碳电极(screen printed carbon electrode, SPCE)、ssDNA 捕获探针、盐诱导的聚集金纳米颗粒(SIA-AuNPs)信号探针等技术融入生物传感器当中,能够使部分检测方法满足对多类食源性病原检测,具备操作简便、成本低的特点<sup>[41]</sup>,同时能够在短时间内完成鉴定或定量检测<sup>[40,42]</sup>,确保检测结果的准确性。

目前研究主要通过免疫学检测法、分子检测法、生物传感器等手段对细菌、病毒、寄生虫等人兽共患病病原进行检测<sup>[43-45]</sup>,但这些方法具备一定的局限性(各方法优缺点详见表 2),因此往往需要加以改进或者联合运用,在弥补自身缺点的同时提高检测诊断的灵敏度、准确性、检测范围<sup>[45]</sup>。

## 2 其他检测方法

常规的检测通常对多类食源性病原检测具有普适性,因此能够广泛地运用于水源、食品等相关样品检测当中。同样有部分检测方法虽能够很好地完成检测工作,但因受到发展时间、样品特性等客观因素限制,使得方法本身具有一定局限性。

在部分检测手段无法按需对特殊场合下病原实现专

属性检测时,针对特定种类病原的检测方法也因此应运而生。噬菌体检测法是一类专属性较强的检测手段,RICHTER 等<sup>[46]</sup>利用噬菌体专性寄生于放线菌、大肠杆菌等细菌当中的特点,将噬菌体集合成密集有序的噬菌体层,并通过结合化学修饰及交变电场制作了改良细菌传感元件。该法使检测灵敏度提高了近 60 倍,检测限达到 100 CFU/mL,检测时间也能控制在 15 min 左右。但也因为专属性强的特点,导致该方法检测范围受到限制。RAMOS 等<sup>[47]</sup>基于 FLOTAC 装置技术,设计了用于新鲜生菜中家畜胃肠道寄生虫的检测方法,该法对样品中 79%卵囊、包囊、卵和/或胃肠道寄生虫的幼虫检测为阳性。这类技术可用于人与动物体内寄生虫的高效定性、定量分析,但是需要在专业装置下完成,操作要求较高。此外,McMaster 法也是一类用于寄生虫鉴定及定量检测的方法,LI 等<sup>[48]</sup>开发了一种经济高效的自动化寄生虫诊断系统,该系统由便携式显微镜组成,可以对整个 McMaster 腔室进行扫描,对 McMaster 浮选法制备的粪便样品进行成像,经过卷积神经网络图像进行自动分割和分析,将虫卵与背景碎片分离,操作简单,不仅降低了检测成本和操作难度,且方便携带。

大部分分析方法需要在规定的实验操作平台下进行,且需要专业的数据处理系统完成数据分析,无法实时实地的检测。而智能手机侧向流动分析法(smartphone-based lateral flow assay, SFLA),作为智能手机与生物检测相结合的产物,能够利用高分辨率的集成摄像头、恒定的光源照明和智能手机的计算能力,结合侧向流动免疫分析法,根据测试线的颜色强度的回归模型确定食物基质中细菌的浓度。实验证明该方法已经能够从碎牛肉和菠菜食品基质中检测到  $10^4\sim 10^5$  CFU/mL 浓度的细菌<sup>[49]</sup>,这为实现即时检测分析提供了极大的参考价值。但因其发展时间不长,检测技术不够成熟,仍然存在许多不足需要进一步完善。

表 2 常用食源性病原检测方法  
Table 2 Common methods for detecting foodborne pathogens

常用检测方法	主要病原检测类型	优点	缺点
酶联免疫吸附技术	细菌、病毒	特异性高、检测限低	检测范围有限
免疫层析技术	细菌	方便、成本低、直观	灵敏度低、半定量
免疫荧光技术	细菌	灵敏度高、检测速度快	易猝灭、操作复杂
核酸分子杂交技术	细菌	灵敏、特异性高	操作要求高
聚合酶链反应	细菌、病毒、寄生虫	对样品纯度要求低等	假阴性、假阳性
生物芯片技术	细菌	高通量、微型化、自动化	成本高、重复性差
生物传感器	细菌、病毒	专一、准确、简便、误差小	不稳定、易变性

检测样品中的病原种类往往复杂多样且存在多变可能,这使得筛选时间延长。因此,有研究者利用鸟枪法宏基因组测序实现增强对病毒特定序列的捕获,用于多种病毒的鉴定,同时实现药物抗性的突变检测<sup>[50]</sup>,但该方法相对成本较高,对计算设施及检测平台要求较高。液滴微流控技术近几年快速发展,该方法利用声波将含有样品的水相液体连续分离为单独的微小液滴进行检测,可以对微体样本快速分离,实现平行高通量分析,极大程度上降低了对样品量的要求,已逐渐在生物医学领域展现出独特优势。AN 等<sup>[51]</sup>开发了一种基于荧光成像的液滴微流控技术的单细胞水平分析方法,可直接从食品样品中敏感而快速地检测沙门氏菌,检测限可达 50 CFU/mL,低于其他评估食品中沙门氏菌污染的常规分析方法。但因该检测技术仍在发展阶段,受到制备工艺、外部设备要求的限制,无法适应大多数研究,所以还未得到广泛应用。

### 3 结束语

本文主要综述了近年来常用的食源性人兽共患病病原检测技术,并对这些技术的优缺点进行了简要介绍。在这些检测方法中,免疫学检测方法有着高特异性、高灵敏度、简便易操作等特点,但其对样本病原含量有一定要求,其检测范围有限。分子检测技术在一定程度上解决了检测限的问题,并且能在少量待测病原的存在条件下快速高效地完成检测,实现定性定量分析,但其往往需要特定的检测装置,检测成本高。生物传感器不仅能实现系统地监测,同时也能信息化输出检测结果,但是其组成系统相对复杂,成本较高。基于 FLOTAC 检测法和 McMaster 法能够快速有效地检测食源性人兽共患病寄生虫病原,但是对实验设备及条件有所要求,无法达到精准、便捷的特点,且经济成本较高。食品流通的各个环节都可能引入致病源,因此在检测前通常需要对病原微生物进行必要的富集与分离,但该过程通常操作烦琐、耗时较长,目前技术对复杂样品中多种病原的特异性检测能力也有待提高。

随着当今食品全球化流通、畜牧业不断发展,完善食源性人兽共患病病原检测方法显得愈发重要,这不仅关乎食品安全和畜牧业发展,对人类公共卫生安全及人与自然和谐共处也有积极作用。在科技飞速发展,新技术、新材料不断涌现的现代社会,对食源性病原微生物的检测方法正在也必然向多元化、高精尖化、普适性的方向前进。实时实地的检测需求是检测技术发展的趋势及目的。同时,随着人工智能的新兴及大数据的支持,各类技术也必将朝着便携、精确、高通量方向发展,自动化智能检测及应对多样且多变需求的个性化智能检测也将成为未来发展的主要趋势。人兽共患病病原可能无法完全杜绝,但我们应该尽早将其扼杀在萌芽期间,避免其在人类社会与自然界传播。只有秉承人类命运共同体的价值观,担负起人类作为

地球上主导者的责任,不断对现有技术进行改进完善,建立起科技化、全球化的监测网络,同时在溯源方面紧跟脚步,才能最大程度上减少食源性人兽共患病的发生,让科学技术的力量回馈自然,也造福人类自己。

### 参考文献

- [1] HEREDIA N, GARCIA S. Animals as sources of food-borne pathogens: A review [J]. *Anim Nutr*, 2018, 4(3): 250–255.
- [2] NEWELL DG, LA RAGIONE RM. Enterohaemorrhagic and other shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC): Where are we now regarding diagnostics and control strategies? [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2018, 65(1): 49–71.
- [3] HANSSON I, SANDBERG M, HABIB I, et al. Knowledge gaps in control of *Campylobacter* for prevention of campylobacteriosis [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2018, 65(1): 30–48.
- [4] RAMEES TP, DHAMA K, KARTHIK K, et al. *Arcobacter*: An emerging food-borne zoonotic pathogen, its public health concerns and advances in diagnosis and control-A comprehensive review [J]. *Vet Quart*, 2017, 37(1): 136–161.
- [5] BACHOFEN C. Selected viruses detected on and in our food [J]. *Curr Clin Microbiol Rep*, 2018, 5(2): 143–153.
- [6] 王文清, 柳增善, 张玉彬, 等. 食源性人兽共患病病毒[J]. *吉林畜牧兽医*, 2008, (3): 10–14.  
WANG WQ, LIU ZS, ZHANG YB, et al. Virosis zoonosis of food source [J]. *Jilin Anim Husbandry Vet Med*, 2008, (3): 10–14.
- [7] 李向茸, 李倩, 冯若飞. 冠状病毒的研究进展[J]. *中国人兽共患病学报*, 2020, 37(1): 22–38.  
LI XR, LI Q, FENG RF. Research progress of coronaviruse [J]. *Chin J Zoonoses*, 2020, 37(1): 22–38.
- [8] POZIO E. How globalization and climate change could affect foodborne parasites [J]. *Exp Parasitol*, 2020, 208: 107807.
- [9] RYAN U, HIJJAWI N, FENG Y, et al. *Giardia*: An under-reported foodborne parasite [J]. *Int J Parasitol*, 2019, 49(1): 1–11.
- [10] CWIKLINSKI K, O'NEILL SM, DONNELLY S, et al. A prospective view of animal and human fasciolosis [J]. *Parasite Immunol*, 2016, 38(9): 558–568.
- [11] 张彦平, 李林红, 郝宗宇. 不可轻视的人兽共患病防治[J]. *河南预防医学杂志*, 2002, (1): 1–2.  
ZHANG YP, LI LH, HAO ZY. Prevention and control of zoonoses should not be taken seriously [J]. *Henan J Prev Med*, 2002, (1): 1–2.
- [12] 凌南, 范涇钰, 任建鸾, 等. 食源性人兽共患病病原活菌检测技术研究进展[J]. *中国动物检疫*, 2018, 35(10): 68–73.  
LING N, FAN LY, REN JL, et al. Research progress on detection technologies of food-borne zoonotic diseases [J]. *China Anim Health Inspect*, 2018, 35(10): 68–73.
- [13] KHAN MZH, HASAN MR, HOSSAIN SI, et al. Ultrasensitive detection of pathogenic viruses with electrochemical biosensor: State of the art [J]. *Biosens Bioelectron*, 2020, 166: 112431.
- [14] KUIJPERS LMF, CHUNG P, PEETERS M, et al. Diagnostic accuracy of antigen-based immunochromatographic rapid diagnostic tests for the detection of *Salmonella* in blood culture broth [J]. *PLoS One*, 2018, 13(3): e0194024.

- [15] BESSEDE E, ASSELINEAU J, PEREZ P, *et al.* Evaluation of the diagnostic accuracy of two immunochromatographic tests detecting *Campylobacter* in stools and their role in *Campylobacter* infection diagnosis [J]. *J Clin Microbiol*, 2018, 56(4): e01567-17.
- [16] 莫荣艳, 熊丽文, 梁惠娟, 等. 口蹄疫病毒 O 型液相阻断 ELISA 免疫抗体检测快捷方法[J]. *今日畜牧兽医*, 2021, 37(1): 16.
- MO RY, XIANG LW, LIANG HJ, *et al.* A fast method for detection of foot-and-mouth disease virus O type by liquid phase blocking ELISA [J]. *Today Anim Husb Vet Med*, 2021, 37(1): 16.
- [17] 沈锐, 杨荣荣, 王梅. 乳粉能力验证中沙门氏菌的分离鉴定和血清分型[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(13): 4514-4520.
- SHEN R, YANG RR, WANG M. Proficiency testing of isolation, identification and serotyping of *Salmonella* in milk powder [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(13): 4514-4520.
- [18] 黄伟华, 李伦, 陈超超, 等. 荧光免疫吸附法定量检测单核细胞增生李斯特菌[J]. *卫生研究*, 2019, 48(2): 279-283, 294.
- WANG WH, LI L, CHEN CC, *et al.* Fluorescence immunosorbent assay for quantitative detection of *Listeria monocytogenes* [J]. *J Hyg Res*, 2019, 48(2): 279-283, 294.
- [19] 晏许超, 周熙成, 程水连, 等. 单核增生李斯特氏菌近红外快检方法建立与应用[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(1): 255-261.
- YAN XC, ZHOU XC, CHENG SL, *et al.* Establishment and application of near-infrared rapid detection method for *Listeria monocytogenes* [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(1): 255-261.
- [20] BU T, WANG J, HUANG L, *et al.* New functional tracers-two dimensional nanosheets based immunochromatographic assay for *Salmonella enteritidis* detection [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(23): 6642-6649.
- [21] MOHAMMADI E, GOLCHIN M. Detection of *Brucella abortus* by immunofluorescence assay using anti outer membrane protein of 19 kDa antibody [J]. *Adv Clin Exp Med*, 2018, 27(5): 643-648.
- [22] PANDEY SK, VINAYAKA AC, RISHI DB, *et al.* Immuno-fluorescence based Vi capsular polysaccharide detection for specific recognition of *Salmonella enterica* serovar Typhi in clinical samples [J]. *Anal Chim Acta*, 2014, 841: 51-57.
- [23] 吴娜, 张晓峰, 帅江冰, 等. 荧光扫描法快速检测核酸分子信标标记的单增李斯特菌[J]. *微生物学报*, 2016, 56(7): 1105-1112.
- WU S, ZHANG XF, SHUAI JB, *et al.* Molecular beacon based PNA-FISH method combined with fluorescence scanning for rapid detection of *Listeria monocytogenes* [J]. *Acta Microbiol Sin*, 2016, 56(7): 1105-1112.
- [24] ROCHA R, SOUSA JM, CERQUEIRA L, *et al.* Development and application of peptide nucleic acid fluorescence in situ hybridization for the specific detection of *Listeria monocytogenes* [J]. *Food Microbiol*, 2019, 80: 1-8.
- [25] WANG H, CONG F, ZENG F, *et al.* Development of a real time reverse transcription loop-mediated isothermal amplification method (RT-LAMP) for detection of a novel swine acute diarrhea syndrome coronavirus (SADS-COV) [J]. *J Virol Method*, 2018, 260: 45-48.
- [26] ZHEN W, BERRY GJ. Development of a new multiplex real-time RT-PCR assay for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-COV-2) detection [J]. *J Mol Diagn*, 2020, 22(12): 1367-1372.
- [27] SUH SH, CHOI SJ, DWIVEDI HP, *et al.* Use of DNA aptamer for sandwich type detection of *listeria monocytogenes* [J]. *Anal Biochem*, 2018, 557: 27-33.
- [28] EL-KAFRAWY SA, EL-DALY MM, HASSAN AM, *et al.* A direct method for RT-PCR detection of SARS-COV-2 in clinical samples [J]. *Healthcare*, 2021, 9(1): 37.
- [29] 贾西帅, 左玉婷, 陈芳, 等. PCR-RFLP 检测疟原虫方法的建立和应用效果[J]. *热带病与寄生虫学*, 2020, 18(4): 211-215.
- JIA XS, ZUO YT, CHEN F, *et al.* Development and application of PCR-RFLP to *Plasmodium* detection [J]. *J Trop Dis Parasit*, 2020, 18(4): 211-215.
- [30] 胡坤敏. 三种并殖吸虫囊蚴的多重荧光定量 PCR 检测方法的建立及应用[D]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2020.
- HU KM. Establishment and application of multiple fluorescence quantitative PCR for detection of three species *Metacercariae* [D]. Beijing: Chinese Center for Disease Control and Prevention, 2020.
- [31] CARLONI E, ROTUNDO L, BRANDI G, *et al.* Rapid and simultaneous detection of *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157, and *Listeria monocytogenes* by magnetic capture hybridization and multiplex real-time PCR [J]. *Folia Microbiol*, 2018, 63(6): 735-742.
- [32] WU X, LIN H, CHEN S, *et al.* Development and application of a reverse transcriptase droplet digital PCR (RT-ddPCR) for sensitive and rapid detection of *Japanese encephalitis virus* [J]. *J Virol Method*, 2017, 248: 166-171.
- [33] YUAN X, LV J, LIN X, *et al.* Multiplex detection of six swine viruses on an integrated centrifugal disk using loop-mediated isothermal amplification [J]. *J Vet Diagn Invest*, 2019, 31(3): 415-425.
- [34] SARENGAOWA, HU W, FENG K, *et al.* An in situ-synthesized gene chip for the detection of food-borne pathogens on fresh-cut cantaloupe and lettuce [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 3089.
- [35] SHIN HH, HWANG BH, CHA HJ. Multiplex 16S rRNA-derived genobiochip for detection of 16 bacterial pathogens from contaminated foods [J]. *Biotechnol J*, 2016, 11(11): 1405-1414.
- [36] WANG X, YING S, WEI X, *et al.* Development of a gold nanoparticle-based universal oligonucleotide microarray for multiplex and low-cost detection of foodborne pathogens [J]. *Int J Food Microbiol*, 2017, 253: 66-74.
- [37] JIANG HW, LI Y, ZHANG HN, *et al.* SARS-COV-2 proteome microarray for global profiling of COVID-19 specific IgG and IgM responses [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3581.
- [38] AYDIN M, CARTER-CONGER J, GAO N, *et al.* Molecular identification of common *Salmonella* serovars using multiplex DNA sensor-based suspension array [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2018, 410(10): 2637-2646.
- [39] WITKOWSKA E, NICIŃSKI K, KORSACK D, *et al.* Nanoplasmonic sensor for foodborne pathogens detection. Towards development of iso-sers methodology for taxonomic affiliation of *Campylobacter* spp. [J]. *J Biophoto*, 2020, 13(5): e201960227.
- [40] NORDIN N, YUSOF NA, RADU S, *et al.* Development of an electrochemical DNA biosensor to detect a foodborne pathogen [J]. *J Vis Exp*, 2018, (136): 56585.
- [41] MANZANO M, VIEZZI S, MAZERAT S, *et al.* Rapid and label-free electrochemical DNA biosensor for detecting hepatitis A virus [J]. *Biosens Bioelectron*, 2018, 100: 89-95.
- [42] HE Y, REN Y, GUO B, *et al.* Development of a specific nanobody and its application in rapid and selective determination of *Salmonella enteritidis*

- in milk [J]. *Food Chem*, 2020, 310: 125942.
- [43] CHLEBICZ A, SLIZEWSKA K. *Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis* as zoonotic foodborne diseases: A review [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2018, 15(5): 863.
- [44] SLANA I, BIER N, BARTOSOVA B, *et al.* Molecular methods for the detection of *Toxoplasma gondii* Oocysts in fresh produce: An extensive review [J]. *Microorganisms*, 2021, 9(1): 167.
- [45] RIVERA D, TOLEDO V, REYES-JARA A, *et al.* Approaches to empower the implementation of new tools to detect and prevent foodborne pathogens in food processing [J]. *Food Microbiol*, 2018, 75: 126–132.
- [46] RICHTER U, BIELEC K, LESNIEWSKI A, *et al.* Dense layer of bacteriophages ordered in alternating electric field and immobilized by surface chemical modification as sensing element for bacteria detection [J]. *ACS Appl Mater Interface*, 2017, 9(23): 19622–19629.
- [47] RAMOS ICDN, RAMOS RAN, GIANNELLI A, *et al.* An additional asset for the FLOTAC technique: Detection of gastrointestinal parasites in vegetables [J]. *Acta Parasitol*, 2019, 64(2): 423–425.
- [48] LI Y, ZHENG R, WU Y, *et al.* A low-cost, automated parasite diagnostic system via a portable, robotic microscope and deep learning [J]. *J Biophoto*, 2019, 12(9): e201800410.
- [49] JUNG Y, HEO Y, LEE JJ, *et al.* Smartphone-based lateral flow imaging system for detection of food-borne bacteria *E. Coli* O157:H7 [J]. *J Microbiol Method*, 2020, 168: 105800.
- [50] WYLIE KM, WYLIE TN, BULLER R, *et al.* Detection of viruses in clinical samples by use of metagenomic sequencing and targeted sequence capture [J]. *J Clin Microbiol*, 2018, 56(12): e01123–18.
- [51] AN X, ZUO P, YE BC. A single cell droplet microfluidic system for quantitative determination of food-borne pathogens [J]. *Talanta*, 2020, 209: 120571.

(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

## 作者简介



朱宝康, 硕士研究生, 主要研究方向为药物研发与转化。

E-mail: 343438601@qq.com



徐颖华, 博士, 研究员, 主要研究方向为细菌性疫苗质量控制与微生物资源标准化研究。

E-mail: xuyh@nifdc.org.cn



卢雪梅, 博士, 副研究员, 主要研究方向为生物活性物质筛选鉴定、功能与应用研究。

E-mail: luxuemei@gdpu.edu.cn