

肉与肉制品中食源性致病微生物 快速检测技术研究进展

孙新城^{1,2,3}, 李侠颖¹, 许素月¹, 李 爽¹, 周 杰¹, 白艳红^{1,2,3*}

(1. 郑州轻工业大学食品与生物工程学院, 郑州 450001; 2. 河南省冷链食品质量与安全控制重点实验室, 郑州 450001; 3. 食品生产与安全河南省协同创新中心, 郑州 450001)

摘 要: 随着中国公民的饮食结构不断变化, 肉与肉制品在日常生活中的比例不断增加, 肉与肉制品已成为食源性疾病和公共卫生问题的重要来源。针对肉与肉制品基质复杂、致病微生物浓度低的特点, 传统的食源性微生物检测方法耗时长、操作过程复杂, 已不能满足现代食品检测的要求, 以分子生物学、免疫分析、生物传感器、核酸适配体为基础的快速检测方法发展迅速, 已经成为食源性致病微生物检测的主要方法。本文主要从分子生物学、免疫分析、生物传感器、核酸适配体检测技术等出发综述肉与肉制品中食源性致病微生物的检测方法, 并总结各检测技术的优缺点, 为开辟肉与肉制品中食源性致病微生物检测新方法提供参考。

关键词: 食源性致病菌; 快速检测; 肉与肉制品; 传感器

Research progress on rapid detection technology of foodborne pathogenic microorganisms in meat and meat products

SUN Xin-Cheng^{1,2,3}, LI Xia-Ying¹, XU Su-Yue¹, LI Shuang¹, ZHOU Jie¹, BAI Yan-Hong^{1,2,3*}

(1. College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;
2. Henan Provincial Key Laboratory of Cold Chain Food Quality Safety and Control, Zhengzhou 450001, China;
3. Food Production and Safety Henan Collaborative Innovation Center, Zhengzhou 450001, China)

ABSTRACT: With the changing diet of Chinese citizens and the increasing proportion of meat and meat products in daily life, meat and meat products have become an important source of foodborne illness and public health problems. In view of the complex matrix of meat and meat products and the low concentration of pathogenic microorganisms, the traditional detection methods of foodborne microorganisms are time-consuming and complicated, which cannot meet the requirements of modern food detection. The rapid detection methods based on molecular biology, immunoassay, biosensor and nucleic acid aptamer have developed rapidly and have become the main methods for the detection of foodborne pathogenic microorganisms. This paper mainly reviewed the detection methods of foodborne pathogenic microorganisms in meat and meat products from the perspectives of molecular biology, immunoassay,

基金项目: 河南省重大公益项目(201300110100)、河南省重点研发项目(222102520041)、河南省科技研发联合基金项目(222103810020)、河南省人社厅留学回国人员择优支持项目(2020039)、郑州市协同创新专项(2021ZDPY0202)

Fund: Supported by the Major Public Welfare Project of Henan Province (201300110100), the Key Research and Development Projects in Henan Province (222102520041), the Henan Provincial Science and Technology Research and Development Joint Fund Project (222103810020), the Preferential Support Project for Returned Overseas Students of Henan Provincial Department of Human Resources and Social Security (2020039), and the Zhengzhou Collaborative Innovation Project (2021ZDPY0202)

*通信作者: 白艳红, 博士, 教授, 主要研究方向为肉品加工及食品安全检测。E-mail: baiyanhong212@163.com

*Corresponding author: BAI Yan-Hong, Ph.D, Professor, Zhengzhou University of Light Industry, 136 Science Avenue, Zhengzhou 450002, China. E-mail: baiyanhong212@163.com

biosensor and nucleic acid aptamer detection technology, etc., and summarized the advantages and disadvantages of each detection technology, which provides references for opening up new detection methods of foodborne pathogenic microorganisms in meat and meat products.

KEY WORDS: foodborne pathogens; rapid detection; meat and meat products; sensor

0 引言

食源性疾病是一个全球性的公共卫生问题,与社会经济损失息息相关^[1]。根据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)的数据统计,全世界每年有6亿人感染食源性疾病,其中,由食源性疾病导致死亡的人数有42万人^[2]。美国疾病控制和预防中心(Centers for Disease Control, CDC)估计,美国每年有1/6人口(或4800万人)患病,128000人住院,3000人死于食源性疾病^[3]。肉类工业是食品工业的重要分支,是我国食品工业的第一大产业。肉和肉制品因营养丰富,加工流通过程中极易遭受食源性致病细菌的污染,诱发各类食源性疾病。随着中国公民的饮食结构不断变化,肉类和肉制品在日常生活中的比例不断增加,肉类和肉制品已成为食源性疾病和公共卫生问题的重要来源。我国是世界上最大的肉类生产国,据统计,2019年我国肉类总产量高达7758.8万t,居民肉类和禽类食品人均年消费量分别为26.9和10.8 kg。肉和肉制品是导致中国食源性疾病最常见的食品类别^[4],目前约25%的食品安全事件问题源自肉和肉制品行业。因此,无论是发达国家还是发展中国家,食源性微生物引发的疾病都是急需解决的头等问题,已成为日益严重的全球性公共卫生问题^[5]。

肉和肉制品中常见的食源性致病微生物主要是食源性致病菌,包括有沙门氏菌(*Salmonella*)、单核细胞增生李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*)、致病性大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)等^[6]。大多数食源性疾病是由食源性细菌引起的,其中由革兰氏阴性细菌引起的疾病占69%^[7]。食用被食源性致病细菌污染的肉和肉制品易引起恶心呕吐、腹泻、发烧、胃肠炎等病症,更甚者引发死亡。建立高效、准确、灵敏的肉和肉制品中致病菌检验检测方法,对于预防相关食源性疾病的发生和流行至关重要,也是肉制品产业高质量健康持续发展的迫切需要。然而传统的微生物检测方法检测周期长、培养鉴定过程烦琐,不能及时得出检测结果。快速检测技术因时效性强、灵敏度高、操作简便成为肉和肉制品中微生物检测的新需求,其中,以分子生物学、免疫分析、生物传感器、核酸适配体为基础的快速检测方法发展迅速,已经成为现在食源性致病微生物检测的主要方法。本文根据肉和肉制品中微生物最新检测技术的研究及应用,主要论述了分子生物学检测法、基于免疫的检测方法、传感器检

测法、核酸适配体检测技术等研究进展和应用,并总结了各种快速检测技术的优缺点,为研究新的快速检测技术提供一定的理论参考。

1 分子生物学检测法

1.1 聚合酶链式反应

聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)是根据碱基互补配对的原则在体外进行DNA扩增的一项技术,主要经过变性、退火、延伸多个循环过程,可以在短时间内实现成倍扩增目标基因的目的,增加检测目标的数量,提高检测的灵敏度^[8]。主要包括多重PCR、实时荧光定量PCR(real-time fluorescent quantitative PCR, qPCR)、数字PCR技术。

1.1.1 多重PCR

多重PCR是在普通PCR的基础上,在同一反应体系中同时加入2对或2对以上的引物,分别扩增不同的模板^[9],实现同时扩增多种DNA的目的,减少了检测步骤,具有高效性。张明娟等^[10]建立了一种多重PCR检测方法,该方法只需要简单的增菌,即可以同时检测10种食源性致病菌,对人工污染牛肉干的检出限为10 CFU/mL,灵敏度较高,整个过程不超过48 h。

多重PCR技术可以实现一次同时检测多种靶标的目的,且反应速度快、成本较低。但对引物的设计要求比较高,且仍存在特异性低、易出现假阳性现象、无法实现定量等问题^[11]。

1.1.2 实时荧光定量PCR

荧光定量PCR技术是在普通PCR反应体系中加入荧光基团标记的探针或荧光染料,根据荧光信号的强度和扩增产物呈现一定的相关关系,通过实时检测扩增过程中荧光信号的变化,实现对样品的定量分析^[12]。省去了电泳的过程,减少了操作的步骤,具有一定的高效性。ALÍA等^[13]建立的四重qPCR技术用于鉴别肉制品中4种不同血清型的单核细胞增生李斯特氏菌,能够准确区分4种不同的血清型,对于非单核细胞增生李斯特氏菌未出现扩增,具有较高的特异性,同时对4种不同血清型的单核细胞增生李斯特氏菌具有较高的灵敏度。GARRIDO-MAESTU等^[14]开发并评估了一种基于沙门氏菌噬菌体vB-SenS-PVPSE2扩增和qPCR的新方法,用于快速检测鸡肉样品中的肠炎沙门氏菌,结果表明,qPCR方法对纯病毒DNA的检出限低至0.22 fg/μL,对病毒颗粒的检出限为10³ PFU/mL。在

短暂的细菌回收步骤后,将噬菌体添加到加标的鸡样品中,包括 DNA 提取和 qPCR 的分析时间在内,10 h 就可以检测到 8 CFU/25 g。该方法可以通过寻找具有更短潜伏期的噬菌体来缩短分析时间,为了扩大方法的适用性,选择具有不同特异性的沙门氏菌噬菌体组成的噬菌体鸡尾酒将可以克服对某一特定噬菌体耐药菌株的出现。

荧光定量 PCR 技术具有灵敏度高、特异性好、自动化程度高等优点,但也存在依赖大型仪器,需要专业人员等缺点,因此无法实现在现场工作中的广泛应用此外^[15],荧光定量 PCR 在体系操作过程中易受气溶胶等的污染,容易出现假阴性或假阳性现象,造成实验结果不可靠^[16]。

1.1.3 数字 PCR

数字 PCR 是基于传统 PCR 基础上对核酸分子进行绝对定量的技术,首先将参与扩增的组分分配成许多个 PCR 反应,再对每个反应中的模板分子进行 PCR 扩增,通过荧光信号来判断反应的结果^[17]。CAPOBIANCO 等^[18]利用液滴数字 PCR 技术检测牛肉制品中的产志贺毒素大肠杆菌,该方法省略了标准曲线绘制过程,可直接实现对样品的定量检测,具有比较强的实用性。

数字 PCR 技术具有高灵敏度、高精度度、高耐受性和绝对定量的优点,已经在基因表达检测方面广泛应用。但该技术所需试剂昂贵,引物序列优化复杂,在食品安全检测方面还未广泛使用。

1.2 环介导等温扩增技术

环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)是根据目的基因的 6 个区域设计 4 条特异引物,在链置换 DNA 聚合酶的作用下,在体外 60~65℃恒温条件下扩增核酸的技术^[19]。SUDARAT 等^[20]利用 LAMP 结合双向侧流试纸的方法定量检测肉品中单核细胞增生李斯特氏菌,耗时 45 min。检出限比未经 LAMP 预富集处理的提高了 200 倍。KIM 等^[21]开发了三重环介导等温扩增技术检测鼠伤寒沙门氏菌,检出限为 2.5 pg,将其应用于人工污染的鸡肉中,通过在样品制备时加入蛋白酶 K,加热样品直接提取 DNA 做为模板,减少了食物基质对 LAMP 反应的抑制作用,可以检测到 6.4×10^1 CFU/g 的鼠伤寒沙门氏菌,该方法不需要经过复杂的预富集步骤,可以在 1 h 检测出结果。

LAMP 是一种高效率的等温扩增技术,但也存在对引物设计要求高、会出现假阳性结果,难度大的缺点;LAMP 一般扩增 300 bp 大小的片段,不适合扩增较长的片段,易被污染、产物不易回收利用^[22]。

2 基于免疫的检测方法

免疫学技术是根据抗原抗体的特异性反应会产生相应的信号,通过监测信号来判断待检样本中是否有目标物

质。主要包括酶联免疫吸附法^[23]、免疫层析法^[24]、免疫磁分离技术^[25]等。

2.1 酶联免疫吸附法

酶联免疫吸附法(enzyme-linked immuno sorbent assay, ELISA)是利用固相载体上的抗原-抗体亲和反应,对待测靶标进行识别和捕获,利用特定的酶促反应产生有色物质,最后分析样品中待检测靶标的含量^[26]。ZHAO 等^[27]构建了一种微流控蜡印纸基 ELISA 法用于快速检测牛肉中的大肠杆菌 O157:H7,检测时间少于 3 h,检出限达 10^4 CFU/mL,比常规 ELISA 的灵敏度提高了 10 倍。

酶联免疫吸附法检测快速、通量高、灵敏度高被广泛用于食物的检测,但是易造成漏检和假阳性现象,反应过程受环境因素的影响较大,而使检测结果稳定性较差^[28]。

2.2 免疫层析技术

免疫层析技术的检测原理是根据抗原-抗体的特异性免疫识别反应,使目标物被固定在特定区域,最后再通过肉眼、紫外或红外光激发、酶促反应显色等方法判定检测结果^[29]。DOU 等^[30]建立了一种基于配对抗体的夹心横向流动免疫分析法(lateral flow immunoassays, LFIA),由一种“三对一”多功能纳米复合材料介导,具有磁性黏附颜色纳米酶特性的独特组合。可以检测鸡肉样品中的高致病性大肠杆菌 O157:H7,可视化检测的检出限为 10^2 CFU/mL,检出限为 10 CFU/mL。基于该“三对一”多功能纳米复合材料的 LFIA 可以为设计新的多功能探针提供新的思路,以提高传统无标记 LFIA 的检测性能,并构建更准确和灵敏的检测系统,是一种很有前途的细菌样品检测工具。

免疫层析技术具有快速、简单、成本低等优点,适合基层单位进行各种食源性致病菌的快速筛查^[31]。该方法对酶的选择具有特定要求,需要严格筛选酶的使用。

2.3 免疫磁分离技术

免疫磁分离技术的原理是超顺磁性颗粒表面经过化学修饰,然后与目标细菌的特异性蛋白相结合制备成免疫磁珠,根据免疫磁珠与目标菌的特异性识别与捕获检测目标菌^[32]。目前,免疫磁分离技术可以和多种技术相结合,从而实现快速检测食源性致病菌的目的。FAN 等^[33]开发了一种免疫磁分离技术(immunomagnetic beads separation techniques, IMBS)和 qPCR 相结合的技术,以快速准确地检测肉类样品中的沙门氏菌、单核细胞增生李斯特氏菌和大肠杆菌 O157:H7。该方法使用新型磁珠活化剂,由羧基磁珠和亲和纯化的多克隆抗体制备细菌特异性免疫磁珠(immunomagnetic beads, IMBs)。采用多重免疫磁分离(multiplex immunomagnetic separation, mIMBS)和多重

qPCR 检测 3 种致病菌时, IMBS 和 mIMBS 都显示出高的捕获效率和良好的重复性。3 种致病菌的标准曲线在 $10^2 \sim 10^8$ CFU/mL 的浓度范围内呈线性。在没有细菌富集的情况下, 沙门氏菌、单核细胞增生李斯特氏菌和大肠杆菌 O157:H7 的检出限分别为 1.2×10^3 、 3.3×10^3 和 1.1×10^3 CFU/25 g。在 5 h 富集后, 相应的检出限分别增加到 12、33 和 11 CFU/25 g。对 160 份肉类样品评估表明, 该方法的敏感性、特异性和准确性分别为 100%、98.1% 和 98.5%。陈鑫^[34]建立了一种用适配体修饰 Fe_3O_4 @ZIF-8 作为捕获探针, 以免疫功能化的纳米金作为信号探针, 采用比色法和紫外光谱法对人工污染鸡胸肉中的单核细胞增生李斯特氏菌进行检测, 单核细胞增生李斯特氏菌的可视化检出限达到 1.2×10^3 CFU/mL, 紫外光谱法检出限低至 0.45 CFU/mL, 该双重检测方法保证了检测结果的可靠性, 同时又具有较高的灵敏度和特异性。

免疫磁分离技术能够代替常规的选择性增菌过程, 与 PCR 技术^[35]结合, 可以提高检测灵敏度, 并缩短检测时间。但是仍存在磁珠可回收利用率不高, 造成成本偏高的缺点。

3 生物传感器检测技术

生物传感器是将生物信号转换成其他信号的装置。应用较广泛的主要包括电化学生物传感器和光学生物传感器。

3.1 电化学生物传感器

电化学生物传感器是通过监测生物传感器表面电流、电位、阻抗或电导的变化实现目标物浓度的定量分析^[36]。如图 1 所示。KANAYEVA 等^[38]采用电化学生物传感器检测碎牛肉中的单核细胞增生李斯特氏菌, 通过生物素-链霉亲和素将单核细胞增生李斯特氏菌抗体偶联在纳米磁性颗粒上, 2 h 内即可以实现对样品中单核细胞增生李斯特氏菌的捕获。电化学生物传感器检测技术成本低、准确性高、小型化^[39], 但其长期稳定性和一致性还有待提高。

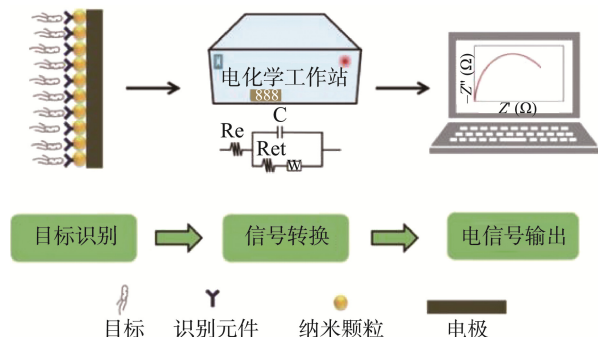


图 1 电化学生物传感器示意图^[37]

Fig.1 Electrochemical biosensor schematic diagram^[37]

3.2 光学生物传感器

光学生物传感器凭借其检测快速和高灵敏度等特点被用于食源性致病菌检测中。WU 等^[40]构建了一种基于适配体的传感器, 通过表面增强拉曼光谱(surface enhanced Raman spectroscopy, SERS)技术对宋内氏志贺氏菌进行敏感度和特异性检测。该方法合成了一种由 Eu 络合物的拉曼活性 4-巯基苯甲酸(4-mercaptobenzoic acid, 4-MBA)配体和柠檬酸盐稳定的 Au 纳米颗粒(citrate-stabilized Au nanoparticles, cit-Au-NPs)集成的复合材料, 将其用作活性底物和拉曼报告物。然后将针对宋内氏志贺氏菌的适配体修饰到这种双功能材料的表面上, 随着宋内氏志贺氏菌的引入, 适配体以高亲和力和特异性与靶标结合, 将细菌留在双功能材料上, 在实际样品鸡胸肉中, 该方法的回收率可达 92.6%至 103.8%。

生物传感器检测技术具有灵敏度高、特异性强的特点, 可广泛用于食源性致病菌的检测。其具有所需检测样本量少、检测结果灵敏度高、重复性好等优点, 但是检测费用高, 不利于推广^[41]。

4 核酸适配体检测技术

核酸适配体(aptamer)是从核酸分子库中筛选出的一种单链 DNA 或 RNA 配体, 是一段能够识别目标分子并与之结合的寡核苷酸片段。这些特异性选择的核酸序列可以结合非核酸靶点^[42], 并且具有较高的亲和力和较高的特异性。用适配体检测食源性微生物可以通过适配体针对细胞表面的一部分或整个细胞两种方法进行^[43]。LU 等^[44]开发了一种适配体侧流层析试条, 可实现对鸡肉中的鼠伤寒沙门氏菌、大肠杆菌 O157:H7 和金黄色葡萄球菌的同时检测, 该方法采用夹心形式, 将适配体 1 偶联的纳米金作为检测探针, 膜上包被的适配体 2 作为捕获探针, 在最优实验条件下, 测得沙门氏菌、大肠杆菌 O157:H7 和金黄色葡萄球菌的可视化检出限分别为 10^3 、 10^4 和 10^4 CFU/mL。该方法总体耗时小于 10 min, 且不会出现几种病原体显著的交叉反应。TASBASI 等^[45]基于适配体门控介孔二氧化硅纳米粒子(mSiO₂)构建了吸附-脱附、无标记形式的侧流层析检测方法, 可在 5 min 内检测鸡肉中的单核细胞增生李斯特氏菌, 其检出限为 53 CFU/mL, 该方法检测灵敏度高, 耗时较短。LI 等^[46]以适配体作为捕获探针修饰功能化磁珠与 cDNA 上转换纳米颗粒(upconversion nanoparticles, UCNPs)一起用作荧光信号探针, 检测猪肉中的大肠杆菌, 其检出限为 10 CFU/mL。UCNPs 被用作荧光适配体传感器中量子点和有机荧光团的可能替代品, 克服了与量子点和有机荧光团相关的光降解和闪烁限制。为适配体和 UCNPs 的联合使用提供了条件。

核酸适配体技术具有亲和力高、特异性强、易于制备和修饰等特点, 可在临床诊断、环境检测、食品安全

检测等领域广泛应用。但核酸适配体和目标物的结合一般需要在特定 pH 的缓冲溶液中进行,会增加前处理的步骤^[47]。

5 总结和展望

随着各种生物技术的不断发展,食源性致病微生物的检测技术也呈现出一定的多样性,为食源性致病微生物的检测提供了一定的技术支持,但不同的检测方法都存在有一定的优缺点^[48],分子生物学技术虽然高效,但是试剂费用较高。基于免疫学的检测方法依赖于抗原和抗体的特异性结合作用,特异性强,灵敏度高,但是抗体价格较为昂贵,筛选抗体也较为困难,需要花费较长的时间筛选所需的抗体^[49]。传感器技术检测快速、自动化程度高,但是其长期稳定性和一致性还需要进一步提高^[50]。核酸适配体技术特异性强、选择性高,但体外筛选技术耗时且成功率低^[51]。因此,在核酸适配体的应用方面还有许多问题需要解决。

综上,食源性致病微生物不同的检测技术各有优缺点,还需要进一步改进和完善。分子生物学技术可以和化学、材料等学科交叉应用,以提高分子生物学在食品检测中的应用,基于免疫学的检测方法开发出能够代替抗体的更加低廉的物质将是未来关注的焦点,将有效降低成本;传感器技术稳定性差,随着外界环境的变化,可能出现结果不一致的现象,为了解决实验结果的一致性,开发新的纳米材料,将其应用于传感器中是未来发展的趋势;核酸适配体今后的研究方向可以尝试筛选出更多的适配体,以顺应检测的需求。为解决肉品中食源性致病微生物检测耗时长、操作烦琐、灵敏度低等技术瓶颈问题,研发肉品中食源性致病微生物简单、快速、高通量、高特异性的检测技术是未来发展的趋势。

参考文献

- [1] HE SK, SHI XM. Microbial food safety in China: Past, present, and future [J]. Foodborne Pathog Dis, 2021, 18(8): 510–518.
- [2] HAVELAAR AH, KIRK MD, TORGERSON PR, *et al.* World Health Organization Global Estimates and Regional Comparisons of the burden of foodborne disease in 2010 [J]. PLoS Med, 2015, 12(12): e1001923.
- [3] SWITAJ TL, WINTER KJ, CHRISTENSEN SR. Diagnosis and management of foodborne illness [J]. Am Fam Physician, 2015, 92(5): 358–365.
- [4] LI WW, PIRES SM, LIU ZT, *et al.* Surveillance of foodborne disease outbreaks in China, 2003–2017 [J]. Food Control, 2020, 118: 107359.
- [5] ZHAO X, LIN CW, WANG J, *et al.* Advances in rapid detection methods for foodborne pathogens [J]. J Microbiol Biotechnol, 2014, 24(3): 297–312.
- [6] 李可维, 刘思洁, 赵薇, 等. 9274 份肉及肉制品食源性致病菌监测结果分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(23): 9033–9038.
- [7] LI KW, LIU SJ, ZHAO W, *et al.* Analysis of monitoring results of food-borne pathogens in 9274 meat and meat products [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(23): 9033–9038.
- [8] ENGIDAW A, GETACHEW G, MESELU A. Review on major food-borne zoonotic bacterial pathogens [J]. J Trop Med, 2020, 2020, 200: 4674235.
- [9] 冯帅博. 聚合酶链反应技术原理及应用[J]. 中国新技术新产品, 2019, (14): 17–18.
- [10] FENG SB. Principle and application of polymerase chain reaction [J]. China New Technol New Prod, 2019, (14): 17–18.
- [11] KOC Ö, KESSLER HH, HOENIGL M, *et al.* Performance of multiplex PCR and β -1,3-D-GLucan testing for the diagnosis of candidemia [J]. J Fungi, 2022, 8(9): 972.
- [12] 张明娟, 刘明明, 余秋地, 等. 十种食源性致病菌的多重 PCR 快速检测方法[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(17): 273–281.
- [13] ZHANG MJ, LIU MM, YU QD, *et al.* Multiplex PCR for rapid detection of ten foodborne pathogens [J]. Food Ferment Ind, 2022, 48(17): 273–281.
- [14] 高雯喧, 甘芝霖, 陈爱亮, 等. 核酸技术在食源性致病菌检测中的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(24): 9440–9450.
- [15] GAO WX, GAN ZL, CHEN AIL, *et al.* Research progress of nucleic acid technology in the detection of foodborne pathogens [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(24): 9440–9450.
- [16] 钱佳婕, 黄迪, 徐颖华, 等. 食源性致病微生物检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(12): 4775–4785.
- [17] QIAN JJ, HUANG D, XU YH, *et al.* Research progress of foodborne pathogenic microorganism detection technology [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(12): 4775–4785.
- [18] ALÍA A, ANDRADE MJ, CORDOBA JJ, *et al.* Development of a multiplex real-time PCR to differentiate the four major *Listeria monocytogenes* serotypes in isolates from meat processing plants [J]. Food Microbiol, 2019, 87: 103367.
- [19] GARRIDO-MAESTU A, FUCIÑOS P, AZINHEIRO S, *et al.* Specific detection of viable *Salmonella enteritidis* by phage amplification combined with qPCR (PAA-qPCR) in spiked chicken meat samples [J]. Food Control, 2019, 99: 79–83.
- [20] JOSÉ CM, ALEJANDRO GM, ANA GC. Detection of foodborne pathogens by qPCR: A practical approach for food industry applications [J]. Cogent Food Agric, 2015, 1(1): 1013771.
- [21] SHALINI M, JYAN TS, LIN TK, *et al.* Carbon nanomaterial-based electrochemical biosensors for foodborne bacterial detection [J]. Crit Rev Anal Chem, 2019, 49(6): 510–533.
- [22] 李亮, 隋志伟, 王晶, 等. 基于数字 PCR 的单分子 DNA 定量技术研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2012, 39(10): 1017–1023.
- [23] LI L, SUI ZW, WANG J, *et al.* Advances in single-molecule DNA quantification based on digital PCR [J]. Prog Biochem Biophys, 2012, 39(10): 1017–1023.
- [24] CAPOBIANCO JA, CLARK M, CARIU A, *et al.* Detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in beef products using droplet

- digital PCR [J]. Int J Food Microbiol, 2020, 319: 108499.
- [19] 范安妮, 余之蕴, 张娟, 等. 环介导等温扩增技术在食品安全检测领域的应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2018, 39(10): 330–334.
- FAN ANN, SHE ZY, ZHANG J, *et al.* Application research progress of loop-mediated isothermal amplification technology in the field of food safety detection [J]. Sci Technol Food Ind, 2018, 39(10): 330–334.
- [20] SUDARAT L, KESPUNYAVEE B, SUPATRA A, *et al.* Development of a duplex lateral flow dipstick test for the detection and differentiation of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in meat products based on loop-mediated isothermal amplification [J]. J Chromatogr B, 2019, 1139: 121834.
- [21] KIM MJ, KIM HJ, KIM HY. Direct triplex loop-mediated isothermal amplification assay for the point-of-care molecular detection of *Salmonella* genus, subspecies I, and serovar Typhimurium [J]. Food Control, 2021, 120: 107504.
- [22] 梁玉林, 刘秀, 丁梦璇, 等. 环介导等温扩增技术在典型食源性致病菌检测中的应用进展[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(18): 219–224.
- LIANG YL, LIU X, DING MX, *et al.* Application progress of loop-mediated isothermal amplification technology in the detection of typical foodborne pathogens [J]. Food Res Dev, 2017, 38(18): 219–224.
- [23] 范莉. 酶联免疫吸附法在食品检验中的实践应用研究[J]. 食品安全导刊, 2021, (27): 135–136.
- FAN L. Practical application of enzyme-linked immunosorbent assay in food inspection [J]. Chin Food Saf Magaz, 2021, (27): 135–136.
- [24] 徐颖. 胶体金免疫层析技术在食品检测中的应用研究[J]. 现代食品, 2022, 28(2): 69–71.
- XU Y. Application of colloidal gold immunochromatography in food detection [J]. Mod Food, 2022, 28(2): 69–71.
- [25] YALEI W, XIN Z, QUAN W, *et al.* Rapid and visual detection of *Staphylococcus aureus* in milk using a recombinase polymerase amplification-lateral flow assay combined with immunomagnetic separation [J]. J Appl Microbiol, 2022, 133(6): 3741–3754.
- [26] 胡子聪, 刘香云, 董华, 等. 酶联免疫吸附反应在食品安全检测中的应用研究进展[J]. 粮油与饲料科技, 2022, (3): 23–27.
- HU ZC, LIU XY, DONG H, *et al.* Research progress on the application of enzyme-linked immunosorbent assay in food safety detection [J]. Grain, Oil Feed Technol, 2022, (3): 23–27.
- [27] ZHAO YN, ZENG DX, YAN C, *et al.* Rapid and accurate detection of *Escherichia coli* O157:H7 in beef using microfluidic wax-printed paper-based ELISA [J]. Analyst, 2020, 145(8): 3106–3115.
- [28] 尚丛珊. 食源性致病菌单增李斯特菌检测技术的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(14): 4702–4707.
- SHANG CS. Research progress on detection technology of foodborne pathogen *Listeria monocytogenes* [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(14): 4702–4707.
- [29] 姚帮本, 闫超, 姚丽, 等. 食源性致病菌快速检测方法研究进展[J]. 分析测试学报, 2021, 40(5): 617–627.
- YAO BB, YAN C, YAO L, *et al.* Research progress on rapid detection methods of foodborne pathogens [J]. J Instrum Anal, 2021, 40(5): 617–627.
- [30] DOU LN, BAI YC, LIU MG, *et al.* ‘Three-To-One’ multi-functional nanocomposite-based lateral flow immunoassay for label-free and dual-readout detection of pathogenic bacteria [J]. Biosens Bioelectron, 2022, 204: 114093.
- [31] 李宏, 付冠艳, 付淑君, 等. 胶体金免疫层析技术在食源性致病菌快速检测中的应用[J]. 食品与机械, 2013, 29(3): 261–264.
- LI H, FU GY, FU SJ, *et al.* Application of colloidal gold immunochromatography in rapid detection of foodborne pathogens [J]. Food Mach, 2013, 29(3): 261–264.
- [32] 赫晓霞, 李静雯, 杜美红, 等. 基于免疫磁分离技术的尿液HIV抗体高敏感性检测方法建立[J]. 中国艾滋病性病, 2021, 27(10): 1059–1064.
- HE XX, LI JW, DU MH, *et al.* Establishment of urine HIV antibody high sensitivity detection method based on immunomagnetic separation technology [J]. China Aids Std, 2021, 27(10): 1059–1064.
- [33] FAN W, GAO XY, LI HN, *et al.* Rapid and simultaneous detection of *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes* in meat using multiplex immunomagnetic separation and multiplex real-time PCR [J]. Eur Food Res Technol, 2022, 248(3): 869–879.
- [34] 陈鑫. 基于Fe₃O₄@ZIF-8磁分离的单增李斯特菌双识别高灵敏检测方法研究[D]. 郑州: 郑州轻工业大学, 2022.
- CHEN X. Highly sensitive detection method of *Listeria monocytogenes* based on Fe₃O₄@ZIF-8 magnetic separation [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University of Light Industry, 2022.
- [35] SOYOUNG L, JINHEE K, SEWOOK O. Combination of filtration and immunomagnetic separation based on real-time PCR to detect foodborne pathogens in fresh-cut apple [J]. J Microbiol Meth, 2022, 201: 106577.
- [36] 钟丽琪, 郭亚辉, 曹进, 等. 食源性致病菌检测技术的研究概述[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(13): 4387–4393.
- ZHONG LQ, GUO YH, CAO J, *et al.* Overview of research on detection technology of foodborne pathogens [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(13): 4387–4393.
- [37] ZHANG RY, BELWAL T, LI L, *et al.* Nanomaterial-based biosensors for sensing key foodborne pathogens: Advances from recent decades [J]. Compr Rev Food Sci Food Saf, 2020, 19(4): 1465–1487.
- [38] KANAYEVA DA, WANG RH, RHOADS D, *et al.* Efficient separation and sensitive detection of *Listeria monocytogenes* using an impedance immunosensor based on magnetic nanoparticles, a microfluidic chip, and an interdigitated microelectrode [J]. J Food Protect, 2012, 75(11): 1951–1954.
- [39] WANG L, WANG HS, HUANG SQ. Electrochemical sensor for detecting streptomycin in milk based on label-free aptamer chain and magnetic adsorption [J]. Food Chem, 2023, 403: 134399.
- [40] WU SJ, DUAN N, HE CX, *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.
- [41] HUO B, HU Y, GAO Z, *et al.* Recent advances on functional nucleic acid-based biosensors for detection of food contaminants [J]. Talanta, 2021, 222: 121565.
- [42] 崔妍, 白亚龙, 史贤明. 核酸适配体在金黄色葡萄球菌检测中的应用进展[J]. 食品工业科技, 2021, 42(21): 1-7.
- CUI Y, BAI YL, SHI XM. Application of aptamers in detection of *Staphylococcus aureus* [J]. Sci Technol Food Ind, 2021, 42(21): 1-7.
- [43] PANIEL N, NOGUER T. Detection of *Salmonella* in food matrices, from conventional methods to recent aptamer-sensing technologies [J]. Foods, 2019, 8(9): 371.
- [44] LU CX, GAO XX, CHEN Y, *et al.* Aptamer-based lateral flow test strip for the simultaneous detection of *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* [J]. Anal Lett, 2020, 53(4): 646-659.
- [45] TASBASI BB, GUNER BC, SUDAGIDAN M, *et al.* Label-free lateral flow assay for *Listeria monocytogenes* by aptamer-gated release of signal molecules [J]. Anal Biochem, 2019, 587: 113449.
- [46] LI HH, AHMAD W, RONG YW, *et al.* Designing an aptamer based magnetic and upconversion nanoparticles conjugated fluorescence sensor for screening *Escherichia coli* in food [J]. Food Control, 2020, 107: 10761.
- [47] JYOTI K J, PRAGYA S, UTPAL B. Recent developments in application of nucleic acid aptamer in food safety [J]. Food Control, 2023, 145: 109406.
- [48] 傅志丰, 周鹤, 张国利, 等. 食源性致病菌和腐败菌的快速检测方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(3): 859-865.
- FU ZF, ZHOU H, ZHANG GL, *et al.* Research progress on rapid detection methods of foodborne pathogens and spoilage bacteria [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(3): 859-865.
- [49] HESSAMADDIN S, REZA MM, PEGAH K, *et al.* State of the art: Lateral flow assays toward the point-of-care foodborne pathogenic bacteria detection in food samples [J]. Compr Rev Food Sci Food Saf, 2022, 21(2): 1868-1912.
- [50] ZHOU X, WEI ZL, LI LL, *et al.* Metal organic frame-upconverting nanoparticle assemblies for the FRET based sensor detection of bisphenol a in high-salt foods [J]. Front Bioeng Biotech, 2020, 8: 626269.
- [51] SULIMAN K, ARIF H, HOSSEIN F, *et al.* A review on the therapeutic applications of aptamers and aptamer-conjugated nanoparticles in cancer, inflammatory and viral diseases [J]. Arab J Chem, 2022, 15(2): 103626.

(责任编辑: 郑 丽 张晓寒)

作者简介



孙新城, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品安全检测与评价。
E-mail: biosxc@126.com



白艳红, 博士, 教授, 主要研究方向为肉品加工及食品安全检测。
E-mail: baiyanhong212@163.com