

生物传感器在食源性致病菌检测中的应用

张捷¹, 陈广全¹, 乐加昌², 张惠媛¹, 顾德周¹, 唐茂芝³, 王佩荣², 汪琦¹, 张昕¹

(1. 北京出入境检验检疫局, 北京 100026; 2. 中国科学院生物物理研究所, 北京 100101;

3. 国家认监委认证认可技术研究所, 北京 100020)

摘要:目前传统的检测食源性致病菌的方法主要依赖培养基对存活的细胞进行选择分离和传代,虽然这种方法很有效,但其检测周期长、程序复杂等缺点已经不能满足现代检测的要求。随着科学技术不断发展,特别是免疫学、生物化学、分子生物学的不断发展,人们已经建立了不少快速、简便、特异、敏感、低耗的检测技术。本文对应用生物传感器对食源性致病菌检测方法的发展及其前景进行了综述。

关键词:生物传感器,食源性致病菌,快速检测

Biosensors and its application in foodborne pathogens detection

ZHANG Jie¹, CHEN Guang-quan¹, YUE Jia-chang², ZHANG Hui-yuan¹, GU De-zhou¹, TANG Mao-zhi³,
WANG Pei-rong², WANG Qi¹, ZHANG Xin¹

(1. Beijing Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Beijing 100026, China;

2. Institute of Biophysics Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

3. China Certification and Accreditation Institute, Beijing 100020, China)

Abstract: At present the traditional methods of detection of foodborne pathogens depends on the survival of the cell culture medium selective isolation and passage, although this method is very effective, but the testing cycle is long, complicated procedures and other shortcomings can not meet the requirements of modern detection. With the continuous developments of science and technology, especially in immunology, biochemistry, molecular biology, people have established a number of rapid, simple, specific, sensitive, low cost detection technology. This article on biosensors on the detection of foodborne pathogen in the development and future were reviewed.

Key words: biosensor; foodborne pathogen; rapid detection

中图分类号: TS207.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2011)10-0453-05

近年来食品安全得到了世界各国的普遍关注,但是由微生物、化学物质以及毒素污染而导致食源性疾病的暴发仍然是许多国家共同存在的问题。目前,许多微生物检测方法都可以检测出食品中常见的病原菌,但大多依赖于传统的培养法,耗时耗力,完成一次检测通常需要几天的时间。这样不仅增加了实验室的工作量,而且也不利于食品工业中生产流程的监测、终产品的质量的控制以及政府部门对食品安全的管理和控制。随着生物技术的进步,在食品检测领域也出现了许多比传统方法更加快捷、敏感性更强的新技术。这些快速方法主要利用微生物学、

化学、生理学、分子生物学、免疫学以及血清学原理对细菌进行早期诊断,并对分离物的性状进行测定。本文对利用生物传感技术进行食源性病原菌的检测进行了综述性介绍。

1 生物传感器简介

生物传感器是利用生物物质作为识别元件,将生化反应转变成可定量的物理、化学信号,从而能够进行生命物质和化学物质检测和监控的装置。生物传感器技术是发展生物技术必不可少的一种先进的检测方法,也是物质分子水平的快速、微量分析方法。各种生物传感器有以下共同的结构:包括一种或数种相关生物识别元件及能把生物活性表达的信号转换为电信号的物理或化学换能器(信号转换器件),二者组合在一起,用现代微电子和自动化仪表技术进行生物信号的再加工,构成各种可以使用的生物传感器分析装置、仪器和系统。生物识别

收稿日期: 2011-05-09

作者简介: 张捷(1965-),男,博士,高级工程师,研究方向:食品检测和食品安全评价。

基金项目: 国家质检总局科技计划项目(2011IK191)。

元件可能是一种组织、生物膜、微生物、有机体、细胞、酶、抗体、抗原或核酸等。信号转换器件可能是一种或多种光学的、电化学的、热敏的、压电的、磁性的技术组合。生物传感器可以根据生物识别元件以及信号转换器件的种类进行分类。图1显示了生物传感器的分类。

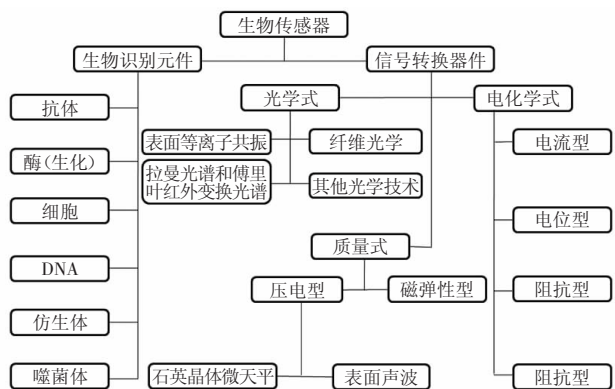


图1 生物传感器的分类

近年来,生物传感器已经在医学诊断、食品营养、环境监测、国防工业及人类卫生保健等诸多领域中得到了广泛的应用。

2 生物传感器按识别元件分类及检测应用

生物识别元件及生物识别成分是生物传感器的特异性的关键。生物识别元件是利用生物化学原理进行识别的一类生物物质。生物识别元件通常分为5个不同的种类,包括抗体/抗原、酶、核酸/DNA、细胞、仿生体和噬菌体,其中酶、抗体以及核酸被广泛地使用。

2.1 抗体生物识别元件

抗体通常作为生物识别元件应用到生物传感器中。抗体可以是单克隆、多克隆或是重组体,它们常被固定在检测器的表面、附近位置或是运输载体上^[1]。抗体能够与抗原特异性结合,这种独特的抗体性质使免疫传感器成为一种强大的分析工具,即使是在背景物质大量存在的情况下,也可以使用作为特异性探针的抗体去识别和匹配存在的目标分析物。共价修饰抗体在很多情况下能够满足特定目的检测的需要。在食源性病原菌检测领域,以制备抗体为传感元件的生物传感器近年来时有报道,如表面等离子共振(SPR)^[2]、光纤生物传感器^[3]、磁共振传感器^[4]以及免疫传感器^[5]等。

2.2 酶生物识别元件

利用酶作为生物识别元件的生物传感器有着良好的应用前景,因为它们具有专一性和高效性。选择性酶和合适的底物结合能为工作电极提供足够的电子转移。在病原菌检测领域,酶作为生物识别元件不仅具有高度的特异性,而且酶的催化活性能增强检测食源性病原菌的能力及灵敏度。由于酶标技术的改善,酶标抗原和抗体得到了广泛的应用。酶的优点是高灵敏性、直接可视性以及稳定性,但是它还存在如检测步骤多、来自内源性酶的干扰等缺点。酶免疫试剂稳定、灵敏、不会对人类健康产生危害。许多酶检测是可视的,成本低,减少了繁杂设备的使用。

有3种酶通常应用到ELISA法——碱性磷酸酶、辣根过氧化物酶(HRP)以及 β -半乳糖苷酶。在过去20年里,有不少研究人员利用酶做标记的免疫系统进行食品的病原菌检测。2005年,Chemburu利用辣根过氧化物酶(HRP)标记抗体,采用高分散碳原子夹心免疫分析对食源性病原菌如李斯特菌、大肠杆菌以及空肠弯曲菌进行了检测^[6]。

2.3 核酸生物识别元件

近年来DNA生物传感器与生物芯片技术得到了不断的完善,在病原菌检测中,核酸生物识别元件可以利用有机体遗传物质的碱基配对进行识别目标分析物。由于每个机体都有自己独特的DNA序列,任何的微生物自我复制都可以容易地检测出来。以核酸作为生物识别元件的生物传感器具有简便、快速及低成本的特点,因此,在病原菌检测上得到了广泛的运用。与酶或者抗体生物识别元件相比,核酸生物识别元件可以快速合成及再生。DNA损伤是影响核酸生物识别的一个非常重要的因素,对有毒化学物质的检测可能会改变DNA的结构或碱基序列而导致DNA不可逆的损伤,进而干扰DNA的复制,影响检测结果。以核酸为基础的生物传感器在检测食源性致病菌方面已有较多的研究,可以用来检测大肠杆菌O157:H7^[7]、沙门氏菌^[8]以及空肠弯曲杆菌^[9]等。DNA杂交微阵列技术可以在食品检测中快速、高通量的检测病原微生物。

2.4 噬菌体识别元件

从过去十年的研究来看,酶、抗体以及核酸等作为生物分子识别元件被使用并且各有利弊。近年来,噬菌体作为生物识别元件开始用于各种病原微生物的检测。这些噬菌体是一些能与细菌表面特异的感受器相连的病毒,它能够将核酸注入细菌的内部进而使细菌发生感染。噬菌体通过它们的尾部尖端的蛋白质识别细菌,由于识别是高度特异性的,因此它被用来进行细菌分型并开创了特定病原菌检测技术的发展途径。研究者们利用以噬菌体作为生物识别元件的不同传感平台对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌^[10]、炭疽芽孢杆菌孢子^[11]进行了检测。

3 生物传感器按信号转换器件分类及检测应用

信号转换器件在生物传感器检测中起到非常重要的作用。生物传感器可以根据信号转换方式进行分类。对于食源性病原菌的检测,在过去的10年多的研究里,尽管有一些新型的信号转换器件不断地被开发并应用在生物传感器中,但是像光学式、电化学式以及质量式等流行和通用的信号转换方式仍被广泛使用。

3.1 以光学为基础的生物传感器

光学生物传感器具有灵敏度高和选择性强的特点,在病原菌的检测领域得到了广泛的应用。以光学为基础的检测根据吸收、反射、折射、色散、红外、拉曼光谱、化学发光、荧光以及磷光等分为许多亚类。然而,上述所有亚类都需要一个合适的光谱仪去记录分析物的光谱特性。最常用的光学检测技术是表面等离子体共振和荧光技术,这是由于它们所具有

的灵敏度决定的。光纤通道、激光、棱镜以及波导等光学技术也经常运用到病原菌检测领域。

3.1.1 拉曼光谱和傅里叶变换红外光谱仪 拉曼光谱以及傅里叶变换红外光谱等振动光谱常用于全生物指纹识别技术中。然而,在进行任何全生物指纹识别技术之前都要对被分析的物质进行前期富集以达到一定的数量。以光散射技术为基础的拉曼光谱学已经运用到病原菌快速检测中。Schmilovitch利用一个带有785nm二极管激光器分光光度计可以检测到革兰氏阴、阳性菌的存在^[12],能清楚地区分含菌和非含菌的样品。利用同样的系统能在悬液液中检测2%的细菌浓度。表面增强拉曼光谱技术能够放大正常信号强度若干倍的特性使得前增菌程序简化。Grow使用表面增强拉曼散射显微镜(SERS)进行标记转换取得了很好的进展。研究表明,利用通过单一生物收集的SERS指纹标记通常可以鉴定革兰氏阳性李斯特菌、革兰氏阴性军团菌——芽孢杆菌孢子以及隐孢子虫卵囊的亚种/类。他们证实了利用 μ SERS能够分别对病原菌进行鉴定,甚至可以在杂菌状态下检测出目标病原菌。

傅里叶变换红外光谱(FT-IR)是一种在食源性病原菌检测领域中非常有潜力的非损毁分析技术。Yu在研究包括沙门氏菌在内的8种不同微生物的生物区分以及定量分析中进一步完善了傅里叶变换红外光谱技术^[13]。

3.1.2 表面等离子共振 表面等离子共振 (SPR) 是一种利用反射光谱进行病原菌检测的常见方法。SPR能够检测到折光率微小的变化状态。病原菌的直接标记检测也可以利用此种方法。利用SPR技术的生物传感器可以对如单增李斯特菌^[14]、沙门氏菌^[15]、大肠杆菌O157:H7^[16]以及空肠弯曲菌^[15]的食源性病原菌检测。利用SPR技术进行监控和识别病原菌的商用光生物传感器被广泛用于食源性病原菌检测领域,如Spreeta™生物传感器被用来检测大肠杆菌O157:H7, BIACORE 3000用来检测单增李斯特菌^[17]和沙门氏菌^[18]。Waswa对使用Spreeta™生物传感器进行大肠杆菌O157:H7进行了研究,他们对样品进行实时处理并在样品被注入30min后得到了结果,大肠杆菌O157:H7的检测灵敏度是 $10^2 \sim 10^3$ CFU/mL。这种生物传感器只对大肠杆菌O157:H7有特异检出效果,对大肠杆菌K12和志贺氏菌没有产生任何显著的变化。一个好的生物传感器必须有从一个复杂的混合物中检测出目标分析物的能力。Taylor的研究表明,多通道SPR生物传感器可以从复杂的混合物中同时检测出多种目标分析物^[15]。

3.1.3 光导纤维 基于全内反射(TIR)原理,光导纤维可以用来传输光。由于光通过光纤或波导管传输时对环境非常敏感,利用光导纤维制作的检测器广泛地运用于食品病原菌的检测等领域。在检出限方面,光纤生物传感器可以达到与先进的大型台式仪器相当的效果^[19]。利用此项技术对李斯特菌^[20]、沙门氏菌^[21]、大肠杆菌O157:H7^[22]以及梭状芽孢杆菌^[23]的检测已有报道。

光纤生物传感器能减少存在于复杂基质食品中PCR抑制剂的影响,通过光纤生物传感器能够快速地从复杂基质中检测出病原菌。Simpson和Lim提出的方法缩短了检测的时间,对于大肠杆菌O157:H7从原来的10h减少到2h,利用光纤波导不需要进行培养和富集的步骤^[24]。2002年,Ye对生物传感器进行了进一步的研究,将化学发光反应细胞、光纤光导和光度计连接到电脑上,结合免疫磁性分离对大肠杆菌O157:H7进行快速检测。利用这种生物传感器可以在1.5h内检测浓度限量为 1.8×10^2 CFU/mL的大肠杆菌O157:H7。同样,商用光纤传感器也已用于食源性致病菌的检测领域中了,如便携式自动生物传感器RAPTOR检测食品中的肠炎沙门氏菌^[21]。

3.2 以电化学为基础的生物传感器

以电化学为基础的检测方式可以对食源性病原菌进行定性和定量的检测。基于对观察到的参数,如电流、电压、阻抗以及电导传感器被分为电流、电压、阻抗以及电导型。科学家们已经研究了利用不同的电化学生物传感方法对食源性病原菌进行检测。此类检测方法的优点在于低成本、能够检测污浊的样品、检测仪器的小型便携化,但是与光学检测相比其灵敏度和选择性具有一定的限制^[25]。电化学生物传感器还可以和其他传感技术结合以增强检测能力。

3.2.1 安培检测 安培传导法用于病原菌检测的非常普遍的电化学检测方法,此法比电位法具有更高的灵敏性。以安培为基础的传感器检测电势体现在分析物产生的电流上。1962年,Clark和Lyons对于在电极中产生成正比浓度的氧化电极进行了研究,此类传感器为最简单的电流型生物传感器的代表^[26]。很多科学家利用安培检测法对例如大肠埃希氏O157:H7^[27-28]、沙门氏菌^[27]、单增李斯特菌^[28]以及空肠弯曲菌^[28]等食源性致病菌进行了研究。

Reymond开发了当传感器是一个综合样品采集系统或分析物的测量装置时对于微流控传感器中分析物的存在、数量以及浓度的检测的安培检测方法^[29]。微流控传感器中充满了用于被测的样品,安培法通过产生的电势可直接间接地去检测分析物。不同的分析物利用产生的氧化和/或还原电势而被检测出来。在此方法中,综合工作电极上电势的产生和相关电流的检测在2~10s之间就能完成,连续的安培检测的弛豫时间间隔在1~60s之间。

3.2.2 电位检测 以检测电位为基础的生物识别过程是一个电位信号转换的过程。通常使用高阻抗电压表在两个电极接近零电流时测量电势差或电动势能。由于电位反应产生对数级浓度信号,因此,这种技术可以检测到非常微小的浓度变化。目前用于病原菌检测的电位生物传感器种类较少,如光寻址电位传感器(LAPS)^[30]。Ercole研究了以发光二极管为基础的生物传感电位交替(PAS)系统检测蔬菜食品中的大肠杆菌^[31]。发光二极管作为转换器件用于检测由于大肠杆菌抗体共轭所产生的NH₃的变化所引起的pH的变化。通过PAB体系和传统CFU法进行液相系统分析。研究显示,PAS系统与常规方法进行比较

具有灵敏和快速的特点,在分析时间大约1.5h内能够检测出浓度为10cells/mL的细菌,比常用的CFU方法减少10到20倍的检测时间。

3.2.3 阻抗检测 最近几年,将阻抗和生物识别技术整合在一起检测病原菌,引发了阻抗生物传感器的迅速发展和广泛应用^[32]。阻抗转换技术已应用于检测各种食源性病原菌。电化学阻抗谱(EIS)在生物传感器的发展中起着重要的作用。EIS是一种广泛应用的技术,可以用来探索在导电聚合物表面的生物分析间的相互作用,通过电阻转换来研究“无标记”分析物的检测^[33]。虽然EIS相对于安培法或电势法来说能够进行无标记检测,但是它的检出限要比传统法还低。Yang使用又合微电极作为阻抗传感器用于快速检测沙门氏菌活菌^[34]。在鼠伤寒沙门氏菌的生长过程中,记录了四个频率(10、100Hz,1、10kHz)下阻抗对菌体生长时间的阻抗生长曲线。结果表明直至菌体细胞数量达到 $10^5 \sim 10^6$ CFU/mL,阻抗都没有改变。利用电子扫描显微镜观察附着在电极表面的细菌,发现它对电阻的测量有一定的影响。

3.2.4 电导检测 大多数的反应涉及到离子种类、浓度的改变,从而导致了电导或电流的改变。通常,电导传感器包括两个分开一定距离的金属电极,交流电通过两个电极形成电流。在生物识别部分,离子组成的改变和金属电极之间电导的变化被测量出来。Muhammad-Tahir和Alocilja开发了一种电导传感器用于食源性病原菌如大肠杆菌O157:H7、沙门氏菌的检测^[35]。据报道,该方法的最低检出限为 7.9×10^4 CFU/mL,检出时间在10min以内,同时该法具有特异性好、灵敏度高、容量小以及接近实时监测装置的优点。Pal等人开发了一种直接电荷转移电导传感器用于食品中蜡样芽孢杆菌的检测^[36]。该生物传感器利用了夹层免疫分析的原理,通过导电聚苯胺与电子电荷流半自动相连,以此产生电信号,对食品样品中菌体浓度的检出范围为35~88CFU/mL,检出时间为6min。该传感器由于具有快速、灵敏度高及易用性的特点,使得它成为一种在食品供应链保护上的快速检测方法。

3.3 质量敏感生物传感器

质量敏感生物传感器适合于非常灵敏的检测,它的转换基于质量的微小改变。质量分析的主要方式取决于所利用的压电晶体。使用在特定频率下的电信号使晶体发生振动,振动的频率不仅取决于对晶体施加的电频率,而且依赖于晶体的质量。因此,当质量增加就会导致化学连接、晶体振动频率的改变,这个改变可以通过电来测量并应用于质量增加的晶体的检测。石英常用作普通的压电材料,基于质量的传感器主要有两种类型:体波(BW)或石英晶体微天平(QCM);表面声波(SAW)。压电式传感器的表面用抗体涂布后放在一个含有病原菌的溶液中,目标物就会附着在表面涂布的抗体上,结果导致了晶体质量的增加,这带来了一个相应的频移。基于质量的检测比较容易操作,符合成本效益,并提供了灵敏度和特异性都较高的直接无标记分析。但是,压电传

感器与电化学及光学生物传感器相比则很少用于食源性病原菌的检测。Vaughan等人利用QCM免疫传感器检测单增李斯特菌的检出限为 1×10^7 cells/mL^[37]。Chen等人研究了利用表面声波(SAW)来快速检测鼠伤寒沙门氏菌、大肠杆菌O157:H7^[38]。

4 展望

由于食源性病原菌在数百万的细菌中只占很少的一部分(<100CFU/g),所以很难对它们进行检测^[29]。因此在检测过程中,这些细菌有更多的机会不被检测出来。这就需要开发一种可靠、快速、灵敏、有选择性以及成本可行的检测技术。此外,它还能够对样品中病原菌有一个低浓度的检出限,以及适合于实时监测。例如,利用 F_0F_1 -ATPase分子马达连接上不同的基因探针,可以实现对不同病原菌快速、特异性、高通量的检测。像这样的病原菌检测技术能为食品加工和制造业带来巨大的商业价值。通过生物传感器快速检测微生物病原菌,可以使被检食品在数小时内进入市场,同时也无需传统的冷冻储存环节。

近年来生物传感器技术发展迅速,随着微加工技术和纳米技术的进步,生物传感器将不断的微型化,各种便携式生物传感器的出现使在市场上直接检测食品成为可能。生物传感器还将与计算机紧密结合,自动采集、处理数据,实现采样、进样、结果的连续完成,形成检测的自动化系统。生物传感器技术的不断进步,必然要求不断降低产品成本,提高灵敏度、稳定性和寿命,这些特性的改善也会加速生物传感器市场化、商品化的进程。

参考文献

- [1] Lazcka O, Del Campo FJ, Munoz FX. Pathogen detection: a perspective of traditional methods and biosensors [J]. Biosens Bioelectron, 2007, 22: 1205-1217.
- [2] Taylor AD, Ladd J, Yu QM, et al. Quantitative and simultaneous detection of four foodborne bacterial pathogens with a multi-channel SPR sensor[J]. Biosens Bioelectron, 2006, 22: 752-758.
- [3] Lim DV. Detection of microorganisms and toxins with evanescent wave fiber-optic biosensors [J]. Proc IEEE, 2003, 91: 902-907.
- [4] Guntupalli R, Hu J, Lakshmanan RS, et al. A magnetoelastic resonance biosensor immobilized with polyclonal antibody for the detection of *Salmonella typhimurium* [J]. Biosens Bioelectron, 2007, 22: 1474-1479.
- [5] Tokarskyy O, Marshall DL. Immunosensors for rapid detection of *Escherichia coli* O157: H7-perspectives for use in the meat processing industry[J]. Food Microbiol, 2008, 25: 1-12.
- [6] Chemburu S, Wilkins E, Abdel-Hamid I. Detection of pathogenic bacteria in food samples using highly-dispersed carbon particles [J]. Biosens Bioelectron, 2005, 21: 491-499.
- [7] Chen SH, Wu VCH, Chuang YC, et al. Using oligonucleotide-functionalized aunanpaicles to rapidly detect foodborne pathogens on a piezoelectric biosensor [J]. J Microbiol Methods, 2008, 73: 7-17.
- [8] Lermo A, Campoy S, Barbe J, et al. *In situ* DNA amplification

- with magnetic primers for the electrochemical detection of food pathogens[J]. *Biosens Bioelectron*, 2007, 22: 2010–2017.
- [9] Uyttendaele M, Bastiaansen A, Devere J. Evaluation of the NASBA® nucleic acid amplification system for assessment of the viability of *Campylobacter jejuni* [J]. *Int J Food Microbiol*, 1997, 37: 13–20.
- [10] Balasubramanian S, Sorokulova IB, Vodyanoy VJ, et al. Lytic phage as a specific and selective probe for detection of *Staphylococcus aureus*—A surface plasmon resonance spectroscopic study[J]. *Biosens Bioelectron*, 2007, 22: 948–955.
- [11] Huang S, Li S-Q, Yang H, et al. Optimization of phage-based magnetoelastic biosensor performance[J]. *Sens Transducers*, 2008, 3: 87–96.
- [12] Schmilovitch Z, Mizrach A, Alchanatis V, et al. Detection of bacteria with low-resolution Raman spectroscopy[J]. *Trans ASAE*, 2005, 48: 1843–1850.
- [13] Yu CX, Irudayaraj J, Debroy C, et al. Spectroscopic differentiation and quantification of microorganisms in apple juice[J]. *J Food Sci*, 2004a, 69: S268–272.
- [14] Bhunia AK, Geng T, Lathrop A, et al. Optical immunosensors for detection of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enteritidis* from food/Bennedsen BS, CHEN YR, Meyer GE, et al[J]. *Monitoring Food Safety, Agriculture, and Plant Health*, 2004: 1–6.
- [15] Taylor AD, Ladd J, Yu QM, et al. Quantitative and simultaneous detection of four foodborne bacterial pathogens with a multi-channel SPR sensor [J]. *Biosens Bioelectron*, 2006, 22: 752–758.
- [16] Meeusen CA, Alocilja EC, Osburn WN. Detection of *E-coli* 0157: H7 using a miniaturized surface plasmon resonance biosensor [J]. *Trans ASAE*, 2005, 48: 2409–2416.
- [17] Leonard P, Hearty S, Quinn J, et al. A generic approach for the detection of whole *Listeria monocytogenes* cells in contaminated samples using surface plasmon resonance [J]. *Biosens Bioelectron*, 2004, 19: 1331–1335.
- [18] Bokken G, Corbee RJ, Van Knapen F, et al. Immunochemical detection of *Salmonella* group B, D and E using an optical surface plasmon resonance biosensor [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2003, 222: 75–82.
- [19] Monk DJ, Walt DR. Optical fiber-based biosensors[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2004, 379: 931–945.
- [20] Strachan NJC, Gray DI. A rapid general-method for the identification of PCR products using a fiberoptic biosensor and its application to the detection of *Listeria*[J]. *Lett Appl Microbiol*, 1995, 21: 5–9.
- [21] Morgan MT, Kim G, Ess D, et al. Binding inhibition assay using fiber-optic based biosensor for the detection of foodborne pathogens [J]. *Advanced Nondestructive Evaluation I, Pts 1 and 2, Proceedings*, 2006: 1145–1150.
- [22] DeMarco DR, Lim DV. Detection of *Escherichia coli* 0157: H7 in 10- and 25-gram ground beef samples with an evanescent-wave biosensor with silica and polystyrene waveguides[J]. *J Food Prot*, 2002, 65: 596–602.
- [23] Ogert RA, Brown JE, Singh BR, et al. Detection of *Clostridium botulinum* toxin—a using a fiber optic-based biosensor [J]. *Anal Biochem*, 1992, 205: 306–312.
- [24] Simpson JM, Lim DV. Rapid PCR confirmation of *E. coli* 0157: H7 after evanescent wave fiber optic biosensor detection [J]. *Biosens Bioelectron*, 2005, 21: 881–887.
- [25] Vijayalakshmi Velusamy, Khalil Arshak, Olga Korostynska, et al. An overview of foodborne pathogen detection: In the perspective of biosensors [J]. *Biotechnology Advances*, 2010, 28: 232–254.
- [26] Clark LC, Lyons C. Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 1962, 10: 29–45.
- [27] Abdel-Hamid I, Ivnicki D, Atanasov P, et al. Flow-through immunofiltration assay system for rapid detection of *E-coli* 0157: H7[J]. *Biosens Bioelectron*, 1999, 14(a): 309–316.
- [28] Chemburu S, Wilkins E, Abdel-Hamid I. Detection of pathogenic bacteria in food samples using highly-dispersed carbon particles[J]. *Biosens Bioelectron*, 2005, 21: 491–499.
- [29] Reymond F, Rossier JS, Morier P. Amperometric detection method for determining presence, amount, or concentration of analyte in microfluidic sensor by filling microfluidic sensor with sample to be analyzed, and performing amperometry to detect the analyte[P]. WO2007115694-A2; WO2007115694-A3.
- [30] Ercole C, Del Gallo M, Mosiello L, et al. *Escherichia coli* detection in vegetable food by a potentiometric biosensor[J]. *Sens Actuat B Chem*, 2003, 91(a): 163–168.
- [31] Ercole C, Del M, Mosiello L, et al. *Escherichia coli* detection in vegetable food by a potentiometric biosensor[J]. *Sens Actuat B Chem*, 2003, 91(b): 163–168.
- [32] Yang L, Bashir R. Electrical/electrochemical impedance for rapid detection of foodborne pathogenic bacteria [J]. *Biotechnol Adv*, 2008, 26: 135–150.
- [33] Tully E, Higson SP, Kennedy RO. The development of a ‘Labelless’ immunosensor for the detection of *Listeria monocytogenes* cell surface protein, Internalin B [J]. *Biosens Bioelectron*, 2008, 23: 906–912.
- [34] Yang LJ, Li YB, Griffis CL, et al. Interdigitated microelectrode (IME) impedance sensor for the detection of viable *Salmonella typhimurium*[J]. *Biosens Bioelectron*, 2004, 19: 1139–1147.
- [35] Muhammad-Tahir Z, Alocilja EC. A conductometric biosensor for biosecurity[J]. *Biosens Bioelectron*, 2003, 18: 813–819.
- [36] Pal S, Ying W, Alocilja EC, et al. Sensitivity and specificity performance of a direct-charge transfer biosensor for detecting *Bacillus cereus* in selected food matrices [J]. *Biosys Eng*, 2008, 99: 461–468.
- [37] Vaughan RD, O’Sullivan CK, Guilbault GG. Development of a quartz crystal microbalance (QCM) immunosensor for the detection of *Listeria monocytogenes*[J]. *Enzyme Microb Technol*, 2001, 29: 635–638.
- [38] Chen H, Barbaree JM. Effects of physiologic conditions on the rapid detection of *Salmonella typhimurium* with an acoustic wave sensor [J]. *Abstr Gen Meet Am Soc Microbiol*, 2002, 102: 361.