

## 综述

## 分子印迹技术在致病菌检测中的应用进展

蒋卉, 刘新梅, 冯敬敬, 杨军

(南京市食品药品监督检验院, 江苏南京 211198)

**摘要:** 分子印迹技术是一种模拟酶-底物或抗体-抗原之间的相互作用, 以目标物为模板, 合成具有专一识别性能的人工受体的技术。前期研究对象多为农药、兽药等有机小分子及蛋白质类生物大分子。近年来, 研究已拓展到超大“分子”——细胞, 特别是细菌印迹在致病菌快速检测领域应用前景广阔。本文介绍了分子印迹技术的原理、细菌印迹模板的选择及印迹聚合物的制备方法, 并总结了分子印迹技术在致病菌检测中的应用, 并对其应用前景做出了展望。

**关键词:** 分子印迹技术; 细菌印迹; 致病菌检测

中图分类号: R155

文献标识码: A

文章编号: 1004-8456(2022)04-0842-06

DOI: 10.13590/j.cjfh.2022.04.033

**Recent advances of molecular imprinted technology in the detection of pathogenic bacteria**

JIANG Hui, LIU Xinmei, FENG Jingjing, YANG Jun

(Nanjing Institute for Food and Drug Control, Jiangsu Nanjing 211198, China)

**Abstract:** Molecular imprinting technology is a kind of technology that simulates the interaction between enzyme - substrate or antibody - antigen and synthesizes artificial receptors with specific recognition performance using target as template. In the early stage, the research objects were mostly small organic molecules including pesticides and veterinary drugs, and biological macromolecules including proteins. In recent years, researches have been extended to super-large "molecules" - cells, especially bacterial imprinting with a broad application prospect in the field of rapid detection of pathogenic bacteria. This paper introduces the principle of molecular imprinting technology, the selection of bacterial imprinting template and the preparation method of imprinted polymers. The application of molecular imprinting technology in the detection of pathogenic bacteria is summarized. Finally, the application prospect of molecular imprinting technology in the detection of pathogenic bacteria is discussed.

**Key words:** Molecular imprinting technology; bacteria imprinting; pathogenic bacteria detection

## 1 分子印迹技术原理

分子印迹技术(Molecular imprinting technology, MIT)是通过模拟酶-底物、抗原-抗体之间的特异性相互作用, 以特定的目标分子为模板, 合成具有专一识别性能的人工受体的技术, 能够对目标物进行

特异性识别。分子印迹聚合物(Molecular imprinted polymers, MIPs)制备过程是模板和功能单体在溶液中相互作用形成预聚合复合物, 加入交联剂和引发剂聚合, 通过洗脱步骤将模板从聚合物中移除, 得到与模板互补的识别腔。分子印迹聚合物自50年前被提出以来, 在合成路线和应用方面都得到了广泛的发展。

与天然受体相比, 分子印迹聚合物是一种人工受体, 具有耐高温、稳定性好、制备简便、快速、低成本、可重复使用、贮存寿命长等优点<sup>[1]</sup>, 已经被广大科研工作者广泛地应用于生物传感、色谱分离、药物分析检测、固相萃取及催化合成等诸多领域。小分子<sup>[2-5]</sup>、多肽甚至蛋白质<sup>[6-9]</sup>的分子印迹早已建立, 在科学研究和商业产品(如Merck的SupelMIP固相萃取)中有许多例子, 但细胞(包括细菌、哺乳动物

收稿日期: 2022-02-12

基金项目: 国家重点研发计划“食品安全关键技术研发”重点专项(2019YFC1605400, 2019YFC1605402); 2021年度江苏省科协青年科技人才托举工程项目(093); 江苏省重点研发计划(BE2022684); 国家市场监督管理总局技术保障专项(2022YJ08)

作者简介: 蒋卉 女 高级工程师 研究方向为食源性致病菌检测  
E-mail: wnjianghui@163.com

通信作者: 杨军 男 研究员级高级工程师 研究方向为食品微生物检测  
E-mail: yj711003@sina.com

细胞、酵母、藻类等)这类复杂模板结构是分子印迹最具挑战性的目标。在过去 20 年,为实现这一目标,国内外科研工作者做出了很多努力。其中,细菌印迹技术发展迅速,并成功应用于抗(杀)菌材料<sup>[10-13]</sup>、细菌分离<sup>[14-15]</sup>、传感检测<sup>[16-17]</sup>、细菌生长周期监测<sup>[18-19]</sup>等领域。

## 2 细菌印迹模板的选择及印迹聚合物的制备方法

目前细菌印迹模板的选择有两类:基于整个细胞和基于细胞表面化学成分。早期的细菌印迹策略是以整个细胞为模板。1996 年, AHERNE 等<sup>[20]</sup>和 ALEXANDER 等<sup>[21]</sup>尝试以单核细胞增生李斯特菌、金黄色葡萄球菌为模板,使用细胞光刻技术来制备对细菌有亲和力的聚合物,首次报道了基于整个细胞合成分子印迹膜。该技术只针对细菌尺寸和形态的特征,而不涉及细菌表面化学。此外,这一开创性研究并没有开展重新结合实验,以表现细菌印迹选择性。随后,基于细胞表面蛋白质、糖类等特定分子成分的表位印迹也相继出现。制备细菌印迹的功能单体种类繁多,例如吡咯导电聚合物、聚氨酯层、自组装单分子层、溶胶-凝胶等。

### 2.1 整个细胞印迹

基于整个细胞的细菌印迹聚合物是通过细菌表面形态和化学特性(蛋白表达、细菌外膜的碳水化合物官能团<sup>[22]</sup>、氢键<sup>[23]</sup>等)来识别不同细菌的<sup>[24]</sup>。尤其当细菌形状大小类似时,化学特性对细菌的识别起到决定性作用<sup>[25]</sup>。REN 等<sup>[26]</sup>以金黄色葡萄球菌、大肠杆菌等为模板,采用压印技术合成基于整个细胞的细菌印迹聚二甲基硅氧烷膜。印迹膜表面识别腔的物理形状与模板菌匹配,可选择性结合模板菌。进一步硅烷化处理印迹膜表面后,印迹膜则无法优先选择性结合模板菌,但仍存在较弱的组间选择性。这说明在基于整个细胞的细菌印迹聚合物对细菌的识别中,化学识别起主要作用,物理识别起次要作用。

#### 2.1.1 本体印迹

在本体印迹中,将模板菌与单体、交联剂、引发剂和溶剂一起加入预聚合混合物中。在聚合和模板去除之后,整个聚合物基体中留下均匀分布的空腔,这种方法更适合于印迹相对较小的分子<sup>[27]</sup>。细菌的尺寸限制了细菌进入聚合物基质的运输。COHEN 等<sup>[28]</sup>尝试利用有机改性二氧化硅(ORMOSILS)的薄溶胶-凝胶膜,对具有不同形态和表面化学的细菌整个细胞进行了印迹。形成的具有互补空腔的印迹膜能够识别目标细菌,具有较高的吸附亲和力和选择性,实现了水中细菌的检测。

#### 2.1.2 表面印迹

表面印迹是在聚合物表面产生模板印迹空腔的同时形成薄膜聚合物,识别位点处于聚合物表面,模板洗脱容易。该技术的主要缺点是印迹的形成与可用表面有关,这就限制了结合位点的范围。但表面印迹技术更适合于制备大分子甚至超大“分子”印迹聚合物,例如蛋白质、病毒、细菌等。以整个细胞为模板合成细菌印迹的表面印迹技术主要有压印技术、自组装、成型技术、Pickering 乳液聚合等。

##### 2.1.2.1 压印技术

压印技术是将模板固定在由硅树脂等材料制成的印章上,同时在固体基板表面涂上一层半固化的聚合物层,将印章轻轻压在聚合物层上,模板能够使聚合物变形,并在交联过程中与聚合物相互作用。固化聚合物后,移除印章并洗脱模板,留下印迹空腔。

FU 等<sup>[15]</sup>利用玻片优异的吸附性能,采用 Pickering 乳液聚合技术将副溶血性弧菌涂覆在玻片表面,制作细菌印章。印章制作过程无需施加任何额外的压力,不仅可以保持细菌的形态,而且操作简单、方便,易于实现。采用微接触压印法在玻片表面制备副溶血性弧菌印迹聚二甲基硅氧烷(Polydimethylsiloxane, PDMS)膜,通过 1H, 1H, 2H, 2H-全氟辛基三乙氧基硅烷改性 PDMS 膜降低印迹膜表面的非特异性吸附。印迹 PDMS 膜对副溶血性弧菌的捕获效率可达 62.9%。基于 1H, 1H, 2H, 2H-全氟辛基三乙氧基硅烷改性 PDMS 印迹膜的固相萃取结合聚合酶链反应和琼脂糖凝胶电泳,对鲜牡蛎样品中副溶血性弧菌的检出限为  $10^4$  CFU/mL。该技术为致病菌的分离、鉴定和分析提供了新途径。

REN 等<sup>[29]</sup>将土垢分枝杆菌悬液涂于玻片表面制备模板菌印章,将印章压印于涂有聚二甲基硅氧烷预聚合物(单体/交联剂=10:1)的玻片,随后剥离模板玻片,清洗得到印迹膜。构建的微流控芯片传感器可选择性检测目标细菌。

##### 2.1.2.2 自组装

与“经典”分子印迹法一样,模板可与含有单体、交联剂和引发剂的溶剂混合。在共聚物交联过程中,模板通过自组装过程中的共价或非共价作用与单体相互作用。移除模板后,印迹空腔能够特异性地重新结合靶标。这些聚合物通常作为薄层沉积在传感器芯片上,或者作为纳米或微珠的外壳。

CHEN 等<sup>[30]</sup>将多巴胺和大肠杆菌 O157:H7 通过三电极体系在电极表面形成电聚合膜,然后用超纯水、5% 乙酸/SDS(wt)洗脱模板菌,结合量子点标

记的模板菌多抗,得到聚多巴胺印迹膜改性的电致化学发光传感器,选择性较好,检出限为 8 CFU/mL。

JIANG 等<sup>[31]</sup>(本课题组)将沙门氏菌与吡咯单体混合成预聚合液,循环伏安法在丝网印刷工作电极表面电聚合聚吡咯膜,依次用溶菌酶、5% SDS(w/V)处理,过电位移除模板菌形成印迹空腔,制备基于自驱动 PET 芯片的印迹电化学传感器,对沙门氏菌检出限为 100 CFU/mL。

### 2.1.2.3 成型技术

成型技术是将模板固定在固体基板上,同时制备一种合适的聚合物并沉积在模板层的顶部。聚合物完全覆盖模板,并在交联过程中与模板表面的官能团(—OH、—COOH、—NH<sub>2</sub>等)相互作用。固化后,剥离聚合物,移除模板,形成柔性印迹聚合物层。

HUI 等<sup>[10]</sup>将 PDMS 单体和交联剂的混合物在涂有大肠杆菌或枯草芽孢杆菌的玻璃片上固化一夜,PDMS 膜完全固化后从玻璃片表面剥离,在水中超声去除模板菌,得到细菌印迹空腔,然后沉积平行手指电极阵列。所制备的细菌印迹芯片能够在低直流电压作用下选择性捕获目标细菌,并在 10 min 内将其杀死。

QI 等<sup>[32]</sup>采用电沉积技术在铜锡氧化物电极上包覆壳聚糖和还原氧化石墨烯片的纳米复合膜,硫酸盐还原菌作为模板,通过物理吸附固定在此复合膜上。然后,用 1% 壳聚糖溶液(wt)在该膜上电聚合。用丙酮和去离子水从壳聚糖层中去除硫酸盐还原菌模板,得到细菌印迹层。阻抗谱显示,细菌印迹层能够选择性地与硫酸盐还原菌结合。

### 2.1.2.4 Pickering 乳液聚合

Pickering 乳液是以固体颗粒(胶体尺寸)为稳定剂的乳液。固体颗粒稳定存在于油-水界面上,因此 Pickering 乳液的稳定性优于一般乳液。由于模板分子被固定于固体颗粒表面,基于 Pickering 乳液聚合的分子印迹属于表面印迹,形成的识别位点在聚合物表面,适合大分子分子印迹。并且细菌的尺寸与胶体尺寸接近,具有趋向于油-水界面的性质<sup>[33]</sup>。

SHEN 等<sup>[34]</sup>以大肠杆菌和藤黄微球菌为模板,通过静电作用将含有丙烯基的壳聚糖自组装到细菌表面,得到的修饰后细菌作为稳定剂在水相中制备交联单体(油相)乳液。自由基引发(引发剂在油相中)聚合、洗脱模板,在聚合物表面得到细菌印迹空腔,可特异性识别目标细菌。

GONG 等<sup>[12]</sup>以大肠杆菌和表皮葡萄球菌为模板,用丙烯酸酯功能化聚乙烯亚胺涂覆细菌表面,将被涂覆的细菌作为稳定剂构建 O/W 型 Pickering

乳液。将疏水性 Ag 纳米粒子(抗菌)引入交联单体组成的油相中。经油相聚合得到细菌印迹微球。该微球作为一种抗菌材料,可以选择性地捕获和破坏细菌。

## 2.2 表位印迹

表位是被免疫系统识别的大分子的一部分,特别是被抗体、B 细胞或 T 细胞识别。受此启发,RACHKOV 等<sup>[7,35]</sup>通过印迹能代表整个蛋白质的短肽序列,创造了一种新的蛋白质印迹方法,合成的聚合物不仅能识别小肽模板,还能识别整个蛋白质。这种方法被命名为“表位印迹”。在细菌印迹中,表位印迹也被用来替代整个细胞印迹。用于印迹的小片段集中在细胞表面的特定分子成分,如蛋白质、脂类、糖类及其衍生物等。

### 2.2.1 蛋白质

KUSHWAHA 等<sup>[36]</sup>以麻风分枝杆菌表位序列 LDIYTTLARDMAAIP 为模板,将其与 3-甲基丙烯酸磺丙基钾盐、甲基丙烯酸苄酯、4-氨基噻吩单体混合,加入引发剂进行聚合,通过反复超声和离心收集聚合物纳米粒子。利用可电聚合单体(4-氨基噻吩),将聚合纳米粒子电聚合到 EQCM 电极的金表面,然后用 25 mmol/L pH 7.3 PBS 缓冲液提取模板,获得细菌表位印迹。基于该表位印迹构建的 EQCM 传感器检出限为 0.161 nmol/L,可以在血液中细菌含量处于最低水平的早期检测细菌。

一种表位印迹方法被用来建立针对幽门螺杆菌的阿莫西林给药系统<sup>[37-38]</sup>。在该系统中,模板为一段改良的 Lpp20 表位序列,这是幽门螺旋杆菌特有的一种膜脂蛋白。在反相微乳液聚合过程中,采用亲脂链共轭的方法来保证模板处于纳米聚合物表面。

潘俊等<sup>[39-40]</sup>以幽门螺杆菌表面抗原片段 NQA 为模板,利用反相微乳液聚合法制备的表面分子印迹纳米粒可特异性结合幽门螺杆菌。PAN 等<sup>[41]</sup>、薛秀恒等<sup>[42]</sup>以金黄色葡萄球菌表面特征蛋白 A 为模板,利用反相悬浮聚合法制备的聚丙烯酰胺印迹微球对目标细菌的吸附量可达 10<sup>3</sup>~10<sup>4</sup> CFU/g。

### 2.2.2 糖类

GAVRILA 等<sup>[11]</sup>以铜绿假单胞菌脂多糖为模板,功能有机硅为单体,通过溶胶-凝胶法制备了分子印迹聚合物薄膜。使用该薄膜净化后,废水中革兰氏阴性菌(总大肠菌群和大肠杆菌 O157:H7)减少了 90%。

KINOSHITA 等<sup>[43]</sup>以肠出血性大肠杆菌 O157 脂多糖(即 O 抗原)为模板,在带有热响应性的 N-异丙基丙烯酰胺-金纳米“核-壳”粒子表面制备印迹。该

印迹材料能够特异性识别目标细菌,对大肠杆菌 O157 的选择性比其他类型大肠杆菌(如大肠杆菌 O26 和大肠杆菌 O Rough)的 15 倍。

### 3 分子印迹技术在致病菌检测中的应用

目前,基于实验室的致病菌检测采用标准抗体分析和 PCR 方法。细胞培养仍然是鉴定致病菌种类的标准技术,但通常需要 24~48 h,这取决于目标细菌的生长速度。这些方法通常需要较高的技术水平和复杂的样品制备。因此,需要开发新颖、快速、可靠的致病菌分析检测方法。细菌印迹在致病菌快速检测中实现了广泛应用。

#### 3.1 电化学

ROUSHANI 等<sup>[44]</sup>用多巴胺单体与鲍曼不动杆菌模板进行电聚合,在玻碳电极表面制备了印迹聚合物。构建的基于聚多巴胺分子印迹聚合物的电化学传感器检测鲍曼氏杆菌的线性范围为  $10^2\sim 10^7$  CFU/mL,检出限为 30 CFU/mL。该传感器检测人血清样品中鲍曼不动杆菌的回收率为 99.3%~106.8%。

WANG 等<sup>[45]</sup>以金黄色葡萄球菌为模板,3-噻吩乙酸为功能单体,在金电极表面原位电沉积制备聚合膜,使用 SDS/HAc(5%,w/V)洗脱模板菌,制备细菌印迹导电聚 3-噻吩乙酸薄膜阻抗传感器。该传感器在 10 min 内实现了金黄色葡萄球菌的快速识别,检出限为 2 CFU/mL,线性范围为  $10\sim 10^8$  CFU/mL。该传感器具有较好的选择性、通用性和重复性。

#### 3.2 石英晶体微天平

SCHNETTELKER 和 LIEBERZEIT<sup>[46]</sup>将大肠杆菌模板压入旋涂有聚氨酯预聚合层的石英晶体微天平传感界面,待聚合物硬化后移除模板,获得一种通过原位聚合法制备的细菌印迹聚合物,该传感器可在 3 min 内检测  $1.4\times 10^8$  cells/mL 的大肠杆菌。

TOKONAMI 等<sup>[16]</sup>利用电化学聚合、过电位后得到过氧化聚吡咯分子印迹膜,制备石英晶体微天平传感器,可在 3 min 内完成对绿脓杆菌的特异性检测,检出限为  $10^3$  CFU/mL,实际样品苹果汁的检测浓度范围为  $10^7\sim 10^9$  CFU/mL。

#### 3.3 表面等离子体共振

ERDEM 等<sup>[17]</sup>利用聚合物基质与细菌表面抗原上的特定氨基酸相互作用,将细菌的特定区域作为指纹进行检测。将 N-甲基丙烯酰基-(L)-组氨酸-甲酯单体和粪肠球菌模板混合配置预聚合物,采用两相乳液法制备粪肠杆菌印迹纳米颗粒,即以聚乙烯醇(Polyvinyl alcohol, PVA)和十二烷基硫酸钠(Sodium dodecyl sulfate, SDS)为稳定剂和表面活性

剂,通过溶解法制备第一相;第二相为单体相,以甲基丙烯酸羟乙酯(Hydroxyethyl methacrylate, HEMA)和乙二醇二甲基丙烯酸酯(Ethylene glycol dimethacrylate, EGDMA)为共单体和交联剂;第二相加入到第一相中得到乳液;预聚合物与乳液混合制备聚合物;用 0.1 mol/L NaCl 溶液作为解吸剂,从聚合物中移除粪肠杆菌。将粪肠杆菌印迹纳米颗粒溶液滴加到表面等离子体共振传感器表面,并旋涂均匀,UV 固化 30 min,并在 40 °C 的烘箱中孵育一夜,以稳定固定。建立基于表面等离子体传感器的无标签分子指纹策略,可用于检测水和海水样品中的粪肠杆菌,检出限为 100 cells/mL。

PERÇİN 等<sup>[47]</sup>将固定有甲型副伤寒沙门氏菌的玻璃片压印在涂抹甲基丙烯基氨基组氨酸功能单体溶液的芯片上,通过氮气条件下 UV 聚合,制备用于甲型副伤寒沙门氏菌检测的分子印迹表面等离子体共振传感器,检出限为  $1.4\times 10^6$  CFU/mL。

#### 3.4 荧光

GUO 等<sup>[48]</sup>以金黄色葡萄球菌为模板,用聚二甲基硅氧烷制备了细菌印迹膜并修饰 1H, 1H, 2H, 2H-全氟辛基三乙氧基硅烷。通过柠檬酸盐功能铜团簇与多巴胺稳定的金纳米粒子之间的静电相互作用,构建了荧光共振能量转移平台。当金黄色葡萄球菌存在时,1H, 1H, 2H, 2H-全氟辛基三乙氧基硅烷修饰的聚二甲基硅氧烷细菌印迹膜能精确捕获目标细菌;随后,带负电荷的细菌与柠檬酸功能铜团簇竞争,并与多巴胺稳定的金纳米颗粒结合,导致柠檬酸功能铜团簇的荧光恢复。整个检测过程在 135 min 内完成,线性范围为  $10\sim 1\times 10^7$  CFU/mL,检出限为 11.12 CFU/mL,猪肉样品中加标回收率为 97.7%~101.90%。

GUO 等<sup>[49]</sup>以金黄色葡萄球菌为模板,首次将壳聚糖衍生物与聚二甲基硅氧烷结合压印制备双组分细菌印迹复合膜。壳聚糖天然优异的吸附性能,增强了对金黄色葡萄球菌的吸附。通过还原 Au(III)盐,合成具有聚集诱导发光(Aggregation-induced emission, AIE)功能的带正电荷的 Au(I)-二硫化物纳米粒子,实现了金黄色葡萄球菌的定量。构建的荧光传感器检出限低至 6.9 CFU/mL,应用于患者尿液、湖水和牛奶实际样品的检测,加标回收率为 99.6%~102.7%。

ZHAO 等<sup>[50]</sup>以单核增生李斯特菌为模板,采用水包油 Pickering 乳液聚合法合成了一种具有水溶性 CdTe 量子点的新型分子印迹聚合物。首先用丙烯酰功能化壳聚糖和量子点处理单核增生李斯特菌,形成细菌-壳聚糖网络为水相。然后将其稳定在

由交联剂、单体和引发剂组成的水包油乳液中,在嵌入 CdTe 量子点的微球表面形成识别位点。由此产生的 MIP 微球能够通过识别空腔选择性地捕获目标细菌。在目标细菌存在的情况下通过淬灭进行可视化荧光检测,实现单核增生李斯特菌的定性检测,最低检出限为  $10^3$  CFU/mL,应用于牛奶和猪肉实际样品的检测。

#### 4 展望

基于分子印迹技术的致病菌检测不需要样品前处理,简化了分析过程,识别检测速度快,检测材料稳定性好,非常适用于致病菌的现场即时检测。未来,将基于分子印迹技术的致病菌检测与便携式检测装备相结合,联合开发快速检测产品,应用于食品安全快速检测、环境监测、生物样品分析等领域,可提升致病菌现场检测能力,为市场监管现场执法提供技术支持。

#### 参考文献

- [ 1 ] KARRAT A, LAMAOU A, AMINE A, et al. Applications of chitosan in molecularly and ion imprinted polymers[J]. *Chemistry Africa*, 2020, 3(3): 513-533.
- [ 2 ] PAN J M, CHEN W, MA Y, et al. Molecularly imprinted polymers as receptor mimics for selective cell recognition[J]. *Chemical Society Reviews*, 2018, 47(15): 5574-5587.
- [ 3 ] HUANG C, WANG H W, MA S J, et al. Recent application of molecular imprinting technique in food safety[J]. *Journal of Chromatography A*, 2021, 1657: 462579.
- [ 4 ] JIANG H, JIANG D L, SHAO J D, et al. Magnetic molecularly imprinted polymer nanoparticles based electrochemical sensor for the measurement of gram-negative bacterial quorum signaling molecules (N-acyl-homoserine-lactones) [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2016, 75: 411-419.
- [ 5 ] WANG X L, QIAO X G, MA Y, et al. Simultaneous determination of nine trace organophosphorous pesticide residues in fruit samples using molecularly imprinted matrix solid-phase dispersion followed by gas chromatography [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(16): 3821-3827.
- [ 6 ] BOSSI A, BONINI F, TURNER A P F, et al. Molecularly imprinted polymers for the recognition of proteins: the state of the art[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2007, 22(6): 1131-1137.
- [ 7 ] RACHKOV A, MINOURA N. Towards molecularly imprinted polymers selective to peptides and proteins. The epitope approach [J]. *Biochimica et Biophysica Acta: BBA-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 2001, 1544(1-2): 255-266.
- [ 8 ] ERDŐSSY J, HORVÁTH V, YARMAN A, et al. Electro synthesized molecularly imprinted polymers for protein recognition [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2016, 79: 179-190.
- [ 9 ] BERGMANN N M, PEPPAS N A. Molecularly imprinted polymers with specific recognition for macromolecules and proteins [J]. *Progress in Polymer Science*, 2008, 33(3): 271-288.
- [ 10 ] HUI L W, CHEN J, KAFLEY P, et al. Capture and kill: Selective eradication of target bacteria by a flexible bacteria-imprinted chip [J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2021, 7(1): 90-95.
- [ 11 ] GAVRILA A M, ZAHARIA A, PARUCH L, et al. Molecularly imprinted films and quaternary ammonium-functionalized microparticles working in tandem against pathogenic bacteria in wastewaters [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 399: 123026.
- [ 12 ] GONG H Y, HAJIZADEH S, LIU W F, et al. Imprinted polymer beads loaded with silver nanoparticles for antibacterial applications [J]. *ACS Applied Bio Materials*, 2021, 4(3): 2829-2838.
- [ 13 ] MANKAR J S, SHARMA M D, RAYALU S S, et al. Molecularly imprinted microparticles (microMIPs) embedded with reduced graphene oxide for capture and destruction of *E.coli* in drinking water [J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2020, 110: 110672.
- [ 14 ] BEZDEKOVA J, ZEMANKOVA K, HUTAROVA J, et al. Magnetic molecularly imprinted polymers used for selective isolation and detection of *Staphylococcus aureus* [J]. *Food Chemistry*, 2020, 321: 126673.
- [ 15 ] FU K Y, ZHANG H W, GUO Y Y, et al. Rapid and selective recognition of *Vibrio parahaemolyticus* assisted by perfluorinated alkoxy silane modified molecularly imprinted polymer film [J]. *RSC Advances*, 2020, 10(24): 14305-14312.
- [ 16 ] TOKONAMI S, NAKADOI Y, TAKAHASHI M, et al. Label-free and selective bacteria detection using a film with transferred bacterial configuration [J]. *Analytical Chemistry*, 2013, 85(10): 4925-4929.
- [ 17 ] ERDEM Ö, SAYLAN Y, CIHANGIR N, et al. Molecularly imprinted nanoparticles based plasmonic sensors for real-time *Enterococcus faecalis* detection [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2019, 126: 608-614.
- [ 18 ] LATIF U, CAN S, SUSSITZ H, et al. Molecular imprinted based quartz crystal microbalance sensors for bacteria and spores [J]. *Chemosensors*, 2020, 8(3): 64.
- [ 19 ] SAMARDZIC R, SUSSITZ H F, JONGKON N, et al. Quartz crystal microbalance in-line sensing of *Escherichia coli* in a bioreactor using molecularly imprinted polymers [J]. *Sensor Letters*, 2014, 12(6): 1152-1155.
- [ 20 ] AHERNE A, ALEXANDER C, PAYNE M J, et al. Bacteria-mediated lithography of polymer surfaces [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1996, 118(36): 8771-8772.
- [ 21 ] ALEXANDER C, VULFSON E N. Spatially functionalized polymer surfaces produced via cell-mediated lithography [J]. *Advanced Materials*, 1997, 9(9): 751-755.
- [ 22 ] BERS K, EERSELS K, VAN GRINSVEN B, et al. Heat-transfer resistance measurement method (HTM)-based cell detection at trace levels using a progressive enrichment approach with highly selective cell-binding surface imprints [J]. *Langmuir*, 2014, 30(12): 3631-3639.
- [ 23 ] HAYDEN O, MANN K J, KRASSNIC S, et al. Biomimetic ABO blood-group typing [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2006, 45(16): 2626-2629.
- [ 24 ] BOLE A L, MANESIOTIS P. Advanced materials for the recognition

- and capture of whole cells and microorganisms [J]. *Advanced Materials*, 2016, 28(27): 5349-5366.
- [25] BOROVIČKA J, STOYANOV S D, PAUNOV V N. Shape recognition of microbial cells by colloidal cell imprints [J]. *Nanoscale*, 2013, 5(18): 8560-8568.
- [26] REN K N, ZARE R N. Chemical recognition in cell-imprinted polymers[J]. *ACS Nano*, 2012, 6(5): 4314-4318.
- [27] KEMPE M, MOSBACH K. Separation of amino acids, peptides and proteins on molecularly imprinted stationary phases[J]. *Journal of Chromatography A*, 1995, 691(1-2): 317-323.
- [28] COHEN T, STAROSVETSKY J, CHERUTI U, et al. Whole cell imprinting in Sol-gel thin films for bacterial recognition in liquids: Macromolecular fingerprinting[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2010, 11(4): 1236-1252.
- [29] REN K N, BANAEI N, ZARE R N. Sorting inactivated cells using cell-imprinted polymer thin films[J]. *ACS Nano*, 2013, 7(7): 6031-6036.
- [30] CHEN S F, CHEN X Q, ZHANG L J, et al. Electrochemiluminescence detection of *Escherichia coli* O157:H7 based on a novel polydopamine surface imprinted polymer biosensor[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(6): 5430-5436.
- [31] JIANG H, JIANG D L, LIU X M, et al. A self-driven PET chip-based imprinted electrochemical sensor for the fast detection of *Salmonella* [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2021, 349: 130785.
- [32] QI P, WAN Y, ZHANG D. Impedimetric biosensor based on cell-mediated bioimprinted films for bacterial detection[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2013, 39(1): 282-288.
- [33] WONGKONGKATEP P, MANOPWISEDJAROEN K, TIPOSOTH P, et al. Bacteria interface pickering emulsions stabilized by self-assembled bacteria-chitosan network [J]. *Langmuir*, 2012, 28(13): 5729-5736.
- [34] SHEN X T, SVENSSON BONDE J, KAMRA T, et al. Bacterial imprinting at pickering emulsion interfaces[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2014, 53(40): 10687-10690.
- [35] RACHKOV A, HU M J, BULGAREVICH E, et al. Molecularly imprinted polymers prepared in aqueous solution selective for [Sar1, Ala8]angiotensin II[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2004, 504(1): 191-197.
- [36] KUSHWAHA A, SRIVASTAVA J, SINGH A K, et al. Epitope imprinting of *Mycobacterium leprae* bacteria via molecularly imprinted nanoparticles using multiple monomers approach [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2019, 145: 111698.
- [37] WU Z H, HOU J P, WANG Y Y, et al. Preparation and evaluation of amoxicillin loaded dual molecularly imprinted nanoparticles for anti-*Helicobacter pylori* therapy [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2015, 496(2): 1006-1014.
- [38] HAN J Y, SUN Y J, HOU J P, et al. Preliminary investigations into surface molecularly imprinted nanoparticles for *Helicobacter pylori* eradication [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2015, 5(6): 577-582.
- [39] 孙寅静. 基于表面分子印迹技术的抗幽门螺杆菌生物粘附给药系统的初步研究[D]. 上海: 复旦大学, 2011.
- SUN Y J. Preliminary studies on anti-*Helicobacter pylori* bioadhesive drug delivery system based on surface molecular imprinting technology[D]. Shanghai: Fudan University, 2011.
- [40] 韩佳颖, 侯佳朋, 王玉燕, 等. 特异性识别幽门螺杆菌的表面印迹纳米粒的研制及体外表征[J]. *中国医药工业杂志*, 2015, 46(10): 1087-1091, 1121.
- HAN J Y, HOU J P, WANG Y Y, et al. Preparation and in vitro characterization of surface imprinted nanoparticles with specific recognition of *Helicobacter pylori* [J]. *Chinese Journal of Pharmaceuticals*, 2015, 46(10): 1087-1091, 1121.
- [41] PAN J, XUE X H, WANG J H, et al. Recognition property and preparation of *Staphylococcus aureus* protein A-imprinted polyacrylamide polymers by inverse-phase suspension and bulk polymerization[J]. *Polymer*, 2009, 50(11): 2365-2372.
- [42] 薛秀恒, 潘见, 谢慧明, 等. 不同制备条件对SpA分子印迹聚合微球聚合效果的影响[J]. *电子显微学报*, 2008, 27(5): 390-394.
- PAN X H, PAN J, XIE H M, et al. Effect of different preparation condition on SpA-molecularly imprinted polymer microspheres [J]. *Journal of Chinese Electron Microscopy Society*, 2008, 27(5): 390-394.
- [43] KINOSHITA T, NGUYEN D Q, LE D Q, et al. Shape memory characteristics of O157-antigenic cavities generated on nanocomposites consisting of copolymer-encapsulated gold nanoparticles [J]. *Analytical Chemistry*, 2017, 89(8): 4680-4684.
- [44] ROUSHANI M, SARABAEGI M, ROSTAMZAD A. Novel electrochemical sensor based on polydopamine molecularly imprinted polymer for sensitive and selective detection of *Acinetobacter baumannii* [J]. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 2020, 17(9): 2407-2413.
- [45] WANG R N, WANG L L, YAN J, et al. Rapid, sensitive and label-free detection of pathogenic bacteria using a bacteria-imprinted conducting polymer film-based electrochemical sensor [J]. *Talanta*, 2021, 226: 122135.
- [46] SCHNETTELKER A, LIEBERZEIT P. A self-organisation synthesis approach for bacteria molecularly imprinted polymers[J]. *Procedia Engineering*, 2016, 168: 557-560.
- [47] PERÇIN I, IDIL N, BAKHSHPOUR M, et al. Microcontact imprinted plasmonic nanosensors: Powerful tools in the detection of *Salmonella paratyphi* [J]. *Sensors: Basel, Switzerland*, 2017, 17(6): 1375.
- [48] GUO Y Y, LI J, SONG X L, et al. Label-free detection of *Staphylococcus aureus* based on bacteria-imprinted polymer and turn-on fluorescence probes [J]. *ACS Applied Bio Materials*, 2021, 4(1): 420-427.
- [49] GUO Y Y, ZHENG Y, LIU Y J, et al. A concise detection strategy of *Staphylococcus aureus* using N-succinyl-chitosan-doped bacteria-imprinted composite film and AIE fluorescence sensor[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423: 126934.
- [50] ZHAO X L, CUI Y, WANG J P, et al. Preparation of fluorescent molecularly imprinted polymers via pickering emulsion interfaces and the application for visual sensing analysis of *Listeria monocytogenes* [J]. *Polymers*, 2019, 11(6): 984.