

综述

侧流层析技术在大肠杆菌 O157:H7 检测中的应用

田歌,蒋亦佳,张赞

(新乡医学院医学技术学院,河南新乡 453000)

摘要: 大肠杆菌 O157:H7 作为一种常见的食源性致病菌,在低感染剂量下即可导致人类患严重疾病。侧流层析技术(LFCA)由于其具有高效分离的特性,能够满足食品中大肠杆菌 O157:H7 的快速检测需求。然而,目前广泛应用的 LFCA 方法,信号强度较弱,检测灵敏度较低,难以实现样本中低浓度大肠杆菌 O157:H7 的检出。因此,本文重点整理了近年来出现的新型侧流层析技术,围绕检测效率、灵敏度进行了系统性归纳,比较各方法的优势与短板,为大肠杆菌 O157:H7 侧流层析检测技术的发展提供重要结论性指导。

关键词: 侧流层析技术; 食源性致病菌; 大肠杆菌 O157:H7; 检测; 食品安全

中图分类号: R155 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-8456(2024)01-0107-06

DOI: 10.13590/j.cjfh.2024.01.018

Review on the application of lateral flow chromatographic assay in *Escherichia coli* O157:H7 detection

TIAN Ge, JIANG Yijia, ZHANG Yun

(School of Medical Technology, Xinxiang Medical University, He'nan Xinxiang 453000, China)

Abstract: As a common foodborne pathogen, *Escherichia coli* (*E. coli*) O157:H7 can cause serious diseases in human body at low infectious doses. Lateral flow chromatographic assay (LFCA) can meet the requirement of detecting *E. coli* O157:H7 in food samples rapidly due to its efficient separation property. At present, the widely-used LFCA methods generate weak signal strength and possess low detection sensitivity, which can hardly detect low concentration of *E. coli* O157:H7. Therefore, this review focuses on the newly published LFCA literature, and a systematic induction is performed concerning the detection efficiency and sensitivity of the above studies. The advantages and disadvantages of each method are compared in this review, which will provide important conclusive guidance for the development of LFCA in *E. coli* O157:H7 detection.

Key words: Lateral flow chromatographic assay; foodborne pathogenic; *Escherichia coli* O157:H7; detection; food safety

大肠杆菌 O157:H7 是一种重要的产志贺毒素大肠杆菌血清型,其对环境温度、湿度、酸碱度有着较强的适应性,容易污染日常食物,并通过粪便-口腔在人群中传播。当大肠杆菌 O157:H7 的感染量为 10~100 个细胞时,感染者便会出现腹泻症状,若得不到及时治疗,严重时可危及生命^[1]。此外,该菌还能引起溶血尿毒综合征、严重的血性腹泻、血栓性血小板减少性紫癜等严重疾病^[2],给食品卫生和人类健康带来严峻的挑战。实现食品样本中大肠杆菌 O157:H7 的简单、快速、灵敏的检测具有重要

的科学意义和应用价值。

侧流层析技术(Lateral flow chromatographic assay, LFCA)是一种基于免疫识别/核酸杂交与标记技术的色谱系统。它使待检测物中各组分(抗原、抗体、蛋白质、核酸等)在毛细管层析作用下以不同速度移动,从而在反应基质上实现分离。LFCA 由 4 部分组成,即样品垫、结合垫、层析膜和吸水垫,将这 4 个部分叠加于支撑底板,制成 LFCA 试纸条(图 1)^[3]。其中,样品垫为经处理的纤维膜或玻璃棉,用于快速吸收待测样品,使其在毛细管作用下向结合垫方向侧向流动。结合垫为纤维膜或玻璃棉,吸附有带标记的生物活性材料,它可与待检样品溶液里的检测靶标结合形成肉眼可见的复合物。层析膜大多为硝酸纤维素(Nitrocellulose, NC)膜,它是 LFCA 的关键材料,为分析物之间的反应提供了平台,其上固定有两条或多条不同生物活性物质(如抗原或抗

收稿日期:2022-10-03

基金项目:河南省科技攻关项目(222102310310)

作者简介:田歌 女 在读研究生 研究方向为生物传感器

E-mail:tiange6892035@163.com

通信作者:张赞 男 副教授 研究方向为生物传感器

E-mail:zhangyun0126@126.com

体)喷印的“检测(Test, T)线”和“质控(Control, C)线”,用于拦截带标记的复合物,并可直观地显示检测结果。吸水垫为吸水纸板,用于吸收流过层析膜的待检样品,以平衡层析膜两边的压差,促使更多

待检样品在层析膜上侧向流动^[4]。LFCA 由于具有成本低、易操作、耗时短、结果肉眼可见及可实现现场检测等特点,在大肠杆菌 O157:H7 检测领域得到迅速的发展。

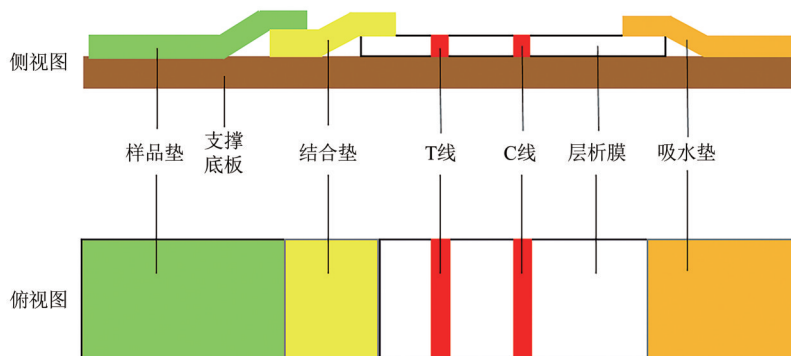


图1 LFCA 试纸条结构示意图

Figure 1 Structural diagram of LFCA test strip

LFCA 根据检测物类别可分为两大类,即基于抗原抗体的特异性反应的免疫层析和基于核酸探针和靶向探针杂交反应的核酸层析^[3]。对于免疫层析而言,常用的标记材料有 20~30 nm 的球状金纳米颗粒(Gold nanoparticles, AuNPs),但是该材料发光较弱,检测限仅为 $10^4\sim 10^6$ CFU/mL^[5-6]。为此,本文详细探讨了提高侧向免疫层析技术在大肠杆菌 O157:H7 检测中灵敏度的 3 种策略:第 1 种策略是引入新的标记材料,包括量子点^[7]、新型有色染料^[8-9]、纳米酶^[10]、光热还原氧化石墨烯^[11]、表面增强拉曼散射纳米颗粒^[12-14]等;第 2 种策略是将免疫磁分离(Immunomagnetic separation, IMS)与侧向免疫层析技术相结合^[15-17],即利用 IMS 从复杂的基质和低浓度的目标物中富集靶标;第 3 种是具有信号放大潜力的金属生长策略^[6,18-19],用于提高大肠杆菌 O157:H7 检测试纸条的效率和灵敏度。以上 3 种策略相较于基于 AuNPs 的免疫层析在性能上可提高数倍。对于核酸层析而言,其依赖的聚合酶链式反应(Polymerase chain reaction, PCR)扩增技术具有较高灵敏性和特异性,但是 PCR 技术的操作过程繁琐,且结果易出现假阳性^[4]。为此,本文又重点讨论了近几年出现的更简单、便捷的核酸层析试纸条技术。

1 基于抗原抗体特异性反应的免疫层析

1.1 引入新型标记材料

标记材料同时承担着标记抗体以及检测结果“可视化”的两大功能,对大肠杆菌 O157:H7 的检测灵敏度有着至关重要的影响。近些年来,多种新型信号标记材料被相继开发^[3],本文根据这些材料偶联方式的不同,将对应方法划分为新型标记材料直接偶联抗体法和新型标记材料转换标记对象法两

大类。

1.1.1 新型标记材料直接偶联抗体

这类方法可合成新型 AuNP 掺杂聚合物(金超粒子)^[20]来取代 AuNP 标记抗体。或是利用表面增强拉曼散射(Surface-enhanced Raman scattering, SERS)的纳米颗粒,包括用 AuMBA@Ag 纳米颗粒对抗体进行标记^[12]、将抗体负载到两层 5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)拉曼报告分子的金-银核壳纳米结构表面^[13]以及将抗体与具有良好 SERS 活性的新型金壳硅核纳米球^[14]进行连接,相比 AuNP 具有更大的发展潜力。LIU 等^[21]采用金铂双金属纳米颗粒来修饰抗大肠杆菌 O157:H7 单克隆抗体,通过负载辣根过氧化物酶,最终将大肠杆菌 O157:H7 的量转化为泡沫高度,该方法的检出限为 1.83×10^4 CFU/mL,当待测样品预孵育 8 h 后,检出限可进一步提高至 1 CFU/mL。上述方法只能检测大肠杆菌 O157:H7 单一目标菌,在实际样本检测中效率较低。因而,价格低廉、可同时检测多种致病菌的免疫分析技术引起越来越多的关注^[22]。如利用高性能的双 QD 壳层 Si@DQD,该材料表面吸附了数百个羧基量子点,大大增强了和抗体偶联性及荧光性能,并可同时分析两种目标物^[7];ZHANG 等^[23]分别合成了银纳米板和金纳米球以标记两种抗体来同时检测大肠杆菌 O157:H7 和霍乱沙门菌。

综上,以上方法均依赖双抗体夹心结构的构建,通过选用新型标记材料使灵敏度显著增加,取得了比原 AuNP 法更好的检测效果,详细指标见表 1。由表 1 可知,直接偶联抗体类的免疫层析法在检测样本上涉及肉类、牛奶等多种日常食物,对食物中致病菌的检测限低至 $1\sim 5\times 10^4$ CFU/mL,且检测时长一般在 2 h 以内。

表1 LFCA 直接偶联抗体的主要方法及技术指标

Table 1 Main methods and technical details of direct coupling antibody of LFCA

所使用的纳米材料	检测样本	检测限/(CFU/mL)	检测时长/min	相关文献
金超粒子	牛奶	5.95×10^2	—	[20]
AuMBA@Ag 纳米颗粒	鸡胸肉、牛肉、牛奶	5×10^4	15	[12]
5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)	牛奶和牛肉	10	120	[13]
(SiO ₂ /Au) 纳米球	自来水、牛奶、人尿、生菜提取物和牛肉	100	15	[14]
金铂双金属纳米颗粒	牛奶	1.83×10^4 若样品预孵育 8 h:1	8	[21]
双 QD 壳层的二氧化硅 QD 纳米珠(Si@DQD)	植物提取物、肉类提取物、牛奶和 PBS 溶液	50	15	[7]
银纳米板和金纳米球	牛奶	1.07×10^4 和 9.85×10^4	30	[23]

1.1.2 新型标记材料转换标记对象

为避免形成双抗体夹心结构所依赖的成对抗体的使用,基于新型染料与目标菌直接结合的标记对象转换策略已成为当前 LFCA 用于食源性病原体检测的研究热点。该策略只需使用单一抗体,将细菌-染料复合物固定在测试线上,以实现荧光/比色检测。例如,LIU 等^[9]利用紫胶染料对细菌的着色能力,仅用一种单克隆抗体而研制出的双向侧向流动免疫条带;HE 等^[8]选用亚甲蓝(MB)染料作为探针嵌入铈基有机骨架(UIO)内形成铈基有机骨架-亚甲蓝(UIO-MB)复合物,制备出一种依赖于单一抗体检测大肠杆菌 O157:H7 的侧流免疫层析条带,该条带还适配比色/荧光两种信号读出方式。除各种染料可与细菌结合之外,纳米材料也能作为识别剂和信号供体来有效捕获目标病原体。马丽等^[24]用功能性葡萄糖氧化酶作为信号输出材料,制成了“抗体-靶标-纳米花”复合物结构,该结构可通过可视化过氧化氢试纸条进行定性定量分析;Fe₃O₄@CuS 纳米材料具有细菌吸附能力和强光热特性,在捕获目标菌的同时引起明显的温度变化,因而形成两种读出方式^[25];聚多巴胺(Polydopamine, PDA)具有强大的黏附能力和优越的生物相容性,将其加载在磁性纳米颗粒(Fe₃O₄)上,可形成具有磁性黏附过氧化物酶模拟物活性的“三比一”多功能 Fe₃O₄@PDA@铂纳米复合材料,该材料与细菌结合后,也可通过两种方式读出结果^[26]。

以上纳米材料目前主要依靠非特异性结合能力与病原体结合,如静电黏附和疏水力。因此,它们可能会随机聚集在细菌表面,使抗原决定因子被

部分或全部掩盖,最终导致抗体对标记抗原捕获力的下降,对检测灵敏度产生不利影响。因此,有研究者利用甘露糖与大肠杆菌 O157:H7 鞭毛中 FimH 蛋白的良好亲和力将甘露糖组装到普鲁士蓝纳米粒子表面,制备出具有识别和信号指示双重功能的纳米酶^[27]。该纳米酶除了能特异性地与大肠杆菌 O157:H7 鞭毛结构结合外,还具有过氧化物酶样的活性,可通过催化作用提供一种更强的显色效果^[10]。WU 等^[28]利用对巯基苯硼酸修饰的金纳米粒子经共价键捕获革兰氏阴性菌和阳性菌的优异能力,提出一种全新的捕获抗体策略,该方法的灵敏度相比依赖于双抗夹心的传统金纳米粒法提升了 3 个数量级;另外一种十分新颖的方法是基于氧化石墨烯和量子点之间的非辐射能量转移,将氧化石墨烯作为荧光量子点的淬灭剂添加到试纸条条带,以暴露细菌^[29]。本小节涉及的检测方法技术指标详见表 2。由表 2 可知,新型标记材料转换标记对象方法在检测饮用水、肉类等多种食物样本中大肠杆菌 O157:H7 的含量时,检测限约为 $10 \sim 10^4$ CFU/mL,检测时长在 90~600 min 范围内。与直接偶联抗体法相比,转换标记对象法的最大优势是利用了能与细菌或试纸条产生有效互动并提供检测信号的材料,避免了对双抗夹心结构的依赖,因而仅需单一抗体便可完成检测。此类方法同时又具有低成本、高灵敏度和高特异性的优点。实际情况下,考虑到样品原有的颜色或荧光信号会对检测准确性与灵敏度产生不利影响,因此具备两种或者多种结果读出模式的 LFCA 方法研究也将是未来的一大热点。

表2 LFCA 转换标记对象的主要方法及技术指标

Table 2 Main methods and technical details of converting label object of LFCA

所使用的标记材料	检测样本	检测限/(CFU/mL)	检测时长/min	相关文献
紫胶染料	牛奶、面包和果冻样品	100	600	[9]
铈基有机骨架-亚甲蓝(UIO-MB)	饮用水和卷心菜	分别为: 10^3 、 10^4 (比色法); 均为 10^3 (荧光法)	90	[8]
功能性葡萄糖氧化酶	脱脂牛奶	10	—	[24]
Fe ₃ O ₄ @CuS 纳米结构	牛肉、鸡肉、牛奶和蜂蜜	分别为 10^3 、 10^2 、 10^3 和 10^2	—	[25]
三比一多功能纳米复合材料	饮用水和鸡肉	10^2 和 10^3	—	[26]
功能纳米酶	饮用水、西瓜汁、牛奶和紫甘蓝沙拉	分别为: 10^2 、 10^2 、 10^3 、 10^3	—	[10]
对巯基苯基硼酸修饰的 AuNPs	饮用水、西瓜汁、牛奶和牛肉样品	10^3	—	[28]
氧化石墨烯	肉糜牛肉和河水	178 和 133	300	[29]

1.2 引入免疫磁分离技术

免疫磁分离(Immunomagnetic separation, IMS)技术能够从复杂的食品样本基质中富集目标菌,从而显著消除背景细菌的影响。然而,结合IMS的LFCA法通常在分析待测物之前需要进行洗脱、孵育等操作步骤。为简化上述步骤,LFCA可引入具有荧光和磁性双重功能的纳米颗粒,从而达到缩短检测时间、提高检测效率、提升灵敏度等目的^[15]。CHEN等^[16]将IMS引入竞争免疫分析法,提出了一种与 β -内酰胺酶介导的级联转导系统相结合的新型层析方法检测大肠杆菌O157:H7,

灵敏度是常用LFCA的1000倍,该方法还避免了钩状效应的影响。LI等^[17]提出了一种联合IMS与荧光微球的免疫层析技术,该方法的灵敏度比常规荧光微球免疫层析法提升了33倍。上述3种检测方法的技术指标详见表3。由表3可知,结合IMS的LFCA对大肠杆菌O157:H7的检测限可达 $1.37 \times 10^2 \sim 3 \times 10^3$ CFU/mL,样本的选取上以牛奶居多,检测时长控制在1.5~15 h之内。综上,与传统的免疫层析法相比,IMS技术的引入可以使侧向免疫分析法的样品检测灵敏度得到显著提升。

表3 LFCA免疫磁分离主要方法及技术指标

Table 3 Main methods and technical details of IMS of LFCA

IMS类方法	检测样本	检测限/(CFU/mL)	检测时长/min	相关文献
基于荧光磁性纳米颗粒的免疫层析技术	牛奶	定性检出限为 2.5×10^3 ,定量检出限为 2.39×10^2	—	[15]
β -内酰胺酶介导的级联转导系统相结合的新型层析方法	牛奶	1.37×10^2	90	[16]
联合IMS与荧光微球的免疫层析法	牛肉、牛奶和水样本	3×10^3	120~900	[17]

1.3 引入具有信号放大潜力的金属生长策略

基于传统的AuNP信号标签,研究人员通过引入金属生长策略,如金属原位生长、NP积累和酶催化沉积等,来提高AuNP免疫层析的检测性能^[18]。金属原位生长策略信号放大能力强、操作简单,具有可观的实际应用潜力,其中基于金和银的金属原位生长最为常用^[6]。FU等^[6]首先利用金生长策略初步放大检测信号,随后基于第一步扩增的AuNP的过氧化物酶模拟活性,进行催化沉积以触发两级信号扩增。该方法对大肠杆菌O157:H7具有良好的检测灵敏度,比传统AuNP免疫层析性能提升了约400倍。与金生长或银生长相比,铜生长在提高侧向免疫分析敏感性方面表现更为突出,一种聚乙烯亚胺辅助的原位铜生长策略应用于大肠杆菌O157:H7的检测,展示出令人满意的效果^[18];另外一种新的方法,即盐酸多烯丙胺介导的金属生长的胶体金免疫层析法,它主要依赖于铜壳在AuNP核上的高度可控生长,并允许通过控制多环芳烃作为生长框架来获得加强的比色信号,该法对大肠杆菌O157:H7的检出限低至 9.8 CFU/mL^[19]。上述3种检测方法的技术指标详见表4。由表4可知,基于金属生长策略的LFCA可应用于样品中的微量大肠

杆菌O157:H7的检出,检测限低至 $6 \sim 1.25 \times 10^1$ CFU/mL,检测时长显著缩短(约为30 min)。与传统的免疫层析法相比,此类方法在检测灵敏度和检测效率方面有着明显的优势。

2 基于核酸探针和靶向探针杂交反应的核酸层析

核酸层析技术既拥有核酸检测的高灵敏性,又保留了试纸条便捷的特点,能有效简化检测步骤、缩短检测时间,且无需专业人员操作,应用前景巨大。近些年来,研究人员构建了多种核酸层析方法来检测大肠杆菌O157:H7^[30-31]。然而,这些方法却无法区分活细菌与死细菌而引起假阳性问题。KIM等^[32]构建了一种结合多重PCR技术的侧流层析技术,该方法采用叠氮溴化丙锭选择性地阻断死亡细胞的PCR反应,成功从卷心菜食品样本中区分出活菌,且具有较高的灵敏度;2022年,WEN等^[33]用丙烯酰胺预处理样本以消除死亡细菌的影响,制成了环介导等温扩增-核酸层析试纸条,能够准确测出活的大肠杆菌O157:H7数量;此外,一个令人担忧的问题是目前的细菌培养过程中没有考虑到活的但不可培养的细菌(Viable but non-culturable state, VBNCs)。这些细菌仍然具有毒性和传染性,而使用传统手段无法检测到,这可能导致假阴性现象的出现。针对此,PETRUCCI等^[34]利用逆转录和重组酶聚合酶扩增技术构建了侧流层析新方法,该方法不仅能够区分活菌和非活菌,还能够检测出活的但不可培养的细菌。也有研究者利用叠氮溴化丙锭的阻断特性,同时结合重组酶聚合酶扩增技术来实现对VBNCs的检出^[35]。与基于抗原抗体的免疫层析

表4 LFCA金属生长策略主要方法及技术指标

Table 4 Main methods and technical details of metal

growth strategy of LFCA

金属生长策略	检测样本	检测限/(CFU/mL)	检测时长/min	相关文献
金生长	牛奶	1.25×10^1	—	[6]
铜生长	—	6	—	[18]
铜生长	牛奶、蔬菜和牛肉	9.8	30	[19]

不同,基于核酸探针和靶向探针杂交反应的核酸层析主要通过针对一些目的基因(如 *rfbE*、*stx2*)来提高反应的特异性,该类检测技术的技术指标详见表 5。由表 5 可知,核酸层析技术在面对牛奶、卷

心菜等食物样本中大肠杆菌 O157:H7 的检测问题时,检测限为 $10\sim 8.35\times 10^2$ CFU/mL 或 $4\sim 81$ CFU/g,检测可在 $40\sim 240$ min 范围内完成,展现出较为广阔的发展前景。

表 5 LFCA 核酸层析主要方法及技术指标

Table 5 Main methods and technical details of nucleic acid chromatography of LFCA

核酸技术	检测样本	检测限/(CFU/mL)	检测时长/min	相关文献
核酸外切酶Ⅲ辅助扩增技术	牛奶	8.35×10^2	240	[30]
核酸杂交链式反应	牛奶	530	—	[31]
多重 PCR	卷心菜	10^2 (CFU/25 g)	100	[32]
环介导等温扩增	人工污染生菜样品	81 (CFU/g)	120	[33]
重组酶聚合酶扩增	菠菜和碎牛肉	10	120	[34]
重组酶聚合酶扩增	牛奶、饮用水和苹果汁	VBNC 细胞为 10^2	40	[35]

3 检测性能比较

3.1 免疫层析

基于全新信号材料的抗体标记法,原理上依赖于双抗体夹心结构的生成,然而双抗体的使用会造成一定的资源浪费;若转换标记对象,由抗体使用带来的成本显著下降,且标记结果可具备多种信号读出方式。总体而言,该类方法可检测多种的食物样本,具备较高的灵敏度,并能在短时间内完成检测。

磁性材料的引入,使利用 IMS 技术从复杂基质中富集目标菌的思路成为可能,此类技术应用于牛奶、饮用水等样本中,使 LFCA 的检测灵敏度显著提升,缺点是需要事先富集目标菌,延长了检测时间。

先进金属生长策略的应用,也有力促进了大肠杆菌 O157:H7 检测能力的进一步提高,但是选用的样本有待进一步丰富。

3.2 核酸层析

核酸层析主要以试纸条为载体,借助新型核酸扩增技术,可区分活细菌和死细菌。该类方法的主要特征是具备超高灵敏度,检测样本种类与免疫层析方法接近,耗时略有增加。近年来的核酸层析也开始致力于 VBNCs 的检出,并取得了较好的成效。

3.3 其他

新型功能纳米粒子的制备、免疫磁分离富集技术的引入以及核酸超敏检测扩增技术的开发是未来大肠杆菌 O157:H7 的 LFCA 检测技术的重要发展方向,大肠杆菌 O157:H7 的 LFCA 检测技术将在经济、效率、灵敏等多方面进行突破,既具备多种信号读出方式,又可以开展多元化致病菌同时检测,为食品安全和人民健康提供有力的保障。

参考文献

- [1] BEEMAN M G, NZE U C, SANT H J, et al. Electrochemical detection of *E. coli* O157:H7 in water after electrocatalytic and ultraviolet treatments using a polyguanine-labeled secondary bead sensor[J]. *Sensors*, 2018, 18(5): 1497.
- [2] DUAN N, YANG W, WU S J, et al. A visual and sensitive detection of *Escherichia coli* based on aptamer and peroxidase-like mimics of copper-metal organic framework nanoparticles[J]. *Food Analytical Methods*, 2020, 13(7): 1433-1441.
- [3] 马兰,王淑娟,曾海娟,等.侧流层析技术研究进展[J].*食品科学*, 2018, 39(15): 333-342.
- MA L, WANG S J, ZENG H J, et al. Progress in lateral flow chromatography[J]. *Food Science*, 2018, 39(15): 333-342.
- [4] 陆璐,邱万伟,丁巧玲,等.基于核酸等温扩增的侧流层析试纸条在病原微生物检测中的研究进展[J].*食品安全质量检测学报*, 2022, 13(5): 1462-1470.
- LU L, QIU W W, DING Q L, et al. Research progress of side flow chromatography strip based on isothermal amplification of nucleic acid in the detection of pathogenic microorganisms[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2022, 13(5): 1462-1470.
- [5] 闫灵芝.侧流免疫层析技术在食品安全检测中的研究进展[J].*食品工业科技*, 2022, 43(4): 1-11.
- YAN L Z. Research progress of lateral flow immunoassay in food safety[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(4): 1-11.
- [6] FU J M, ZHOU Y F, HUANG X L, et al. Dramatically enhanced immunochromatographic assay using cascade signal amplification for ultrasensitive detection of *Escherichia coli* O157:H7 in milk[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(4): 1118-1125.
- [7] ZHENG S, YANG X S, ZHANG B, et al. Sensitive detection of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* in food samples using two-channel fluorescence lateral flow assay with liquid Si@quantum dot[J]. *Food Chemistry*, 2021, 363: 130400.
- [8] HE K, BU T, ZHENG X, et al. "Lighting-up" methylene blue-embedded zirconium based organic framework triggered by Al³⁺ for advancing the sensitivity of *E. coli* O157:H7 analysis in dual-signal lateral flow immunochromatographic assay[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 425: 128034.
- [9] LIU C, FANG S Q, TIAN Y C, et al. Rapid detection of *Escherichia coli* O157:H7 in milk, bread, and jelly by lac dye coloration-based bidirectional lateral flow immunoassay strip[J]. *Journal of Food Safety*, 2021, 41(1): e12862.
- [10] WANG Z, YAO X, ZHANG Y, et al. Functional nanozyme mediated multi-readout and label-free lateral flow immunoassay

- for rapid detection of *Escherichia coli* O157: H7 [J]. Food Chemistry, 2020, 329: 127224.
- [11] SHIRSHAHI V, TABATABAEI S N, HATAMIE S, et al. Functionalized reduced graphene oxide as a lateral flow immune assay label for one-step detection of *Escherichia coli* O157: H7 [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2019, 164: 104-111.
- [12] LIU H B, CHEN C Y, ZHANG C N, et al. Functionalized Au^{MB}@Ag nanoparticles as an optical and SERS dual probe in a lateral flow strip for the quantitative detection of *Escherichia coli* O157: H7 [J]. Journal of Food Science, 2019, 84(10): 2916-2924.
- [13] YAN S S, LIU C, FANG S Q, et al. SERS-based lateral flow assay combined with machine learning for highly sensitive quantitative analysis of *Escherichia coli* O157: H7 [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2020, 412(28): 7881-7890.
- [14] SHI L L, XU L, XIAO R, et al. Rapid, quantitative, high-sensitive detection of *Escherichia coli* O157: H7 by gold-shell silica-core nanospheres-based surface-enhanced Raman scattering lateral flow immunoassay [J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 596005.
- [15] HUANG Z, PENG J, HAN J, et al. A novel method based on fluorescent magnetic nanobeads for rapid detection of *Escherichia coli* O157: H7 [J]. Food Chemistry, 2019, 276: 333-341.
- [16] CHEN W, SHAN S, PENG J, et al. Sensitive and hook effect-free lateral flow assay integrated with cascade signal transduction system [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2020, 321: 128465.
- [17] LI Q, YANG Y, HU F, et al. Rapid detection of *Escherichia coli* O157: H7 by a fluorescent microsphere-based immunochromatographic assay and immunomagnetic separation [J]. Analytical Biochemistry, 2019, 564-565: 32-39.
- [18] ZHOU Y, CHEN Y, LIU Y, et al. Controlled copper *in situ* growth-amplified lateral flow sensors for sensitive, reliable, and field-deployable infectious disease diagnostics [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2021, 171: 112753.
- [19] SHAO Y, XU W, ZHENG Y, et al. Controlled PAH-mediated method with enhanced optical properties for simple, stable immunochromatographic assays [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2022, 206: 114150.
- [20] LI Y, CHEN X, YUAN J, et al. Integrated gold superparticles into lateral flow immunoassays for the rapid and sensitive detection of *Escherichia coli* O157: H7 in milk [J]. Journal of Dairy Science, 2020, 103(8): 6940-6949.
- [21] LIU L, ZHAO G, DOU W. An unplugged and quantitative foam based immunochromatographic assay for *Escherichia coli* O157: H7 using nanozymes to catalyze hydrogen peroxide decomposition reaction [J]. Microchemical Journal, 2020, 152: 104313.
- [22] 刘源, 张开惠, 王莹莹, 等. 多重免疫层析检测技术在食品安全快速检测中的研究进展 [J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(1): 337-346.
- [23] LIU Y, ZHANG K H, WANG Y Y, et al. Research progress of multiplex immunochromatography assay in food safety rapid detection [J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(1): 337-346.
- [24] 马丽, 卜胜君, 张文广, 等. 基于杂化纳米花、试纸条的大肠杆菌检测方法的建立及评价 [J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2022, 34(3): 90-96.
- [25] MA L, BU S J, ZHANG W G, et al. Establishment and evaluation of *E. coli* detection method based on hybrid nanoflowers and test strips [J]. Journal of Heilongjiang August First Land Reclamation University, 2022, 34(3): 90-96.
- [26] ZHANG M, BU T, TIAN Y, et al. Fe₃O₄@CuS-based immunochromatographic test strips and their application to label-free and dual-readout detection of *Escherichia coli* O157: H7 in food [J]. Food Chemistry, 2020, 332: 127398.
- [27] DOU L, BAI Y, LIU M, et al. 'Three-To-One' multi-functional nanocomposite-based lateral flow immunoassay for label-free and dual-readout detection of pathogenic bacteria [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2022, 204: 114093.
- [28] CUI F, XU Y, WANG R, et al. Label-free impedimetric glycan biosensor for quantitative evaluation interactions between pathogenic bacteria and mannose [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2018, 103: 94-98.
- [29] WU P C, XUE F, ZUO W C, et al. A universal bacterial catcher Au-PMBA-nanocrab-based lateral flow immunoassay for rapid pathogens detection [J]. Analytical Chemistry, 2022, 94(10): 4277-4285.
- [30] HASSAN A H A, BERGUA J F, MORALES-NARVÁEZ E, et al. Validity of a single antibody-based lateral flow immunoassay depending on graphene oxide for highly sensitive determination of *E. coli* O157: H7 in minced beef and river water [J]. Food Chemistry, 2019, 297: 124965.
- [31] REN Y W, GAO P P, SONG Y, et al. An aptamer-exonuclease III (Exo III)-assisted amplification-based lateral flow assay for sensitive detection of *Escherichia coli* O157: H7 in milk [J]. Journal of Dairy Science, 2021, 104(8): 8517-8529.
- [32] ZHANG W, BU S, ZHANG J, et al. Point-of-care detection of pathogenic bacteria based on pregnancy test strips and metal-organic frameworks [J]. Microchemical Journal, 2022, 175: 107142.
- [33] KIM J H, OH S W. A colorimetric lateral flow assay based on multiplex PCR for the rapid detection of viable *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella typhimurium* without enrichment [J]. LWT, 2021, 152: 112242.
- [34] WEN Y, TAN Y, ZHAO L, et al. Rapid on-site detection of viable *Escherichia coli* O157: H7 in lettuce using immunomagnetic separation combined with PMAxx-LAMP and nucleic acid lateral flow strip [J]. Microchemical Journal, 2022, 178: 107348.
- [35] PETRUCCI S, COSTA C, BROYLES D, et al. Monitoring pathogenic viable *E. coli* O157: H7 in food matrices based on the detection of RNA using isothermal amplification and a paper-based platform [J]. Analytical Chemistry, 2022, 94(5): 2485-2492.
- [36] RANI A, DIKE C C, MANTRI N, et al. Point-of-care lateral flow detection of viable *Escherichia coli* O157: H7 using an improved propidium monoazide-recombinase polymerase amplification method [J]. Foods, 2022, 11(20): 3207.