

荧光酶标免疫分析在食品微生物检测中的应用

田晓菊 张宝善

(陕西师范大学食品工程系 西安 710062)

摘要: 荧光酶标免疫分析是一种新型的快速检测微生物的方法,具有方便、快速、灵敏、准确等优点,已越来越多地被用于进出口食品中致病菌的检测。本文介绍了荧光酶标免疫分析法的原理、特点以及在食品微生物检测中的应用和未来发展方向。

关键词: 荧光酶标免疫分析(ELFA);致病菌;食品微生物检测

中图分类号: Q503 **文献标识码:** A

Application of Enzyme-linked Fluorescent Immunoassay in Microbiological Detection of Foods

TIAN Xiao-ju, ZHANG Bao-shan,

Department of Food Engineering, Shanxi Normal University, Xi'an 710062, Shanxi, China

ABSTRACT: Enzyme-linked fluorescent immunoassay(ELFIA) is a new-style and rapid method of microbiological detection, with advantages of convenience, speediness, sensitivity and accuracy, etc. It has been widely used in examining pathogen from import and export foods, and its theory, characteristics, applications in microbiological detection of foods and development in the future has been reviewed in this article.

Key words: Enzyme-linked fluorescent immunoassay(ELFIA); Pathogen; Microbiological detection of foods

荧光酶标免疫分析(enzyme-linked fluorescent immunoassay, ELFIA)是在酶联免疫吸附分析的基础上发展起来的,一种先进的现代食品微生物分析中的快速检测方法,它操作简便,检测速度快,灵敏度高,而且无传染危险^[1],适合快速检出食品中的微生物,适应了现代进出口食品对检测方法快速准确的要求。

1 ELFIA 的原理

ELFIA 的基本原理:首先把已知抗体吸附于固相载体,加入待测样本,样本中的抗原与固相载体上的抗体结合,然后酶标抗体再与样本中的抗原结合。加入酶反应的底物,底物被酶催化为带荧光的产物,产物的量与标本中受检物质的量直接相关,然后根据荧光强度进行定性或定量分析。

ELFIA 法可用于测定抗原,也可用于测定抗体。在这种测定方法中有 3 种必要的试剂:①固相的抗原或抗体,②酶标记的抗原或抗体,③酶作用的底物。由于酶的催化频率很高,极大地放大了反应效果,从而使测定方法达到很高的敏感度。

法国生物梅里埃公司(bioMérieux)生产的荧光酶标分析仪(Vitek ImmunoDiagnostic Assay System, VIDAS)就是建立在 ELFA 原理上的自动检测系统,该仪器已被应用于多种微生物的检测中。

2 ELFIA 的特点

荧光酶标免疫分析与传统的检测方法相比较,具有以下优点:

(1) 检测速度快。从样品制备到鉴定出结果,仅需几个小时;

(2) 自动化程度高,操作简便。只要把样品加入仪器,一切分析步骤均由仪器自动完成,因此操作人员不需要太多的专业知识,只需掌握操作过程即可;

(3) 灵敏度高、特异性强。荧光活性稳定性好,假阳性极少,结果准确可靠;

(4) 封闭式的设计,具有较高的预防感染能力,特别适合高危样品的检测^[2];

(5) 对被检细菌不需要纯培养,只要存在于增菌培养基中,即可检出^[1];

(6) 一次可检测多个样品。ELFIA 一次可检测 12 个样,因此可以同时检测多个样品。

3 在食品微生物检测中的应用

由于 ELFIA 法在食品致病菌检测方面的诸多优越性,目前已逐步应用于进出口食品卫生检测中。

3.1 食品中大肠杆菌的检测

大肠杆菌 O157:H7 是 1975 年在美国流行的一次出血性结肠炎患者检样中发现的,其菌体抗原血清型为 O157,鞭毛抗原为 H7,该菌能吸附在人体肠道并分泌类志贺毒素(Shiga-like toxins,简称 SLTEC 或 Verotoxin-producing E. coli),简称 VTEC。该菌主要通过食品传播,其媒介包括牛肉、烤肉、饮用水、水果、牛奶及其制品、鸡肉、蔬菜等。对老人和儿童的生命威胁较大。在比利时、加拿大、英国、南非和日本也曾有过大杨杆菌 O157:H7 感染的报导,在香港 1997 年 3 月也在牛肉中检出此菌。由于 E. coli O157:H7 在较高温度下生长缓慢,而传统的检测食品中大肠杆菌的方法是采用 44.5℃±1℃培养,因此不易分离到此菌。采用 ELFA 来检测食品中的大肠杆菌

作者简介:田晓菊(1982-),女,在读硕士,研究方向:食品生物

技术, E-mail: anthea@stu.snnu.edu.cn

(收稿日期:2006-03-19 接受日期:2006-03-31)

道: 提取率较传统的汽油和稀乙醇溶剂法提高 11% ~ 59%; 可从黄花蒿中分离得 β - 谷甾醇和十八醇。实际应用证明它耗时短, 选择性好, 易于与多种分析仪器联用实现自动化分析。而且超临界流体 (SF) 的溶解力可随压力和温度变化, 这种可变的溶解力为选择性萃取提供可能, 这对基体复杂的天然产物样品尤为重要。

4 结语

超临界萃取技术在食品工业领域中是一个具有相当发展潜力的高新提取分离方法。在食品工业运用该技术可以对咖啡豆脱咖啡因、烟草脱尼古丁、奶制品脱胆固醇, 从鱼油中提取不饱和脂肪酸 DHA, EPA, 萃取啤酒花中的有效成分, 以及从天然植物中提取食品添加剂如卵磷脂、麦胚油、茶油、食用香料如八角油、茴香油、食用色素如辣椒红、番茄红等, 其中对啤酒花有效成分的萃取、咖啡豆脱咖啡因等已实现了工业化和产业化。

超临界二氧化碳萃取技术应用在食品工业领域中, 存在着许多传统提取方法无法相比的优点, 但对大规模的工业化应用还需深入研究, 尚需研制高效率的耐压装置以降低成本, 推动超临界流体萃取技术由实验研究转化为工业化生产。但目前由于存在缺少生物化合物在超临界 CO_2 中的溶解度和平衡数据及设备装置投资大等缺点, 实现规模化, 工业化尚存

在一定难度。

参考文献

- [1] 李永安. 超临界二氧化碳萃取技术及其应用[J]. 科技情报开发与经济, 2003, 13(8): 114~ 116
- [2] 曾哲灵. 天然维生素 E 提取工艺研究[J]. 中国畜产与食品, 1997, (1): 27~ 29
- [3] 李少霞. 超临界流体萃取在食品工业中的运用[J]. 食品工程, 2000, (6): 39~ 40
- [4] 宋丽丽. 超临界流体技术在国内天然药物研制中的应用及展望[J]. 开封医学学报, 2000, 19(3): 59~ 61
- [5] 吴卫生. 超临界流体技术发展动态[J]. 化学工程, 2000, 28(5): 45~ 47
- [6] 任铁锴. 超临界技术的研究和应用进展[J]. 天津化工, 2003, 17(3): 14~ 15
- [7] 潘志彦. 聚苯乙烯在超临界二甲苯中的解聚[J]. 高校化学工程学报, 2002, 16(2): 227~ 231
- [8] 廖传华. 超临界 CO_2 萃取 β - 胡萝卜素的实验研究[J]. 精细化工, 2002, 19(6): 365~ 366
- [9] 韩玉谦. 银杏叶活性成分提取与分离的研究[J]. 中国食品添加剂, 1999, (2): 25~ 27
- [10] 吕维忠. 超临界 CO_2 萃取大豆磷脂的工艺研究[J]. 食品科学, 2000, (3): 28~ 30
- [11] 马海乐. 小麦胚芽油的超临界 CO_2 萃取- 精馏的试验研究[J]. 农业工程学报, 1998, (4): 227~ 229

(上接第 48 页)

参考文献

- [1] 陶军, 张树宏, 吴仲梁. 应用“自动荧光酶标免疫测试仪”与常规培养法对冻禽肉中沙门氏菌的检测效果比较试验[J]. 上海畜牧兽医通讯, 1996, 5
- [2] 刘忠民等. 心肌钙蛋白 I 酶联荧光免疫定量检测方法的方法学评价[J]. 热带医学杂志, 2005, 5(1)
- [3] 傅晓琴, 范放. 用微型自动免疫分析仪快速检测出口食品中大肠杆菌 O157:H7[J]. 现代商检科技, 1997, 7(6)
- [4] 寇运同. 荧光酶标分析系统快速检测食品中的沙门氏菌[J]. 中国动物检疫, 2000, 17(9)
- [5] 陈炜. 脱水蔬菜中沙门氏菌不同检测方法的对比研究[J]. 宁夏农林科技, 2003, 1
- [6] 吴斌. 食品中金黄色葡萄球菌肠毒素的快速检测方法[J]. 微生物学通报, 2004, 31(5)
- [7] 李孝全. 金黄色葡萄球菌所致食源性疾病的病原学研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(3)
- [8] 吴奇志. 一起金黄色葡萄球菌伴蜡样芽胞杆菌食物中毒的实验诊断[J]. 浙江预防医学, 2004, 16(4)
- [9] Anon. Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food[J]. Interim report on Campylobacter, London: HMSO, 1993
- [10] 韩伟. 聚合酶链反应与自动荧光免疫酶标检测弯曲菌属的试验[J]. 检验检疫科学, 2003, 13(3)
- [11] 黄玲, 孟冬丽. 利用 mini-VIDAS 和 GB 方法检测食品中沙门氏菌

的比较试验[J]. 新疆师范大学学报, 2003, 22(1)

- [12] 王忠诚. 酶联荧光分析法测定血清心肌钙蛋白 I[J]. 国外医学临床生物化学与检验学分册, 2005, 26(7)
- [13] 倪安平. 全自动荧光酶免疫分析仪检测泌尿生殖道衣原体的评价[J]. 中国检验医学杂志, 2001, 24(3)
- [14] 陶凤蓉. 全自动荧光酶免疫分析仪检测沙眼衣原体临床应用评价[J]. 中国医学感染学杂志, 2005, 15(7)
- [15] 焦彦朝, 审时商. 食品中沙门氏菌酶联免疫荧光分析 VIDAS Salmonella (SLM) Assay 筛选方法[J]. 口岸卫生控制, 2001, 6(4)
- [16] 王少玲, 温瑞荣. 应用微型自动荧光酶标分析仪检测食品沙门菌效果分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2004, 12(2)
- [17] 顾鸣. 应用自动酶联免疫荧光仪 VIDAS 检测禽类组织中雌二醇水平[J]. 检验检疫科学, 2003, 13(4)
- [18] Dignum Marco, Hoogveld Hans L., Matthijs Hans C. P., et al. Detecting the phosphate status of phytoplankton by enzyme- labelled fluorescence and flow cytometry[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2004, (48): 29~ 38
- [19] Hadziyannis E, Sholtis W, Schindler S, Yen- Lieberman B. Comparison of VIDAS with direct immunofluorescence for the detection of respiratory syncytial virus in clinical specimens[J]. Journal of Clinical Virology, 1999, (14): 133~ 136
- [20] Sewell A. M., Warburton D. W., Boville A., et al. International Journal of Food[J]. Microbiology, 2003, (81): 123~ 129