

DOI:10.13350/j.cjpb.181214

• 论著 •

基于表面增强拉曼光谱法快速检测细菌抗生素敏感性的研究*

付世杰¹, 李磊娇², 聂鑫³, 王习文⁴, 李志萍¹, 曲晗⁴, 王宇田⁴, 李颂¹, 田栢会¹, 郝良玉⁵, 王玥⁵, 邵琳⁵, 卜思含⁶, 韩德明^{1,*}

(1. 长春理工大学生命科学技术学院, 吉林长春 130022; 2. 长春理工大学化学与环境工程学院; 3. 65316 部队; 4. 军事科学院军事医学研究院军事兽医研究所; 5. 吉林农业大学; 6. 吉林医药学院)

【摘要】 目的 基于核酸适配体表面增强拉曼光谱技术(SERS), 建立一种快速检测细菌抗生素敏感性试验方法, 评价不同抗生素对细菌拉曼光谱强度的影响。 方法 将大肠埃希菌 O157:H7 和金黄色葡萄球菌分别与不同抗生素作用, 再将大肠埃希菌 O157:H7 和金黄色葡萄球菌分别与其特异性适配体共孵育, 通过表面增强银纳米粒子的方法在金黄色葡萄球菌一适配体和大肠埃希菌一适配体表面还原银纳米粒子, 通过 SERS 技术检测目标细菌。 结果 分别用大肠埃希菌 O157:H7 和金黄色葡萄球菌进行 SERS 试验, 用不同浓度萘啶酸、硫酸粘菌素、土霉素、利福平作用于大肠埃希菌。结果表明在抗生素作用 1 h 发现萘啶酸浓度达到 1 $\mu\text{g/ml}$ 、硫酸粘菌素浓度达到 1 $\mu\text{g/ml}$ 、土霉素浓度达到 1 $\mu\text{g/ml}$ 、利福平浓度为 2 $\mu\text{g/ml}$ 时, 细菌拉曼光谱显著降低, 并可快速确定此时抗生素浓度为大肠埃希菌最低抑制浓度(MIC)值; 用不同浓度环丙沙星、氯霉素、红霉素、万古霉素作用于金黄色葡萄球菌, 结果在抗生素作用 1 h 发现环丙沙星浓度为 1 $\mu\text{g/ml}$ 、氯霉素浓度达到 1 $\mu\text{g/ml}$ 、红霉素浓度达到 1 $\mu\text{g/ml}$ 、万古霉素浓度达到 1 $\mu\text{g/ml}$, 细菌拉曼光谱显著降低, 并可快速确定此时抗生素浓度为金黄色葡萄球菌最低抑制浓度(MIC)值; 当反应时间达到 2 h, 可发现抗生素低于 MIC 时, 细菌的拉曼强度与对照组相似, 而 MIC 未发生变化, 证明试验结果正确。 结论 基于核酸适配体 SERS 方法可快速评价抗生素对细菌的影响, 并在短时间内确定 MIC 值, 因此可用于检测细菌对抗生素敏感性的快速检测。

【关键词】 核酸适配体; 抗生素敏感性实验; 表面增强拉曼光谱; 大肠埃希菌 O157:H7; 金黄色葡萄球菌**【中图分类号】** R378**【文献标识码】** A**【文章编号】** 1673-5234(2018)12-1362-06

[Journal of Pathogen Biology. 2018 Dec; 13(12): 1362-1367, 1371.]

Study on the rapid detection of the antibiotic susceptibility of bacteria based on surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS)

FU Shi-jie¹, LI Lei-jiao², NIE Xin³, WANG Xi-wen⁴, LI Zhi-ping⁴, QU Han⁴, WANG Yu-tian⁴, LI Song¹, TIAN Bai-hui¹, HAO Liang-yu⁵, WANG Yue⁵, SHAO Lin⁵, BU Si-han⁶, HAN De-ming¹

(1. School of Life Science and Technology, Changchun University of Science and Technology, Changchun, China 130022; 2. Unit 65316 of the PLA; 3. Institute of Military Veterinary Medicine, AMMS; 4. Jilin Agricultural University; 5. Jilin Medical College)

【Abstract】 Objectives To create a test method for the rapid detection of the antibiotic susceptibility of bacteria based on aptamer-mediated surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) in order to evaluate the effects of different antibiotics on the Raman intensity of bacteria. **Methods** *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* were respectively treated with different antibiotics and incubated with specific aptamers. Silver nanoparticles were synthesized in situ on the surface of aptamers. The target bacteria were detected using SERS technology. **Results** *E. coli* O157:H7 and *S. aureus* were respectively tested using SERS technology. *E. coli* O157:H7 was treated with different concentrations of nalidixic acid, colistin sulfate, oxytetracycline, and rifampicin. Results indicated that the concentration of nalidixic acid reached 1 $\mu\text{g/ml}$, the concentration of colistin sulfate reached 1 $\mu\text{g/ml}$, the concentration of oxytetracycline reached 1 $\mu\text{g/ml}$, and the concentration of rifampicin reached 2 $\mu\text{g/ml}$ at 1 hour, the Raman spectra of bacteria decreased significantly, and the minimum inhibitory concentration (MIC) of *E. coli* O157:H7 was quickly determined at that time. *S. aureus* was treated with different concentrations of ciprofloxacin, chloramphenicol, erythromycin, and vancomycin. Results indicated

* **【基金项目】** 吉林省教育厅“十三五”科学技术项目(No. JJKH20170604KJ); 长春理工大学科技创新基金项目(No. XJLJG-2015-07)。** **【通讯作者】** 韩德明, E-mail: handeming2009@yahoo.com**【作者简介】** 付世杰(1994—), 男, 吉林通化人, 在读硕士研究生, 主要从事基于拉曼光谱快速检测食源性致病菌的研究。

E-mail: 844392643@qq.com

that the concentration of ciprofloxacin reached 1 $\mu\text{g/ml}$, the concentration of chloramphenicol reached 1 $\mu\text{g/ml}$, the concentration of erythromycin reached 1 $\mu\text{g/ml}$, and the concentration of vancomycin reached 1 $\mu\text{g/ml}$ at 1 hour, the Raman spectra of bacteria decreased significantly, and the MIC of *S. aureus* was quickly determined at that time. When the reaction time reached 2 hours and the MIC of the antibiotic was lower, the Raman intensity of bacteria was similar to that of the control group, but the MIC did not change, which further indicated that the experimental results were correct. **Conclusion** The SERS method based on aptamer mediation can quickly evaluate the effect of antibiotics on bacteria and determine the MIC value in a short period of time, so it can be used to rapidly detect bacterial sensitivity to antibiotics.

【Key words】 Aptamer; antibiotic susceptibility test; surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS); *E. coli* O157:H7; *Staphylococcus aureus*

细菌感染可致人体发病,需给予抗生素治疗,但长期使用抗生素药物可使细菌对药物的敏感性降低甚至消失,致使药物对耐药菌的疗效降低甚至无效。细菌对广谱抗生素的抗药性已成为全球性的保健问题,快速准确地评估细菌对抗生素的敏感性已成为研究的重点,早期、快速测定细菌对抗生素的敏感性是临床药物研究和开发的重要内容^[1]。目前检测抗生素敏感性的方法主要包括生物测定法(微生物法,辐射受体测量法^[2]),理化检测法(光谱法^[3],色谱及其耦合技术^[4])和免疫分析法(辐射免疫测定法^[5],免疫检定法^[6],荧光免疫分析^[7])。这些方法各有缺点,如检测灵敏度低,耗时长,操作复杂,无法对细菌状态进行监测。

表面增强拉曼光谱(surface enhanced Raman spectroscopy, SERS)方法可在几秒钟内获得细菌的光谱,是一种快速检测细菌药物敏感性的工具^[8]。SERS方法是通过测定吸附在胶质金属颗粒如银、金或铜表面的样品,或吸附在这些金属片的粗糙表面上的样品, SERS 光谱的实验对细菌药物敏感性检测,被吸附的样品其 SERS 光谱强度可提高 $10^3 \sim 10^6$ 倍^[9]。SERS 法具有诸多优点,如灵敏度高,特异性强,检测时间短,不受水溶液的干扰等。本研究基于 SERS 的法进行抗生素敏感性试验(AST)和最小抑制浓度(MIC)检测,并评价不同抗生素对细菌病原体的影响。

材料与方法

1 材料

1.1 菌株和抗生素 大肠埃希菌 O157:H7(CICC:21530)和金黄色葡萄球菌(CICC:21600)购于中国工业微生物菌种保藏中心(China Center of Industrial Culture Collection, CICC);红霉素、环丙沙星、氯霉素、万古霉素、利福平、硫酸、萘啶酸和土霉素(购于英国 Sigma-Aldrich(Taufkirchen)公司)。

1.2 主要试剂和器材 99.999 9%硝酸银购于英国 Sigma-Aldrich(Taufkirchen)公司;LB 液体培养基(LB Broth)和石英载玻片(26 mm \times 76 mm \times 1 mm)购于上海生工生物工程股份有限公司,结合缓冲(pH8.8)每升含 12.114 g(40 mmol/L)的 Tris,0.931

g(5 mmol/L)的 KCl,0.2775 g(1 mmol/L)的 CaCl_2 , 1.015 g(2 mmol/L)的 MgCl_2 和 21.9375 g(150 mmol/L)的 NaCl,高压灭菌后室温保存备用。拉曼光谱仪(La-Bram HR Evolution, HORIBA)和恒温水平摇床(ZWYR-240)购于上海智城分析仪器制造有限公司;生物安全柜(BSC-1300 II A2)购于苏州净化公司。

2 方法

2.1 细菌培养 分别取冷冻保存的金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌 20 μl ,加入到 5 ml LB 培养基中,置 37 $^\circ\text{C}$ 、200 r/min(离心半径 10 cm)摇床过夜。收集菌液,平板法计数细菌浓度为 1×10^8 CFU/ml。菌液于 4 $^\circ\text{C}$ 、5 000 r/min(离心半径 10 cm)离心 2 min,弃上清,加入新鲜 LB 培养基重悬,用 LB 培养基稀释至 1×10^7 CFU/ml。每 1 ml 细菌中加入等量不同浓度抗生素,37 $^\circ\text{C}$ 恒温箱孵育 1 h 和 2 h 后于 4 $^\circ\text{C}$ 5 000 r/min(离心半径 10 cm)离心 2 min,弃上清。用 1 \times 结合缓冲液清洗沉淀两次,除去多余培养基成分,4 $^\circ\text{C}$ 保存备用。

2.2 适配体折叠处理 金黄色葡萄球菌适配体序列 Aug: TCCCTACGGCGCTAACCTCCCAACCGCTC-CACCCTGCCTCCGCCTCGCCACCGTGCTACAAC,大肠埃希菌 O157:H7 适配体序列 Jay^[10]:GCAAT-GGTACGGTACTTCCCGCAGTTTGGGAAGGGT GATCGCACTATCAGAGGATTCCGTTTCGGCAA AAGTGCACGCTACTTTGCTAA(合成自吉林省库美生物科技有限公司,浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$),将适配体稀释至 500 nmol/L,使用 PCR 仪进行折叠:95 $^\circ\text{C}$ 变性 2 min,然后以每 40 s 降低 2 $^\circ\text{C}$ 的速率冷却到 37 $^\circ\text{C}$ 。折叠好核酸适配体于 4 $^\circ\text{C}$ 保存备用。

2.3 适配体与目标细菌结合 将与抗生素作用后的细菌置于 1.5 ml 离心管中,以 5 000 r/min(离心半径 10 cm)离心 2 min,弃上清,用 40 μl 1 \times 结合缓冲液重悬细菌;加入已折叠的适配体 60 μl ,此时溶液体系为 100 μl ,4 $^\circ\text{C}$ 孵育 20 min 备用。取孵育后的细菌以 5 000 r/min(离心半径 10 cm)离心 2 min,弃上清,用 200 μl 1 \times 结合缓冲液重悬两次。该样品为细菌-适配体,4 $^\circ\text{C}$ 保存备用。

2.4 细菌-适配体-银纳米粒子制备 称取 17 mg (0.1 mmol) AgNO_3 溶解于 10 ml 去离子水中(4 °C 保存备用),称取 37.8 mg(0.1 mmol) NaBH_4 溶解在 100 ml 的去离子水中(4 °C 保存备用)^[11]。取上述细菌-适配体溶液,5 000 r/min(离心半径 10 cm)离心 2 min;向溶液中加入 100 μl AgNO_3 溶液,混合后在室温下放置 5 min;加入 100 μl NaBH_4 (0.01 mmol/L) 溶液,3 000 r/min(离心半径 10 cm)离心 1 min,4 °C 保存备用。

2.5 SERS 测量与分析 取 2 μl 细菌混悬液滴至石英载玻片中心,用拉曼显微镜观察,并将其聚焦在 50 \times 目标下,用激光强度为 14 mW 的 532 nm(He-Ne) 激光器记录 SERS 光谱。连续 10 s。随机选择不同位置进行 3 次检测。积分次数为 5,积分时间为 2 s,共焦狭缝宽度为 100 μm ,检测光谱范围为 500~2 000

cm^{-1} 。数据分析使用 Origin8.0 软件。

结 果

1 不同细菌浓度检测

大肠埃希菌 O157:H7 和金黄色葡萄球菌系列稀释为 10^8 、 10^7 、 10^5 、 10^3 cfu/ml,然后再分别与其适配体共孵育,在表面还原银纳米粒子,进行拉曼信号检测,该光谱 735 cm^{-1} 处有特征峰,结果见图 1。根据拉曼光谱图中所得到的数据可以发现,在大肠埃希菌特征峰处,拉曼峰强度从上至下依次为:2516 a. u.、2138 a. u.、916 a. u.、136 a. u.、42 a. u.,在金黄色葡萄球菌特征峰处,拉曼峰强度从上至下依次为:2966 a. u.、1760 a. u.、684 a. u.、460 a. u.、42 a. u.,可见随着细菌浓度的降低,细菌拉曼光谱强度降低,细菌浓度和拉曼信号成正相关。

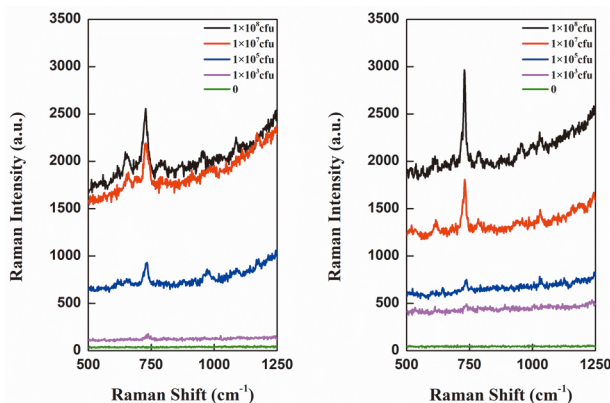


图 1 SERS 法测定不同浓度大肠埃希菌 O157:H7(A)和金黄色葡萄球菌(B)拉曼光谱
Fig. 1 Raman spectra of the different concentration *E. coli* O157:H7(A) and *S. aureus*(B)

2 基于 SERS 方法的大肠埃希菌 AST 快速检测

大肠埃希菌进行 SERS 试验,记录 1 h 内不同浓度萘啶酸、硫酸粘菌素、土霉素、利福平作用于大肠埃希菌 O157:H7 的 SERS 光谱。图 2 显示,抗生素作用于大肠埃希菌 O157:H7 的 SERS 光谱图,不加抗生素为对照组,拉曼峰强度为 2212 a. u.,当萘啶酸达到 1

$\mu\text{g}/\text{ml}$ 时,大肠埃希菌 SERS 光谱特征峰较对照组显著降低,拉曼峰强度为 600 a. u.;反应时间为 2 h,萘啶酸浓度为 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时,该峰值与不加抗生素组 SERS 相似,拉曼峰强度为 2380 a. u.,因此确定萘啶酸对大肠埃希菌的 MIC 为 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

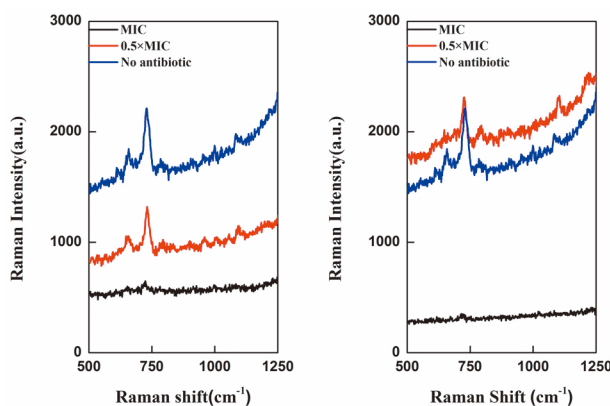


图 2 萘啶酸处理大肠埃希菌 1 h(A)和 2 h(B)的 SERS 光谱
Fig. 2 SERS spectra of the *E. coli* O157:H7 treat with Nalidixic acid in 1 hour(A) and 2 hours(B)

硫酸粘菌素处理大肠埃希菌 SERS 光谱见图 3。

反应时间为 1 h,硫酸粘菌素浓度达到 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时,大

肠埃希菌 SERS 光谱特征峰较对照组显著降低,拉曼峰强度为 466 a. u. ;反应时间 2 h,硫酸粘菌素浓度为 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时,该峰值与不加抗生素组相似,拉曼峰强

度为 2110 a. u. ,因此确定硫酸粘菌素对金大肠埃希菌的 MIC 为 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

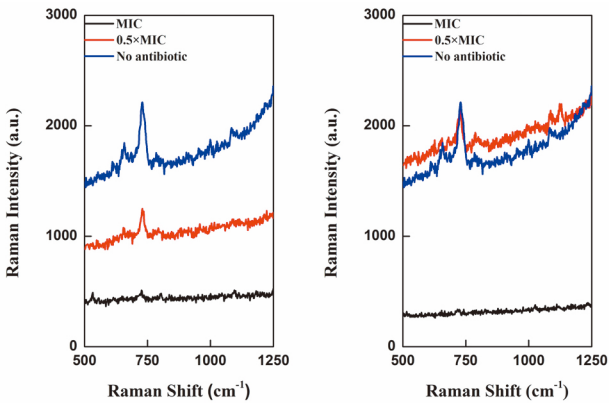


图 3 硫酸粘菌素处理大肠埃希菌 1 h(A)和 2 h 的 SERS 光谱
Fig. 3 SERS spectra of the *E. coil* O157:H7 treat with Colistin Sulphate in 1 hour(A) and 2 hours(B)

土霉素处理大肠埃希菌 SERS 光谱见图 4。反应时间为 1 h,土霉素浓度达到 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时大肠埃希菌 SERS 光谱特征峰较对照组显著降低,拉曼峰强度为 610 a. u. ;当反应时间为 2 h,土霉素浓度为 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$

时,该峰值与不加抗生素组相似,拉曼峰强度为 2504 a. u. ,因此确定土霉素对大肠埃希菌的 MIC 值为 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

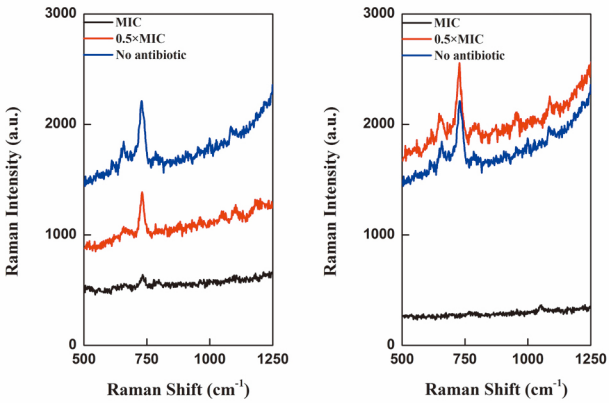


图 4 土霉素处理大肠埃希菌 1 h(A)和 2 h(B)的 SERS 光谱
Fig. 4 SERS spectra of the *E. coil* O157:H7 treat with oxytetracycline in 1 hour(A) and 2 hours(B)

利福平处理大肠埃希菌 SERS 光谱见图 5。

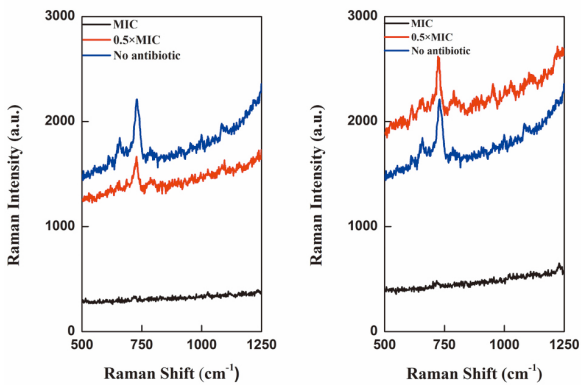


图 5 利福平处理大肠埃希菌 1 h(A)和 2 h(B)的 SERS 光谱
Fig. 5 SERS spectra of the *E. coil* O157:H7 treat with rifampicin in 1 hour(A) and 2 hours(B)

反应时间为 1 h, 利福平浓度为 $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ 时, 大肠埃希菌 SERS 光谱特征峰较对照组显著降低, 拉曼峰强度为 422 a. u.; 反应时间达到 2 h, 利福平浓度为 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 时, 该峰值与不加抗生素组相似, 拉曼峰强度为 2 596 a. u., 因此确定利福平对金大肠埃希菌的 MIC 为 $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ 。

3 基于 SERS 方法的金黄色葡萄球菌 AST 快速检测

利用 SERS 方法测定 MIC 值并记录不同浓度抗生素作用不同时间的金黄色葡萄球菌 SERS 光谱。图

6 显示, 抗生素作用金黄色葡萄球菌的 SERS 光谱图, 不加抗生素为对照组, 拉曼峰强度为 1 806 a. u.。图 6 显示反应时间为 1 h, 环丙沙星浓度达到 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 时, 金黄色葡萄球菌 SERS 光谱特征峰较对照组显著降低, 拉曼峰强度为 616 a. u.; 反应时间达到 2 h, 环丙沙星浓度为 $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 时, 该峰值与不加抗生素组相似, 拉曼峰强度为 2 242 a. u., 因此确定环丙沙星对金黄色葡萄球菌的 MIC 为 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 。

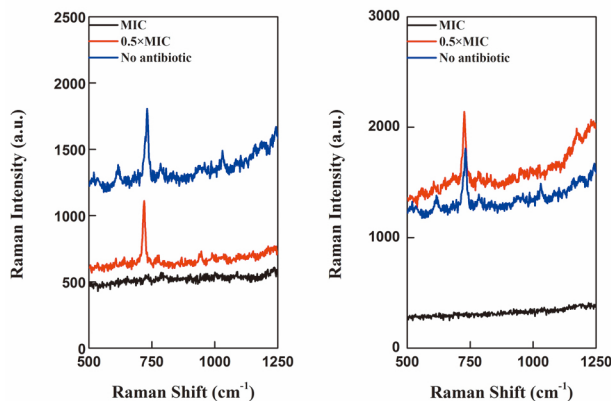


图 6 环丙沙星处理金黄色葡萄球菌 1 h(A) 和 2 h(B) 的 SERS 光谱
Fig. 6 SERS spectra of the *S. aureus* treat with ciprofloxacin in 1 hour(A) and 2 hours(B)

氯霉素处理金黄色葡萄球菌 SERS 光谱见图 7。当反应时间为 1 h, 氯霉素浓度达到 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 时, 金黄色葡萄球菌 SERS 光谱特征峰较对照组有显著降低, 拉曼峰强度为 482 a. u.; 当反应时间达到 2 h, 氯霉素

浓度为 $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 时, 该峰值与不加抗生素组相似, 拉曼峰强度为 2 274 a. u., 因此确定氯霉素对金黄色葡萄球菌的 MIC 为 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 。

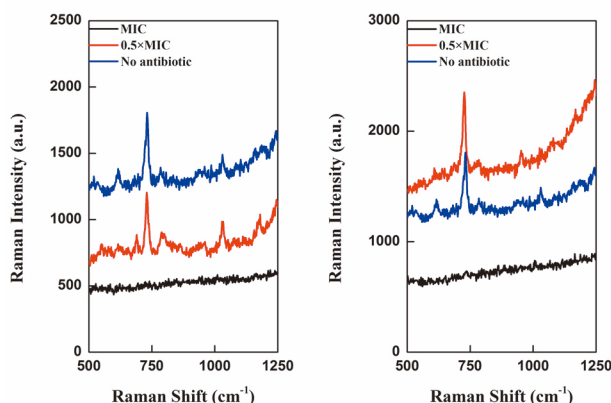


图 7 氯霉素处理金黄色葡萄球菌 1 h(A) 和 2 h(B) 的 SERS 光谱
Fig. 7 SERS spectra of the *S. aureus* treat with chloramphenicol in 1 hour(A) and 2 hours(B)

红霉素处理金黄色葡萄球菌 SERS 光谱见图 8。当反应时间为 1 h, 红霉素浓度达到 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 时, 金黄色葡萄球菌 SERS 光谱特征峰较对照组有显著降低, 拉曼峰强度为 630 a. u., 当反应时间达到 2 h, 红霉素浓度为 $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 时, 该峰值与不加抗生素组相似, 拉曼峰强度为 2 242 a. u., 因此确定红霉素对金黄色葡萄球菌的 MIC 为 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 。

万古霉素处理金黄色葡萄球菌 SERS 见图 9。当反应时间为 1 h, 万古霉素浓度达到 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 时, 金黄色葡萄球菌 SERS 光谱特征峰较对照组有显著降低, 拉曼峰强度为 614 a. u.; 当反应时间达到 2 h, 万古霉素浓度为 $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 时, 该峰值与不加抗生素组显著相似, 拉曼峰强度为 2 140 a. u., 因此确定万古霉素对金黄色葡萄球菌的 MIC 值为 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 。

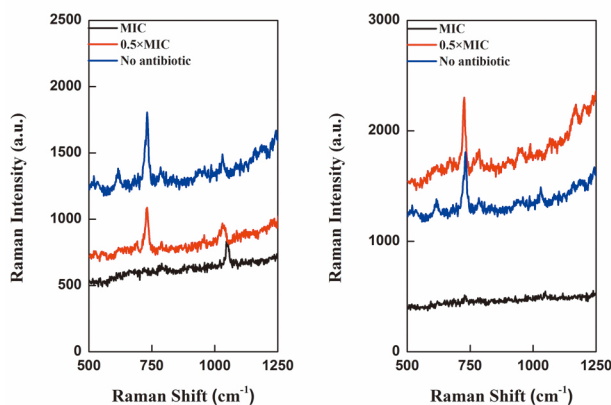


图8 红霉素处理金黄色葡萄球菌 1 h(A)和 2 h(B)的 SERS 光谱
Fig. 8 SERS spectra of the *S. aureus* treat with erythromycin in 1 hour(A) and 2 hours(B)

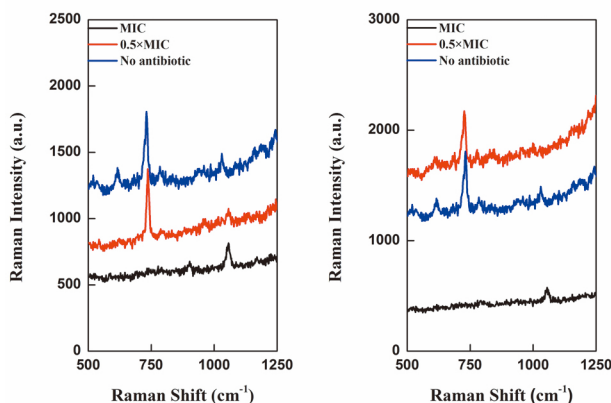


图9 万古霉素处理金黄色葡萄球菌 1 h(A)和 2 h(B)的 SERS 光谱
Fig. 9 SERS spectra of the *S. aureus* treat with vancomycin in 1 hour(A) and 2 hours(B)

讨 论

本研究基于 SERS 建立了一种快速检测细菌对抗生素敏感性的方法,避免传统方法检测灵敏度低、耗时长、操作复杂、无法对细菌病原体状态进行监测和分析的缺点^[12]。细菌与适配体结合,在表面还原银纳米粒子,增强了拉曼光谱的强度和灵敏度^[13],使用革兰阳性菌和革兰阴性菌进行实验,对结果进行分析发现无影响,说明此方具有可行性。

实验观察到抗生素作用 1 h 内细菌拉曼光谱强度显著降低。抗生素具有很强的穿透细菌细胞壁的能力,从而导致细菌死亡。与传统方法相比,此方法用于检测细菌对抗生素敏感性更快捷。

为了证明实验的有效性,本研究使用不同抗生素进行了更长时间的验证。当作用时间为 2 h 时,细菌 MIC 值未发生显著变化,说明该抗生素浓度抑制了细菌的生长,而抗生素浓度低于 MIC 值时,SERS 光谱峰与不加抗生素时相似,表明此浓度不足以杀死细菌,进一步说明抗生素 MIC 值有效。因此,该方法可用于快速测定细菌的 AST 和抗生素对细菌的 MIC。

【参考文献】

[1] Sharaha U, Rodriguezdiaz E, Riesenber K, et al. Using infrared

spectroscopy and multivariate analysis to detect antibiotics' resistant *Escherichia coli* bacteria [J]. Anal Chem, 2017, 89 (17): 8782—90.

[2] Singh B, Parwate DV, Shukla SK. Radiosterilization of fluoroquinolones and cephalosporins: assessment of radiation damage on antibiotics by changes in optical property and colorimetric parameters [J]. AAPS PharmSciTech, 2009, 10(1): 34—43.

[3] Wang L, Peng J, Liu Z, et al. Resonance Rayleigh-scattering spectral method for the determination of some aminoglycoside antibiotics using CdTe quantum dots as a probe[J]. Luminescence, 2010, 25(6): 424—30.

[4] Martins-Junior HA, Kussumi TA, Wang AY, et al. A rapid method to determine antibiotic residues in milk using liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry [J]. J Brazil Chem Soc, 2007(18): 397—405.

[5] Derveni M, Hands A, Allen M, et al. Effects of simulated space radiation on immunoassay components for life-detection experiments in planetary exploration missions[J]. Astrobiology, 2012, 12(8): 718—29.

[6] Yao RC, Mahoney DF. Enzyme immunoassay for macrolide antibiotics: characterization of an antibody to 23-amino-O-mycaminyloslytylonolide[J]. Appl Environ Microbiol, 1989, 55(6): 1507.

[7] Song E, Yu M, Wang Y, et al. Multi-color quantum dot-based fluorescence immunoassay array for simultaneous visual detection of multiple antibiotic residues in milk[J]. Biosens Bioelectron, 2015(7): 320—5.

(下转 1371 页)

- ture of human plasma glutathione peroxidase deduced from cDNA sequences[J]. Phosphorus & Sulfur & the Related Elements, 2010, 67(1-4): 455-60.
- [7] 张笑天,熊咏民. 硫氧还蛋白还原酶研究进展[J]. 国外医学医学地理分册, 2005, 26(4): 148-51.
- [8] Budachetri K, Karim S. An insight into the functional role of thioredoxin reductase, a selenoprotein, in maintaining normal native microbiota in the Gulf Coast tick (*Amblyomma maculatum*) [J]. Insect Mol Biol, 2015, 24(5): 570-81.
- [9] Rundlof AK, Arner ES. Regulation of the mammalian selenoprotein thioredoxin reductase 1 in relation to cellular phenotype, growth, and signaling events[J]. Antioxid Redox Signal, 2004, 6(1): 41-52.
- [10] Park YS, Misonou Y, Fujiwara N, et al. Induction of thioredoxin reductase as an adaptive response to acrolein in human umbilical vein endothelial cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 327(4): 1058-65.
- [11] Lindner DJ, Ma X, Hu J, et al. Thioredoxin reductase plays a critical role in IFN retinoid-mediated tumor-growth control in vivo [J]. Clin Cancer Res, 2002, 8(10): 3210-8.
- [12] Ma X, Hu J, Lindner DJ, et al. Mutational analysis of human thioredoxin reductase 1. Effects on p53-mediated gene expression and interferon and retinoic acid-induced cell death [J]. J Biol Chem, 2002, 277(25): 22460-8.
- [13] Kim JR, Kwon KS, Yoon HW, et al. Oxidation of proteinaceous cysteine residues by dopamine-derived H_2O_2 in PC12 cells [J]. Arch Biochem Biophys, 2002, 397(2): 414-23.
- [14] 赵少若,周金林. 原虫硫氧还蛋白还原酶研究进展[J]. 动物医学进展, 2016, 37(3): 86-90.
- [15] 刘楠,张晓磊,郭玲玲,等. 刚地弓形虫 ROP16-ROP18 复合基因真核表达载体的构建[J]. 中国病原生物学杂志, 2017, 12(1): 57-61.
- [16] Conrad M, Jakupoglu C, Moreno SG, et al. Essential role for mitochondrial thioredoxin reductase in hematopoiesis, heart development, and heart function[J]. Mol Cell Biol, 2004, 24(21): 9414-23.
- [17] Zhang J, Qin X, Zhu YU, et al. Mechanism of dexamethasone in the context of *Toxoplasma gondii* infection[J]. Parasitology, 2017, 144(11): 1551-9.
- [18] Zheng Y, Tao M, Li Z, et al. Cloning and characterization of selenoprotein thioredoxin reductase gene in *Haematococcus pluvialis* [J]. Algal Res, 2016(17): 97-104.
- [19] Zhao S, Gong H, Zhou Y, et al. Identification of a thioredoxin reductase from *Babesia microti* during mammalian infection [J]. Parasitol Res, 2016, 115(8): 3219-27.
- [20] Arias DG, Carranza PG, Lujan HD, et al. Immunolocalization and enzymatic functional characterization of the thioredoxin system in *Entamoeba histolytica* [J]. Free Radic Biol Med, 2008, 45(1): 32-9.
- [21] Arias DG, Regner EL, Iglesias AA, et al. *Entamoeba histolytica* thioredoxin reductase: molecular and functional characterization of its atypical properties [J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1820(12): 1859-66.
- [22] Li T, Ziniel PD, He PQ, et al. High-throughput screening against thioredoxin glutathione reductase identifies novel inhibitors with potential therapeutic value for schistosomiasis [J]. Infect Dis Poverty, 2015, 4(1): 40.
- [23] Zhao S, Gong H, Zhou Y, et al. Identification of a thioredoxin reductase from *Babesia microti* during mammalian infection [J]. Parasitol Res. 2016 (8): 3219-27.

【收稿日期】 2018-09-06 【修回日期】 2018-11-10

(上接 1367 页)

- [8] 张丽君. 拉曼光谱在药物检测上的应用[D]. 重庆: 西南大学, 2014.
- [9] Premasiri WR, Chen Y, Williamson PM, et al. Rapid urinary tract infection diagnostics by surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS): identification and antibiotic susceptibilities[J]. Anal Bioanal Chem, 2017, 409(11): 43-54.
- [10] 许蕊,邱志刚,杨栋,等. 基于全菌消减 SELEX 技术的体外筛选大肠埃希菌 O157: H7 适配体研究[J]. 环境与健康杂志, 2016, 33(1): 59-62.
- [11] Gao W, Li B, Yao R, et al. Intuitive label-free SERS detection of bacteria using aptamer-based in situ ag nanoparticles synthesis [J]. Anal Chem, 2017, 89(18): 9836-42.
- [12] 王宇田,曲晗,郝良玉,等. 基于核酸适配体 SERS 技术快速检测大肠埃希菌 O157: H7 的研究[J]. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(1): 16-21.
- [13] 高玮村,李博,王习文,等. 基于表面增强拉曼技术快速检测 5 种食源性致病菌[J]. 吉林农业大学学报, 2017, 39(6): 733-7.

【收稿日期】 2018-09-21 【修回日期】 2018-11-07