

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2015.04.041

基于磁控分离的水产致病菌微流控检测方法^{*}

郭建江^{1,2} 张荣标¹ 杨宁¹ 孙健¹ 徐佩锋¹

(1. 江苏大学电气与信息工程学院, 镇江 212013; 2. 常州工学院电子信息与电气工程学院, 常州 213002)

摘要: 针对当前水产致病菌传统检测方法中存在目标菌分离难、检测时间长、自动化程度低等问题,提出了一种基于磁控分离的水产致病菌微流控检测方法。设计了具有自动进样、磁控分离以及电化学阻抗检测等一体化功能的微流控芯片,创建了检测系统实验平台,优化选择了系统阻抗检测频率、磁控力及目标菌捕获时间等参数,并以常见水产致病菌大肠杆菌 O157:H7 为例对检测性能指标进行了实验验证,结果表明,与精度较高的标准平板计数法相比,检测精度基本相同,但避免了人工培养,检测时间由 48 h 减少为 50 min,具有较高的分离检测速度和检测自动化水平。

关键词: 水产致病菌 微流控芯片 磁控分离 阻抗检测

中图分类号: TP274⁺.5; S94 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2015)04-0277-05

Aquaculture Pathogens Detection Based on Microfluidic System with Magnetic Isolation

Guo Jianjiang^{1,2} Zhang Rongbiao¹ Yang Ning¹ Sun Jian¹ Xu Peifeng¹

(1. School of Electrical and Information Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China
2. School of Electronic Information and Electrical Engineering, Changzhou Institute of Technology, Changzhou 213002, China)

Abstract: Aiming at the problem that the detection of aquaculture pathogens suffers from difficult isolation, time-consuming and low degree of automation, a detecting method of aquaculture pathogens concentration based on microfluidic system with magnetic isolation was proposed. A dedicated microfluidic chip with automatic sample injecting, magnetic isolation and impedance measurement was designed, and the experiment platform based on microfluidic detection system was built. The optimum impedance measurement frequency, magnetic force and target bacteria capture time in the microfluidic system were determined, and as an example of *Escherichia coli* O157:H7 the performance of the system was experimentally verified. Experiment results showed that compared with plate counting method the proposed method was nearly the same in detection accuracy, and the detection time was decreased from 48 h to 50 min because of no-cultivation. The microfluidic system realized rapid isolation and detection for aquaculture pathogens with increased automation in the prevention of aquaculture disease.

Key words: Aquaculture pathogens Microfluidic chip Magnetic isolation Impedance measurement

引言

目前水产养殖病害是影响我国水产养殖业快速健康发展的最大障碍,其中鳃弧菌、嗜水气单胞菌、

大肠杆菌等多种水产致病菌是导致养殖病害的主要原因,因此水产致病菌(以下简称致病菌)检测是预防和控制养殖水产品病害发生,提高养殖水产品质量的关键^[1-4]。常用检测致病菌方法有平板计数

收稿日期: 2014-12-27 修回日期: 2015-01-26
^{*} 中国博士后科学基金资助项目(2014M560404)、江苏省自然科学基金资助项目(BK20131250)、江苏省农业自主创新计划资助项目(CX(14)2092)和江苏省普通高校研究生科研创新计划资助项目(CXLX12_0662)
作者简介: 郭建江,博士生,常州工学院副教授,主要从事农业电气化与自动化研究,E-mail: 474820848@qq.com
通讯作者: 张荣标,教授,博士生导师,主要从事自动化与智能检测技术研究,E-mail: zrb@uj.s.edu.cn

法^[4]、DNA 检验法^[5-7]、流式细胞仪法^[8]等,其中平板计数法需对样本进行增菌培养,耗时长;DNA 检验法、流式细胞仪法检测精度高,但工艺复杂,以上方法都存在自动化程度低的缺点,严重制约水产养殖病害实时监控与防治水平的提高。基于微流控芯片的致病菌检测技术是将检测过程中的进样、反应及检测等环节集成到数厘米的芯片上构成“芯片实验室”,与上述方法相比,具有检测灵敏度高、试剂量少、芯片复用率高及易于自动化等优点,是当前致病菌检测领域的国际前沿技术^[9-13]。

水产养殖水环境中致病菌种类繁多且成分复杂,在检测中将目标菌从样本中快速分离出来对提高后续检测精度和速度尤为关键。传统分离法采用成本较高的特异培养基平板显色菌落计数分离检测不同种类目标菌浓度^[14]。磁珠分离法是采用表面偶联致病菌特异性抗体的微纳米级免疫磁珠(以下简称磁珠)与致病菌发生免疫反应形成磁珠与致病菌复合物(以下简称复合物)来捕获目标菌,并通过施加磁场实现目标菌富集且同时与样本其他部分的分离,具有分离速度快、纯度高、对目标菌损伤小等优点,有利于快速安全分离出致病菌^[15-16]。然而,微流控芯片(以下简称芯片)的微尺度结构会造成样本流体的层流状态使得磁珠与样本中致病菌难以有效混合和进行免疫反应,导致磁珠对致病菌捕获和分离效率降低,引起检测失真。本文提出一种基于磁控分离的水产致病菌微流控检测方法,以常见的水产致病菌大肠杆菌 O157:H7(以下简称大肠杆菌)为例对所提出方法进行实验验证。

1 致病菌磁控分离微流控检测系统

1.1 检测机理

微流控检测系统中外磁场驱动磁珠进行主动混合及免疫反应是磁珠捕捉致病菌完成磁控分离的关键,微通道中磁珠浓度扩散方程为^[17-18]

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \nabla^2 C - v_f \nabla C - \gamma \delta F_m \nabla C \tag{1}$$

其中 $\gamma = \pi \eta r_p / 6 \tag{2}$

$D = \gamma K T \tag{3}$

式中 C ——微通道中磁珠扩散浓度
 F_m ——外磁场施加磁珠的磁场力
 v_f ——微通道中样本流体速度
 r_p ——磁珠半径 γ ——磁力系数
 δ ——磁场间歇变化函数(0,1)
 D ——扩散系数
 K ——波尔兹曼常数
 T ——微通道中样本流体温度

η ——微通道中样本流体粘度
微通道中磁珠与致病菌的免疫反应以及磁珠捕获致病菌的过程可用反应方程表示为

$$\frac{\partial C_{MNP-BIO}}{\partial t} = nk_{on}CC_{BIO} - k_{off}C_{MNP-BIO} \tag{4}$$

式中 $C_{MNP-BIO}$ ——微通道中磁珠/致病菌复合物浓度
 C_{BIO} ——微通道中致病菌浓度
 n ——磁珠与致病菌的表面积比
 k_{on} ——结合速率常数
 k_{off} ——分解速率常数

由式(1)~(4)可知,在其他参数不变时,微通道内复合物浓度 $C_{MNP-BIO}$ 随磁珠扩散浓度 C 变化而变化,当施加外磁场时,则通过控制 F_m 和磁场间歇变化函数 δ 改变 C 进而改变 $C_{MNP-BIO}$,即控制磁珠在微通道内对致病菌捕捉与分离。

分离出的复合物通过流体推动进入阻抗测量区进行致病菌浓度检测。致病菌阻抗测量等效电路如图 1 所示。

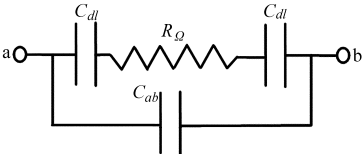


图 1 致病菌阻抗测量等效电路
Fig.1 Equivalent circuit of impedance measurement system for detection of aquaculture pathogens

a、b 两端分别代表研究电极和辅助电极,则电极间的阻抗为^[19-20]

$|Z_1| = \sqrt{R_\Omega^2 + \frac{1}{(\pi f C_{dl})^2}} \tag{5}$

$|Z_2| = \sqrt{\frac{1}{(2\pi f C_{ab})^2}} \tag{6}$

$\frac{1}{Z_{total}} = \frac{1}{Z_1} + \frac{1}{Z_2} \tag{7}$

式中 C_{ab} ——电极间的电容
 C_{dl} ——电极间界面双电层电容
 R_Ω ——电极间致病菌复合物的溶液电阻
 f ——阻抗检测频率
 Z_1 ——等效电路 $C_{dl} + R_\Omega + C_{dl}$ 的阻抗
 Z_2 ——等效电路 C_{ab} 的阻抗
 Z_{total} ——检测系统阻抗

通过确定检测系统阻抗(以下简称系统阻抗)与样本中致病菌浓度间的定量关系,得出致病菌的浓度含量。

1.2 微流控芯片设计

为了满足微流控系统对样本中致病菌的快速分

离及检测要求,所设计的芯片具有自动进样、磁控分离以及电化学阻抗检测等功能。如图 2 所示,A 为磁珠溶液进样口,B 为致病菌样本进样口,通过注射泵同时注入芯片实现快速自动进样;磁控分离室主要用于磁珠与致病菌充分混合并发生免疫反应生成复合物,通过外磁力吸附磁珠实现对致病菌富集和从样本中分离,磁控分离是提高致病菌微流控检测精度的关键环节,分离不完全会导致检测数据产生较大的检测误差,磁控分离室设计圆形,可有效磁控混合、反应及捕获分离致病菌。

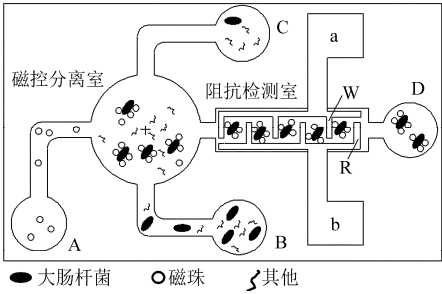


图 2 微流控芯片模型图

Fig. 2 Structure model of microfluidic chip

阻抗检测室采用叉指微电极结构,文献[20]已证实微通道中叉指电极结构能提高细菌阻抗测量的灵敏度,研究电极 W 和辅助电极 R 错落分布在芯片通道两侧,分别通过 a、b 两端引出连接电化学工作站进行阻抗测量。C 为清洗液流出口,D 为废液口。电极材料为透明半导体氧化铟锡(ITO),单个微电极宽度 50 μm ,电极间隙为 100 μm 。芯片材料为聚二甲基硅氧烷(PDMS),粘合在玻璃基片上。芯片微管道体积设计为 6.78×10^{-3} mL。芯片采用四通道通断截止法来实现样本的流量控制。A、B 口采用注射泵启动与停止来控制流量,C、D 口采用聚四氟乙烯(PTFE)导管夹手动控制流量。该芯片采用自动注射进样、磁控分离目标菌及叉指电极阻抗测量等结构,不仅能快速分离目标菌减少检测误差,且提高了检测自动化程度。

1.3 微流控检测实验平台

图 3 是整体实验平台照片。图中定制的磁场发生器 X、Y、Z 3 轴磁极绕组线圈可任意改变磁极通电方式产生 1~3 维磁场,芯片放置于 -Z 轴磁极端子上,注射泵(0.098 μm /步,CVs 的流量精度小于 1%)通过微量注射器将磁珠溶液和致病菌样本经 A、B 口注入磁控分离室。实验中大肠杆菌免疫磁珠粒径 180 nm,质量浓度 10 mg/mL,各轴向磁场在分离室处磁感强度最大可达 65 mT。电源控制板通过程序控制直流稳流电源(YB3205 型,0~5 A 稳流调节)供电于磁场发生器 X、Y 轴的磁极线圈,产生 XY 平面间歇变化的磁场驱动分离室中的磁珠与致

病菌充分混合及反应,而后对反应后的复合物进行 -Z 轴吸引富集,注射泵经 A 口注入去离子水冲洗杂质后完成分离。经磁控分离后的复合物由注射泵经 A 口注入去离子水驱动进入阻抗测量室,连接电化学工作站(上海辰华 CHI660E 型)进行系统阻抗测量得出样本中致病菌浓度。

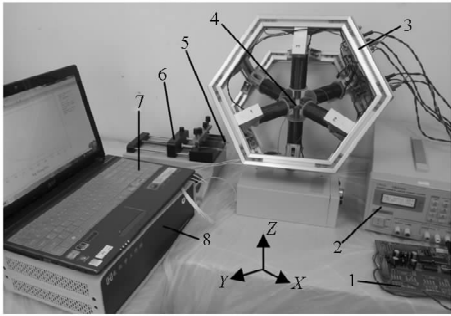


图 3 整体实验平台照片

Fig. 3 Picture of overall experimental platform

1. 电源控制板 2. 直流稳流电源 3. 磁场发生器 4. 微流控芯片 5. 微量注射器 6. 注射泵 7. 监控计算机 8. 电化学工作站

2 实验方法

水产养殖水环境中单位容积致病菌含量很低,检测可采用滤膜(Millieux 微生物滤膜 0.45 μm)直径 55 mm 和真空泵抽滤(压力 0.5 MPa,过滤速度可达 1.5 L/min)富集水中的致病菌,滤膜经定量冲洗稀释后得检测样本。水产致病菌检测通常采用平板计数法作为标准检测方法^[4]:即将样本涂于培养基放入振荡培养箱(37 $^{\circ}\text{C}$,200 r/min)中 48 h 恒温增菌培养,之后菌落计数得致病菌浓度。

本实验将大肠杆菌作为检测目标致病菌,金黄色葡萄球菌和沙门氏菌作为检测干扰菌,所有菌种由江苏大学生物工程实验中心提供。将 3 类菌种分别用去离子水配成致病菌溶液,梯度稀释后采用平板计数法得到系列浓度标准样本。将 3 类标准样本按照一定浓度比例调配成水产致病菌合成样本,即取 0.1 mL 上述标定大肠杆菌样本,加入 0.9 mL 一定浓度的金黄色葡萄球菌和沙门氏菌作为干扰稀释液,按照 $10^1 \sim 10^8$ 梯度稀释后得到系列浓度大肠杆菌的合成样本。取 1 mL 合成样本以及 1 mL 磁珠溶液由注射泵同时注入芯片,关闭 D 口,电源控制板驱动磁场发生器按 X~Y~(-X)~(-Y)磁极以 1 Hz 频率间歇通电方式施加磁场于芯片,此时分离室内磁珠在磁场作用下与样本中大肠杆菌进行磁控混合并发生免疫反应,产生磁珠/大肠杆菌复合物,如图 2 所示,一定时间后停止施加间歇磁场,启动(-Z)磁极将复合物吸附在分离室下部,关闭 B 口将 A 口换成去离子水冲洗分离室,杂菌和废液经 C

口流出;重复冲洗 2 次后,停止(−Z)磁极释放复合物从样本中分离;关闭 C 口开 D 口,驱动 A 口注入去离子水推动复合物进入阻抗检测室,采用电化学工作站对其进行阻抗检测。

实验先对系统主要条件参数进行测定优化,而后在最优条件下对系列浓度的大肠杆菌合成样本进行磁控分离阻抗检测,建立检测阻抗与样本中大肠杆菌浓度之间定量关系并确定检出限,最后取任意浓度合成样本,采用上述方法与平板计数法对比,验证该系统的检测性能。

3 结果与讨论

3.1 系统主要参数测定与优化

系统的主要条件参数包括阻抗检测频率、磁控力以及目标菌捕获时间等。实验先单独注入 1 mL 去离子水和 1 mL 磁珠溶液进行阻抗测量作为检测比对基准,然后分取 1 mL 大肠杆菌(浓度 1.6×10^4 CFU/mL)合成样本与 1 mL 磁珠溶液通过微量注射器同时注入芯片,分别采取不同条件参数进行磁控分离微流控阻抗法检测,测定在最佳检测效果下的系统条件参数。

3.1.1 阻抗检测频率

由式(5)、(6)可知,不同的检测频率可测得不同系统的阻抗,其中样本浓度变化最为明显的频率为系统最优检测频率。如图 4 所示,在不同检测频率下,样本呈现不同系统阻抗,与去离子水和磁珠溶液比对发现,合成样本的阻抗远小于去离子水和磁珠,且检测频率在 10 ~ 100 kHz 范围内,系统阻抗基本稳定,因此取最优检测频率为 10 kHz。

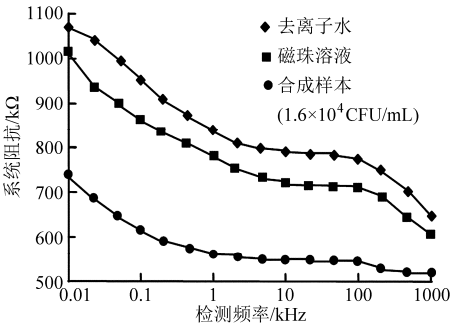


图 4 系统阻抗随阻抗检测频率的变化
Fig. 4 System impedance vs measurement frequency

3.1.2 磁控力

由式(1)、(4)可知,磁场施加磁珠的磁控力 F_m 直接影响微通道中磁控分离后复合物浓度,磁控力越大,驱动磁珠与目标菌反应越充分,产生复合物浓度越高。当其他参数不变时,磁控力与磁场强度呈正比,当磁控电流增大时,磁场强度增大,对磁珠的磁场力也增大。当磁场强度达到或者超过磁珠饱和

度时,磁控力不再增加。因此采用 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 A 等 7 种电流对样本进行磁控分离和阻抗检测。如图 5 所示,结果表明磁控电流大于 3.0 A 后,系统阻抗变化不明显,说明此时磁珠达到磁控饱和,磁控分离产生的复合物浓度最大,磁控分离误差较小。此时对该目标菌样本浓度检测误差最小。

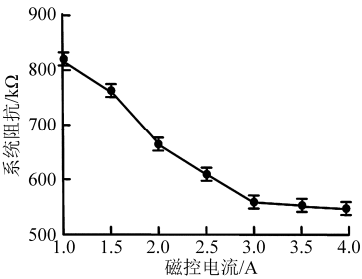


图 5 系统阻抗随磁控电流的变化
Fig. 5 System impedance vs magnetic pole current

3.1.3 目标菌捕获时间

微通道中磁珠捕获目标菌发生免疫反应时间是致病菌磁控分离的关键。时间过短会造成反应不完全引起检测失真;时间过长不仅效率低,而且磁珠碰撞导致复合物中磁珠与菌分离引起检测误差。在上述检测频率和磁控力的条件下,分别取 1、2、3、4、5、6、7 min 等时间进行系统阻抗检测。如图 6 所示,当捕获时间大于 6 min 时,系统阻抗变化很小,表明此时对目标菌样本检测误差最小。

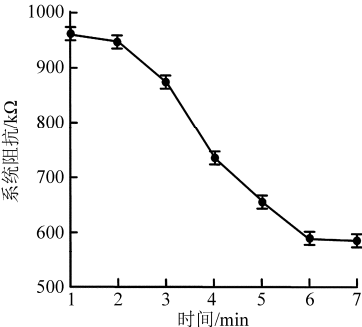


图 6 系统阻抗随目标菌捕获时间的变化
Fig. 6 System impedance vs target bacteria capture time

3.2 系统性能分析

系统性能体现在检测精度、分离速度及自动化程度等。取 1 mL 浓度为 1.6×10^7 CFU/mL 的大肠杆菌作为目标菌样本施加 2 种不同浓度干扰菌进行梯度稀释得 10 种目标菌样本,与 1 mL 磁珠溶液注入芯片,在最佳参数下进行检测得到系统阻抗与目标菌浓度定量关系,如图 7 所示。结果表明测定目标菌浓度在 $1.6 \times 10^3 \sim 1.6 \times 10^6$ CFU/mL 范围内,系统检测阻抗与目标菌浓度呈线性关系,检测线性回归模型为 $y = -102\lg x + 929, R = 0.969$,当目标菌浓度小于 1.6×10^3 CFU/mL 时,系统检测阻抗变化非线性,故检出限可确定为 1.6×10^3 CFU/mL。

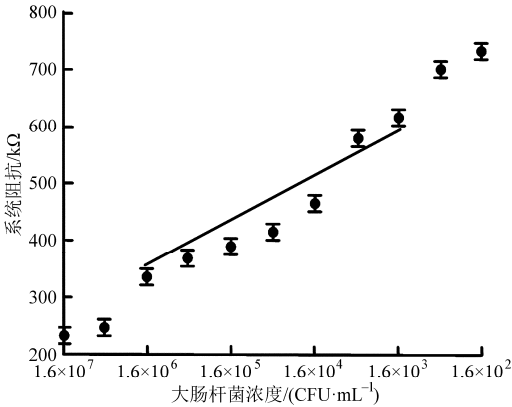


图7 系统阻抗随大肠杆菌浓度的变化

Fig. 7 System impedance vs concentration of *Escherichia coli* O157:H7

为了分析验证该微流控系统检测性能,分别取浓度为 4×10^5 CFU/mL的目标菌样本进行梯度稀释平板计数法检测,而后施加干扰菌后与磁珠溶液同时注入系统进行目标菌浓度检测,将检测结果与平板计数法检测结果进行相关度分析。

图8为采用2种方法进行大肠杆菌浓度检测获得的结果散点图。采用回归分析法得两组数据相关系数达0.978。上述方法与标准方法检测误差对比如表1所示,结果显示2种检测方法的相对误差小于4%。此数据表明,本文方法与平板计数法相比,检测精度基本相同,但能快速实现目标菌磁控分离,检测时间约为50 min,远少于平板计数法的48 h,检测时间缩短到原来的1/60,实现了水产致病菌大肠杆菌浓度的快速分离与自动化检测。

4 结束语

将水产致病菌大肠杆菌浓度检测中进样、磁控

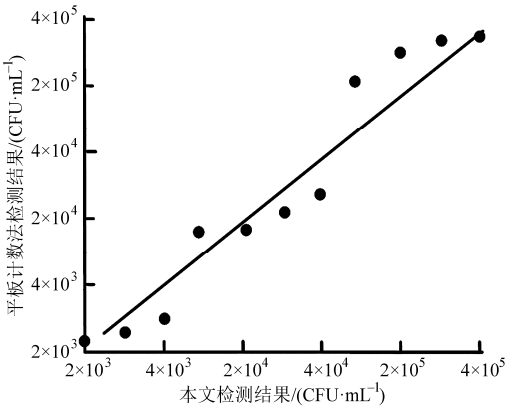


图8 所提出方法与平板计数法回归分析

Fig. 8 Regression analysis of the proposed method and plate counting method

表1 本文方法与标准方法检测误差对比				
Tab.1 Error comparison of two detection methods				
样本	平板计数法/ (CFU·mL ⁻¹)	本文方法		相对 误差/%
		阻抗/kΩ	浓度/(CFU·mL ⁻¹)	
1	2.1×10^3	590	1.8×10^3	3
2	2.4×10^4	450	2.2×10^4	2
3	2.1×10^5	390	2.5×10^5	4

分离以及阻抗检测等环节集成于微流控芯片上,建立了磁控分离微流控检测系统,并对检测中的阻抗检测频率、磁控力及目标菌捕获时间等参数进行了测定与优化,与平板计数法相比,检测精度基本相同,满足了水产养殖病害应用检测的精度要求,同时系统采用目标菌分离与检测过程的自动化进行,去除了传统的人工增菌培养环节,检测时间减少为约50 min,实现了水产致病菌的快速分离与检测,所提出的方法为水产养殖病害检测自动化设备的研制提供了参考。

参 考 文 献

1 吴淑勤,王亚军. 我国水产养殖病害控制技术现状与发展趋势[J]. 中国水产, 2010(8): 9-10.
Wu Shuqin, Wang Yajun. The status and development trend of China's aquaculture disease control[J]. China Fisheries, 2010(8): 9-10. (in Chinese)

2 Adams A, Thompson K D. Development of diagnostics for aquaculture: challenges and opportunities[J]. Aquaculture Research, 2011, 42(Supp. 1): 93-102.

3 Cano-Gomez A, Bourne D G, Hall M R, et al. Molecular identification, typing and tracking of *Vibrio harveyi* in aquaculture systems: current methods and future prospects[J]. Aquaculture, 2009, 287(1-2): 1-10.

4 黄琪琰. 淡水鱼病防治实用技术大全[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005.

5 曹雪涛. 免疫学技术及其应用[M]. 北京: 科学出版社, 2010.

6 Sharma H, Mutharasan R. Review of biosensors for foodborne pathogens and toxins[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2013, 183: 535-549.

7 Garrido A, Chapela M J, Ferreira M, et al. Development of a multiplex real-time PCR method for pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* detection (tdh plus and trh plus) [J]. Food Control, 2012, 24(1-2): 128-135.

8 D'hondt L, Höfte M, Van Bockstaele E, et al. Applications of flow cytometry in plant pathology for genome size determination, detection and physiological status[J]. Molecular Plant Pathology, 2011, 12(8): 815-828.

9 林炳承. 图解微流控芯片实验室[M]. 北京: 科学出版社, 2008.

10 Bradley D A, Seward D W. The development, control and operation of an autonomous robotic excavator[J]. Journal of Intelligent and Robotic System, 1998, 21(1):73 – 97.

11 黄宗益, 王康, 杨劲松. 挖掘机工作装置轨迹控制[J]. 建筑机械, 1998(2): 28 – 41.

12 刘心昊, 张大庆, 赵喻明, 等. 一种新型智能挖掘机的设计与实现[J]. 建筑机械, 2010(5): 100 – 102.

13 田光兆, 安秋, 姬长英, 等. 基于立体视觉的智能农业车辆实时运动检测[J]. 农业机械学报, 2013, 44(7): 210 – 215. Tian Guangzhao, An Qiu, Ji Changying, et al. Real-time motion detection for intelligent agricultural vehicle based on stereo vision[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2013, 44(7): 210 – 215. (in Chinese)

14 Seward D W, Pace C, Agate R. Safe and effective navigation of autonomous robots in hazardous environments[J]. Autonomous Robots, 2007, 22(3):223 – 242.

15 Le D H, Kyoung K A, Nguyen B K, et al. Trajectory control of electro-hydraulic excavator using fuzzy self-tuning algorithm with neural network[J]. Journal of Mechanical Science and Technology, 2009, 23(1):149 – 160.

16 Kwon S K, Kim Y S, Lee C D, et al. Development and evaluation of simulator for field robot[C]//Institute of Control, Robotics and Systems. Korea Machine Tool Manufacturers’ Association. International Conference on Smart Manufacturing Application, 2008;419 – 423.

17 Plonecki L, Trampczynski W, Cendrowicz J. A concept of digital control system to assist the operator of hydraulic excavators[J]. Automation in Construction, 1998, 7(5): 401 – 411.

18 Ha Q, Santos M, Nguyen Q, et al. Robotic excavation in construction automation[M]. IEEE Robotics & Automation Magazine, 2002, 9(1):20 – 28.

19 罗武胜, 李沛, 李冠章, 等. 基于计算机视觉的飞机尾旋运动姿态测量方法[J]. 电子器件, 2008, 31(3): 992 – 1002. Luo Wusheng, Li Pei, Li Guanzhang, et al. Method to measure the poses of the aircraft model based on the manmade signs[J]. Chinese Journal of Electron Devices, 2008, 31(3): 992 – 1002. (in Chinese)

20 杨博文, 张丽艳, 叶南, 等. 面向大视场视觉测量的摄像机标定技术[J]. 光学学报, 2012, 32(9): 0915001-1 – 0915001-9. Yang Bowen, Zhang Liyan, Ye Nan, et al. Camera calibration technique of wide-area vision measurement[J]. Acta Optica Sinica, 2012, 32(9): 0915001-1 – 0915001-9. (in Chinese)

(上接第 281 页)

10 Agrawal S, Paknikar K, Bodas D. Development of immunosensor using magnetic nanoparticles and circular microchannels in PDMS[J]. Microelectronic Engineering, 2014, 115: 66 – 69.

11 Foudeh A M, Didar T F, Veres T, et al. Microfluidic designs and techniques using lab-on-a-chip devices for pathogen detection for point-of-care diagnostics[J]. Lab on a Chip, 2012, 12(18): 3249 – 3266.

12 Yang N, Zhang R, Xu P, et al. Latex immunoagglutination assay for rheumatoid factor in a microfluidic device based on light scattering detection[J]. Journal of Investigative Medicine, 2013, 61(4):S25 – S25.

13 Jiang J, Wang X, Chao R, et al. Smartphone based portable bacteria pre-concentrating microfluidic sensor and impedance sensing system[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2014, 193: 653 – 659.

14 张淑红, 吴清平, 张菊梅, 等. 显色培养基在几种食源性致病菌快速检测中的应用[J]. 微生物学通报, 2006, 33(6): 108 – 111. Zhang Shuhong, Wu Qingping, Zhang Jumei, et al. Application of chromogenic media in some foodborne pathogenic bacterial rapid detection[J]. Microbiology China, 2006, 33(6): 108 – 111. (in Chinese)

15 Van Reenen A, De Jong A M, Den Toonder J M J, et al. Integrated lab-on-chip biosensing systems based on magnetic particle actuation—a comprehensive review[J]. Lab on a Chip, 2014, 14(12): 1966 – 1986.

16 Yang Y, Kim S, Chae J. Separating and detecting *Escherichia coli* in a microfluidic channel for urinary tract infection applications [J]. Journal of Microelectromechanical Systems, 2011, 20(4): 819 – 827.

17 Munir A, Zhu Z, Wang J, et al. FEM analysis of magnetic agitation for tagging biomolecules with magnetic nanoparticles in a microfluidic system[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2014, 197: 1 – 12.

18 吴信宇. 磁动力微流控芯片内磁珠动力学行为及其强化混合与分离机理研究[D]. 上海:上海交通大学, 2012.

19 阿伦·J 巴德, 拉里·R 福克纳. 电化学方法原理及应用[M]. 北京:化学工业出版社, 2005.

20 Varshney M, Li Y. Interdigitated array microelectrodes based impedance biosensors for detection of bacterial cells[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2009, 24(10): 2951 – 2960.