



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 104007265 B

(45) 授权公告日 2016. 02. 24

(21) 申请号 201410240432. X

CN 103048460 A, 2013. 04. 17,

(22) 申请日 2014. 05. 30

KR 2004-0089384 A, 2004. 10. 21,

CN 101464464 A, 2009. 06. 24,

(73) 专利权人 山东出入境检验检疫局检验检疫技术中心

审查员 段晓露

地址 266002 山东省青岛市市南区瞿塘峡路70号

(72) 发明人 房保海 贾俊涛 姜英辉 李正义 郑小龙 王群 岳志芹 肖西志 徐彪 梁成珠

(51) Int. Cl.

G01N 33/577(2006. 01)

G01N 33/531(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 103376320 A, 2013. 10. 30,

CN 103792362 A, 2014. 05. 14,

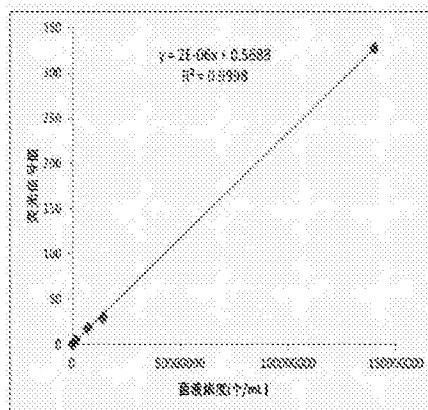
权利要求书2页 说明书5页 附图4页

(54) 发明名称

出血性大肠杆菌 0157:H7 量子点荧光免疫层析定量检测试纸条及其检测方法

(57) 摘要

本发明公开了一种出血性大肠杆菌 0157:H7 量子点荧光免疫层析定量检测试纸条及其制备方法和检测方法,属于荧光免疫检测技术领域。该检测试纸包括样品吸收区、量子点探针区、固相化抗体区、吸水区和底板,样品吸收区、量子点探针区、固相化抗体区和吸水区依次铺设在底板上并相互部分重叠。通过将包被有抗出血性大肠杆菌 0157:H7 单克隆抗体 D3 的玻璃纤维膜(样品吸收区)、包被有抗出血性大肠杆菌 0157:H7 单克隆抗体 E7 的检测线和质控线的硝酸纤维素膜、吸水滤纸(吸水区) 组装到聚乙烯板上得到出血性大肠杆菌 0157:H7 量子点荧光免疫层析定量检测试纸条。本发明的试纸条检测灵敏度达到 7×10⁴CFU/mL,具有定量、快速、准确率高、特异性强、操作简便等特点。



1. 一种出血性大肠杆菌 0157:H7 量子点荧光免疫层析定量检测试纸条,其特征在于,所述的试纸条包括样品吸收区、量子点探针区、固相化抗体区、吸水区和底板;样品吸收区、量子点探针区、固相化抗体区和吸水区依次铺设在底板上并相互部分重叠;所述的量子点探针区包被有量子点标记的抗出血性大肠杆菌 0157:H7 单克隆抗体 D3,固相化抗体区上依次有检测线和质控线,检测线包被有抗出血性大肠杆菌 0157:H7 单克隆抗体 E7,质控线包被有羊抗小鼠 IgG,所述的试纸条在出血性大肠杆菌 0157:H7 在 $7 \times 10^4 \sim 1.75 \times 10^8$ CFU/mL 之间时,能够进行出血性大肠杆菌 0157:H7 的定量检测,灵敏度达到 7×10^4 CFU/mL;

所述的量子点为核壳型 CdSe/ZnS 量子点,无机部分为 CdSe/ZnS,高分子层为 PEG,表面为 -COOH,可与特异性抗体偶联,该量子点发射波长为 605nm,紫外激发;

所述试纸条的制备方法,包括以下步骤:

(1) 量子点-单克隆抗体结合物的制备

取羧基水溶性量子点 100 μ L,加入 516 μ L pH 为 7.4、20mM 硼酸盐缓冲液,充分使其混匀,边搅拌边滴加 64 μ L 的 EDC 和 120 μ L 的出血性大肠杆菌 0157:H7 单克隆抗体 D3,37 $^{\circ}$ C 反应 2 h;EDC 的浓度为 10mg/mL,采用 pH 为 7.4、20mM 硼酸盐缓冲液现配;单克隆抗体 D3 浓度为 5mg/mL;

反应结束后,10000 转离心 3min 除去沉淀,上清采用凝胶尺寸排阻色谱法除去多余的抗体及副产物,终产物保存于 pH 为 7.4、浓度为 10 mM PBS 的中,即为量子点-单克隆抗体结合物;

(2) 样品吸收区和量子点探针区的制备

选择玻璃纤维作为样品垫,利用为含 2%BSA、2%蔗糖和 0.5%Tween-20 的 TBS 的样品垫处理液和量子点-单克隆抗体结合物;将样品垫浸泡于样品垫处理液 15 min 后,取出于 37 $^{\circ}$ C 干燥 24 h,采用切条机切割成长 320mm,宽 21mm,备用;

TBS 的浓度为 0.01mol/L,样品垫处理液和量子点-单克隆抗体结合物的体积比为 4:1;

(3) 固相化抗体区

用 10mM, pH 7.4 的 PBS 稀释单抗 E7 和羊抗小鼠 IgG 包被于硝酸纤维素膜上,包被量为 1.0 μ L/cm,作为检测线和质控线,置于干燥箱内常温干燥过夜,将包被好的硝酸纤维素膜剪裁成长 320mm,宽 2.5mm,备用;单抗 E7 的使用浓度为 2.0mg/mL,羊抗小鼠 IgG 的使用浓度为 0.5mg/mL;

(4) 试纸条组装

将样品吸收区、量子点探针区、固相化抗体区、吸水区和底板进行组装。

2. 一种利用权利要求 1 所述的检测试纸条检测出血性大肠杆菌 0157:H7 的方法,其特征在于,包括下列步骤:

(1) 样品增菌处理;无菌吸取 25mL 液体样本或 25g 固体样本,加入 225mL EB 增菌液,以接种 1mL 100CFU/mL 出血性大肠杆菌 0157:H7 为阳性对照,以不处理的增菌液为空白对照,37 $^{\circ}$ C 培养 24h;

(2) 试纸条检测:取 1mL 增菌液 100 $^{\circ}$ C 加热 10min,吸取 75 μ L 悬液,加入到样品吸收区上进行检测,反应 15min 后,将检测卡放入荧光层析试纸条检测仪中的检测窗口,使用荧光层析检测仪进行读值,并判定结果;

(3) 结果判定:阳性反应为检测线 T 线和质控线 C 线位置荧光层析试纸条检测仪皆出现荧光信号峰;阴性反应只在质控线 C 线出现荧光信号峰。

出血性大肠杆菌 0157:H7量子点荧光免疫层析定量检测试纸条及其检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种出血性大肠杆菌 0157:H7 量子点荧光免疫层析定量检测试纸条及其制备方法和检测方法,属于荧光免疫检测技术领域。

背景技术

[0002] 食源性病原微生物是当今世界上不断增多的食品安全和突发性公共卫生事件的主要诱因。据 WHO 估计,食源性疾病的漏报率在 95% 以上,其中因动物源性食品污染病原微生物而引起的感染和食物中毒超过 85%。在食源性病原微生物中,肠出血性大肠杆菌 (Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, EHEC) 占有重要地位, EHEC 主要包括 0157:H7、026:H11 和 0111, 0157:H7 是出血性肠炎的主要致病菌^[1]。

[0003] 0157:H7 感染具有暴发流行趋势、强烈的致病性与致死性以及抗生素治疗可能会加剧病情等特点。人感染 0157:H7 后,出现急性腹泻、出血性结肠炎 (hemorrhagic colitis, HC), 在 5%~10% 的病例中引发溶血性尿毒综合征 (hemolytic uremic syndrome, HUS) 及血栓性血小板减少紫癜 (thrombotic thrombocytopenic purpura, TTP) 等严重并发症,严重者可导致死亡。1982 年 0157:H7 首先在美国发现,此后在世界各地散发或地方流行。1996 年在日本大阪地区发生 0157:H7 流行,患者逾万,死亡 11 人。2001 年在中国江苏、安徽等地发生了多次食源性感染 0157:H7 事件,导致 177 人死亡。0157:H7 已成为全球性的公共卫生和食品安全问题。

[0004] 人主要是经食源性或与带菌动物接触感染 0157:H7,带菌动物的粪便是污染环境和食品的主要来源。从腹泻患者及畜禽粪便、市售肉类以及从猪、鸽、牛、鸡、鸭等动物中有分离到 *E. coli* 0157:H7 的报道。目前,国内外已报道的检测方法包括:多重 PCR、基因芯片、脉冲场凝胶电泳分析、生物传感器、乳胶凝集试验、胶体金免疫层析检测试纸条等,这些方法在检测方面各有所长,但大多对仪器设备要求较高,并且存在试剂供应不配套等问题,因此使用范围有很大的局限性。分离培养鉴定仍是检测 0157:H7 的金标准,但其通常需要数天才能得到结果,不能满足快速诊断的要求。

[0005] 近年来,量子点是最重要的纳米材料之一,经常被用作生物标记及成像过程中的光学探针,在生物影像和食品安全中得到广泛关注。量子点 (QDs), 又称无机半导体纳米晶体,是一类由 II-VI 族 (如 CdSe、CdTe、CdS、ZnSe 等) 或 III-V 族 (如 InP、InAs 等) 元素组成的纳米颗粒,是近年发展起来的一种新型荧光纳米材料。与传统有机荧光染料相比,具有很多优良的荧光性能,吸收光谱宽、发射光谱窄而对称,斯托克斯位移 (Stoke's shift) 大及较高的荧光稳定性和较长的衰减寿命。

[0006] 中国专利文献 CN103376320A 公开了一种利用量子点检测大肠杆菌 0157:H7 的试纸条,利用的是多克隆抗体,不能进行定量检测;而本专利应用的抗体为单克隆抗体,来自于纯化的杂交瘤细胞,单克隆抗体理化性状高度均一、稳定性和重复性好、生物活性单一、与抗原结合的特异性强、便于质量控制;并且本专利不但可以对出血性大肠杆菌 0157:H7

进行定性检测,而且可以进行准确定量检测。

发明内容

[0007] 为克服上述专利及现有技术的不足,本发明要解决的技术问题是于提供一种出血性大肠杆菌 0157:H7 量子点荧光免疫层析定量检测试纸条,为快速检测出血性大肠杆菌 0157:H7,为食源性致病菌快速诊断提供可靠依据。该定量检测试纸条采用量子点标记的抗出血性大肠杆菌 0157:H7 单克隆抗体 D3 做探针,包被出血性大肠杆菌 0157:H7 单克隆抗体 E7 和羊抗小鼠 IgG 的双抗体夹心法检测出血性大肠杆菌 0157:H7,可供食品安全检测机构、食品生产加工企业等机构进行出血性大肠杆菌 0157:H7 的快速诊断。

[0008] 同时,本发明还提供出血性大肠杆菌 0157:H7 量子点荧光免疫层析定量检测试纸条的制备和检测方法。

[0009] 为解决上述技术问题,本发明利用量子点多波长激发、高强度荧光发射、发射峰窄、峰形对称、发光稳定性好的荧光特性,提供了一种出血性大肠杆菌 0157:H7 量子点荧光免疫层析定量检测试纸条;主要原理是利用量子点标记的单克隆抗体与出血性大肠杆菌 0157:H7 的特异性吸附能力,形成结合体,当结合体流动至检测线 T 线时,出血性大肠杆菌 0157:H7 与检测线上的包被单克隆抗体结合,形成荧光带;如样品中无出血性大肠杆菌 0157:H7,则不形成荧光带,多余的结合体或量子点标记抗体流动至质控线 C 线时,与质控线包被的羊抗小鼠 IgG 结合,形成质控线荧光带。

[0010] 本发明提供一种出血性大肠杆菌 0157:H7 量子点荧光免疫层析定量检测试纸条,所述的试纸条包括样品吸收区、量子点探针区、固相化抗体区、吸水区和底板;样品吸收区、量子点探针区、固相化抗体区和吸水区依次铺设在底板上并相互部分重叠;所述的量子点探针区包被有量子点标记的抗出血性大肠杆菌 0157:H7 单克隆抗体 D3,固相化抗体区上依次有检测线和质控线,检测线包被有抗出血性大肠杆菌 0157:H7 单克隆抗体 E7;质控线包被有羊抗小鼠 IgG,所述的试纸条在出血性大肠杆菌 0157:H7 在 $7 \times 10^4 \sim 1.75 \times 10^8$ CFU/mL 之间时,能够进行出血性大肠杆菌 0157:H7 的定量检测,灵敏度达到 7×10^4 CFU/mL。

[0011] 所述的量子点为核壳型 CdSe/ZnS 量子点,无机部分为 CdSe/ZnS,高分子层为 PEG,表面为 -COOH,可与特异性抗体偶联,该量子点发射波长为 605nm,紫外激发。

[0012] 本发明还提供上述出血性大肠杆菌 0157:H7 量子点荧光免疫层析定量检测试纸条的制备方法,包括以下步骤:

[0013] (1) 量子点 - 单克隆抗体结合物的制备

[0014] 取羧基水溶性量子点 100 μ L,加入 516 μ L pH 为 7.4、20mM 硼酸盐缓冲,充分使其混匀,边搅拌边滴加 64 μ L 的 EDC(10mg/mL,采用 pH 为 7.4、20mM 硼酸盐缓冲现配)和 120 μ L (5mg/mL)的出血性大肠杆菌 0157:H7 单克隆抗体 D3,37 $^{\circ}$ C 反应 2 h,反应结束后,10000 转离心 3min 除去沉淀,上清采用凝胶尺寸排阻色谱法除去多余的抗体及副产物,终产物保存于 10 mM PBS (pH7.4 中),即为量子点 - 单克隆抗体结合物;

[0015] (2) 样品吸收区和量子点探针区的制备

[0016] 选择玻璃纤维作为样品垫,利用含 2%BSA、2%蔗糖、0.5%Tween-20 的 TBS(0.01mol/L)的样品垫处理液和量子点 - 单克隆抗体结合物(体积比为 4:1);将样品垫浸泡于样品垫

处理液 15 min 后,取出于 37 °C 干燥 24 h,采用切条机切割成长 320mm,宽 21mm,备用;

[0017] (3) 固相化抗体区

[0018] 用 10mM, pH 7.4 的 PBS 稀释单抗 E7 (2.0mg/mL) 和羊抗小鼠 IgG (0.5mg/mL) 包被于硝酸纤维素膜上,包被量为 1.0 μ L/cm,作为检测线和质控线,置于干燥箱内常温干燥过夜,将包被好的硝酸纤维素膜剪裁成长 320mm,宽 2.5mm,备用;

[0019] (4) 试纸条组装

[0020] 将样品吸收区、量子点探针区、固相化抗体区、吸水区和底板进行组装。

[0021] 本发明还提供了一种利用检测试纸条检测出血性大肠杆菌 0157:H7 的方法,包括下列步骤:

[0022] (1) 样品增菌处理

[0023] 无菌吸取 25mL 液体样本或 25g 固体样本,加入 225mL EB 增菌液,以接种 1mL 100CFU/mL 出血性大肠杆菌 0157:H7 为阳性对照,以不处理的增菌液为空白对照,37°C 培养 24h 后

[0024] (2) 试纸条检测

[0025] 取 1mL 增菌液 100°C 加热 10min,吸取 75 μ L 悬液,加入到样品垫上进行检测,反应 15min 后,将检测卡放入荧光层析试纸条检测仪中的检测窗口,使用荧光层析检测仪进行读值,并判定结果。

[0026] (3) 结果判定

[0027] 阳性反应为检测线 T 线和质控线 C 线皆出现荧光反应;阴性反应只在质控线 C 线出现荧光反应。

[0028] 本发明的有益效果是:

[0029] 本发明应用量子点标记和层析技术,建立了出血性大肠杆菌 0157:H7 量子点荧光免疫层析定量检测试纸条,检测灵敏度达到 7×10^4 CFU/mL,在 $7 \times 10^4 \sim 1.75 \times 10^8$ CFU/mL 之间,能够进行出血性大肠杆菌 0157:H7 的定量检测;试纸条不但与非大肠杆菌无交叉反应,如;单核细胞增生李斯特氏菌、金黄色葡萄球菌和沙门氏菌,而且与大肠杆菌的其他血清型也无交叉反应,如 *E. coli* 08、011、0109、0161 也无交叉反应。该试纸条填补出血性大肠杆菌 0157:H7 荧光免疫层析检测的空白,并且该方法亦能进行定量检测,在进出口食品检测、疫病调查和风险评估领域将有良好的应用前景。

附图说明

[0030] 下面结合附图对本发明的具体实施方式作进一步详细的说明。

[0031] 图 1 为出血性大肠杆菌 0157:H7 量子点荧光免疫层析定量检测试纸条的结构示意图和成品试纸条,图中,1 样品垫;2 玻璃纤维膜结合垫;3 硝酸纤维素膜;4 检测线 T 线;5 质控线 C 线;6 吸水垫;7PVC 底板。

[0032] 图 2 为 QDs- D3 标记产物示意图,图中左图为明场,右图为紫外场。

[0033] 图 3 是 QDs- D3 的荧光及紫外光谱图(E_m :607nm, $fwhm$:26nm)。其中,在 607nm 有最高峰值的是荧光扫描光谱线,另一条是紫外吸收光谱线。

[0034] 图 4 是 QDs-MAb 的琼脂糖凝胶电泳图。

[0035] 图 5 是试纸条标准曲线。

具体实施方式

[0036] 实施例 1:量子点标记抗体的制备及纯化

[0037] (1) 量子点标记抗体

[0038] 标记具体步骤以 *E. coli* 0157 单克隆抗体 D3 为例。将羧基水溶性量子点与 D3 在偶联剂 EDC 作用下共价交联,生成量子点标记的抗体(QDs- D3)。方法如下:

[0039] 取羧基水溶性量子点 100 μ L,加入 516 μ L pH 为 7.4、20mM 硼酸盐缓冲,充分使其混匀。边搅拌边滴加 64 μ L 的 EDC (10mg/mL,采用 pH 为 7.4、20mM 硼酸盐缓冲现配)和 120 μ L (5mg/mL) 的 D3,37 $^{\circ}$ C 反应 2 小时。

[0040] 反应结束后,10000 转离心 3min 除去沉淀,上清采用凝胶尺寸排阻色谱法除去多余的抗体及副产物。终产物保存于 10 mM PBS (pH7.4 中)。

[0041] 由标记后结果(图 2)可见:标记纯化后的量子点为橙红色溶液,眼观无杂质,使用紫外对其进行激发后可见明显的橙红色荧光。

[0042] (2) QDs-MAb 的表征

[0043] 根据紫外-可见分光光度计以及荧光分光光度计对 QDs-MAb 的扫描结果可见(图 3),在 607 nm 处有明显的特征峰,半峰宽较窄说明量子点粒径均一性良好。

[0044] 电泳结果(图 4)显示与抗体偶联后量子点电泳速度较偶联前明显变慢,这说明量子点上已偶联上抗体,粒径变大,改变了其电泳迁移率。

[0045] 实施例 2:出血性大肠杆菌 0157:H7量子点荧光免疫定量层析试纸条特异性测试

[0046] 灭活的 *E. coli* 0157、*E. coli* 08、*E. coli* 011、*E. coli* 0109、*E. coli* 0161、单核细胞增生李斯特菌、金黄色葡萄球菌、鼠伤寒沙门菌,浓度均调节在 6×10^7 CFU/mL 左右。吸取 75 μ L 悬液,加入到样品垫上进行检测,反应 15min 后使用荧光层析检测仪进行读值,测定该试纸条的特异性情况。

[0047] 特异性检测结果显示(表 1):*E. coli*非 0157 的细菌和其他种属的致病菌荧光信号均很弱,只有 *E. coli* 0157 有明显的阳性荧光信号,可见该试纸条的特异性非常好。

[0048] 表 1 试纸条特异性试验荧光检测信号值

检测样品	检测信号平均值
<i>E. coli</i> 0157	169.5
<i>E. coli</i> 08	0.2
<i>E. coli</i> 011	0.4
<i>E. coli</i> 0109	0.3
<i>E. coli</i> 0161	0.5
单核增生李斯特菌	0.2
金黄色葡萄球菌	0.3
鼠伤寒沙门氏菌	0.3
样品稀释液	0

[0049] 实施例 3:出血性大肠杆菌 0157:H7量子点荧光免疫定量层析试纸条标准曲线的建立和添加回收

[0050] (1) 标准曲线的建立

[0051] 根据线性范围及灵敏度情况选择 1.4×10^5 CFU/mL \sim 1.75×10^8 CFU/mL 之间的 6 个稀释浓度: 1.4×10^8 CFU/mL、 1.4×10^7 CFU/mL、 7×10^6 CFU/mL、 1.4×10^6 CFU/mL、 7×10^5 CFU/mL、 1.4×10^5 CFU/mL 进行检测,每个浓度测定 5 次并取其平均值,根据数值结果建立

标准曲线。

[0052] 根据 6 个浓度的荧光信号建立该试纸条的标准曲线($y=2E-06x+0.5688$), 见图 5。由图可见该标准曲线的 $R^2=0.9998$, 表明浓度与荧光信号有较高的线性相关性, 可通过该曲线进行定量检测。

[0053] (2) 添加回收测试

[0054] 取不同量的 *E. coli* 0157 阳性样品, 添加至样品稀释液中, 添加情况见表 2, 每个浓度测定 5 次, 根据标准曲线计算实测含量, 并计算其添加回收率。

[0055] 表 2 试纸条特异性试验荧光检测信号值

检测样品	检测信号值	结果判定
蒙牛纯牛奶	0.1	阴性
伊利纯牛奶	0.1	阴性
大肠杆菌 0157:H7	379.6	阳性
空白对照	0	阴性

[0056] 由表 3 可见, 样品浓度大于 7×10^4 CFU/ml 时实测浓度在数量级上与理论浓度完全符合。回收率在 85.39-117.6 之间。

[0057] 表 3 试纸条添加回收结果

添加后浓度(CFU/mL)	检测信号平均值	实测浓度(CFU/mL)	回收率(%)
0	0.1	-2.33×10^5	/
9.8×10^4	0.77	1.0×10^5	102.04
3.08×10^6	5.82	2.63×10^6	85.39
4.2×10^6	8.723	4.08×10^6	97.14
8.03×10^6	19.37	9.4×10^6	117.06
1.096×10^7	25.55	1.24×10^7	114.05
5.11×10^7	99.3	4.97×10^7	97.2
9.38×10^7	180.1	8.98×10^7	95.73
2.156×10^8	420.15	2.10×10^8	97.40

[0058] 实施例 4: 应用出血性大肠杆菌 0157:H7 量子点荧光免疫定量层析试纸条检测牛奶样本中的出血性大肠杆菌 0157:H7

[0059] 从青岛前海利群购买牛奶样品(蒙牛纯牛奶、伊利纯牛奶各 1 盒)。

[0060] 无菌吸取 25mL 牛奶样本, 加至 225 mL EB 增菌液中, 以接种 1mL 100CFU/mL 出血性大肠杆菌 0157:H7 和不加样品为阳性对照和空白对照, 37℃ 培养 24h 后, 100℃ 加热 10min, 吸取 75 μL 悬液, 加入到样品垫上进行检测, 反应 15min 后, 将检测卡放入荧光层析试纸条检测仪中的检测窗口, 使用荧光层析检测仪进行读值, 并判定结果, 根据上述实施例中建立的标准曲线测定样品中出血性大肠杆菌 0157:H7 的含量。结果表明: 牛奶样品未检出出血性大肠杆菌 0157:H7 (表 4)。

[0061] 表 4 牛奶样品检测结果

检测样品	检测信号平均值
蒙牛纯牛奶	0.1
伊利纯牛奶	0.2
阳性对照	395.7
阴性对照	0

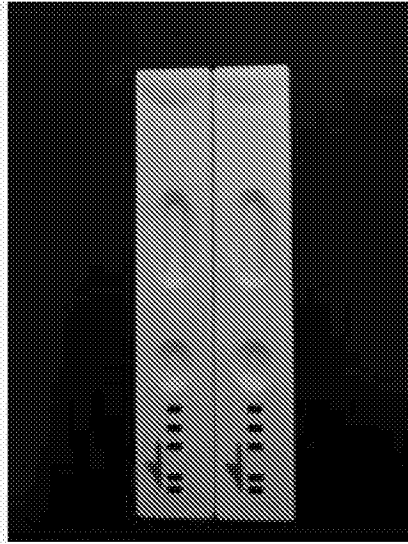
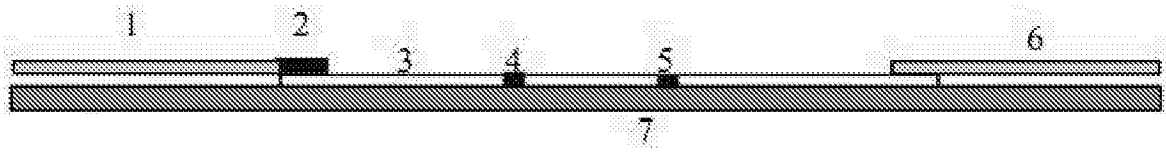


图 1

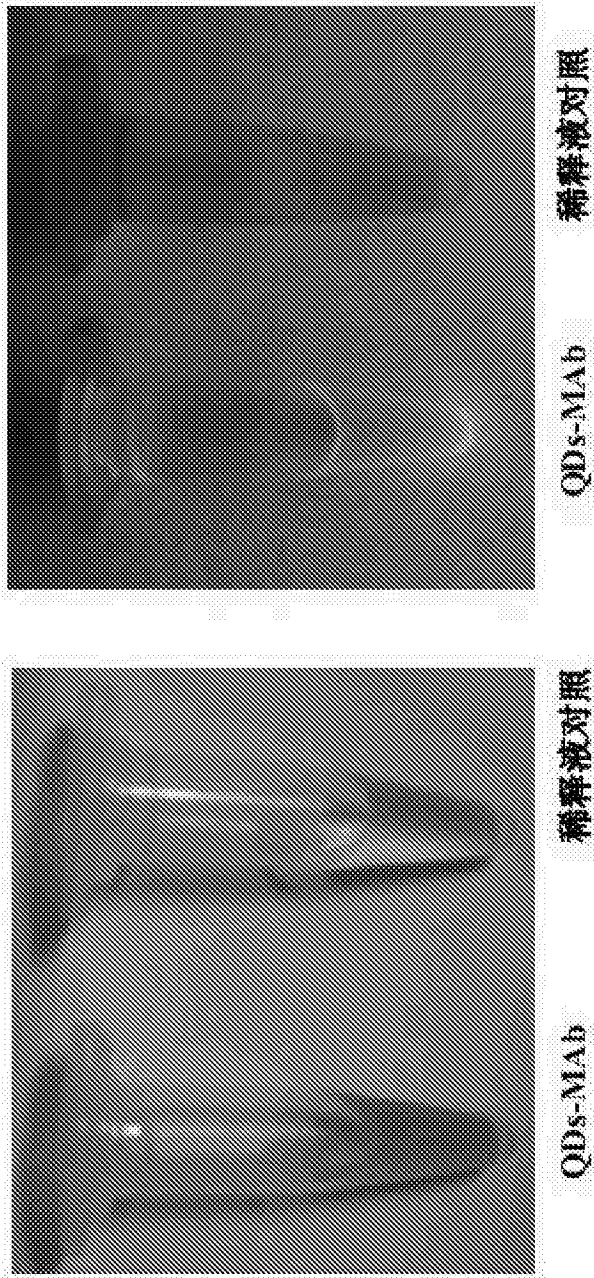


图 2

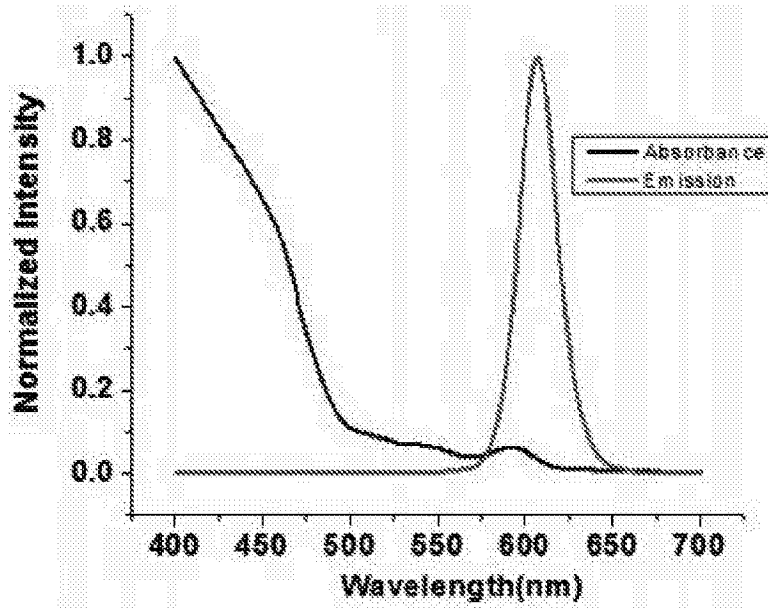


图 3

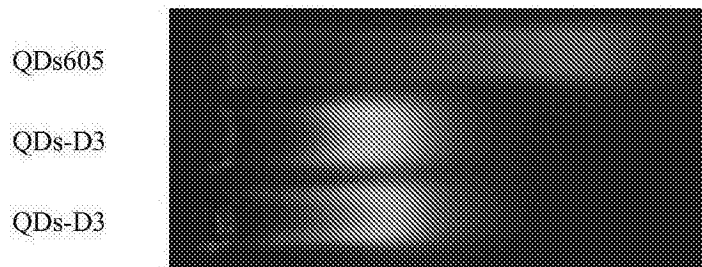


图 4

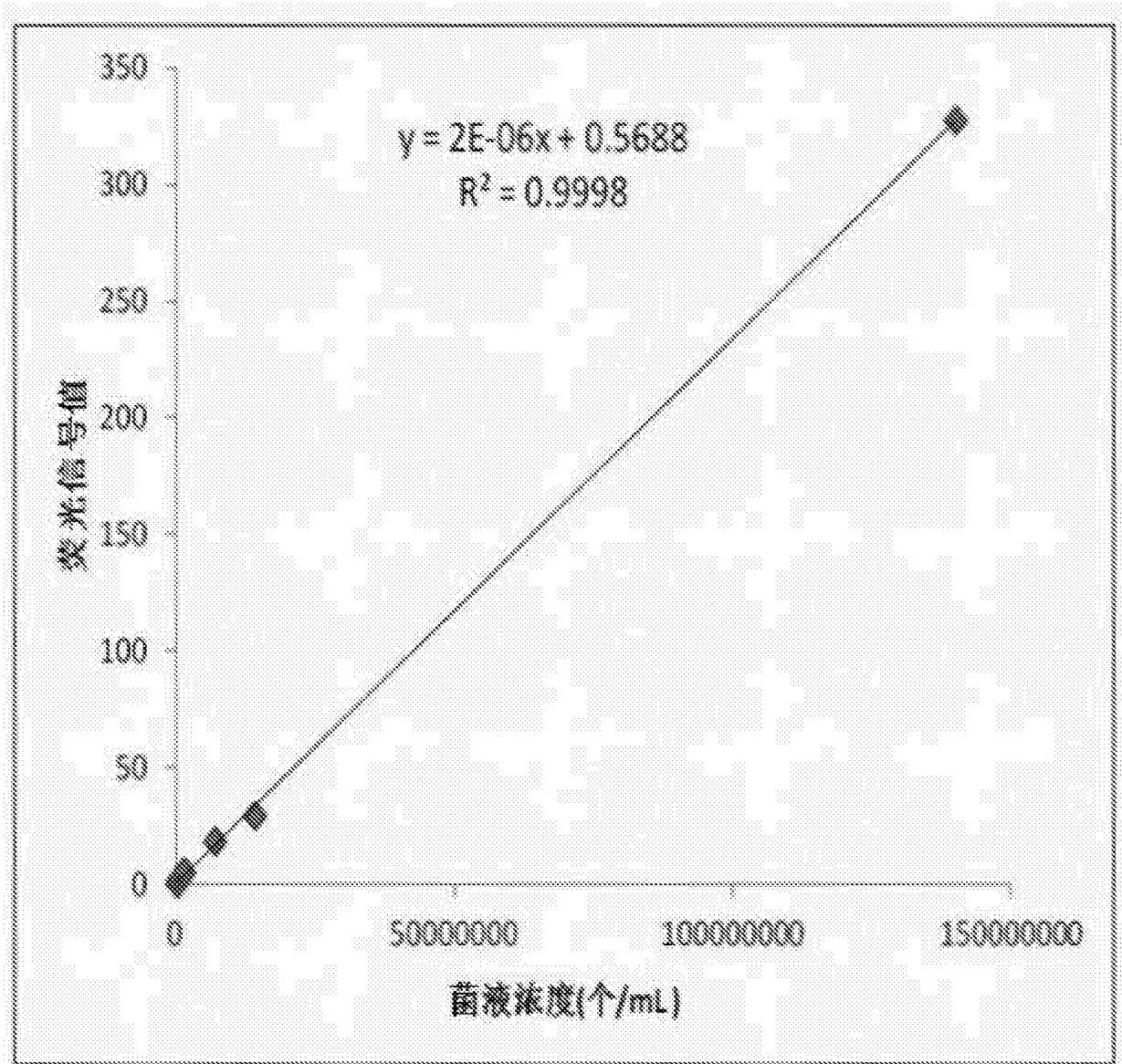


图 5

专利名称(译)	出血性大肠杆菌O157:H7量子点荧光免疫层析定量检测试纸条及其检测方法		
公开(公告)号	CN104007265B	公开(公告)日	2016-02-24
申请号	CN201410240432.X	申请日	2014-05-30
[标]申请(专利权)人(译)	山东出入境检验检疫局检验检疫技术中心		
申请(专利权)人(译)	山东出入境检验检疫局检验检疫技术中心		
当前申请(专利权)人(译)	山东出入境检验检疫局检验检疫技术中心		
[标]发明人	房保海 贾俊涛 姜英辉 李正义 郑小龙 王群 岳志芹 肖西志 徐彪 梁成珠		
发明人	房保海 贾俊涛 姜英辉 李正义 郑小龙 王群 岳志芹 肖西志 徐彪 梁成珠		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/54373 G01N33/558 G01N33/56916 G01N2333/265		
审查员(译)	段晓露		
其他公开文献	CN104007265A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种出血性大肠杆菌O157:H7量子点荧光免疫层析定量检测试纸条及其制备方法和检测方法，属于荧光免疫检测技术领域。该检测试纸包括样品吸收区、量子点探针区、固相化抗体区、吸水区和底板，样品吸收区、量子点探针区、固相化抗体区和吸水区依次铺设在底板上并相互部分重叠。通过将包被有抗出血性大肠杆菌O157:H7单克隆抗体D3的玻璃纤维膜（样品吸收区）、包被有抗出血性大肠杆菌O157:H7单克隆抗体E7的检测线和质控线的硝酸纤维素膜、吸水滤纸（吸水区）组装到聚乙烯板上得到出血性大肠杆菌O157:H7量子点荧光免疫层析定量检测试纸条。本发明的试纸条检测灵敏度达到 7×10^4 CFU/mL，具有定量、快速、准确率高、特异性强、操作简便等特点。

