

食物过敏原检测技术的新动态

陈红兵^{1,2}

(1. 南昌大学食品科学与技术国家重点实验室, 南昌 330047; 2. 南昌大学中德联合研究院, 南昌 330047)

Update on the detection of food allergens

Chen Hong-Bing^{1,2}

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China;
2. Sino-German Joint Research Institute, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

食物过敏是指人体摄入某些食物后产生的一种食物不良反应,在医学临床上属变态反应。近年来,食物过敏患者日益增多,过敏症发病率也呈逐年上升趋势,食物过敏已成为重要的食品安全问题,引起了广泛的关注。据国外的一些流行病学调查表明,有 2.5%的成年人和 6%~8%的儿童对某些食物过敏。过敏食物有 160 多种,被 WHO/FAO 认定的是由以下 8 大类食物所引起的,它们分别为牛乳、鸡蛋、花生、鱼、甲壳类水产动物、大豆、小麦和坚果。目前食物过敏尚无特效治疗方法,严格避免食用含有过敏成分的食品是食物过敏患者的最佳选择。食物过敏已成为食品工业的重要食品安全问题之一,其中过敏原的检测与食品致敏性风险评估、生产、管理以及产品的标示息息相关,是建立食品安全保障体系中的关键技术之一。目前,国内外已有商业化的检测试剂盒,但无论是待测过敏原的种类还是产品质量都有研发的空间,尤其国内商业化检测试剂严重缺乏。随着人们对食物过敏危害性认识的不断提高,过敏原检测的需求将与日益增长。

1 食物过敏原检测分类

食物过敏原主要是食物中的水溶性或盐溶性糖蛋白。从理论而言,用于检测蛋白质的物理、化学或生物的方法都可以用于检测食物过敏原,但实际应用于食物过敏原的检测技术主要包括两类。一类是基于蛋白质的检测方法:如免疫吸附实验(radio-allergosorbent test, RAST)、酶吸附实验(enzyme allergosorbent test, EAST)、火箭免疫电泳(rocked immuno-electrophoresis, RIE)、免疫印迹(immuno-blotting)、酶联免疫吸附实验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、液-质连用(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MSn)。另

一种是基于 DNA 水平上的检测方法,即通过 PCR 技术(polymerase chain reaction)对特殊 DNA 片段进行扩增来完成。

在现有的基于蛋白质的检测方法中,RIE 和免疫印迹方法是定性和半定量方法,RAST、EAST 和 ELISA 是定量分析方法。由于 ELISA 检测方法精确度高、简单易操作且易标准化,是实验室及政府检疫部门最常用的一种检测食物过敏原的方法。在实际应用中,主要是采用基于夹心 ELISA 和竞争 ELISA 原理的商业化检测试剂盒,其最低检测浓度一般在 0.1~5.0 mg/kg。部分食物过敏原商业化检测试剂盒信息如下。牛奶:德国拜发开发的酶免疫分析定量检测乳清蛋白和奶粉中的 β -乳球蛋白,检测限:0.2 mg/kg (婴儿食品);0.1 mg/kg (饮料和其他食品);USCNLIFE TM 公司研发的检测 α -乳白蛋白的试剂盒,可同时检测天然或重组的 α -乳白蛋白,检测线范围 0.625~40 ng/mL。花生:德国拜发开发的花生过敏原检测试剂盒的检测线为 2.5 mg/kg,可检测花生过敏原 Ara h1 和 Ara h2 的最低检测线 1 mg/kg。鸡蛋:国外已有 4 种商业化的快速检测 ELISA 试剂盒,其检测限为 0.6~1 mg/kg,操作可在 30~35 min 内完成。杏仁:国外研制的试剂盒分两种,一种是定性检测试剂盒,其检测限为 5 mg/kg,一种是定量检测试剂盒,检测限 < 2.5 mg/kg,快速检测试剂盒的检测限为 2.5~5 mg/kg,一般常用夹心 ELISA。另外,目前广泛采用的 DNA-ELISA 和 Realtime-PCR,其检测最小浓度为 10 mg/kg,比免疫学检测的灵敏度差,常用于定性检测。

2 食物过敏原检测新进展

食物过敏原的检测随着检测新技术和新装备的发展也在不断提升,另外,食物过敏原早期的检测,无论是基

于蛋白水平还是基因水平,都是属于种属鉴定,没有真正检测致敏的物质基础。

针对检测新技术和新装备的发展,食物过敏原已有不少新进展,如,生物传感器的应用。生物传感器是近年来发展起来的一种新型快速检测手段,无需荧光或者放射标记。例如表面等离子体共振(SPR),共振增强吸收(REA)等。利用共振增强吸收原理开发的光学生物传感器也已被开发出来用于杏仁、牛奶(β -乳球蛋白)和鸡蛋清过敏原(卵清蛋白和卵类粘蛋白)的检测。另外,纳米新材料的应用,也为提高食物过敏原的检测性能提供了新途径。

过敏原表位是目前解决过敏原物种鉴定的切入点和关键点,其中,过敏原 IgE 表位是过敏原直接参与致敏性反应的物质基础。目前,所有检测用抗体都是通过过敏原免疫动物产生的针对过敏原 IgG 表位的抗体,它的应用直接导致检测的是过敏原“物种”,而不是致敏性物质。另外,目前质谱检测的致敏原肽段也是针对整个过敏原分子,而不是致敏性结构。针对过敏原表位的抗体研究已经在牛乳 β -乳球蛋白过敏原检测取得了突破性进展,试验室的研究报道提示基于过敏原表位抗体可以很好地解决过敏原“物种鉴定”的问题。另外,将表位的特定序列与质谱定量检测技术结合,已经引起了大家的高度关注,表位肽的定量分

析检测已经在国内外部分实验室开展了研究,期待能够早日得到应用,为食物过敏原的精准检测提供新方法。

3 小 结

本专辑征集到 11 篇论文,其中食物过敏原检测就有 5 篇。无论是研究论文还是综述文献都反应我国部分研究机构和学者已经紧跟国际研究前沿,而且对致敏性表位抗体的检测应用取得了阶段性成果。但我国食物过敏原检测技术研究以及产业化应用还不能满足日益增长的需求,还有很多需要攻克的问题。可以预见,随着将来我国食物过敏原强制性标示的实施,食物过敏原检测技术的需求会更加急迫。本专辑中有 4 篇是与麸质蛋白关联的论文,涉及麸质蛋白过敏和乳糜泻。尽管我国没有官方的流行病学报道,但据我国临床报道,麸质蛋白导致的食物过敏性休克甚至死亡,累见不鲜。无论如何,麸质蛋白是一个值得我国高度重视的过敏原。此外,食物过敏原的加工控制和致敏性的评价也收集了 3 篇论文,在此领域,我国有多个研究团队开展此项工作,在国内外发表了较多的论文,但新技术的产业转化还需要特别加强。总之,无论是食物过敏的检测还是食物过敏其它工作都值得我们深入研究。



博士,南昌大学中德联合研究院二级教授,副院长,国家万人计划科技领军人才,科技部重点领域创新团队带头人(食物过敏创新团队)。专门从事食物过敏研究。