

近红外免疫层析技术快速检测贝类食品中 食源性 A 群轮状病毒

高 静*

(厦门市产品质量监督检验院, 厦门 361004)

摘 要: **目的** 建立近红外免疫层析技术快速、灵敏的检测贝类食品中食源性 A 群轮状病毒的方法。**方法** 采用近红外荧光标记轮状病毒单克隆抗体 4E1, 研制 A 群轮状病毒的近红外免疫层析试纸条及配套标准物质, 用近红外荧光扫描仪检测。**结果** 本方法对 A 群轮状病毒近红外免疫荧光法最低检测限为 0.5 $\mu\text{g/mL}$, 在 45 min 内即可完成检测, 与肠道 EV71 病毒、腺病毒、诺如病毒、甲肝病毒均无交叉反应。通过效果评价试验发现, 与传统检测方法、普通聚合酶链式反应及胶体金法相比较, 本文所建立贝类食品中轮状病毒的近红外荧光法检测时间最短, 检测限最低。**结论** 本方法对检测贝类食品中食源性 A 群轮状病毒具有良好的特异性和较高的灵敏度。

关键词: 贝类; A 群轮状病毒; 快速检测; 近红外免疫层析; 灵敏性; 特异性

Rapid detection of foodborne group A rotavirus in shellfish foods based on near-infrared immunochromatography

GAO Jing*

(Xiamen Products Quality Supervision & Inspection Institute, Xiamen 361004, China)

ABSTRACT: **Objective** To establish a fast and sensitive method for detecting foodborne group A rotavirus in shellfish by near infrared immunochromatography. **Methods** The monoclonal antibody 4E1 of rotavirus was labeled with near-infrared fluorescence. Near-infrared immunochromatographic strips and related standard substances of group A rotavirus were developed and detected by near-infrared fluorescence scanner. **Results** Near infrared fluorescence was completed in 45 min, the detection limit was 0.5 $\mu\text{g/mL}$, and no cross reaction with EV71 virus, adenovirus, nor virus and hepatitis A virus. Evaluation by the test found, the detection time of near-infrared fluorescence of rotavirus was the shortest and the detection limit was the lowest compared with conventional methods, PCR and colloidal gold. **Conclusion** NIR immunoassay for the detection of rotavirus in shellfish foods has good specificity and high sensitivity.

KEY WORDS: shellfish; group A rotavirus; rapid detection; near-infrared immunochromatography; specificity; sensitivity

*通讯作者: 高静, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测及标准制修订。E-mail: 519956223@qq.com

*Corresponding author: GAO Jing, Master, Senior Engineer, Xiamen Products Quality Supervision & Inspection Institute, Xiamen 361004, China. E-mail: 519956223@qq.com

1 引 言

轮状病毒(rotavirus)属于呼肠孤病毒科,无包膜,具有 3 层衣壳结构,由 11 段双链 RNA(dsRNA)组成的基因组将其围绕。6 个结构蛋白(VP1~VP4, VP6~VP7)和 6 个非结构蛋白(non-structural protein, NSP1~6)各由 1 个独特的基因组片段编码(NSP5 和 NSP6 除外)^[1]。轮状病毒有 7 个主要群体(A~G),虽然 B 和 C 群与人类疾病也相关,但大多数人感染的毒株属于 A 群(RV-A)。轮状病毒每年在夏秋冬季流行,是传染性病毒,可引起胃和肠道炎症。A 群轮状病毒最易感染 5 岁以下的儿童,尤其是婴幼儿^[2,3]。它广泛存在于自然界中,食品中存在的轮状病毒威胁着人类的安全,该菌在低温仍可生长繁殖,是冷藏食品威胁人类健康的主要病原菌之一。

目前轮状病毒的检测方法较多,主要包括电泳法、放免法、酶标法、荧光法、乳胶凝集实验、协同凝集试验等。逆转录聚合酶链反应(reverse transcription PCR, RT-PCR)技术与酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)相比易出现假阳性结果,据研究 14%的健康人可能检测出假阳性^[3]。综合考虑方法的灵敏度、特异性、成本等,胶体金免疫层析法在临床上使用较多,但其无法精确定量,因此急需开发新型免疫层析技术进行快速检测。

近年来,近红外荧光探针已成为各国研究热点,在环境监测、医学诊断、生物分析中显示出巨大的潜力^[4,5]。本研究通过研制 1 种基于低噪声荧光标记的 A 类轮状病毒免疫层析试纸条,建立快速定量检测贝类食品中的 A 类轮状病毒的近红外免疫层析法,以期对贝类等水产品的监管提供技术支持。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

A 群轮状病毒 Wa、SALL(中国疾控中心病毒病预防控制所);羊抗鸡免疫球蛋白 IgY(北京百奥莱博科技有限公司);轮状病毒单克隆抗体 3E3、4E1,多克隆抗体(上海启泰公司);甘氨酸缓冲液(0.1 mol/L 甘氨酸, 0.3 mol/L 氯化钠)、稀释液 PBS(5% BSA, 0.1% Tween 20)、荧光染料 dylight 800(上海合星生物科技有限公司);DNA 提取试剂盒(上海莱枫生物科技有限公司);Premix Ex Taq TM(Probe qPCR)试剂盒[宝生物工程(大连)有限公司]。

PCR 扩增引物,引物序列 P1: 5'-ACC ATC TAC ACA TGA CCC TC-3', P2: 5'-GGT CAC ATA ACG CCC C-3'、探针序列 5'-FAM-ATG AGC ACA ATA GTT AAA AGC TAA CAC TGT -TAMRA-3'(用灭菌去离子水配制,浓度为 10 mmol/L)(上海生工合成)。

21 种贝类样品购自农贸市场。

2.2 仪器与设备

Sigma 3-18K 高速低温离心机(德国西格玛集团有限公司);Milli-Q 超纯水仪(美国赛默飞世尔公司);XC-CD2500 型超声波细胞破碎仪(宁波市先倡电子科技有限公司);SANYOO 电热恒温培养箱(上海博迅实业有限公司);便携式高灵敏度近红外点荧光扫描仪(北京博润福得科技发展有限公司)。

2.3 实验方法

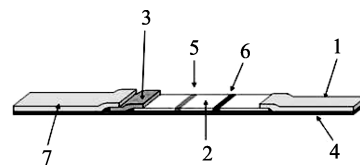
2.3.1 近红外荧光染料标记轮状病毒

划膜抗体的制备:用配制好的划膜液将 3E3 轮状病毒单抗稀释为 1.5 mg/mL。

标记抗体制备:用 PBS 将 4E1 轮状病毒单抗稀释为 1 mg/mL,取 100 μ L 4E1 轮状病毒单抗稀释液加入 7 μ L 荧光染料 dylight 800,涡旋混匀避光静置 1 h,用移液器加 PBS 稀释混匀至终浓度为 0.5 mg/mL。将标记抗体放入透析袋,于 PBS 中 4 $^{\circ}$ C 过夜透析,待用。

2.3.2 轮状病毒近红外免疫层析试纸条的制备

质控线(C 线)即羊抗鸡 IgY(质量浓度 1 mg/mL),检测线(T 线)即划膜抗体 3E3(质量浓度 1.5 mg/mL),两者分别用划膜仪划于硝酸纤维素膜(NP 膜)上,间距 0.5 cm,放置 3 h 后,按照试纸条制备的次序依次将样品垫、金标垫、NP 膜、吸水纸及试纸板搭接,而后以切割机切成试纸条,试纸条制备完成(如图 1 所示)。



注: 1 吸水纸; 2 硝酸纤维素膜; 3 抗体结合垫; 4 支持背板; 5 检测线; 6 质控线。

图 1 免疫层析试纸条示意图

Fig.1 Immunochromatography assay strip

2.3.3 定性检测

用配制好的层析缓冲液稀释标记抗体轮状病毒单克隆抗体 4E1, 稀释比 1:50, 羊抗鸡抗体 IgY 按 1:2000 稀释至终浓度为 0.5 mg/mL, 稀释后 4E1 与 IgY 按 1:1 混匀制成 MIX。取轮状病毒(TCID₅₀ 为 $10^{-6.5}$ /100 μ L)100 μ L 加入 4 μ L MIX, 吹吸混匀, 滴加至试纸条, 反应 15 min 后, 用近红外荧光扫描仪检测。

2.3.4 定量检测

取 A 群轮状病毒衣壳蛋白抗原配制一系列标准品, 浓度分别为 0.5、1.0、2.5、5.0、10.0、20.0 μ g/mL; 将不同浓度标准品分别滴加在试纸条上, 荧光扫描分别测定检测线和质控线区域的荧光强度, 每个稀释度样本平行测量 3 次, 取平均值作为测量值, 制作抗原浓度与荧光强度比

之间关系的标准曲线,并拟合方程。

2.3.5 特异性实验

在无菌条件下,将已分离好的甲肝病毒、诺如病毒、肠道病毒 EV71、腺病毒原液分别稀释,按体积比 3:7 与 MIX 混合滴加到试纸条上,反应 15 min 后检测。

2.4 评价方法

2.4.1 PCR 检测方法

根据 SN/T 2520-2010《贝类中 A 群轮状病毒检测方法 普通 PCR 和实时荧光 PCR 方法》^[6]对 21 份贝类样品进行检测。

2.4.2 贝类样品染毒实验组的处理

称取未检出轮状病毒的贝类样品消化腺 0.8 g,加 5.6 mL 甘氨酸缓冲液(pH 为 9.6)研磨,然后在 2.5 mL 研磨液中加入 25 μ L 病毒上清液,另取 2.5 mL 研磨液不加病毒加至 EP 管,对照组为 1 mg/mL BSA 溶液。采用高速离心机离心,转速为 12500 r/min,离心 30 min,然后用 0.45 μ m 过滤膜过滤。取 800 μ L 过滤液,用浓缩管浓缩至 60 μ L。取浓缩液按体积比 3:7 比例加 4 μ L MIX,滴入制备好的试纸条进行检测。

2.4.3 近红外荧光免疫层析试纸条检测实际样品

(1)贝类样品轮状病毒的富集

21 份贝类样品各取消化腺 0.8 g 分别加入甘氨酸缓冲液 5.6 mL 研磨。所有研磨液按照 2.4.2 处理,均采用高速离心机室温离心后,用 0.45 μ m 过滤膜过滤,取 1 mL 样品采用超滤浓缩管浓缩至 100 μ L。

(2)检测

按照体积比 3:7 加入层析液,再加 6 μ L MIX 滴入制备好的试纸条上,采用近红外荧光扫描仪检测 21 份贝类样品。

3 结果与分析

3.1 贝类样品中轮状病毒定性检测结果

经过检测发现若贝类样品中含有 A 类轮状病毒,病毒将与结合垫中的荧光标记单抗形成轮状病毒抗原-抗体复合物。抗原抗体复合物继续向试纸条前端迁移。当抗原抗体复合物迁移至检测线时,被固定于检测线上的轮状病毒多克隆抗体捕获。而游离的单抗分子/抗原抗体复合物则随溶液继续迁移,到达质控线时被交联于质控线上的参照物抗体所捕获。

见图 2,轮状病毒稀释比分别是 1:30、1:60、1:120、1:240、1:480、1:960,阴性对照。分别测定检测线和质控线区域的荧光强度,质控线区域出现荧光发射峰,表明该试纸条有效;质控线、检测线区域同时出现荧光发射峰,表明该检测为阳性结果。结果证实该轮状病毒免疫层析试纸条是可用的,具有有效性。

3.2 轮状病毒近红外定量检测结果

将 2.3.4 系列标准品分别滴加在试纸条上,用近红外荧光扫描仪扫描,同时出现检测区域荧光峰和质控区域荧光峰即表明反应正常,记录检测线和质控线的荧光值,每个稀释度样本平行测量 3 次,取平均值作为测量值,检测结果见表 1。

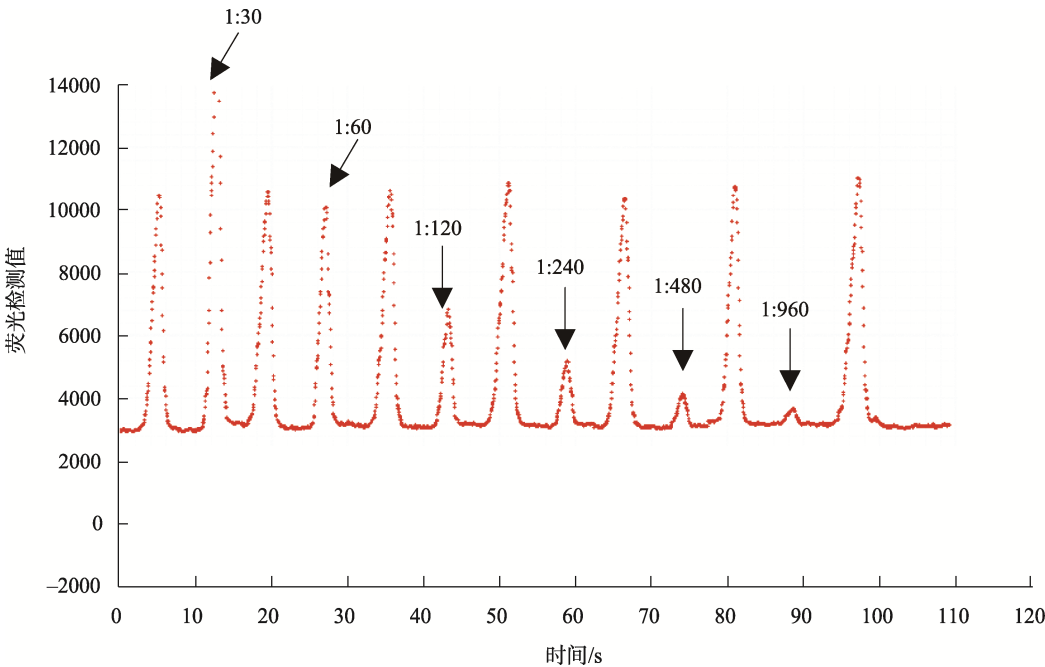


图 2 A 群轮状病毒低噪声激发式荧光检测图
Fig.2 Low noise excitation fluorescence detection of group A rotavirus

表 1 不同浓度 A 群轮状病毒标准品荧光定量检测结果

Table 1 Results of fluorescent quantitative detection of rotavirus group A in different concentration

浓度/(μg/mL)	平均值
0.5	0.25
1.0	0.34
2.5	0.56
5.0	0.87
10.0	1.25
20.0	1.98

以检测峰值对相应的样品浓度为横坐标, 制作标准工作曲线见图 3。结果显示, 轮状病毒浓度在 0.5~20 μg/mL 时, 荧光比值与浓度线性关系良好, 即线性范围 0.5~20 μg/mL。该近红外荧光免疫层析法对 A 类轮状病毒的灵敏度提高约 10 倍(与轮状病毒胶体金免疫层析试纸条相比), 最低检出限为 0.5 μg/mL。

3.3 特异性试验结果

将轮状病毒、诺如病毒、腺病毒、肠道 EV71 病毒、甲肝病毒等原液稀释后, 分别滴加在近红外荧光免疫层析试纸条上进行检测, 结果见图 4。仅轮状病毒检测线区域和质控线区域出现荧光峰值, 其余 4 种病毒均未出现检测线发射峰。说明该试纸条与肠道 EV71 病毒、腺病毒、诺如病毒、甲肝病毒等均无交叉反应。

3.4 贝类样品的染毒实验组实验

采用超滤浓缩法浓缩病毒, 添加病毒原液 25 μL 检测, 结果见图 5, 添加了轮状病毒后的贝类样品, 该近红外荧光免疫层析试纸条的质控线与检测线区域均出现荧光峰, 表明为阳性结果; 检测荧光值较高, 达到 5000 左右, 说明该轮状病毒浓度较高。图 6 为未添加轮状病毒时阴性对照组的检测图, 该荧光免疫层析试纸条检测线区域未出现荧光峰, 即没有轮状病毒。因此发现轮状病毒荧光免疫层析试纸条定性检测结果较为准确, 可用于日常贝类等实际样品的轮状病毒检测。

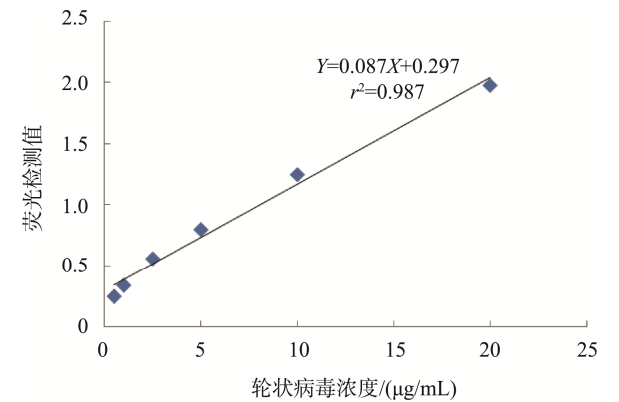


图 3 A 群轮状病毒的荧光定量检测标准曲线图

Fig.3 Standard curve of fluorescent quantitative detection for Group A rotavirus

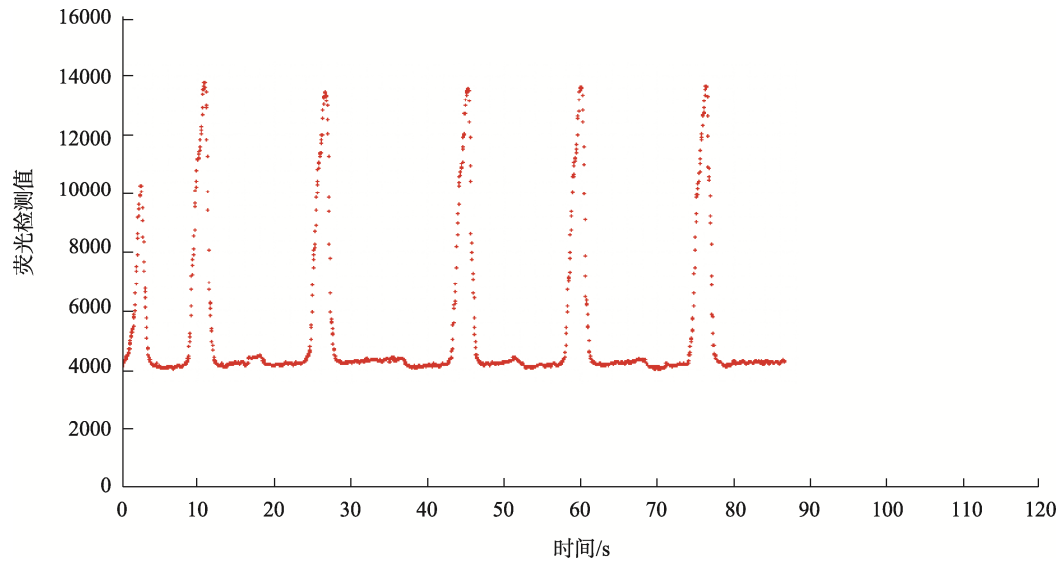


图 4 轮状病毒试纸条特异性试验结果

Fig.4 Results of rotavirus test strip specificity test

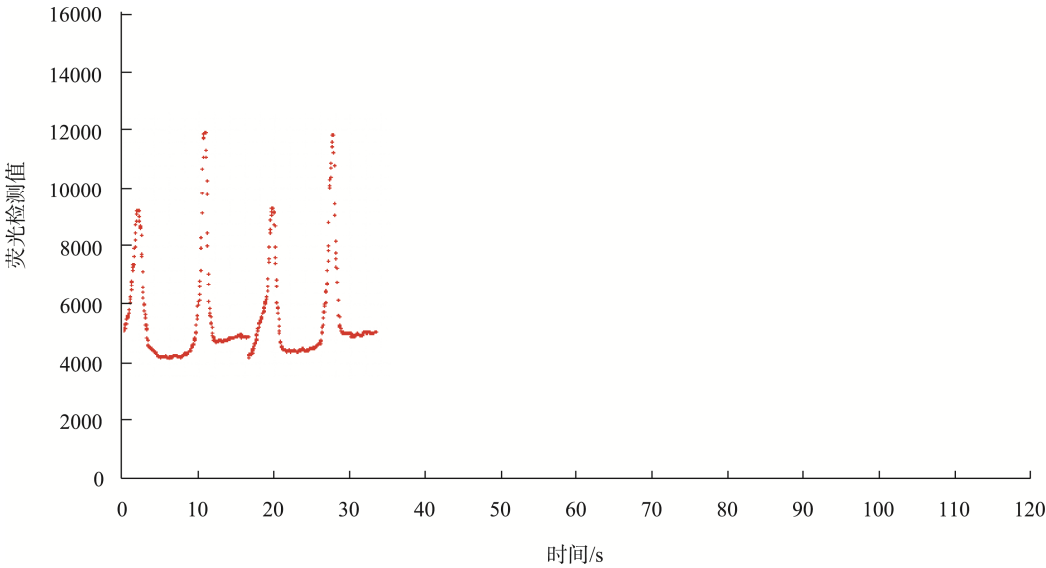


图 5 添加轮状病毒贝类样品荧光免疫层析试纸条试验结果

Fig.5 Results of fluorescent immunochromatographic strip test of adding rotavirus shellfish sample

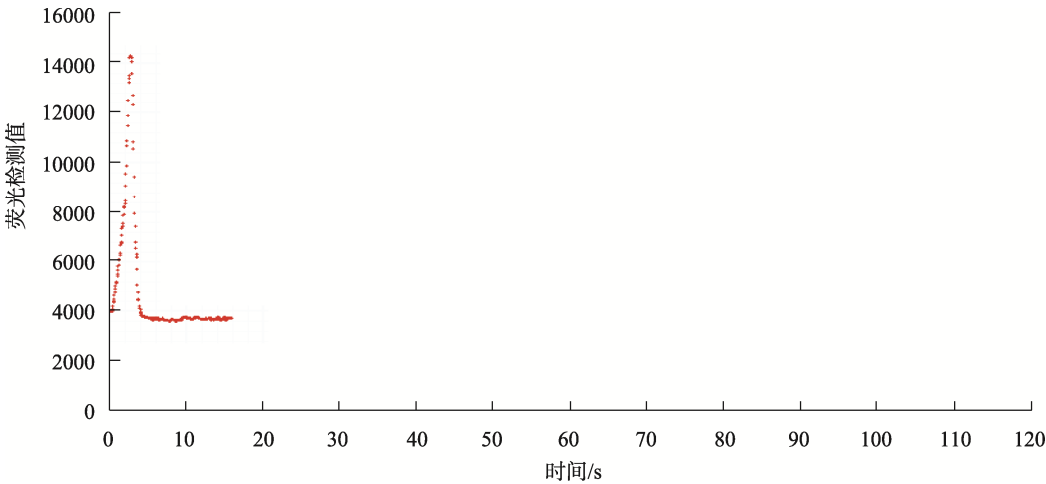


图 6 阴性对照组荧光免疫层析试纸条试验结果

Fig.6 Results of fluorescent immunochromatographic strip test in negative control group

3.5 贝类样品的检测结果

根据 SN/T 2520-2010^[6], 分别采用 PCR 法和荧光免疫层析试纸条法检测 21 份贝类样品(样品编号: B1~B21), 2 种方法检测结果见表 2。实际样品检测结果显示, 荧光免疫层析试纸条法和 PCR 2 种方法检测 21 份贝类样品(编号 B1~B21)结果相符。由此可见, 轮状病毒荧光免疫层析试纸条法与传统检测法、普通 PCR 方法的符合率达到 100%, 轮状病毒近红外免疫层析试纸条定性检测结果较为准确, 可应用于贝类样品的检测。

4 结论与讨论

食源性病毒是引起世界范围内流行性胃肠炎暴发的

主要因素, 严重威胁人类健康的危险因子, 尤其是婴幼儿极易感染轮状病毒、诺如病毒等^[7-9]。为探求快速、准确、高灵敏度、易操作且能够定量的检测方法, 世界各国学者进行了大量研究。滕峥等^[10]采用琼脂糖电泳法和乳胶凝集法(latex agglutination test, LAT)检测轮状病毒。Ana 等^[11]开发了 1 种快速、灵敏的轮状病毒 A 群乳胶凝集法, 将多克隆血清结合于乳胶支撑系统检测粪便标本轮状病毒。Fujiko 等^[12]研发人类轮状病毒快速抗原检测试剂盒, 采用 RT-PCR 和新一代 DNA 测序(next generation DNA sequencing, NGS)法检测牛 A 群轮状病毒。Lee 等^[13]研制了首个快速检测水中 A 群轮状病毒的免疫层析试剂盒。常见的 ELISA 可应用于食品中轮状病毒抗原或抗体的直接检测, 通过单克隆抗体大大降低了假阳性率, 但该法的灵敏

度较低, 必须经过增菌筛选纯培养步骤, 因此难以在短时间内得到检测结果。罗明等^[14]发现 real-time PCR、ELISA、胶体金、RT-PCR 的灵敏度分别为 95.45%、96.97%、93.94% 和 62.12%, 特异性分别为 82.2%、86.44%、82.2% 和 94.07%。

表 2 荧光免疫层析试纸条法与传统检测法、PCR 方法检测 A 群轮状病毒结果比较

Table 2 Comparison of fluorescent immunochromatographic strip method and PCR method for detection of group A rotavirus

序号	检测结果		
	传统检测法	普通 PCR 法	荧光免疫层析试纸条法
B1	阴性	阴性	阴性
B2	阴性	阴性	阴性
B3	阴性	阴性	阴性
B4	阴性	阴性	阴性
B5	阴性	阴性	阳性
B6	阴性	阴性	阴性
B7	阴性	阴性	阴性
B8	阴性	阴性	阴性
B9	阴性	阴性	阴性
B10	阴性	阴性	阴性
B11	阴性	阴性	阴性
B12	阴性	阴性	阴性
B13	阴性	阴性	阴性
B14	阴性	阴性	阴性
B15	阴性	阴性	阴性
B16	阳性	阳性	阳性
B17	阴性	阴性	阴性
B18	阳性	阳性	阳性
B19	阴性	阴性	阴性
B20	阴性	阴性	阴性
B21	阳性	阳性	阳性

近年来, 近红外荧光免疫技术在生物医学、环境、化学、临床诊断等各领域备受关注^[15-17]。在病原体检测方面, 胶体金免疫层析技术虽然敏感性、特异性较好, 但其标记物的稳定性较差, 颜色单一, 灵敏度较低, 只能定性检测, 无法进行精确定量检测, 例如严寒秋等^[18]报道胶体金的检测限优于 ELISA; 但曾静等^[19]采用 3 种方法检测婴幼儿 A

群轮状病毒发现 ELISA 优于胶体金。说明胶体金技术标记物的稳定性不均一, 检测结果有差别。国内很多学者采用胶体金法检测轮状病毒。孔京慧等^[20-23]采用胶体金法对小儿腹泻 A 群轮状病毒进行检测; 王文洁等^[24]采用金标免疫斑点法, 利用对人类轮状病毒敏感、特异性较好的单克隆抗体(抗 HRV 的外壳蛋白 VP4)结合金标免疫的技术, 检测粪便中轮状病毒抗原。2015 年开始本团队采用近红外荧光染料 dyllight 800 作为标记, 研制出一系列近红外荧光免疫层析试纸条检测食源性致病微生物, 检测对象包括沙门氏菌、霍乱弧菌、副溶血弧菌、诺如病毒等^[25-30]。本研究是基于近红外荧光标记技术与免疫层析技术相结合产生的, 只要获得相应的具有高亲和力、特异性的病原体抗体, 甚至于某些金属元素、化学物质, 在经过分子修饰以后, 同样可以成为一种抗原, 从而制备相应的抗体, 就可以迅速建立起相应的高灵敏度检测方法。另外近红外荧光还具有穿透力强的特点, 对于一些价值较高不能毁损的样品, 可以利用其特点, 将近红外荧光染料与待检物结合, 在物体外直接进行荧光检测。在经过方法改进以后, 反应过程也可以脱离硝纤薄膜进行, 可以在毛细管液体环境中进行充分反应, 更有利于抗原抗体的结合反应, 这些都有待于进一步的研究。

本研究将近红外荧光探针与免疫层析技术结合制备了轮状病毒近红外免疫层析试纸条, 最低检测限为 0.5 μg/mL, 与肠道 EV71 病毒、腺病毒、诺如病毒、甲肝病毒均无交叉反应, 适用于贝类食品中轮状病毒的快速检测, 具有灵敏、高效及便携的优点, 可以为食品安全监管提供有效的技术支撑。

参考文献

[1] José PGL, Filipe ACC, Alexandre CL. Group A rotavirus genotypes and the ongoing Brazilian experience—A review [J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2018, 103(8): 745–753.

[2] Widdowson MA, Steele D, Vojdani J, et al. Global rotavirus surveillance: determining the need and measuring the impact of rotavirus vaccines [J]. J Infect Dis, 2009, 200(Suppl 1): 1–8.

[3] Nelson EA, Brese JS, Parashar UD, et al. Rotavirus epidemiology: The Asian rotavirus surveillance network [J]. Vaccine, 2008, 26(26): 3192–3196.

[4] Pyo DJ, Yoo JS. New trends in fluorescence immunochromatography [J]. J Immunoass Immunoch, 2012, 33(2): 203–222.

[5] Alander JT, Bochko V, Martinkauppi B, et al. A review of optical nondestructive visual and near-infrared methods for food quality and safety [J]. Int J Spectrosc, 2013, 2013: 1–36.

[6] SN/T 2520–2010 贝类中 A 群轮状病毒检测方法 普通 PCR 和实时荧光 PCR 方法[S].

SN/T 2520–2010 Determination of group A rotavirus in shellfish—Conventional RT–PCR and real-time RT–PCR method [S].

[7] Jin H, Wang B, Fang ZY, et al. Hospital-based study of the economic burden associated with rotavirus diarrhea in eastern China [J]. Vaccine,

- 2011, 29(44): 7801–7806.
- [8] Velusamy V, Arshak K, Korostynska O, *et al.* An overview of foodborne pathogen detection: in the perspective of biosensors [J]. *Biotechnology*, 2010, 28(2): 232–254.
- [9] Lukinmaa S, Nakari U, Eklund M, *et al.* Application of molecular genetic methods in diagnostics and epidemiology of foodborne bacterial pathogens [J]. *APMIS*, 2004, 112: 908–929.
- [10] 滕峥, 张曦. 轮状病毒快速检测方法的探索[J]. *上海预防医学*, 2004, 16(2): 62–63.
- Teng Z, Zhang X. Exploration of rapid laboratory test for rotavirus detection [J]. *Shanghai J Pre Med*, 2004, 16(2): 62–63.
- [11] Ana G, Marcia M, Waldemir S, *et al.* Development of a rapid and sensitive latex agglutination-based method for detection of group A rotavirus [J]. *J Vir Med*, 2008, 148(1–2): 211–217.
- [12] Fujiko MF, Makoto N, Hikaru T, *et al.* Detection of bovine group A rotavirus using rapid antigen detection kits, RT-PCR and next-generation DNA sequencing [J]. *J Veter Med Sci*, 2013, (8): 1651–1655.
- [13] Lee GC, Chong CK, Lee CH, *et al.* Cell-culture-based immunochromatography for rapid detection of group A human rotaviruses in aquatic environments [J]. *Environ Technol*, 2009, 30(1): 37–43.
- [14] 罗明, 龚成, 史玲莉, 等. 五种常用轮状病毒检测方法的评价及应用策略[J]. *疾病监测*, 2014, 29(3): 223–226.
- Luo M, Gong C, Shi LL, *et al.* Evaluation on performance of five routine rotavirus detection assays and application strategies [J]. *Dis Surveil*, 2014, 29(3): 223–226.
- [15] Pyo DJ, Yoo JS. New trends in fluorescence immunochromatography [J]. *J Immunoass Immunoch*, 2012, 33(2): 203–222.
- [16] Amiot CL, Xu SP, Liang S, *et al.* Near-infrared fluorescent materials for sensing of biological targets [J]. *Sensors*, 2008, 8(5): 3082–3105.
- [17] Alander JT, Bochko V, Martinkauppi B, *et al.* A review of optical nondestructive visual and near-infrared methods for food quality and safety [J]. *Int J Spectrosc*, 2013, 2013: 1–36.
- [18] 严寒秋, 章青, 崔淑娴, 等. 两种检测 A 组轮状病毒方法的应用比较[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2009, 23(2): 157.
- Yan HQ, Zhang Q, Cui SX, *et al.* Comparison of two methods for detecting rotavirus in group A [J]. *Chin J Exp Clin Virol*, 2009, 23(2): 157.
- [19] 曾静, 谭莹. 三种婴幼儿 A 群轮状病毒检测方法的方法学评价[J]. *临床和实验医学杂志*, 2013, 12(7): 543–544.
- Zeng J, Ten Y. Evaluation of different methods for the detection of group A rotavirus in infants [J]. *J Clin Exp Med*, 2013, 12(7): 543–544.
- [20] 孔京慧, 赵鼎. 婴幼儿腹泻轮状病毒感染应用免疫胶体金检测的结果分析[J]. *医学信息*, 2013, 26(5): 254–255.
- Kong JH, Zhao D. Analysis of the results of immunocolloidal gold test for infantile diarrhea rotavirus infection [J]. *Med Inform*, 2013, 26(5): 254–255.
- [21] 高平. 婴幼儿腹泻患者 A 群轮状病毒快速检测分析及临床意义[J]. *检验医学与临床*, 2011, 8(19): 2375–2376.
- Gao P. Analysis and clinical significance of rapid detection of group A rotavirus in infants with diarrhea [J]. *Lab Med Clin*, 2011, 8(19): 2375–2376.
- [22] 彭端亮, 赵鹃, 肖慈然, 等. 胶体金法检测 A 群轮状病毒的应用分析[J]. *四川医学*, 2017, 38(7): 760–763.
- Peng DL, Zhao J, Xiao CR, *et al.* Analysis of application of colloidal gold method in detection of A-group rotavirus [J]. *Sichuan Med J*, 2017, 38(7): 760–763.
- [23] 林一民, 王云龙. 胶体金免疫层析技术在临床疾病诊断中的研究进展[J]. *重庆医学*, 2013, 42(1): 91–93.
- Ling YM, Wang YL. Research progress of colloidal gold immunochromatography in diagnosis of clinical disease [J]. *Chongqing Med*, 2013, 42(1): 91–93.
- [24] 王文洁, 周明锦. 应用金标免疫斑点法快速诊断轮状病毒感染及临床意义[J]. *河南职工医学院学报*, 2002, 14(2): 164–165.
- Wang WJ, Zhou MJ. Rapid diagnosis of rotavirus infection and clinical significance using gold standard immunospot method [J]. *J Henan Med Coll Staff Workers*, 2002, 14(2): 164–165.
- [25] 张捷, 高静, 赵琢, 等. 快速检测沙门氏菌的荧光免疫试纸条的研制[J]. *食品研究与开发*, 2017, 38(17): 121–124.
- Zhang J, Gao J, Zhao Z, *et al.* Development of an immunochromatographic test dipstick for detection of *Salmonella* [J]. *Food Res Dev*, 2017, 38(17): 121–124.
- [26] 张捷, 畅晓晖, 杨耀武, 等. 近红外免疫层析法快速检测 O1 群小川型霍乱弧菌方法的建立与应用[J]. *食品科技*, 2016, (12): 290–295.
- Zhang J, Chang XH, Yang YW, *et al.* Establishment and application of near infrared immunochromatography method for rapid detection of O1 group *Vibrio cholerae* [J]. *Food Sci Technol*, 2016, (12): 290–295.
- [27] 张捷, 侯义宏, 畅晓晖, 等. 基于近红外免疫层析技术的食源性副溶血弧菌快速检测方法研究[J]. *现代食品科技*, 2017, 33(5): 282–287.
- Zhang J, Hou YH, Chang XH, *et al.* Research on rapid detection method of food-borne *Vibrio parahaemolyticus* based on near infrared immunochromatography [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2017, 33(5): 282–287.
- [28] 张捷, 王琳, 霍江莲, 等. 基于近红外免疫层析技术食源性诺如病毒快速检测方法研究[J]. *黑龙江医学*, 2017, 41(7): 691–694.
- Zhang J, Wang L, Huo JL, *et al.* Rapid detection method of foodborne norovirus based on near-infrared immunochromatography [J]. *Heilongjiang Med J*, 2017, 41(7): 691–694.
- [29] 杨娟, 郭铮雷, 畅晓晖, 等. 免疫层析技术在食源性病原菌检测中的应用展望[J]. *食品安全质量检测学报*, 2016, 9(6): 3503–3509.
- Yang J, Guo ZL, Chang XH, *et al.* Application prospect of immunochromatographic technology for detection of food-borne pathogenic bacterium [J]. *J Food Saf Qual*, 2016, 9(6): 3503–3509.
- [30] 谢雪钦, 杨向莹, 高静, 等. 近红外荧光探针及其在免疫分析中的应用[J]. *食品与生物技术学报*, 2015, 34(3): 227–231.
- Xie XQ, Yang XY, Gao J, *et al.* Near infrared fluorescent probes and their applications in immunoassay [J]. *J Food Sci Biotechnol*, 2015, 34(3): 227–231.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介

高 静, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测及标准制修订。
E-mail: 519956223@qq.com