

荧光免疫层析技术在病原微生物检测中的应用

朱芸*

(桂林生命与健康职业技术学院, 桂林 541000)

摘要: 随着现代医学的发展, 荧光免疫层析技术因其快速、简便和高灵敏度的特点, 在病原微生物检测领域发挥着重要作用。本文系统阐述了该技术的原理及应用流程, 包括样品预处理、荧光标记抗体制备、免疫层析装置组装、检测反应和结果判读等关键步骤。重点介绍了该技术在细菌、病毒和真菌检测中的应用实例, 并分析了技术优势与面临的挑战。研究表明, 荧光免疫层析技术为病原微生物的快速识别和监测提供了有效工具, 在临床诊断和公共卫生领域具有广泛应用前景。

关键词: 荧光免疫层析; 病原微生物检测; 快速诊断

Application of fluorescence immunochromatography in the detection of pathogenic microorganisms

ZHU Yun*

(Guilin Vocational and Technical College of Life and Health, Guilin 541000, China)

ABSTRACT: With the development of modern medicine, fluorescence immunochromatography plays an important role in the detection of pathogenic microorganisms because of its rapid, simple and high sensitivity. In this paper, the principle and application process of the technique are systematically described, including sample pretreatment, preparation of fluorescently labeled antibodies, assembly of immunochromatographic apparatus, detection reaction and result interpretation. The application examples of the technology in the detection of bacteria, viruses and fungi were introduced, and the advantages and challenges of the technology were analyzed. The results show that fluorescence immunochromatography provides an effective tool for rapid identification and monitoring of pathogenic microorganisms, and has a wide application prospect in clinical diagnosis and public health.

KEY WORDS: fluorescence immunochromatography; detection of pathogenic microorganisms; rapid diagnosis

0 引言

随着现代医学的快速发展和公共卫生事业的不断进步, 人们对传染病的预防、诊断和治疗提出了更高的要求^[1]。传统的病原微生物检测方法, 如细菌培养、血清学检测等, 已不能完全满足疾病快速诊断的需求。因此, 开发快速、灵敏、特异、简便的检测方法对于控制传染病的蔓延、提高疾病诊断和治疗水平具有重要意义。近年来, 荧光免疫层析技术因具有操作简便、结果判读直观、灵敏度和特异性高等优点, 在传染病快速诊断领域得到了广泛应用。该技术不仅可以用于单一病原体的检测, 而且在多重病原体同时检测方面也显示出独特的优势。

1 荧光免疫层析技术原理

荧光免疫层析技术是一种基于免疫学原理和层析学方法相结合的新型快速检测技术。该技术利用荧光材料标记的特异性抗体作为检测试剂, 将其固定于层析膜上, 与样本中的待测物质进行免疫反应, 通过荧光信号的变化来实现对目标物质的定性或定量分析^[2]。具体而言, 荧光免疫层析试纸通常由样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜和吸收垫等部分组成。当待测样本滴加到样品垫上时, 样本中的待测物质会与结合垫上固定的荧光标记抗体结合, 形成抗原-抗体复合物。随着样本液的不渗透, 复合物会被毛细管力带动, 沿着硝酸纤维素膜向前移动。当复

* 通信作者: 朱芸, 硕士, 讲师, 研究方向为微生物与免疫学。E-mail: 526917145@qq.com

* Corresponding author: ZHU Yun, Master, Lecturer, Guilin Vocational and Technical College of Life and Health, Guilin 541000, China. E-mail: 526917145@qq.com

合物到达检测线时，会与固定在检测线上的另一抗体发生特异性结合，从而使检测线处聚集大量的荧光标记物，在紫外光照射下呈现出明亮的荧光条带。与此同时，未结合的荧光标记抗体会继续向前移动，最终被对照线捕获，形成对照线荧光条带。通过观察检测线 and 对照线的荧光强度，可以判断样本中是否存在目标物质以及其含量的高低。

2 荧光免疫层析技术在病原微生物检测中的应用流程

荧光免疫层析技术在病原微生物检测中的应用需要经过一系列严谨而规范的操作流程。首先，要根据检测目标选择合适的荧光材料和特异性抗体，并将其进行偶联标记，制备出高质量的荧光标记抗体^[3]。其次，在层析试纸上进行样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜等部分的组装，并在膜上特定位置固定捕获抗体和二抗，形成完整的荧光免疫层析试纸。在检测过程中，待测样本需要经过适当的前处理，如稀释、过滤、裂解等，以释放出目标病原体抗原。随后，将处理后的样本滴加到试纸的样品垫上，样本中的抗原会与结合垫上的荧光标记抗体结合，在毛细作用力的驱动下，抗原-抗体复合物沿着硝酸纤维素膜向前迁移。当复合物到达检测线时，会被固定的捕获抗体捕获，富集形成荧光条带。同时，过量的荧光标记抗体会继续向前迁移，直至被对照线捕获。最后，在紫外光激发下，通过专用的荧光检测仪器或肉眼观察检测线 and 对照线的荧光强度，即可判断样本中是否存在目标病原体，并可根据荧光强度的变化进行半定量或定量分析。整个检测过程通常在 15~30 分钟内完成，操作简便快速，结果判读直观^[4]。但在实际应用中，还应注意样本类型、用量和检测环境等因素对检测性能的影响，并进行必要的质控措施，以保证检测结果的准确性和可靠性。

3 荧光免疫层析技术在不同病原微生物检测方面的应用

3.1 细菌检测

荧光免疫层析技术在细菌检测领域得到了广泛应用，其凭借高特异性、高灵敏度、快速、便携等优势，为细菌性疾病的早期诊断和流行病学调查提供了有力工具。在细菌检测中，荧光免疫层析技术主要利用特异性抗体与细菌表面抗原的免疫反应，通过荧光标记物的信号放大效应，实现对细菌的定性或定量分析。例如，在霍乱弧菌检测中，研究者利用荧光素标记的霍乱弧菌特异性单克隆抗体，建立了一种快速、灵敏的荧光免疫层析试纸条。该试纸条可以在 30 分钟内对霍乱弧菌进行定性检测，灵敏度达到了 103 CFU/mL，与传统的细菌培养方法相比，具有检测速度快、操作简便的优势^[5]。类似地，在沙门氏菌检测方面，一项研究开发了一种基于荧光纳米材料的免疫层析试纸，通过荧光共轭聚合物纳米颗粒与沙门氏菌特异性抗体的偶联，实现了对沙门氏菌的快速、灵敏检测，检测限可达到 102 CFU/mL^[6]。除了单一细菌的检测外，荧光免疫层析技术在多重细菌同时检测方面也显示出独特优势。一项针对食品中多种致病菌的研究，利用量子点标记的特异性抗体，通过不同发

射波长的量子点与不同细菌抗原的特异性结合，在一张试纸条上同时实现了对沙门氏菌、志贺氏菌和单增李斯特菌三种致病菌的同时检测，灵敏度均达到了 103 CFU/mL，为食品安全检测提供了一种高通量、快速的新方法^[7]。随着荧光材料和纳米技术的不断发展，荧光免疫层析技术有望在细菌多重检测、药敏试验等方面取得更大的突破，为人类细菌性疾病的防控做出更大贡献。

3.2 病毒检测

荧光免疫层析技术在病毒检测领域具有广阔的应用前景。与传统的病毒分离培养和核酸检测方法相比，荧光免疫层析技术具有检测速度快、操作简便、特异性高等优点，尤其适合现场快速检测和大规模筛查。在病毒检测中，荧光免疫层析技术主要利用荧光标记的特异性抗体与病毒表面抗原的免疫反应，通过荧光信号的读取实现对病毒的定性或定量分析。例如，在新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 的检测中，研究者开发了一种基于荧光免疫层析技术的快速诊断试剂盒，该试剂盒利用荧光纳米颗粒标记的抗 SARS-CoV-2 核蛋白抗体，可以在 15 分钟内对患者的鼻咽拭子样本进行快速检测，灵敏度和特异性分别达到了 90.0% 和 95.2%，为疫情防控提供了有力支持^[8]。类似地，在甲型流感病毒 (IAV) 检测方面，一项研究利用量子点标记的 IAV 特异性单克隆抗体，建立了一种高灵敏、高特异性的荧光免疫层析试纸条，检测限可达到 102 TCID₅₀/mL，且能够区分 IAV 的不同亚型，为流感的早期诊断和流行病学调查提供了新的工具^[9]。未来，随着荧光材料和免疫学技术的不断进步，荧光免疫层析技术有望在多重病毒检测、病毒载量定量分析等方面取得更大突破，为人类病毒性疾病的防控做出更大贡献。

3.3 真菌检测

荧光免疫层析技术在真菌检测领域展现出广阔的应用前景。真菌感染是一类常见的疾病，尤其是在免疫功能低下的患者中，容易引起严重的并发症。传统的真菌检测方法，如真菌培养和形态学观察，存在检测周期长、灵敏度低等缺点。而荧光免疫层析技术凭借其快速、灵敏、特异等优势，为真菌感染的早期诊断提供了有力工具。在真菌检测中，荧光免疫层析技术主要利用荧光标记的特异性抗体与真菌细胞壁或分泌物中的特异性抗原结合，通过荧光信号的检测实现对真菌的定性或定量分析。例如，在曲霉菌检测方面，研究者利用荧光素标记的曲霉菌特异性单克隆抗体，建立了一种快速、灵敏的荧光免疫层析试纸条，可以在 30 分钟内对痰液、支气管灌洗液等临床样本中的曲霉菌进行定性检测，灵敏度达到了 90.2%，特异性达到了 93.5%，与传统的真菌培养方法相比，具有检测速度快、操作简便的优势^[10]。随着荧光材料和纳米技术的不断发展，荧光免疫层析技术有望在真菌多重检测、药敏试验等方面取得更大突破，为人类真菌感染性疾病的防控做出更大贡献。

4 技术优势与挑战

4.1 优势

荧光免疫层析技术在病原微生物检测中具有独特的优势。首先，该技术检测速度快，通常在 15~30 分钟内即可完成检测，

大幅缩短了传统方法的检测时间^[11]。这对于需要快速诊断和及时治疗的传染病来说至关重要。其次,荧光免疫层析技术操作简便,不需要复杂的仪器设备和专业的技术人员,可以实现现场快速检测,尤其适合基层医疗机构和疫情流行地区使用。再者,该技术具有高灵敏度和高特异性。荧光材料如量子点、荧光纳米颗粒等,可以显著放大检测信号,使检测灵敏度较传统胶体金方法提高10~100倍,可以检测出低浓度的病原体。同时,特异性抗体与病原体表面抗原的特异性结合,确保了检测的高度特异性,有效降低了假阳性的发生^[12]。此外,荧光免疫层析试纸条易于保存和运输,可以在常温下长期保存,便于现场使用和流行病学调查。同一张试纸条上可以检测多种病原体,实现高通量的多重检测,极大地提高了检测效率^[13]。综上所述,荧光免疫层析技术凭借快速、灵敏、特异、简便等优势,已成为病原微生物检测领域的重要工具,在传染病的早期诊断、流行病学调查和疫情防控中发挥着不可替代的作用。

4.2 挑战

尽管荧光免疫层析技术在病原微生物检测中显示出巨大的应用潜力,但在实际应用中仍然面临着一些挑战。首先,荧光材料的选择和制备是一大难点。不同的荧光材料在光学性质、稳定性、生物相容性等方面存在差异,需要针对不同的检测对象和应用环境进行优化和筛选,以获得最佳的检测性能。荧光材料的标记过程复杂,需要严格控制偶联条件,避免对抗体活性的影响^[14]。其次,试纸条的制备和优化也是一项挑战。试纸条的组装涉及多种材料的选择和处理,如硝酸纤维素膜的孔径、亲水性、抗体的固定化方式等,都会影响检测的灵敏度和特异性。优化试纸条的制备工艺,实现批间差异小、重复性好的生产,对于保证检测质量非常重要。再者,样本的前处理也是影响检测性能的关键因素。不同类型的样本在基质成分、黏稠度、杂质含量等方面差异很大,需要针对性地开发样本前处理方法,如稀释、过滤、裂解等,以释放出病原体抗原,降低基质干扰。最后,检测环境如温度、湿度等因素也会影响荧光信号的稳定性和重复性,需要优化检测条件,确保结果的准确性^[15]。最后,荧光免疫层析技术在多重检测和定量分析方面还有待进一步提高。开发多重检测试纸条需要解决抗体之间的交叉反应、荧光信号之间的干扰等问题。而实现准确的定量分析,需要建立稳定可靠的检测标准品和校准曲线,优化信号读取和分析方法。因此,荧光免疫层析技术要真正实现病原微生物检测的广泛应用,未来还需要在荧光材料、试纸条制备、样本前处理、多重检测、定量分析等方面进行深入研究和不断优化,以克服这些挑战,提高检测的灵敏度、特异性和实用性。

5 结束语

荧光免疫层析技术凭借其快速、简便、灵敏和特异的优势,在病原微生物的快速检测中发挥着越来越重要的作用。本文系统介绍了该技术的原理、应用流程及关键步骤,包括样品预处理、荧光标记抗体制备、免疫层析装置组装、检测反应进行以及结果判读与分析等。随着纳米材料、微流控技术和人工智能等新兴技术的不断发展,荧光免疫层析技术有望在灵敏度、特异性、

多重检测能力等方面取得进一步突破。未来,该技术有望在即时检测(POCT)、现场快速筛查、疾病早期诊断等领域得到更广泛的应用,为传染病防控、公共卫生安全和精准医疗等方面做出重要贡献。

参考文献

- [1] 王珍妹. 兽药残留高敏荧光免疫层析检测技术研究与应用[D]. 芜湖: 安徽师范大学, 2024.
- [2] 朱向东, 朱雅宁, 刘伟, 等. 免疫层析技术在兽医检测领域的应用[J]. 畜牧兽医科技信息, 2024, (01): 63-65.
- [3] 苏华彬, 刘蒙达, 南文龙, 等. 荧光免疫层析技术原理及其在病原微生物检测中的研究进展[J]. 中国动物检疫, 2024, 41(01): 67-71.
- [4] 陈国欣. 基于聚集诱导发光微球的荧光免疫层析技术定量检测真菌毒素[D]. 南昌: 南昌大学, 2023.
- [5] 庄林林. 基于分子扩增和荧光免疫层析的核酸检测方法研究及在病原微生物检测中的应用[D]. 南京: 东南大学, 2021.
- [6] 朱明磊, 郭鄂平. 胶体金免疫层析技术在病原微生物检测中的应用[J]. 青岛医药卫生, 2011, 43(01): 43-45.
- [7] 徐亚涛, 韩艳华, 胡文翔, 等. 荧光免疫层析技术定量检测血清胎盘生长因子的建立和性能评价[J]. 实验与检验医学, 2023, 41(02): 139-144.
- [8] 陈艳, 丁旭, 李朝阳, 等. 荧光纳米微球免疫层析技术检测新型冠状病毒研究[J]. 质量安全与检验检测, 2023, 33(05): 72-76.
- [9] 常晓松, 刘东泽, 何纬, 等. 基于荧光免疫层析法建立甲型流感病毒快速检测技术的研究[J]. 成都医学院学报, 2017, 12(05): 546-550.
- [10] 陈尔净. 基于镉纳米粒子的多靶标霉菌毒素荧光免疫层析检测技术研究[D]. 杭州: 中国计量大学, 2020.
- [11] 刘建龙. 荧光标记免疫层析技术在食品安全检测中的应用研究[J]. 食品安全导刊, 2019, (27): 131.
- [12] 黄穗滨, 黄亚兰, 王森, 等. 荧光定量免疫层析技术在诊断上的应用[J]. 热带医学杂志, 2018, 18(10): 1390-1393.
- [13] 汤轶伟, 张宏, 崔芷萌, 等. 荧光标记免疫层析技术在食品安全检测中的应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2018, 39(02): 314-319.
- [14] 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(05): 282-287.
- [15] 聂聪, 侯宝翠, 王静, 等. 荧光免疫层析技术检测寨卡病毒IgG抗体[J]. 中华卫生杀虫药械, 2020, 26(02): 158-164.

作者简介



朱芸, 硕士, 讲师, 研究方向为微生物与免疫学。