

综述

诺如病毒快速检测技术研究进展

杨艳歌¹, 吴占文^{1,2}, 李涛¹, 李红娜¹, 王帅^{1,2}, 孙冬梅², 袁飞¹

(1. 中国检验检疫科学研究院, 国家市场监管重点实验室 食品质量与安全, 北京 100176;

2. 黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院, 黑龙江 大庆 163000)

摘要:以食物和水作为传播基质的诺如病毒(NoV)能够在全球范围内引发急性肠胃炎,但目前没有特效的抗病毒药物,只能通过快速检测在早期筛查识别NoV,从而预防NoV的传播并及时做出干预措施。传统的检测方法耗时耗力,操作繁琐,不利于NoV的即时检测,因此NoV快速检测技术的建立成为研究者不断探究的问题。目前已有一些快速检测方法的报道,但由于NoV体外不可培养的特性,很难进行方法间的试验比较。因此,本文针对目前报道较多的快速检测技术进行了梳理,综述了分子生物学、免疫学、生物传感器等技术在NoV快速检测中的应用及发展趋势,从方法的检出限、检测时间以及优缺点等进行了整理比较,以期将来NoV的现场快速检测及后续相关新型检测技术的研究提供参考。

关键词:诺如病毒;快速检测;分子生物学;免疫学;生物传感器

中图分类号:R155

文献标识码:A

文章编号:1004-8456(2023)01-0131-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2023.01.020

Research progress in rapid detection of norovirus

YANG Yange¹, WU Zhanwen^{1,2}, LI Tao¹, LI Hongna¹, WANG Shuai^{1,2}, SUN Dongmei², YUAN Fei¹

(1. Key Laboratory of Food Quality and Safety for State Market Regulation, Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100176, China; 2. College of Life Science and Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural Reclamation University, Heilongjiang Daqing 163000, China)

Abstract: Norovirus (NoV), which transmits through food and water, can cause acute gastroenteritis worldwide. However, there is no specific antiviral drug. To prevent the spread of NoV outbreaks and intervene in time, only rapid detection and screening can identify NoV at the early stage. Traditional detection methods are time-consuming, labor-intensive, and the operation is cumbersome, which is not suitable for the real-time detection of NoV. Therefore, the establishment of NoV rapid detection technology has become an ongoing issue for researchers. Though many rapid detection methods have been reported, it is difficult to compare these methods because of the unculturable nature of NoV *in vitro*. Therefore, the currently reported rapid detection technologies are sorted out, and the research status at home and abroad is briefly introduced. The application and development trend of molecular biology, immunology, biosensor and other technologies in the rapid detection of NoV is reviewed. The detection limit, detection time, advantages and disadvantages of the methods are compared. It is expected to provide a reference for the on-site rapid detection of NoV and subsequent research of relevant novel detection technologies.

Key words: Norovirus; rapid detection; molecular biology; immunology; biosensor

收稿日期:2021-12-29

基金项目:中国检验检疫科学研究院基本科研业务费专项(2022JK36);国家重点研发计划(2022YFF0607900)

作者简介:杨艳歌 女 副研究员 研究方向为分子生物学 E-mail:yange8602@126.com

吴占文 男 在读研究生 研究方向为微生物学 E-mail:706357199@qq.com

杨艳歌和吴占文为并列第一作者

通信作者:袁飞 女 研究员 研究方向为食源性病原微生物 E-mail:feyuan@163.com

孙冬梅 女 教授 研究方向为微生物学 E-mail:sdmlzw@126.com

袁飞和孙冬梅为共同通信作者

1986年,研究人员从美国诺瓦克镇一位急性胃肠炎患者的腹泻粪便中分离出一种病毒病原,并以其发现地命名,称为诺瓦克病毒(Norwalk virus, NV)。随后,世界各地陆续分离出多种与之形态相似但抗原略有差异的病毒样颗粒,均以其发现地命名。后来研究者为方便统计,将这些病毒统称为诺瓦克样病毒(Norwalk-like viruses, NLVs),2002年8月,第8届国际病毒命名委员会批准该病毒统一更名为诺如病毒(Norovirus, NoV)。作为RNA病毒之一的NoV具有感染剂量低、发病时间快、传播能力强等特点,且由于自身的遗传特性,使得NoV极易发生变异与重组,这给NoV的检测工作带来了很大困难^[1-2]。目前,GI、GII以及GIV型NoV是感染人类的主要基因型^[3],GII型NoV更是被称为继轮状病毒与肠聚合性大肠杆菌后的第三大常见病原体。NoV爆发主要出现在人口密集的环境中,如医院、养老院、学校以及餐厅等,在受到污染的食物和水以及人与人之间进行传播。

据我国疾控中心报道,NoV在全球范围内每年可导致7亿人感染,20万人死亡。但NoV感染属于自限性疾病,目前既没有特效药物也没有预防疫苗,只能通过前期快速检测来进行风险筛查。但传统的检测方法需要进行洗脱与富集,不仅检测周期长且不适用于现场检测,食品中所含的各种基质也会影响检测结果^[4]。随着生物技术的不断发展,许多高效快速的检测方法陆续被开发^[5],为早期预防NoV打下基础。本文对目前最新的NoV快速检测技术研究进展及成果进行了总结概述,以期将来NoV快检方法的研发及应用提供参考。

1 分子生物学技术

1.1 反转录-聚合酶链式反应(Reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)

RT-PCR是一种将RNA的反转录(Reverse transcription, RT)和cDNA的聚合酶链式扩增(Polymerase chain reaction, PCR)相结合的技术。首先将病毒RNA反转录为cDNA,再以cDNA为模板扩增合成目的片段。荧光定量RT-PCR技术是目前临床检测NoV的主要方式,该技术在PCR体系中加入了荧光染料,通过检测荧光信号强度实现对反应体系中的模板进行实时定量的目的。SUMMA等^[6]采用该技术建立了快速检测树莓中NoV的方法,最低可在每25g样品中检出100 copies的NoV。郭艳飞^[7]使用荧光定量RT-PCR对18份腹泻患者粪便样本中的GI、GII型NoV进行定量检测,测序结果证实检测符合率为100%,且荧光定量

RT-PCR的最低检出限为100 copies/ μ L,相比于常规RT-PCR检测方法,不仅检测效率远超过后者,检测时间也大大减少。荧光定量RT-PCR作为目前检测病原微生物的“金标准”,应用范围十分广泛^[8],目前已经在临床检测中占据了重要位置。

1.2 环介导等温扩增技术(Loop-mediated isothermal amplification, LAMP)

LAMP是一种新型的体外恒温核酸扩增技术,它利用4种针对靶基因不同区域设计的特异性引物,通过链置换DNA聚合酶的作用,可在60℃~65℃恒温条件下完成核酸快速扩增^[9]。董青^[10]将LAMP与杂交链式反应(Hybridization chain reaction, HCR)联合使用,借助便携式血糖仪,开创了一种新型NoV检测技术,该技术将LAMP与带有蔗糖酶的HCR产物在磁球表面进行偶联,并将扩增产物接到磁球上,当磁球与等体积的蔗糖接触时,蔗糖就会被水解成葡萄糖,再取一定体积的混合物使用血糖仪测定葡萄糖含量,最终达到检测NoV的目的。该技术具有成本低和易于操作等优点,并可实现NoV的现场快速检测,最低可在2%的粪便样品中检测到30 copies的NoV模板。罗剑鸣等^[11]建立了一种可以基于颜色变化特异检测GII型NoV的逆转录环介导等温扩增(Reverse transcription-LAMP, RT-LAMP)方法,在扩增前加入染料羟基萘酚蓝作为反应指示剂,反应结束后肉眼可直接判定阳性结果,整个反应过程只需60 min,最低可检测出1000 copies/ μ L NoV RNA,与RT-PCR灵敏度水平相当。该技术具有简单、快速、特异性强、灵敏度高等特点,为未来NoV现场快速检测提供了一种新思路^[12]。但LAMP技术对引物的要求比PCR方法高很多,设计符合要求的特异性引物比较困难,而反应过程中还需加入多条引物,又可能造成因碱基互补产生二聚体而导致假阳性的结果^[13]。

1.3 重组酶聚合酶扩增技术(Recombinase polymerase amplification, RPA)

RPA是一种被称为可以替代PCR的核酸检测技术,该技术依靠从大肠杆菌中提取的重组酶对引物进行退火,并辅以金黄色葡萄球菌的Sau DNA聚合酶从而实现短时间内对目标区域指数级扩增的目的^[14],整个过程仅需10 min左右。JIA等^[15]将RPA与横向流动(Lateral flow, LF)试纸条相结合,开发了1种一步法快速检测NoV的方法——RT-RPA-LF法,整个检测过程在20 min内完成,并可现场检测人类粪便中的GII型NoV,最低可检测50 copies的NoV。RPA方法^[16]可摆脱常规仪器的束缚,在25℃~42℃下就可以完成扩增反应,且可以

达到定量的要求。但该方法也存在一些缺点,如在 RPA 反应结束后,往往需要增加纯化步骤,否则在进行琼脂糖凝胶电泳检测时会出现严重的拖尾现象。另外,由于 RPA 反应是在恒温下完成^[17-18],这就导致反应过程中缺少 PCR 热循环反应来避免引物之间的结合,难以避免部分非特异性扩增,从而影响最终的结果判断。

1.4 重组酶介导等温核酸扩增技术(Recombinase aided amplification, RAA)

RAA 是我国近年来研发的一种用于病原体检测的新型等温核酸扩增技术,其原理是由重组酶、单链结合蛋白与引物形成复合体扫描双链 DNA,在与引物同源的序列处使双链 DNA 解旋,在能量和 dNTP 存在的情况下,由 DNA 聚合酶完成链的延伸。一般在 30 °C~42 °C 的条件下,5~20 min 就可以完成核酸的快速扩增^[19]。而利用荧光标记的探针,还可以进行荧光检测,实现定量分析。QIN 等^[20]建立了一种逆转录重组酶介导等温核酸扩增(Reverse transcription-RAA, RT-RAA)方法,可快速特异性检测 GII. 4 型 NoV,最低可在 30 min 内检出 3.425 lg copies 的 GII 型 NoV 模板。RAA 技术具有灵敏度高、特异性强、检测过程方便快捷等优点,但也有一定的不足。这是由于 RAA 引物要比普通 PCR 引物长,通常需要达到 28~35 nt^[21],引物过短会降低重组率,影响扩增速度和检测灵敏度;而引物过长,又可能会产生引物二聚体或者发卡结构等二级结构,从而影响核酸扩增。

2 免疫学技术

2.1 胶体金免疫层析技术(Gold immunochromatography assay, GICA)

GICA 是将胶体金颗粒与免疫层析法相结合的一种新型免疫标记技术,其原理是胶体金颗粒之间受到静电的作用会维持一种稳定的胶体状态,在碱性状态下,胶体金会携带负电荷,与蛋白质分子携带的正电荷发生吸引作用而结合,从而成为免疫反应的标记物,通过这种胶体金标记物可以直接观察到检测结果。高珺珊等^[22]将抗 NoV 的衣壳蛋白单克隆抗体 1B10、1D6 与羊抗鼠抗体组装成一种可以检测 GII. 2 型、GII. 4 型、GII. 17 型 NoV 的胶体金试纸条,该方法简单快速、特异性强、重复性好,并且摆脱了仪器束缚,最低可以 10 min 内检测出 5.9×10^5 copies/ μL 的 NoV。李亚伟^[23]通过提取 NoV 多表位抗原表达菌株生产的融合蛋白免疫小鼠的单抗和多抗,研制出用于检测 NoV 的胶体金试纸条,结果显示,由单抗构建的试纸条对 rHuNoV 蛋白样

品检测的灵敏度为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$,检测时间为 5~15 min。GICA 虽然特异性强,稳定性好且利于保存,但是通常批次间差异较大,灵敏度较差,如果选择的抗体特异性不强则容易引起交叉反应,因此其实际应用受到了一些限制。

2.2 近红外免疫层析技术(Near-infrared immunochromatographic assay, NICA)

NICA 是一种使用近红外荧光染料标记抗体以检测特定抗原的免疫检测技术,近红外荧光是荧光光谱学领域的一个新兴分支^[24],当抗原与被标记的抗体产生特异性结合时,就会产生荧光峰值,并以此来判断检测结果。张捷等^[25]基于低噪声激发式荧光标记 NoV 抗体,研制出一种靶向于 NoV 衣壳蛋白的免疫层析试纸条,由于该技术的发射光谱位于 650~1100 nm 的低噪声区域,使得这种新型试纸条具有高灵敏度及免受背景荧光干扰等特点,且低噪声激发式荧光扫描仪体积小,便于携带,可以在 45 min 内完成对 NoV 的定性检测。该技术具有快速高效、方便携带等优点,但结果判定时需要专业人员操作,与其他方法相比较繁琐。

2.3 纳米酶(Nanozymes)

纳米酶是一种既具有纳米尺寸(1~100 nm)又具备酶的催化性能的一种纳米材料^[26],与常规的生物酶相比,它不仅耐久性更好,稳定性更强,而且成本更低,还可以循环再利用,目前被应用于生物工程、医学、化工等众多领域,已展现出越来越广泛的应用前景。许多研究学者基于纳米酶的这些特性,相继开发出免疫试纸条法、免疫比色测定法、荧光测定法、酶联免疫吸附法、适配体探针显色法等一系列技术用以体外病毒检测^[27]。刘键等^[28]将纳米酶与试纸条联合使用,利用纳米酶的催化特性,建立了高灵敏度 NoV 快速检测方法。该技术将纳米酶与 NoV 抗体偶联制备 NoV 纳米酶-抗体探针,然后将其组装成新型纳米酶试纸条,对 NoV 最低检出限可达 10 ng/ μL ,检测过程仅需 5~15 min,肉眼可直接观察检测结果,为将来 NoV 现场检测提供了一种新思路。但还有一些问题需要改进,首先是该技术不能对 NoV 模板进行量化,其次,在检测过程中加入显色液会增加试验本身的复杂性以及多变性,从而影响最终的结果判定,因此该技术还需进一步改进。

3 生物传感器技术

生物传感器是一种同时具有接收器与转换器功能的用于分析特定物质的检测仪器,通常由生物识别元件、换能器和信号放大装置构成。其工作原

理是利用生物识别元件识别目标分析物并产生感应信号,然后换能器将这些感应信号转换成等效的电子信号,最后通过信号放大装置将信号进行处理和分析,从而对结果进行分析^[29]。根据生物传感器中分子识别元件可将其分为酶传感器、微生物传感器、细胞传感器、组织传感器和免疫传感器^[30]。而根据生物传感器的换能器一般可将其分为电化学生物传感器、半导体生物传感器、光生物传感器、热生物传感器、压电晶体生物传感器等。目前报道的应用于 NoV 快速检测中有纸基微流控生物传感器、FOF1-ATP 酶分子马达生物传感器等。

3.1 纸基微流控生物传感器(Paper-based microfluidic biosensor)

纸基微流控是一种在微米尺度空间的纸基设备上对微流体进行精确操控的技术^[31]。通过在亲水纤维素或其他纤维素纸基设备上控制导向液体从入口到出口流动,从而形成固定生物传感。WENG 等^[32]利用纳米材料与 NoV 探针功能化荧光基团之间的荧光共振能量转移对测定样品的浓度进行定量,通过核酸适配体的构象变化与荧光基团和猝灭剂之间的距离变化相关而产生可测量的荧光强度,研究发现被 6-羧基荧光素(6-carboxyl fluorescein, 6-FAM)标记的适配体的荧光在多壁碳纳米管和氧化石墨烯荧光共振能量转移时会发生猝灭现象,而在 NoV 存在的情况下,这种荧光将会

恢复。基于这种现象,WENG 等^[32]开发出一种快速检测 NoV 的生物传感器,并与由硝化纤维素膜制成的纸基微流控平台联合使用,成功对 NoV 样品颗粒进行了定量分析,最低可在 5 min 内检测 30 pmol/L 的 NoV 样品颗粒。该方法具有装置简单、成本低廉等特点,并具备检测结果可视化的潜力,但在实际应用中还有一定的限制,仍需进一步探索。

3.2 F₀F₁-ATP 酶分子马达生物传感器(F₀F₁-ATPase molecular motor biosensor)

F₀F₁-ATP 酶是一种纳米级分子旋转马达,一些研究学者将其应用于病原微生物及化学污染物的检测中。ZHAO 等^[33]通过“ε-亚单位抗体-链霉素-生物素探针”系统在 NoV 的高度保守区构建了特异性探针,并基于此建立了 F₀F₁ ATP 酶分子马达生物传感器新型检测技术,该方法对 NoV 病毒 RNA 的定量限为 0.005 ng/mL,仅需 60 min 即可完成全部定量检测。生物传感器虽然具有耗时短、操作简单等优点,但仍有一些问题需进一步探索,目前最主要的是解决大部分生物传感器生物识别元件稳定性的问题,其次在检测一些基质比较复杂的样品时,其中所含的生物大分子会影响传感器的检测,对其灵敏性和特异性产生限制作用。

本文将涉及的检出限、检测时间、优缺点等信息汇总于表 1。

表 1 诸如病毒快速检测技术

Table 1 Rapid detection technologies of norovirus

类别	检测方法	检出限	检测时间/ min	引用 文献	优缺点
分子生物学技术	荧光定量 RT-RCR	100 copies/25 g	—	[6]	检测灵敏度较高,结果准确,可以进行定量检测,但与其他方法相比检测时间较长,且需要专业仪器辅助
		100 copies/ μ L	—	[7]	
	环介导等温扩增	30 copies/反应	—	[10]	简单快速,特异性强,灵敏度高,但容易造成气溶胶污染,影响检测结果
		1 000 copies/ μ L	60	[11]	
		RPA	50 copies/反应	20	
RAA	3.425log ₁₀ copies/反应	30	[20]	可在常温下进行反应,摆脱常规仪器束缚,高效快速,但需要对产物进行纯化,且引物较长,容易发生非特异性结合,影响检测结果	
免疫学技术	胶体金免疫层析	5.9 \times 10 ⁵ copies/ μ L	10	[22]	检测时间短,特异性好,稳定性强,制成的试纸条利于保存,但批间差异较大,灵敏度较差,抗体特异性较弱时容易引起交叉反应
		1 μ g/mL	—	[23]	
	近红外免疫层析	—	45	[25]	快速高效,便于携带,可以适用于现场检测,但结果判定时需要专业人员操作
	纳米酶	10 ng/ μ L	5~15	[28]	高效快速,灵敏度高,特异性强,且成本较低,但检测过程中加入的显色液会增加试验的复杂性与多变性,影响最终结果判定
生物传感器技术	纸基微流控生物传感器	30 pmol/L	5	[32]	装置简单,成本低廉,且具备可视化检测的潜力,但实际应用还有一定限制
	分子马达生物传感器	0.005 ng/mL	60	[33]	检测快速,自动化程度高,操作简单,但检测基质较复杂的样品时,其中的生物大分子会影响传感器检测,限制其灵敏性与特异性

注:“—”表示该信息文献未说明

4 展望

近年来,NoV 的快速检测方法不断被开发,为

其早期快速检测提供了不同的思路。但由于 NoV 在体外无法培养的特性,导致许多检测方法只能用

模拟材料代替真实样本,增加了方法在实际应用中的不可控因素。但随着生物技术的不断革新,多种检测技术的联合使用,所开发的方法无论是检测时间还是灵敏度、特异性方面都有了很大的提升,但实际应用到 NoV 现场快速检测时,或多或少都存在一些不足,需要研究学者去不断完善。

在分子生物学领域,等温扩增被称为可以替代 PCR 的检测技术。该技术具有高效快速、无须专用设备等优点,且反应对扩增抑制剂的耐受作用,降低了对 DNA 模板的纯化要求,使得该技术在分子领域迅速发展。但由于等温扩增技术无法对样品进行高通量检测,所以并不能完全取代 qPCR。在免疫学领域,免疫层析技术与试纸条的结合,无疑将 NoV 现场快速检测标准的建立推进了一大步,该技术的核心是通过各种物质标记抗体特异结合抗原来达到检测目标物质的目的,但一些物质与抗体之间容易存在非特异性结合,会对检测结果造成一定的影响。在生物传感器领域,随着材料学、生物学、信息学的不断发展,生物传感器技术也得到了跨越式的提升,但仍有一些问题限制了其在 NoV 现场快速检测中的应用,如一些生物传感器的建立比较复杂,使用寿命较短,且识别元件的活性与选择性还有待提高等。

未来的 NoV 现场快速检测,一方面要继续寻找适合病毒增殖的模板;另一方面,还可以尝试多种检测技术的联合使用,发挥各种技术的优势,实现优势互补,争取达到缩短检测时间、提高检测灵敏度、优化检测反应条件的目的。目前,等温扩增与基因编辑技术是病原体快速检测发展的重要趋势,两种技术的相继开发都大大提高了病原体检测的效率与准确性,已有研究学者将新的 CRISPR/Cas 系统,如 Cas12b 和 Cas13d 陆续开发为核酸检测或基因分型工具^[34]。未来,我们可以尝试首先使用等温扩增技术将目的片段扩增至可检测水平,再加入特定的 Cas 蛋白与荧光显色剂,与横向流动试纸条共同使用,根据荧光强度与试纸条检测线达到对 NoV 定性乃至于定量的目的,基于此开发出新的 NoV 现场快速检测方法。希望通过更多研究学者的不断努力,陆续开发出适用于 NoV 现场快速检测的方法和标准操作规程以限制 NoV 的感染与传播,也希望其他前沿学科加入到 NoV 快速检测技术的开发中,在丰富现有检测方法的同时,从源头上解决 NoV 感染事件的发生。

参考文献

[1] 韦罗娜,张义,曹磊,等.一起高校诺如病毒感染引起的暴

发疫情调查[J].医学动物防制,2021,37(8):781-784.

WEI L N, ZHANG Y, CAO L, et al. Investigate on outbreak of epidemic caused by norovirus in college[J]. Journal of Medical Pest Control, 2021, 37(8): 781-784.

[2] 孙志强,黄志成,王修,等.诺如病毒检测技术的研究进展[J].中国实验诊断学,2020,24(10):1750-1752.

SUN Z Q, HUANG Z C, WANG X, et al. The research progress of detection methods for norovirus [J]. Chinese Journal of Laboratory Diagnosis, 2020, 24(10): 1750-1752.

[3] CHHABRA P, DE GRAAF M, PARRA G I, et al. Updated classification of norovirus genogroups and genotypes [J]. The Journal of General Virology, 2019, 100(10): 1393-1406.

[4] 廖小艳,陈丽丽,白亚龙.食品中诺如病毒检测技术研究进展[J].食品与机械,2021,37(4):200-206,232.

LIAO X Y, CHEN L L, BAI Y L. The progress of detection methods for norovirus in foods[J]. Food & Machinery, 2021, 37(4): 200-206, 232.

[5] 潘卫兵,许韡.诺如病毒检测技术研究[J].医学信息,2018,31(2):51-53.

PAN W B, XU W. Study on the detection technology of norovirus [J]. Medical Information, 2018, 31(2): 51-53.

[6] SUMMA M, MAUNULA L. Rapid detection of human norovirus in frozen raspberries [J]. Food and Environmental Virology, 2018, 10(1): 51-60.

[7] 郭艳飞.常规 RT-PCR 与荧光定量 RT-PCR 检测 G1/GII 型诺如病毒方法的研究和应用[J].中国医药指南,2021,19(6):122-123.

GUO Y F. Research and application the conventional RT-PCR and fluorescence quantitative RT-PCR in detection of G1, GII type of norovirus [J]. Guide of China Medicine, 2021, 19(6): 122-123.

[8] 毛雪莹,多丽波.RT-PCR 技术在肺炎克雷伯菌耐药性方面的研究进展[J].标记免疫分析与临床,2015,22(11):1169-1172,1175.

MAO X Y, DUO L B. Progress of RT-PCR technique in the diagnosis of drug resistance of *Klebsiella pneumoniae* [J]. Labeled Immunoassays and Clinical Medicine, 2015, 22(11): 1169-1172, 1175.

[9] 范安妮,余之蕴,张娟,等.环介导等温扩增技术在食品安全检测领域的应用研究进展[J].食品工业科技,2018,39(10):330-334.

FAN A N, SHE Z Y, ZHANG J, et al. Application research progress on loop-mediated isothermal amplification in food safety detection [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(10): 330-334.

[10] 董青.环介导等温扩增技术对诺如病毒检测的研究[D].长春:长春理工大学,2019.

DONG Q. Study on the detection of norovirus by loop-mediated isothermal amplification [D]. Changchun: Changchun University of Science and Technology, 2019.

[11] 罗剑鸣,吴希阳,徐子乾,等.基于颜色判定的逆转录环介导等温扩增技术检测 GII 型诺如病毒基因[J].病毒学报,2012,28(2):165-171.

LUO J M, WU X Y, XU Z Q, et al. Colorimetric detection of

- norovirus genotype GII by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification[J]. Chinese Journal of Virology, 2012, 28(2): 165-171.
- [12] FUKUDA S, TAKAO S, KUWAYAMA M, et al. Rapid detection of norovirus from fecal specimens by real-time reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2006, 44(4): 1376-1381.
- [13] MORI Y, KANDA H, NOTOMI T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) : Recent progress in research and development[J]. Journal of Infection and Chemotherapy, 2013, 19(3): 404-411.
- [14] PIEPENBURG O, WILLIAMS C H, STEMPLE D L, et al. DNA detection using recombination proteins[J]. PLoS Biology, 2006, 4(7): e204.
- [15] JIA T H, YU Y X, WANG Y J. A recombinase polymerase amplification-based lateral flow strip assay for rapid detection of genogroup II noroviruses in the field[J]. Archives of Virology, 2020, 165(12): 2767-2776.
- [16] 王贝贝, 马爱敏, 孙肖红. 重组酶聚合酶扩增技术在病原体快速检测中的应用[J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2021, 44(1): 73-76.
- WANG B B, MA A M, SUN X H. Application of recombinase polymerase amplification in the rapid detection of infectious diseases pathogens [J]. Chinese Journal of Frontier Health and Quarantine, 2021, 44(1): 73-76.
- [17] 施奕, 徐昌平, 余蓓蓓, 等. 重组酶聚合酶扩增技术研究进展[J]. 病毒学报, 2020, 36(3): 522-532.
- SHI Y, XU C P, YU B B, et al. Research progress in recombinase polymerase amplification (RPA)[J]. Chinese Journal of Virology, 2020, 36(3): 522-532.
- [18] 秦智伟, 薛亮, 高珺珊, 等. 食源性病毒核酸恒温检测技术研究进展[J]. 微生物学通报, 2021, 48(1): 266-277.
- QIN Z W, XUE L, GAO J S, et al. Advances in nucleic acid isothermal detection technologies for foodborne viruses [J]. Microbiology China, 2021, 48(1): 266-277.
- [19] 薛俊欣, 韩伟, 朱忠武, 等. 基于RAA-Cas13a的猪瘟疫病毒检测方法的建立[J/OL]. 中国动物传染病学报: 1-10 [2022-02-22]. DOI: 10.19958/j.cnki.cn31-2031/s.20210826.003.
- XUE J X, HAN W, ZHU Z W, et al. Establishment of classic swine fever virus detection method based on RAA-Cas13a [J/OL]. Chinese Journal of Animal Infectious Diseases: 1-10 [2022-02-22]. DOI: 10.19958/j.cnki.cn31-2031/s.20210826.003.
- [20] QIN Z W, XUE L, CAI W C, et al. Development of a recombinase-aided amplification assay for rapid detection of human norovirus GII.4[J]. BMC Infectious Diseases, 2021, 21(1): 248.
- [21] 郭晨瑶, 梁莹, 胡同静, 等. 霍乱弧菌荧光RAA快速检测方法的建立和应用[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2021(23): 68-72.
- GUO C Y, LIANG Y, HUTONG J, et al. Establishment and application of rapid detection method of *Vibrio cholerae* by fluorescent RAA[J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2021(23): 68-72.
- [22] 高珺珊, 薛亮, 左月婷, 等. 诺如病毒常见流行株胶体金免疫层析快速检测方法[J]. 微生物学通报, 2020, 47(8): 2665-2672.
- GAO J S, XUE L, ZUO Y T, et al. Colloidal gold immunochromatographic assay for rapid detection of norovirus epidemic strains[J]. Microbiology China, 2020, 47(8): 2665-2672.
- [23] 李亚伟. 诺如病毒和札如病毒胶体金法检测试纸的研究[D]. 厦门: 集美大学, 2014.
- LI Y W. Research on colloidal gold test strip for norovirus and sapovirus[D]. Xiamen: Jimei University, 2014.
- [24] AMIOT C, XU S P, LIANG S, et al. Near-infrared fluorescent materials for sensing of biological targets [J]. Sensors, 2008, 8(5): 3082-3105.
- [25] 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 J L, et al. Rapid detection method of foodborne norovirus based on near-infrared immunochromatography [J]. Heilongjiang Medical Journal, 2017, 41(7): 691-694.
- [26] HUANG Y Y, REN J S, QU X G. Nanozymes: Classification, catalytic mechanisms, activity regulation, and applications [J]. Chemical Reviews, 2019, 119(6): 4357-4412.
- [27] 刘键, 刘昕. 纳米酶与病毒检测[J]. 北京工业大学学报, 2021, 47(1): 93-102.
- LIU J, LIU X. Nanozymes and virus detection [J]. Journal of Beijing University of Technology, 2021, 47(1): 93-102.
- [28] 刘键, 张永江, 李小盼, 等. 诺如病毒纳米酶试纸条检测方法的建立[J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2020, 43(2): 88-90.
- LIU J, ZHANG Y J, LI X P, et al. Establishment of nanozyme strip method for the detection of norovirus [J]. Chinese Journal of Frontier Health and Quarantine, 2020, 43(2): 88-90.
- [29] RUBAB M, SHAHBAZ H M, OLAIMAT A N, et al. Biosensors for rapid and sensitive detection of *Staphylococcus aureus* in food [J]. Biosensors & Bioelectronics, 2018, 105: 49-57.
- [30] 张泽, 张颖聪, 于洪伟, 等. 生物传感器识别元件的种类及其在临床检验中的研究进展[J]. 临床检验杂志, 2020, 38(10): 767-771.
- ZHANG Z, ZHANG Y C, YU H W, et al. 生物传感器识别元件的种类及其在临床检验中的研究进展[J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2020, 38(10): 767-771.
- [31] 林虹君, 张爱红, 李高伟, 等. 纸基检测方法研究进展[J]. 河南师范大学学报: 自然科学版, 2021, 49(5): 112-118.
- LIN H J, ZHANG A H, LI G W, et al. Research progress of paper-based detection methods [J]. Journal of Henan Normal University: Natural Science Edition, 2021, 49(5): 112-118.
- [32] WENG X, NEETHIRAJAN S. Rapid detection of norovirus using paper-based microfluidic device [J]. Biorxiv, 2017: 162396.
- [33] ZHAO Z, ZHANG J, XU M L, et al. A rapidly new-typed detection of norovirus based on $F_0 F_1$ -ATPase molecular motor biosensor [J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering: BBE, 2016, 21(1): 128-133.
- [34] LINA LI, CANXING DUAN, JIANFENG WENG, et al. A field-deployable method for single and multiplex detection of DNA or RNA from pathogens using Cas12 and Cas13 [J]. Science China (Life Sciences), 2022, 65(07): 1456-1465.