

关于免疫检测技术更新迭代的综述研究

宋文颖 周远浩 罗劲东 李佩柔 林 慧

珠海科技学院, 广东 珠海 519040

摘 要: 根据《健康中国“2030”规划纲要》,我国将进一步优化健康服务,完善健康保障等。为了更好的建设健康中国,营造人民福祉。其中免疫检测技术在对食品检测,农药残留和许多疾病的定性定量分析起到了至关重要的作用。我们将通过整理、分析、归纳、总结国内外的资料还有根据现有国内技术的应用情况对这项技术进行综述。结论指出,我们对免疫检测技术加深了认识,其本质和意义也有基本了解。在医学领域,免疫检测技术对疾病早期诊断和筛查、治疗效果监测和个体化治疗、传染病防控、免疫疗法的发展以及新技术的兴起等方面贡献巨大。现如今基于生物纳米技术、大数据分析和机器学习中,免疫检测也在迅速发展。

关键词: 免疫;检测;技术

0 前言

免疫检测技术就是根据抗原与抗体反应的原理,利用已知的抗原检测未知的抗体或利用已知的抗体检测未知的抗原。免疫检测具有专一和特异性,对多种疾病的早期发现、诊断和治疗具有重要意义。免疫检测技术广泛应用在医学检测、食品安全、环境检测、药物检测、动物疫病等各个方面。如:用荧光检测心衰和免疫磁珠检测阴道炎等等。但是它的应用情况、范围和种类,对一些疾病具有独特的检测优势、国内外免疫检测的优势没有得到完整地概括。本文就针对上述的问题进行综述。

研究内容

1 免疫检测技术的物理,化学和生物机制

1.1 免疫检测技术的物理机制

沉淀反应^[1]:是可溶性抗原(如毒素、血清或组织浸液中的蛋白)与相应抗体结合后,在一定条件下出现肉眼可见的沉淀现象。免疫荧光技术:是荧光素^[2]标记抗体(简称荧光抗体)检测相应抗原的一种技术。放射免疫测定法:是用放射性核素^[3]标记抗原或抗体进行免疫学检测技术。免疫胶体金技术:是用胶体金颗粒标记抗体或抗原,用来检测未知抗原或抗体的技术。

1.2 免疫检测技术的化学机制

化学发光免疫分析:是将化学发光分析和免疫反应相结合而建立的一种免疫分析技术。利用化学发光进行化学分析的方法。免疫组织化学技术(免疫组化):是指用标记的特异性抗体在组织细胞原位通过抗原-抗体反应和组织化学的呈色反应。

1.3 免疫检测的生物机制

酶免疫测定法:是用酶标记抗体或抗原进行抗原-抗体反应,检测相应可溶性抗原或抗

体的方法。

2 免疫检测技术现有的应用情况与应用范围

2.1 医学检测领域

心力衰竭^[4]简称心衰,是各种心脏疾病发展的终末期,是目前我国重要的公共卫生问题。为提高心衰的检测效率,魏治静^[2]等研制了一种NT-proBNP与可溶性ST2(sST2)的荧光免疫层析联合检测试剂盒并平行检测了80例临床血清样本,其检测结果相关性良好。能为临床快速检测心力衰竭提供一种高效的方法。

阴道炎^[5]是一种不分年龄段的、常见的妇科病,其致病菌有多种,其中白念珠菌感染率最高。确定致病菌,对症治疗能改善女性的生活质量。姚琼^[7]等利用免疫磁珠分离技术及湿片镜检测法对190名女性(其中102例白念珠菌阴道炎患者为病例组,88例行常规妇科检查的健康志愿者为对照组)进行阴道分泌物检测,结果显示免疫磁珠分离技术在检出率、诊断准确率、灵敏度、特异度均高于另一种方法。说明该免疫检测技术能提高白念珠菌所致阴道炎的诊断准确率。

2.2 食品安全检测领域

农药检测领域方面主要用酶联免疫技术,用于检测蔬菜水果表面残留的氨基甲酸酯类农药^[8]和有机氯农药^[9]。苏娜等^[10]向冷却后包有氨基甲酸酯类的抗原酶标板中依次加入定量的样品,再加入酶标抗体,加入氢氧化钠溶液振荡,最后加入反应终止液,后测定每个酶标板中样品的吸光度,从而计算样品的抑制率。

在食品中致病菌的检验主要使用免疫胶体金技术。黄岭芳等^[11]取等量的目的菌溶液和非目的菌溶液培养一段时间后,用胶体金试纸检验两组溶液,试纸特异性较好。

在检测食品中微生物的残留主要使用荧光免疫检测技术。张兆威等^[12]将食物样品加入甲

醇水溶液中,粉碎过滤后取澄清溶液,加入植物油,放入样品瓶中,插入黄曲霉毒素^[13]时间分辨荧光免疫层析试纸,测定其黄曲霉毒素的含量,结果表明黄曲霉毒素在花生等食品中的检出限为 $0.3\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

2.3 在农产品上的应用

真菌毒素^[14]污染规范存在在农产品中,其不仅会造成农业产业的巨大经济损失,而且直接危害人类的身体健康。刘振江^[15]等总结了四种免疫检测技术在检测真菌毒素的应用。说明免疫检测技术在这方面还是起着重要作用的。随着人们的物质生活越来越丰富,许多农户滥用农药的现象越来越频繁。其中有机磷农药是一个突出的例子。罗磊^[16]的研究首先通过计算分析小分子半抗原结构,筛选、设计最优的半抗原结构作为抗原表位,再利用此半抗原所免疫获得的单克隆抗体进行氨基酸位点定点突变,提高了抗体对农药的识别灵敏度。实现了对蔬菜中多种有机磷农药的检测。由于黄曲霉毒素B1(Aflatoxin B1,AFB1)和伏马毒素B1(Fumonisin B1,FB1)毒性大,广泛污染玉米。查传云^[17]采用ELISA结合不同浓度的标准品筛选阳性株,并采用有限稀释法对其进行10次亚克隆。结果表明,高浓度的AFB1标准品筛选可能有利于富集保留阳性细胞株。

除了上述简述的三个方面,免疫检测技术在其他方面还是起着关键性作用的,如魏宏^[18]等总结的化学发光免疫分析技术(Chemiluminescence immunoassay, CLIA)在兽医学的应用等。

3 目前免疫检测技术的种类与分类及其优越性

免疫荧光技术的基本原理就是将荧光物质与待测物通过化学反应以共价键连接,通过荧光显微镜、激光共聚焦显微镜、流式细胞仪等仪器的检测,达到定位、示踪、含量测定等目的。特点是灵敏,操作简便,安全,无致癌物质,可以多种颜色显色。酶联免疫吸附试验是一种广泛用于检测生物样本中抗原或抗体存在的实验方法。它可以用于定量或定性分析。具有灵敏度高、特异性强、可自动化操作的优点。孙伟和焦奎^[19]在用酶联免疫吸附分析法对植物病毒检测中就具有灵敏度高、特异性强、可自动化操作的优点。

免疫层析技术是免疫学上用于检测分析的一种色谱分析方法。其利用的是抗原-抗体特异性吸附的原理。其优点是该技术操作简单,能够在较短的时间内对待测物进行检测。近年来胶体金免疫层析技术得到广泛应用。免疫传感器的工作原理和传统的免疫测试法相似,都属于固相免疫测试法,即把抗原或抗体固定在固相支持物表面,来检测样品中的抗体或抗原。免疫传感器技术具有分析灵敏度高、特异性强、

使用简便及成本低等优点。分子印迹技术通过组合、聚合和洗脱三个步骤制备能特异性识别目标分子和分子印迹聚合物。该技术具有预定性、识别性和实用性的特点。由于上述特点,分子印迹技术在食品样品前处理中受到了极大的关注。总结表面分子印迹聚合物的设计策略、载体类型、制备方法和近五年在食品样品前处理中的应用。随着科学技术的不断进步,新的免疫检测技术也在不断出现,例如基于纳米技术的免疫检测,将为我们提供更准确、更灵敏的检测手段。

4 目前各项免疫检测技术现有的发展规模如何

以下将对上文提及的一些常见的检测技术将结合一些国内外的实例和现有的市场规模。免疫荧光技术在对病毒和细胞的生理结构上有突出贡献如:采用RNA Pol II CTD(S5)作为功能分子标记对鲤雄性生殖细胞的细胞核进行了免疫荧光研究,并对相关技术参数进行了深入的探索。免疫荧光探究细胞焦亡在新型冠状病毒肺炎中的作用和机制荧光免疫分析仪的市场规模随着生物技术和生物医药行业的发展而不断扩大。据市场研究公司 Research And Markets 发布的报告显示,全球荧光免疫分析仪市场规模在2019年达到17.7亿美元预计到2027年将达到25.6亿美元。其中,生命科学和临床诊断应用占据了市场份额的较大部分。

分子印迹技术在检测分子上有较为突出的成就,Jin Qin 和 Huimin Tang 及其团队^[20]基于绿色还原法原位合成的银纳米颗粒和还原氧化石墨烯复合材料,结合电化学聚合法制备分子印迹聚合物修饰丝网印刷电极,开发了一种选择性检测羧基自由基的电化学传感器。Li Hong Su 及其团队^[21]将分子印迹集成到柔性共价有机框架中,用于黄曲霉毒素的选择性识别和高效提取分子印迹技术具有较高的选择性、灵敏度和稳定性,在生物医药、环境监测和食品安全等领域有重要的应用前景。随着纳米技术和生物传感器的不断发展,分子印迹技术将更加精细化和高效化,在医学诊断、药物传递和环境监测等领域发挥更大作用。同时,基于分子印迹材料的生物传感器、高通量分离技术等也将得到更广泛地应用。

5 结论

通过对免疫检测技术的物理、化学与生物的机制的探讨和其种类与分类,我们认清了其本质的规律,加深了了解。之后对该项技术的应用情况与应用范围还有规模,让我们在使用该项技术时明确了方向。在医学领域,免疫检测技术对疾病早期诊断和筛查、治疗效果监测和个体化治疗、传染病防控、免疫疗法的发展以及新技术的兴起等方面贡献巨大。免疫检测

技术未来也将继续向多样化、小型化、智能化、集成化和多模态方向发展。基于生物纳米技术、大数据分析和机器学习中,多模态免疫检测技术等领域的创新应用将推动免疫检测技术的迅

速发展。相信随着技术的不断进步,免疫检测技术将为医学领域的进步和人类健康做出更大的贡献。

参考文献:

- [1] 赵华森,甘义群,赵琪.地下水系统中富里酸-铁-砷的共沉淀行为[J].安全与环境工程,2024-01-30.
- [2] 张鸿歌,田占成,独军政,王琼洁,康棣.荧光素酶免疫吸附法高灵敏检测蓝舌病毒抗体方法的建立[J].中国兽医科学,2024-02-07 16:51.
- [3] 古梅,吕开,熊亮萍,胡胜.环境放射性样品中铀系核素组合分离方法研究进展[J].材料导报,2024-02-27 08:55.
- [4] 2020 中国心力衰竭医疗质量控制报告[J].中华心力衰竭和心肌病杂志,2020,第4卷(4):237-249.
- [5] 魏治静,裴晓萌,宋温婷等.两种心衰标志物荧光免疫层析联合检测技术研究①[J].中国免疫学杂志,2023,(7)
- [6] 程倩倩.阴道炎易感因素与中医体质的相关性研究[J].湖南中医杂志,2024-02-28
- [7] 姚琼,徐岷.免疫磁珠分离技术对白念珠菌所致阴道炎的检测价值分析[J].国际医药卫生导报,2023,第29卷(14):1958-1961.
- [8] 陈静,文凤伟,杨燕.Qu EChERS-气相色谱质谱法测定土壤中5种氨基甲酸酯农药残留[J].化学工程师,2024-01-16.
- [9] 韩军文,田慧,孙晓晖.气相色谱法同时测定水中硝基苯类化合物与有机氯农药[J].广东化工,2024-01-24.
- [10] 苏娜,明亮,何静等.免疫检测技术在食源性致病菌中的应用研究进展[J/OL].食品与发酵工业:1-12[2023-11-07].<https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.036138>.
- [11] 黄岭芳.快速检测大肠杆菌 O157:H7 胶体金免疫层析方法的建立[D].南昌:南昌大学,2011-06-16.
- [12] 张兆威,李培武,张奇,丁小霞等.农产品中黄曲霉毒素的时间分辨荧光免疫层析快速检测技术研究[J].中国农业科学院,2014-09-19 09:53.
- [13] 吴琴燕,张文文,梁红芳,王建华,陈露.QuEChERS-UPLC-MS/MS 法检测粮食中的黄曲霉毒素[J].粮油食品科技,2024-02-26 16:27.
- [14] 许嘉,王硕,曹瀚文.超高效液相色谱-串联质谱法快速测定挂面、方便面中15种真菌毒素[J].农产品质量与安全,2024-01-26.
- [15] 刘振江,潘兴鲁,郭艳国等.农产品中典型真菌毒素免疫检测技术及其应用研究进展[J].植物保护,2023,49(02):1-5.DOI:10.16688/j.zwbh.2021681.
- [16] 罗磊.农产品中有机磷农药残留免疫学检测方法的研究与应用[D].南昌:南昌大学,2023-05-26.
- [17] 查传云.农产品中黄曲霉毒素和伏马毒素免疫快速检测方法研究[D].山东:山东理工大学,2022-03-17.
- [18] 魏宏,陈秋勇,吴学敏等.化学发光免疫分析技术在疾病研究中的应用[J].福建畜牧兽医,2020,第42卷(6):27-30.
- [19] 牛童,曾家豫,廖世奇等.免疫检测技术及其研究进展[J].甘肃医药,2016,35(02):95-97. DOI:10.15975/j.cnki.gsyy.2016.02.007.
- [20] Jin Qin,Huimin Tang,Guangfei Qu,Keheng Pan,Kunling Wei.Preparation of molecularly imprinted electrochemical sensors for selective detection of hydroxyl radicals based on reduced graphene oxide nanosilver(rGO/AgNPs)composites[J].Microchemical Journal,2024-02-04.
- [21] Li Hong Su;Hai Long Qian;Cheng Yang;Chuanxi Wang;Integrating molecular imprinting into flexible covalent organic frameworks for selective recognition and efficient extraction of aflatoxins[J].Journal of Hazardous Materials,2024-02-23.

作者简介: 宋文颖(1984.5—),女,汉族,河南省南阳市,研究生,讲师,研究方向:康复治疗。

项目信息: 珠海科技学院大学生创新创业训练计划项目 DC2023091。