

doi: 10.12452/j.fxcxb.24111521

等离子体共振生物传感器用于半乳甘露聚糖的快速检测

徐斌, 侯慧楠, 孙璐, 岳浩然, 白晓航, 桂婷, 齐冬梅, 盖秩舫*

(山东中医药大学 中医药创新研究院, 山东 济南 250355)

摘要: 为实现曲霉菌中半乳甘露聚糖(GM)的快速、高灵敏检测, 该研究构建了一种基于金纳米粒子芯片(AuNIs)和GM特异性抗体的生物传感器(AuNIs-GM)。该传感器通过将纳米金芯片表面功能化, 并与半乳甘露聚糖(GM)特异性抗体结合, 基于表面等离子体共振(LSPR)原理计算GM与生物传感器结合前后共振吸收峰的变化, 从而对待测样本中的GM进行检测。结果显示, 该GM生物传感器的检出限(LOD)为49.29 pg/mL, 定量下限(LOQ)为303.25 pg/mL, 加标回收率为91.6%~105%, 相对标准偏差为0.55%~5.8%, 具有较高的准确率及精密度, 并成功用于肺泡灌洗液样本的检测。该研究创新性地将LSPR技术应用于曲霉菌病原菌检测领域, 为曲霉菌病的病原菌快速检测提供了必要的技术支撑。

关键词: 局域表面等离子体共振; 快速检测; 侵袭性曲霉菌病; 病原微生物

中图分类号: O636.1; R379 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2025)12-2594-07

A Functionalized Plasmonic Biosensor for Rapid On-site Detection of Galactomannan

XU Bin, HOU Hui-nan, SUN Lu, YUE Hao-ran, BAI Xiao-hang, GUI Ting,
QI Dong-mei, GAI Zhi-bo*

(Innovative Institute of Chinese Medicine and Pharmacy, Shandong University of Traditional
Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

Abstract: For the rapid and highly sensitive detection of galactomannan (GM) in aspergillus, this study developed a biosensor (AuNIs-GM) based on a gold nanoparticle chip (AuNIs) and GM-specific antibodies. The changes of the resonance absorption peaks before and after the binding of GM to the biosensor were calculated using the principle of localized surface plasmon resonance (LSPR) in order to obtain the concentration of GM in the samples. The detection of different concentrations of GM indicates that the limit of detection (LOD) of the AuNIs-GM was 49.29 pg/mL, while the limit of quantification (LOQ) was 303.25 pg/mL. The recovery for labelled samples ranged from 91.6% to 105%, with a relative standard deviation of 0.55% to 5.8%, demonstrating high accuracy and precision. This methodology has been successfully applied to the analysis of bronchoalveolar lavage fluid samples. This study creatively applied LSPR technology to the detection of pathogenic bacteria of aspergillosis, and provided necessary technical support for the rapid detection of pathogenic bacteria of aspergillosis.

Key words: localized surface plasmon resonance; rapid detection; invasive aspergillosis; pathogenic microorganisms

侵袭性肺曲霉病(IPA)是曲霉菌在一定条件下侵袭肺组织引起的深部真菌感染性疾病^[1]。近年来, 由于免疫抑制剂的使用、器官移植的增加以及艾滋病患者的增多, IPA的发病率有所上升, 已成为临床常见的深部真菌感染之一^[2]。流行病学研究表明, 在所有实体器官移植受者中, 肺移植受者发生IPA的风险最高^[3]。IPA严重影响患者的生活质量和预后, 具有较高的发病率和死亡率, 已成为临床关注的重点疾病。

虽然通过临床影像学检查和病原学筛查可以显著提高IPA的检出率, 但其起病隐匿, 从样本采集

收稿日期: 2024-11-11; 修回日期: 2024-11-29

基金项目: 山东中医药大学科学研究基金项目(KYZK2024Z01); 山东省医药卫生科技项目(202425020684)

* 通讯作者: 盖秩舫, 博士, 副教授, 研究方向: 病原菌检测, E-mail: zhibo.gai@sducm.edu.cn

网络首发时间: 2025-09-22

到培养完成的时间较长,因此早期准确诊断仍是临床面临的关键挑战^[4-5]。病理检查是诊断IPA的金标准,但阳性率低且耗时长^[6];血清学检查具有一定的敏感性和特异性,但对其他真菌感染和免疫状态敏感^[7];分子生物学检查具有较高的敏感性和特异性,但操作过程复杂且费用较高,限制了其在临床上的广泛应用^[8]。影像学检查对IPA的诊断非常重要,但IPA的影像学表现多种多样,容易与其他肺部疾病混淆,导致误诊和诊断失败。

半乳甘露聚糖(GM)是曲霉菌细胞壁的一种多糖成分,可有效反映曲霉菌的感染程度^[9],体液中GM的检出是IPA感染的重要标志^[10]。等离子体共振生物传感器方法具有操作简单、灵敏度高、反应速度快、仪器价格低廉、性能稳定和流动性好等优点。近年来,由于金、钯等金属纳米材料具有优异的光学传感性能,研究人员将其改性为光学材料制备等离子体共振光学传感器,以提高传感器的分析性能^[11-13]。目前,生物传感器分析方法主要用于空气中病原微生物的快速分析,但将其应用于GM的快速检测尚未见报道。基于上述研究成果,本文应用自组装金纳米粒子芯片(AuNIs)开发了玻璃表面修饰的转基因传感器,并研究了AuNIs-GMs的检测性能,以用于IPA快速分析。

1 实验部分

1.1 材料与试剂

11-巯基十一烷酸(MUA)、1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺(EDC)、N-羟基丁二酰亚胺(NHS)、乙醇胺(EA)购自美国Sigma-Aldrich公司。LB固体培养基购于北京索莱宝科技有限公司,乙二胺四乙酸(EDTA)脂磷壁酸(LTA)、牛血清白蛋白(BSA)、磷酸缓冲盐溶液(PBS)(10x)购于山东思科捷生物技术有限公司。2-吗啉乙磺酸缓冲液(MES)购于福州飞净生物科技公司。免疫球蛋白G(IgG)购于abcam,苯胺购于上海阿拉丁生化科技股份有限公司。GM、GM抗体购于丹娜(天津)生物科技股份有限公司。胎牛血清购于赛默飞世尔科技公司。

1.2 仪器与设备

光谱仪(Avaspec-ULS2048TEC)购于爱万提斯科技有限公司,马弗炉(SX2-4-10)购于上海善志仪器设备有限公司,LED光源(LZ1-00W00)购于Thorlabs。

1.3 实验方法

1.3.1 传感器搭建及检测原理 白光LED光源可发射波长480 nm至730 nm的光,通过宽带偏振片(Edmund Optics, #89-602)进行线性偏振后,光线经过双折射晶体并产生p偏振光与s偏振光之间的光程差^[14]。接着,使用直角BK7棱镜对入射光进行全反射,光线随后射入反应仓中,在局部区域激发表面等离子体共振效应(LSPR)。经过全反射并通过偏振片,光线再次进行线性偏振。最后,使用分辨率为0.06 nm的光谱仪捕捉光谱信号,进行实时相位信息的获取,光谱范围为500 nm至750 nm。采用加窗傅里叶变换方法从干涉频谱中提取与抗原浓度相关的相位变化信息。传感器的结构示意图如图1所示。

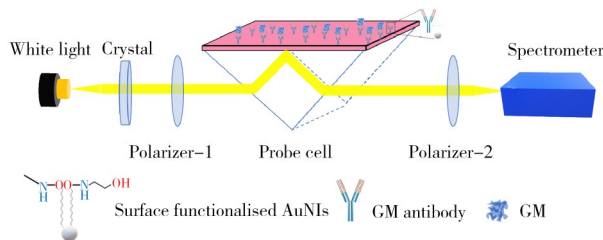


图1 传感器结构示意图

Fig. 1 Principle of detection

当光线入射到由贵金属(如金、银、铂等)构成的纳米颗粒时,如果入射光子的频率与金属纳米颗粒或金属的传导电子整体振动频率相匹配,将产生强烈的吸收效应,导致局部表面等离子体共振现象^[15]。由于在共振时,局部增强的电磁场局限于纳米结构附近,规则的金属纳米结构阵列对局部折射率(RI)变化表现出高度敏感性。局部RI的变化会引起LSPR共振频率和相位的变化^[16],从而提供分子生物物理特性(如RI、分子量等)的局部变化信号。通过这种无标记的方式,LSPR传感系统能够高灵敏度地检测局部变化^[17]。

1.3.2 AuNIs 的表面功能化 在干净的BK7玻璃片上溅射5 nm的金,得到AuNIs芯片,然后在马弗炉中对芯片进行退火处理,用1 h将芯片加热到570 °C。然后,在570 °C下保持3 h,随后冷却至室温。

将AuNIs芯片放入无水乙醇中超声1 min,然后用无水乙醇冲洗5 min(流速20 $\mu\text{L}/\text{min}$)。在AuNIs

芯片上注入不同浓度(5~25 mmol/L)的 MUA 溶液 30 min, 然后用无水乙醇冲洗 10 min。接着, 注入不同比例的 EDC/NHS 混合物(EDC 为 0~0.4 mol/L, NHS 为 0~0.15 mol/L)30 min, 然后用 PBS 缓冲液冲洗 10 min。注入 GM 抗体(4 $\mu\text{g/mL}$)50 min, 用 PBS 缓冲液冲洗 10 min, 最后注入 0.1 mol/L 的 EA 溶液 3 min, 用 PBS 缓冲液冲洗 10 min, 即完成制备。修饰流程如图 2 所示。

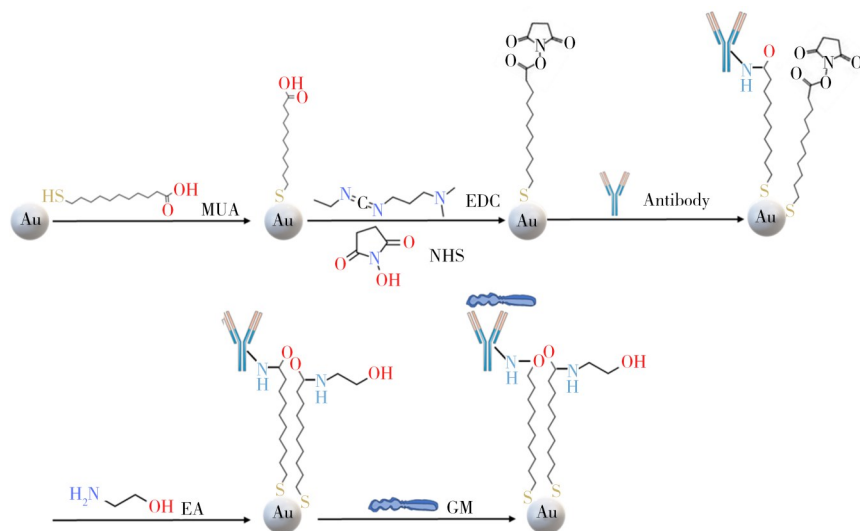


图 2 表面功能化流程图

Fig. 2 Surface functionalization flowchart

1.3.3 传感性能表征 每隔 700 s, 向反应室连续注入不同浓度的乙醇溶液, 以改变 AuNIs 芯片上的环境介质。具体来说, 向反应池连续注入 2%、4%、6%、8%、10%、12%、14%、16%、18% 和 20% 的乙醇溶液。收集这一连续过程的光谱数据, 并使用 MATLAB 软件中的加窗傅里叶变换方法从光谱中提取相位变化。然后利用提取的数据绘制时间相位变化图。

1.3.4 特异性分析 将表面功能化的 AuNIs 芯片与 GM 抗体连接, 然后用 EA 阻断并以 PBS 冲洗 20 min 建立基线。接着, 分别注入 IgG、BSA、苯胺、LTA、酵母菌和枯草芽孢杆菌 25 min。最后, 清洗反应室 35 min。计算并绘制这些溶液的相位响应。

1.3.5 灵敏度分析 将表面功能化的 AuNIs 芯片与 GM 抗体连接, 然后用 EA 阻断并以生理盐与 EDTA 的混合溶液(3:1, 体积比, 下同)冲洗 20 min 建立基线。接着, 分别注入不同质量浓度的 GM 溶液(50、500、1 000、5 000、10 000 pg/mL)25 min。最后, 用生理盐与 EDTA 的混合溶液冲洗反应室 35 min。计算并绘制这一过程的相位响应。

1.3.6 标准曲线的建立 根据 GM 质量浓度(x , ng/mL)及其相位响应(y , rad), 利用 GraphPad Prism 8 软件对曲线进行拟合并建立标准曲线。该传感器检测 GM 的检出限(LOD)和定量下限(LOQ)根据国际纯粹与应用化学联合会的规定计算, 即 $\text{LOD} = S_b + 3\sigma$, $\text{LOQ} = S_b + 10\sigma$, 其中 S_b 为空白信号测量值的平均值, σ 为空白信号测量值的标准偏差。

1.3.7 重复性分析 用 PBS 缓冲液将 GM 分别稀释至 100、1 000、1 500 pg/mL , 采用本方法重复测定 8 次, 将测定的相位响应值带入标准曲线计算 GM 含量和相对标准偏差(RSD), $\text{RSD} = \text{标准偏差} / \text{平均值} \times 100\%$ 。

1.3.8 加标回收率测定 在胎牛血清中加入不同浓度的 GM 标准品溶液, 配制成 100、500、1 000 pg/mL 的待测液。将表面功能化的 AuNIs 芯片与 GM 抗体连接, 然后用 EA 阻断并注入胎牛血清 20 min 建立基线。接着分别注入上述 3 种待测液 25 min。最后用胎牛血清冲洗 35 min, 计算 3 种待测液的相位响应。将相位响应值带入标准曲线计算回收率和 RSD 值, $\text{回收率} = \text{检测值} / \text{理论值} \times 100\%$ 。

1.3.9 实际样本检测 按照肺部感染性疾病支气管肺泡灌洗病原体检测中国专家共识^[18]2017 版中的灌洗操作对 10 位肺部感染的患者进行灌洗操作。收集肺泡灌洗液, 取 300 μL 灌洗液加入 100 μL 的 EDTA, 离心(10 000 g, 10 min), 取上清液, 采用“1.3.4”方法(EA 阻断表面功能化后的芯片, PBS 建立基线)对样本进行检测。

2 结果与讨论

2.1 生物传感器性能表征

为了研究连续时间下, 该传感器对梯度浓度乙醇溶液的相位响应, 每隔 700 s 向传感器连续注入不同体积分数(2%、4%、6%、8%、10%、12%、14%、16%、18%和 20%)的乙醇溶液。这一连续传感过程的光谱变化如图 3 所示。与波长调制相比, 差分相位响应被限制在一个狭窄的区域内(图 3A), 因此有望获得较高的灵敏度。初始基线由持续 700 s 注入 2% 的乙醇溶液获得, 随后注入不同 RI 的其他乙醇溶液, 以改变 AuNIs 芯片上的环境介电介质。结果显示, 相位响应随折射率升高而增强, 当乙醇溶液从 2%(RI=1.334 2 RIU)增至 20%(RI=1.346 9 RIU), 即 RI 范围为 1.27×10^{-2} RIU 时, 相位响应逐步增强。可以注意到, 从 18% 到 20% 乙醇溶液的相位响应低于低浓度条件下的相位响应(图 3B), 表明等离子传感位置已逐渐向长波长转移。动态 RI 实验结束后, 再次注入初始的 2% 乙醇溶液, 以检查 AuNIs 芯片的可重复使用性。发现最终的相位响应值回到原来的基线, 表明本研究中使用的 AuNIs 芯片具有良好的可逆性。

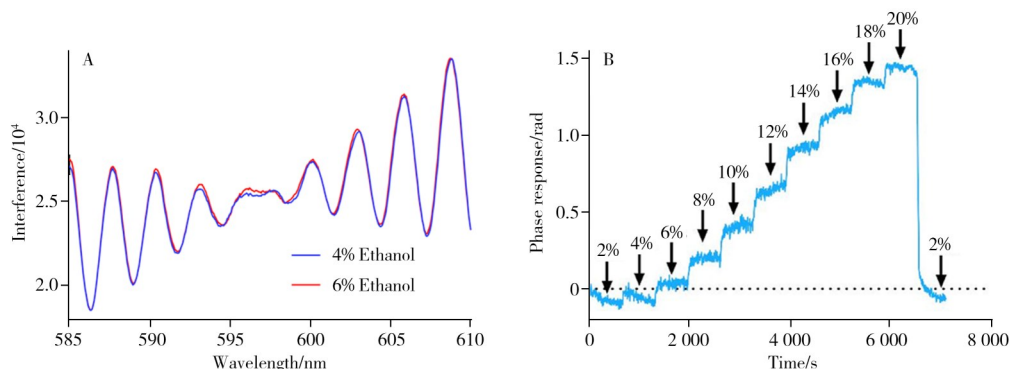


图 3 4%乙醇溶液和6%乙醇溶液的光谱对比图(A)及梯度乙醇溶液的相位响应(B)

Fig. 3 Spectral comparison in 4% EtOH solutions and 6% EtOH solutions(A) and the phase response of gradient concentration EtOH solutions(B)

2.2 传感器表面功能化的优化

实验选择 5、10、20、25 mmol/L 4 种浓度的 MUA 溶液, 分别与 AuNIs 进行反应, 计算其相位变化。结果显示, MUA 溶液为 20、25 mmol/L 时与 AuNIs 的结合能力相近, 表明 MUA 在 20 mmol/L 时与 AuNIs 的反应达到饱和, 因此选择 20 mmol/L MUA 溶液进行后续实验。

为了评估 EDC 和 NHS 的最佳浓度, 考察了 MUA 改性后不同浓度的 EDC (0~0.4 mol/L) 与 NHS (0~0.15 mol/L) 的组合对传感器相位响应的影响。结果表明, 0.4 mol/L EDC 和 0.15 mol/L NHS 混合物的反应效果最佳。

为了选择最适合改性的酸/碱环境, 考察了 3 种不同 pH 值缓冲液 (pH 值分别为 3.5、4.7、5.7 和 7.4) 中 EDC/NHS (0.4 mol/L/0.15 mol/L) 的共价偶联反应。发现共价偶联反应在 pH 值为 4.7 和 3.5 时最为剧烈, pH 7.4 时反应最弱。由于 pH 值为 4.7 和 3.5 时的共价偶联反应强度几乎相当, 因此, 本文选择在 pH 4.7 的 MES 缓冲液中进行改性反应。

2.3 生物传感器的特异性测试

以苯胺、免疫球蛋白 G (IgG)、牛血清白蛋白 (BSA)、脂磷壁酸 (LTA)、酵母菌和枯草芽孢杆菌为干扰物, 考察了传感器对 GM 的感应特异性。苯胺中的氨基成分可能会与 NHS 的官能化琥珀酰亚胺酯发生反应, 而 IgG 和白蛋白是血清中的主要成分, LTA 则是革兰氏阳性细菌细胞壁的一种特殊成分。通过将 6 种不同性质的物质 (苯胺 1 $\mu\text{g/mL}$ 、IgG 1 $\mu\text{g/mL}$ 、BSA 10 $\mu\text{g/mL}$ 、LTA 1 $\mu\text{mol/L}$ 、酵母菌 1 $\mu\text{g/mL}$ 、枯草芽孢杆菌 50 cfu/mL) 以 1 mL 的体积注入反应仓, 发现 LSPR 的相位响应值分别为 (0.013 $\pm$ 0.001) rad、(0.028 $\pm$ 0.001) rad、(0.036 $\pm$ 0.005) rad、(0.037 $\pm$ 0.007) rad、(0.035 $\pm$ 0.006) rad 和 (0.018 $\pm$ 0.002) rad (图 4)。表明 AuNIs-GM 生物传感器对 GM 具有极好的特异性, 可用于 GM 的检测研究。

2.4 GM 的检测

以不含 GM 的生理盐水与 EDTA 的混合溶液作为评估系统稳定性和 LOD 的参照物。AuNIs-GM 传感器对 50~10 000 pg/mL 不同质量浓度的半乳甘露聚糖溶液的检测结果显示,当 AuNIs-GM 传感器捕获不同浓度的 GM 样品时,会产生连续的响应。该传感器对对照品的 LSPR 相位响应为 0.01 876 rad,标准偏差为 0.003 42 rad,其对 50~10 000 pg/mL GM 的 LSPR 相位响应分别为 (0.041±0.003 42) rad、(0.124 2±0.007) rad、(0.316±0.006) rad、(0.459±0.011) rad 和 (0.549±0.015) rad。对相位响应(γ)和 GM 的质量浓度(x , ng/mL)进行非线性曲线拟合,得到回归方程为 $\gamma=0.083\ 1\ln x-0.239\ 1$ ($r^2=0.959\ 2$),检测范围为 0.05~10 000 ng/mL。计算得到,GM 的 LOD 为 49.29 pg/mL,LOQ 为 303.25 pg/mL。

2.5 方法重复性

本方法的重复性分析结果如表 1 所示。对于不同质量浓度的 GM 标准溶液,其重复性(RSD)为 3.1%~4.3%,说明本方法重复性良好。

表 1 重复性实验结果($n=8$)

Table 1 Repeatability experiment results($n=8$)

GM concentration/(pg·mL ⁻¹)	Measured value/(pg·mL ⁻¹)				Average value/(pg·mL ⁻¹)	RSD/%
100	118.2	112.3	124.0	113.5	117.0±7.0	3.9
	118.2	123.1	110.9	116.0		
1 000	1 237.5	1 202.8	1 227.7	1 271.1	1 198.1±82.7	4.3
	1 115.4	1 205.2	1 209.0	1 116.1		
1 500	1 586.8	1 446.1	1 502.1	1 406.7	1 456.8±90.1	3.1
	1 428.0	1 402.0	1 453.9	1 468.5		

2.6 加标回收实验

为了验证该生物传感器的准确性和可靠性,采用胎牛血清进行加标回收实验。结果如表 2 所示,GM 在血清中的加标回收率为 91.6%~105%,RSD 为 0.55%~5.8%,说明本方法具有较高的准确性,可用于临床样品检测。

表 2 血清中 GM 的加标回收率($n=3$)

Table 2 Spiked recoveries of GM in serum($n=3$)

GM concentration/(pg·mL ⁻¹)	Measured value/(pg·mL ⁻¹)			Recovery/%	RSD/%
100	84.8	92.4	97.7	91.6	5.8
500	519.9	524.8	526.7	105	0.55
1 000	1 001.9	1 001.3	1 091.7	103	4.1

2.7 临床样本检测

为了验证所构建的方法用于实际样品 GM 检测的可行性和准确性。检测 10 份(7 份为曲霉菌病)患者的肺泡灌洗液,结果显示阳性患者的肺泡灌洗液样本均具有较强的相位响应(图 5),基于阴性患者的相位响应值,计算得到实际样本的检测截断值为 74.14 pg/mL(截断值=阴性样本平均值+3 倍标准偏差)。因此可将 10 例病例分为两个区域,阳性病例区域为>74.14 pg/mL,阴性病例区域为<74.14 pg/mL。医务人员可根据传感器测得的相位响应来判断病人是否感染曲霉菌。

将本方法与已报道的检测 GM 的方法进行对比(表 3)发现,均相光激化学发光免疫分析技术的检出限(0.032 ng/mL)与本研究在同一数量级,但均相光激化学发光免疫分析受体珠的功能化过程需要较长时间(在 37℃下孵育 24 h),不满足即时检测的需求;其次,该技术通过光敏剂和化学发光试剂放大信号,可能会引入干扰或误差。相比之下,本研究所使用的 LSPR 技术可以直接对样品进行检测,避免了外源试剂可能带来的干扰。此外,均相光激化学发光免疫分析技术的检测范围较窄,仅为 0.05~100

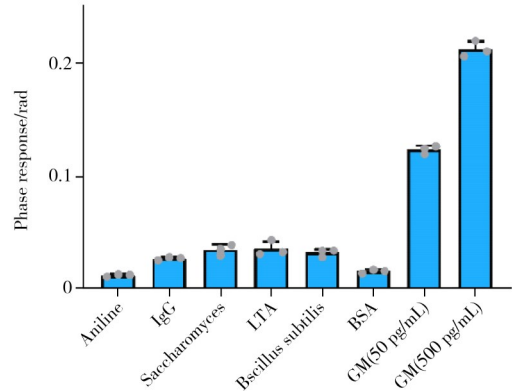


图 4 不同物质的相位响应($n=3$)

Fig. 4 Phase response of different compounds($n=3$)

ng/mL，而本研究搭建的 LSPR 传感器的检测范围更广，能够覆盖 0.05~10 000 ng/mL 范围。Raval 等^[22]使用点印迹免疫分析法对 GM 进行检测，其 LOD 达 0.001 ng/mL，灵敏度高于本方法，但样本为血液，而非肺泡灌洗液。诸多研究表明，支气管肺泡灌洗液(BALF)中的 GM 检测对 IPA 诊断具有较高的敏感性和特异性，血液样本限制了免疫印迹分析法的使用范围。且该文献未进行加标回收实验，缺乏准确性和可靠性验证。因此，LSPR 技术在即时检测、简化操作以及扩展检测范围方面具有明显优势。

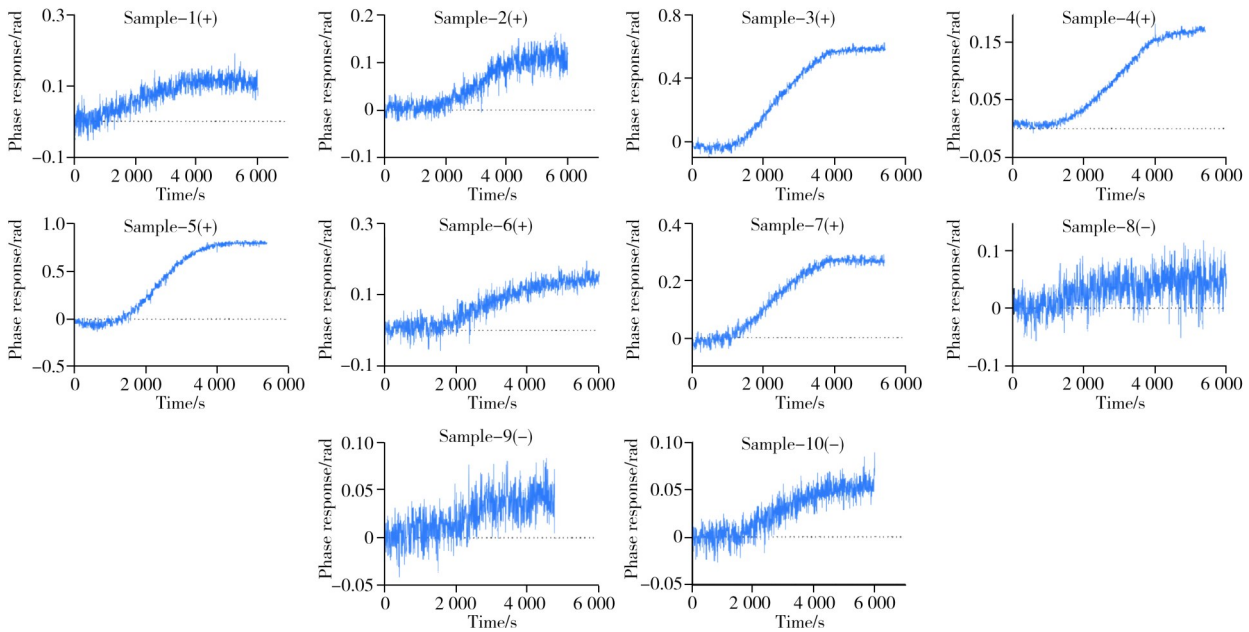


图 5 10 位患者肺泡灌洗液的相位响应
Fig. 5 Phase response of alveolar lavage fluid from patients with aspergillosis

表 3 不同方法检测 GM 的比较

Table 3 Comparison of different methods for GM detection

Analytical method	Sample	LOD/(ng·mL ⁻¹)	Recovery/%	Accuracy/%	Detection range/(ng·mL ⁻¹)	Reference
Time-resolved fluoroimmunoassay	GM antigen	1	—	96.9	—	[19]
Amplified luminescent proximity homogenous assay-linked immunosorbent assay	Serum	0.032	92.9~110	—	0.05~100	[20]
	BALF	—	—	88.7	—	[21]
Dynamiker <i>aspergillus</i> galactomannan assay	BALF	—	—	89.0	—	[22]
Dot-blot immunoassay	Serum	0.001	—	—	—	[22]
LSPR	BALF	0.049	91.6~105	—	0.05~10 000	This work

3 结 论

本文开发了一种基于 LSPR 的生物传感器，用于快速、特异、高灵敏度地检测 GM。该传感器能够在现场进行检测，操作简单，检出限为 49.29 pg/mL，且在 50~10 000 pg/mL 范围内具有显著的非线性相关性(相关系数为 0.959 2)。相比传统培养方法(3~7 天)，该传感器仅需 30 min 即可得出结果，显著缩短了检测时间，适用于临床中曲霉菌病的快速筛查。总体而言，该生物传感器具备较高的灵敏度和特异性，为曲霉菌病监测提供了有效解决方案。

参考文献：

[1] Ma L, Chen H W, Li X H, Wen Z G, Li C W. *Chin. J. Nosocomiol.* (马丽, 陈杭薇, 李雪辉, 文仲光, 李长伟. 中华医院感染学杂志), **2016**, 26(16): 3835-3837.

[2] Zhang X Y. *Epidemiology, Risk Factors, Clinical Characteristics and Outcome of Invasive Pulmonary Aspergillosis in Patients with Chronic and Acute Liver Failure*. Zhengzhou: Henan University(张湘漪. 慢加急性肝衰竭合并侵袭性肺曲霉菌病的流行病学、危险因素、临床特征及转归. 郑州: 河南大学), **2023**.

[3] Guo D J, Li P M, Chen W Q, Liu L H. *China Pharm.* (郭冬杰, 李朋梅, 陈文倩, 刘丽宏. 中国药房), **2023**, 34(20): 2519-2524.

[4] Russo A, Tiseo G, Falcone M, Menichetti F. *Infect. Dis. Ther.*, **2020**, 9(3): 511-524.

- [5] Verweij P E, Rijnders B J A, Brüggemann R J M, Azoulay E, Bassetti M, Blot S, Calandra T, Clancy C J, Cornely O A, Chiller T, Depuydt P, Giacobbe D R, Janssen N A F, Kullberg B J, Lagrou K, Lass-Flörl C, Lewis R E, Liu P W, Lortholary O, Maertens J, Martin-Loeches I, Nguyen M H, Patterson T F, Rogers T R, Schouten J A, Spriet I, Vanderbeke L, Wauters J, van de Veerdonk F L. *Intensive Care Med.*, **2020**, 46(8): 1524–1535.
- [6] Ma X Y, Yu S H. *J. Clin. Pathol. Res.* (马欣雨, 于世寰. 临床与病理杂志), **2020**, 40(6): 1584–1589.
- [7] Wang Y, Liu Z H, Wu S S, Bie F X, Zhang L. *J. Mudanjiang Med. Univ.* (王月, 刘子航, 吴珊珊, 别福鑫, 张丽. 牡丹江医学院学报), **2020**, 41(2): 147–149.
- [8] Moura S, Cerqueira L, Almeida A. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, **2018**, 37(8): 1393–1403.
- [9] Terrero-Salcedo D, Powers-Fletcher M V. *J. Clin. Microbiol.*, **2020**, 58(6): e01487–19.
- [10] Sun K D, Yu Z M, Yan Y Z. *Lab. Med.* (孙康德, 虞中敏, 严育忠. 检验医学), **2023**, 38(12): 1195–1197.
- [11] Park J H, Byun J Y, Mun H, Shim W B, Shin Y B, Li T, Kim M G. *Biosens. Bioelectron.*, **2014**, 59: 321–327.
- [12] Salale G G. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2022**, 414(24): 7103–7122.
- [13] Rasheed S, Ul Haq M A, Ahmad N, Sirajuddin H D. *Food Chem.*, **2023**, 429: 136925.
- [14] Qiu G, Ng S P, Wu C M. *Opt. Lett.*, **2015**, 40(9): 1924–1927.
- [15] Zhou W, Zhang W, Wang C, Zhao Z C, Wang Y T, Niu W C, Yue Z, Liu G H. *Chin. J. Sens. Actuators* (周伟, 张维, 王程, 赵子春, 王延涛, 牛文成, 岳钊, 刘国华. 传感技术学报), **2010**, 23(5): 630–634.
- [16] Qiu G, Ng S P, Wu C M. *Sens. Actuators B*, **2016**, 243: 247–254.
- [17] Feng Y L, Zhao Z, Liang H L, Wan H, Cui H R, Liu H W. *J. Instrum. Anal.* (冯雅岚, 赵钊, 梁花蕾, 万红, 崔海容, 刘虎威. 分析测试学报), **2024**, 43(12): 1986–1996.
- [18] Ma L, Zhao F D, Cao G Y, Xie M R, Liu Y, Xu J. *Chin. J. Nosocomiol.* (马蕾, 赵凤德, 曹冠亚, 解明然, 刘燕, 许靖. 中华医院感染学杂志), **2025**, 35(11): 1633–1637.
- [19] Wang W, Liu C, Zhang X, Yan J, Zhang J, You S, Su R, Qi W. *Anal. Biochem.*, **2024**, 689: 115494.
- [20] Guo Y, Li J. *Talanta*, **2022**, 243: 123392.
- [21] Tang X, Yang L, Zhang R, Fang H, Tang H, Xie Q, Wang H, Chen L, Yang Y. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **2024**, 110(1): 116420.
- [22] Raval K M, Ghormade V, Rajamohanan P R, Choudhary H, Rudramurthy S M, Chakrabarti A, Paknikar K. *J. Med. Microbiol.*, **2019**, 68(9): 1341–1352.

(责任编辑: 盛文彦)