

endothelial growth factor A[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(2): 2207-2214.

- [30] ZHU L, LIU R, ZHANG W, et al. MicroRNA-205 regulates ubiquitin specific peptidase 7 protein expression in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(3): 4652-4656.
- [31] LEE J T, GU W. The multiple levels of regulation by p53 ubiquitination[J]. *Cell Death Differ*, 2010, 17(1): 86-92.
- [32] COLLAND F. The therapeutic potential of deubiquitinating enzyme inhibitors[J]. *Biochem Soc Trans*, 2010, 38(1): 137-143.
- [33] LEE M H, LOZANO G. Regulation of the p53-MDM2 pathway by 14-3-3 sigma and other proteins[J]. *Semin Cancer Biol*, 2006, 16(3): 225-234.
- [34] SHAO P, QU W K, WANG C Y, et al. MicroRNA-205-5p regulates the chemotherapeutic resistance of hepatocellular carcinoma cells by targeting PTEN/JNK/ANXA3 pathway[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(9): 4300-4307.

[35] ZHANG J, SONG N, DUAN Z Q. Rs6265 polymorphism in brain-derived neurotrophic factor (Val/Val and Val/Met) promotes proliferation of bladder cancer cells by suppressing microRNA-205 and enhancing expression of cyclin J[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(5): 7297-7308.

[36] LI D W, WANG Q, LI N, et al. MiR-205 targets YAP1 and inhibits proliferation and invasion in thyroid cancer cells[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(2): 1674-1681.

[37] CHEN W, KONG K K, XU X K, et al. Downregulation of miR-205 is associated with glioblastoma cell migration, invasion, and the epithelial-mesenchymal transition, by targeting ZEB1 via the Akt/mTOR signaling pathway[J]. *Int J Oncol*, 2018, 52(2): 485-495.

[38] NAGAI H, HASEGAWA S, UCHIDA F, et al. MicroRNA-205-5p suppresses the invasiveness of oral squamous cell carcinoma by inhibiting TIMP2 expression[J]. *Int J Oncol*, 2018, 52(3): 841-850.

(收稿日期: 2019-09-26 修回日期: 2020-04-12)

• 综 述 •

## 寨卡病毒检测技术的研究进展\*

郑 茂 综述, 刘 晓<sup>△</sup>, 袁成良 审校

(四川省德阳市人民医院检验科, 四川德阳 618000)

**摘 要:** 寨卡病毒是一种经蚊媒传播的单链 RNA 病毒, 属于黄病毒科黄病毒属, 目前暂无靶向抗病毒药物及病毒疫苗。近年来, 全球范围内屡次暴发寨卡病毒疫情, 我国也陆续出现输入性感染病例, 已严重威胁公共安全。寨卡病毒的实验室检测主要包括病毒分离培养、血清学检测、核酸检测及生物传感器检测等, 该文就近年来寨卡病毒检测技术的研究进展进行综述。

**关键词:** 寨卡病毒; 早期感染; 检测技术; 酶联免疫吸附试验; 聚合酶链反应

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.12.026

**中图法分类号:** R511

**文章编号:** 1673-4130(2020)12-1515-05

**文献标识码:** A

## Research progress of Zika virus detection technology\*

ZHENG Mao, LIU Xiao<sup>△</sup>, YUAN Chengliang

(Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Deyang City, Deyang, Sichuan 618000, China)

**Abstract:** Zika virus is a single-stranded RNA virus transmitted by mosquitoes, which belongs to the flaviviridae flavivirus. Currently, there are no targeted antiviral drugs and virus vaccines. In recent years, there have been repeated outbreaks of Zika virus worldwide, and imported infection cases have also appeared in China, which has seriously threatened public safety. The laboratory detection of Zika virus mainly include virus isolation culture, serological detection, nucleic acid detection and biosensor detection. The paper reviews the recent research progress of Zika virus detection technology.

**Key words:** Zika virus; early infection; detection technology; enzyme-linked immunosorbent assay; polymerase chain reaction

寨卡病毒属于黄病毒科黄病毒属, 为单股正链 RNA 包膜病毒, 直径为 40~70 nm, 核酸长度约 10.7 kb, 分别编码 3 种结构蛋白(C、prM/M、E)和 7

种非结构蛋白(NS1、NS2a、NS2b、NS3、NS4a、NS4b、NS5)<sup>[1]</sup>。寨卡病毒进入人体后, 多以隐性感染为主, 引起低热、皮疹、结膜炎及关节肌肉痛等非特异性临

\* 基金项目: 四川省卫生健康委员会课题(18PJ579)。

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: liuxiao89@163.com。

本文引用格式: 郑茂, 刘晓, 袁成良. 寨卡病毒检测技术的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(12): 1515-1519.

床症状,易与登革热病毒、基孔肯雅热病毒感染等相混淆,早期诊断十分困难。寨卡病毒能通过胎盘和血脑屏障,孕妇感染后可能导致胎儿严重先天性缺陷,其中以新生儿小头畸形最为常见。宫内感染寨卡病毒可能会使胎儿神经发育迟缓,膀胱及肾脏发育不全,成人感染寨卡病毒可能会引起吉兰-巴雷综合征(GBS)。因此,建立灵敏且特异的寨卡病毒早期检测技术,对快速诊断病毒感染尤为必要,本文简要阐述了寨卡病毒的流行病学特征,并重点对近年来寨卡病毒的检测技术进行综述。

## 1 寨卡病毒感染的流行病学特征

寨卡病毒感染的患者或其他灵长类动物均可作为病毒传染源,通过蚊媒传播、母婴传播、性传播等方式扩散<sup>[2]</sup>。寨卡病毒最早于 1947 年在东非乌干达寨卡森林的恒河猴体内分离成功,并因此而得名,不久后在非洲、太平洋岛国等地区陆续出现人感染寨卡病毒报道;2007 年,在西太平洋的雅浦群岛出现首次寨卡病毒大范围疫情;2015 年 3 月,巴西发生史上最大规模的寨卡病毒暴发、流行,导致超过 20 万例患者感染,随后在南美洲迅速传播;2016 年 2 月 1 日,WHO 宣布寨卡病毒感染疫情已成为“国际关注的突发公共卫生事件”,并于 2016 年 11 月 18 日将其转为长期机制应对<sup>[2]</sup>。

2016 年 2 月,我国发现首例输入性寨卡病毒感染病例,随后广东、浙江、江苏、北京、河南等省市陆续报道了输入性病例,其中广东省出入境人流量巨大,是我国最主要的流行地区<sup>[3]</sup>。如果不及时控制输入性寨卡病毒疫情,极可能造成暴发、流行。根据寨卡病毒基因组序列的不同,将其分为亚洲型和非洲型,两种亚型同源性在 90% 左右。亚洲型寨卡病毒可导致新生儿小头畸形、成人 GBS 等严重疾病,尚未见非洲型寨卡病毒导致上述疾病的报道,我国目前分离的所有寨卡病毒株均为亚洲型,总体变异率不高<sup>[4]</sup>。

## 2 寨卡病毒检测技术

### 2.1 病毒分离培养

病毒分离培养是应用细胞组织培养技术从感染者血液、尿液、唾液、羊水、精液等各类标本中分离出病毒,被认为是实验室检测的“金标准”。寨卡病毒常用细胞培养、动物体内接种等方式进行分离。多种细胞系均适合于寨卡病毒的培养,如人胚肾细胞 HEK293、非洲绿猴肾细胞 Vero 等。动物体内接种是最早应用的病毒培养方法,将病毒接种于易感动物的皮下、腹腔、颅内等部位,从而实现病毒的快速增殖,我国报道的首例寨卡病毒即采用乳鼠颅内接种得以成功分离<sup>[5]</sup>。然而,寨卡病毒属于第 3 类病原体,其分离培养必须在二级生物安全实验室进行,故普通实验室难以开展。

80% 以上的寨卡病毒感染为隐性感染,送检的临床标本中病毒载量往往偏低,需要经过多次培养传代才可能分离到病毒。因此,病毒分离培养虽然特异度高,具有确诊意义,但灵敏度低、操作复杂、耗时长,难以实现大批量标本的快速检测,目前仅限于科研或其

他鉴定方法的复核。

### 2.2 血清学检测

#### 2.2.1 单克隆抗体检测

人体感染寨卡病毒 3~5 d 即可出现特异性 IgM 抗体,通过检测 IgM 抗体可对病毒感染进行早期诊断。IgG 抗体在血清中出现较晚,存在时间长,若 IgG 抗体检测阳性则可判断为再次感染或慢性感染。NS1 蛋白是寨卡病毒 7 种非结构蛋白中唯一能以可溶性六聚体形式分泌至感染者外周血,在感染早期即可出现且存在时间长的蛋白。BOSCH 等<sup>[6]</sup>采用重组 NS1 蛋白免疫小鼠筛选出一系列特异性抗体,建立了针对 NS1 抗原的快速检测试纸,灵敏度和特异度可分别达 81.0%、86.0%。KIM 等<sup>[7]</sup>进一步研发出寨卡病毒首个单克隆抗体快速检测试剂盒,作用靶点是 E 蛋白和 NS1 蛋白的 IgG 或 IgM 抗体,IgG 抗体的检测灵敏度和特异度分别为 99.0%、99.3%,IgM 抗体的检测灵敏度和特异度分别为 96.7%、98.7%,且与登革热病毒 IgG 和 IgM 抗体的交叉反应率仅为 16.7%、5.6%,可见该试剂盒使用简便,且灵敏度和特异度均较高。我国学者向梦蓉等<sup>[8]</sup>设计的 NS1 抗原免疫层析胶体金试纸可成功区分寨卡病毒和登革热病毒,同样具有较高的灵敏度和特异度。单克隆抗体检测技术日趋成熟,有望作为全球寨卡病毒流行地区的即时诊断和大规模筛查工具,但后期也仍需大量临床样本的持续验证试验。

#### 2.2.2 酶联免疫吸附试验(ELISA)

根据 ELISA 原理的不同可分为间接法、竞争法、双抗体夹心法等。ELISA 检测病毒感染的优点是成本低、易操作、对设备要求低、可广泛应用于基层实验室,故成为目前寨卡病毒最常见的血清学检测方法。ELISA 检测寨卡病毒的特异性靶位主要集中于 NS1 蛋白和 E 蛋白。研究显示,通过构建 NS1 基因的原核表达质粒,利用大肠杆菌表达重组 NS1 蛋白或构建 NS1 基因的真核表达载体,利用 HEK293F 细胞表达重组 NS1 蛋白纯化蛋白后免疫小鼠,均能制备出高纯度的抗 NS1 单克隆抗体<sup>[9-10]</sup>,这为建立 ELISA 检测方法提供了基础。

中国疾病预防控制中心的科研团队<sup>[11]</sup>选取寨卡病毒 4 种抗原(E 蛋白胞外区、NS1 蛋白、C 蛋白、rE III 蛋白)进行重组表达和纯化,以间接法检测相应的 IgG 抗体,发现 E 蛋白胞外区和 NS1 蛋白的检测灵敏度和特异度均达到较高水平,适合作为寨卡病毒的靶抗原。此外,该团队还发现以 NS1 蛋白作为检测抗原,采用间接法检测感染者血清、尿液和唾液标本中的 IgA 抗体,可以作为 IgG 抗体的替代指标<sup>[12]</sup>。新加坡生物工程与纳米技术研究所的科研团队<sup>[13]</sup>以单链 DNA 作为结合靶位点,建立了针对寨卡病毒 NS1 蛋白的 ELISA 双抗体夹心法,具有极高的灵敏度,检出限可低至 0.1 ng/mL。

E 蛋白是寨卡病毒感染和复制的必需蛋白质,参与病毒与宿主受体细胞的识别,具有 3 种不同结构域,包括  $\beta$  桶状的 I 区(E I)、参与 E 蛋白二聚体形成的 II 区(E II)及具有免疫球蛋白样结构的 III 区(E

III), 其中 E I / E II 可作为鉴定寨卡病毒的特异性 B 细胞表位<sup>[14]</sup>。柳红妙等<sup>[15]</sup>设计了一种检测寨卡病毒 E 蛋白的非包被 ELISA, 该方法与聚合酶链反应 (PCR) 检测结果基本一致, 且与登革热病毒无交叉反应, 在抗寨卡病毒药物筛选方面具有较强优势。

除了常见的 NS1 蛋白和 E 蛋白的检测外, 国外学者利用多肽微阵列的筛检方法发现寨卡病毒 NS2b 蛋白中 1 段 20 个氨基酸的多肽序列 (NS2b-20), 用于 ELISA 检测的灵敏度和特异度可达 96.0%、95.9%<sup>[16]</sup>。以该段特异性抗原多肽序列作为靶抗原, 我国学者王天禹等<sup>[17]</sup>建立了一种高通量、高灵敏度的荧光素酶免疫吸附试验 (LISA), 应用于寨卡病毒的 IgG 抗体检测, 为实现高通量自动化检测提供了基础, 适合寨卡病毒感染的免疫学诊断与流行病学调查。此外, 近期 PAWLEY 等<sup>[18]</sup>从巴西寨卡病毒感染患者中分离出一种特异性抗体, 可以直接结合寨卡病毒免疫显性表位, 从而设计出一种高效的 ELISA 检测方法, 适合多种体液标本检测, 如尿液、唾液、血清和全血, 其中尿液标本无基质效应且采集方便, 可作为优先检测标本。由此可见, 多种寨卡病毒靶抗原可以应用 ELISA 检测, 感染者的各类体液标本也适合作为检测对象, 有效拓展了血清学方法在病毒检测中的应用。

**2.2.3 中和试验** 中和试验是病毒与相应抗体结合后, 失去对易感动物致病力的试验方法, 主要检测待检标本中病毒特异性中和抗体的水平。蚀斑减少中和试验 (PRNT) 在检测寨卡病毒中和抗体方面的应用较为广泛。PRNT 以使蚀斑数减少 50% 的血清稀释度作为效价, 在确认病毒阳性标本上更具特异性。NASCIMENTO 等<sup>[19]</sup>报道 PRNT 尤其适合于寨卡病毒感染恢复期标本的特异性检测。因此, 美国疾病控制和预防中心 (CDC) 建议寨卡病毒 IgM 抗体 ELISA 检测阳性的血清标本应通过 PRNT 进行确认。

与病毒分离培养的优缺点相似, 虽然 PRNT 特异度高, 但试验过程非常耗时、耗力。为了弥补 PRNT 这一不足, KOISHI 等<sup>[20]</sup>研发了基于高通量图像荧光的寨卡病毒中和试验, 该方法检测速度更快, 并实现了多标本同时检测, 可用于寨卡病毒感染的临床诊断确认及临床疫苗研究。

**2.2.4 其他血清学检测技术** LAURI 等<sup>[21]</sup>报道了一种用于诊断寨卡病毒感染的新型血清学方法, 利用时间分辨荧光共振能量转移 (TR-FRET), 用两种发色基团分别标记 NS1 蛋白和细菌 L 蛋白, 再与特定分子蛋白结合。这种基于荧光共振能量转移 (FRET) 的血清学方法适用于诊断寨卡病毒感染, 并易与其他黄病毒感染进行鉴别。此外, 还有研究报道可通过流式细胞术鉴定血清中的寨卡病毒中和抗体<sup>[22]</sup>。

## 2.3 核酸检测

**2.3.1 反转录-PCR (RT-PCR)** 寨卡病毒感染者血液、尿液、唾液、精液、羊水或胎盘组织等标本中均可

检出病毒 RNA<sup>[23]</sup>。不同类型标本检出时间各有不同, 血清在病毒感染后 7 d 内可被检出, 尿液为 20 d 内, 精液可长达 60 d。RT-PCR 技术是从核酸水平检测病毒 RNA, 相对于病毒分离培养, 鉴定周期缩短。在患者感染早期, 特别是临床症状出现的 1 周内, 若检测到寨卡病毒 RNA 即可快速确诊<sup>[24]</sup>。但常规 RT-PCR 首先需要对病毒 RNA 进行反转录, 再进行目标基因扩增, 最后通过凝胶电泳分析扩增产物, 该方法操作较为烦琐, 只能对扩增产物进行半定量分析, 且易被污染, 假阳性率偏高, 目前已逐步被其他 PCR 技术代替。

**2.3.2 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR)** RT-qPCR 采用插入特异性荧光探针, 实现对病毒 RNA 的定量分析, 具有操作简便, 灵敏度、特异度高等特点, 无需对扩增产物进行后续分析, 故可有效避免人为操作带来的污染, 与常规 RT-PCR 相比, 极大提高了检测效率。在巴西东南部寨卡病毒流行区域, AYRES 等<sup>[25]</sup>通过 RT-qPCR 在埃及伊蚊、白纹伊蚊和库蚊中检测出寨卡病毒 RNA, 直接证实了蚊媒传播是寨卡病毒感染的主要途径。

RT-qPCR 根据采集荧光方法的不同主要分为染料法和探针法。染料法是利用某些荧光染料 (如 SYBR Green) 与双链 DNA 结合后荧光强度明显增强, 从而被荧光检测器检出。XU 等<sup>[26]</sup>通过优化基于 SYBR Green 探针的 PCR 引物设计后, 实现了 RT-qPCR 一步法检测寨卡病毒 RNA, 甚至可以检测低至 1 PFU/mL 滴度的寨卡病毒。探针法是能与目的片段特异性结合的荧光探针, 用相应酶水解探针后释放荧光, 从而实时定量扩增产物, 最为常用的是 TaqMan 探针。JUDICE 等<sup>[27]</sup>通过研发一种新型 TaqMan 探针, 使 RT-qPCR 在检测寨卡病毒 NS5 基因方面达到更高的灵敏度, 并且在血液和尿液标本中的检测结果高度一致。实验室内部核酸交叉污染可能导致检测结果呈假阳性, 为了提高寨卡病毒核酸检测的准确性, 也可对 E 基因、NS5 基因等多个分子靶位同时进行检测, 以涵盖寨卡病毒多个谱系。

赵航等<sup>[28]</sup>通过分析寨卡病毒全基因组核酸序列, 以 NS5 基因片段设计特异性引物, 构建重组质粒, 建立了基于 RT-qPCR 的寨卡病毒核酸检测的高灵敏度方法, 且该方法与登革热病毒、丙型肝炎病毒无交叉反应。此外, 针对亚洲型和非洲型寨卡病毒, 我国学者根据两种亚型病毒基因组序列特征, 分别设计了相应的 RT-qPCR 检测技术, 实现了对病毒载量的绝对定量, 可有效用于感染者的病原分型、早期诊断<sup>[29]</sup>。

针对 RT-qPCR 在极低寨卡病毒载量检测方面的不足, 南方医科大学研究团队<sup>[30]</sup>研发了一种微滴式数字 PCR, 在极低病毒载量的临床标本中也表现出较高的灵敏度和特异度。此外, 广东医科大学研究团队<sup>[31]</sup>对 PCR 操作过程进行简化, 自主研发了直接反转录定量 PCR (dirRT-qPCR), 无需对标本进行预处理, 可直接检测临床标本中的寨卡病毒 RNA, 检测限可低

至 95 个 RNA,且标本量仅需 5  $\mu\text{L}$ 。此外,dirRT-qPCR 具有高通量和即时诊断的能力,还可以扩展用于其他病毒检测,显现出床旁检测及快速现场筛查的巨大潜力。

**2.3.3 其他基因扩增技术** 近年来,在传统 RT-PCR 基础上,科学家们研发出了一系列高效、灵敏的基因扩增技术,如链侵入式扩增技术、环介导恒温扩增(LAMP)技术等,其中又以 LAMP 技术应用较为广泛。LAMP 技术是在单一恒定温度下(通常为 65  $^{\circ}\text{C}$ ),使用 4~6 个引物,通过链置换 DNA 聚合酶快速扩增获得新 DNA,在 1 h 内即可完成检测<sup>[32]</sup>,且该方法仅需一台普通加热仪,可用于快速检测及在一些资源匮乏地区对病毒的实时监测。钟响等<sup>[33]</sup>针对寨卡病毒 NS5 基因设计并筛选的 LAMP 引物可在 64  $^{\circ}\text{C}$  50 min 内特异性扩增 NS5 基因,并且与基孔肯雅热病毒、登革热病毒、黄热病毒均无交叉反应,检测限达 10 copy/ $\mu\text{L}$ ,是普通 PCR 的 100 倍,可见改进后的 LAMP 技术的灵敏度得到大幅提升。近期,EST-RELA 等<sup>[34]</sup>在 Bst DNA 聚合酶基础上,进一步优化 LAMP 技术检测条件,将寨卡病毒检测时间缩短至 10 min。对于寨卡病毒感染的急性期,CASTRO 等<sup>[35]</sup>报道还可通过 LAMP 技术检测感染者唾液标本,从而实现快速诊断。

**2.4 生物传感器检测** 生物传感器是一种将生物元件与被测物质相互作用所产生的物理化学效应转变为电信号进行检测的仪器。随着计算机软件模拟技术的迅速发展,生物传感器技术已扩展到了病毒早期诊断的领域。MOCO 等<sup>[36]</sup>使用石墨电极平台研发了一种电化学生物传感器,检测寨卡病毒 RNA 仅需 20 min,检测限达 1.72 copy/mL,且该传感器在 60 d 内均具有良好的稳定性。也有学者使用表面印迹聚合物和氧化石墨烯复合材料,研发出新型寨卡病毒电化学生物传感器,检测限甚至可达到 RT-qPCR 的水平<sup>[37]</sup>。有文献报道了一种基于芯片的电位传感器,采用 3D 分子印迹技术可快速检测缓冲液中低至 10 PFU/mL 滴度的寨卡病毒<sup>[38]</sup>。

此外,针对寨卡病毒 NS1 蛋白,TAKEMURA 等<sup>[39]</sup>研发出一种等离子体共振放大免疫荧光生物传感器,可实现快速检测。类似研究中,ZHANG 等<sup>[40]</sup>还报道了一种基于生物检测信号的新型乳液凝集试验,该试验简便、廉价,适合于寨卡病毒 NS1 蛋白的现场检测。

### 3 结 语

寨卡病毒是黄病毒属中第一个被报道能通过母婴传播、性传播的病毒。目前国内外尚无抗寨卡病毒感染的靶向药物,病毒疫苗也仍处于临床试验阶段。因此,建立经济、快速、特异度高的寨卡病毒检测方法,对病毒感染的早期诊断尤为重要。病毒分离培养虽然是实验室检测的“金标准”,但培养要求高,应用极为局限,常规条件下难以开展,故普通实验室多通过血清学或核酸检测寨卡病毒感染。血清学方法操

作简便、成本低廉、易于推广,但仍存在一定程度的假阴性及与其他黄病毒属的交叉反应,故常将其与 PCR 技术联合应用,从而提高寨卡病毒的诊断效能。新兴的生物传感器技术,虽然初期检测寨卡病毒灵敏度方面与 PCR 技术相比尚有一定差距,但随着该技术的日益发展,目前其检测限已达到实验室的常规要求,且其快速和高通量检测潜力是常规方法无法比拟的,应用空间极为广阔,有望取代现有的主流检测技术。随着病毒检测技术及病毒基因组学的蓬勃发展,寨卡病毒在不远的将来也能实现可预防、可控制、易治疗。

### 参考文献

- [1] AGRELLI A, MOURA R R, CROVELLA S, et al. Mutational landscape of Zika virus strains worldwide and its structural impact on proteins[J]. *Gene*, 2019, 708: 57-62.
- [2] BAUD D, GUBLER D J, SCHAUB B, et al. An update on Zika virus infection[J]. *The Lancet*, 2017, 390(10107): 2099-2109.
- [3] SUN J, WU D, ZHONG H, et al. Returning ex-patriot Chinese to Guangdong, China, increase the risk for local transmission of Zika virus[J]. *J infection*, 2017, 75(4): 356-367.
- [4] 刘荣飞, 郭中敏, 吴建勇, 等. 中国寨卡病毒分离株 E 基因 B 细胞抗原表位多态性分析[J]. *热带医学杂志*, 2019, 19(2): 133-137.
- [5] 吴德, 谈琦琪, 孙九峰, 等. 我国首例寨卡病毒的分离与鉴定[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2016, 36(4): 247-251.
- [6] BOSCH I, DE PUIG H, HILEY M, et al. Rapid antigen tests for dengue virus serotypes and Zika virus in patient serum[J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(409): 1589-1601.
- [7] KIM Y H, LEE J, KIM Y E, et al. Development of a rapid diagnostic test kit to detect IgG/IgM antibody against Zika virus using monoclonal antibodies to the envelope and non-structural protein 1 of the virus[J]. *Korean J Parasitol*, 2018, 56(1): 61-70.
- [8] 向梦蓉, 郭文靖, 温莺芬, 等. 寨卡病毒感染早期快速抗原检测方法的建立[J]. *热带医学杂志*, 2019, 19(4): 413-416.
- [9] 赵亨亨, 徐叶, 廖昱晶, 等. 寨卡病毒 NS1 蛋白的原核表达和单克隆抗体的制备[J]. *中国人兽共患病学报*, 2019, 35(3): 196-200.
- [10] 刘静娟, 曾晓燕, 史凤娟, 等. 寨卡病毒非结构蛋白 1 的真核表达纯化和免疫反应性鉴定[J]. *现代预防医学*, 2018, 45(17): 3165-3167.
- [11] 茆为, 邢骏跃, 张全福, 等. 寨卡病毒 IgG 抗体间接 ELISA 检测方法的初步建立[J]. *病毒学报*, 2017, 33(2): 253-257.
- [12] 茆为, 张全福, 李阿茜, 等. 寨卡病毒感染者血液、尿液和唾液中 IgA 抗体水平初步研究[J]. *病毒学报*, 2018, 34(3): 304-309.
- [13] LEE K H, ZENG H Q. Aptamer-based ELISA assay for highly specific and sensitive detection of Zika NS1 protein[J]. *Anal Chem*, 2017, 89(23): 12743-12748.
- [14] AMRUN S N, YEE W X, ABU B F, et al. Novel differential linear B-cell epitopes to identify Zika and dengue virus

- infections in patients[J]. *Clin Transl Immunology*, 2019, 8(7):e1066.
- [15] 柳红妙,周炜烽,廖晖,等.非包被 ELISA 可检测寨卡病毒包膜蛋白[J].南方医科大学学报,2019,39(6):699-704.
- [16] MISHRA N, CACIULA A, PRICE A, et al. Diagnosis of Zika virus infection by peptide array and enzyme-linked immunosorbent assay[J]. *mBio*, 2018, 9(2):e00095.
- [17] 王天禹,芑为,邓瑶,等.基于寨卡病毒 NS2B 蛋白特异抗原多肽的荧光素酶免疫吸附法检测寨卡病毒抗体[J].病毒学报,2019,35(3):396-401.
- [18] PAWLEY D C, RICCIARDI M J, DIKICI E, et al. Highly sensitive and selective direct detection of Zika virus particles in human bodily fluids for accurate early diagnosis of infection[J]. *ACS Omega*, 2019, 4(4):6808-6818.
- [19] NASCIMENTO E J M, BONAPARTE M I, LUO P, et al. Use of a blockade-of-binding ELISA and microneutralization assay to evaluate Zika virus serostatus in dengue-endemic areas[J]. *Am J Trop Med Hyg*, 2019, 101(3):708-715.
- [20] KOISHI A C, SUZUKAWA A A, ZANLUCA C, et al. Development and evaluation of a novel high-throughput image-based fluorescent neutralization test for detection of Zika virus infection[J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2018, 12(3):e0006342.
- [21] LAURI K, SATU H, EILI H, et al. Immunoassay for serodiagnosis of Zika virus infection based on time-resolved forster resonance energy transfer[J]. *PLoS One*, 2019, 14(7):e0219474.
- [22] FRUMENCE E, VIRANAICKEN W, GADEA G, et al. A GFP reporter MR766-based flow cytometry neutralization test for rapid detection of Zika virus-neutralizing antibodies in serum specimens[J]. *Vaccines (Basel)*, 2019, 7(3):e66-e75.
- [23] MANSUY J M, LHOMME S, CAZABAT M A, et al. Detection of Zika, dengue and chikungunya viruses using single-reaction multiplex real-time RT-PCR [J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2018, 92(4):284-287.
- [24] LANDRY M L, GEORGE K. Laboratory diagnosis of Zika virus infection[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2017, 141(1):60-67.
- [25] AYRES C F J, GUEDES D R D, PAIVA M H S, et al. Zika virus detection, isolation and genome sequencing through Culicidae sampling during the epidemic in Vitória, Espírito Santo, Brazil[J]. *Parasit Vectors*, 2019, 12(1):220-225.
- [26] XU M Y, LIU S Q, DENG C L, et al. Detection of Zika virus by SYBR green one-step real-time RT-PCR[J]. *J Virol Methods*, 2016, 236(10):93-97.
- [27] JUDICE C C, TAN J J, PARISE P L, et al. Efficient detection of Zika virus RNA in patients' blood from the 2016 outbreak in Campinas, Brazil[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):4012-4018.
- [28] 赵航,李玉佳,李世林,等.寨卡病毒荧光定量 PCR 检测方法的建立与验证[J].中国输血杂志,2019,32(2):127-132.
- [29] 陈嘉雯,覃直然,彭淑莹,等.非洲型寨卡病毒实时荧光定量 PCR 检测技术的建立[J].现代预防医学,2018,45(22):4135-4138.
- [30] HUI Y, WU Z M, QIN Z R, et al. Micro-droplet digital polymerase chain reaction and real-time quantitative polymerase chain reaction technologies provide highly sensitive and accurate detection of Zika virus[J]. *Virol Sin*, 2018, 33(3):270-277.
- [31] LI L, HE J A, WANG W, et al. Development of a direct reverse-transcription quantitative PCR (dirRT-qPCR) assay for clinical Zika diagnosis[J]. *Inter J Infect Dis*, 2019, 85(6):167-174.
- [32] CALVERT A E, BIGGERSTAFF B J, TANNER N A, et al. Rapid colorimetric detection of Zika virus from serum and urine specimens by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP)[J]. *PLoS One*, 2017, 12(9):e185340.
- [33] 钟响,刘鹏,高娟娟,等.环介导恒温扩增法快速检测寨卡病毒[J].中国国境卫生检疫杂志,2018,41(5):309-313.
- [34] ESTRELA P F, MENDES G M, DE OLIVEIRA K G, et al. Ten-minute direct detection of Zika virus in serum samples by RT-LAMP[J]. *J Virol Methods*, 2019, 271:113675.
- [35] CASTRO T, SABALZA M, BARBER C, et al. Rapid diagnosis of Zika virus through saliva and urine by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) [J]. *J Oral Microbiol*, 2018, 10(1):1510712.
- [36] MOCO A C R, GUEDES P H, FLAUZINO J M R, et al. Electrochemical detection of Zika virus in biological samples: a step for diagnosis point-of-care[J]. *Electroanalysis*, 2019, 31(8):102-110.
- [37] TANCHAROEN C, SUKJEE W, THEPPARIT C, et al. An electrochemical biosensor based on surface imprinting for Zika virus detection in serum[J]. *ACS Sensors*, 2019, 4(1):69-75.
- [38] RICOTTA V, YU J, CLAYTON N, et al. A chip-based potentiometric sensor for a Zika virus diagnostic using 3D surface molecular imprinting[J]. *Analyst*, 2019, 144(14):4266-4280.
- [39] TAKEMURA K, ADEGOKE O, SUZUKI T, et al. A localized surface plasmon resonance-amplified immunofluorescence biosensor for ultrasensitive and rapid detection of nonstructural protein 1 of Zika virus[J]. *PLoS One*, 2019, 14(1):e0211517.
- [40] ZHANG Q F, ZEININGER L, SUNG K J, et al. Emulsion agglutination assay for the detection of protein-protein interactions: an optical sensor for Zika virus[J]. *ACS Sensors*, 2019, 4(1):180-184.