

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2018.11.018

· 综述 ·

## 基于微流控纸芯片的病原体检测方法研究进展

# Advances in pathogen detection methods based on microfluidic paper-based analytical device

王丹丹(WANG Dan-dan)<sup>1</sup>, 郑国侠(ZHENG Guo-xia)<sup>2</sup>, 王云华(WANG Yun-hua)<sup>1</sup>

(1 大连大学医学院, 辽宁 大连 116622; 2 大连大学环境与化学工程学院, 辽宁 大连 116622)

(1 Medical College of Dalian University, Dalian 116622, China; 2 Environmental and Chemical Engineering College of Dalian University, Dalian 116622, China)

[关键词] 微流控纸芯片; 病原体; 检测

[中图分类号] R446 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9638(2018)11-1028-05

病原体的快速检测和准确鉴定在临床实验室检测、食品工业和环境监测方面至关重要, 现有的细菌培养、核酸扩增和酶联免疫等病原体诊断方法或耗时费力, 或需要复杂的仪器设备, 不适合现场即时检测, 因此, 目前亟需一种快速有效检测病原体的新方法。

微流控纸芯片逐渐成为检测病原体感染的新工具, 纸基微流控芯片(paper-based microfluidics)或微流控纸基分析设备(microfluidic paper-based analytical device,  $\mu$ PADs)简称纸芯片, 是由 Martinez 等<sup>[1]</sup>在 2007 年首次提出, 其用纸张作为基底代替硅、玻璃、高聚物等材料, 在纸上加工出具有一定结构的亲疏水微细通道网络及相关分析器件, 构建“纸上微型实验室”, 可用于尿、唾液、血等多种物质的分析与检测, 为早期诊断和早期治疗提供了平台。纸芯片成本低, 制作简单, 携带方便, 可在现场采样并迅速检测分析, 实现真正意义上的即时检测(point-of-care testing, POCT)。本文旨在介绍微流控纸芯片的病原体检测方法和纸芯片微流控技术的发展前景。

目前, 纸芯片应用研究主要集中于医学、生物学和环境监测<sup>[2]</sup>, 根据检测原理可以把纸芯片病原体检测分为四类: 比色检测、荧光检测、化学发光检测

和电化学发光检测。

### 1 基于比色检测法的微流控纸芯片

比色检测法是目前纸芯片分析研究中最常见的检测方法, 通过显色反应使待检测组分转化为有颜色的物质, 这种检测既可直接通过肉眼辨别实现定性检测, 也可采用数码相机或智能手机拍照、扫描仪扫描成图像, 利用颜色深度与待测组分浓度的相关性来实现半定量或定量检测。比色检测根据标记物的不同可分为纸基-酶联免疫吸附实验(P-ELISA)、胶体金相关纸芯片、其他比色法纸芯片。

1.1 P-ELISA P-ELISA 将 ELISA 的灵敏性和特异性与低成本、易使用的纸张平台相结合, 在纸上制作 96 微孔板进行检测。早在 2010 年, Cheng 等<sup>[3]</sup>首次用 P-ELISA 方法检测血清样品中的人类免疫缺陷病毒, 研究表明 P-ELISA 比传统 ELISA 法更快更便宜, 但灵敏度稍差。随着检验技术的进步, 目前 P-ELISA 不仅缩短了时间, 而且提高了灵敏度。Khan 等<sup>[4]</sup>利用 P-ELISA 检测 T 7 噬菌体, 可在 30 min 内得出检测结果, 检测范围为  $10^0 \sim 10^9$  PFU/mL, 而传统 ELISA 法检测时间多达几小时, 检测范围为  $2 \times 10^5 \sim 2 \times 10^7$  PFU/mL。Larsson 等<sup>[5]</sup>在改进的

[收稿日期] 2017-11-10

[基金项目] 国家自然科学基金(81471807, 41476085)

[作者简介] 王丹丹(1992-), 女(汉族), 山东省烟台市人, 硕士研究生, 主要从事微流控病原体检测研究。

[通信作者] 王云华 E-mail: yunhua1977@126.com

滤纸上检测 M13 噬菌体,其中聚电解质多层 (PEM)由丙烯酸(PAA)和烯丙胺盐酸盐(PAH)组成,有利于病毒的静电吸附,该方法的检测时间 <2 h,检测限可达到  $5 \times 10^4$  PFU/mL,而传统夹心 ELISA 法检测时间至少 3 ~ 4 h,检测限为  $10^7$  PFU/mL。

纸芯片在酶联免疫方面的改进不仅体现在缩短检测时间和提高检测灵敏度,还体现在简化操作步骤并实现了自动化控制。Sanjay 等<sup>[6]</sup>开发了一种简单的小型化纸/PMMA(聚甲基丙烯酸甲酯)混合微流控微孔板,用于在不发达地区定量检测免疫球蛋白 G(IgG)和乙肝表面抗原(HBsAg),该方法使用流通微孔中的多孔纸,有助于抗体/抗原固定化和有效洗涤,纸张表面不需其他化学修饰,此外,顶端试剂输送通道可以简单地将试剂转移至多个微孔中,避免重复的手动移液或使用昂贵的机器人,实现自动化控制。

**1.2 胶体金相关纸芯片** 胶体金是金盐被还原成金原子后形成的金颗粒悬液,在病原体检测中常作为示踪标记物或显色剂。Lei 等<sup>[7]</sup>在纸芯片上通过胶体金标记抗体实现对甲型 H1N1 和 H3N2 流感病毒的检测和亚型分析,纸张经壳聚糖修饰,在反应中加入金增强(GE)试剂,使得每个检测区域只需加入 5  $\mu$ L 样品即可在 1 h 内完成流感病毒检测,检测限 H1N1 为  $2.7 \times 10^3$  PFU/mL, H3N2 为  $2.7 \times 10^4$  PFU/mL,在临床检测中要达到相同检测限的 RT-PCR 耗时 6 h。另外,该方法可从感染细胞的裂解物和临床样品中检测流感病毒,进一步证实了基于纸张的免疫测定的可靠性。

胶体金免疫层析法在纸芯片病原体检测中有很多研究。Fu 等<sup>[8]</sup>介绍了一种全自动扩增的二维纸网络测定法,该方法用来检测疟疾蛋白 PfHRP2,其纸芯片能够实现胶体金信号放大,试剂与样品同步输送,检测限为  $(2.9 \pm 1.2)$  ng/mL,是未用信号放大试剂  $(10.4 \pm 4.4)$  ng/mL 的 1/4,与传统 ELISA 法的检测限相当。Khan 等<sup>[9]</sup>利用抗体偶联金纳米颗粒检测霍乱毒素,根据吸光度比(A605/A523)的变化对霍乱毒素浓度进行定量分析,利用动态光散射(DLS)测量金纳米颗粒的大小,确认比色法的结果。另外,金颗粒的聚集导致可见的颜色变化,实现目测霍乱毒素浓度低至 10 nmol/L,低于先前报道的比色法的目测浓度(54 nmol/L)<sup>[10]</sup>。

胶体金标记的核酸杂交技术与纸芯片结合提供了新的病原体检测平台。以结核分枝杆菌检测为例,

Veigas 等<sup>[11]</sup>将胶体金探针与特定 DNA 靶序列杂交,通过减少胶体金颗粒的偶联使颜色保持红色,从而区分靶序列与非互补序列。该芯片将这种比色测定法整合到 384 微孔板上,用智能手机量化纸的颜色变化,将数据传输至异地进行处理,可在 2 h 内筛选结核分枝杆菌的核酸分子,每个检测加样量为 5  $\mu$ L,少于在塑料材质上 15  $\mu$ L 的加样量,但经巯基修饰的 ssDNA 序列通过 Au-S 键形成的胶体金探针制备过程需专业人员操作且耗时长。因此,Tsai 等<sup>[12]</sup>通过未修饰的金纳米颗粒和单链寡核苷酸杂交实现快速诊断,利用盐诱导的胶体金溶液检测结核分枝杆菌的 DNA 序列,不需要多个 PCR 循环扩增特异性 DNA 靶序列,无需复杂且耗时的硫醇化或其他表面修饰的制备探针的过程,制作方法简单快捷,该设计可以检测到浓度为 2.6 nmol/L 的结核分枝杆菌靶序列,检测时间约为 1 h,低于传统检测方法(痰涂片镜检、结核分枝杆菌培养和分子种类诊断)的检测时间。

**1.3 其他比色法纸芯片** 除了 P-ELISA、胶体金相关纸芯片之外,还有用其他比色法检测病原体的纸芯片。Murdock 等<sup>[13]</sup>在不同的缓冲液条件下,基于纸张平台进行酶底物反应,通过颜色变化定性检测甲型和乙型流感病毒,通过观察样品是否受抗病毒药物(如达菲)的影响,实现了同步检测流感病毒的耐药性。Jokerst 等<sup>[14]</sup>在滤纸上检测食品样品中的大肠埃希菌 O157:H7、单核细胞增多性李斯特菌和鼠伤寒沙门菌,利用物种特异性酶与底物的相互作用,由不同颜色变化确定三种病原菌的存在,8 ~ 12 h 内可检测浓度为 10 CFU/cm<sup>2</sup> 的致病菌,低于文献<sup>[15]</sup>报道的最低限值(100 CFU/cm<sup>2</sup>),而检测食源性细菌的金标准细菌培养法需要耗时 5 ~ 7 d,因此该设计为准确简便地检测多种病原菌提供了可能。

## 2 基于荧光检测法的微流控纸芯片

荧光检测法的原理是基于蛋白质、DNA 以及氨基酸等生化样品本身有荧光,或者可以用荧光试剂标记,激光诱导荧光进行测定,荧光强度与入射光强度、量子效率、样品浓度成正比。在微流控纸芯片检测中,荧光检测法的灵敏度高于比色检测法。Cho 等<sup>[16]</sup>通过角度特异性米氏散射量化免疫凝集的程度,用智能手机检测绿色荧光信号,在纸芯片上实现病原菌的免疫凝集检测,总测定时间 <30 s,该研究

中大肠埃希菌 K12 和淋病奈瑟球菌的检出限均为 10 CFU/ mL, 低于市售的淋病快速试剂盒检出限 (10<sup>6</sup> CFU/mL) 和大肠埃希菌检测条 (亚硝酸盐检测条) 的检出限 (10<sup>6</sup> CFU/mL)。Miranda 等<sup>[17]</sup> 用荧光标记的多克隆抗体作为识别器早期诊断大豆锈病, 该免疫传感器具有高度特异性和敏感性, 检测时间明显少于 ELISA 和 PCR 法, 检测限低至 2.2 ng/mL, 与 ELISA 和 PCR 检测方法的检测限相当, 是免疫层析法的 1/100。

将纸 (或膜) 提前用融合蛋白处理比将抗体直接包被在纸 (或膜) 上的灵敏度高。Rosa 等<sup>[18]</sup> 介绍了将具有融合蛋白的抗体锚定在纸上捕获荧光素标记的 DNA 链和杂交体的方法, 其中碳水化合物结合模块 (CMB) 与葡萄球菌蛋白 A 的 ZZ 片段形成 CBM-ZZ 构建体, 通过识别 IgG 抗体的 Fc 段, 促进纤维素素固定蛋白, 该芯片可以检测 ESAT-6 (一种编码来自结核分枝杆菌分泌蛋白的基因) 的寡核苷酸序列。

Funes-Huacca 等<sup>[19]</sup> 将纸张、胶带与透氧不透水的聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 膜相结合制出一款纸芯片, 该芯片模拟细菌的生长环境, 使用平板扫描仪或手机相机量化具有荧光标记的细菌增殖, 该方法大肠埃希菌的检测限低至 1~10 CFU/100  $\mu$ L, 可用于不发达地区的现场测试和农场中动物健康测试等。Lo 等<sup>[20]</sup> 通过使用商业化的荧光探针 (标记双链 DNA) 与 DNA 相结合, 在纸张上检测登革热, 对纸芯片上的荧光环介导逆转录等温扩增 (RT-LAMP) 产物进行量化分析, 为开发基于纸芯片的体外早期登革热诊断装置提供了依据。

Kurdekar 等<sup>[21]</sup> 开发基于碳量子点的免疫纸芯片用于快速检测 HIV-1 p24 抗原, 碳量子点在光激发下自发荧光, 光学稳定性强, 与有机荧光体相比, 量子点具有简单、便宜、抗漂白及低毒等特点, 将制备简单的纸芯片与高度特异的碳量子点相结合, 用于早期 HIV 感染的快速筛查。

### 3 基于化学发光检测法的微流控纸芯片

化学发光是根据化学反应在某个时刻发射的光强度来确定反应中某一组分浓度的方法, 不需任何外加光源。化学发光检测法可以与纸芯片相组合, 建立廉价和高敏感的新型化学发光生物传感器。Wang<sup>[22]</sup> 用 N, N-二琥珀酰亚胺基碳酸酯 (DSC) 制备 DNA 传感器, 将传感器共价固定在纸芯片上捕

获 DNA, 核酸杂交反应后, 在 DNA 生物传感器上捕获碳量子点标记的 DNA 信号, 高锰酸钾将空穴注入到碳点中, 高能带中的电子与氧化剂注入空穴湮灭产生化学发光信号, 最终通过分析化学发光信号的强度定量检测目标 DNA, 该方法灵敏度可达到  $8.56 \times 10^{-19}$  mol/L, 但超弱发光分析仪检测器价格昂贵, 不适合现场即时检测。Liu 等<sup>[23]</sup> 首先提出了电荷耦合器件 (CCD) 传感器与纸芯片化学发光检测的综合应用, 开发了一种新型的纸基微流体化学发光 DNA 生物传感器, 通过 DNA 探针和生物素标记的 DNA 链的杂交反应检测李斯特菌的 DNA 片段, 使用低成本的 CCD 成像装置作为检测器检测发光信号, 该方法所提供的 DNA 生物传感器分析性能好, 且有助于在纸芯片上实现简单、低成本和便携式的化学发光检测, 其检测范围为  $1.94 \times 10^{-1} \sim 1.94 \times 10^4$  pmol/L, 检测限为  $6.3 \times 10^{-2}$  pmol/L, 检测限比具有 CCD 检测器的其他微流控电化学 DNA 测定的检测限低 3~5 个数量级。

### 4 基于电化学发光检测法的微流控纸芯片

电化学发光法是在化学发光和电化学基础上发展起来的一种新的分析方法, 是通过电驱动促使某些物质发生电化学反应形成激发态, 并通过辐射光子返回基态, 并对发光强度进行测量的一种分析方法, 与化学发光传感器相比, 电化学发光生物传感器背景信号低、分析物范围广、灵敏度高、利于实现多重检测, 减少样品消耗, 提高空间分辨率, 降低操作复杂度, 缩短测定时间, 提高样品通量<sup>[24-25]</sup>。Feng 等<sup>[26]</sup> 制造了 IA 型一次性纸基还原双极电极 (BPE) 阵列检测多种病原体 DNA, 组装在 BPE 阴极上的发夹结构 DNA 与互补靶 DNA 结合, 与铂纳米颗粒 (PtNPs) 标记的探针 DNA 杂交, 经 PtNPs 催化的氧气被还原产生电化学发光信号, 这种基于纸张的 BPE 阵列传感器实现了对梅毒螺旋体基因、免疫缺陷病毒基因和乙型肝炎病毒基因的多重分析。

### 5 结语

纸芯片制作简单, 便携性好, 样品用量少, 成本低及易集成化等, 其研究及应用日益受到关注。基于比色法检测的纸芯片易于操作并可直接读出信号, 是最常见的检测手段, 但其应用常受到低灵敏度的限制; 荧光检测较比色法具有更高的灵敏

度<sup>[18, 27]</sup>,但存在严重背景荧光和纸的光散射问题,使测定很难直接在纸芯片上进行。化学发光法不需外加光源,灵敏度较高,仪器设备简单,易于实现微型化和集成化,但需黑暗的检测环境,且大多数检测器价格昂贵,寻求低成本的检测器依旧是研究的关键。电化学发光方法简单,灵敏度高,易于定量,环境光独立以及纸张干扰低等,逐步被应用于纸芯片,但电化学发光纸芯片几乎所有现有器件都需要昂贵的恒电位仪,将电极添加到检测区域会增加复杂性和每次测试的成本,发展基于纸芯片平台的低成本的检测设备和纸芯片制备方法是该领域的重要研究方向。见表 1。

表 1 四种微流控纸芯片检测方法的特点

检测方法	优点	缺点	研究方向
比色检测	简单,易操作	低灵敏度	提高检测灵敏度
荧光检测	较高灵敏度	有背景荧光和纸的光散射	降低背景荧光
化学发光检测	低背景,较高灵敏度,设备简单,易于自动化	需要黑暗的检测环境,大多数检测器价格昂贵	寻求低成本的检测器
电化学发光检测	高灵敏度,易于定量,环境光的独立性以及纸张干扰程度低	芯片制作较复杂,成本较高	发展低成本的检测设备,优化纸芯片制备方法

近几年纸芯片的研究逐年增加,但其商业化过程依然存在较多问题。现有研究中经常忽视不同测试条件(如温度、湿度、环境光、样品基质的复杂度)下的性能分析,而这些对纸芯片的现场即时检测非常重要,该方法的稳定性和干扰因素研究是推动病原体检测纸芯片发展的关键问题之一。纸芯片作为一种微全分析系统,其在样品的分离、富集、反应、检测方面的功能并不是很完备,尤其对于复杂多体系的组分很难实现同步检测,研发纸芯片同步相应检测方法,实现对复杂多体系组分的检测也是日后的研究方向。为了改善纸芯片的分析性能,往往涉及到多种化学试剂的使用和多步预处理操作,这增加了检测流程的复杂性,实现检测流程标准化也是研究的一个方向。

Kumar 等<sup>[28]</sup>的报告阐述了目前纸芯片发展大多停留在实验室研究阶段,少有纸芯片真正应用于现场即时检测。因此,随着该领域的快速发展,我们通过运用各种技术手段,着力于纸芯片的实际应用,使得未来纸芯片的发展拥有更大的影响力。

[参考文献]

[1] Martinez AW, Phillips ST, Butte MJ, et al. Patterned paper

as a platform for inexpensive, low-volume, portable bioassays [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2007, 46(8): 1318 - 1320.

[2] Hu J, Wang S, Wang L, et al. Advances in paper-based point-of-care diagnostics[J]. *Biosens Bioelectron*, 2014, 54: 585 - 597.

[3] Cheng CM, Martinez AW, Gong J, et al. Paper-based ELISA [J]. *Angew Chem Int Ed Eng*, 2010, 49(28): 4771 - 4774.

[4] Khan MS, Pande T, van de Ven TG. Qualitative and quantitative detection of T7 bacteriophages using paper based sandwich ELISA [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2015, 132: 264 - 270.

[5] Larsson PA, G Puttaswamaiah S, Ly C, et al. Filtration, adsorption and immunodetection of virus using polyelectrolyte multilayer-modified paper [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2013, 101: 205 - 209.

[6] Sanjay ST, Dou M, Sun J, et al. A paper/polymer hybrid microfluidic microplate for rapid quantitative detection of multiple disease biomarkers [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 30474.

[7] Lei KF, Huang CH, Kuo RL, et al. Paper-based enzyme-free immunoassay for rapid detection and subtyping of influenza A H1N1 and H3N2 viruses [J]. *Anal Chim Acta*, 2015, 883: 37 - 44.

[8] Fu E, Liang T, Spicar-Mihalic P, et al. Two-dimensional paper network format that enables simple multistep assays for use in low-resource settings in the context of malaria antigen detection [J]. *Anal Chem*, 2012, 84(10): 4574 - 4579.

[9] Khan SA, DeGrasse JA, Yakes BJ, et al. Rapid and sensitive detection of cholera toxin using gold nanoparticle-based simple colorimetric and dynamic light scattering assay [J]. *Anal Chim Acta*, 2015, 892: 167 - 174.

[10] Schofield CL, Field RA, Russell DA. Glyconanoparticles for the colorimetric detection of cholera toxin [J]. *Anal Chem*, 2007, 79(4): 1356 - 1361.

[11] Veigas B, Jacob JM, Costa MN, et al. Gold on paper-paper platform for Au-nanoprobe TB detection [J]. *Lab Chip*, 2012, 12(22): 4802 - 4808.

[12] Tsai TT, Shen SW, Cheng CM, et al. Paper-based tuberculosis diagnostic devices with colorimetric gold nanoparticles [J]. *Sci Technol Adv Mater*, 2013, 14(4): 044404.

[13] Murdock RC, Gallegos KM, Hagen JA, et al. Development of a point-of-care diagnostic for influenza detection with antiviral treatment effectiveness indication [J]. *Lab Chip*, 2017, 17(2): 332 - 340.

[14] Jokerst JC, Adkins JA, Bisha B, et al. Development of a paper-based analytical device for colorimetric detection of select foodborne pathogens [J]. *Anal Chem*, 2012, 84(6): 2900 - 2907.

[15] Sippy N, Luxton R, Lewis RJ, et al. Rapid electrochemical detection and identification of catalase positive micro-organisms [J]. *Biosens Bioelectron*, 2003, 18(5 - 6): 741 - 749.

[16] Cho S, Park TS, Nahapetian TG, et al. Smartphone-based, sensitive  $\mu$ PAD detection of urinary tract infection and gonor-

- rhea[J]. *Biosens Bioelectron*, 2015, 74: 601–611.
- [17] Miranda BS, Linares EM, Thalhammer S, et al. Development of a disposable and highly sensitive paper-based immunosensor for early diagnosis of Asian soybean rust[J]. *Biosens Bioelectron*, 2013, 45: 123–128.
- [18] Rosa AM, Louro AF, Martins SA, et al. Capture and detection of DNA hybrids on paper via the anchoring of antibodies with fusions of carbohydrate binding modules and ZZ-domains[J]. *Anal Chem*, 2014, 86(9): 4340–4347.
- [19] Funes-Huacca M, Wu A, Szepesvari E, et al. Portable self-contained cultures for phage and bacteria made of paper and tape[J]. *Lab Chip*, 2012, 12(21): 4269–4278.
- [20] Lo SJ, Yang SC, Yao DJ, et al. Molecular-level dengue fever diagnostic devices made out of paper[J]. *Lab Chip*, 2013, 13(14): 2686–2692.
- [21] Kurdekar A, Chunduri LAA, Bulagonda EP, et al. Comparative performance evaluation of carbon dot-based paper immunoassay on Whatman filter paper and nitrocellulose paper in the detection of HIV infection[J]. *Microfluid Nanofluidics*, 2016, 20(7): 1–13.
- [22] Wang Y, Wang S, Ge S, et al. Facile and sensitive paper-based chemiluminescence DNA biosensor using carbon dots dotted nanoporous gold signal amplification label[J]. *Anal Methods*, 2013, 5(5): 1328–1336.
- [23] Liu F, Zhang C. A novel paper-based microfluidic enhanced chemiluminescence biosensor for facile, reliable and highly-sensitive gene detection of *Listeria monocytogenes* [J]. *Sens Actuators B Chem*, 2015, 209: 399–406.
- [24] Zhang JD, Xiong M, Hao N, et al. A universal microarray platform: towards high-throughput electrochemical detection [J]. *Electrochem Commun*, 2014, 47(10): 54–57.
- [25] Zhang JD, Yu T, Li JY, et al. An ITO bipolar array for electrochemiluminescence imaging of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [J]. *Electrochem Commun*, 2014, 49: 75–78.
- [26] Feng Q, Chen H, Xu J. Disposable paper-based bipolar electrode array for multiplexed electrochemiluminescence detection of pathogenic DNAs [J]. *Science China Chem*, 2015, 58(5): 810–818.
- [27] Scida K, Li B, Ellington AD, et al. DNA detection using origami paper analytical devices [J]. *Anal Chem*, 2013, 85(20): 9713–9720.
- [28] Kumar AA, Hennek JW, Smith BS, et al. From the bench to the field in low-cost diagnostics: two case studies [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2015, 54(20): 5836–5853.

(本文编辑:豆清娅、陈玉华)

(上接第 1027 页)

- [2] 纪诚, 刘莹钰, 李硕, 等. 产妇产期先兆流产的发生情况及影响因素分析[J]. *中国实验诊断学*, 2017, 21(4): 617–619.
- [3] 许隆祺, 蒋则孝, 姚民一, 等. 我国人体寄生虫的虫种概况 [J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 1997, 15(5): 311–313.
- [4] 郭鄂平, 张光玉, 宋明华. 迈氏唇鞭毛虫致病性的研究 [J]. *中国寄生虫病防治杂志*, 2002, 15(3): 146–147.
- [5] Kouassi RY, McGraw SW, Yao PK, et al. Diversity and prevalence of gastrointestinal parasites in seven non-human primates of the Taï National Park, Côte d'Ivoire [J]. *Parasite*, 2015, 22: 1.
- [6] 陈敏, 孙涛, 潘庆敏, 等. 迈氏唇鞭毛虫致老年慢性腹泻 1 例报道 [J]. *实用老年医学*, 2015, 29(11): 960–961.
- [7] 高志华, 王国威. 鞭毛虫性腹泻 138 例临床初步分析 [J]. *山西医学杂志*, 1963(2): 29–32.
- [8] 郭鄂平, 曾凡龙, 王绍基, 等. 迈氏唇鞭毛虫的分离与纯培养 [J]. *郧阳医学院学报*, 2003, 22(3): 180–181.
- [9] 曾凡龙, 郭鄂平, 王燕, 等. 迈氏唇鞭毛虫的培养观察 [J]. *医学动物防制*, 2003, 19(5): 263–264.
- [10] 郭鄂平, 曾凡龙, 宋明华, 等. 迈氏唇鞭毛虫在小白鼠体内发育过程的分析 [J]. *湖北医药学院学报*, 2003, 22(1): 39.
- [11] 顾众, 葛萍, 樊琳, 等. 凤台县发现 1 例迈氏唇鞭毛虫的报告 [J]. *热带病与寄生虫学*, 1998, 27(3): 144.
- [12] 胡纓, 李艳文. 常见人体肠道原虫感染的临床概述 [J]. *蛇志*, 2013, 25(1): 54–57.
- [13] 胡纓, 卢作超, 石焕焕. 南宁市儿童肠道原虫感染现状 [J]. *中国学校卫生*, 2013, 34(5): 630–631.
- [14] 朱名胜, 朱敬, 郑东, 等. 十堰市儿童肠道原虫感染情况 [J]. *中国学校卫生*, 2011, 32(5): 623–624.
- [15] 万玲, 陈致怀, 李小平. 南昌迈氏唇鞭毛虫包裹首次报告 [J]. *江西医学检验*, 2001, 19(2): 109.
- [16] 沈雅玉. 妊娠期麻疹 6 例临床分析 [J]. *浙江临床医学*, 2006, 8(1): 58.
- [17] Jaran AS. Prevalence and seasonal variation of human intestinal parasites in patients attending hospital with abdominal symptoms in northern Jordan [J]. *East Mediterr Health J*, 2017, 22(10): 756–760.

(本文编辑:陈玉华)