

表面增强拉曼光谱技术在流行性病毒检测领域的 研究进展

刘艺, 王楠, 何绍华, 张竣, 冯尚源, 林多*

福建师范大学光电与信息工程学院医学光电科学与技术教育部重点实验室, 福建 福州 350007

摘要 近几年新型冠状病毒 COVID-19的迅速传播,引起了全球对传染病防控和快速病毒检测技术的高度关注。 表面增强拉曼光谱(SERS)作为一种光学分析技术,凭借其独特的分子指纹特性和高检测灵敏度的特点,成为生物 医学检测领域的有力工具,对可能大规模暴发的流行性病毒灵敏迅速的检测以及监控提供新颖、高效的光学解决方 案。本文对从2021年以来开展的DNA、RNA病毒,尤其是威胁人类生命健康的流行性病毒检测工作当中使用的标 记、非标记 SERS技术进行梳理,从 SERS 基底结构建构及功能化修饰,分子探针的设计,高速响应、高灵敏度检测 模型构建,生物技术、机器学习方法的联合使用等方面,特别是基于便携式、手持式拉曼光谱仪的研究,对 SERS 技 术在病毒检测领域的应用进展进行了总结和展望。

关键词 医用光学;表面增强拉曼光谱;病毒检测;生物传感器;纳米光子学;纳米医学
 中图分类号 O657.37
 文献标志码 A
 DOI: 10.3788/CJL231604

1引言

病毒是引起许多感染性疾病的主要原因,包括流 感、高死亡率的下呼吸道感染、腹泻、结核病、人类免 疫缺陷病毒(HIV)感染、登革热、乙肝等^[1-2]。这些 疾病可以对人体的各个系统造成严重的损害,甚至 产生生命威胁。大规模的病毒传播,不仅对个体的 健康产生影响,还可能对整个社会和经济造成巨大 冲击[3]。1918年的流感大流行导致5000万人或更多 人死亡,是人类历史上有记录以来最致命的事件。 过去十年见证了史无前例的大流行暴发:H1N1 猪流 感(2009)、寨卡病毒(2015),以及非洲大部分地区出 现的类似大流行的埃博拉热[4]。而2019年暴发的新 型冠状病毒 COVID-19 已演变为一场全球性危机, 已被世界卫生组织定义为国际关注的突发公共卫生 事件。截至2022年2月25日,206个国家和地区的 当局报道了超过4.31亿例病例,其中,至少590万人 死亡[5]。传染性病毒的暴发对公共医疗系统提出了 重大挑战。早期和准确的病毒诊断对防止病毒传播 至关重要,特别是在没有特定疫苗或有效药物的情 况下[6]。

病毒由核酸(DNA或RNA)和包膜蛋白外壳组成。它们通常需要宿主细胞来复制它们的基因组并 繁殖病毒颗粒^[2]。基于核酸的检测的一个关键要素 是聚合酶链反应(PCR),PCR和逆转录-PCR分别是 用于检测 DNA 和 RNA 病毒的常规方法(Lin $\mathbb{R}^{[7]}$ 、 Liu 等^[8]), 但这种方法只能获得半定量结果, 并且无 法检测到浓度较低的目标物。实时荧光定量PCR (RT-qPCR)是一种更具靶特异性的方法,使用多对 特异性引物和合适的探针,靶向同一样品中可能发 现的不同病毒,有助于检测病毒组(Ou等^[9]、Bustin 等[10]),但其样品准备时间长,设备和试剂成本高,需 要严格控制温度循环。环介导等温扩增(LAMP)使 用多个引物来启动聚合酶驱动的基因序列延伸,通 讨这种方法扩增不需要复杂的设备,是一种稳健快 捷的方案(Soroka等^[11]),但其面临的挑战是引物设 计复杂以及污染残留。而常见的蛋白检测手段有抗 体检测、抗原检测等^[12]。应用最广泛的免疫测定之一 是酶联免疫吸附测定(ELISA),其高灵敏度和稳健性 使其成为病毒检测的重要手段,但其缺点在于抗体 与其他共同感染病毒的交叉反应导致假阳性或定量 不准确[6,13]。上述实验大多需要复杂的设备以及具 备专业技能的人员,不利于在快速暴发病毒传染的 区域开展大规模的检测。对于资源稀缺地区的大多 数人来说,基于大型设备高精度仪器的实验在许多地 区也是难以实现的,无法满足其对病毒的监控与防 护^[3]。随着检测技术的进步与融合,新兴的病毒等 生物分子检测技术,如表面增强拉曼散射(SERS),

收稿日期: 2023-12-29; 修回日期: 2024-02-05; 录用日期: 2024-02-19; 网络首发日期: 2024-02-29

基金项目: 国家自然科学基金(12374405)

第 51 卷 第 9 期/2024 年 5 月/中国激光

逐渐成为研究热点,以期克服传统方法的一些局 限性^[14]。

SERS技术是一种基于局域等离子共振的超灵 敏分子振动光谱技术^[15]。它能够使吸附于或者非常 靠近纳米金属表面的待测物质的拉曼信号提升 10⁴~10¹¹倍^[16-17],甚至可以实现单分子检测。SERS 继承自发拉曼分子指纹光谱的特性^[18],并且凭借其 超灵敏、多路复用和定量检测等特点,在生物化学和 生命科学领域表现出了独特的优势^[15],已被广泛应 用于疾病筛查、环境检测、食品药品安全等领 域^[19-20]。其中,SERS技术在病毒检测中表现出极高 的检测灵敏性,能够实现对极微量病毒的快速、准确 检测^[21],这对于早期病毒感染的迅速筛查具有重要 意义,有助于采取及时的医学干预^[22]。SERS技术 通过对病毒的光谱特征进行分析,展现出卓越的特 异性,能够区分不同类型的病毒,包括病毒亚型和变 异株。这种高度特异性使其在病毒溯源、分类和流 行病学研究中具备独特的优势^[5,19]。近年来,研究人 员聚焦新型 SERS纳米材料研发、高效 SERS 探针设 计、检测平台优化,以及 SERS 技术与其他分析方法 的融合,这些努力极大推动了 SERS 技术在病毒检 测中的检测研究,以更好地满足临床、实验室和应急 领域的需求。

在本篇综述中,我们总结了近三年 SERS 技术在 病毒检测领域的研究进展以及应用潜力。从病毒的遗 传物质、病毒种类、影响程度等多个角度,对其应用到 的 SERS 技术、检测设备和联合使用的其他技术进行 了梳理和总结,如图1所示。



图 1 SERS 技术的病毒检测示意图 Fig. 1 Schematic diagram of virus detection based on SERS technology

2 SERS技术以及其增强机制

1928年,印度物理学家Raman^[23]发现了光的非弹性散射现象,即拉曼效应。用单色光照射在分子上时, 绝大部分光子的频率、波长和能量都没有发生变化,这种弹性散射被称为瑞利散射,小部分光子产生非弹性 散射,即拉曼散射。分子振动会引起的光子频率的偏 移,这种波长偏移取决于散射分子的化学结构^[24]。拉 曼光谱利用散射光来获取关于分子振动的信息,这可 以提供有关分子的结构、含量等信息^[25]。由于自发拉 曼光谱信号微弱,荧光噪声强等局限性,对于低浓度的 样品或微弱振动模式的检测具有一定的限制。SERS 现象最早由 Fleischmann 等^[26]在 1974年发现, 1977年, Jeanmaire 等^[27]通过系统的实验和计算发现吸附在粗 糙银表面上的每个吡啶分子的拉曼散射信号与溶液 相中的吡啶的拉曼散射信号相比增强约 10⁶倍,这是 一种与粗糙表面相关的表面增强效应, 被称为 SERS 效应。

SERS的增强机制如下:1)电磁场(EM)增强, SERS是一种结合光-金属相互作用和光-分子相互作 用的现象^[21]。入射激光撞击金属和介电界面时,电磁 波可以驱动金属纳米结构的离域传导电子进行集体振 荡。当入射光的频率与金属中自由电子的固有振荡频 率相匹配时,就会发生表面等离子体共振(SPR)。共

振频率取决于粒子的大小、形状、介电环境和电子密度、有效电子质量等。在金属纳米结构中,SPR可以高度定位到特定位置,这被称为局域表面等离子共振(LSPR)。能够产生强LSPR效应的纳米粒子称为等离子体纳米粒子(PNP),通常是Ag、Au和Cu,它们在可见光到近红外区域显示出很强的SPR。LSPR使得入射光发生共振吸收或散射^[16]。因此,入射光能可以有效地耦合到金属纳米粒子中,并使纳米粒子表面的局部电磁场强度增强多个数量级,这是SERS信号增强的关键^[24]。特别在一些等离子体结构的狭窄间隙中,可通过光的集中而产生强烈的局部场增强,称为"热点"效应^[28]。2)化学(CM)增强,主要是由于吸附在粗糙金属表面上的分子与金属之间发生电荷转移引起的。这两种增强中,电磁场增强往往占据主导地位^[29]。

由于其响应快、特异性强、检测无损等特性, SERS在表面与界面研究、化学与生物传感器、生物医 学监测、痕量分析、电化学反应与催化反应等领域得到 了广泛的应用^[30-31]。

3 SERS技术检测RNA病毒

病毒的遗传物质可以由DNA或RNA组成^[32]。病 毒家族是根据其遗传物质的核酸类型来进行分类的。 核糖核酸病毒又称为RNA病毒,其遗传物质为RNA。 相较于DNA病毒,RNA病毒具有较高的变异性^[2],影 响全世界人类生活安全健康程度严重、范围较广的传 染性疾病主要由其引发,由RNA病毒感染造成的著名 人类疾病包括艾滋病(AIDS)、严重急性呼吸道症候群 (SARS)、2019新型冠状病毒(COVID-19)、流行性感 冒、丙型肝炎、西尼罗河热、脊髓灰质炎、麻疹等^[33]。

新型冠状病毒 SARS-CoV-2 近几年的大规模迅速传播,造成大量严重肺炎病例,同时其自身通过免疫逃逸又具有较高的变异性,使新型冠状病毒、流感等呼吸道传染类疾病成为病毒检测领域中的重点、难点问题^[1],传统的检测手段面临着挑战。在这一背景下,本小节将着重探讨 SERS 技术在检测这些关键病原体中的应用进展。

3.1 SERS技术应用于新型冠状病毒检测

严重急性呼吸系统综合征冠状病毒2(SARS-CoV-2)是已知的第七种感染人类的冠状病毒,并引发了名为COVID-19的传染病,其主要传播途径是接触含SARS-CoV-2病毒的飞沫或污染物^[34]。实时定量聚合酶链反应已成为病毒鉴定定量的金标准^[35]。大量工作表明,与逆转录-定量聚合酶链反应、酶联免疫吸附实验为代表的需要长时间预处理和专业人工操作的常用方法相比,SERS技术以快速响应、灵敏度高、操作简便等优势可用于SARS-CoV-2在大规模传染前期控制、中期诊断、后期防御等不同时段的快速准确鉴定^[36]。

SERS在病毒检测应用中主要使用标记和非标记

第 51 卷 第 9 期/2024 年 5 月/中国激光

两种检测策略。由SARS-CoV-2的结构可知,其编码 29个蛋白,包括4个关键结构蛋白:核衣壳(N)、刺突 (S)、包膜(E)和膜蛋白(M)^[37],针对每一个目标抗原, 这两种方法都有各自的优势和应用场景。

非标记技术的原理是将病毒样本直接与 SERS 增强基底混合,获取病毒样本自身的 SERS 信号,无 需添加外部标志物。由于样本中的天然分子信号较 弱,非标记技术对检测基底的信号增强性能有着更高 的要求。Yang等^[36]提出了一种以人血管紧张素转换 酶2(ACE2)功能化的金"病毒陷阱"纳米结构作为 SERS 基底的方案,此方案可以选择性地捕获和快速检 测S蛋白表达的冠状病毒,实现单个病毒水平检测。如 图 2(a) 所示, SARS-CoV-2 可以被由斜金纳米针阵列 (GNAs)组成的"病毒陷阱"纳米森林定位,并被锚定 在含病毒尿液中酰胺修饰的GNAs上的ACE2捕获, 即使是复杂的多蛋白质环境也能通过机器学习和识 别技术,建立病毒信号的识别标准,仅用时5min可实现 模拟病毒污染水样本的检测,检测限为80 copies/mL。 准确、可靠、廉价和完全可循环利用的分析平台的开 发对从医疗诊断到环境筛查的多个领域至关重要[38]。 在进行特殊结构优化以提升检测灵敏度的重要工作 中, Sarychev 等^[39]从 SARS-CoV-2 刺 突 糖 蛋 白 (S 蛋 白)的受体结合域(RBD)膜和银表面上设计一个超 箭头金属介电纳米腔,可检测到小于1pg的蛋白质样 品,无标记情况下直接获得SARS-CoV-2病毒关键抗 原S糖蛋白RBD的拉曼和SERS特征光谱。Wu 等^[40]设计并制作了一种新型的远程 SERS (LR-SERS)衬底,该衬底采用了Au纳米板薄膜/MgF₂/Au 镜/玻璃结构,以提高电子场扩展后的LR-SERS效 果,其中,Au薄膜被对称介质束缚由有序的六方Au 纳米板(Au NPLs)自组装而成,最低检测限为9.8× 10⁻¹¹ g/mL。结合主成分分析(PCA)和偏最小二乘 判别分析(PLS-DA),可将S蛋白感染的唾液与健康 人唾液进行区分,灵敏度为98%,特异性为100%。 Leonardi 等^[41] 通过 SERS 技术展现了 SARS-CoV-2 Omicron变体基因组的振动指纹,明确地揭示了其中 核苷的碱基指纹信息。

柔性材料的使用使得 SERS 技术可以在复杂的样品表面进行高灵敏度的光谱检测,增加生物样品与基底的接触面积。Paria等^[42]开发了一种新的纳米模型,通过纳米压印技术(NIL)结合转移打印刚性和柔性SERS基底来实现病毒无标记检测,如图 2(b)所示,增强磁场的金属绝缘子天线(FEMIA)结构由多个交替堆叠的银和二氧化硅组成。在 25 min内可从金属-绝缘体-金属纳米结构上的病毒样本获得放大数倍的SERS 光谱,读取纯化形式的 SARS-CoV-2 与 H1N1病毒融合蛋白的强信号,实验检测限为 500 nmol。此外,利用 PCA 和随机森林分类算法可以识别4种不同类型的包膜 RNA 病毒,准确率超过 83%。可弯曲的



图 2 SERS 传感器及平台的多元化设计应用于 SARS-CoV-2 非标记检测。(a) COVID-19 SERS 传感器设计及操作流程示意图^[36]; (b) SERS 金属-绝缘体-金属纳米结构柔性基底结合机器学习的无标签检测平台^[42];(c) SnS₂微球基板设计示意图^[44];(d) 具有显著增强因子的 Cu₂O纳米阵列的拉曼增强机理^[45]

Fig. 2 SERS sensors and platforms are designed in a variety of diverse ways for label-free detection of SARS-CoV-2. (a) Schematic diagram of the design and operation process of the COVID-19 SERS sensor^[36]; (b) flexible substrate combined with SERS metal-insulator-metal nanostructures and machine learning-based label-free detection platform^[42]; (c) schematic diagram of SnS₂ microsphere substrates design^[44]; (d) Raman enhancement mechanism of Cu₂O nanoarray with significant enhancement factor^[45]

FEMIA 基板允许人们将生物传感器安装在弯曲和可 弯曲的表面以及可穿戴设备上,以便在各种检测环境 下快速识别病毒。Ramachandran等^[43]开发了一种绿 色环保纸基SERS平台,疏水纸基体可使银纳米粒子 获得高约束区域,从而提高其灵敏度。利用带 GAgNPs的柔性纸传感器对刺突蛋白进行检测,该传 感器的检测限为2.4 pg/μL。对人唾液中的刺突蛋白 进行实时分析,可在2 min内得出检测结果。

半导体作为基于化学机理的 SERS 衬底, 在病毒 检测过程当中可将 SERS 技术的应用范围拓展^[12,44]。 Peng等^[44]开发了一种微米大小的球形 SnS₂结构,如 图 2(c)所示,以纳米峡谷形貌的分级纳米结构作为半 导体基 SERS 基底, 晶格变化和硫空位促进的电荷转 移化学增强以及毛细管效应引起分子富集的协同增 强,使基底具有超高的 SERS 灵敏度。结合两步法 SERS诊断新途径,通过SARS-CoV-2S蛋白和RNA 的SERS信号识别,诊断SARS-CoV-2的传染性,能够 准确捕捉实际环境中非感染性裂解的 SARS-CoV-2 病毒粒子,而目前的PCR方法却无法实现。Feng等^[45] 自组装了一种可与贵金属相媲美的自由载流子密度为 1.78×10²¹ cm⁻³的新型Cu₂O纳米阵列,如图2(d)所 示。高灵敏度主要得益于半导体中等离子体诱导的热 电子转移(PIHET)。纳米阵列能够实现非酶和无扩 增的 SARS-CoV-2 RNA 的定量检测,测量时间仅 需 5 min,检测极限为 60 copies/mL。

在非标记 SERS 检测工作当中,常常利用机器学 习技术进行数据处理。由于SERS技术产生的拉曼光 谱数据复杂而丰富,机器学习模型能够有效处理这些 高维度的信息。通过算法,可以提取和分析光谱中的 特征,识别潜在的生物标志物或分子信息。在许多工 作中建立的深度学习模型在模式识别和分类任务上表 现出色,即使面对复杂和变化的样本,模型也能作出准 确的预测[46],为病毒种类鉴别,病毒突变株的鉴别提供 了有利帮助。Li等^[46]自组装了一种具有二维周期性 金字塔结构表面拉曼增强的平台,每个金字塔的腰部 位置都有能够使信号显著增强的 SERS"热点",能有 效地检测到人唾液中的SARS-CoV-2。采用基于支持 向量机分析技术的光谱特征识别算法,提升平台对 SARS-CoV-2病毒、SARS-CoV-1病毒、细胞外泌体相 关颗粒的识别能力。对COVID-19患者和健康对照的 临床样本进行盲测,敏感度为100%,特异度为80%。 整个样本处理和检测全过程,可以在5h之内完成。

由于冠状病毒持续蔓延的主要原因是病毒不断变 异,SARS-CoV-2的表面刺突(S)蛋白的氨基酸序列 发生突变,直接影响其生物学功能,导致传播增强,引 发免疫逃逸效应。因此,及时发现这些突变对制定有 针对性的治疗方案和实施精准防控措施至关重要。 Qin等^[47]开发了一种基于机器学习Logistic回归算法 的无标签 SERS 检测策略,以准确识别 Beta(B.1.351/

第 51 卷 第 9 期/2024 年 5 月/中国激光

501Y. V2)、Delta (B. 1.617)、COVID-19 和 Omicron (BA.1)株,如图 3(a)所示,此方法在阳性和阴性人鼻 拭子 盲测中均达到 100% 的准确率。Yeh 等^[48]在 SERS 生物传感器的设计和工程上采用了三维多孔银 微等离子体工程纳米组件(AgMEN)在纤维素纸上沉 积的放大,采集显著的 SERS 信号,如图 3(b)所示,超 灵敏检测模拟人类唾液条件下的 SARS-CoV-2 S变体 (包括野生型、Alpha、Delta 和 Omicron),通过检测 SARS-CoV-2 S和N蛋白,SERS生物传感器在检测限 分别为1 fg/mL和 0.1 pg/mL。Mo等^[49]实现了一种基 于深度学习的冠状病毒刺突蛋白拉曼光谱分类方法, 建立 5 种冠状病毒(MERS-CoV、SARS-CoV、SARS-CoV-2、HCoVHKU1和 HCoV-OC43)刺突蛋白的拉 曼光谱数据集,并通过神经网络模型进行分类。

另一种基于SERS技术的检测策略是标记检测。 此策略的实施方法主要是将具有强烈拉曼信号的探针 分子修饰到金属纳米粒子的表面,通过蛋白、核酸适配 体等识别基团准确识别、捕获目标物,再通过检测探针 分子的拉曼信号变化来间接实现对于目标物的特异性 定量检测。标记SERS技术的优势在于可实现病毒特 异性识别与定量检测。本课题组⁵⁰¹开发了一种基于表 面增强拉曼光谱的横向流动免疫分析法(LFA),采用 独特设计的核壳纳米颗粒,内嵌拉曼探针分子作为指 示靶蛋白浓度的指标,结合SERS技术对SARS-CoV-2N蛋白进行了灵敏、快速、灵活、定量的检测, 15 min 内检测限为 0.03 ng/mL,检测范围为 10~ 1000 ng/mL,与传统的基于视觉检测的LFA相比,此 方法具有更高的灵敏度。Guan等^[51]以SARS-CoV-2 刺突蛋白为靶点,通过捕捉底物和检测探针基于适体 特异性识别来特异性检测 SARS-CoV-2 抗原,构建了 一种即时 SERS 检测平台, 如图 4(a) 所示, 使用伪病 毒,无预处理的情况下,用手持拉曼光谱仪在5min内 检测到 SARS-CoV-2 病毒及其变异株。伪病毒的检 测限为124 TU μL⁻¹(18 fmol S 蛋白),线性范围为 250~10000 TU μL⁻¹。此外,该方法可以特异性识别 SARS-CoV-2抗原,而不会与其他冠状病毒或甲型流 感的特异性抗原发生交叉反应。Antoine等^[52]通过对 人源单链抗体(ScFv)文库进行生物扫描,分离到结合 SARS-CoV-2 刺突蛋白的单链重组抗体片段。将 ScFvs 与磁性纳米颗粒和 SERS 纳米标记结合,形成 免疫复合物并检测 SARS-CoV-2 刺突蛋白,在病毒传 输介质中30 min的检测限为257 fg/mL,实现了即时 SERS 免疫分析,同时检测到 B.1.1.7、B.1.351 和 B.1.617.2 刺突蛋白,但与常见的人类冠状病毒HKU1 刺突蛋白无交叉反应。灭活的 SARS-CoV-2 全株病 毒的检测浓度为 4.1×10^4 genomes/mL,比典型传染 性个体的病毒载量低很多。Zhang等^[53]采用新型油/ 水/油(O/W/O) 三相液-液界面自组装方法制备 SERS免疫底物,形成两层致密均匀的金纳米颗粒



图 3 机器学习技术应用于 SARS-CoV-2 非标记检测。(a)采用 PCA 对纯 S 蛋白标准品的 SERS 光谱进行鉴别^[47];(b)将三维多孔 Ag纳 米颗粒(AgMEN)沉积在纤维素纸上(左),并在表面修饰抗体(AgMEN@Ab)(中),通过 SERS 信号分析对应的抗原(右)^[48]

Fig. 3 Machine learning techniques are applied to SARS-CoV-2 label-free detection. (a) Identification of pure S protein standard samples by SERS spectroscopy using PCA^[47]; (b) SERS biosensors are engineered with 3D porous Ag nanoparticle-based microplasma-engineered nanoassemblies (denoted as AgMEN) deposited on cellulose paper (left) and functionalized with antibodies (AgMEN@Ab)(center part) to detect the corresponding antigens by analyzing the SERS response (right)^[48]

膜,通过 SARS-CoV-2 刺突抗体修饰的 SERS 免疫底物、刺突抗原蛋白和拉曼报告标记的免疫 Ag纳米颗粒 之间的免疫反应进行检测。基于 SERS 的生物传感器 在磷酸盐缓冲盐条件下对 SARS-CoV-2 刺突蛋白的 检测限为 0.77 fg/mL,未处理唾液条件下检测限为 6.07 fg/mL,对 SARS-CoV-2 病毒表现出良好的特异 性和敏感性。

标记法也可以利用不同的 SERS 探针标记不同的 待测物,通过不同特征峰来鉴别病毒。Vedelago等^[54] 提出了一种通过交流电流体动力学(ac-EHD)开发的 基于 Au - Ag 纳米盒 SERS 条形码和纳米混合的双重 SARS-CoV-2 微量检测方法,以检测 SARS-CoV-2 的 刺突(S)和核衣壳(N)结构蛋白,提升其检测特异性, 重点探究了 Omicron 和 Delta 型变体的识别和区分,如 图 4(b)所示。此方法可以检测到低至 20 virus/µL 和 50 pg/mL 的 RBD 蛋白,并在感染和健康鼻咽拭子中 清楚地识别病毒。

对典型临床样本中 SARS-CoV-2 RNA 进行鉴别, 缩短诊断时间, 实现病毒感染的早期发现尤为重要, Zhang 等^[55]提出了一种基于 SERS 活性银纳米棒

(AgNRs)传感芯片和特殊设计的智能解锁介导的目 标回收信号放大策略,如图5(a)所示,将锁定探针 (LPs)、发夹 DNA 和 SERS标记与 SARS-CoV-2 RNA 样本在一个阵列的 SERS 传感芯片上进行杂交,实现 对 SARS-CoV-2 RNA 的识别,执行无核酸酶解锁介 导的目标循环信号扩增,并结合 SERS 标记生成 SERS信号。SARS-CoV-2 RNA的 SERS 传感器可 在 50 min 内得出检测结果,其超高灵敏度可达 51.38 copies/mL。Lin 等^[56]开发了一种用于 SARS-CoV-2 RNA 定量检测的比率 SERS 传感芯片,如 图 5(b)所示,该方案使用了碱基互补配对机制,SERS 传感芯片内标分子(4-MBN)可用于定量分析时实时 校准探针分子的拉曼信号,可获得10⁻⁶~10⁻¹² mol的 动态检测范围,检测限低至7.61×10⁻¹⁴ mol。Chen 等^[57]以刺突蛋白DNA适配体作为受体,以自身生长的 金纳米粒表面作为 SERS 检测底物,对 SARS-CoV-2 进行敏感检测,如图5(c)所示,通过监测Au纳米粒表 面释放的适配体 DNA 与 SARS-CoV-2 病毒粒子中的 刺突蛋白之间新的结合引起的 SERS 峰强度变化,对 SARS-CoV-2裂解液进行了定量分析,可在15min完



图4 SERS纳米探针应用于SARS-CoV-2标记检测与鉴别。(a)SERS纳米探针偶联的S蛋白适配体和磁珠偶联的S蛋白适配体示 意图及"三明治"结构的SEM图像^[51];(b)RBD探针用于SARS-CoV-2的SERS纳米标记捕获检测,基于拉曼光谱信号进行病 毒和变异鉴定^[54]

Fig. 4 Application of SERS nanoprobes in label detection and differentiation of SARS-CoV-2. (a) Schematic of the SERS assay based on one-step aptamer recognition for rapid point-of-care detection of SARS-CoV-2 virus within 5 min^[51]; (b) stepwise reactions of RBD probe for SARS-CoV-2 capture and detection with SERS nanotags, for virus and variant identification based on the average Raman spectrum results^[54]

成检测,检测限小于10 PFU/mL。Yin等^[58]提出了一种由异纳米结构组成的磁响应底物,该底物控制耦合距离,对SARS-CoV-2的N基因进行超灵敏和高选择性检测。该平台能够可逆地缩短等待时间,增强SERS信号,从1 fmol到100 amol的检测限比未使用磁调制的信号提高了10倍。

SERS技术应用于病毒检测的形式并不单一,许 多工作表明SERS技术结合其他检测技术,形成双模 态或多模态传感,有助于提供目标物质多维的信息,技 术的综合使用还有助于相互校准和验证,提高了分析 的准确性和可靠性。Gao等^[59]提出了一种基于AuNPs 的比色/SERS/荧光三模生物传感器,如图 6(a)所示, 该传感器可在40 min内快速选择性地检测病毒 RNA, 在所有三种模式下都实现了对飞摩尔电平的极限检 测,吸光度模式下为160 fmol,荧光模式下为259 fmol, SERS模式下为395 fmol。该传感器的每一种工作模 式都能够识别靶基因中的单碱基错配,从而最大限度 地减少假阴性/阳性读数。Wu等^[60]开发了一种表 SERS-PCR检测方法,该方法使用AuNPs内在化的 Au纳米酒窝底物(AuNDS),通过减少扩增DNA所 需的热循环步骤来缩短诊断时间,如图 6(b)所示,基 于 Au NDS 的 SERS-PCR 体系可以在不到 10 个热循 环步骤的情况下检测到 bridge DNAs,此 SERS-PCR 系统集成了一个采样模块,能够通过便携式拉曼光谱 仪将样本和 AuNPs 自动引入到 Au NDS 中,从而实现 快速和准确的诊断。

3.2 SERS技术应用于流感病毒检测

流感,又称为季节性流感,是由流感病毒引起的一种急性呼吸道传染病。流感病毒分为甲型(IAV)、乙型(IBV)和丙型,而甲型和乙型流感病毒通常是引起人类流感的主要原因。流感病毒具有高度变异性,尤其是甲型流感病毒,其表面的两个主要蛋白质——血凝素(HA)和神经氨酸酰氨基酸酰转移酶(NA)的不断变异^[4],使得免疫系统难以对抗。

SERS技术快速响应特性使其能够实现实时监测,有助于对流感病毒传播进行及时追踪和控制,可以通过多通道检测或者高通量的芯片设计,在短时间内完成大规模的样本筛选,适用于流感等传染病的暴发性疫情。

在非标记 SERS 检测流感病毒的方案当中, Tabarov等^[61]指出由于流感病毒的 SERS 谱不具有特定的峰,因此不能直接进行分类和检测。在缓冲环境



图5 SERS标记检测法应用于 SARS-CoV-2 病毒裂解后 RNA 和蛋白质检测。(a) SERS标签的制备以及信号放大策略在基于 SERS技术的 SARS-CoV-2 RNA 检测中的应用示意图^[55];(b) Au@ 4MBN@Ag NPs 的制备以及二维 SERS 传感芯片的制备, 用于 SARS-CoV-2 RNA 检测的示意图^[56];(c)使用基于 SERS 的 aptasensor定量评估 SARS-CoV-2 的示意图^[57]

Fig. 5 Application of SERS label detection method for the detection of RNA and proteins from SARS-CoV-2 virus lysates.
 (a) Schematic illustrations of the preparation of SERS tags and the signal amplification strategy for SERS detection of SARS-CoV-2 RNA^[55]; (b) preparation of Au@4MBN@Ag NPs and fabrication of two-dimensional SERS sensing chip for SARS-CoV-2 RNA detection^[56]; (c) schematic illustration of the quantitative evaluation of SARS-CoV-2 using the SERS-based aptasensor^[57]

中可应用 SERS 与机器学习技术来检测和区分甲型和 乙型流感病毒,机器学习技术(特别是支持向量机方 法)使含有甲型流感和乙型流感病毒的样本在浓度为 200 µg/mL 时的 SERS 鉴别准确率达到 93%。根据 Lowry蛋白测定法,样品中病毒蛋白质的最低检测浓 度为~0.05 μg/mL,该浓度的病原体样品的检测准确 度为84%。Gribanyov等^[62]提出一种胶体银纳米颗粒 (Ag NPs)代替固态基质的 SERS 平台,将胶体 Ag NPs上的 SERS 技术与核酸适配体对病毒的特异性识 别相结合,在15min内可实现甲型流感病毒的检测。 Kim 等^[63]报道了一种新型的6E3单克隆抗体,能够识 别和结合H275Y神经氨酸酶突变,将其固定在金纳米 板和纳米颗粒上,能够基于 SERS 检测 H275Y 突变体 pH1N1,利用6E3抗体介导的SERS免疫分析,可在 10² plaque forming units/mL的低浓度下检测到耐药流 感病毒。

标记 SERS 方案应用于流感病毒检测的各个阶段时都具备出色的性能, Zhdanov 等^[64]提出一种新型

的纳米银制备的 SERS 适体传感器,其检测限为每 毫升10°个甲型流感病毒颗粒,如图7(a)所示,该传 感器上的 SERS 信号是由一种独特的拉曼活性染料 提供的,这种染料与病毒竞争结合到适配体的四倍 体核心上。由于通过聚合膜的预过滤分离了脱靶分 子,这种适体传感器甚至可以与生物液体等分共存。 该适配感器能检测到每毫升10³~5×10¹⁰个病毒颗 粒。Wang等^[65]建立了一种可以快速诊断H5N1型 流感病毒的夹心免疫磁珠 SERS 方法, 如图 7(b)所 示,H5N1流感病毒被证明与磁珠上的生物素化一抗 结合,然后与二抗结合形成免疫磁珠三明治免疫复合 物(IMBSIs), 检测限估计为 5.0×10⁻⁶ TCID₅₀/mL。 该方法特异性好,与H1N1、H5N6、H9N2无交叉反 应。Kukushkin等^[66]提出了一种将膜过滤和SERS 活性基质结合的检测方案,有效地将病毒从溶液中 吸附到覆盖适体的银纳米颗粒上,带有拉曼活性标 记的甲型流感病毒适配体使待测病毒的特异性识别 能力增强。只需要几分钟就可以使适体和病毒之间



图 6 包含 SERS 技术的多模式病毒检测方案。(a)用于新冠肺炎病毒 RNA 检测三模式生物传感器原理图^[59];(b)Bridge DNAs 的聚合酶链式反应扩增过程以及 Bridge DNAs 的 SERS 检测过程^[60]

Fig. 6 Multi-mode virus detection scheme incorporating SERS technology. (a) Schematic of the triple-mode biosensors for COVID-19 virus RNA detection^[59]; (b) PCR amplification process for bridge DNAs and SERS detections for bridge DNAs^[60]

的相互作用,检测限可低至每毫升10个流感病毒 颗粒。

同为传播速度快且给社会带来感染疾病大流行威 胁的呼吸道病毒,流感病毒和新冠病毒均有较高的传 染性以及初期相似的感染症状,包括发热、咳嗽、乏力 等,人们在对待这两种病毒的过程中可能会存在混淆。 在流感季节和新冠病毒大流行期间更加复杂的情况 下,需要进行区分诊断。因此,在许多工作中,对流感 中的甲型流感病毒、新型冠状病毒,以及其他呼吸道疾 病进行准确鉴别和同时检测是至关重要的。Lu等[67] 开发了一种基于双模 SERS 的 LFA 条带,可以高精度 诊断 SARS-CoV-2 和甲型流感病毒。将 SARS-CoV-2 和甲型流感病毒的n蛋白抗体固定在试验线1和2上, 对每种病毒的裂解液均表现出良好的选择性。当 SARS-CoV-2和甲型流感病毒同时检测时,其相应的 检测限分别为 5.2 PFU/mL 和 23 HAU/mL。 Garsuault等^[68]同时分析了3种呼吸道病毒:两种冠状 病毒,hCoV-229E和SARS-CoV-2;一种甲型流感病

毒,H1N1。利用SERS和人工智能(AI)结合来区分3 种呼吸道病毒,准确率在95%~100%之间,是病毒诊 断的有力工具。Chen等^[69]利用 SERS 技术准确诊断 和区分严重急性呼吸综合征冠状病毒2(SARS-CoV-2)和甲型H1N1流感,如图8(a)所示。连接到DNA适 配体末端的拉曼报告子(Cy3和RRX)可以在金纳米 粒底物的纳米间隙产生强的 SERS 信号。当 SARS-CoV-2或甲型流感病毒接近金爆米花纳米粒底物时, 由于相应的DNA适配体与病毒具有显著的结合亲和 力,相应的DNA适配体会选择性地从底物上脱离。随 着信号的强弱变化可以快速鉴别这两种呼吸道疾病。 Liu等^[70]提出了一种基于多通道表面增强拉曼散射的 横向流免疫分析(SERS),使用高性能的磁性SERS标 签,同时超灵敏检测呼吸道病毒,即甲型流感病毒 (H1N1),生物样本中存在严重急性呼吸综合征冠状病 毒2型(SARSCoV-2)和呼吸道合胞病毒(RSV)。如 图 8(b)所示, 镀有 Fe₃O₄ NPs 的金表现出优异的化学 稳定性和光学稳定性,其抗氧化性比银强,将双层拉曼



图7 SERS标记法应用于甲型流感病毒的检测。(a)样品预处理去除杂质后提升SERS在甲型流感病毒检测方面的灵敏度^[64]; (b)IMBSIs@Ag-SERS方法用于H5N1流感病毒检测示意图^[65]

Fig. 7 SERS labeling method applied to the detection of influenza A virus. (a) Schematic diagram of using SERS assisted with prefiltering to sensitively detect influenza A virus ^[64]; (b)schematic of the IMBSIs@Ag-SERS method for H5N1 influenza virus detection^[65]

报告分子 DTNB修饰在 Fe₃O₄@Au MNPs上制备磁性 SERS标记,提供了强烈的 SERS信号和丰富的抗体结 合位点。采用捕获检测方法,该方法对H1N1、 SARSCoV-2和RSV的检测限分别达到85 copies/mL、 8 pg/mL和8 pg/mL。Liang等^[71]报道了一种基于金 核银壳双金属纳米粒子(Au@4-ATP@Ag NPs),发射 SERS和光热效应(PT)的新型LFIA,命名为SERS/PT 基双模LFIA(SERS/PT-dmlfia),对甲型流感病毒(IAV)、 乙型流感病毒(IBV)和 SARS-CoV-2(SARS-CoV-2)N 蛋白的检测,拉曼信号的检测限分别为 31.25 pg/mL、 93.75 pg/mL和31.25 pg/mL,温差信号的检测限分别 为 15.63 pg/mL、187.5 pg/mL和15.63 pg/mL。此装 置用于抗原检测时不仅具有较高的敏感性、准确性和 特异性,而且具有快速、简单的特点,在实验室检测、大 规模筛查和家庭自检等传染病快速诊断方面具有很大 的潜力。

3.3 SERS技术应用于其他RNA病毒检测

HIV 是一种能攻击人体免疫系统的 RNA 病毒, HIV/AIDS 被认为是全球卫生领域的主要挑战之一。 Anwar 等^[72]合成并应用了新型的金纳米立方体 (AuNC)来增强 SERS 信号,通过官能团的特定振动 带来研究 HIV-1DNA 链,在人类随机对照 DNA 和 HIV-1DNA 中均观察到3个新的拉曼峰。在银纳米粒 子(AgNPs)结合 DNA 的情况下,在几乎相同的位置



图 8 SERS标记检测法应用于多种呼吸道病毒的检测与鉴别。(a)双适体修饰的金纳米爆米花 SERS 基底用于病毒检测的工作原 理^[69];(b)采用Fe₃O₄@Au-based SERS LFA条同时定量检测 3种呼吸道病毒的检测示意图^[70]

Fig. 8 SERS labeling method applied to the detection and differentiation of multiple respiratory viruses. (a) Working principle of dual aptamer-immobilized Au nanopopcorn substrate for virus assays^[69]; (b) collection of throat swab sample and operating procedure for the simultaneous quantitative detection of three respiratory viruses via the Fe₃O₄@Au-based SERS LFA strip^[70]

获得了HIV-1病毒的所有特征。该技术具有高灵敏度 和高选择性,可进一步作为筛选全身HIV-1病毒颗粒 的生物标志物进行研究。Yadav等^[73]用掠射角沉积技 术制备了一种高度优化的银纳米棒阵列作为SERS基 底,如图9(a)所示,5种不同的HIV-1亚型(A、B、C、D 和CRF02_AG)在不同浓度(10²~10⁶ copies/mL)中发 现了明显的特征峰。病毒直接与银纳米棒结合,不使 用抗体或者衔接剂。纯化后的病毒被添加到水中和健康的血浆中,以捕获纯HIV-1峰并对数据进行进一步的确认和多元统计分析,结果表明了SERS平台检测和区分HIV-1病毒的能力,这意味着其在临床标本和分离株上的进一步验证。后续的工作当中,Yadav等^[74]继续病毒载量定量与疾病预后判断的临床研究,使用3种不同类型的SERS衬底:单臂Ag纳米棒、双



图 9 SERS 技术应用于艾滋病毒(HIV-1)病毒和诺如病毒(NoV)病毒检测。(a)用于 HIV 快速检测的手持 SERS 平台示意图^[73]; (b)分步双模式 NoV 检测^[77]

Fig. 9 SERS technology applied to the detection of human immunodeficiency virus (HIV-1) and norovirus (NoV). (a) Schematic diagram demonstrating rapid handheld SERS platform for HIV detection^[73]; (b) the stepwise dual-modality NoV detection^[77]

臂Ag纳米棒和Au溅射单臂Ag纳米棒,并对3种衬底的数据进行比较。结果表明,Au溅射银纳米棒具有最大的增强效应。用严格耦合波分析(RCWA)模拟研究了3种不同SERS衬底上的"热点"。为探索SERS平台实用性,对属于4个不同HIV-1亚型(A、B、C和D)的HIV-1毒株对应的SERS谱进行研究,结果表明

这些毒株有明显的区别,并利用PCA对SERS谱进行统计分析,证实SERS平台能够定量检测HIV-1病毒载量,并根据SERS谱区分HIV-1毒株。

诺如病毒(NoV),也称为诺如肠道病毒,它主要 通过飞沫、空气和直接接触等途径传播,感染后可引 起多种疾病,包括手足口病、脑脊髓炎等^[75]。Achadu

等^[76]利用NGS的聚合物结茧和刺激响应特性,将其 包裹在含有等离子体三氧化钼量子点的 SERS 纳米 标签(MoO3-QDs)中,开发了一种用于戊型肝炎病 毒(HEV)或诺如病毒超灵敏免疫分析的生物传感 平台。使用相应的病毒样颗粒对免疫分析进行了 优化,使HEV-LPs和Nov-LPs的检测限分别达到 6.5 fg/mL 和 8.2 fg/mL。在此工作的基础上, Achadu 等[77]从协同双模光学平台的构建入手,继续诺如病毒 快速检测的工作,将新颖的双模荧光(FL)和SERS 技术整合到单一探针中,如图9(b)所示,所研发的 FL-SER 基生物传感器依赖于新合成的硫掺杂琼脂 碳点(S-agCDs)的双信号增强。抗原-抗体免疫反应 导致诺如病毒抗体偶联的 S-agCDs 和多巴胺功能化 的磁性银纳米立方体[POLY(DOP)-MNPs-Ag NCs] 之间形成核卫星免疫复合物。采用免疫磁富集协 议并在单层石墨烯基底上进行 SERS 模式,诺如病 毒样颗粒的检测范围为1 fg/mL~10 ng/mL,良好 的检测下限为0.1 fg/mL。双信号传感器的联合优 势通过FL共聚焦成像展示,用于在SERS检测之前 追踪粪便标本中的临床诺如病毒,检测限可达约 10 RNA copies/mL_o

丙型肝炎病毒(HCV)是一种感染人类肝脏的 RNA 病毒,主要通过血液传播。丙肝感染可能引起 急性和慢性肝炎。急性丙型肝炎是一种在感染后持 续6个月的短期疾病,慢性丙型肝炎是一种长期疾 病,与肝脏持续受损有关,导致肝细胞癌、冷球蛋白血 症、肝硬化和肝纤维化[78]。因此用于丙型肝炎病毒鉴 定和定量的筛选对于疾病的控制与治疗尤为重要,而 金标准检测方法,如重组免疫印迹试验(RIBA)、酶联 免疫吸附试验(ELISA)和聚合酶链式反应(PCR)等, 均需要专业人员操作、成本高、用时长,而且需要特殊 的设备。为探究更加简洁快速的检测方案,Kashif 等^[79]以银纳米颗粒为底物,从不同临床诊断的HCV 阳性血清以及健康人血清中获得 SERS 谱,数据分析 表明,该方法能够区分健康样本和低、中、高病毒载量 组的丙型肝炎病毒样本。建立预测丙型肝炎病毒阳 性样本中病毒载量的 PLSR 模型,对丙型肝炎病毒感 染样本的 SERS 数据的 RMSEC 值为 0.11 log IU/mL, RMSEP值为0.24 log IU/mL,数据集的模型优度(R²) 为0.92。Rafiq等^[80]通过分析不同病毒载量的丙型肝 炎病毒阳性样本的病毒RNA的聚合酶链式反应产 物,建立可用于检测和定量丙型肝炎病毒载量的直接 的丙型肝炎病毒的 SERS 特征。采用基于 Ag纳米颗 粒的 SERS 技术将阳性的丙型肝炎病毒样本与健康 对照进行比较。用 PLSR 预测 RNA 的 VLs,可信度 为0.97,准确率为99%。

登革热是一种由四种抗原相距较远的血清型 (DENV1-4)登革病毒^[81]引起的蚊媒病毒病,主要通 过伊蚊和埃及伊蚊传播^[82]。登革热的检测通常包括

第 51 卷 第 9 期/2024 年 5 月/中国激光

血清学检测、分子生物学检测和病毒分离[81]。在早期 检测 DENV2 蚊子感染和预防人类感染方面,超灵敏 方法有限,因此Farokhinejad等^[83]提出一个基于纳米 的免疫分析平台,用于早期、特异和超灵敏地检测 单个感染蚊子中DENV2分泌的非结构1(NS1)蛋 白生物标志物,DENV2 NS1的检测限为500 fg。如 图 10(a) 所示,该平台使用电流体动力学驱动的纳米 混合来增强纳米酵母 scFvs 对 NS1的捕获,同时减少 非特异性相互作用。利用 NS1 特定的 SERS 纳米标 记实现了对捕获的 DENV2 NS1 的高灵敏度检测。 该纳米技术为在单一感染蚊子中早期检测 DENV2 提供了很大便利,改善了对蚊子栖息地的准确监测, 并预防了由 DENV2 传播引起的感染和严重疾病。 Song 等^[84]采用定位催化发夹组装(LCHA)和杂交链 反应(HCR)级联信号放大策略,建立了一种高灵敏 度的 DENV 基因 SERS 分析方法,如图 10(b)所示, SERS分析分两步进行,即级联信号放大策略的操作 和将产物转移到 SERS 活性 AgNRs 阵列上进行 SERS 检测, SERS 检测的线性范围为1 fmol~ 10 nmol,检测限为0.49 fmol,具有良好的特异性、一 致性和回收率。Jacob等^[85]开发了一种用于检测临床 标本中登革病毒的比色纳米传感器。该传感平台依 赖于 DNA 偶联的 AuNPs 与登革热基因组 RNA 之间 的特异性结合, DNA-RNA形成异源双链结构, 由于 是在酸性环境中的纳米聚集,金胶的红宝石红色变成 蓝色,这可以用肉眼或测量吸光度来检测。DNA 探 针的设计是为了结合在所有四种登革热血清型中都 能识别的基因组 RNA 保守区。以登革病毒1型 (DENV1)作为病毒检测的框架,所设计的纳米传感 器具有良好的特异性和选择性,检测限为1pg/µL (每次反应为~1.66×10⁶ RNA copies),包括提取步骤 在内的分析时间约为1h。

与登革病毒同为黄病毒科的寨卡病毒[86]、西尼罗 河病毒[87],作为主要流行病在人类群体中频繁暴发,已 造成严重的健康威胁和巨大的经济损失^[88]。Tripathi 等[86]在玻璃盖片上涂覆银纳米岛,并将其用作创建 SERS传感平台的表面。银纳米岛具有很强的等离子 体活性和良好的导电特性,可应用于寨卡病毒检测。 该传感器的检测限为 0.11 ng/mL,线性范围为 5~ 1000 ng/mL。Jia 等^[88]研制了一种便携式 SERS-侧向 流动免疫分析(LFIA)检测器,用于西尼罗病毒非结构 蛋白1(NS1)和实际样品的自动、高灵敏检测。利用双 层拉曼分子标记的 Au@Ag 纳米粒子(Au@Ag NPs) 作为 SERS 标签, 对西尼罗河病毒 NS1 蛋白的检测下 限为0.1 ng/mL,对灭活的西尼罗河病毒粒子的检测 限为0.2×10² copies/µL,灵敏度与荧光定量逆转录聚 合酶链式反应方法相当。所制备的 SERS-LFIA 对西 尼罗河病毒具有较高的敏感性和较好的特异性,具有 临床应用价值。



图 10 SERS 技术应用于登革热病毒(DENV)的检测。(a) 整合纳米酵母单链抗体亲和探针和基于纳米盒的 SERS 纳米标签,在单个感染蚊子样本中检测 DENV2 NS1 的示意图^[83];(b) 通过 LCHA 和 HCR 的级联无酶信号放大策略进行 DENV 基因的 SERS 分析示意图^[84]

Fig. 10 SERS technology applied to the detection of dengue virus (DENV). (a) Schematic of platform for DENV2 NS1 detection in a single infected mosquito sample with the integration of nanoyeast scFvs affinity probes and nanobox-based SERS nanotags^[83];
 (b) schematic illustration of SERS assay of DENV gene via a cascade enzyme-free signal amplification strategy of LCHA and HCR^[84]

4 SERS技术检测DNA病毒

DNA病毒是一类以DNA作为遗传物质的病毒, 这些病毒使用依赖于DNA的DNA聚合酶进行复制, 使DNA病毒能够在感染期间同时攻击人类的细胞和 代谢过程,使感染情况更加复杂^[2]。DNA病毒包含肝 炎DNA病毒、痘病毒、疱疹病毒、腺病毒等^[89],许多种 DNA病毒均具有癌化细胞的能力,例如EB病毒、乙肝 病毒等^[90]。

面对DNA病毒的感染与传播,SERS技术的应用

使检测方案更加快速准确,同时有望为病毒早期诊断和治疗提供有力的支持。乙肝病毒是一类小DNA病毒的原型,它能感染肝脏的主要细胞——肝细胞^[91],对于乙肝病毒的抗原检测,Kamińska等^[92]提出了检测人血浆中的乙肝病毒抗原(HBs)的SERS方法,如图11(a)所示,微流控装置中加入了一种新的活性很强的拉曼标志物碱性品红(FC)和一种独特的SERS活性底物,并具有结合抗体和金纳米结构的能力。用品红标记的免疫金纳米花可以将抗原和抗体固定在以Au-Ag包覆的GaN表面的SERS活性基底上,形成三明治结构。

第 51 卷 第 9 期/2024 年 5 月/中国激光

对乙肝病毒抗原的最低检测下限为0.01 IU/mL。该方 法的平均相对标准偏差(RSD)小于10%。在乙肝病毒 检测的方案中,反式激活的CRISPR-Cas系统在核酸检 测中表现出了良好的敏感性和特异性,Du等[93]开发了 一种基于无扩增的病毒 DNA 生物传感器的诊断方法, 如图 11(b)所示,这种方法可以通过改变 crRNA 序列来 特异性地识别靶点。此外,通过对病毒 DNA 的定量检 测可以确定疾病的潜伏期和发展。该系统可以在 50 min内基于CRISPR/Cas12a的生物传感器快速、简 单和灵敏地检测乙肝病毒核酸,检测范围为0.1 pmol~ 1 nmol。Batool等^[94]则采用SERS对乙肝病毒感染者 和健康人的DNA进行聚合酶链式反应产物分析,对乙 肝病毒阳性样本和健康样本进行 SERS 数据集的 PCA 进一步阐明了疾病样本和健康样本的区别。用 PLSDA进一步检验分类的有效性,其敏感性和特异性 分别为89%和98%。将未知病毒载量的SERS光谱数 据作为盲样本,构建了预测乙肝病毒阳性样本中病毒 载量的PLSR模型。PLSR模型的均方根误差为 0.2923, R²为0.9031, 保证了模型的有效性。

猴痘(MPX)是一种由猴痘病毒 MPXV 引起的人 畜共患病,会引起一种类似天花的疾病。2022年, MPX的地方病状态更新为全球暴发,并被宣布为全球 卫生紧急情况^[95]。临床症状如发烧、肌肉和头痛、淋巴 结肿大和皮疹是第一步诊断的指标^[95]。根据临床体 征,常规聚合酶链式反应或实时定量聚合酶链式反应 等实验室标准的传统诊断方法,目前已不能满足 MPXV 感染早期快速检测的需要。Zhang 等^[96]试图在 不需要设计特定探针的情况下捕捉 MPXV 基因组和 多个抗原蛋白的特征指纹,使用与碘离子孵育和与钙 离子聚集的银纳米颗粒作为底物,结合聚合酶链式反 应来识别血清中4种不同 MPXV 蛋白抗原的 SERS 谱。可在2min内检测到低至5ng/mL的MPXV蛋白 和低至100 copies/mL的MPXV核酸;在5 min内识别 和区分血清中不同蛋白质的 SERS 光谱,说明此方案 可以在生物背景中准确地鉴定 MPXV 蛋白抗原。Yu 等^[97]研究并提出了一种比色/SERS 双信号共增强免 疫层析分析(ICA)方法,如图11(c)所示,MoS。片的化 学增强效应与Au-Au热点的电磁增强效应相结合,大



图 11 SERS 技术用于乙肝病毒(HBV)、猴痘病毒(MPXV)等DNA病毒的检测。(a)微流控器件与基于 Au-Ag 涂层 GaN 表面的 SERS 活性衬底的集成示意图^[92];(b) CRISPR/CAS12a-SERS 原理分析示意图^[93];(c) 比色-SERS 双模 ICA 检测 MPXV 的示意图^[97]

Fig. 11 SERS technology used for the detection of DNA viruses such as hepatitis B virus(HBV) and monkeypox virus(MPXV).
 (a) Schematic illustration showing the integration of a microfluidic device with the SERS-active substrate based on Au-Ag coated GaN surface^[92]; (b) schematic diagram of CRISPR/Cas12a-SERS principle analysis^[93]; (c) the principle of MPXV detection by colorimetric-SERS dual-mode ICA^[97]

大提高了薄膜状双信号标签(MoS₂@Au-Au)的SERS 活性,MoS₂@Au-Au的引入大大拓宽了现有免疫分析 方法的应用范围,其中,比色信号支持目标病毒的快速 识别,SERS允许MPXV的定量检测,检测下限分别为 0.20 ng/mL和0.002 ng/mL。对实际样品的高准确度 检测可以在20 min内完成。

爱泼斯坦-巴尔病毒(EBV)感染全球约90%的成 年人^[98],主要通过唾液传播,感染该病毒可能导致鼻咽 癌和淋巴瘤,与大多数急性病毒性疾病如流感不同,有 症状的原发 EBV 感染的潜伏期异常长,持续约6 周^[98-99],一旦感染,在某些条件下,EBV可以重新激 活^[98],因此在临床医学上有必要对EBV进行高灵敏度 的检测。Tiwari等^[100]研究了两种可能的现象,一种是 细胞对病毒附着和入侵的反应,另一种是病毒复制后 从宿主细胞中流出。这些变化与感染和未感染细胞中 特定生物分子相关的独特拉曼光谱相对应。Sun等^[101] 设计并制作了一种基于TMB显色单元和拉曼检测单 元的微流控芯片,实现了EBV抗体生物标志物的可视 化定量检测。该传感器由聚苯乙烯/金纳米粒子(PS/ AuNPs)微球阵列在石英衬底上组成,通过PS微腔的 光场与AuNPs的等离子激元的协同耦合,初始SERS 信号被放大到纯AuNPs的10倍。可以在TMB颜色 的辅助下进行视觉预测,并可以获得动态线性范围为 10⁻¹~10⁵ pg/mL和低至0.045 pg/mL的表面增强拉曼 光谱响应。单纯疱疹病毒1型(HSV-1)和爱泼斯坦-巴尔病毒属于疱疹病毒家族中已知的9种人类疱疹病 毒类型^[102], Pezzotti等^[103]目前对疱疹病毒的拉曼光谱 研究证实了HSV-1和EBV在分子水平上多样化的一 些基本特征, PCA 后能够通过拉曼光谱清楚地区分 EBV和HSV-1,从而为快速检测奠定了基础。

腺病毒是一种大型 DNA 病毒[104], 超过 80 种不同 类型的腺病毒(ADV)通过呼吸道、眼部或胃肠道感染 人类,它们会引起急性临床症状,或在体液和细胞免疫 下持续存在。免疫抑制的人有死于 ADV 感染的风 险[103,105]。因此在病毒感染监测和控制系统中,在早期 阶段快速准确地检测和识别病原体是至关重要的。 Chang 等^[106]将具有不同压痕深度的倒三角形 Au 纳米 腔均匀地排列形成病毒定性检测的衬底。底物能够将 大小相当的靶病毒携带到纳米腔中,作为一个整体,纳 米腔发挥其活性,形成表面增强的拉曼散射。通过底 物的电磁感应效应,可以将病毒与其表面的氨基酸 区分开来。脑心肌炎病毒或腺病毒的检测浓度为 10⁶ PFU/mL, 流感病毒的检测浓度为 10⁴ PFU/mL, 该底物可用于目标病毒的快速筛选检测。Kukushkin 等^[107]研制了一种多路光刻 SERS 适体传感器,该传感 器可以在17 min内同时检测多种呼吸道病毒。4个标 记的适体被锚定在4个 SERS 区的金属表面,捕获的 病毒影响标记的 SERS 信号,该传感器能够通过一步 识别在一次实验中解码 SARS-CoV-2、甲型流感病毒、

第 51 卷 第 9 期/2024 年 5 月/中国激光

呼吸道合胞病毒和腺病毒的混合物。Zhang等^[37]提出 了一种新的增强型底物,可用于呼吸道病毒的SERS 检测。硼氢化钠将银离子还原成簇状银纳米颗粒,消 除了传统柠檬酸盐还原剂的无序峰信号,同时获得了 SARS-CoV-2、人7型腺病毒、H1N1病毒等多种呼吸 道病毒的指纹图谱和浓度依赖曲线,具有良好的线性 关系。结合线性判别诊断分析(LDA),可在2min内 在血清和唾液中鉴定出这3种病毒。

近几年 CRISPR/Cas-SERS 平台的应用也为 SERS技术在病毒检测领域提供了更为灵敏和快速的 检测方案。常间回文重复序列丛集/常间回文重复序 列从集关联蛋白系统(CRISPR/Cas)技术是一种基因 编辑技术,以其灵敏度、特异性、高碱基分辨率和对核 酸识别的可编程性等特点,被重新用于分子诊断,为生 物传感领域开辟了一条新的道路^[108]。将 SERS 技术 与之相结合可以将核酸信号灵活地转换放大为SERS 信号^[109]。正如上述图 11(b)的工作所示, Du 等^[93]正是 利用此平台检测 HBV 病毒的 DNA。除此之外, Su 等^[110]设计了 CRISPR/Cas12a-SERS 新型 SERS 基因 检测平台,在40 min内实现了血清和伪病毒中人乳头 瘤病毒(HPV)基因HPV 16和HPV 18的高灵敏度检 测,该CRISPR/Cas-SERS平台检测灵敏度可达到 pmol。同时该课题组^[111]基于CRISPR/dCas9技术和 酶催化扩增反应,建立了SERS检测方法,实现了对低 量 HPV 基因的简洁、快速检测。如图 12(a)所示, CRISPR/dCas9/sgRNA复合物被固定在磁珠上,可以 精确捕获目标 DNA 序列,对 HPV 基因表现出高选择 性,实验中HVP 16 DNA 的检测浓度范围为 30~ 190 ng,此传感检测方法能够满足ng水平的病毒DNA 检测,可以简单地通过改变 sgRNA 序列来应用于其他 靶 DNA。Wang 等^[112]采用 SERS 技术结合 CRISPR/ Cas12a系统对非洲猪瘟病毒(ASFV)进行无扩增基因 检测。采用两种信号增强策略,提高液相检测灵敏度 并达到调频级。一是Cas12a蛋白的无限反分裂功能, 二是磁诱导收集探针,可以收集溶液到激光光斑的分 析物,并提供大量 SERS 热点。对目标基因的检测限 为100 nmol~10 fmol,无需基因扩增步骤。该传感方 法实现了血清系统中ASFV基因和病毒样本中提取 的核酸的SERS检测,具有较高的灵敏度和选择性,相 对标准偏差<8%。

CRISPR/Cas-SERS平台也在一些工作中被应用 于 RNA 病毒的检测,Liang等^[113]开发了基于无扩增 SERS 的 CRISPR 检测 SARS-CoV-2 的诊断平台,节 省了核酸扩增时间,该无扩增平台可在 30~40 min 实 现检测鼻咽拭子标本(*n*=112)中提取的 SARS-CoV-2 衍生核酸的检测。Ma等^[109]提出了一种能够在单支血 管中超灵敏、超快速、准确、便携地检测 SARS-CoV-2, 且无扩增和抗干扰的方案,通过定制一种巧妙的容器, 可以将 RNA 反转录、Cas12a 反切、SERS 纳米探针交



图 12 CRISPR/Cas-SERS 平台应用于病毒遗传物质的检测。(a)基于 CRISPR/dCas9的 SERS 检测方法,辅助 HRP 催化并放大信 号的基因检测示意图^[111];(b)无扩增检测 ASFV dsDNA的 CRISPR/Cas12a-SERS 检测示意图^[112]

Fig. 12 CRISPR/Cas-SERS platform applied to the detection of viral genetic material. (a) Schematic diagram of the gene detection by using the CRISPR/dCas9-based SERS method, assisted with HRP-Catalyzed signal amplification^[111]; (b) schematic diagram of the proposed CRISPR/Cas12a-SERS platform for amplification-free ASFV dsDNA detection^[112]

联等步骤集成到一个单独的处理容器中,整个检测过 程在45 min之内完成,该生物测定法检测灵敏度为 200 copies/mL,检测限为1.9 copies/mL。

5 基于 SERS 技术 便携式拉曼检测 设备的应用

随着技术的进步,拉曼仪器的小型化、便携化无疑极大地推动了SERS技术即时即地检测^[14]。point-ofcare testing(POCT)技术是指在患者的就诊地点进行的 实时、便捷、即时的医学检测,SERS检测通常只需要极 小的样本量,这与POCT的理念相契合。SERS检测结 合便携式拉曼仪器,能够在短时间内提供高灵敏度的分析结果。这使得在患者就诊的地点,如医疗机构或临床现场,能够即时获取检测结果,有助于医生更迅速地作出医学决策。便携式拉曼仪器通常小巧轻便,易于携带,能够在不同的医疗场景中方便地进行 SERS 检测。此外,SERS 技术的操作相对简单,可由非专业人员进行,使其在 POCT 应用中更具可行性。

在现有的许多研究中,将便携式拉曼光谱仪作为 应用场景拓展的工具基础,基底结构的模式也随之更 加稳定,样式也更加丰富。整体的检测方案也越发完 善,更加凸显鉴别准确、制备简单、操作便捷、灵敏度

第 51 卷 第 9 期/2024 年 5 月/中国激光

高、重复性好等优势。Kaladharan等^[115]提出一种新型的基于一锅SERS的免疫分析方法,使用便携式拉曼光谱仪,无需进行任何洗涤过程,即可检测SARS-CoV-2。如图13(a)所示,SERS免疫分析设计为常规的数字多功能光盘(DVD)底物与拉曼报告标记的银

纳米颗粒相结合,以实现双重钳制效果。在20 min的时间内,SERS平台对SARS-CoV-2 刺突蛋白和病毒样颗粒蛋白在磷酸盐缓冲盐水中的检测下限高达50 pg/mL,在未经处理的唾液中添加VLP蛋白的检测限为400 pg/mL,结合便携式拉曼装置可实现具有高



图 13 便携式拉曼光谱仪设备应用于 SERS 病毒检测方案。(a)基于 SERS 的免疫分析平台(配合使用便携式拉曼光谱仪)^[115];(b)基 于金电沉积纳米结构的 SERS 技术用于检测甲流病毒 H1N1^[116];(c)一步法适配体识别技术结合手持式拉曼光谱仪,可在 5 min 内快速即时检测 SARS-CoV-2病毒^[51]

Fig. 13 Portable Raman spectrometer devices applied to SERS virus detection schemes. (a) Schematic illustration of SERS based immunoassay platform(with a portable Raman spectrometer)^[115]; (b) schematic diagram of the detection of influenza A virus H1N1 by SERS and gold electrodeposition nanostructure^[116]; (c) schematic diagram of a SERS detection method based on one-step aptamer identification using a portable Raman spectrometer for rapid and point-of-care detection of SARS-CoV-2 virus in less than 5 minutes^[51]

灵敏度的快速检测。Ansah等^[116]通过在三维Au纳米 阵列上原位电化学合成三维等离子体-探针分子复合 皮肤层来快速、超灵敏地直接检测化学物质和生物大 分子(即被包裹的病毒),分层复杂结构的小分子和大 型甲型流感病毒(H1N1)作为一个结构基元,通过金 的电沉积形成Au-病毒纳米复合结构,从而原位形成 SERS的热点。如图13(b)所示,光学便携式探针光谱 仪系统同步进行电沉积和 SERS 测量, 为化学和生物医 学应用提供了高灵敏度和快速无标记的直接检测的通 用平台。Pramanik等^[117]开发了一种新型的抗尖峰抗体 附着金纳米颗粒,用于病毒的快速诊断和抑制。抗体 结合的GNPs可以通过简单的比色变化用于肉眼检测 新冠肺炎病毒抗原或假性SARS-CoV-2,在5min内肉 眼即可检测到1ng/mL的抗原。使用便携式拉曼分析 仪,抗体和4-氨基硫酚修饰的纳米金表面增强拉曼光 谱探针即使在浓度为4 pg/mL的情况下也能够检测到 新冠肺炎抗原,最低检测限为每毫升18个病毒颗粒。

在上述提及的许多工作中也选择便携式拉曼光谱 仪作为检测仪器,为SERS检测平台的应用提供了更 丰富的场景和适用范围,如Lai等^[50]的SERS-LFA方 法即使用便携式设备,使得检测过程变得更加方便、简 单。SERS-LFA可能成为一种变革性的技术,并以其 敏感、定量、方便、快速、和用户友好的特点成为POCT 理想的检测形式。如图 13(c)所示, Guan 等[51]应用便 携式拉曼光谱仪能够在其研发的 SERS 平台上在 5 min 内完成对 SARS-CoV-2 无预处理快速现场诊断 检测。在口咽拭子样本盲测中,通过手持拉曼光谱仪 即时区分阳性和阴性拭子样本时,OSARRA的灵敏度 为 95%, 特异性为 100%。Jia 等^[88]所制备的 SERS-LFIA 试条对西尼罗河病毒具有较高的敏感性和较好 的特异性,便携式SERS-LFIA 检测器实现了SERS-LFIA 试条的自动和快速检测。Gribanyov等^[62]在甲流 病毒的检测过程中,通过适配子增强流感血凝素的特 异性,通过SERS衬底技术的优化提升灵敏度,分析时 间短且样品制备简单,结合便携式拉曼仪器归类为快 速诊断试验。Sun等^[101]的基于PS/AuNPs微球阵列作 为活性底物的便携式 SERS 微流控芯片,用于定量检 测靶标 EBV IgG,结合商用便携式拉曼系统,可以快 速准确地在现场诊断疾病,解决了POCT性能和灵敏 度之间的长期权衡问题,为实现通用微芯片在家庭中 进行疾病早期筛查提供了可能性。

RNA病毒检测方案具体参数见表1,DNA病毒检测方案具体参数见表2。

6 总结与展望

近年来以SARS-CoV-2为首大规模传播的流行 性病毒让全世界的目光集中在快精准的病毒检测和 诊断研究中,而SERS技术凭借其超高检测灵敏度和 较短的检测时长在病毒检测方面表现出了巨大的应

第 51 卷 第 9 期/2024 年 5 月/中国激光

用潜力。本文主要概述了 SERS 技术在近三年病毒 检测领域的应用进展。SERS 技术在病毒检测中的 效能受到多个关键因素的影响,包括增强基底的设 计、激发条件、标记物和分析物特性、检测设备,以及 数据分析等因素进步^[6],提高检测速度以及灵敏度, 降低检测复杂度以便更高效地检出病毒,是该技术的 目标与方向。

在非标记检测方面,由于待测目标物自身的拉曼 信号微弱,因此寻求高增强因子的基底成为关键。目 前 SERS 技术的进展和方向主要集中在设计具有强增 强因子基底、创新基底的功能化修饰,包括纳米基底形 态修饰,如金字塔型、漏斗型、丛林型、阵列型等、分子 印迹技术、表面化学修饰的蛋白和核酸适配体的应用, 以实现对待测目标的富集、识别和分析[118]。而在病毒 种类鉴别、病毒亚型鉴别的过程中,针对不同类别病毒 成分相似导致的光谱信号差异较小的问题,强大的机 器学习方法和深度学习方法的使用显得尤为重要。当 SERS技术结合支持向量机、主成分分析、随机森林、 逻辑回归特征选择法等机器学习方法处理大量非标记 SERS 信号时,可提高对复杂样本的分析和识别的准 确性。目前的大量工作只单一侧重于对病毒光谱的分 析鉴别,不同的研究中对同一物质的SERS信号的检 测结果仍然存在显著差异,缺少检测的标准化和大量 数据的统计归纳。而深度学习技术的应用可分析处理 大规模数据集,包括用于提取SERS信号谱峰强度和 位置等复杂特征,有助于卷积神经网络(CNN)和深度 神经网络(DNN)在SERS分析技术中的发展,推动基 于深度学习的病毒SERS光谱数据库的建立。

对于标记检测而言,SERS技术在标记分子物质种 类的发掘应用、免疫反应方面,特别是对具有强烈信号 的探针的研发已取得一定进展。未来的工作方向包括 发展更多样化、功能化的SERS探针,以实现多种病毒 的联合检测。为提高SERS检测效率、结果准确度,降 低检测极限,寻找具有强烈信号且光学非干扰的SERS 探针分子至关重要。设计并使用信号处于静默区 (1800~2800 cm⁻¹)的拉曼探针分子就是一种理想的检 测方案,可以避免内源性生化分子信号(位于 300~ 1800 cm⁻¹)的信号干扰,提升检测的可靠性和准确性。 此外,在标记检测模型的设计中,可引入内标分子对信 号进行实时、动态的校准,有助于避免检测环境和激光 功率波动带来的检测误差,从而提高检测的可靠性。

随着小型拉曼检测装置的发展,SERS技术的应 用场景已不再局限于配备大型拉曼检测仪器的专业实 验室。SERS技术在便携式甚至手持式拉曼设备的支 持下,可为大规模的病毒POCT检测提供有力的工 具。在检测流程的设计中,根据病毒检测时效性的需 求,进一步精简样品处理过程,缩短检测时间,还需考 虑使非专业人员操作的可行性与易用性。为应对复杂 的病毒流行大环境,设计具有多重病毒检测功能的集

第 51 卷 第 9 期/2024 年 5 月/中国激光

成化微型检测芯片,配合小型拉曼检测装置是未来病毒 POCT 检测的理想形态。另外,可尝试将 SERS 技术其他检测技术相结合,如化学分离技术、生物捕获技术、比色技术、机器学习、深度学习、人工智能等方案,充分发挥各项技术优势,在未来开拓创新出集样品处

理、检测、分析、统计、结果传输与显示为一体的拉曼分 析设备,满足不同领域的现场和实时测试需求。我们 相信 SERS 技术配合小型化的拉曼装置将为病毒筛 查、分型、感染监测、感染预后等方面提供一种简便、高 效、精准的光学 POCT 检测新方法。

表1 RNA病毒检测方案对照表

Label method	Type of virus	Virus species	SERS platform	Target	Dynamic range	Methods used	Sample solution	Time	LoD	Reference
Label free	RNA virus	SARS-CoV-2	gold- nanoneedles array	S-protein		PCA & DA	saliva urines	5 min	80 copies/mL	[36]
Label free	RNA virus	SARS-CoV-2	SERS-active surfaces	S-protein			PBS		$< 1 \mathrm{pg/mL}$	[39]
Label free	RNA virus	SARS-CoV-2	Au nanoplate film/MgF2/ Au mirror/ glass	S-protein	1.25×10^{-6} - $4.7 \times 10^{-3} \text{ g/mL}$	VTM, PCA PLS-DA	saliva		$\begin{array}{c} 2.8\times\\ 10^{^{-11}}\text{g/mL} \end{array}$	[40]
Label free	RNA virus	SARS-CoV-2 Omicron	Ag platform	ssRNA			PBS			[41]
Label free	RNA virus	SARS-CoV-2 influenza A H1N1	metal-insulator- metal nanostructures	S protein HA protein		PCA random forest algorithm	saliva	25 min	10 ³ copies/mL	[42]
Label free	RNA virus	SARS-CoV-2	GAgNPs paper sensor	S-protein			saliva	2 min	$2.4 \text{ pg}/\mu L$	[43]
Label free	RNA virus	SARS-CoV-2	spherical SnS ₂ structure	S protein RNA	$10-10^{10}$ copies/mL	PCA	saliva, stool, urine, blood, items	5 min	80 copies/mL	[44]
Label free	RNA virus	SARS-CoV-2	Cu₂O nanoarray	RNA	100– 10 ⁶ copies/mL		respirat ory swab RNA extracts	5 min	80 copies/mL	[45]
Label free	RNA virus	SARS-CoV-2 Beta, Delta, Wuhan, Omicron	Ag INPs	S protein		PCA, logistic regression algorithm	saliva nasal swab	15 min		[47]
Label free	RNA virus	SARS-CoV-1 SARS-CoV-2	Au nano- pyramids	single- particle		LDA, HCA Modle training	saliva	5 h		[46]
Label free	RNA virus	SARS-CoV-2 wild-type, Alpha, Delta, Omicron	3D porous AgMEN	S protein N protein	1.0 fg/mL- 1 mg/mL 1.0 pg/mL- 1 mg/mL 1.0 pg/mL- 1 mg/mL		saliva		1.0 fg/mL 1000 fg/mL 100 fg/mL	[48]
Label free	RNA virus	MERS-CoV SARS-CoV SARS-CoV-2 HCoVHKU1 HCoV-OC43	Ag-coated Si substrates	S-protein		MLP	PBS			[49]

Table 1	Comparison	table of RNA	viral detection	protocols
I UDIC I	Comparison	tuble of fertil	vinar actection	p10100010

第 51 卷 第 9 期/2024 年 5 月/中国激光

续表

Label method	Type of virus	Virus species	SERS platform	Target	Dynamic range	Methods used	Sample solution	Time	LoD	Reference
4-MBA	RNA virus	SARS-CoV-2	Ag-LFA	N-protein	10– 1000 ng/mL		saliva	15 min	0.03 ng/mL	[50]
Nile BlueA	RNA virus	SARS-CoV-2	Magnetic beads	viral particles	250– 10000 TU/μL		PBS, swab samples	5 min	124 TU/μL	[51]
GNPs	RNA virus	SARS-CoV-2	magnetic nanoparticles	S-protein	4.1×10^4 genomes/mL		saliva	30 min	257 fg/mL	[52]
4-MBA	RNA virus	SARS-CoV-2	Au NPs	S-protein	1 fg/mL- 1ng/mL 10 fg/mL - 10 ng/mL		PBS saliva serum blood		0.77 fg/mL 6.07 fg/mL 7.60 fg/mL 0.10 pg/mL	[53]
MMC DTNB TFMBA MBA	RNA virus	SARS-CoV-2 Delta, Omicron	Au—Ag nanobox-based SERS barcodes	S protein N protein			nasal swab		20 virus/μL or 50 pg/mL	[54]
DTNB	RNA virus	SARS-CoV-2	Ag NRs	RNA	$10^{2} 10^{6} \text{ copies/mL}$		PBS	50 min	51.38 copies/ mL	[55]
4-MBN	RNA virus	SARS-CoV-2	Au@ 4MBN@Ag NPs	RNA	$10^{-6} - 10^{-12} M$		PBS	10 min	$7.61 imes$ 10^{-14} mol	[56]
4-MBA	RNA virus	SARS- CoVM-2	Au nanopopcorn	S-protein	0- 1000 PFU/mL		PBS	15 min	10 PFU/mL	[57]
DTNB	RNA virus	SARS-CoV-2	AuNP-rGO- SW	N-protein	1 fmol- 100 amol		PBS		1 fmol	[58]
Label free	RNA virus	SARS-CoV-2	Au NPs	RNA	160 fmol- 1 nmol	Colorimetric fluorescenc	PBS	40 min	395 fmol	[59]
MGIT C	RNA virus	SARS-CoV-2	Au NDs	RdRp genes		SERS- PCR	PBS		_	[60]
Label free	RNA virus	Influenza A Influenza B	Ag NPs	viral particles		SVM	PBS		0.05 μg/mL	[61]
Label free	RNA virus	Influenza A	Ag NPs	viral particles	$\begin{array}{c} 2 \times 10^{5} 2 \times \\ 10^{6} \text{ VP/mL} \end{array}$		PBS	15 min	$2 \times 10^5 \mathrm{VP/mL}$	[62]
Label free	RNA virus	Influenza A	Ag NPs	viral particles	10^{3} –5× 10^{10} virus Particles/mL		PBS		10 ³ particles/ mL	[64]
Label free	RNA virus	Influenza A H5N1	IMBSIs@Ag	viral particles			PBS		$5.0 imes 10^6$ TCID ₅₀ /mL	[65]
Су3	RNA virus	Influenza A	Ag NPs	viral particles			PBS		10 VP/mL or 2 VP/mL per probe	[66]
MGIT C	RNA virus	Influenza A SARS-CoV-2	Au NPs	N-protein	0- 8064 HAU/mL 50- 1000 PFU/mL		nasopha ryngeal samples		23 HAU/mL 5.2 PFU/mL	[67]
Label free	RNA virus	Influenza A SARS-CoV-2 hCoV-229E	Gold particles	viral particles		AI, RVM, PCA	PBS			[68]
Cy3 RRX 4-MBA	RNA virus	SARS-CoV-2 Influenza A	Au nanopopcorn substrate	S-Protein hemaggluti nin	0.32- 200 PFU/ml 0.13- 80.6 HAU/mL		PBS	15 min	0.62 HAU/mL 0.78 PFU/mL	[69]

第 51 卷 第 9 期/2024 年 5 月/中国激光

续表

Label method	Type of virus	Virus species	SERS platform	Target	Dynamic range	Methods used	Sample solution	Time	LoD	Reference
DTNB	RNA virus	influenzaA SARS-CoV-2 RSV	Fe ₃ O ₄ @Au core - shell MNPs	viral antigen			throat swab samples	15 min	85 copies/mL 8 pg/mL 8 pg/mL	[70]
4-ATP	RNA virus	influenza A influenza B SARS-CoV-2	Au ^{4-ATP} @Ag NPs	N-protein		Photother mal effect	pharyng eal swab samples	<20 min	31.25 pg/mL 93.75 pg/m: 31.25 pg/mL	[71]
Label free	RNA virus	HIV	Au NCs	HIV-1 DNA			Millipor e water			[72]
Label free	RNA virus	HIV(A,B, C,D,CRF0 2_AG)	Ag nanorods	viral particles	10^{2-} 10^{6} copies/mL	PCA	plasma			[73]
Label free	RNA virus	HIV(A,B, C,D)	Au sputtered Ag nanorods	viral particles		PCA	plasma			[74]
MoO ₃ - QDs	RNA virus	HEV,NoV	nanogels (NGs)	viral particles	10^{2-} 10^{8} copies/mL		PBS		6.5 fg/mL 8.2 fg/mL	[76]
S- agCDs	RNA virus	NoV	Poly(DOP) -MNPs-Ag NCs	viral particles	1 fg/mL- 1 ng/mL	FL-SER	PBS	5 min	10 RNA copies /mL	[77]
Label free	RNA virus	HCV	Ag NPs	viral particles		PLSR, RMSECV, R ²	serum			[79]
Label free	RNA virus	HCV	Ag NPs	RNA		PLSR, PCA	serum			[80]
Label free	RNA virus	DENV-2	NANOBOX	DENV2- NS1			PBS			[83]
Label free	RNA virus	DENV	Ag NRs array	RNA	1 fmol–10 nmol		serum		0.49 fmol	[84]
Label free	RNA virus	DENV	Au NPs	RNA	_		serum		$1 \text{ pg}/\mu L$	[85]
Label free	RNA virus	Zika virus	Ag NIs	Zika antigen	5–1000 ng/mL		PBS		0.11 ng/mL	[86]
Label free	RNA virus	WNV	Au@Ag NPs	WNV-NS1 inactivated WNV virions			PBS		0.1 ng/mL 0.2×10^2 copies/ μ L	[88]
Label free	RNA virus	EMCV influenza A	triangular Au nano-cavities array	virus particles			PBS		10 ⁶ PFU/ mL 10 ⁴ PFU/ mL	[106]
4-MBA	RNA virus	SARS-CoV-2	DVD	VLP protein S-Protein	100 pg/mL- 1000 ng/mL		PBS saliva	20 min	50 pg/mL 400 pg/mL	[115]
4-ATP	RNA virus	SARS-CoV-2	Au NPs	virus particle S-Protein			PBS	5 min	18 Vp/mL 4 pg/mL	[117]
4-ATP	RNA virus	SARS-CoV-2	SERS- CRISPR/ Cas12a	SARS- CoV-2 N gene			nasopha ryngeal swab samples	40 min	1 fmol	[113]
4-MBA	RNA virus	SARS-CoV-2	CRISPR/Cas1 2a-OVER- SARS-CoV-2	SARS- CoV-2 gene			nasopha ryngeal swab samples	45 min	1.9 copies/mL	[109]

第 51 卷 第 9 期/2024 年 5 月/中国激光

										续表
Label method	Type of virus	Virus species	SERS platform	Target	Dynamic range	Methods used	Sample solution	Time	LoD	Reference
Су3	RNA virus	SARS-CoV-2 influenza A RSV	Si substrates	antigens			Nasal swabs	17 min		[95]
Label free	RNA virus DNA virus	SARS-CoV-2 influenza A	clustered silver nanoparticles	virus particle		LDA	PBS saliva		10 PFU/test	[51]

表 2 DNA 病毒检测方案对照表 Table 2 Comparison table of DNA viral detection protocols

Label method	Type of virus	Virus species	SERS platform	Target	Dynamic range	Methods used	Sample solution	Time	LoD	Reference
FC	DNA virus	HBV	GaN/Au-Ag SERS substrate	HBsAg	0.0125– 60 IU/ml		plasma		0.01 IU/mL	[92]
4-ATP	DNA virus	HBV	Au NPs@4- ATP	HBV DNA	1 pmol– 1 nmol	PCA	serum	50 min	0.67 pM	[93]
Label free	DNA virus	HBV	Ag NPs	HBV DNA		PCA, PLS-DA	Blood			[94]
Label free	DNA virus	MPXV	Ag@cit	M1R proteins		PCA	serum		100 copies/mL	[96]
DTNB	DNA virus	MPXV	MoS ₂ @Au-Au	MPXV antigens	100– 0.01 ng/mL	colorimetry	throat swab specimens	<20 min	0.002 ng/mL	[97]
Label free	DNA virus	EBV		RBV Infection		PCA, Mann- Whitney U test, IPA, IPKB	Glial Cells			[100]
R6G TMB	DNA virus	EBV	PS/Au NPs	EBV IgG	$10^{-1}-$ $10^{5}\mathrm{pg/mL}$		blood	10 min	0.045 pg/mL	[101]
Label free	DNA virus	HSV-1, EBV	nanoparticles	antigens		PCA	cell confluence			[103]
Label free	DNA virus	Adenovirus	triangular Au nano-cavities array	virus particles			PBS		10 ⁶ PFU/mL	[106]
СуЗ	DNA virus	Adenovirus	Si substrates	antigens			Nasal swabs	17 min		[95]
Label free	DNA virus	Adenovirus 7	clustered silver nanoparticles	virus particle		LDA	PBS, saliva		10 PFU/test	[51]
MBN	DNA virus	HPV	CRISPR/Cas- SERS platform	HPV16/ 18 dsDNA	6.72×10^{-12} mol-6.72× 10^{-7} mol		serum	40 min		[110]
TMB	DNA virus	HPV	CRISPR/ dCas9-SERS AuNC@SiO ₂	HPV 16 pseudovir us genes	30 ng-190 ng		$\mathrm{H_{2}O}$			[111]
4-MBA	DNA virus	ASFV	CRISPR/Cas1 2a-SERS platform	ASFV dsDNA	100 nmol– 10 fmol		serum	2 h	10 fmol	[112]

第 51 卷 第 9 期/2024 年 5 月/中国激光

参考文献

- Kirtane A R, Verma M, Karandikar P, et al. Nanotechnology approaches for global infectious diseases[J]. Nature Nanotechnology, 2021, 16(4): 369-384.
- [2] Durmuş S, Ülgen K Ö. Comparative interactomics for virushuman protein-protein interactions: DNA viruses versus RNA viruses[J]. FEBS Open Bio, 2017, 7(1): 96-107.
- [3] Saviñon-Flores F, Méndez E, López-Castaños M, et al. A review on SERS-based detection of human virus infections: influenza and coronavirus[J]. Biosensors, 2021, 11(3): 66.
- [4] Morens D M, Fauci A S. Emerging pandemic diseases: how we got to COVID-19[J]. Cell, 2020, 182(5): 1077-1092.
- [5] Xiao M, Tian F, Liu X, et al. Virus detection: from state-of-theart laboratories to smartphone-based point-of-care testing[J]. Advanced Science, 2022, 9(17): e2105904.
- [6] Lukose J, Barik A K, Mithun N, et al. Raman spectroscopy for viral diagnostics[J]. Biophysical Reviews, 2023, 15(2): 199-221.
- [7] Lin C Y, Hwang D, Chiu N C, et al. Increased detection of viruses in children with respiratory tract infection using PCR[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2020, 17(2): 564.
- [8] Liu S Q, Li X, Deng C L, et al. Development and evaluation of one-step multiplex real-time RT-PCR assay for simultaneous detection of Zika virus and Chikungunya virus[J]. Journal of Medical Virology, 2018, 90(3): 389-396.
- [9] Ou T P, Yun C, Auerswald H, et al. Improved detection of dengue and Zika viruses using multiplex RT-qPCR assays[J]. Journal of Virological Methods, 2020, 282: 113862.
- [10] Bustin S A, Nolan T. RT-qPCR testing of SARS-CoV-2: a primer[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21 (8): 3004.
- [11] Soroka M, Wasowicz B, Rymaszewska A. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): the better sibling of PCR? [J]. Cells, 2021, 10(8): 1931.
- [12] Cassedy A, Parle-McDermott A, O'Kennedy R. Virus detection: a review of the current and emerging molecular and immunological methods[J]. Frontiers in Molecular Biosciences, 2021, 8: 637559.
- [13] Sitjar J, Liao J D, Lee H, et al. Detection of live SARS-CoV-2 virus and its variants by specially designed SERS-active substrates and spectroscopic analyses[J]. Analytica Chimica Acta, 2023, 1256: 341151.
- [14] 徐厚祥,徐彬,熊吉川,等.表面等离子体共振和局域表面等离子体共振技术在病毒检测领域的研究进展[J].中国激光,2022,49(15):1507401.
 Xu H X, Xu B, Xiong J C, et al. Research progress of surface plasmon resonance and local surface plasmon resonance in virus

plasmon resonance and local surface plasmon resonance in virus detection[J]. Chinese Journal of Lasers, 2022, 49(15): 1507401.

- [15] Wang Y Q, Yan B, Chen L X. SERS tags: novel optical nanoprobes for bioanalysis[J]. Chemical Reviews, 2013, 113(3): 1391-1428.
- [16] Pérez-Jiménez A I, Lyu D Y, Lu Z X, et al. Surface-enhanced Raman spectroscopy: benefits, trade-offs and future developments [J]. Chemical Science, 2020, 11(18): 4563-4577.
- [17] Sharma B, Frontiera R R, Henry A I, et al. SERS: materials, applications, and the future[J]. Materials Today, 2012, 15(1/2): 16-25.
- [18] Porter M D, Lipert R J, Siperko L M, et al. SERS as a bioassay platform: fundamentals, design, and applications[J]. Chemical Society Reviews, 2008, 37(5): 1001-1011.
- [19] Wang Z Y, Zong S F, Wu L, et al. SERS-activated platforms for immunoassay: probes, encoding methods, and applications[J]. Chemical Reviews, 2017, 117(12): 7910-7963.
- [20] Zong C, Xu M X, Xu L J, et al. Surface-enhanced Raman spectroscopy for bioanalysis: reliability and challenges[J]. Chemical Reviews, 2018, 118(10): 4946-4980.
- [21] Pilot R, Signorini R, Durante C, et al. A review on surfaceenhanced Raman scattering[J]. Biosensors, 2019, 9(2): 57.

- [22] Payne T D, Klawa S J, Jian T Y, et al. Catching COVID: engineering peptide-modified surface-enhanced Raman spectroscopy sensors for SARS-CoV-2[J]. ACS Sensors, 2021, 6(9): 3436-3444.
- [23] Raman C V, Krishnan K S. A new type of secondary radiation[J]. Nature, 1928, 121(3048): 501-502.
- [24] Itoh T, Procházka M, Dong Z C, et al. Toward a new era of SERS and TERS at the nanometer scale: from fundamentals to innovative applications[J]. Chemical Reviews, 2023, 123(4): 1552-1634.
- [25] Das R S, Agrawal Y K. Raman spectroscopy: recent advancements, techniques and applications[J]. Vibrational Spectroscopy, 2011, 57(2): 163-176.
- [26] Fleischmann M, Hendra P J, McQuillan A J. Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode[J]. Chemical Physics Letters, 1974, 26(2): 163-166.
- [27] Jeanmaire D L, Duyne R P V. Surface Raman spectroelectrochemistry: part I. Heterocyclic, aromatic, and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode[J]. Journal of Electroanalytical Chemistry, 1977, 84(1): 1-20.
- [28] Kudelski A. Raman spectroscopy of surfaces[J]. Surface Science, 2009, 603(10/11/12): 1328-1334.
- [29] Cialla D, März A, Böhme R, et al. Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS): progress and trends[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2012, 403(1): 27-54.
- [30] Bell S E J, Charron G, Cortés E, et al. Towards reliable and quantitative surface-enhanced Raman scattering (SERS): from key parameters to good analytical practice[J]. Angewandte Chemie: International Ed. in English, 2020, 59(14): 5454-5462.
- [31] Yang B, Jin S L, Guo S, et al. Recent development of SERS technology: semiconductor-based study[J]. ACS Omega, 2019, 4 (23): 20101-20108.
- [32] Louten J. Essential human virology[M]. New York: Academic Press, 2016: 19-29.
- [33] Sanjuán R, Nebot M R, Chirico N, et al. Viral mutation rates[J]. Journal of Virology, 2010, 84(19): 9733-9748.
- [34] Zhou P, Yang X L, Wang X G, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin[J]. Nature, 2020, 579(7798): 270-273.
- [35] Loeffelholz M J, Tang Y W. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections - the state of the art[J]. Emerging Microbes & Infections, 2020, 9(1): 747-756.
- [36] Yang Y, Peng Y S, Lin C L, et al. Human ACE2-functionalized gold "virus-trap" nanostructures for accurate capture of SARS-CoV-2 and single-virus SERS detection[J]. Nano-Micro Letters, 2021, 13: 109.
- [37] Zhang Z, Jiang S, Wang X T, et al. A novel enhanced substrate for label-free detection of SARS-CoV-2 based on surface-enhanced Raman scattering[J]. Sensors and Actuators B, Chemical, 2022, 359: 131568.
- [38] Marques A C, Pinheiro T, Morais M, et al. Bottom-up microwave-assisted seed-mediated synthesis of gold nanoparticles onto nanocellulose to boost stability and high performance for SERS applications[J]. Applied Surface Science, 2021, 561: 150060.
- [39] Sarychev A K, Sukhanova A, Ivanov A V, et al. Label-free detection of the receptor-binding domain of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein at physiologically relevant concentrations using surface -enhanced Raman spectroscopy[J]. Biosensors, 2022, 12(5): 300.
- [40] Wu P, Luo X J, Xu Y H, et al. Long-range SERS detection of the SARS-CoV-2 antigen on a well-ordered gold hexagonal nanoplate film[J]. Analytical Chemistry, 2022, 94(50): 17541-17550.
- [41] Leonardi A A, Sciuto E L, Lo Faro M J, et al. Molecular fingerprinting of the omicron variant genome of SARS-CoV-2 by SERS spectroscopy[J]. Nanomaterials, 2022, 12(13): 2134.
- [42] Paria D, Kwok K S, Raj P, et al. Label-free spectroscopic SARS-CoV-2 detection on versatile nanoimprinted substrates[J]. Nano

第 51 卷 第 9 期/2024 年 5 月/中国激光

特邀综述

Letters, 2022, 22(9): 3620-3627.

- [43] Ramachandran K, Daoudi K, Columbus S, et al. Facile, Flexible, Fast': highly sensitive and Low-cost paper sensor for real time spike protein sensing with SERS[J]. Materials Science and Engineering: B, 2022, 286: 115984.
- [44] Peng Y S, Lin C L, Li Y Y, et al. Identifying infectiousness of SARS-CoV-2 by ultra-sensitive SnS₂ SERS biosensors with capillary effect[J]. Matter, 2022, 5(2): 694-709.
- [45] Feng E D, Zheng T T, He X X, et al. Plasmon-induced charge transfer-enhanced Raman scattering on a semiconductor: toward amplification-free quantification of SARS-CoV-2[J]. Angewandte Chemie: International Ed. in English, 2023, 62(38): e202309249.
- [46] Li T Y, Srivastava S, Liu J, et al. Label-free SARS-CoV-2 detection platform based on surface-enhanced Raman spectroscopy with support vector machine spectral pattern recognition[J]. Engineered Science, 2023, 23: 862.
- [47] Qin J W, Tian X D, Liu S Y, et al. Rapid classification of SARS-CoV-2 variant strains using machine learning-based label-free SERS strategy[J]. Talanta, 2024, 267: 125080.
- [48] Yeh Y J, Le T N, Hsiao W W W, et al. Plasmonic nanostructureenhanced Raman scattering for detection of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein and spike protein variants[J]. Analytica Chimica Acta, 2023, 1239: 340651.
- [49] Mo W B, Wen J X, Huang J L, et al. Classification of coronavirus spike proteins by deep-learning-based Raman spectroscopy and its interpretative analysis[J]. Journal of Applied Spectroscopy, 2023, 89(6): 1203-1211.
- [50] Lai S X, Liu Y, Fang S B, et al. Ultrasensitive detection of SARS-CoV-2 antigen using surface-enhanced Raman spectroscopybased lateral flow immunosensor[J]. Journal of Biophotonics, 2023, 16(7): e202300004.
- [51] Guan P C, Zhang H, Li Z Y, et al. Rapid point-of-care assay by SERS detection of SARS-CoV-2 virus and its variants[J]. Analytical Chemistry, 2022, 94(51): 17795-17802.
- [52] Antoine D, Mohammadi M, Vitt M, et al. Rapid, point-of-care scFv-SERS assay for femtogram level detection of SARS-CoV-2
 [J]. ACS Sensors, 2022, 7(3): 866-873.
- [53] Zhang M L, Li X D, Pan J L, et al. Ultrasensitive detection of SARS-CoV-2 spike protein in untreated saliva using SERS-based biosensor[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2021, 190: 113421.
- [54] Vedelago C, Li J R, Lowry K, et al. A multiplexed SERS microassay for accurate detection of SARS-CoV-2 and variants of concern[J]. ACS Sensors, 2023, 8(4): 1648-1657.
- [55] Zhang J J, Miao X P, Song C Y, et al. Non-enzymatic signal amplification-powered point-of-care SERS sensor for rapid and ultra -sensitive assay of SARS-CoV-2 RNA[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2022, 212: 114379.
- [56] Lin X L, Weng Y L, Liu Y, et al. Ratiometric SERS sensing chip for high precision and ultra-sensitive detection of SARS-CoV-2 RNA in human saliva[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2024, 399: 134803.
- [57] Chen H, Park S G, Choi N, et al. Sensitive detection of SARS-CoV-2 using a SERS-based aptasensor[J]. ACS Sensors, 2021, 6 (6): 2378-2385.
- [58] Yin B H, Ho W K H, Zhang Q, et al. Magnetic-responsive surface-enhanced Raman scattering platform with tunable hot spot for ultrasensitive virus nucleic acid detection[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2022, 14(3): 4714-4724.
- [59] Gao Y K, Han Y K, Wang C, et al. Rapid and sensitive triplemode detection of causative SARS-CoV-2 virus specific genes through interaction between genes and nanoparticles[J]. Analytica Chimica Acta, 2021, 1154: 338330.
- [60] Wu Y X, Dang H J, Park S G, et al. SERS-PCR assays of SARS-CoV-2 target genes using Au nanoparticles-internalized Au nanodimple substrates[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2022, 197: 113736.
- [61] Tabarov A, Vitkin V, Andreeva O, et al. Detection of A and B

influenza viruses by surface-enhanced Raman scattering spectroscopy and machine learning[J]. Biosensors, 2022, 12(12): 1065.

- [62] Gribanyov D, Zhdanov G, Olenin A, et al. SERS-based colloidal aptasensors for quantitative determination of influenza virus[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(4): 1842.
- [63] Kim H, Kang H, Kim H N, et al. Development of 6E3 antibodymediated SERS immunoassay for drug-resistant influenza virus[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2021, 187: 113324.
- [64] Zhdanov G, Nyhrikova E, Meshcheryakova N, et al. A combination of membrane filtration and raman-active DNA ligand greatly enhances sensitivity of SERS-based aptasensors for influenza a virus[J]. Frontiers in Chemistry, 2022, 10: 937180.
- [65] Wang X W, Li S, Qu H, et al. SERS-based immunomagnetic bead for rapid detection of H5N1 influenza virus[J]. Influenza and Other Respiratory Viruses, 2023, 17(3): e13114.
- [66] Kukushkin V, Kristavchuk O, Andreev E, et al. Aptamer-coated track-etched membranes with a nanostructured silver layer for single virus detection in biological fluids[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2023, 10: 1076749.
- [67] Lu M D, Joung Y, Jeon C S, et al. Dual-mode SERS-based lateral flow assay strips for simultaneous diagnosis of SARS-CoV-2 and influenza a virus[J]. Nano Convergence, 2022, 9(1): 39.
- [68] Garsuault D, El Messaoudi S, Prabakaran M, et al. Detection of several respiratory viruses with Surface-Enhanced Raman Spectroscopy coupled with Artificial Intelligence[J]. Clinical Spectroscopy, 2023, 5: 100025.
- [69] Chen H, Park S K, Joung Y, et al. SERS-based dual-mode DNA aptasensors for rapid classification of SARS-CoV-2 and influenza A/H1N1 infection[J]. Sensors and Actuators B, Chemical, 2022, 355: 131324.
- [70] Liu Z Z, Wang C W, Zheng S, et al. Simultaneously ultrasensitive and quantitative detection of influenza A virus, SARS-CoV-2, and respiratory syncytial virus via multichannel magnetic SERS-based lateral flow immunoassay[J]. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine, 2023, 47: 102624.
- [71] Liang J J, Wu L, Wang Y Q, et al. SERS/photothermal-based dual-modal lateral flow immunoassays for sensitive and simultaneous antigen detection of respiratory viral infections[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2023, 389: 133875.
- [72] Anwar S, Khawar M B, Ovais M, et al. Gold nanocubes based optical detection of HIV-1 DNA via surface enhanced Raman spectroscopy[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2023, 226: 115242. [PubMed]
- [73] Yadav S, Senapati S, Desai D P, et al. Portable and sensitive Ag nanorods based SERS platform for rapid HIV-1 detection and tropism determination[J]. Colloids and Surfaces B, Biointerfaces, 2021, 198: 111477.
- [74] Yadav S, Senapati S, Kulkarni S S, et al. A SERS based clinical study on HIV-1 viral load quantification and determination of disease prognosis[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B, Biology, 2023, 239: 112629.
- [75] Winder N, Gohar S, Muthana M. Norovirus: an overview of virology and preventative measures[J]. Viruses, 2022, 14(12): 2811.
- [76] Achadu O J, Abe F, Li T C, et al. Molybdenum trioxide quantum dot-encapsulated nanogels for virus detection by surface-enhanced Raman scattering on a 2D substrate[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2021, 13(24): 27836-27844.
- [77] Achadu O J, Abe F, Hossain F, et al. Sulfur-doped carbon dots@polydopamine-functionalized magnetic silver nanocubes for dual-modality detection of norovirus[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2021, 193: 113540.
- [78] Maasoumy B, Wedemeyer H. Natural history of acute and chronic hepatitis C[J]. Best Practice & Research. Clinical Gastroenterology, 2012, 26(4): 401-412.
- [79] Kashif M, Majeed M I, Hanif M A, et al. Surface Enhanced

第51卷第9期/2024年5月/中国激光

特邀综述

Raman Spectroscopy of the serum samples for the diagnosis of Hepatitis C and prediction of the viral loads[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2020, 242: 118729.

- [80] Rafiq S, Majeed M I, Nawaz H, et al. Surface-enhanced Raman spectroscopy for analysis of PCR products of viral RNA of hepatitis C patients[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2021, 259: 119908.
- [81] Sang S W, Yue Y J, Wang Y G, et al. The epidemiology and evolutionary dynamics of massive dengue outbreak in China, 2019 [J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1156176.
- [82] Wiwanitkit V. Concurrent malaria and dengue infection: a brief summary and comment[J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2011, 1(4): 326-327.
- [83] Farokhinejad F, Li J R, Hugo L E, et al. Detection of dengue virus 2 with single infected mosquito resolution using yeast affinity bionanofragments and plasmonic SERS nanoboxes[J]. Analytical Chemistry, 2022, 94(41): 14177-14184.
- Song C Y, Zhang J J, Liu Y, et al. Highly sensitive SERS assay [84] of DENV gene via a cascade signal amplification strategy of localized catalytic hairpin assembly and hybridization chain reaction [J]. Sensors and Actuators B, Chemical, 2020, 325: 128970.
- [85] Jacob S S, Lukose J, Bankapur A, et al. Micro-Raman spectroscopy study of optically trapped erythrocytes in malaria, dengue and leptospirosis infections[J]. Frontiers in Medicine, 2022, 9:858776.
- [86] Tripathi M N, Jangir P, Aakriti, et al. A novel approach for rapid and sensitive detection of Zika virus utilizing silver nanoislands as SERS platform[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2023, 302: 123045.
- [87] Masmejan S, Musso D, Vouga M, et al. Zika virus[J]. Pathogens, 2020, 9(11): 898.
- Jia X F, Liu Z Z, Peng Y J, et al. Automatic and sensitive [88] detection of West Nile virus non-structural protein 1 with a portable SERS-LFIA detector[J]. Mikrochimica Acta, 2021, 188(6): 206.
- [89] Kaján G L, Doszpoly A, Tarján Z L, et al. Virus-host coevolution with a focus on animal and human DNA viruses[J]. Journal of Molecular Evolution, 2020, 88(1): 41-56.
- [90] Schiller J T, Lowy D R. An introduction to virus infections and human cancer[J]. Recent Results in Cancer Research, 2021, 217: 1-11.
- [91] Seeger C, Mason W S. Molecular biology of hepatitis B virus infection[J]. Virology, 2015, 479/480: 672-686.
- [92] Kamińska A, Witkowska E, Winkler K, et al. Detection of Hepatitis B virus antigen from human blood: SERS immunoassay in a microfluidic system[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2015, 66:461-467.
- [93] Du Y W, Ji S F, Dong Q Y, et al. Amplification-free detection of HBV DNA mediated by CRISPR-Cas12a using surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. Analytica Chimica Acta, 2023, 1245: 340864.
- Batool F, Nawaz H, Majeed M I, et al. SERS-based viral load [94] quantification of hepatitis B virus from PCR products[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2021, 255: 119722.
- [95] Karagoz A, Tombuloglu H, Alsaeed M, et al. Monkeypox (mpox) virus: classification, origin, transmission, genome organization, antiviral drugs, and molecular diagnosis[J]. Journal of Infection and Public Health, 2023, 16(4): 531-541.
- [96] Zhang Z, Jiang H, Jiang S, et al. Rapid detection of the monkeypox virus genome and antigen proteins based on surfaceenhanced Raman spectroscopy[J]. ACS Applied Materials &. Interfaces, 2023, 15(29): 34419-34426.
- [97] Yu Q, Li J X, Zheng S, et al. Molybdenum disulfide-loaded multilayer AuNPs colorimetric-SERS with dual-signal enhancement activities for flexible immunochromatographic diagnosis of monkeypox virus[J]. Journal of Hazardous Materials,

2023, 459: 132136. Dunmire S K, Verghese P S, Balfour H H, Jr. Primary Epstein-

- [98] Barr virus infection[J]. Journal of Clinical Virology, 2018, 102: 84-92.
- [99] Houen G, Trier N H. Epstein-Barr virus and systemic autoimmune diseases[J]. Frontiers in Immunology, 2021, 11: 587380.
- [100] Tiwari D, Jakhmola S, Pathak D K, et al. Temporal in vitro Raman spectroscopy for monitoring replication kinetics of Epstein-Barr virus infection in glial cells[J]. ACS Omega, 2020, 5(45): 29547-29560.
- [101] Sun J L, Wang R, Wang L, et al. Visual/quantitative SERS biosensing chip based on Au-decorated polystyrene sphere microcavity arrays[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2023, 388: 133869.
- McGeoch D J, Rixon F J, Davison A J. Topics in herpesvirus [102] genomics and evolution[J]. Virus Research, 2006, 117(1): 90-104.
- [103] Pezzotti G, Ohgitani E, Imamura H, et al. Raman multi-omic snapshot and statistical validation of structural differences between herpes simplex type I and Epstein-Barr viruses[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(21): 15567.
- [104] Gallardo J, Pérez-Illana M, Martín-González N, et al. Adenovirus structure: what is new? [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(10): 5240.
- [105] Greber U F, Flatt J W. Adenovirus entry: from infection to immunity[J]. Annual Review of Virology, 2019, 6(1): 177-197.
- [106] Chang C W, Liao J D, Shiau A L, et al. Non-labeled virus detection using inverted triangular Au nano-cavities arrayed as SERS-active substrate[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2011, 156(1): 471-478.
- [107] Kukushkin V, Ambartsumyan O, Subekin A, et al. Multiplex lithographic SERS aptasensor for detection of several respiratory viruses in one pot[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(9): 8081.
- Yin L J, Man S L, Ye S Y, et al. CRISPR-Cas based virus [108] detection: recent advances and perspectives[J]. Biosensors &. Bioelectronics, 2021, 193: 113541.
- [109] Ma L, Zhang W L, Yin L J, et al. A SERS-signalled, CRISPR/ Cas-powered bioassay for amplification-free and anti-interference detection of SARS-CoV-2 in foods and environmental samples using a single tube-in-tube vessel[J]. Journal of Hazardous Materials, 2023, 452: 131195.
- [110] Su A L, Liu Y, Cao X M, et al. A universal CRISPR/Cas12amediated AuNPs aggregation-based surface-enhanced Raman scattering (CRISPR/Cas-SERS) platform for virus gene detection [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2022, 369: 132295.
- [111] Su A L, Liu Y, Cao X M, et al. Direct virus gene detection: a CRISPR/dCas9-mediated surface-enhanced Raman scattering strategy with enzyme-catalyzed signal amplification[J]. Analytical Chemistry, 2023, 95(14): 5927-5936.
- [112] Wang H M, Su A L, Bao C X, et al. A CRISPR/Cas12a-SERS platform for amplification-free detection of African swine fever virus genes[J]. Talanta, 2024, 267: 125225.
- Liang J J, Teng P J, Xiao W, et al. Application of the [113] amplification-free SERS-based CRISPR/Cas12a platform in the identification of SARS-CoV-2 from clinical samples[J]. Journal of Nanobiotechnology, 2021, 19(1): 273.
- [114] Wang W, Ma P Y, Song D Q. Applications of surface-enhanced Raman spectroscopy based on portable Raman spectrometers: a review of recent developments[J]. Luminescence, 2022, 37(11): 1822-1835.
- [115] Kaladharan K, Chen K H, Chen P H, et al. Dual-clamped one-pot SERS-based biosensors for rapid and sensitive detection of SARS-CoV-2 using portable Raman spectrometer[J]. Sensors and Actuators B, Chemical, 2023, 393: 134172.
- Ansah I B, An T, Yang J Y, et al. Electrochemical synthesis of [116] 3D plasmonic-molecule nanocomposite materials for in situ labelfree molecular detections[J]. Advanced Materials Interfaces, 2021,

8(21): 2101201.

[117] Pramanik A, Gao Y, Patibandla S, et al. The rapid diagnosis and effective inhibition of coronavirus using spike antibody attached gold nanoparticles[J]. Nanoscale Advances, 2021, 3(6): 1588-1596.
[118] 刘风翔,张礼豪,黄霞. 拉曼光谱技术在肿瘤诊断中的应用[J].

激光与光电子学进展, 2022, 59(6): 0617016. Liu F X, Zhang L H, Huang X. Application of Raman spectroscopy in cancer diagnosis[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2022, 59(6): 0617016.

Research Progress on Epidemic Virus Detection Based on Surface-Enhanced Raman Spectroscopy

Liu Yi, Wang Nan, He Shaohua, Zhang Jun, Feng Shangyuan, Lin Duo*

Key Laboratory of Optoelectronic Science and Technology for Medicine of Ministry of Education, College of Photonic and Electronic Engineering, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, Fujian, China

Abstract

Significance Viruses are the primary cause of many infectious diseases, including influenza, high-mortality lower respiratory tract infections, diarrhea, tuberculosis, HIV infection, dengue fever, hepatitis B, and more. These diseases can cause severe damage to various systems in the human body and can even lead to life-threatening conditions. The outbreak of infectious viruses poses a significant challenge to public healthcare systems. Early and accurate virus diagnosis is crucial in preventing virus spread, especially in the absence of specific vaccines or effective medications. Existing traditional detection methods often require complex equipment and the expertise of skilled operator. Hence, it becomes challenging to conduct large-scale testing in rapidly spreading virus-infected areas.

Surface-enhanced Raman scattering (SERS) technology is an ultra-sensitive vibrational spectroscopy technique, which is used to detect plasmonic nanostructures on the surface or near-surface molecules. Due to its fast response, strong specificity, and non-invasive detection characteristics, SERS has been widely used in surface and interface studies, chemical and biosensors, biomedical monitoring, trace analysis, electrochemical reactions, and catalytic reactions. Specifically, in virus detection, it exhibits extremely high detection sensitivity, enabling rapid and accurate detection of minute virus particles. Based on the analysis of virus spectral features, SERS technology can differentiate between different types of viruses, including subtypes and variants. This high specificity leads to a unique advantage in virus tracing, classification, and epidemiological research, which is crucial for the rapid screening of early virus infections and facilitating timely medical intervention. This review systematically summarizes the research progress and potential applications of SERS technology in virus detection over the past two years, considering factors such as the genetic material of the virus, virus types, and the extent of impact (Fig. 1).

Progress Initially, this study categorizes viruses based on their genetic material, focusing on recent efforts to detect RNA and DNA viruses that threaten human life and health. It offers a comprehensive analysis of both labeled and label-free SERS techniques for detecting these virus types. For RNA viruses, such as SARS-CoV-2, the influenza virus, HIV, and DNA viruses, such as HBV and HPV, label-free detection methods require SERS technology to realize enhanced performance in signal amplification of the detection substrate for direct detection of natural biomolecules without amplification. Notable examples include the trap structure introduced by Yang et al., the nano-flexible substrate by Paria et al., and the semiconductor application by Peng et al., which broaden the application scope of SERS technology. In the realm of SERS signal processing, particularly when combined with machine learning techniques, there is a significant advantage in extracting and analyzing spectral features for identifying potential biomarkers or molecular details in complex and varied samples. The creation of sensitive SERS biological probes in labeling methods is especially critical. Accurately tagging target molecules with Raman signal molecules greatly increases the specificity of the detection platform. For example, Guan et al. employed substrate capture and specific recognition probes for detecting the SARS-CoV-2 antigen, while Su et al. developed SERS labels integrated with CRISPR/Cas technology for the non-amplified detection of target genes. Moreover, the miniaturization and portability of Raman instruments, propelled by technological advancements, are steering SERS toward field applications and real-time analysis, aligning perfectly with the point-of-care testing (POCT) concept. This foundation supports the study's summary of various initiatives that combine SERS technology with portable Raman instruments. It concludes by offering a summary and outlook on optimization strategies and the current challenges facing the application of SERS technology in virus detection and various POCT settings.

Conclusions and Prospects The efficacy of SERS technology in virus detection hinges on several critical factors, such as the design of the enhancement substrate, excitation conditions, the properties of labels and analytes, detection devices, and data analysis techniques. The primary aim is to enhance detection speed and sensitivity while simplifying the detection process for more efficient virus identification. To navigate the intricate challenges posed by viral outbreaks, the development of integrated micro-detection chips capable of identifying multiple viruses, paired with compact Raman detection devices, stands as the ideal approach for future POCT of

第 51 卷 第 9 期/2024 年 5 月/中国激光

viruses. Furthermore, investigating the integration of SERS technology with other detection methods—such as chemical separation, biological capture, colorimetry, and advanced computational approaches like machine learning, deep learning, and artificial intelligence—can maximize the benefits of diverse technologies. This integration promises the creation of innovative Raman analysis devices that consolidate sample processing, detection, analytical processing, statistical analysis, result dissemination, and display functionalities, catering to the on-site and real-time testing demands across various sectors. We expect that merging SERS technology with compact Raman instruments will usher in a convenient, efficient, and precise optical POCT method for virus screening, classification, infection tracking, and prognosis forecasting.

Key words medical optics; surface-enhanced Raman spectroscopy; virus detection; biosensors; nanophotonics; nanomedicine