



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108254554 A

(43)申请公布日 2018.07.06

(21)申请号 201711200293.8

(22)申请日 2017.11.23

(71)申请人 广州瑞辉生物科技股份有限公司
地址 510730 广东省广州市经济技术开发区玉树工业园敬业街三号G栋502

(72)发明人 游爱萍 李有生 刘辉 刘轶锴

(74)专利代理机构 广州新诺专利商标事务有限公司 44100

代理人 林玉芳

(51)Int.Cl.

G01N 33/569(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

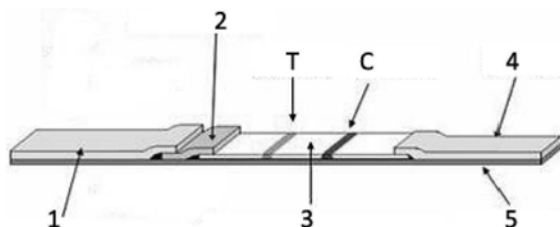
权利要求书3页 说明书10页
序列表1页 附图2页

(54)发明名称

甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条及其制备方法、检测方法和应用

(57)摘要

本发明提供了一种甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条及其制备方法,所述甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条包括样品垫、标记垫、硝酸纤维素膜、吸水纸和背板;所述硝酸纤维素膜包括甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段的检测线和人IgA抗体对照线;所述标记垫设有抗人IgA抗体-荧光微球标记物。本发明提供的检测试纸,具有极高检测的灵敏度,无需借助价格昂贵的PCR检测仪,用肉眼即可得知检测结果,实现对甲型流感病毒的快速筛查。本发明还提供上述甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条的检测方法和应用,其检测方法,步骤简单,易操作,结果快速,适合广泛推广。



1. 一种甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条,其特征在于:包括背板、样品垫、标记垫、硝酸纤维素膜和吸水纸;所述硝酸纤维素膜包括甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段的检测线和人IgA的抗体对照线;所述标记垫设有抗人IgA抗体-荧光微球标记物。

2. 根据权利要求1所述的甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条,其特征在于:所述甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段的氨基酸序列如序列表Seq ID NO.1所示。

3. 根据权利要求1所述的甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条,其特征在于:所述抗人IgA抗体选自羊抗人IgA多克隆抗体、鼠抗人IgA单克隆抗体、兔抗人IgA单克隆抗体或兔抗人IgA多克隆抗体;和/或,所述荧光微球为镧系荧光微球。

4. 权利要求1-3中任一项所述的甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

S1: 荧光微球的处理

取质量浓度0.8-1.2%荧光微球150-250微升,在转速为10000-13000rpm离心10-20分钟,弃去上清;加入初洗缓冲液0.8-1.2毫升,超声混匀,洗涤2-4次后,最后一次加入初洗缓冲液0.8-1.2毫升;加入8-12毫克碳化二亚胺搅拌3-8分钟,超声;然后加入16-24毫克N-羧基琥珀酰亚胺反应10-15分钟;反应完成后,在转速为10000-13000rpm离心,弃去上清,加入偶联缓冲液0.8-1.2毫升,超声混匀,洗涤2-4次后,最后一次加入偶联缓冲液0.4-0.6毫升,超声重悬;所述初洗缓冲液为摩尔浓度20-100mM的MES缓冲液,pH值为5.0-8.5;所述偶联缓冲液为摩尔浓度20-100mM的MES缓冲液,pH值为5.0-8.5;

S2: 抗人IgA抗体-荧光微球的制备

将0.4-0.6毫克抗人IgA抗体加入到0.4-0.6毫升偶联缓冲液中,然后将步骤S1处理后的荧光微球加入到抗人IgA抗体溶液中避光搅拌反应1.5-2.5小时;加入0.4-0.6毫升封闭缓冲液封闭搅拌40-80分钟;将溶液超声,在转速为10000-13000rpm离心8-12分钟,弃去上清;加入终洗缓冲液,超声混匀,洗涤2-4次后,加入160-240微升终洗缓冲液重悬,制得抗人IgA抗体-荧光微球;所述封闭缓冲液包括磷酸盐缓冲液、BSA、乙醇胺,其中磷酸盐缓冲液的摩尔浓度为5-50mM,BSA的质量浓度为0.4-6%,乙醇胺的质量浓度为0.8-1.2%,pH值为6.8-7.5;所述终洗缓冲液包括磷酸盐缓冲液、BSA、吐温20,其中磷酸盐缓冲液的摩尔浓度为5-50mM,BSA的质量浓度为0.4-6%,吐温20的质量浓度为0.08-0.12%,pH值为6.8-7.5;

S3: 抗人IgA抗体-荧光微球标记物结合标记垫的制备

将玻璃纤维用处理液浸泡50-70分钟,取出吸干、干燥10-14小时;将所述步骤S2制备好的抗人IgA抗体-荧光微球,用微球稀释液稀释5-7倍后均匀喷涂在标记垫上,每1厘米喷涂3-5微升抗人IgA抗体-荧光微球溶液;喷涂好的标记物垫在湿度15%、温度37°C条件下烘干处理24小时;所述玻璃纤维用处理液包括PB缓冲液、EDTA-2Na,其中PB缓冲液的摩尔浓度为16-24mM,EDTA-2Na的质量浓度为0.8-1.2%;所述微球稀释液包括Tris缓冲液、PVP和海藻糖,其中Tris缓冲液的摩尔浓度为40-60mM,PVP的质量浓度为0.4-0.6%,海藻糖的质量浓度为4-6%,pH值为7.7-8.3;

S4: 硝酸纤维素膜包被

用包被液稀释人IgA抗体、甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段,其中人IgA抗体的浓度为1.2-1.8mg/ml,甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段浓度为0.8-1.2mg/ml;将人IgA抗体喷到硝酸纤维素膜上对照线,将甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段喷到硝酸纤维素膜上检测

线;将喷涂好的硝酸纤维素膜放置在湿度10-30%,温度20-35℃条件下烘干处理12小时以上;所述包被液由PB缓冲液和蔗糖组成,其中PB缓冲液的摩尔浓度为8-12mM,蔗糖的质量浓度为0.8-1.2%,pH值为7.1-7.7;

S5: 组装、切条

将吸水纸、硝酸纤维素膜、标记垫、样品垫按顺序黏贴在背板上,然后调整切条机参数进行切条,制得甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测测试纸条。

5. 一种甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测测试纸条,其特征在于:包括背板、样品垫、标记垫、硝酸纤维素膜和吸水纸;所述硝酸纤维素膜包括抗人IgA抗体的检测线和甲型流感病毒NP蛋白抗体的对照线,所述标记垫设有甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-荧光微球标记物。

6. 根据权利要求5所述的甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测测试纸条,其特征在于:所述甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段的氨基酸序列如序列表Seq ID NO.1所示;和/或,所述荧光微球为钬荧光微球。

7. 根据权利要求5所述的甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测测试纸条,其特征在于:所述抗人IgA抗体选自羊抗人IgA多克隆抗体、鼠抗人IgA单克隆抗体、兔抗人IgA单克隆抗体或兔抗人IgA多克隆抗体;和/或,所述甲型流感病毒NP蛋白抗体选自鼠抗甲型流感病毒NP蛋白单克隆抗体、人抗甲型流感病毒NP蛋白多克隆抗体、兔抗甲型流感病毒NP蛋白单克隆抗体、兔抗甲型流感病毒NP蛋白多克隆抗体或羊抗甲型流感病毒NP蛋白多克隆抗体。

8. 权利要求5-7中任一项所述的甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测测试纸条的制备方法,其特征在于:包括以下步骤:

S1: 荧光微球的处理

取质量浓度0.8-1.2%荧光微球150-250微升,在转速为10000-13000rpm离心10-20分钟,弃去上清;加入初洗缓冲液0.8-1.2毫升,超声混匀,洗涤2-4次后,最后一次加入初洗缓冲液0.8-1.2毫升;加入8-12毫克碳化二亚胺搅拌3-8分钟,超声;然后加入16-24毫克N-羟基琥珀酰亚胺反应10-15分钟;反应完成后,在转速为10000-13000rpm离心,弃去上清,加入偶联缓冲液0.8-1.2毫升,超声混匀,洗涤2-4次后,最后一次加入偶联缓冲液0.4-0.6毫升,超声重悬;所述初洗缓冲液为摩尔浓度20-100mM的MES缓冲液,pH值为5.0-8.5;所述偶联缓冲液为摩尔浓度20-100mM的MES缓冲液,pH值为5.0-8.5;

S2: 甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-荧光微球的制备

将0.4-0.6毫克甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段加入到0.4-0.6毫升偶联缓冲液中,然后将步骤S1处理后的荧光微球加入到甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段溶液中避光搅拌反应1.5-2.5小时;加入0.4-0.6毫升封闭缓冲液封闭搅拌40-80分钟;将溶液超声,在转速为10000-13000rpm离心8-12分钟,弃去上清;加入终洗缓冲液,超声混匀,洗涤2-4次后,加入160-240微升终洗缓冲液重悬,制得甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-荧光微球;所述封闭缓冲液包括磷酸盐缓冲液、BSA、乙醇胺,其中磷酸盐缓冲液的摩尔浓度为5-50mM,BSA的质量浓度为0.4-6%,乙醇胺的质量浓度为0.8-1.2%,pH值为6.8-7.5;所述终洗缓冲液包括磷酸盐缓冲液、BSA、吐温20,其中磷酸盐缓冲液的摩尔浓度为5-50mM,BSA的质量浓度为0.4-6%,吐温20的质量浓度为0.08-0.12%,pH值为6.8-7.5;

S3: 甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-荧光微球标记物结合标记垫的制备

将玻璃纤维用处理液浸泡50-70分钟,取出吸干、干燥10-14小时;将所述步骤S2制备好的甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-荧光微球,用微球稀释液稀释5-7倍后均匀喷涂在标记垫上,每1厘米喷涂3-5微升甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-荧光微球溶液;喷涂好的标记物垫在湿度15%、温度37℃条件下烘干处理24小时;所述玻璃纤维用处理液包括PB缓冲液、EDTA-2Na,其中PB缓冲液的摩尔浓度为16-24mM,EDTA-2Na的质量浓度为0.8-1.2%;所述微球稀释液包括Tris缓冲液、PVP和海藻糖,其中Tris缓冲液的摩尔浓度为40-60mM,PVP的质量浓度为0.4-0.6%,海藻糖的质量浓度为4-6%,pH值为7.7-8.3;

S4: 硝酸纤维素膜包被

用包被液稀释甲型流感病毒NP蛋白抗体、抗人IgA抗体,其中甲型流感病毒NP蛋白抗体的浓度为1.2-1.8mg/ml,抗人IgA抗体浓度为0.8-1.2mg/ml;将甲型流感病毒NP蛋白抗体喷到硝酸纤维素膜上对照线,将抗人IgA抗体喷到硝酸纤维素膜上检测线;将喷涂好的硝酸纤维素膜放置在湿度10-30%,温度20-35℃条件下烘干处理12小时以上;所述包被液由PB缓冲液和蔗糖组成,其中PB缓冲液的摩尔浓度为8-12mM,蔗糖的质量浓度为0.8-1.2%,pH值为7.1-7.7;

S5: 组装、切条

将吸水纸、硝酸纤维素膜、标记垫、样品垫按顺序黏贴在背板上,然后调整切条机参数进行切条,制得甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条。

9. 一种使用权利要求1-3、5-7任一项所述的甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条检测样品中甲型流感病毒的方法,其特征在于:所述方法包括以下步骤:

(1) 用唾液采集棒采集口水,将采集棒放入装有1-2毫升的样品稀释液的样品管中挤压处理,得样品预处理液;

(2) 将所述样品预处理液接触甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条的样品垫;

(3) 放置15-30分钟,然后肉眼观察结果;

所述样品稀释液包括PBS缓冲液、牛血清白蛋白、酪蛋白、胰蛋白胍和叠氮钠,其中PBS缓冲液的摩尔浓度为10mM,牛血清白蛋白的质量浓度为0.5%,酪蛋白的质量浓度为0.3%,胰蛋白胍的质量浓度为1.2%,叠氮钠的质量浓度为0.02%,pH值为6.9-7.5。

10. 权利要求1-3、5-7任一项所述的甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条在检测样品中甲型流感病毒的应用。

甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条及其制备方法、检测方法和应用

技术领域

[0001] 本发明属于医学检验领域,涉及一种流感病毒检测试纸条,具体地涉及一种甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条及其制备方法、检测方法和应用。

背景技术

[0002] 流感病毒是一种可以感染任何年龄段,可以在全世界范围内感染的病毒,影响力和破坏力极大。流感病毒可以分为甲型流感、乙型流感、丙型流感,其中甲型流感病毒的传染性和危害性最大。根据甲型流感病毒表面血凝素(H蛋白)和神经氨酸酶(N蛋白)不同,可以H可分为17个亚型(H1~H17),N有10个亚型(N1~N10)。季节性流感是一种由流感病毒引起的急性病毒性感染,中国大陆引起季节性流感的常见甲型流感病毒是H1N1亚型和H3N2亚型。流感病毒感染的症状包括发热、咳嗽、咽痛、流鼻涕等,这些症状与细菌性感冒症状相似,因此临床比较难通过病人的症状判定引起感冒的发病原因,只能通过必要的流感病毒检测方法。目前,由于缺乏流感病毒的检测方法,较难区分流感病毒感染和细菌感染引起的感冒症状,临床通常会使用开抗生素治疗,很多流感病毒患者因此延误病情,另一方面也造成抗生素滥用,潜在引起细菌耐药等社会医疗问题。常见的季节性流感病毒是由甲型流感病毒和乙型流感病毒构成的,甲型流感病毒和乙型流感病毒感染治疗用药不同,甲型流感病毒可以使用金刚烷胺、奥司他韦、扎那米韦等药物,但是市场上常见的抗流感病毒OTC药物金刚烷胺药物对乙型流感病毒没有治疗效果。因此,不仅需要区分流感病毒感染和普通细菌感染,也需要对不同类型的流感病毒进行区分。可见,有必要开发一种甲型流感病毒检测试剂。

[0003] 甲型流感病毒的检测方法发展多年,常见的检测方法包括RT-PCR荧光检测、抗原检测胶体金层析、抗原检测酶联免疫检测、病毒抗原直接免疫荧光检测、病毒血清IgM抗体检测等。其中RT-PCR检测试剂、抗原胶体金层析检测使用较多。RT-PCR检测主要是检测患者咽拭子中病毒的核酸,灵敏度高,特异性强。但由于该检测技术需要价格昂贵的PCR检测仪,另外需要具有一定检测条件的认证实验室,在基层无法推广。抗原胶体金免疫技术直接采集患者的咽拭子,通过肉眼可以判断患者感染流感病毒的情况;但其具有灵敏度低、容易造成漏检的缺点。

[0004] 因此,亟需开发一种甲型流感病毒唾液IgA抗体检测试纸,具有极高检测的灵敏度,无需借助价格昂贵的PCR检测仪,用肉眼即可得知检测结果;其检测方法快速简单,适合广泛推广。

发明内容

[0005] 为了克服现有技术存在的问题,本发明的目的是提供一种甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条及其制备方法,免疫荧光检测试纸条具有极高检测的灵敏度,无需借助价格昂贵的PCR检测仪,用肉眼即可得知检测结果;其检测方法快速简单,适合广泛推广。

[0006] 本发明的另一目的是提供一种上述甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条的检测方法和应用,其检测方法快速简单,适合广泛推广。

[0007] 为解决上述问题,采用的技术方案如下:

[0008] 本发明首先提供了一种甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条包括背板、样品垫、标记垫、硝酸纤维素膜和吸水纸;所述硝酸纤维素膜包括甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段的检测线和人IgA的抗体对照线;所述标记垫设有抗人IgA抗体-荧光微球标记物。

[0009] 进一步地,所述甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段的氨基酸序列如序列表Seq ID NO.1所示。

[0010] 进一步地,所述抗人IgA抗体选自羊抗人IgA多克隆抗体、鼠抗人IgA单克隆抗体、兔抗人IgA单克隆抗体或兔抗人IgA多克隆抗体。

[0011] 进一步地,所述荧光微球为钨荧光微球。

[0012] 进一步地,所述吸水纸、硝酸纤维素膜、标记垫、样品垫依次粘附在所述背板上。

[0013] 本发明提供了上述甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条的制备方法,所述方法包括以下步骤:

[0014] S1:荧光微球的处理

[0015] 取质量浓度0.8-1.2%荧光微球150-250微升,在转速为10000-13000rpm离心10-20分钟,弃去上清;加入初洗缓冲液0.8-1.2毫升,超声混匀,洗涤2-4次后,最后一次加入初洗缓冲液0.8-1.2毫升;加入8-12毫克碳化二亚胺搅拌3-8分钟,超声;然后加入16-24毫克N-羧基琥珀酰亚胺反应10-15分钟;反应完成后,在转速为10000-13000rpm离心,弃去上清,加入偶联缓冲液0.8-1.2毫升,超声混匀,洗涤2-4次后,最后一次加入偶联缓冲液0.4-0.6毫升,超声重悬;所述初洗缓冲液为摩尔浓度20-100mM的MES缓冲液,pH值为5.0-8.5;所述偶联缓冲液为摩尔浓度20-100mM的MES缓冲液,pH值为5.0-8.5;

[0016] S2:抗人IgA抗体-荧光微球的制备

[0017] 将0.4-0.6毫克抗人IgA抗体加入到0.4-0.6毫升偶联缓冲液中,然后将步骤S1处理后的荧光微球加入到抗人IgA抗体溶液中避光搅拌反应1.5-2.5小时;加入0.4-0.6毫升封闭缓冲液封闭搅拌40-80分钟;将溶液超声,在转速为10000-13000rpm离心8-12分钟,弃去上清;加入终洗缓冲液,超声混匀,洗涤2-4次后,加入160-240微升终洗缓冲液重悬,制得抗人IgA抗体-荧光微球;所述封闭缓冲液包括磷酸盐缓冲液、BSA、乙醇胺,其中磷酸盐缓冲液的摩尔浓度为5-50mM,BSA的质量浓度为0.4-6%,乙醇胺的质量浓度为0.8-1.2%,pH值为6.8-7.5;所述终洗缓冲液包括磷酸盐缓冲液、BSA、吐温20,其中磷酸盐缓冲液的摩尔浓度为5-50mM,BSA的质量浓度为0.4-6%,吐温20的质量浓度为0.08-0.12%,pH值为6.8-7.5;

[0018] S3:抗人IgA抗体-荧光微球标记物结合标记垫的制备

[0019] 将玻璃纤维用处理液浸泡50-70分钟,取出吸干、干燥10-14小时;将所述步骤S2制备好的抗人IgA抗体-荧光微球,用微球稀释液稀释5-7倍后均匀喷涂在标记垫上,每1厘米喷涂3-5微升抗人IgA抗体-荧光微球溶液;喷涂好的标记物垫在湿度15%、温度37°C条件下烘干处理24小时;所述玻璃纤维用处理液包括PB缓冲液、EDTA-2Na,其中PB缓冲液的摩尔浓度为16-24mM,EDTA-2Na的质量浓度为0.8-1.2%;所述微球稀释液包括Tris缓冲液、PVP和海藻糖,其中Tris缓冲液的摩尔浓度为40-60mM,PVP的质量浓度为0.4-0.6%,海藻糖的质

量浓度为4-6%，pH值为7.7-8.3；

[0020] S4:硝酸纤维素膜包被

[0021] 用包被液稀释人IgA抗体、甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段，其中人IgA抗体的浓度为1.2-1.8mg/ml，甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段浓度为0.8-1.2mg/ml；将人IgA抗体喷到硝酸纤维素膜上对照线，将甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段喷到硝酸纤维素膜上检测线；将喷涂好的硝酸纤维素膜放置在湿度10-30%，温度20-35℃条件下烘干处理12小时以上；所述包被液由PB缓冲液和蔗糖组成，其中PB缓冲液的摩尔浓度为8-12mM，蔗糖的质量浓度为0.8-1.2%，pH值为7.1-7.7；

[0022] S5:组装、切条

[0023] 将吸水纸、硝酸纤维素膜、标记垫、样品垫按顺序黏贴在背板上，然后调整切条机参数进行切条，制得甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条。

[0024] 本发明还提供另一种甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条包括背板、样品垫、标记垫、硝酸纤维素膜和吸水纸；所述硝酸纤维素膜包括抗人IgA抗体的检测线和甲型流感病毒NP蛋白抗体的对照线，所述标记垫设有甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-荧光微球标记物。

[0025] 进一步地，所述甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段的氨基酸序列如序列表Seq ID NO.1所示。

[0026] 进一步地，所述荧光微球为铕荧光微球。

[0027] 进一步地，所述抗人IgA抗体选自羊抗人IgA多克隆抗体、鼠抗人IgA单克隆抗体、兔抗人IgA单克隆抗体或兔抗人IgA多克隆抗体。

[0028] 进一步地，所述甲型流感病毒NP蛋白抗体选自鼠抗甲型流感病毒NP蛋白单克隆抗体、人抗甲型流感病毒NP蛋白多克隆抗体、兔抗甲型流感病毒NP蛋白单克隆抗体、兔抗甲型流感病毒NP蛋白多克隆抗体或羊抗甲型流感病毒NP蛋白多克隆抗体。

[0029] 进一步地，所述吸水纸、硝酸纤维素膜、标记垫、样品垫依次粘附在所述背板上。

[0030] 本发明上述甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条的制备方法，所述方法包括以下步骤：

[0031] S1:荧光微球的处理

[0032] 取质量浓度0.8-1.2%荧光微球150-250微升，在转速为10000-13000rpm离心10-20分钟，弃去上清；加入初洗缓冲液0.8-1.2毫升，超声混匀，洗涤2-4次后，最后一次加入初洗缓冲液0.8-1.2毫升；加入8-12毫克碳化二亚胺搅拌3-8分钟，超声；然后加入16-24毫克N-羟基琥珀酰亚胺反应10-15分钟；反应完成后，在转速为10000-13000rpm离心，弃去上清，加入偶联缓冲液0.8-1.2毫升，超声混匀，洗涤2-4次后，最后一次加入偶联缓冲液0.4-0.6毫升，超声重悬；所述初洗缓冲液为摩尔浓度20-100mM的MES缓冲液，pH值为5.0-8.5；所述偶联缓冲液为摩尔浓度20-100mM的MES缓冲液，pH值为5.0-8.5；

[0033] S2:甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-荧光微球的制备

[0034] 将0.4-0.6毫克甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段加入到0.4-0.6毫升偶联缓冲液中，然后将步骤S1处理后的荧光微球加入到甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段溶液中避光搅拌反应1.5-2.5小时；加入0.4-0.6毫升封闭缓冲液封闭搅拌40-80分钟；将溶液超声，在转速为10000-13000rpm离心8-12分钟，弃去上清；加入终洗缓冲液，超声混匀，洗涤2-4次

后,加入160-240微升终洗缓冲液重悬,制得甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-荧光微球;所述封闭缓冲液包括磷酸盐缓冲液、BSA、乙醇胺,其中磷酸盐缓冲液的摩尔浓度为5-50mM,BSA的质量浓度为0.4-6%,乙醇胺的质量浓度为0.8-1.2%,pH值为6.8-7.5;所述终洗缓冲液包括磷酸盐缓冲液、BSA、吐温20,其中磷酸盐缓冲液的摩尔浓度为5-50mM,BSA的质量浓度为0.4-6%,吐温20的质量浓度为0.08-0.12%,pH值为6.8-7.5;

[0035] S3:甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-荧光微球标记物结合标记垫的制备

[0036] 将玻璃纤维用处理液浸泡50-70分钟,取出吸干、干燥10-14小时;将所述步骤S2制备好的甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-荧光微球,用微球稀释液稀释5-7倍后均匀喷涂在标记垫上,每1厘米喷涂3-5微升甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-荧光微球溶液;喷涂好的标记物垫在湿度15%、温度37℃条件下烘干处理24小时;所述玻璃纤维用处理液包括PB缓冲液、EDTA-2Na,其中PB缓冲液的摩尔浓度为16-24mM,EDTA-2Na的质量浓度为0.8-1.2%;所述微球稀释液包括Tris缓冲液、PVP和海藻糖,其中Tris缓冲液的摩尔浓度为40-60mM,PVP的质量浓度为0.4-0.6%,海藻糖的质量浓度为4-6%,pH值为7.7-8.3;

[0037] S4:硝酸纤维素膜包被

[0038] 用包被液稀释甲型流感病毒NP蛋白抗体、抗人IgA抗体,其中甲型流感病毒NP蛋白抗体的浓度为1.2-1.8mg/ml,抗人IgA抗体浓度为0.8-1.2mg/ml;将甲型流感病毒NP蛋白抗体喷到硝酸纤维素膜上对照线,将抗人IgA抗体喷到硝酸纤维素膜上检测线;将喷涂好的硝酸纤维素膜放置在湿度10-30%,温度20-35℃条件下烘干处理12小时以上;所述包被液由PB缓冲液和蔗糖组成,其中PB缓冲液的摩尔浓度为8-12mM,蔗糖的质量浓度为0.8-1.2%,pH值为7.1-7.7;

[0039] S5:组装、切条

[0040] 将吸水纸、硝酸纤维素膜、标记垫、样品垫按顺序黏贴在背板上,然后调整切条机参数进行切条,制得甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条。

[0041] 本发明还提供一种利用上述甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条检测样品中甲型流感病毒的方法,所述方法包括以下步骤:

[0042] (1)用唾液采集棒采集口水,将采集棒放入装有1-2毫升的样品稀释液的样品管中挤压处理,得样品预处理液;

[0043] (2)将所述样品预处理液接触甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条的样品垫;

[0044] (3)放置15-30分钟,然后肉眼观察结果。

[0045] 进一步地,所述样品稀释液包括PBS缓冲液、牛血清白蛋白、酪蛋白、胰蛋白胨和叠氮钠,其中PBS缓冲液的摩尔浓度为10mM,牛血清白蛋白的质量浓度为0.5%,酪蛋白的质量浓度为0.3%、胰蛋白胨的质量浓度为1.2%,叠氮钠的质量浓度为0.02%,pH值为6.9-7.5。

[0046] 进一步地,唾液样品采集无侵入性,避免了采集咽拭子、鼻拭子带来的不适。

[0047] 本发明提供了甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条在检测样品中甲型流感病毒的应用,从而提供一种检测甲型流感病毒的途径,用于对不同类型的流感病毒进行区分。

[0048] 本发明的有益效果:

[0049] 1、本发明提供的甲型流感病毒唾液IgA抗体检测试纸,具有极高检测的灵敏度,与

甲型流感病毒细胞培养方法比较,其灵敏度达到90.00%,特异性95.00%;与甲型流感病毒荧光PCR方法比较,其灵敏度达到92.68%,特异性98.31%;而且,本发明发无需借助价格昂贵的PCR检测仪,即可快速地、用肉眼得知检测结果,实现对甲型流感病毒的快速筛查。

[0050] 2、本发明提供的检测方法,步骤简单,易操作;结果快速,只需15-30分钟,用肉眼可直观地观察结果,适合广泛推广。

[0051] 3、本发明提供了甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条在检测样品中甲型流感病毒的应用,从而提供一种检测甲型流感病毒的途径,用于对不同类型的流感病毒进行区分。

附图说明

[0052] 图1为本发明的甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条的结构示意图;

[0053] 图2唾液采集棒释放唾液样品的方法示意图;

[0054] 图3为本发明的甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条的检测方法示意图;

[0055] 图4为本发明的检测试纸条检测甲型流感病毒IgA抗体的阳性结果示意图;

[0056] 图5为本发明的检测试纸条检测甲型流感病毒IgA抗体的阴性结果示意图;

[0057] 图6为本发明的检测试纸条检测甲型流感病毒IgA抗体的无效结果示意图;

[0058] C-对照线;T-检测线;1-样品垫;2-标记垫;3-硝酸纤维素膜;4-吸水纸;5-背板;21-样品管;22-唾液采集棒;23-样品稀释液。

具体实施方式

[0059] 为了更好地理解和实施,下面结合附图和实施例详细说明本发明的技术方案,但本发明的保护内容不局限于以下实施例。

[0060] 实施例1:一种甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条及其制备方法(捕获法)

[0061] 如图1所示,本实施例的甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条,包括:背板5、样品垫1、标记垫2、硝酸纤维素膜3和吸水纸4。其中,吸水纸4、硝酸纤维素膜3、标记垫2、样品1垫依次粘附在背板5上。

[0062] 硝酸纤维素膜3包括甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段的检测线T和人IgA抗体的对照线C。甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段的氨基酸序列如序列表Seq ID N0.1所示。

[0063] 标记垫2设有抗人IgA抗体-荧光微球标记物。抗人IgA抗体选自羊抗人IgA多克隆抗体、鼠抗人IgA单克隆抗体、兔抗人IgA单克隆抗体或兔抗人IgA多克隆抗体。荧光微球为钨荧光微球。

[0064] 本实施例中原料来源:抗人IgA抗体为羊抗人IgA多克隆抗体,羊抗人IgA多克隆抗体购自Sigma公司。人IgA抗体购自广州市诺思生物科技有限公司。甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段的序列如Seq ID N0.1所示,总共55个氨基酸,委托上海吉尔生化公司负责合成,纯度大于98%,冻干保存。荧光微球为钨荧光微球,钨荧光微球(100-300nm)购自Sigma公司。

[0065] 本实施例的甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条,包括以下步骤:

[0066] S1:荧光微球的处理

[0067] 取质量浓度1%钨荧光微球200微升置于圆底离心管中,在转速为10000-13000rpm

离心15分钟,弃去上清;加入初洗缓冲液(20-100mM MES, pH5.0-8.5) 1毫升,超声混匀,洗涤3次后,最后一次加入初洗缓冲液1毫升;加入10毫克碳化二亚胺(EDC) 搅拌5分钟,超声;然后加入20毫克N-羟基琥珀酰亚胺(NHS) 反应15分钟;反应完成后,在转速为10000-13000rpm离心,弃去上清,加入偶联缓冲液(20-100mM MES, pH5.0-8.5) 1毫升,超声混匀,洗涤3次后,最后一次加入偶联缓冲液0.5毫升,超声重悬;

[0068] S2: 抗人IgA抗体-荧光微球的制备

[0069] 将0.5毫克羊抗人IgA多克隆抗体加入到0.5毫升偶联缓冲液中,然后将步骤S1处理后的镧荧光微球加入到羊抗人IgA多克隆抗体溶液中避光搅拌反应2小时;加入0.5毫升封闭缓冲液(5-50mM磷酸盐缓冲液, 0.5% BSA, 1% 乙醇胺, pH6.8-7.5) 封闭搅拌1小时;将溶液超声2分钟,在转速为10000-13000rpm离心10分钟,弃去上清;加入终洗缓冲液(5-50mM磷酸盐缓冲液, 0.5% BSA, 0.1% 吐温20, pH6.8-7.5), 超声混匀,洗涤3次后,加入200微升终洗缓冲液重悬,制得羊抗人IgA多克隆抗体-镧荧光微球。

[0070] S3: 抗人IgA多克隆抗体-荧光微球标记物结合标记垫的制备

[0071] 将玻璃纤维用处理液(20mM PB, 1% EDTA-2Na) 浸泡60分钟,取出吸干放入恒温干燥箱干燥12小时;用Isoflow点膜仪将步骤S2制备好的羊抗人IgA多克隆抗体-镧荧光微球,用微球稀释液(50mM Tris, 0.5% PVP, 5% 海藻糖, pH8.0) 稀释6倍后均匀喷涂在标记垫上,每1厘米喷涂4微升羊抗人IgA多克隆抗体-镧荧光微球溶液,将喷涂好的标记物垫置于湿度15%、温度37℃条件下烘干处理24小时,烘干后密封备用。

[0072] S4: 硝酸纤维素膜包被

[0073] 用包被液(10mM PB, 1% 蔗糖, pH7.4) 稀释人IgA抗体、甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段,其中人IgA抗体的浓度为1.5mg/ml,甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段浓度为1mg/ml。如图1,用Isoflow点膜仪将人IgA抗体喷到硝酸纤维素膜上对照线C,将甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段喷到硝酸纤维素膜上检测线T。将喷涂好的硝酸纤维素膜放置在湿度10-30%,温度20-35℃条件下烘干处理12小时以上,烘干好的硝酸纤维素膜密封备用。

[0074] S5: 组装、切条

[0075] 结合图1示意图,将吸水纸4、硝酸纤维素膜3、标记垫2、样品垫1按顺序黏贴在PVC背板5上,然后调整切条机参数进行切条,切成4毫米宽度的试纸条,制得甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条。

[0076] 实施例2: 另一种甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条制备(间接法)

[0077] 如图1所示,本实施例的甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条,包括:背板5、样品垫1、标记垫2、硝酸纤维素膜3和吸水纸4。其中,吸水纸4、硝酸纤维素膜3、标记垫2、样品垫1依次粘附在背板5上。

[0078] 硝酸纤维素膜3包括抗人IgA抗体的检测线T和甲型流感病毒NP蛋白抗体的对照线C。抗人IgA抗体选自羊抗人IgA多克隆抗体、鼠抗人IgA单克隆抗体、兔抗人IgA单克隆抗体或兔抗人IgA多克隆抗体。甲型流感病毒NP蛋白抗体选自鼠抗甲型流感病毒NP蛋白单克隆抗体、人抗甲型流感病毒NP蛋白多克隆抗体、兔抗甲型流感病毒NP蛋白单克隆抗体、兔抗甲型流感病毒NP蛋白多克隆抗体或羊抗甲型流感病毒NP蛋白多克隆抗体。

[0079] 标记垫2设有甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-荧光微球标记物。甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段的氨基酸序列如序列表Seq ID NO.1所示。荧光微球为镧荧光微球。

[0080] 本实施例中原料来源:抗人IgA抗体为羊抗人IgA多克隆抗体,羊抗人IgA多克隆抗体购自Sigma公司;甲型流感病毒NP蛋白抗体购自广州市艾游生物科技有限公司。甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段的序列如Seq ID NO.1所示,总共55个氨基酸,委托上海吉尔生化公司负责合成,纯度大于98%,冻干保存。荧光微球为钨荧光微球,钨荧光微球(100-300nm)购自Sigma公司。

[0081] 本实施例的甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条制备,包括以下步骤:

[0082] S1:荧光微球的处理

[0083] 取质量浓度1%钨荧光微球200微升置于圆底离心管中,在转速为10000-13000rpm离心15分钟,弃去上清;加入初洗缓冲液(20-100mM MES, pH5.0-8.5)1毫升,超声混匀,洗涤3次后,最后一次加入初洗缓冲液1毫升;加入10毫克碳化二亚胺(EDC)搅拌5分钟,超声;然后加入20毫克N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)反应15分钟;反应完成后,在转速为10000-13000rpm离心,弃去上清,加入偶联缓冲液(20-100mM MES, pH5.0-8.5)1毫升,超声混匀,洗涤3次后,最后一次加入偶联缓冲液0.5毫升,超声重悬微球;

[0084] S2:甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-荧光微球的制备

[0085] 将0.5毫克甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段加入到0.5毫升偶联缓冲液中,然后将步骤S1处理后的钨荧光微球加入到甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段溶液中避光搅拌反应2小时;加入0.5毫升封闭缓冲液(5-50mM磷酸盐缓冲液,0.5%BSA,1%乙醇胺, pH6.8-7.5)封闭搅拌1小时;将溶液超声2分钟,在转速为10000-13000rpm离心10分钟,弃去上清;加入终洗缓冲液(5-50mM磷酸盐缓冲液,0.5%BSA,0.1%吐温20, pH6.8-7.5),超声混匀,洗涤3次后,加入200微升终洗缓冲液复融,制得甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-钨荧光微球。

[0086] S3:甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-荧光微球标记物结合标记垫的制备

[0087] 将玻璃纤维用处理液(20mM PB,1%EDTA-2Na)浸泡60分钟,取出吸干放入恒温干燥箱干燥12小时;用Isoflow点膜仪将制备好的甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-钨荧光微球,用微球稀释液(50mM Tris,0.5%PVP,5%海藻糖, pH8.0)稀释6倍后均匀喷涂在标记垫上,每1cm喷涂4ul甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-钨荧光微球溶液,将喷涂好的标记物垫于湿度15%、温度37℃条件下烘干处理24小时,烘干后密封备用。

[0088] S4:硝酸纤维素膜包被

[0089] 用包被液(10mM PB,1%蔗糖, pH7.4)稀释甲型流感病毒NP蛋白抗体、羊抗人IgA多克隆抗体,其中甲型流感病毒NP蛋白抗体的浓度为1.5mg/ml,羊抗人IgA多克隆抗体浓度为1mg/ml。如图1,用Isoflow点膜仪将甲型流感病毒NP蛋白抗体喷到硝酸纤维素膜上对照线C,将羊抗人IgA多克隆抗体喷到硝酸纤维素膜上检测线T。将喷涂好的硝酸纤维素膜放置在湿度10-30%,温度20-35℃条件下烘干处理12小时以上,烘干好的硝酸纤维素膜密封备用。

[0090] S5:组装、切条

[0091] 结合图1示意图,将吸水纸4、硝酸纤维素膜3、标记垫2、样品垫1按顺序黏贴在PVC背板5上,然后调整切条机参数进行切条,切成4mm宽度的试纸条,制得甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条。

[0092] 应用实施例1:一种甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条的检测方法(捕获法)

[0093] 采用实施例1的一种甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条的检测方法,该方法包括以下步骤:

[0094] (1)如图2所示,通过唾液采集棒22在口腔中吸附唾液样品,将采集棒放置到装有1-2ml样品稀释液23的样品管21中,充分搅拌,挤压采集棒的棉签头液体,弃去唾液采集棒22,得样品预处理液;

[0095] (2)如图3所示,将本发明实施例1制备的甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条放入装有样品预处理液的样品管21中,使样品垫端接触唾液样品;

[0096] (3)放置15-30分钟,然后肉眼观察结果。

[0097] 样品稀释液包括PBS缓冲液、牛血清白蛋白、酪蛋白、胰蛋白胍和叠氮钠,其中PBS缓冲液的摩尔浓度为10mM,牛血清白蛋白的质量浓度为0.5%,酪蛋白的质量浓度为0.3%、胰蛋白胍的质量浓度为1.2%,叠氮钠的质量浓度为0.02%,pH值为7.2。

[0098] 检测原理表述如下:

[0099] 由于毛细管作用,唾液样品从样品垫端向吸水纸端流动,途经载有羊抗人IgA多克隆抗体-钨荧光微球标记物的标记垫后,将羊抗人IgA多克隆抗体-钨荧光微球标记物完全复溶成游离态。如果唾液样品中含有甲型流感病毒IgA抗体,会与游离的羊抗人IgA多克隆抗体-钨荧光微球标记物结合,形成钨荧光微球-羊抗人IgA多克隆抗体-甲型流感病毒IgA抗体复合物,该复合物上行到硝酸纤维素膜的检测线T处,再与其上包被的甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段特异结合,呈现红色条带;多余的游离羊抗人IgA多克隆抗体-钨荧光微球标记物继续上行到硝酸纤维素膜的对照线C处,与其上包被的人IgA抗体特异性结合,形成钨荧光微球-羊抗人IgA多克隆抗体-人IgA抗体复合物,呈现红色条带。如果样品中不含有甲型流感病毒IgA抗体,游离的羊抗人IgA多克隆抗体-钨荧光微球标记物会越过检测线T,继续上行到硝酸纤维素膜的对照线C处,与其上包被的人IgA抗体特异性结合,形成钨荧光微球-羊抗人IgA多克隆抗体-人IgA抗体复合物,呈现红色条带。如果硝酸纤维素膜的对照线C处没有形成红色条带,说明试纸条失效,结果不可靠。

[0100] 检测结果判定:

[0101] 如图4所示,如果检测试纸条同时出现检测线T和对照线C说明样品呈阳性,含有IgA抗体,即预示有甲型流感病毒感染;

[0102] 如图5所示,如果只出现对照线C,说明样品呈阴性,不含IgA抗体,即预示没有甲型流感病毒感染;

[0103] 如图6所示,如果没有出现任何线或者只出现检测线T,说明此试纸条无效。

[0104] 座用实施例2:另一种甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条的检测方法(间接法)

[0105] 采用实施例2的一种甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条的检测方法,该方法包括以下步骤:

[0106] (1)如图2所示,通过唾液采集棒22在口腔中吸附唾液样品,将采集棒放置到装有1-2ml样品稀释液23的样品管21中,充分搅拌,挤压采集棒的棉签头液体,弃去采集棒,得样品预处理液;

[0107] (2)如图3所示,将本发明实施例2所制备的甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条放入装有样品预处理液的样品管21中,使样品垫端接触唾液样品;

[0108] (3) 放置15-30分钟,然后肉眼观察结果。

[0109] 样品稀释液包括PBS缓冲液、牛血清白蛋白、酪蛋白、胰蛋白胨和叠氮钠,其中PBS缓冲液的摩尔浓度为10mM,牛血清白蛋白的质量浓度为0.5%,酪蛋白的质量浓度为0.3%、胰蛋白胨的质量浓度为1.2%,叠氮钠的质量浓度为0.02%,pH值为7.2。

[0110] 检测原理表述如下:

[0111] 由于毛细管作用,唾液样品从样品垫端向吸水纸端流动,途经载有甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-钨荧光微球标记物的标记垫后,将甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-钨荧光微球标记物完全复溶成游离态。如果唾液样品中含有甲型流感病毒IgA抗体,会与游离的甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-钨荧光微球标记物结合,形成钨荧光微球-甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-甲型流感病毒IgA抗体复合物,该复合物上行到硝酸纤维素膜的检测线T处,再与其上包被的羊抗人IgA多克隆抗体特异结合,形成钨荧光微球-甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-甲型流感病毒IgA抗体-羊抗人IgA多克隆抗体复合物,呈现红色条带;多余的游离甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-钨荧光微球标记物继续上行到硝酸纤维素膜的对照线C,与其上包被的甲型流感病毒NP蛋白抗体特异性结合,形成钨荧光微球-甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-甲型流感病毒NP蛋白抗体复合物,呈现红色条带。

[0112] 如果样品中不含有甲型流感病毒IgA抗体,游离的甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-荧光微球标记物会越过检测线T,继续上行到硝酸纤维素膜的对照线C,与其上包被的甲型流感病毒NP蛋白抗体特异性结合,形成钨荧光微球-甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段-甲型流感病毒NP蛋白抗体复合物,呈现红色条带。

[0113] 如果硝酸纤维素膜的对照线C没有形成红色条带,说明试纸条失效,结果不可靠。

[0114] 检测结果判定:

[0115] 如图4所示,如果检测试纸条同时出现检测线T和对照线C,说明样品呈阳性,含有IgA抗体,即预示有甲型流感病毒感染;

[0116] 如图5所示,如果只出现对照线C,说明样品呈阴性,不含IgA抗体,即预示没有甲型流感病毒感染;

[0117] 如图6所示,如果没有出现任何线或者只出现检测线T,说明此试纸条无效。

[0118] 效果试验例1:本发明甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条与甲型流感病毒细胞培养方法结果对比

[0119] 选取实验样品100例,样品为采集疑是流感患者的唾液样品和咽拭子样品,分别用本发明实施例1制备的甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条与甲型流感病毒细胞培养方法进行测试,对比结果如表1:

[0120] 表1本发明的甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条方法与甲型流感病毒细胞培养方法对比结果

	甲型流感病毒 IgA抗体检测方法	细胞培养方法		合计
		阳性	阴性	
[0121]	阳性	36	3	39
	阴性	4	57	61
	合计	40	60	100

[0122] 本发明甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条与甲型流感病毒细胞培养方法比较,灵敏度达到90.00%,特异性95.00%。根据上述的检测结果显示本发明对甲型流感病毒感染检测具备实际应用价值。

[0123] 效果试验例2:本发明甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条方法与甲型流感病毒荧光PCR方法结果对比

[0124] 选取实验样品100例,样品为采集疑是流感患者的唾液样品和咽拭子样品,分别用本发明实施例2制备的甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条与甲型流感病毒荧光PCR方法进行测试,对比结果如表2:

[0125] 表2本发明的甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条方法与甲型流感病毒荧光PCR方法对比结果

	甲型流感病毒 IgA抗体检测方法	荧光PCR方法		合计
		阳性	阴性	
[0126]	阳性	38	1	39
	阴性	3	58	61
	合计	41	59	100

[0127] 本发明甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条方法与甲型流感病毒荧光PCR方法比较,灵敏度达到92.68%,特异性98.31%。根据上述的检测结果显示本发明对甲型流感病毒感染检测具备实际应用价值。

[0128] 以上所述,仅是本发明的较佳实施例而已,并非对本发明做任何形式上的限制,故凡未脱离本发明技术方案的内容,依据本发明的技术实质对以上实施例所做的任何简单修改、等同变化与修饰,均仍属于本发明技术方案的范围。

序 列 表

<110> 广州瑞辉生物科技股份有限公司

<120> 甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条及其制备方法、检测方法和应用

<160> 1

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 55

<212> PRT

<213> Amino Acid Sequence

<400> 1

Ala	Leu	Ile	Leu	Arg	Gly	Ser	Val	Ala	His	Lys	Ser	Cys	Leu	Pro
				5					10				15	
Ala	Cys	Val	Tyr	Gly	Leu	Ala	Val	Ala	Ser	Gly	His	Asp	Phe	Glu
				20					25				30	
Arg	Glu	Gly	Tyr	Ser	Leu	Val	Gly	Ile	Asp	Pro	Phe	Lys	Leu	Leu
				35					40				45	
Gln	Asn	Ser	Gln	Val	Val	Ser	Leu	Met	Arg					
				50					55					

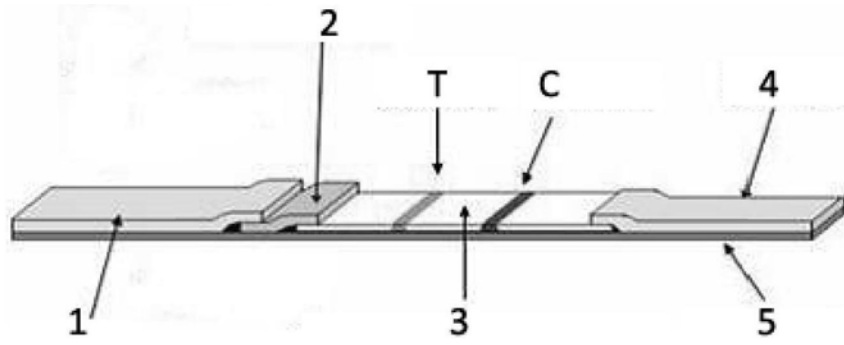


图1

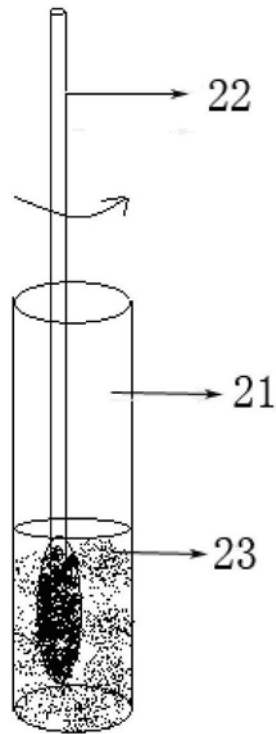


图2

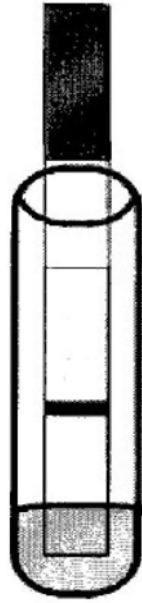


图3



图4



图5



图6

专利名称(译)	甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条及其制备方法、检测方法和应用		
公开(公告)号	CN108254554A	公开(公告)日	2018-07-06
申请号	CN201711200293.8	申请日	2017-11-23
[标]申请(专利权)人(译)	广州瑞辉生物科技股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	广州瑞辉生物科技股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	广州瑞辉生物科技股份有限公司		
[标]发明人	游爱萍 李有生 刘辉 刘轶锴		
发明人	游爱萍 李有生 刘辉 刘轶锴		
IPC分类号	G01N33/569 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/56983 G01N2333/11		
代理人(译)	林玉芳		
其他公开文献	CN108254554B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条及其制备方法，所述甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条包括样品垫、标记垫、硝酸纤维素膜、吸水纸和背板；所述硝酸纤维素膜包括甲型流感病毒NP蛋白抗原多肽片段的检测线和人IgA抗体对照线；所述标记垫设有抗人IgA抗体-荧光微球标记物。本发明提供的检测试纸，具有极高检测的灵敏度，无需借助价格昂贵的PCR检测仪，用肉眼即可得知检测结果，实现对甲型流感病毒的快速筛查。本发明还提供上述甲型流感病毒IgA抗体免疫荧光检测试纸条的检测方法和应用，其检测方法，步骤简单，易操作，结果快速，适合广泛推广。

