



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104237510 A

(43) 申请公布日 2014. 12. 24

(21) 申请号 201410466445. 9

(22) 申请日 2014. 09. 12

(71) 申请人 博奥赛斯(天津)生物科技有限公司  
地址 300300 天津市东丽区开发区四纬路  
10 号

(72) 发明人 刘萍 栾大伟 张振斌 侯玉文  
杨桂霞 李克锦

(74) 专利代理机构 天津滨海科纬知识产权代理  
有限公司 12211  
代理人 张艳梅

(51) Int. Cl.

G01N 33/569(2006. 01)

G01N 33/535(2006. 01)

权利要求书1页 说明书14页

(54) 发明名称

一种人类免疫缺陷病毒抗原抗体联合检测试剂盒及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明提供了一种人类免疫缺陷病毒抗原抗体联合检测试剂盒,所述试剂盒包括:(1) 双标记酶结合物;(2) 阴阳性对照物;(3) 发光液;(4) 微孔包被板。双标记酶结合物采用改良高碘酸钠氧化法。本发明还公开了这种试剂盒的制备方法和使用方法,本发明试剂盒的优点是相比较单独检测抗原或抗体的试剂,本发明试剂盒可以得到3个检测结果,能够全部测出体内仅有抗原、仅有抗体、抗原抗体均有的情况,且灵敏度高。

1. 一种人类免疫缺陷病毒抗原抗体联合检测试剂盒,其特征在于,所述试剂盒包括:

(1) 双标记酶结合物;

(2) 阴阳性对照物;

(3) 发光液;所述发光液包括发光液 1 和发光液 2,发光液 1 为含有 0.7g/L 鲁米诺,0.9g/L 肉桂酸,0.2g/L 4-碘苯硼酸,0.25g/L 对碘苯酚,25ml/L 二甲基甲酰胺,5g/L 聚乙烯醇,8g/L 聚乙烯吡咯烷酮,3g/L 聚乙二醇 600,4g/L 乙二胺四乙酸,160 万单位/L 硫酸庆大霉素,0.4g/L 过氧化脲,pH9.0 的 0.1mol/L 的 Tris 缓冲液;发光液 2 为含有 0.1mg/ml 吡啶酯衍生物、3g/L 聚乙二醇 600、0.1% TWEEN-20pH9.0 的 0.1mol/L 的 Tris 缓冲液;

(4) 微孔包被板。

2. 根据权利要求 1 所述的一种人类免疫缺陷病毒抗原抗体联合检测试剂盒,其特征在于,所述双标记酶结合物的制备方法是:采用改良高碘酸钠氧化法,将辣根过氧化物酶标记到 HIV 嵌合抗原上,采用 EDC 法将碱性磷酸酶标记到另一 P24 单抗上,将嵌合抗原-HRP 按照 0.1  $\mu$ g/ml, p24mab-ALP 按照 0.2  $\mu$ g/ml 稀释到含有牛血清白蛋白和 proclin300 的酶结合物稀释液中,作为酶工作液,于 2~8 $^{\circ}$ C 下储存。

3. 根据权利要求 1 所述的一种人类免疫缺陷病毒抗原抗体联合检测试剂盒,其特征在于,所述微孔板包被制备方法是:将包含有 gp36, gp41, gp120 的嵌合抗原和 p24 单抗用 0.02M 磷酸盐缓冲液稀释至 1~10  $\mu$ g/mL,同时加入到 96 孔白色不透明塑料微孔板中,37 $^{\circ}$ C 包被 2 小时或 2-8 $^{\circ}$ C 包被 16 小时;弃去孔内液体,用 pH7.4PBS 缓冲液洗板,然后加入含 0.5% BSA 的磷酸盐缓冲液封闭微孔板,37 $^{\circ}$ C 封闭 2 小时或 2-8 $^{\circ}$ C 封闭 16 小时;弃去孔内液体,甩干后于 37 $^{\circ}$ C 烘干 4 小时;装入铝箔袋,加入干燥剂,封口,贴标签,储存于 2~8 $^{\circ}$ C。

4. 根据权利要求 1 所述的一种人类免疫缺陷病毒抗原抗体联合检测试剂盒,其特征在于,所述阴阳性对照物分别为:阴性混合人血清作为阴性对照,在阴性血清中加入 HIV-1 抗体作为阳性对照 1,在阴性血清中加入 HIV-2 抗体作为阳性对照 2,在阴性血清中加入 p24 抗原作为阳性对照 3。

5. 权利要求 1-4 任一权利要求所述本发明试剂盒的使用方法:

(1) 将 50  $\mu$ l 阴性对照和三个阳性对照及待检样品分别加入微孔板不同微孔中,37 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟;

(2) 用含有 tween20 的 Tris 盐缓冲液清洗微孔板 5 次,拍干;

(3) 每孔加入 50  $\mu$ l 双标记酶结合物,37 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟;

(4) 同第 (2) 步完成清洗后,每孔各加入 100  $\mu$ l 发光液 1,孵育 5 分钟用光子计数器读数,所测发光值以阴性对照的 2.1 倍作为 cutoff 判定值进行 S/C0 计算;

(5) 完成读数后同第 (2) 步完成清洗后,每孔加入 100  $\mu$ l 发光液 2,孵育 10 分钟用光子计数器读数,所测发光值以阴性对照的 2.1 倍作为 cutoff 判定值进行 S/C0 计算;

(6) 第 (4) 步所测 S/C0 值大于等于 1 的样本判定为抗体阳性;

(7) 第 (5) 步所测 S/C0 值大于等于 1 的样本判定为抗原阳性;

(8) 第 (6) 步和第 (7) 步所测 S/C0 的和为抗原抗体联合检测结果。

## 一种人类免疫缺陷病毒抗原抗体联合检测试剂盒及其制备方法和应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及免疫分析医学领域,具体的,本发明提供了一种人类免疫缺陷病毒抗原抗体联合检测试剂盒及其制备方法。

### 背景技术

[0002] 获得性免疫缺陷综合征,又称艾滋病(Acquired Immunodeficiency Syndrome, AIDS),是由人类免疫缺陷病(HIV)感染所引起的一种免疫缺陷性疾病。HIV为逆转录RNA病毒,根据血清学反应和病毒核酸序列测定,HIV可分为HIV-1型和HIV-2型,二者之间存在一定的免疫交叉反应,绝大多数艾滋病由HIV-1型引起。HIV有3个结构基因:编码核心蛋白的gag基因,编码逆转录酶与整合酶的pol基因和编码胞膜蛋白的env基因。在感染后的10~14d内,病毒RNA进入细胞并呈指数水平上升,随后下降并保持稳定,进入HIV无症状期。从HIV感染到能够检测出HIV抗体这一时期,被称作“窗口期”,在窗口期,能够通过病毒RNA、p24抗原和CD4淋巴细胞水平来确定HIV感染。

[0003] 据统计,全球估计有3590至4430万人与人类免疫缺陷病毒相伴生存,其中430至640万人属于新发感染病例,有280至350万人死于艾滋病,这些数字并在不断增长中。2013年我国艾滋病病毒感染者约100万人,因艾滋病死亡约24万人,居亚洲第2位。梅毒感染者近年来持续上升,为乙类传染病第三位,目前,艾滋病已成为严重威胁世界人民健康的公共卫生问题。

[0004] 艾滋病毒的检测十几年来一直沿用传统的酶免方法,但随着民众法律意识的强化、对健康关注度的提升以及院方医疗风险防范意识的普及等,传统酶免检测的灵敏度和特异性得到了挑战。但鉴于方法学的限制,酶免技术已经很难再有改进,本发明专利即提供一种抗原抗体联合检测的试剂盒。本发明试剂盒将HIV抗原与抗p24抗体一起包被固相载体,可同时检测样品中的抗体和p24抗原,这一技术的应用使得HIV感染的常规检测窗口期明显缩短。筛查人类免疫缺陷病毒(HIV)抗体可以使HIV感染者的平均存活时间增加1.5年以上。

### 发明内容

[0005] 为解决传统酶免检测的灵敏度不高和特异性差的问题,本发明采用的技术方案是:

[0006] 一种人类免疫缺陷病毒抗原抗体联合检测试剂盒,所述试剂盒包括:

[0007] (1) 双标记酶结合物;

[0008] (2) 阴阳性对照物;

[0009] (3) 发光液;所述发光液包括发光液1和发光液2,发光液1为含有0.7g/L鲁米诺(Luminol),0.9g/L肉桂酸,0.2g/L 4-碘苯硼酸,0.25g/L对碘苯酚,25ml/L二甲基甲酰胺(DMF),5g/L聚乙烯醇(PVA),8g/L聚乙烯吡咯烷酮(PVP),3g/L聚乙二醇600(PEG-600),

4g/L 乙二胺四乙酸 (EDTA), 160 万单位 /L 硫酸庆大霉素, 0.4g/L 过氧化脲, pH9.0 的 0.1mol/L 的 Tris 缓冲液; 发光液 2 为含有 0.1mg/ml 吡啶酯衍生物、3g/L 聚乙二醇 600 (PEG-600)、0.1% TWEEN-20 pH9.0 的 0.1mol/L 的 Tris 缓冲液;

[0010] (4) 微孔包被板。

[0011] 进一步, 所述双标记酶结合物的制备方法是: 采用改良高碘酸钠氧化法, 将辣根过氧化物酶标记到 HIV 嵌合抗原上, 采用 EDC 法 (常用方法, 业内人都知道) 将碱性磷酸酶标记到另一 P24 单抗上, 将嵌合抗原-HRP 按照 0.1  $\mu$ g/ml, p24mab-ALP 按照 0.2  $\mu$ g/ml 稀释到含有牛血清白蛋白和 proclin300 的酶结合物稀释液中, 作为酶工作液, 于 2 ~ 8°C 下储存。

[0012] 进一步, 所述微孔板包被制备方法是: 将包含有 gp36, gp41, gp120 的嵌合抗原和 p24 单抗用 0.02M 磷酸盐缓冲液稀释至 1 ~ 10  $\mu$ g/mL, 同时加入到 96 孔白色不透明塑料微孔板中, 37°C 包被 2 小时或 2-8°C 包被 16 小时; 弃去孔内液体, 用 pH7.4 PBS 缓冲液洗板, 然后加入含 0.5% BSA 的磷酸盐缓冲液封闭微孔板, 37°C 封闭 2 小时或 2-8°C 封闭 16 小时; 弃去孔内液体, 甩干后于 37°C 烘干 4 小时; 装入铝箔袋, 加入干燥剂, 封口, 贴标签, 储存于 2 ~ 8°C。

[0013] 进一步, 所述阴阳性对照物分比为: 阴性混合人血清作为阴性对照, 在阴性血清中加入 HIV-1 抗体作为阳性对照 1, 在阴性血清中加入 HIV-2 抗体作为阳性对照 2, 在阴性血清中加入 p24 抗原作为阳性对照 3。

[0014] 本发明还公开了这种试剂盒的使用方法:

[0015] (1) 将 50  $\mu$ l 阴性对照和三个阳性对照及待检样品分别加入微孔板不同微孔中, 37°C 孵育 30 分钟;

[0016] (2) 用含有 tween20 的 Tris 盐缓冲液清洗微孔板 5 次, 拍干;

[0017] (3) 每孔加入 50  $\mu$ l 双标记酶结合物, 37°C 孵育 30 分钟;

[0018] (4) 同第 (2) 步完成清洗后, 每孔各加入 100  $\mu$ l 发光液 1, 孵育 5 分钟用光子计数器读数, 所测发光值以阴性对照的 2.1 倍作为 cutoff 判定值进行 S/C0 计算;

[0019] (5) 完成读数后同第 (2) 步完成清洗后, 每孔加入 100  $\mu$ l 发光液 2, 孵育 10 分钟用光子计数器读数, 所测发光值以阴性对照的 2.1 倍作为 cutoff 判定值进行 S/C0 计算;

[0020] (6) 第 (4) 步所测 S/C0 值大于等于 1 的样本判定为抗体阳性;

[0021] (7) 第 (5) 步所测 S/C0 值大于等于 1 的样本判定为抗原阳性;

[0022] (8) 第 (6) 步和第 (7) 步所测 S/C0 的和为抗原抗体联合检测结果。

[0023] 本发明的 HIV 化学发光免疫定量测定试剂盒, 采用双标记, 双底物的化学发光免疫分析检测方法, 突破了传统单标记、单底物的检测技术, 具有以下优点:

[0024] (1) 相比较单独检测抗原或抗体的试剂, 本发明试剂盒可以得到 3 个检测结果, 能够全部测出体内仅有抗原、仅有抗体、抗原抗体均有的情况, 且灵敏度高, 在体内抗原或抗体量很少时也能测出, 弥补了单独检测抗原或抗体的不足; 相比较抗原抗体联检、单独标记的试剂, 本发明试剂盒增强了灵敏度, 能更加有效的区分“窗口期”、“无症状期”、“艾滋病发病期”等阶段, 为临床诊断治疗提供了更加准确可靠的结果, 能更好的对患者进行治疗;

[0025] (2) 反应快速, 可以在 30min 内出结果, 操作简便, 无污染;

## 具体实施方式

### [0026] 实施例 1

[0027] 一种人类免疫缺陷病毒抗原抗体联合检测试剂盒,所述试剂盒包括:

[0028] (1) 双标记酶结合物;

[0029] (2) 阴阳性对照物;

[0030] (3) 发光液;所述发光液包括发光液 1 和发光液 2,发光液 1 为含有 0.7g/L 鲁米诺,0.9g/L 肉桂酸,0.2g/L 碘苯硼酸,0.25g/L 对碘苯酚,25ml/L 二甲基甲酰胺,5g/L 聚乙烯醇,8g/L 聚乙烯吡咯烷酮,3g/L 聚乙二醇 600,4g/L 乙二胺四乙酸,160 万单位/L 硫酸庆大霉素,0.4g/L 过氧化脲,pH9.0 的 0.1mol/L 的 Tris 缓冲液;发光液 2 为含有 0.1mg/ml 吖啶酯衍生物、3g/L 聚乙二醇 600、0.1% TWEEN-20pH9.0 的 0.1mol/L 的 Tris 缓冲液;

[0031] (4) 微孔包被板。

### [0032] 实施例 2

[0033] 实施例 1 所述试剂盒的制备方法

[0034] 1、微孔板包被:将包含有 gp36, gp41, gp120 的嵌合抗原和 p24 单抗用 0.02M 磷酸盐缓冲液稀释至 1 ~ 10ug/mL,同时加入到 96 孔白色不透明塑料微孔板中,37°C 包被 2 小时或 2-8°C 包被 16 小时;弃去孔内液体,用 pH7.4PBS 缓冲液洗板,然后加入含 0.5% BSA 的磷酸盐缓冲液封闭微孔板,37°C 封闭 2 小时或 2-8°C 封闭 16 小时;弃去孔内液体,甩干后于 37°C 烘干 4 小时;装入铝箔袋,加入干燥剂,封口,贴标签,储存于 2 ~ 8°C;

[0035] 2、双标记酶结合物制备:采用改良高碘酸钠氧化法,将辣根过氧化物酶标记到 HIV 嵌合抗原上,采用 EDC 法将碱性磷酸酶标记到另一 P24 单抗上,将嵌合抗原-HRP 按照 0.1 μg/ml, p24mab-ALP 按照 0.2 μg/ml 稀释到含有牛血清白蛋白和 proclin300 的酶结合物稀释液中,作为酶工作液,于 2 ~ 8°C 下储存;

[0036] 3、阴阳性对照物:采用阴性混合人血清作为阴性对照,在阴性血清中加入 HIV-1 抗体作为阳性对照 1,在阴性血清中加入 HIV-2 抗体作为阳性对照 2,在阴性血清中加入 p24 抗原作为阳性对照 3;

[0037] 4、发光底物液 1,发光底物液 2:发光液 1 为含有 0.7g/L 鲁米诺 (Luminol),0.9g/L 肉桂酸,0.2g/L 碘苯硼酸,0.25g/L 对碘苯酚,25ml/L 二甲基甲酰胺 (DMF),5g/L 聚乙烯醇 (PVA),8g/L 聚乙烯吡咯烷酮 (PVP),3g/L 聚乙二醇 600 (PEG-600),4g/L 乙二胺四乙酸 (EDTA),160 万单位/L 硫酸庆大霉素,0.4g/L 过氧化脲, pH9.0 的 0.1mol/L 的 Tris 缓冲液;发光液 2 为含有 0.1mg/ml 吖啶酯衍生物、3g/L 聚乙二醇 600 (PEG-600)、0.1% TWEEN-20pH9.0 的 0.1mol/L 的 Tris 缓冲液。

### [0038] 实施例 3

[0039] 实施例 1 所述试剂盒的使用方法

[0040] (1) 将 50 μl 阴性对照和三个阳性对照及待检样品分别加入微孔板不同微孔中,37°C 孵育 30 分钟;

[0041] (2) 用含有 tween20 的 Tris 盐缓冲液清洗微孔板 5 次,拍干;

[0042] (3) 每孔加入 50 μl 双标记酶结合物,37°C 孵育 30 分钟;

[0043] (4) 同第 (2) 步完成清洗后,每孔各加入 100 μl 发光液 1,孵育 5 分钟用光子计数器读数,所测发光值以阴性对照的 2.1 倍作为 cutoff 判定值进行 S/C0 计算;

[0044] (5) 完成读书后同第 (2) 步完成清洗后,每孔加入 100  $\mu$  l 发光液 2, 孵育 10 分钟用光子计数器读数, 所测发光值以阴性对照的 2.1 倍作为 cutoff 判定值进行 S/CO 计算;

[0045] (6) 第 (4) 步所测 S/CO 值大于等于 1 的样本判定为抗体阳性;

[0046] (7) 第 (5) 步所测 S/CO 值大于等于 1 的样本判定为抗原阳性;

[0047] (8) 第 (6) 步和第 (7) 步所测 S/CO 的和为抗原抗体联合检测结果。

[0048] 实施例 4

[0049] 1. 国家参考品

[0050] 1.1. 使用国家参考品对试剂盒进行评估, 结果如下。

[0051] 表 1 HIV 抗体国家参考品检测结果

[0052]

项目	指标	标准	结果		
			第一批	第二批	第三批
阴性参考品符合率	20 份	$\geq 18/20$	20/20	20/20	20/20
阳性参考品符合率	20 份	20/20	20/20	20/20	20/20
灵敏度参考品	S1	-	-	-	-
	S2		+	+	+
	S3		+	+	+
	S4	+	+	+	+
	S5	+	+	+	+
	S6	+	+	+	+
精密性 (CV)	精密性参考品 (n=10)	$\leq 15.0\%$	5.3%	5.0%	6.1%

[0053] 表 2 HIV 抗体国家参考品检测数据

[0054]

样本	第一批		第二批		第三批	
	发光值	S/CO	发光值	S/CO	发光值	S/CO
阴性对照	59593	0.48	57328	0.48	59148	0.48
阳性对照(I型)	7141101	57.06	6949188	57.72	7520193	60.54
阳性对照(II型)	2539295	20.29	2331797	19.37	2802111	22.56
阳性对照(抗原)	4098489	32.75	3722322	30.92	4526457	36.44
Cutoff值	125145	1.00	120389	1.00	124211	1.00
N1	23407	0.19	20163	0.17	29025	0.23
N2	18978	0.15	15410	0.13	15983	0.13
N3	16786	0.13	20677	0.17	22901	0.18
N4	21739	0.17	23617	0.20	19614	0.16
N5	17492	0.14	19414	0.16	16425	0.13
N6	15593	0.12	13333	0.11	13296	0.11
N7	22232	0.18	21491	0.18	14676	0.12
N8	18942	0.15	17090	0.14	16244	0.13
N9	19764	0.16	17645	0.15	15003	0.12
N10	24334	0.19	24040	0.20	16778	0.14
N11	16178	0.13	17794	0.15	24770	0.20
N12	19805	0.16	18265	0.15	24476	0.20
N13	26445	0.21	15533	0.13	26489	0.21
N14	17503	0.14	18747	0.16	19188	0.15
N15	21490	0.17	19084	0.16	25657	0.21

[0055]

样本	第一批		第二批		第三批	
	发光值	S/CO	发光值	S/CO	发光值	S/CO
N16	15945	0.13	18416	0.15	17773	0.14
N17	21735	0.17	14546	0.12	15621	0.13
N18	15322	0.12	23800	0.20	18123	0.15
N19	22811	0.18	22413	0.19	23339	0.19
N20	21235	0.17	23712	0.20	18678	0.15
P1	18332069	146.49	18156521	150.82	18954007	152.60
P2	19089778	152.54	17433218	144.81	19283431	155.25
P3	20021156	159.98	19214827	159.61	21806189	175.56
P4	20649699	165.01	18859435	156.65	20782496	167.32
P5	19793723	158.17	19632741	163.08	20992591	169.01
P6	20077353	160.43	18899794	156.99	20364645	163.95
P7	14691175	117.39	14769393	122.68	15362035	123.68
P8	21364652	170.72	20405322	169.49	21350272	171.89
P9	19557736	156.28	19560651	162.48	20244622	162.99
P10	20904403	167.04	21102859	175.29	22484217	181.02
P11	14965982	119.59	14803717	122.97	15311970	123.27
P12	18103606	144.66	18486089	153.55	18827456	151.58
P13	21231437	169.65	19346972	160.70	22033097	177.38
P14	20626072	164.82	19636268	163.11	20361284	163.92
P15	6240467	49.87	6721258	55.83	6305459	50.76
P16	9970328	79.67	9833279	81.68	10490963	84.46
P17	10121445	80.88	9276867	77.06	10723567	86.33
P18	17936199	143.32	17575250	145.99	18314245	147.44
P19	4236669	33.85	4162646	34.58	4322828	34.80
P20	5407579	43.21	5335632	44.32	6378289	51.35
S1	25260	0.20	25700	0.21	25991	0.21
S2	323990	2.59	302900	2.52	350481	2.82
S3	619286	4.95	604249	5.02	580687	4.68
S4	1550054	12.39	1412880	11.74	1541014	12.41
S5	3056256	24.42	2781208	23.10	2849000	22.94
S6	4440985	35.49	3748301	31.13	3920363	31.56
CV 1	7630990	60.98	7407618	61.53	8201893	66.03
CV 2	7197169	57.51	6950696	57.74	7355217	59.22
CV 3	7658118	61.19	7455284	61.93	8156326	65.67
CV 4	7807200	62.39	7801633	64.80	7026372	56.57
CV 5	6845461	54.70	6837007	56.79	7119669	57.32
CV 6	7062098	56.43	7696174	63.93	7436134	59.87
CV 7	8133697	64.99	6843011	56.84	7783972	62.67
CV 8	7307082	58.39	7799536	64.79	7502242	60.40
CV 9	7144619	57.09	7427688	61.70	7098547	57.15
CV 10	7245155	57.89	7459363	61.96	8176743	65.83

[0056] 注：阴性参考品 (N1 ~ N20)；阳性参考品 (P1 ~ P20)；灵敏度参考品 (S1 ~ S6)；精密性参考品 (CV)。

[0057] 表 3 HIV P24 抗原国家参考品检测结果

[0058]

项目	指标	标准	结果		
			第一批	第二批	第三批
阴性参考品符合率	20 份	20/20	20/20	20/20	20/20
阳性参考品符合率	10 份	10/10	10/10	10/10	10/10
灵敏度参考品	L1	+	+	+	+
	L2	+	+	+	+
	L3		+	+	+
	L4		+	+	+
	L5		+	+	+
	L6		-	+	-
	L7		-	-	-
	L8		-	-	-
	L9		-	-	-
	L10		-	-	-
精密性 (CV)	P24 抗原/抗体 (n=10)	≤15.0%	7.0%	6.3%	6.3%
	P24 抗原 (n=10)	≤15.0%	4.2%	5.0%	5.6%

[0059] 表 4 HIV P24 抗原国家参考品检测数据

[0060]

样本	第一批		第二批		第三批	
	发光值	S/CO	发光值	S/CO	发光值	S/CO
阴性对照	79517	0.48	55297	0.48	92012	0.48
阳性对照 (I 型)	7151959	42.83	7234993	62.30	7730759	40.01
阳性对照 (II 型)	2607706	15.62	2557477	22.02	2506731	12.97
阳性对照 (抗原)	4012431	24.03	4144161	35.69	4354358	22.54
Cutoff 值	166986	1.00	116124	1.00	193225	1.00
N1	30543	0.18	26998	0.23	38446	0.20
N2	45793	0.27	40800	0.35	39903	0.21
N3	27707	0.17	29826	0.26	20187	0.10
N4	29318	0.18	25763	0.22	23082	0.12
N5	26948	0.16	19546	0.17	22070	0.11
N6	24073	0.14	20830	0.18	23311	0.12
N7	32467	0.19	28721	0.25	24004	0.12
N8	27841	0.17	23871	0.21	34402	0.18
N9	31544	0.19	27783	0.24	36101	0.19
N10	26952	0.16	26843	0.23	22707	0.12
N11	18518	0.11	21356	0.18	25119	0.13
N12	23975	0.14	24592	0.21	21406	0.11
N13	19598	0.12	20552	0.18	16420	0.08

[0061]

样本	第一批		第二批		第三批	
	发光值	S/CO	发光值	S/CO	发光值	S/CO
N14	20580	0.12	24720	0.21	25156	0.13
N15	44200	0.26	36654	0.32	28639	0.15
N16	22485	0.13	17680	0.15	18693	0.10
N17	23617	0.14	21230	0.18	26163	0.14
N18	29351	0.18	21773	0.19	18062	0.09
N19	31499	0.19	17840	0.15	18083	0.09
N20	21329	0.13	17853	0.15	27566	0.14
P1	2268709	13.59	2017323	17.37	2086383	10.80
P2	2265369	13.57	2310180	19.89	2626657	13.59
P3	1396259	8.36	1354320	11.66	1576310	8.16
P4	5303455	31.76	4528356	39.00	5301972	27.44
P5	1172797	7.02	990061	8.53	1078639	5.58
P6	462779	2.77	465180	4.01	452054	2.34
P7	9925656	59.44	9907621	85.32	10188374	52.73
P8	5395907	32.31	4308308	37.10	5429786	28.10
P9	2616122	15.67	2275909	19.60	2754315	14.25
P10	7427550	44.48	6826764	58.79	6600762	34.16
L1	4753317	28.47	4889084	42.10	4876354	25.24
L2	2330216	13.95	2229164	19.20	2561305	13.26
L3	1214089	7.27	1044759	9.00	1153331	5.97
L4	605831	3.63	572438	4.93	548862	2.84
L5	274458	1.64	241914	2.08	262161	1.36
L6	137556	0.82	142265	1.23	101888	0.53
L7	71768	0.43	53721	0.46	81038	0.42
L8	44021	0.26	31789	0.27	43036	0.22
L9	42992	0.26	31894	0.27	36075	0.19
L10	17463	0.10	22933	0.20	15759	0.08
CV p24 抗原 1	1043979	6.25	994953	8.57	1152390	5.96
CV p24 抗原 2	1214203	7.27	1078291	9.29	1276238	6.60
CV p24 抗原 3	1207952	7.23	1182166	10.18	1230591	6.37
CV p24 抗原 4	1178947	7.06	1181256	10.17	1072886	5.55
CV p24 抗原 5	1196652	7.17	1037739	8.94	1072681	5.55
CV p24 抗原 6	1242935	7.44	1040793	8.96	1225736	6.34
CV p24 抗原 7	1243440	7.45	1016167	8.75	1209369	6.26
CV p24 抗原 8	1086230	6.50	1146031	9.87	1263264	6.54
CV p24 抗原 9	1051831	6.30	1118546	9.63	1117350	5.78
CV p24 抗原 10	1077127	6.45	1054223	9.08	1169269	6.05
CV p24 抗原/抗体 1	4171945	24.98	4073506	35.08	4492553	23.25
CV p24 抗原/抗体 2	4029439	24.13	4063081	34.99	4593806	23.77
CV p24 抗原/抗体 3	4172324	24.99	3630411	31.26	4313157	22.32
CV p24 抗原/抗体 4	4309127	25.81	4104651	35.35	3937233	20.38

[0062]

样本	第一批		第二批		第三批	
	发光值	S/CO	发光值	S/CO	发光值	S/CO
CV p24 抗原/抗体 5	4324042	25.89	3895493	33.55	4113324	21.29
CV p24 抗原/抗体 6	4531417	27.14	3718809	32.02	3957152	20.48
CV p24 抗原/抗体 7	4104103	24.58	4065802	35.01	4058701	21.01
CV p24 抗原/抗体 8	4349194	26.05	4111227	35.40	4151451	21.49
CV p24 抗原/抗体 9	4041694	24.20	3980406	34.28	4386832	22.70
CV p24 抗原/抗体 10	4490393	26.89	3625219	31.22	3971087	20.55

[0063] 注：阴性参考品 (N1 ~ N20)；阳性参考品 (P1 ~ P10)；灵敏度参考品 (L1 ~ L10)；精密性参考品 (CV)。

[0064] 实施例 5：

[0065] BBI 阳转血清盘检测

[0066] 考核试剂和参比试剂同时检测 10 套 BBI 阳转血清盘，其中 1 套阳转血清盘，编号为 PRB955，考核试剂检测结果为阳性的样本比参比试剂晚 1 例，考核试剂检测该套阳转血清盘的相对敏感性系数为 +1；其余 9 套血清盘考核试剂和参比试剂检测结果为阳性的样本一致，考核试剂检测该 9 套阳转血清盘的相对敏感系数为 0；因此，考核试剂检测该 10 套 BBI 阳转血清盘的相对敏感性系数的平均值为 +0.1，即考核试剂检测该 10 套 BBI 阳转血清盘的相对敏感性系数为 +0.1（见表 3），提示考核试剂检测 HIV-1 早期感染的能力与参比试剂相当。

[0067] 表 1. 考核试剂阳转血清盘样本检测结果分析

[0068]

血清盘样本编号	考核试剂阳性样	参比试剂阳性样	考核试剂相对敏
	本例数	本例数	感性系数
PRB943	5	5	0
PRB945	3	3	0
PRB947	3	3	0
PRB949	1	1	0
PRB951	4	4	0

[0069]

PRB954	2	2	0
PRB955	5	4	1
PRB958	4	4	0
PRB960	2	2	0
PRB972	2	2	0

考核试剂检测 BBI 阳转血清盘相对敏感性系数 0.1

[0070] 附表 2 :BBI 阳转血清盘检测结果汇总 :

[0071]

血清转 换盘编 号	样本号	考核试剂检测结果			参比试剂检测结 果	相对敏 感性系 数
		抗体 S/Co	抗原 S/CO	抗原+抗体 S/CO	S/CO	
PRB943	PRB943 -01	0.1	0.12	0.22	0.441	0
	PRB943 -02	0.08	0.08	0.16	0.541	
	PRB943 -03	0.96	1.55	2.51	1.78	
	PRB943 -04	38.1	42.35	80.45	38.35	
	PRB943 -05	105.01	83.1	188.11	271.4	
	PRB943 -06	50.1	43.8	93.90	53.23	
	PRB943 -07	18.23	23.52	41.75	25.67	
PRB945	PRB945 -01	0.07	0.08	0.15	0.444	0
	PRB945 -02	0.05	0.05	0.10	0.512	
	PRB945 -03	0.35	0.4	0.75	0.939	
	PRB945 -04	6.23	10.31	16.54	7.78	
	PRB945 -05	10.53	23.32	33.85	25.58	

[0072]

血清转 换盘编 号	样本号	考核试剂检测结果			参比试剂检测结 果	相对敏 感性系 数
		抗体 S/Co	抗原 S/CO	抗原+抗体 S/CO	S/CO	
	PRB945 -06	16.11	23.88	39.99	87.23	
PRB947	PRB947 -01	0.17	0.18	0.35	0.426	0
	PRB947 -02	1.69	5.05	6.74	5.33	
	PRB947 -03	1.97	5.38	7.35	8.83	
	PRB947 -04	1.98	4.95	6.93	29.53	
PRB949	PRB949 -01	0.15	0.16	0.31	0.416	0
	PRB949 -02	0.1	0.11	0.21	0.419	
	PRB949 -03	0.15	0.17	0.32	0.635	
	PRB949 -04	9.97	13.74	23.71	16.4	
PRB951	PRB951 -01	0.18	0.16	0.34	0.395	0
	PRB951 -02	0.11	0.12	0.23	0.387	
	PRB951 -03	0.98	1.76	2.74	2.14	
	PRB951 -04	14.11	17.33	31.44	22.55	
	PRB951 -05	85.67	65.69	151.36	170.4	
	PRB951 -06	24.81	31.56	56.37	44.83	
PRB954	PRB954 -01	0.09	0.09	0.18	0.477	0
	PRB954 -02	0.06	0.06	0.12	0.475	
	PRB954 -03	0.1	0.09	0.19	0.577	
	PRB954 -04	0.07	0.07	0.14	0.476	
	PRB954 -05	0.12	0.21	0.33	0.916	

[0073]

血清转 换盘编 号	样本号	考核试剂检测结果			参比试剂检测结 果	相对敏 感性系 数
		抗体 S/Co	抗原 S/CO	抗原+抗体 S/CO	S/CO	
	PRB954 -06	1.06	2.15	3.21	5.28	
	PRB954 -07	23.51	31.62	55.13	65.93	

[0074]

血清转换盘编号	样本号	考核试剂检测结果			参比试剂检测结果	相对敏感性系数
		抗体 S/Co	抗原 S/CO	抗原+抗体 S/CO	S/CO	
PRB955	PRB955-01	0.2	0.2	0.40	1.35	1
	PRB955-02	0.49	0.96	1.45	1.47	
	PRB955-03	3.98	11.76	15.74	11.25	
	PRB955-04	8.96	13.04	22.00	30.92	
	PRB955-05	3.13	9.1	12.23	81.81	
PRB958	PRB958-01	0.17	0.18	0.35	0.395	0
	PRB958-02	0.1	0.1	0.20	0.402	
	PRB958-03	0.51	0.96	1.47	3.03	
	PRB958-04	1.32	3.06	4.38	6.46	
	PRB958-05	2.54	8.74	11.28	11.34	
	PRB958-06	8.56	15.06	23.62	28.24	
PRB960	PRB960-01	0.1	0.1	0.20	0.48	0
	PRB960-02	0.05	0.05	0.10	0.404	
	PRB960-03	0.06	0.07	0.13	0.449	
	PRB960-04	0.08	0.08	0.16	0.4	
	PRB960-05	0.06	0.07	0.13	0.429	
	PRB960-06	0.06	0.06	0.12	0.462	
	PRB960-07	0.09	0.1	0.19	0.429	
	PRB960-08	121.23	45.01	166.24	438.6	
	PRB960-09	134.12	42.44	176.56	489.3	

[0075]

血清转 换盘编 号	样本号	考核试剂检测结果			参比试剂检测结 果	相对敏 感性系 数
		抗体 S/Co	抗原 S/CO	抗原+抗体 S/CO	S/CO	
PRB972	PRB972 -01	0.12	0.12	0.24	0.366	0
	PRB972 -02	0.11	0.11	0.22	0.416	
	PRB972 -03	0.12	0.12	0.24	0.471	
	PRB972 -04	0.15	0.19	0.34	0.616	
	PRB972 -05	9.45	16.91	26.36	2.19	
	PRB972 -06	11.69	24.94	36.63	8.07	
			均值			0.1

专利名称(译)	一种人类免疫缺陷病毒抗原抗体联合检测试剂盒及其制备方法和应用		
公开(公告)号	<a href="#">CN104237510A</a>	公开(公告)日	2014-12-24
申请号	CN201410466445.9	申请日	2014-09-12
[标]申请(专利权)人(译)	博奥赛斯(天津)生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	博奥赛斯(天津)生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	博奥赛斯(天津)生物科技有限公司		
[标]发明人	刘萍 栾大伟 张振斌 侯玉文 杨桂霞 李克锦		
发明人	刘萍 栾大伟 张振斌 侯玉文 杨桂霞 李克锦		
IPC分类号	G01N33/569 G01N33/535		
CPC分类号	G01N33/535 G01N33/56988		
代理人(译)	张艳梅		
其他公开文献	CN104237510B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

#### 摘要(译)

本发明提供了一种人类免疫缺陷病毒抗原抗体联合检测试剂盒，所述试剂盒包括：(1)双标记酶结合物；(2)阴阳性对照物；(3)发光液；(4)微孔包被板。双标记酶结合物采用改良高碘酸钠氧化法。本发明还公开了这种试剂盒的制备方法和使用方法，本发明试剂盒的优点是相比较单独检测抗原或抗体的试剂，本发明试剂盒可以得到3个检测结果，能够全部测出体内仅有抗原、仅有抗体、抗原抗体均有的情况，且灵敏度高。

项目	指标	标准	结果		
			第一批	第二批	第三批
阴性参考品符合率	20份	≥18/20	20/20	20/20	20/20
阳性参考品符合率	20份	20/20	20/20	20/20	20/20
灵敏度参考品	S1	-	-	-	-
	S2		+	+	+
	S3		+	+	+
	S4	+	+	+	+
	S5	+	+	+	+
	S6	+	+	+	+
精密性 (CV)	精密性参考品 (n=10)	≤15.0%	5.3%	5.0%	6.1%