



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102692499 B

(45) 授权公告日 2015. 01. 28

(21) 申请号 201210204875. 4

(22) 申请日 2012. 06. 20

(73) 专利权人 福建出入境检验检疫局检验检疫技术中心

地址 350001 福建省福州市湖东路 312 号国检广场

(72) 发明人 王武军 徐淑菲 孔繁德 白泉阳 唐泰山 高丽钦 刘正才 黄一帆 郑腾 张体银

(74) 专利代理机构 福州元创专利商标代理有限公司 35100

代理人 蔡学俊

(51) Int. Cl.

G01N 33/569 (2006. 01)

G01N 33/531 (2006. 01)

(56) 对比文件

WO 02/041987 A3, 2002. 05. 30, 全文.

CN 1664585 A, 2005. 09. 07, 全文.

US 2006/0252049 A1, 2006. 11. 09, 全文.

CN 1866014 A, 2006. 11. 22, 全文.

CN 101470116 A, 2009. 07. 01, 全文.

李秋瑾等. 胶体金免疫渗滤技术检测棘球蚴病抗体试剂盒的研究. 《中国兽医科技》. 2001, 第 31 卷 (第 6 期), 18-19.

张宏刚等. 斑点金免疫渗滤技术及其在检测中的应用. 《军事医学》. 2011, 第 35 卷 (第 4 期), 307-314.

张吉红等. 斑点免疫金渗滤法检测赤羽病抗体的研究. 《经济动物学报》. 2010, 第 14 卷 (第 3 期), 139-153.

董华兴等. 牛传染性鼻气管炎病毒 DQ 株 gD 基因表达及其间接 ELISA 方法的建立和初步应用. 《中国兽医杂志》. 2011, 第 47 卷 (第 2 期), 3-5.

审查员 李宏悦

权利要求书1页 说明书5页 附图1页

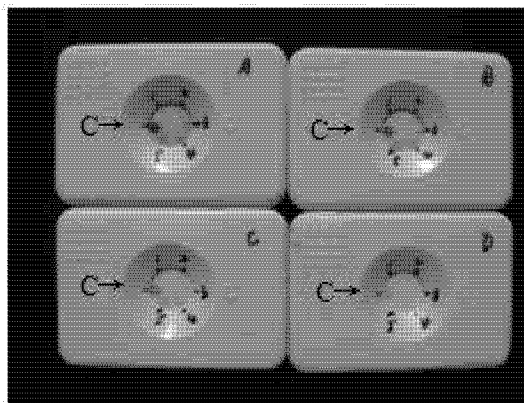
(54) 发明名称

检测 IBR 病毒抗体的金标免疫渗滤试剂盒及检测方法

(57) 摘要

本发明公开一种检测 IBR 病毒抗体的金标免疫渗滤试剂盒及检测方法, 具体包括以下步骤: 所述试剂盒的组成包括:a) 牛传染性鼻气管炎病毒抗原;b) 金标记羊抗牛抗体;c) 洗涤液;d) 封闭液。先将牛传染性鼻气管炎病毒抗原点样于硝酸纤维素膜上, 封闭后加待测血清样品, 洗涤后用金标记羊抗牛抗体作为胶体金标记蛋白检测牛传染性鼻气管炎病毒抗体。采用本发明的试剂盒用于牛传染性鼻气管炎病毒抗体的检测, 具有特异、敏感、快速可靠、效果直观、结果容易判断等优点, 且不需要特殊仪器设备, 检测结果可以保存备查。

CN 102692499 B



1. 一种检测牛传染性鼻气管炎病毒抗体的金标免疫渗滤试剂盒,其特征在于,所述试剂盒的组成包括:

- a. 牛传染性鼻气管炎病毒抗原;
- b. 金标记羊抗牛抗体;
- c. 洗涤液;
- d. 封闭液;

所述牛传染性鼻气管炎病毒抗原的制备方法如下:采用无血清培养方法在牛肾传代细胞上培养牛传染性鼻气管炎病毒,将牛传染性鼻气管炎病毒的培养液反复冻融3次,5000 r/min离心30 min,取上清液装入透析袋中,置于0.01 mol/L pH7.4 PBS 缓冲液中透析,直至培养液透明清亮为止,然后将透析液浓缩;所述无血清培养方法采用不添加血清的基础培养基 DMEM/F12=1:1,培养条件为 37℃、5% CO₂;

所述封闭液为含 10g/L 酪蛋白、0.5mL/L 吐温-20 的 0.01 mol/L pH7.2 的 PBS 溶液或含 5g/L 酪蛋白、0.5mL/L 吐温-20 的 0.01 mol/L pH7.2 的 PBS 溶液;所述洗涤液为含 0.5ml/L 吐温-20 的 0.01mol/L pH7.2 的 PBS 缓冲液;

利用所述金标免疫渗滤试剂盒检测牛传染性鼻气管炎病毒抗体的方法如下:

先将牛传染性鼻气管炎病毒抗原点样于硝酸纤维素膜上,用封闭液封闭后加待测血清样品,洗涤液洗涤,然后加金标记羊抗牛抗体,洗涤液洗涤,观察结果,若点样处出现红色斑点即为阳性,若不出现红色斑点即为阴性;所述金标记羊抗牛抗体采用柠檬酸三钠还原法制备纳米胶体金溶液,然后在纳米胶体金溶液中加入羊抗牛抗体;在试剂盒内硝酸纤维素膜上对称位置点样如下:一点为牛传染性鼻气管炎病毒抗原 1 μL 作为检测点,另一点为葡萄球菌 A 蛋白 1 μL 作为质控点;室温干燥后加入 100 μL 封闭液,所述点样时牛传染性鼻气管炎病毒抗原浓度为 0.95 mg/mL — 1.81mg/mL,葡萄球菌 A 蛋白浓度为 1 g/L;待封闭液干燥后,加入待检血清 50 μL — 100 μL;渗入后加入洗涤液洗涤;加金标记羊抗牛抗体 100 μL;渗入后加入洗涤液洗涤,洗去未结合的金标记羊抗牛抗体;5 min-10min 内若在硝酸纤维素膜上点样处出现红色斑点即为阳性,若不出现红色斑点即为阴性,作为试验有效的标志,质控点应出现红色斑点,否则该膜无效,应重新点制膜。

检测 IBR 病毒抗体的金标免疫渗滤试剂盒及检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种检测 IBR 病毒抗体的金标免疫渗滤试剂盒及检测方法。

背景技术

[0002] 牛传染性鼻气管炎(Infectious bovine rhinotracheitis, IBR),是由牛疱疹病毒 I 型引起的牛的一种接触性传染病,以高热、呼吸困难、上呼吸道及气管粘膜发炎以及生殖道感染、结膜炎等为主要特征。一般牛群临床发病率约 20%-30%,但血清反应阳性率要高得多,由于本病有潜伏感染和机体长期排毒的性质,抗体阳性牛实际上就是隐性带毒者。IBRV 具有典型的泛嗜性,能侵袭多种器官和组织,引起多种临床症状,给养牛业造成较大的经济损失,是国际动物贸易中进口种牛、牛精液时的重点检疫对象和进口国应高度关注的动物疫病之一,我国农业部将其列为二类动物疫病。

[0003] 牛传染性鼻气管炎几乎遍布世界各地,我国主要奶牛进口国澳大利亚、新西兰等国均有发生。该病于 1955 年在美国科罗拉多州的育肥菜牛被首次报道,我国于 1980 年从新西兰进口的奶牛体内首次分离到 IBRV,随后的血清学调查证实我国多个省市的牛群中均有一定比例的 IBR 抗体阳性牛存在。近几年从国外进口奶牛中也不同程度的检出抗体阳性牛和分离出该病毒。因此清除 IBR 抗体阳性牛,排除潜伏感染动物是控制 IBR 最好最简单的方法,但关键问题是要率先建立一种检测 IBR 阳性牛的方法。目前,国内已有的针对牛传染性鼻气管炎检测的国家标准和行业标准,包括经细胞培养分离病毒,病毒核酸的 PCR 检测、病毒抗体的血清中和试验和酶联免疫吸附试验(ELISA)。检验过程繁琐,病毒检测需要 5d-6d 才能报告阳性结果,血清抗体检测方法中最快速的 ELISA 方法也需要 2h-4h。而且现行检测 IBR 抗体的试剂多为从国外进口的 ELISA 诊断试剂盒,价格昂贵推高了检测成本,同时还需要酶标仪等特定仪器、操作者的实验技能和一定的试验环境条件,难以在基层临床中推广。

发明内容

[0004] 为了解决上述实际问题,本发明的目的在于提供一种检测 IBR 病毒抗体的金标免疫渗滤试剂盒及检测方法,本发明具有特异、敏感、快速可靠、效果直观、结果容易判断等优点,且不需要特殊仪器设备,检测样品的检测结果可以保存备查。

[0005] 为达到上述目的,本发明采用以下技术方案:

[0006] 本发明首先提供了一种检测 IBR 病毒抗体的金标免疫渗滤试剂盒,所述试剂盒的组成包括:

[0007] a) 牛传染性鼻气管炎病毒抗原;

[0008] b) 金标记羊抗牛抗体;

[0009] c) 洗涤液;

[0010] d) 封闭液。

[0011] 所述牛传染性鼻气管炎病毒抗原的制备方法如下:采用无血清培养方法在牛肾传代细胞上培养牛传染性鼻气管炎病毒,将牛传染性鼻气管炎病毒的培养液反复冻融 3 次,

5000 r/min 离心 30 min, 取上清液装入透析袋中, 置于 0.01 mol/L pH7.4 PBS 缓冲液中透析, 直至培养液透明清亮为止, 然后将透析液浓缩。

[0012] 所述无血清培养方法采用不添加血清的基础培养基 DMEM/F12 (1:1), 培养条件为 37°C、5% CO₂。

[0013] 所述封闭液为含 10g/L 酪蛋白、0.5mL/L 吐温-20 (Tween-20) 的 0.01 mol/L pH7.2 的 PBS 溶液或含 5g/L 酪蛋白、0.5mL/L Tween-20 的 0.01 mol/L pH7.2 的 PBS 溶液; 所述洗涤液为含 0.5mL/L Tween-20 的 0.01mol/L pH7.2 的 PBS 缓冲液。

[0014] 本发明还提供了一种利用所述金标免疫渗滤试剂盒检测牛传染性鼻气管炎病毒抗体的方法, 先将牛传染性鼻气管炎病毒抗原点样于硝酸纤维素膜上, 用封闭液封闭后加待测血清样品, 洗涤液洗涤, 然后加金标记羊抗牛抗体, 洗涤液洗涤, 观察结果, 若点样处出现红色斑点即为阳性, 若不出现红色斑点即为阴性。

[0015] 在试剂盒内硝酸纤维素膜上对称位置点样如下: 一点为牛传染性鼻气管炎病毒抗原 1 μL 作为检测点, 另一点为葡萄球菌 A 蛋白 1 μL 作为质控点; 室温干燥后加入 100 μL 封闭液; 待封闭液干燥后, 加入待检血清 50-100 μL; 渗入后加入洗涤液洗涤; 加金标记羊抗牛抗体 100 μL; 渗入后加入洗涤液洗涤, 洗去未结合的金标记羊抗牛抗体; 5 min-10min 内若在硝酸纤维素膜上点样处出现红色斑点即为阳性, 若不出现红色斑点即为阴性, 作为试验有效的标志, 质控点应出现红色斑点, 否则该膜无效, 应重新点制膜。

[0016] 所述点样时牛传染性鼻气管炎病毒抗原浓度为 0.95 mg/mL - 1.81mg/mL, 葡萄球菌 A 蛋白浓度为 1 g/L。

[0017] 所述的金标记羊抗牛抗体, 其制备方法如下: 采用柠檬酸三钠还原法制备纳米胶体金溶液, 然后在纳米胶体金溶液中加入羊抗牛抗体; 纳米胶体金溶液采用常规制备: 将 100ml 0.1ml/L 氯金酸溶液加热至沸腾, 在磁力加热搅拌条件下迅速加入 10g/L 柠檬酸钠溶液, 在搅拌下恒温回流反应制得。取纳米胶体金溶液, 用 0.1 mol/L K₂CO₃ 调 pH 值至 7.6。然后在每 mL 胶体金溶液中加入 2.5 μg 羊抗牛抗体, 磁力搅拌状态下逐滴加入, 30 min 后加入 50g/L 聚乙二醇 20 000 (PEG 20 000) 至终浓度 1g/L, 再继续搅拌 15 min, 最后置 4°C 冰箱过夜, 以此液标记为原体积。次日将此液以 5 000 r/min 离心 10min, 取上清液 15 000 r/min 离心 1h, 弃上清。在沉淀用重悬缓冲液恢复至原体积。15 000 r/min 离心 30min, 弃上清。沉淀用胶体金稀释液恢复至原体积的 1/40-1/5, 置 4°C 冰箱保存。

[0018] 其中制备的纳米胶体金颗粒的直径为 20nm-30nm。

[0019] 所采用的重悬缓冲液为含 10g/L 牛血清白蛋白(BSA)、0.5g/L PEG 20 000、0.5mL/L Tween-20、0.01mol/L PH7.2 的 PBS 缓冲液; 所采用的胶体金稀释液为含 10g/L BSA、0.5g/L PEG 20 000、50g/L 蔗糖、0.5mL/L Tween-20、0.01mol/L PH7.2 的 PBS 缓冲液。

[0020] 所述试剂盒为塑料正方形小盒, 体积为 4.8cm×3.0cm×0.7cm, 分底和盖两部分, 盖面有直径 0.5cm 圆孔。盒内有两层, 朝盖的为硝酸纤维素膜(NC 膜), NC 膜下紧贴特制的吸水纸垫。

[0021] 本发明的有益效果是: 本发明是以无血清培养的牛传染性鼻气管炎病毒作为抗原, 采用纳米胶体金免疫标记技术, 研究建立检测牛传染性鼻气管炎病毒抗体的纳米胶体金免疫渗滤检测试剂盒。采用硝酸纤维素膜(NC 膜)为载体, 先将抗原点制于 NC 膜上, 经封闭液封闭后加入待测样品, 待样品渗入后洗涤, 再加入纳米胶体金标记的抗体, 应用纳米胶

体金显色的特点将抗原抗体反应信号放大,使反应结果能够在固相载体——NC膜上得以显示。该方法具有特异、敏感、快速可靠、效果直观、结果容易判断等优点,且不需要特殊仪器设备,检测样品的检测结果可以保存用于回顾性检查。通过应用本发明纳米胶体金免疫渗滤检测法和 ELISA 方法同时对 300 份临床奶牛血清样品进行检测,用纳米胶体金免疫渗滤检测法检测结果阳性血清为 17 份,阴性血清为 283 份;ELISA 法的检测结果阳性血清为 18 份,阴性血清为 182 份。纳米胶体金免疫渗滤检测法和 ELISA 方法的阳性率分别为 5.7% 和 6.0%,两者对目标阳性样品检测符合率达 94.4%。

[0022] 本发明建立的方法用于牛传染性鼻气管炎病毒抗体检测,具有特异、敏感、易于操作、结果便于判断,而且与蓝舌病、牛赤羽病、牛白血病、牛病毒性腹泻粘膜病、猪瘟疫病、猪伪狂犬病和猪细小病毒病阳性血清均无交叉反应。该方法的成功建立,能够相对快速简单地对临床牛只是否感染 IBR 的情况做出判断,将为有效控制牛传染性鼻气管炎的传播发挥重要而积极的作用。目前未见国内外利用纳米胶体金免疫标记技术检测牛传染性鼻气管炎的报道,该技术有望为出入境(特别是入境种牛)的牛传染性鼻气管炎检测提供一种快速灵敏、简便可靠的方法,从而在进境种牛隔离检疫工作中得到应用,同时也为国内牛群中该病的流行病学调查、临床诊断提供依据。

附图说明

[0023] 图 1 为本发明最佳点样抗原浓度及纳米胶体金标记羊抗牛抗体浓度的交叉试验结果图;其中:A~D-金标羊抗牛 IgG,分别为原体积的 1/40,1/20,1/10,1/5.;1~5-包被 IBR 抗原 1 μ L,浓度分别为 0.1131mg/mL,0.2263 mg/mL,0.4525 mg/mL,0.95 mg/mL,1.81 mg/mL;C,质控点-包被葡萄球菌 A 蛋白 1 μ L,浓度为 1 g/L。

[0024] 图 2 为本发明 NC 膜上用于抗原包被的封闭液的选择结果图;其中:1. 含 10g/L BSA、5mL/L Tween-20 的 0.01 mol/L pH7.2 的 PBS 封闭;2. 含 5g/L BSA、5mL/L Tween-20 的 0.01mol/L pH7.2 的 PBS 封闭;3. 含 10g/L 酪蛋白、5mL/L Tween-20 的 0.01 mol/L pH7.2 的 PBS 封闭;4. 含 5g/L 酪蛋白、5mL/L Tween-20 的 0.01 mol/L pH7.2 的 PBS 封闭;5. 含 10g/L 酪蛋白、0.5mL/L Tween-20 的 0.01 mol/L PH7.2 的 PBS 封闭;6. 含 5g/L 酪蛋白、0.5mL/L Tween-20 的 0.01 mol/L pH7.2 的 PBS 封闭。S-血清样品;C-质控点。

具体实施方式

[0025] 下面结合附图对本发明作进一步详细的说明,但不应理解为是对本发明进行的限定。

[0026] 1、本实施例首先制备和浓缩牛传染性鼻气管炎病毒抗原

[0027] 在牛肾传代细胞(BK 细胞)上,采用不添加血清的基础培养基 DMEM/F12 (1:1) (购自赛默飞世尔生物化学制品(北京)有限公司),37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下培养牛传染性鼻气管炎病毒,将无血清培养液培养的 IBR 病毒培养液反复冻融 3 次,5 000 r/min 离心 30 min,取上清液装入透析袋中,置于 0.01 mol / L pH7.4 PBS 缓冲液中透析过夜,其间换液数次,直到细胞培养液透明清亮为止。然后用真空离心浓缩仪离心浓缩。用紫外分光光度计测其在 260 nm 和 280 nm 处光密度值。根据经验公式计算病毒蛋白液的蛋白含量。分装后于 -20 $^{\circ}$ C 冻存备用。

[0028] 2、羊抗牛抗体胶体金的制备

[0029] 1) 纳米胶体金的制备:采用柠檬酸还原法制备纳米胶体金溶胶。取 10mL/L 氯金酸(购自上海市试剂总厂化学试剂一厂) 1 mL 加入到 100 mL 去离子双蒸水中,得到的氯金酸溶液的浓度为 0.1mL/L,置于带冷凝装置的烧瓶中加热至沸腾,磁力加热搅拌下快速加入 10g/L 柠檬酸三钠(购自国药集团化学试剂有限公司)水溶液 2 mL,继续加热煮沸直到溶液呈葡萄酒色为止。得到的胶体金颗粒直径为(20-30)nm。冷却后置棕色瓶于 4℃冰箱保存。

[0030] 2) 羊抗牛抗体纳米胶体金标记物的制备:取需制备量的纳米胶体金溶液,用 0.1 mol/L K_2CO_3 (购自国药集团化学试剂有限公司)调 pH 值至 7.6。然后在每 mL 胶体金溶液加入 2.5 μ g 羊抗牛抗体(购于德国 Santa Cruz Biotechnology 公司),磁力搅拌状态下逐滴加入,30 min 后加入 50g/L PEG 20 000 至终浓度 1g/L,再继续搅拌 15 min,最后置 4℃冰箱过夜。第二天将此液以 5 000 r/min 离心 10min,取上清液 15 000 r/min 离心 1h,弃上清。沉淀用重悬缓冲液(含 10g/L BSA、0.5g/L PEG 20 000、0.5mL/L Tween-20、0.01mol/L PH7.2 的 PBS 缓冲液)恢复至原体积(指胶体金标记后、离心前的体积)。15 000 r/min 离心 30min,弃上清。沉淀用胶体金稀释液(含 10g/L BSA、0.5g/L PEG20 000、50g/L 蔗糖、0.5mL/L Tween-20、0.01mol/L PH7.2 的 PBS 缓冲液)恢复至原体积的 1/40,置 4℃冰箱保存。

[0031] 3、反应盒的制作:反应试剂盒为塑料正方形小盒,体积为 4.8cm \times 3.0cm \times 0.7cm,分底和盖两部分,盖面有直径 0.5cm 圆孔。盒内有两层,朝盖的为硝酸纤维素膜(NC 膜)(购于 Schleicher & Schuell 公司),NC 膜下紧贴特制的吸水纸垫(购于 Schleicher & Schuell 公司)。

[0032] 4、应用反应试剂盒作为载体,先将步骤 a) 中制备的牛传染性鼻气管炎病毒抗原点样于硝酸纤维素膜上,封闭后加待测血清样品,洗涤后用步骤 b) 中制备的羊抗牛抗体纳米胶体金检测牛传染性鼻气管炎病毒抗体。

[0033] 实施例 1

[0034] 在上述 3 中制备的反应盒圆孔内 NC 膜上对称位置点如下两点:一点是 IBR 抗原((0.95 ~ 1.81) mg/mL) 1 μ L 作为检测点,另一点是葡萄球菌 A 蛋白(购于卫生部上海生物制品研究所)(1g/L) 1 μ L 作为质控点;室温干燥后加入 100 μ L 封闭液;待封闭液干燥后,加入待检血清(50-100) μ L;渗入后加入洗涤液 100 μ L 洗涤,重复 2-3 遍;加羊抗牛抗体胶体金标记物 100 μ L;渗入后加入洗涤液 100 μ L 洗涤,重复 2-3 遍,洗去未结合的羊抗牛抗体胶体金标记物。5 min 内若在膜上点样处出现红色斑点即为阳性,若不出现红色斑点即为阴性。作为试验有效的标志,质控点应出现红色斑点,否则该试验无效,应重新点制膜。

[0035] 实施例 2

[0036] 最佳抗原浓度和最佳羊抗牛抗体胶体金标记物浓度的选择,分别以 1.81 mg/mL、0.95 mg/mL、0.4525 mg/mL、0.2263 mg/mL 和 0.1131mg/mL 5 种浓度的纯化 IBR 抗原 1 μ L 点样,重复 4 份,加入临床上经 ELISA 方法确认的临界 IBR 阳性血清 100 μ L,洗涤后分别加入不同浓度的金标羊抗牛抗体(分别为原体积的 1/40,1/20,1/10,1/5),进行交叉反应。筛选最佳抗原浓度和最佳羊抗牛抗体胶体金标记物浓度。如图 1 所示,本实施例所做的实验为:A ~ D 反应盒内圆孔上,平行对称点制和包被 IBR 抗原 1 μ L,1 ~ 5 浓度分别为 0.1131mg/mL,0.2263 mg/mL,0.4525 mg/mL,0.95 mg/mL,1.81 mg/mL;圆孔内 C 为质控点,包被葡萄球菌 A 蛋白 1 μ L,浓度为 1 g/L;A ~ D 反应盒分别代表圆孔上加入不同浓度的羊抗牛 IgG 胶

体金标记物,A ~ D 依次为原体积的 1/40,1/20,1/10,1/5。由图 1 结果显示可见:IBR 抗原以(0.95 ~ 1.81) mg/mL 点样包被,羊抗牛 IgG 胶体金标记物使用量为原体积 1/10 时,符合斑点颜色清晰而且是能检出临界阳性血清的最低点样抗原浓度和最低金标羊抗牛抗体浓度的要求。因此,选择点样抗原浓度为(0.95 - 1.81) mg/mL,金标羊抗牛抗体浓度为原体积的 1/10。

[0037] 实施例 3

[0038] 封闭液的配方选择,如图 2 所示,本实施例所做的试验为:经 IBR 抗原点样制备的 NC 膜分别用以下 6 种封闭液进行封闭:(1)含 10g/L BSA、5mL/L Tween-20 的 0.01 mol/L pH7.2 的 PBS;(2)含 5g/L BSA、5mL/L Tween-20 的 0.01mol/L pH7.2 的 PBS;(3)含 10g/L 酪蛋白、5mL/L Tween-20 的 0.01 mol/L pH7.2 的 PBS;(4)含 5g/L 酪蛋白、5mL/L Tween-20 的 0.01 mol/L pH7.2 的 PBS;(5)含 10g/L 酪蛋白、0.5mL/L Tween-20 的 0.01 mol/L PH7.2 的 PBS;(6)含 5g/L 酪蛋白、0.5mL/L Tween-20 的 0.01 mol/L pH7.2 的 PBS。经过反复实验测试,结果为:采用第 5 种或第 6 种封闭液,即以含 10g/L 酪蛋白、0.5mL/L Tween-20 的 0.01 mol/L PH7.2 的 PBS 或含 5g/L 酪蛋白、0.5mL/L Tween-20 的 0.01 mol/L pH7.2 的 PBS 作为封闭液,封闭效果最好,符合斑点显色清楚且背景较浅的最适封闭液选择要求。

[0039] 可以理解,很多细节的变化是可能的,但这并不因此违背本发明的范围和精神,任何所属技术领域的普通技术人员对其所做的适当变化,皆应视为不脱离本发明专利的范畴。

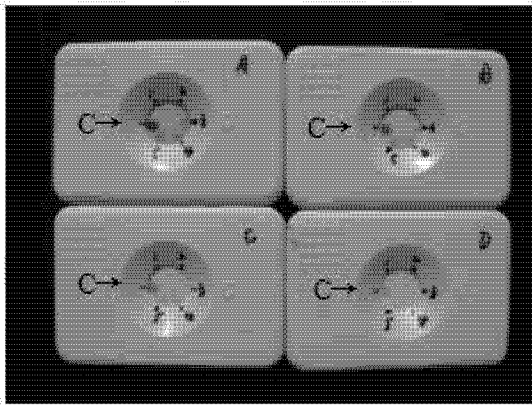


图 1

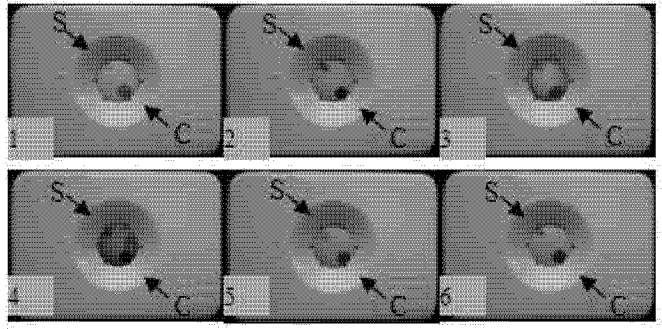


图 2

专利名称(译)	检测IBR病毒抗体的金标免疫渗滤试剂盒及检测方法		
公开(公告)号	CN102692499B	公开(公告)日	2015-01-28
申请号	CN201210204875.4	申请日	2012-06-20
[标]申请(专利权)人(译)	福建出入境检验检疫局检验检疫技术中心		
申请(专利权)人(译)	福建出入境检验检疫局检验检疫技术中心		
当前申请(专利权)人(译)	福建出入境检验检疫局检验检疫技术中心		
[标]发明人	王武军 徐淑菲 孔繁德 白泉阳 唐泰山 高丽钦 刘正才 黄一帆 郑腾 张体银		
发明人	王武军 徐淑菲 孔繁德 白泉阳 唐泰山 高丽钦 刘正才 黄一帆 郑腾 张体银		
IPC分类号	G01N33/569 G01N33/531		
代理人(译)	蔡学俊		
其他公开文献	CN102692499A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开一种检测IBR病毒抗体的金标免疫渗滤试剂盒及检测方法，具体包括以下步骤：所述试剂盒的组成包括：a) 牛传染性鼻气管炎病毒抗原；b) 金标记羊抗牛抗体；c) 洗涤液；d) 封闭液。先将牛传染性鼻气管炎病毒抗原点样于硝酸纤维素膜上，封闭后加待测血清样品，洗涤后用金标记羊抗牛抗体作为胶体金标记蛋白检测牛传染性鼻气管炎病毒抗体。采用本发明的试剂盒用于牛传染性鼻气管炎病毒抗体的检测，具有特异、敏感、快速可靠、效果直观、结果容易判断等优点，且不需要特殊仪器设备，检测结果可以保存备查。

