



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 104407143 B

(45) 授权公告日 2016. 04. 27

(21) 申请号 201410698139. 8

(22) 申请日 2014. 11. 28

(73) 专利权人 山东博科生物产业有限公司

地址 250200 山东省济南市章丘市明水经济开发区山东博科生物产业园

(72) 发明人 谢清华 王进 甘宜梧 谭柏清
王绮 肖慧 包兴艳

(74) 专利代理机构 济南泉城专利商标事务所
37218

代理人 贾波

(51) Int. Cl.

G01N 33/576(2006. 01)

G01N 33/531(2006. 01)

G01N 33/543(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101149385 A, 2008. 03. 26,

CN 101266248 A, 2008. 09. 17,

CN 101477126 A, 2009. 07. 08,

CN 101748151 A, 2010. 06. 23,

审查员 李倩

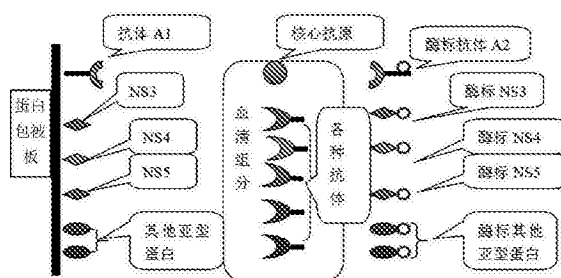
权利要求书1页 说明书6页 附图2页

(54) 发明名称

一种丙型肝炎病毒抗原-抗体联合检测试剂盒

(57) 摘要

本发明属于丙型肝炎检测技术领域,具体涉及一种丙型肝炎病毒抗原-抗体联合检测试剂盒。试剂盒包括蛋白包被板、酶结合物、对照血清、样品稀释液、浓缩洗涤液、显色剂和终止液。本发明将抗丙型肝炎病毒核心抗原的抗体和丙型肝炎病毒其他亚型重组蛋白固定到固相载体上,能保证样本中的丙肝核心抗原及多种亚型的抗体都可以通过免疫反应吸附到固相载体上,避免了漏检;试剂盒中的酶结合物,是对包被抗体和抗原配对的对应抗体和抗原进行酶标记,能够与包被抗体和抗原配对应用,保证检测的特异性。本发明的试剂盒,选用大分子物质作为封闭液,无蛋白结构,同时在封闭液中加入蛋白保护剂,有效保证了试剂盒的稳定性。



1. 一种丙型肝炎病毒抗原-抗体联合检测试剂盒,其特征在于,试剂盒包括蛋白包被板和酶结合物;

所述试剂盒还包括对照血清、样品稀释液、浓缩洗涤液、显色剂和终止液;

所述蛋白包被板是由以下方法制备得到的: pH7.4浓度0.02mol/L的磷酸盐缓冲液将抗原和抗体稀释成1:2000浓度,制得包被液;按100 μ L/孔加入稀释好的包被液,在37 $^{\circ}$ C下包被2小时;弃去包被板内的包被液,将包被板拍干,按100 μ L-300 μ L /孔加入包被板封闭液,在2-8 $^{\circ}$ C下包被16-20小时;弃去包被板内的封闭液,将包被板拍干后,放置于湿度小于30%的35-39 $^{\circ}$ C干燥箱中烘干4-6小时,即得蛋白包被板;

所述包被板封闭液是由以下物质组成的: pH=7.4的Tris-HCl缓冲液0.1mol/L、大分子物质0.5-1.0g/L、蛋白保护剂1.5-10g/L、叠氮钠0.5-1g/L;

所述大分子物质为PEG-20000、聚乙烯吡咯烷酮中的一种或两种的混合物;

所述蛋白保护剂为海藻糖、吐温-20中的一种或两种的混合物;

所述酶结合物是通过以下方法制备得到的: 将5mg辣根过氧化物酶溶于1ml浓度为0.2mol/L、pH5.6醋酸盐缓冲液中,再加入体积浓度为1%的2,4-二硝基氟苯的无水乙醇溶液0.1ml,室温下搅拌1h,得溶液1;在溶液1中加入新鲜配置的0.1mol/L的 NaIO₄ 0.5ml,4 $^{\circ}$ C放置30min,得溶液2;在溶液2中加入体积浓度为2.5%的乙二醇1ml,室温下搅拌1h,得溶液3;在溶液3中加入辣根过氧化物酶标记的蛋白5mg,用pH9.5浓度为1.0mol/L的碳酸盐缓冲液调节溶液pH值至9.0,混匀,4 $^{\circ}$ C过夜,得溶液4;在溶液4中加入0.1mol/L的硼氢化钠溶液0.1ml,混匀,4 $^{\circ}$ C放置3h,得溶液5;在溶液5中加入浓度为0.01mol/L、pH7.4磷酸盐缓冲液,4 $^{\circ}$ C透析过夜,换液3次,得溶液6;将溶液6离心30min,去除沉淀物,所得上清液即为酶结合物。

一种丙型肝炎病毒抗原-抗体联合检测试剂盒

技术领域

[0001] 本发明属于丙型肝炎检测技术领域,具体涉及一种丙型肝炎病毒抗原-抗体联合检测试剂盒。

背景技术

[0002] 丙型病毒性肝炎,简称为丙型肝炎、丙肝,是一种由丙型肝炎病毒(HCV)感染引起的病毒性肝炎,主要经输血、针刺、吸毒等传播,据世界卫生组织统计,全球HCV的感染率约为3%,估计约1.8亿人感染了HCV,每年新发丙型肝炎病例约3.5万例。丙型肝炎呈全球性流行,可导致肝脏慢性炎症坏死和纤维化,部分患者可发展为肝硬化甚至肝细胞癌(HCC)。未来20年内与HCV感染相关的死亡率(肝衰竭及肝细胞癌导致的死亡)将继续增加,对患者的健康和生命危害极大,已成为严重的社会和公共卫生问题。根据卫生部历年公布的丙肝疫情人数如图1所示。

[0003] 丙型肝炎病毒(HCV)为嗜肝性慢性病毒HCV感染后,患者的起病和临床症状极不典型,以亚临床感染为多见,容易造成漏诊。HCV感染的慢性化发生率明显高于乙型肝炎,较乙型肝炎易早期出现肝硬化、肝癌,死亡率较高。因此HCV的检测对丙型肝炎病毒感染的早期诊断和指导临床治疗有重大的意义。

[0004] 国内至今还没有丙型肝炎(简称丙肝)预防疫苗问世也没有特效药物治疗,而早期诊断仍是防止HCV传播的有效手段。目前用于检测丙肝的试剂主要是检测HCV RNA的RT-PCR方法,针对抗-HCVELISA检测试剂,以及针对于HCV-cAg的ELISA检测试剂。其中RT-PCR检测HCV RNA价格昂贵,操作繁杂,不适于广泛推广;抗-HCVELISA检测的丙肝抗体是在人体对丙肝抗原产生免疫反应后,才可以检测到,因此有一个较长的“窗口期”,一般要感染后70天才能很好检测到;2001年Ortho公司推出了检测HCV核心抗原(HCV-cAg)ELISA试剂,通过大量临床考核评价,证明比抗-HCV试剂检出早,但是还是存在一定的漏检,造成在临床应用中,经试剂筛选后,仍有少部分输血后丙肝发生。有部分血站或医院,同时应用丙肝抗体和丙肝核心抗原两种试剂盒进行检测,但这不仅加大了医护人员的工作量,而且大大增大了检测成本。这些检测方法的缺陷制约了丙肝检测试剂的临床应用。

发明内容

[0005] 针对于现在临床对丙肝检测存在漏检,而且利用多种试剂盒操作造成工作量增大、成本增加的问题,本发明提供了一种丙型肝炎病毒抗原-抗体联合检测的试剂盒,该试剂盒能灵敏、准确的检测丙型肝炎病毒。

[0006] 本发明解决上述技术问题采用的技术方案是:

[0007] 一种丙型肝炎病毒抗原-抗体联合检测试剂盒,包括蛋白包被板和酶结合物;

[0008] 所述的,蛋白包被板是由以下方法制备得到的:pH7.4浓度0.02mol/L的磷酸盐缓冲液将包被蛋白稀释成1:2000浓度,制得包被液;pH7.4浓度为0.02mol/L的磷酸盐缓冲液将抗原和抗体稀释成一定浓度;按100 μ L/孔加入稀释好的包被液,在37 $^{\circ}$ C下包被2小时;弃

去包被板内的包被液,将包被板拍干,按100 μ L-300 μ L /孔加入包被板封闭液,在2-8 $^{\circ}$ C下包被16-20小时;弃去包被板内的封闭液,将包被板拍干后,放置于湿度小于30%的35-39 $^{\circ}$ C干燥箱中烘干4-6小时,即得蛋白包被板。

[0009] 本发明所用的包被蛋白为:a)抗丙型肝炎病毒核心抗原的抗体A1;b)丙型肝炎病毒其他亚型重组蛋白为NS3、NS4、NS5等所有由丙型肝炎病毒RNA表达的其他蛋白。

[0010] 所述的,酶结合物是通过以下方法制备得到的:将5mg辣根过氧化物酶溶于1ml浓度为0.2mol/L、pH5.6醋酸盐缓冲液中,再加入体积浓度为1%的2,4-二硝基氟苯的无水乙醇溶液0.1ml,室温下搅拌1h,得溶液1;在溶液1中加入新鲜配置的0.1mol/L的 NaIO₄ 0.5ml,4 $^{\circ}$ C放置30min,得溶液2;在溶液2中加入体积浓度为2.5%的乙二醇1ml,室温下搅拌1h,得溶液3;在溶液3中加入辣根过氧化物酶标记的蛋白5mg,用pH9.5浓度为1.0mol/L的碳酸盐缓冲液调节溶液pH值至9.0,混匀,4 $^{\circ}$ C过夜,得溶液4;在溶液4中加入0.1mol/L的硼氢化钠溶液0.1ml,混匀,4 $^{\circ}$ C放置3h,得溶液5;在溶液5中加入浓度为0.01mol/L、pH7.4磷酸盐缓冲液,4 $^{\circ}$ C透析过夜,换液3次,得溶液6;将溶液6离心30min,去除沉淀物,所得上清液即为酶结合物。

[0011] 本发明辣根过氧化物酶标记的蛋白为:a)丙型肝炎病毒核心抗原另一活性位点的抗体A2;b)丙型肝炎病毒其他亚型重组蛋白配对的NS3、NS4、NS5等所有由丙型肝炎病毒RNA表达的其他蛋白。

[0012] 所述的,包被板封闭液是由以下物质组成的:Tris-HCl缓冲液(pH=7.4)0.1mol/L、大分子物质0.5-1.0g/L、蛋白保护剂1.5-10g/L、叠氮钠0.5-1g/L;

[0013] 所述的,大分子物质为PEG-20000、聚乙烯吡咯烷酮中的一种或两种的混合物;

[0014] 所述的,蛋白保护剂为海藻糖、吐温-20中的一种或两种的混合物。

[0015] 所述的,试剂盒还包括对照血清、样品稀释液、浓缩洗涤液、显色剂和终止液。

[0016] 本发明的试剂盒的使用方法如下:

[0017] 1)加样:取出检测试剂盒,15-30 $^{\circ}$ C放置30分钟;在蛋白包被板上预设置空白、阴性和阳性对照各一孔,其余每孔加100 μ L样品稀释液,再加入100 μ L待测样品;空白孔加入200 μ L样品稀释液;阴、阳性对照孔分别加入200 μ L阴性、阳性对照血清,混匀后37 $^{\circ}$ C水浴振荡90分钟;

[0018] 2)洗板:用1:20稀释后的洗涤液洗板4次,最后一次拍干;

[0019] 3)加酶结合物:每孔加200 μ L酶结合物37 $^{\circ}$ C水浴30分钟,剩余酶结合物4 $^{\circ}$ C保存;

[0020] 4)洗板:洗板同步骤2);

[0021] 5)显色:先加入显色剂A液100 μ L,再加入显色剂B液100 μ L,37 $^{\circ}$ C水浴避光显色10-15分钟;

[0022] 6)终止:每孔加50 μ L终止液;

[0023] 7)测定:10分钟内以酶标仪450nm波长测定各孔OD值;

[0024] 临界值确定:阴性对照平均OD值+0.06(若阴性对照平均OD值 $\leq$ 0.06时,按0.06计算;OD $>$ 0.06时,按实际测定阴性对照平均OD值+0.06计算)。测试标本的OD值小于临界值则为HCV-cAg阴性。测试标本中的OD值等于或大于临界值则为HCV-cAg阳性。

[0025] 本发明试剂盒中所用的阳性对照血清的主要成份为HCV-cAg强阳血清及亚型抗体;阴性对照血清是主要成份为不含HCV-cAg的正常人血清;样品稀释液的主要成份为加有

山羊血清的PBS;浓缩洗涤液的主要成份为NaCl,磷酸盐、吐温-20;显色剂A的主要成份为过氧化尿素;显色剂B的主要成份为TMB.2HCL;终止液的主要成份为2M H₂SO₄。

[0026] 本发明试剂盒的反应原理图,如图2所示。

[0027] 通过本发明的技术方案,可以获得一种同时检测丙型肝炎病毒的抗原-抗体联合检测试剂盒,该试剂盒通过在包被板上同时包被丙型肝炎病毒核心抗体和各种亚型蛋白的方式,降低了检测的漏检率,同时通过加入无蛋白大分子的封闭液,保证了试剂盒的高效、稳定,具有很好的潜在临床应用价值。

[0028] 本发明的丙型肝炎病毒抗原-抗体联合检测的试剂盒的创新之处在于:

[0029] (1)将抗丙型肝炎病毒核心抗原的抗体和丙型肝炎病毒其他亚型重组蛋白固定到固相载体—蛋白包被板上,能保证样本中的丙肝核心抗原及多种亚型的抗体都可以通过免疫反应吸附到固相载体上,避免了漏检。

[0030] (2)试剂盒中的酶结合物,是对包被抗体和抗原配对的对应抗体和抗原进行酶标记,能够与包被抗体和抗原配对应用,保证了试剂盒检测的特异性。

[0031] (3)本发明的试剂盒,选用大分子物质作为封闭液,无蛋白结构,同时在封闭液中加入蛋白保护剂,有效地保证了试剂盒的稳定性。

附图说明

[0032] 图1卫生部历年公布丙肝疫情统计图;

[0033] 图2本发明试剂盒的反应原理图;

[0034] 图3实施例3对比RT-PCR试剂盒检测相关性。

具体实施方式

[0035] 下面结合实施例对本发明作进一步的说明。

[0036] 实施例1

[0037] 一种丙型肝炎病毒抗原-抗体联合检测试剂盒包括对照血清、样品稀释液、浓缩洗涤液、显色剂、终止液、蛋白包被板和酶结合物。

[0038] 试剂盒中所用的对照血清包括阳性对照血清和阴性对照血清,阳性对照血清的主要成份为HCV-cAg强阳血清及亚型抗体;阴性对照血清是主要成份为不含HCV-cAg的正常人血清;样品稀释液的主要成份为加有山羊血清的PBS;浓缩洗涤液的主要成份为NaCl、磷酸盐、吐温-20;显色剂A的主要成份为过氧化尿素;显色剂B的主要成份为TMB.2HCL;终止液的主要成份为2M H₂SO₄。

[0039] 蛋白包被板是由以下步骤制得的:

[0040] pH7.4浓度为0.02mol/L的磷酸盐缓冲液将抗原和抗体稀释成一定浓度;按100μL/孔加入稀释好的包被液,在37℃下包被2小时;弃去包被板内的包被液,将包被板拍干,按100μL-300μL /孔加入包被板封闭液,在2-8℃下包被16-20小时;弃去包被板内的封闭液,将包被板拍干后,放置于湿度小于30%的35-39℃干燥箱中烘干4-6小时,即得蛋白包被板。

[0041] 酶结合物是通过以下方法制备得到的:

[0042] 将5mg辣根过氧化物酶溶于1ml浓度为0.2mol/L、pH5.6醋酸盐缓冲液中,再加入体积浓度为1%的2,4-二硝基氟苯的无水乙醇溶液0.1ml,室温下搅拌1h,得溶液1;在溶液1中

加入新鲜配置的0.1mol/L的 NaIO_4 0.5ml, 4℃放置30min, 得溶液2; 在溶液2中加入体积浓度为2.5%的乙二醇1ml, 室温下搅拌1h, 得溶液3; 在溶液3中加入辣根过氧化物酶标记的蛋白5mg, 用pH9.5浓度为1.0mol/L的碳酸盐缓冲液调节溶液pH值至9.0, 混匀, 4℃过夜, 得溶液4; 在溶液4中加入0.1mol/L的硼氢化钠溶液0.1ml, 混匀, 4℃放置3h, 得溶液5; 在溶液5中加入浓度为0.01mol/L、pH7.4磷酸盐缓冲液, 4℃透析过夜, 换液3次, 得溶液6; 将溶液6离心30min, 去除沉淀物, 所得上清液即为酶结合物。

[0043] 本实施例的包被板封闭液是由以下物质组成的

[0044] Tris-HCl缓冲液(pH=7.4)0.1mol/L; PEG-20000 1g/L; 吐温-20 5g/L; 海藻糖10g/L; 叠氮钠1g/L。

[0045] 2. 试剂盒的应用及检测操作程序

[0046] 1) 加样: 取出检测试剂盒, 15-30℃放置30分钟; 在蛋白包被板上预设置空白、阴性、阳性对照各一孔, 其余每孔加100μL样品稀释液, 再加入100μL待测样品; 空白孔加入200μL样品稀释液; 阴、阳性对照孔各加入200μL阴、阳对照血清, 混匀后37℃水浴振荡90分钟;

[0047] 2) 洗板: 用1:20稀释后的洗涤液洗板4次, 最后一次拍干;

[0048] 3) 加酶结合物: 每孔加200μL酶结合物37℃水浴30分钟, 剩余酶结合物4℃保存;

[0049] 4) 洗板: 洗板同步骤2);

[0050] 5) 显色: 先加入显色剂A液100μL, 再加入显色剂B液100μL, 37℃水浴避光显色10-15分钟;

[0051] 6) 终止: 每孔加50μL终止液;

[0052] 7) 测定: 10分钟内以酶标仪450nm波长测定各孔OD值;

[0053] 临界值确定: 阴性对照平均OD值+0.06(若阴性对照平均OD值 $\leq$ 0.06时, 按0.06计算; OD $>$ 0.06时, 按实际测定阴性对照平均OD值+0.06计算)。测试标本的OD值小于临界值则为HCV-cAg阴性。测试标本中的OD值等于或大于临界值则为HCV-cAg阳性。

[0054] 实施例2

[0055] 一种丙型肝炎病毒抗原-抗体联合检测试剂盒包括对照血清、样品稀释液、浓缩洗涤液、显色剂、终止液、蛋白包被板和酶结合物。

[0056] 试剂盒中所用的对照血清包括阳性对照血清和阴性对照血清, 阳性对照血清的主要成份为HCV-cAg强阳血清及亚型抗体; 阴性对照血清是主要成份为不含HCV-cAg的正常人血清; 样品稀释液的主要成份为加有山羊血清的PBS; 浓缩洗涤液的主要成份为NaCl、磷酸盐、吐温-20; 显色剂A的主要成份为过氧化尿素; 显色剂B的主要成份为TMB·2HCL; 终止液的主要成份为2M H_2SO_4 。

[0057] 蛋白包被板是由以下步骤制得的:

[0058] pH7.4浓度为0.02mol/L的磷酸盐缓冲液将抗原和抗体稀释成一定浓度; 按100μL/孔加入稀释好的包被液, 在37℃下包被2小时; 弃去包被板内的包被液, 将包被板拍干, 按100μL-300μL/孔加入包被板封闭液, 在2-8℃下包被16-20小时; 弃去包被板内的封闭液, 将包被板拍干后, 放置于湿度小于30%的35-39℃干燥箱中烘干4-6小时, 即得蛋白包被板。

[0059] 酶结合物是通过以下方法制备得到的:

[0060] 将5mg辣根过氧化物酶溶于1ml浓度为0.2mol/L、pH5.6醋酸盐缓冲液中, 再加入体积浓度为1%的2,4-二硝基氟苯的无水乙醇溶液0.1ml, 室温下搅拌1h, 得溶液1; 在溶液1中

加入新鲜配置的0.1mol/L的 NaIO_4 0.5ml, 4℃放置30min, 得溶液2; 在溶液2中加入体积浓度为2.5%的乙二醇1ml, 室温下搅拌1h, 得溶液3; 在溶液3中加入辣根过氧化物酶标记的蛋白5mg, 用pH9.5浓度为1.0mol/L的碳酸盐缓冲液调节溶液pH值至9.0, 混匀, 4℃过夜, 得溶液4; 在溶液4中加入0.1mol/L的硼氢化钠溶液0.1ml, 混匀, 4℃放置3h, 得溶液5; 在溶液5中加入浓度为0.01mol/L、pH7.4磷酸盐缓冲液, 4℃透析过夜, 换液3次, 得溶液6; 将溶液6离心30min, 去除沉淀物, 所得上清液即为酶结合物。

[0061] 本实施例的包被板封闭液是由以下物质组成的:

[0062] Tris-HCl缓冲液(pH=7.4)0.01mol/L; 聚乙烯吡咯烷酮0.5g/L; 吐温-20 0.5g/L; 海藻糖1g/L; 叠氮钠0.1g/L。

[0063] 2. 试剂盒的应用及检测操作程序同实施例1。

[0064] 实施例3

[0065] 一种丙型肝炎病毒抗原-抗体联合检测试剂盒包括对照血清、样品稀释液、浓缩洗涤液、显色剂、终止液、蛋白包被板和酶结合物。

[0066] 试剂盒中所用的对照血清包括阳性对照血清和阴性对照血清, 阳性对照血清的主要成份为HCV-cAg强阳血清及亚型抗体; 阴性对照血清是主要成份为不含HCV-cAg的正常人血清; 样品稀释液的主要成份为加有山羊血清的PBS; 浓缩洗涤液的主要成份为NaCl、磷酸盐、吐温-20; 显色剂A的主要成份为过氧化尿素; 显色剂B的主要成份为TMB. 2HCL; 终止液的主要成份为2M H_2SO_4 。

[0067] 蛋白包被板是由以下步骤制得的:

[0068] pH7.4浓度为0.02mol/L的磷酸盐缓冲液将抗原和抗体稀释成一定浓度; 按100μL/孔加入稀释好的包被液, 在37℃下包被2小时; 弃去包被板内的包被液, 将包被板拍干, 按100μL-300μL /孔加入包被板封闭液, 在2-8℃下包被16-20小时; 弃去包被板内的封闭液, 将包被板拍干后, 放置于湿度小于30%的35-39℃干燥箱中烘干4-6小时, 即得蛋白包被板。

[0069] 酶结合物是通过以下方法制备得到的:

[0070] 将5mg辣根过氧化物酶溶于1ml浓度为0.2mol/L、pH5.6醋酸盐缓冲液中, 再加入体积浓度为1%的2,4-二硝基氟苯的无水乙醇溶液0.1ml, 室温下搅拌1h, 得溶液1; 在溶液1中加入新鲜配置的0.1mol/L的 NaIO_4 0.5ml, 4℃放置30min, 得溶液2; 在溶液2中加入体积浓度为2.5%的乙二醇1ml, 室温下搅拌1h, 得溶液3; 在溶液3中加入辣根过氧化物酶标记的蛋白5mg, 用pH9.5浓度为1.0mol/L的碳酸盐缓冲液调节溶液pH值至9.0, 混匀, 4℃过夜, 得溶液4; 在溶液4中加入0.1mol/L的硼氢化钠溶液0.1ml, 混匀, 4℃放置3h, 得溶液5; 在溶液5中加入浓度为0.01mol/L、pH7.4磷酸盐缓冲液, 4℃透析过夜, 换液3次, 得溶液6; 将溶液6离心30min, 去除沉淀物, 所得上清液即为酶结合物。

[0071] 本实施例的包被板封闭液是由以下物质组成的:

[0072] Tris-HCl缓冲液(pH=7.4)0.05mol/L; PEG-20000 0.5g/L; 聚乙烯吡咯烷酮0.5g/L; 吐温-20(Tween-20)1g/L; 海藻糖5g/L; 叠氮钠0.5g/L。

[0073] 2. 试剂盒的应用及检测操作程序同实施例1。

[0074] 效果测试1

[0075] 选定100例临床样本进行检测, 以实施例1-3制备的试剂盒作为实验例1-3, 美国ortho公司的丙型肝炎病毒核心抗原试剂盒作为对比例, 分别对临床样本进行检测。检测结

果如表1所示。

[0076] 表1 100个样本应用两种试剂的检测结果

[0077]

	阳性	阴性	正确率/%
实验例1	36	64	100
实验例2	36	64	100
实验例3	36	64	100
对比例	35	65	98

[0078] 由表1可知,实施例1-3制备的试剂盒检测样本阴阳性结果一致,而美国ortho公司试剂盒检测有一例检测为假阴性,后期对该样本进行跟踪检测,该病号样本检测为丙型肝炎病毒感染者。因此本实验制备的试剂盒,检测阴阳性符合率为100%,没有漏检。

[0079] 效果测试2

[0080] 利用实施例3制备的试剂盒,对比丙型肝炎病毒检测的金标准实时定量PCR检测方法,验证两个试剂盒的相关性,对比试剂选择为中山大学达安基因股份有限公司的丙型肝炎病毒(HCV)核酸检测试剂盒(PCR-荧光探针法),同时对40例临床样本(覆盖高低值)进行检测,结果如图3所示。

[0081] 经过与金标准的比对,实施例3制备的试剂盒具有与金标准极高相关性的检测结果,检测40个样本相关系数 $r=0.9977$,说明两个试剂盒在检测临床样本的结果基本一致。

[0082] 通过上述效果测试可知,本发明提供了一种丙型肝炎病毒抗原-抗体联合检测试剂盒,能够同时对丙型肝炎病毒感染产生的抗原及各亚型蛋白的抗体进行检测,检测结果准确,阴阳性符合率能够达到100%,同时比对金标准(RT-PCR检测试剂盒)具有高度一致性,本发明对于临床检测丙型肝炎病毒具有很高的潜在价值。

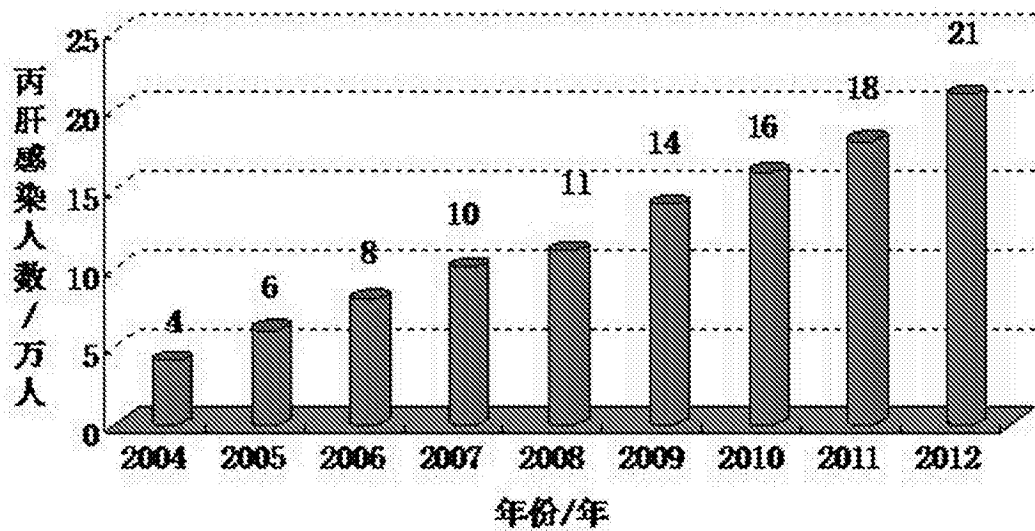


图1

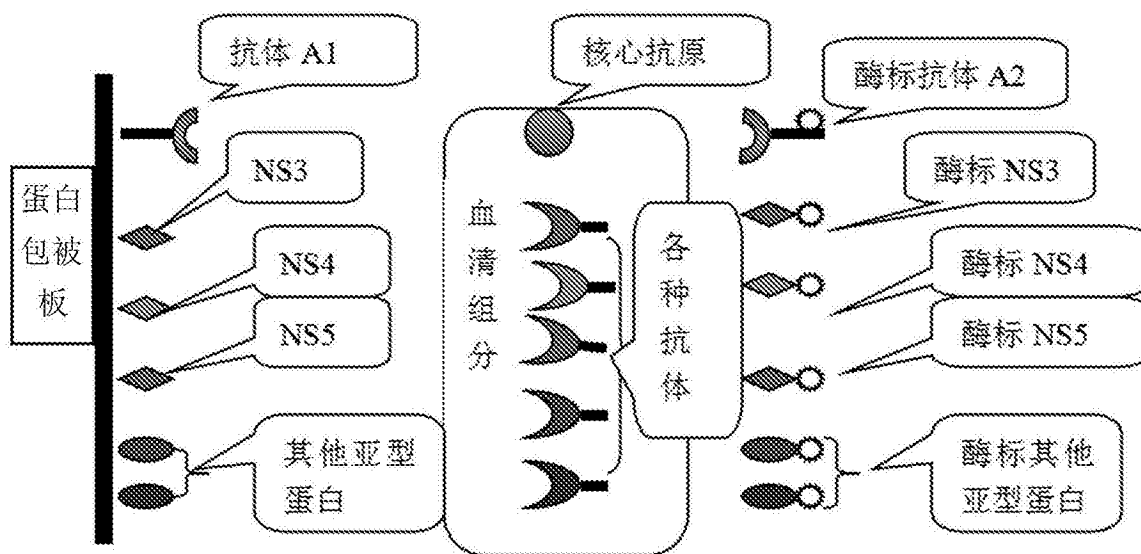


图2

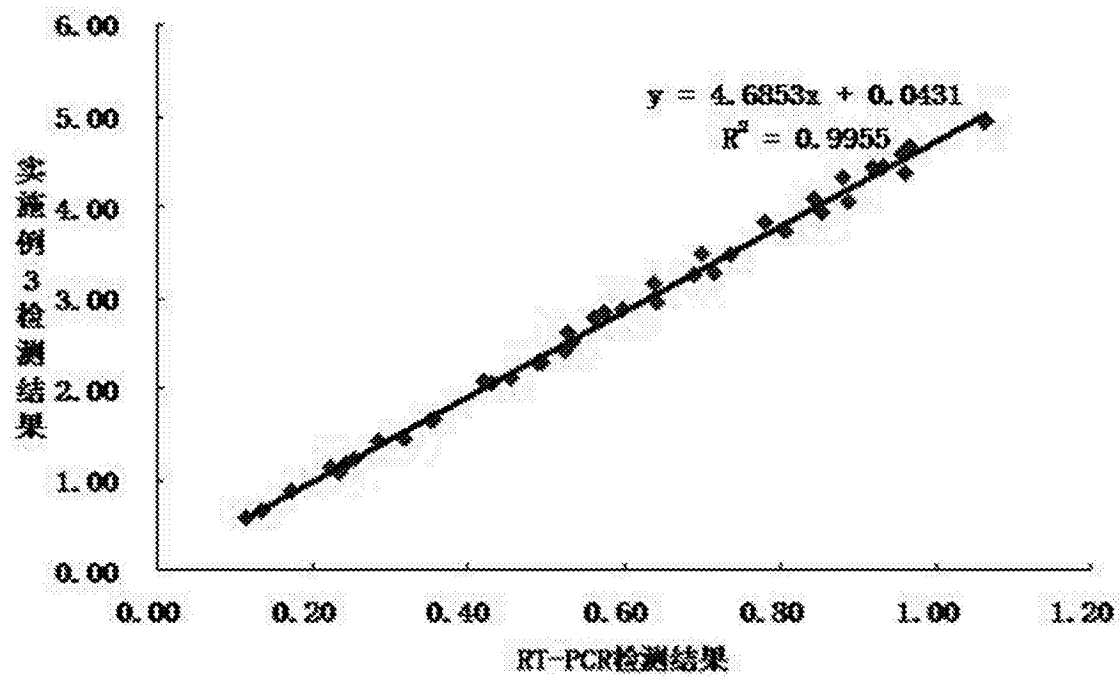


图3

专利名称(译)	一种丙型肝炎病毒抗原-抗体联合检测试剂盒		
公开(公告)号	CN104407143B	公开(公告)日	2016-04-27
申请号	CN201410698139.8	申请日	2014-11-28
[标]申请(专利权)人(译)	济南鑫贝西生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	山东博科生物产业有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	山东博科生物产业有限公司		
[标]发明人	谢清华 王进 甘宜梧 谭柏清 王绮 肖慧 包兴艳		
发明人	谢清华 王进 甘宜梧 谭柏清 王绮 肖慧 包兴艳		
IPC分类号	G01N33/576 G01N33/531 G01N33/543		
CPC分类号	G01N33/54333 G01N33/56983 G01N33/5767		
代理人(译)	贾波		
审查员(译)	李倩		
其他公开文献	CN104407143A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明属于丙型肝炎检测技术领域，具体涉及一种丙型肝炎病毒抗原-抗体联合检测试剂盒。试剂盒包括蛋白包被板、酶结合物、对照血清、样品稀释液、浓缩洗涤液、显色剂和终止液。本发明将抗丙型肝炎病毒核心抗原的抗体和丙型肝炎病毒其他亚型重组蛋白固定到固相载体上，能保证样本中的丙肝核心抗原及多种亚型的抗体都可以通过免疫反应吸附到固相载体上，避免了漏检；试剂盒中的酶结合物，是对包被抗体和抗原配对的对应抗体和抗原进行酶标记，能够与包被抗体和抗原配对应用，保证检测的特异性。本发明的试剂盒，选用大分子物质作为封闭液，无蛋白结构，同时在封闭液中加入蛋白保护剂，有效保证了试剂盒的稳定性。

