



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110954695 B

(45) 授权公告日 2021.05.11

(21) 申请号 201911124854.X

G01N 33/569 (2006.01)

(22) 申请日 2019.11.18

G01N 33/531 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

G01N 33/558 (2006.01)

申请公布号 CN 110954695 A

审查员 刘彦宁

(43) 申请公布日 2020.04.03

(73) 专利权人 广东医科大学附属医院

地址 524001 广东省湛江市霞山人民大道
南57号

(72) 发明人 潘庆军 吴平 张莉芳 蒋娜

王思捷 李新新 吴晗

(74) 专利代理机构 广州三环专利商标代理有限公司

公司 44202

代理人 郝传鑫 王兰兰

(51) Int. Cl.

G01N 33/577 (2006.01)

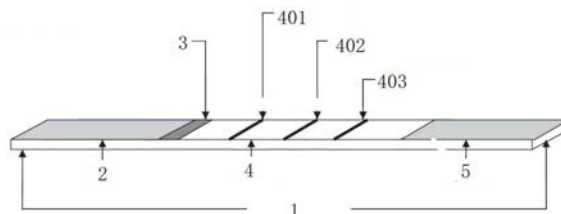
权利要求书1页 说明书7页 附图1页

(54) 发明名称

诺如病毒GI和GII型量子点联检试纸条及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明公开了一种诺如病毒GI和GII型量子点联检试纸条及其制备方法和应用,所述试纸条包括底板,以及在所述底板上从左往右依次搭接的样本垫、结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫,所述结合垫上包被有量子点标记的诺如病毒GI型检测抗体和量子点标记的诺如病毒GII型检测抗体。本发明以量子点作为标记物,其易于与生物分子偶联,是一种新型的快速诊断检测标记物,荧光强度高,稳定性强,故检测具有更高的灵敏度,便于肠道病毒感染等疾病的早期筛查,与免疫层析技术结合制备成条状结构,轻便易携,无需复杂设备,十分适用于现场筛查及床旁检测。



1. 一种诺如病毒GI和GII型量子点联检试纸条,其特征在于,包括底板,以及在所述底板上从左往右依次搭接的样本垫、结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫,所述结合垫上包被有量子点标记的诺如病毒GI型检测抗体和量子点标记的诺如病毒GII型检测抗体;

所述量子点标记的诺如病毒GI型检测抗体和量子点标记的诺如病毒GII型检测抗体采用量子点复溶液稀释后再按一定比例混合后包被到结合垫上;

所述量子点复溶液为含有土冉糖1-10wt%、吐温-40 0.02-0.1wt%、甘氨酸0.2-1wt%和ProClin950 0.01-0.1v%的磷酸盐缓冲液;所述样本垫经样本垫处理液处理后,烘干制得;所述样本垫处理液为含聚乙烯吡咯烷酮0.1-1wt%、聚乙二醇-600 0.5-3wt%、Triton-100 0.5-3wt%和乙醇胺0.5-3wt%的磷酸盐缓冲液。

2. 如权利要求1所述的诺如病毒GI和GII型量子点联检试纸条,其特征在于,所述诺如病毒GI型检测抗体为小鼠、兔或羊诺如病毒GI型单克隆抗体;所述诺如病毒GII型检测抗体为小鼠、兔或羊诺如病毒GII型单克隆抗体。

3. 如权利要求1所述的诺如病毒GI和GII型量子点联检试纸条,其特征在于,所述量子点为羧基水溶性量子点,粒径12nm-18nm,最大发射波长在600-630nm,激发波长450nm。

4. 如权利要求1所述的诺如病毒GI和GII型量子点联检试纸条,其特征在于,所述硝酸纤维素膜设置有检测线1、检测线2和质控线,所述检测线1上包被有小鼠、兔或羊诺如病毒GI型捕获单克隆抗体;所述检测线2上包被有小鼠、兔或羊诺如病毒GII型捕获单克隆抗体;所述质控线上包被有羊抗鼠多克隆抗体或兔抗鼠多克隆抗体。

5. 一种制备如权利要求1所述的诺如病毒GI和GII型量子点联检试纸条的方法,其特征在于,包括以下步骤:

将所述样本垫采用样本垫处理液处理,烘干;

将诺如病毒GI型检测抗体和诺如病毒GII型检测抗体以共价偶联的方式偶联到量子点上;将上述量子点采用量子点复溶液稀释后包被到结合垫上;

使用抗体包被缓冲液将诺如病毒GI型捕获单克隆抗体、诺如病毒GII型捕获单克隆抗体以及羊抗鼠多克隆抗体或兔抗鼠多克隆抗体稀释后分别包被到硝酸纤维素膜的检测线1、检测线2和质控线上;

在所述底板上依次从左往右相互交错地贴上样本垫、结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫,即得到量子点免疫层析试纸条。

6. 如权利要求5所述的制备诺如病毒GI和GII型量子点联检试纸条的方法,其特征在于,所述将诺如病毒GI型检测抗体和诺如病毒GII型检测抗体以共价偶联的方式偶联到量子点上的具体过程为:

使用第一缓冲液重悬量子点,加入活化剂活化量子点,室温避光活化反应;

纯化得到的量子点,使用第一缓冲液重悬,再加入诺如病毒GI型检测抗体,混匀;

加入封闭液封闭,封闭后再次纯化,使用第二缓冲液重悬量子点,得到量子点标记的诺如病毒GI型检测抗体,备用;

按照上述同样的方法将诺如病毒GII型检测抗体标记在量子点上。

7. 如权利要求1-4任一项所述的试纸条在制备检测或辅助检测诺如病毒GI型和GII型抗原试剂盒中的应用。

诺如病毒GI和GII型量子点联检试纸条及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明属于医学检验技术领域,具体涉及诺如病毒GI和GII型量子点联检试纸条及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 诺如病毒(Norovirus,Novs)是1972年美国学者Kapikian在诺瓦克镇的腹泻患者粪便中首次发现并命名为诺瓦克病毒(norwalkvirus,NV),随后将该病毒命名为诺如病毒。诺如病毒是一种小的无包膜病毒,直径在27-40nm之间,具有大约6.5-7.5kb的单链RNA基因组,分类在杯状病毒科的诺如病毒属中。基于衣壳蛋白完整氨基酸序列分析,对其进行细分可分为至少33种基因型(9种GI,22种GII和2种GIV基因型)。感染人类的诺如病毒基因型主要是GI、GII和GIV,可以导致急性胃肠炎,临床症状主要为恶心、呕吐、水样腹泻、头痛等。诺如病毒感染全年均可流行,传播方式主要为粪-口途径,也可通过污染的水源、物品、食物和呕吐物等传播。由于Novs致病剂量低、抵抗力强、且其基因组经常发生重组变异,而人在感染后又长期缺乏免疫,因此Novs感染极易发展成群体性的大规模公共卫生事件。因此,发展一种快速、敏感和精确的方法来检测诺如病毒迫在眉睫。

[0003] 诺如病毒的诊断主要有光学显微镜检查、电子显微镜检查、病毒核酸检测、病毒抗原检测等方法:电镜法能检测多种病原体,但检测费用昂贵,需专业的技术人员,且要求每毫升粪便样品中至少有大约 10^6 个病毒粒子;杂交技术和实时定量逆转录PCR技术(RT-qPCR),该方法具有高灵敏度和高特异性,常作为诺如病毒检测的标准参考,但这种方法需要特殊设备,目前应用主要局限于大型医院和实验室的研究;近些年,已经开发了多种胃肠道病原体的诊断平台用来检测胃肠道致病的病毒以及细菌等。如xTAGGPP(Luminex公司,加拿大)、F-ilmArrayGIPanel(BioFire诊断公司,美国)等平台都能提供分子诊断技术。如xTAGGPP平台能同时诊断出包括诺如病毒的G1型和G2型等11种不同的肠道病原体。但检测病毒核酸的技术需要特殊仪器设备和专业人员进行操作,且耗时相对较长,不适用于大规模的筛查。免疫法和基于侧向免疫层析技术的试纸技术,可直接检测标本中的抗原或抗体,无需专业的检测仪器和场地,已广泛应用于临床检测中,如以胶体金作为示踪标记物应用于抗原抗体反应的检测技术,但胶体金技术敏感性较低,检测结果不稳定,临床检测的漏检风险较高。

[0004] 量子点(quantum dot)是一种是指半径小于或接近激子波尔半径的半导体纳米晶体,表面羧基具有反应活性,其荧光发射波长具有尺寸依赖性,可通过调整其粒径大小获得不同发射波长的量子点;量子点的激发光谱较宽,可用一种激发波长激发多种不同发射波长的量子点;量子点的荧光半峰宽比较窄,可以减少不同荧光发射光谱之间的重叠,降低干扰;荧光稳定性好,通过偶联生物分子(蛋白、抗体、核酸等)可以作为一种新型的检测探针。目前,量子点免疫层析技术利用层析和荧光检测的原理,通过制成条状或装入壳状结构,方便携带。对样品进行检测时,在紫外线灯光或专用设备照射激发后,出现肉眼可见的反应条带,具有结构简单、灵敏度高、检测快速以及使用方便等特点。

[0005] 目前,尚未见基于量子点标记联合检测诺如病毒GI和GII型抗原的相关产品。

发明内容

[0006] 本发明旨在提供一种诺如病毒GI和GII型量子点联检试纸条及其制备方法和应用,该试纸条能够实现对诺如病毒GI和GII型抗原的联合检测,还能提高诺如病毒检测的灵敏度和稳定性,同时制作成本低,操作简便,检测时间短的试剂盒,使其适用于床旁检测。

[0007] 为了实现上述发明目的,本发明采用以下解决方案:一种诺如病毒GI和GII型量子点联检试纸条,包括底板,以及在所述底板上从左往右依次搭接的样本垫、结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫,所述结合垫上包被有量子点标记的诺如病毒GI型检测抗体和量子点标记的诺如病毒GII型检测抗体。

[0008] 进一步地,所述诺如病毒GI型检测抗体为小鼠、兔或羊诺如病毒GI型单克隆抗体;所述诺如病毒GII型检测抗体为小鼠、兔或羊诺如病毒GII型单克隆抗体。

[0009] 进一步地,所述量子点为羧基水溶性量子点,粒径12nm-18nm,最大发射波长在600-630nm,激发波长450nm。

[0010] 进一步地,所述量子点标记的诺如病毒GI型检测抗体和量子点标记的诺如病毒GII型检测抗体采用量子点复溶液稀释后再按一定比例混合后包被到结合垫上。

[0011] 进一步地,所述量子点复溶液为含有含土冉糖1-10wt%、吐温-40 0.02-0.1wt%、甘氨酸0.2-1wt%和ProClin950 0.01-0.1v%的磷酸盐缓冲液,该磷酸盐缓冲液浓度为0.01M,pH 7.2。

[0012] 进一步地,所述样本垫经样本垫处理液处理后,烘干制得;所述样本垫处理液为含聚乙烯吡咯烷酮0.1-1wt%、聚乙二醇-600 0.5-3wt%、Triton-100 0.5-3wt%和乙醇胺0.5-3wt%的磷酸盐缓冲液,该磷酸盐缓冲液浓度为0.01M,pH 7.2。

[0013] 进一步地,所述硝酸纤维素膜设置有检测线1、检测线2和质控线,所述检测线1上包被有小鼠、兔或羊诺如病毒GI型捕获单克隆抗体;所述检测线2上包被有小鼠、兔或羊诺如病毒GII型捕获单克隆抗体;所述质控线上包被有羊抗鼠多克隆抗体或兔抗鼠多克隆抗体。

[0014] 本发明另一目的在于提供一种制备上述的诺如病毒GI和GII型量子点联检试纸条的方法,其包括以下步骤:

[0015] 将所述样本垫采用样本处理液处理,烘干;

[0016] 将诺如病毒GI型检测抗体和诺如病毒GII型检测抗体以共价偶联的方式偶联到量子点上;将上述量子点采用量子点复溶液稀释后包被到结合垫上;

[0017] 使用抗体包被缓冲液将诺如病毒GI型捕获单克隆抗体、诺如病毒GII型捕获单克隆抗体以及羊抗鼠多克隆抗体或兔抗鼠多克隆抗体稀释后分别包被到硝酸纤维素膜的检测线1、检测线2和质控线上;

[0018] 在所述底板上从左往右依次相互交错地贴上样本垫、结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫,即得到量子点免疫层析试纸条。

[0019] 进一步地,所述将诺如病毒GI型检测抗体和诺如病毒GII型检测抗体以共价偶联的方式偶联到量子点上具体过程为:

[0020] 使用第一缓冲液重悬量子点,加入活化剂活化量子点,室温避光活化反应;

- [0021] 纯化得到的量子点,使用第一缓冲液重悬,再加入诺如病毒GI型检测抗体,混匀;
- [0022] 加入封闭液封闭,封闭后再次纯化,使用第二缓冲液重悬量子点,得到量子点标记的诺如病毒GI型检测抗体,备用;
- [0023] 按照上述同样的方法将诺如病毒GII型检测抗体标记在量子点上。
- [0024] 更进一步地,所述第一缓冲液为pH6.0的MES缓冲液;所述活化剂为NHS和/或EDC,所述量子点与活化剂的质量比例为1:10。
- [0025] 更进一步地,所述封闭液为BSA;第二缓冲液为pH8.0的Tris-HCl缓冲液。
- [0026] 更进一步地,所述量子点与诺如病毒GII型检测抗体或诺如病毒GI型检测抗体的质量比为1:10。
- [0027] 本发明另一目的在于提供上述试纸条在制备检测或辅助检测诺如病毒GI型和GII型抗原试剂盒中的应用。
- [0028] 本发明另一目的在于提供上述诺如病毒GI和GII型抗原量子点联检试纸条的使用方法,步骤包括:
- [0029] (1) 取待测样品90-100 μ l,所述待测样品可以是粪便悬液,加入到样本垫上;
- [0030] (2) 在室温放置15-20min后,用450nmLED灯照射反应膜,即可肉眼判读结果;
- [0031] (3) 判读方法为:如标本中有诺如病毒GI抗原,则检测线1出现肉眼可见的荧光;如标本中有诺如病毒GII型抗原,则检测线2出现肉眼可见的荧光;不论标本中是否含有诺如病毒GI和GII型抗原,质控线均会发出肉眼可见的荧光,否则试剂条无效。
- [0032] 本发明试纸条检测原理为:样本滴加到样本垫上在层析作用下,样本到达结合垫,结合垫上的偶联了量子点的诺如病毒GI型检测抗体和诺如病毒GII型检测抗体,分别与待测样本中的诺如病毒GI型抗原、诺如病毒GII型抗原发生特异性抗原抗体反应,形成“量子点-检测抗体-抗原”复合物,当复合物到达检测线1时,GI型抗原被检测线1上的GI型捕获抗体捕获,从而形成“量子点-GI型检测抗体-GI型抗原-GI型捕获抗体”复合物;同理,当到达检测线2时,复合物中的GII型抗原被检测线2上的GII型捕获抗体捕获,形成“量子点-GII型检测抗体-GII型抗原-GII捕获抗体”复合物。最后,通过检测试纸条检测线1、检测线2上结合的量子点的荧光强度,定性半定量的测得诺如病毒GI型抗原、诺如病毒GII型抗原的阳性率,为诺如病毒感染的诊断提供依据。
- [0033] 与现有技术相比,本发明具有以下有益效果:
- [0034] 1) 本发明利用免疫层析技术和双抗体夹心原理,实现了诺如病毒GI和GII型两种基因型的联合检测,并且两项指标之间不会相互干扰,提高了诺如病毒感染检测的准确性,省时高效。
- [0035] 2) 本发明以量子点作为标记物,其易于与生物分子偶联,是一种新型的快速诊断检测标记物,荧光强度高,稳定性强,故检测具有更高的灵敏度,便于肠道病毒感染等疾病的早期筛查,与免疫层析技术结合制备成条状结构,轻便易携,无需复杂设备,十分适用于现场筛查及床旁检测。
- [0036] 3) 本发明通过大量的文献调研和实验研究,优化量子点复溶液,使得样本垫上量子点标记检测抗体能够充分释放,同时保护了量子点标记检测抗体的稳定性,从而提高了检测试纸的准确度和灵敏度。

附图说明

[0037] 图1为本发明试纸条结构示意图;

[0038] 图中,1底板;2样品垫;3结合垫;4硝酸纤维素膜;401检测线1;402检测线2;403质控线;5吸水垫。

具体实施方式

[0039] 以下通过实施例形式的具体实施方式,对本发明的上述内容作进一步的详细说明。但不应将此理解为本发明上述主题的范围仅限于以下实施例。

[0040] 实施例中,所使用的实验方法如无特殊说明,均为常规方法,所用的材料、试剂等,如无特殊说明,均可从商业途径得到。

[0041] 本发明中诺如病毒GI型检测抗体和诺如病毒GII型检测抗体购自MyBioSource, Inc. (San Diego, USA);诺如病毒GI型捕获单克隆抗体和诺如病毒GII型捕获单克隆抗体购自MyBioSource, Inc. (San Diego, USA)。

[0042] 实施例一、一种诺如病毒GI和GII型抗原量子点联检试纸条

[0043] 本实施例试纸条结构如图1所示,包括底板1,在所述底板上从左往右依次搭接的样本垫2、结合垫3、硝酸纤维素膜4和吸水垫5,所述结合垫上包被有量子点标记的诺如病毒GI型检测抗体和量子点标记的诺如病毒GII型检测抗体;所述硝酸纤维素膜设置有401检测线1、402检测线2和质控线403,所述检测线1上包被有诺如病毒GI型捕获单克隆抗体,检测线2上包被有诺如病毒GII型捕获单克隆抗体;所述质控线上包被有兔抗鼠IgG多抗。

[0044] 其中,在本实施例中,所述样本垫与所述结合垫部分重合,重合部分长度不少于结合垫的1/3;所述结合垫与NC膜有部分重合,重合部分长度为NC膜的1/7-1/8;所述NC膜与吸水垫有部分重合,重合部分长度为NC膜的1/7-1/8;所述两条检测线和质控线的长度为0.1cm;所述检测线1与检测线2之间,检测线2与质控线之间的距离均为0.5cm。

[0045] 当待测标本中含有诺如病毒GI和GII型抗原时,抗原会分别先和结合垫上偶联了量子点的标记抗体发生特异反应,分别形成量子点-诺如病毒GI标记抗体-诺如病毒GI抗原复合物和量子点-诺如病毒GII标记抗体-诺如病毒GII抗原复合物;随着层析作用的进行,复合物向前移动到达第一条检测线处,量子点-诺如病毒GI标记抗体-诺如病毒GI抗原复合物与事先包被好的诺如病毒GI捕获抗体结合形成双抗体夹心复合物,从而聚集在第一条检测线处;同理,量子点-诺如病毒GII标记抗体-诺如病毒GII抗原复合物与事先包被好的诺如病毒GII捕获抗体结合形成双抗体夹心复合物,从而聚集在第二条检测线处。未被捕获的量子点复合物会继续前行,到达质控线时,与羊抗鼠IgG多克隆抗体结合,从而在质控线处同样出现量子点聚集,整个反应可在15min内进行完成。

[0046] 实施例二、本发明试纸条的制备方法

[0047] (1) 样品垫的制备

[0048] 将样品垫剪切成与结合垫相匹配的合适大小及长度,用样本垫处理液以40 μ L/cm的量喷涂于样本垫上后,室温浸泡2h后,37 $^{\circ}$ C恒温箱烘干不少于16h;干燥待用;所述样本垫处理液为含聚乙烯吡咯烷酮0.3wt%、聚乙二醇-600 0.8wt%、Triton-100 0.6wt%和乙醇胺1.7wt%的磷酸盐缓冲液(0.01M, pH 7.2)。

[0049] (2) 结合垫的制备

[0050] ①取1mg羧基水溶性量子点,然后将量子点悬浮在800 μ L的浓度为0.05M、pH为6.0的MES缓冲液中;

[0051] ②使用0.05M pH6.0 MES缓冲液配制NHS (50mg/ml) 和EDC (50mg/ml),各取20 μ l加到量子点中,终浓度是NHS (1mg/ml) 和EDC (1mg/ml);

[0052] ③活化20min左右后离心洗涤,4 $^{\circ}$ C下16000g,10min $\times$ 2次,弃上清,最后重悬于800 μ l,浓度为0.05M的pH6.0的MES缓冲液中;

[0053] ④取0.1mgG1检测单抗加入到量子点中,震荡混匀,室温摇床反应3h;

[0054] ⑤加入BSA (20mg/ml) 100 μ l封闭,室温摇床反应2h;

[0055] ⑥纯化量子点,使用0.05M Tris-HCl缓冲溶液 (pH8.0) 重悬;

[0056] ⑦将上述量子点-诺如病毒G1型检测单抗复合物用量子点复溶液做适当稀释 (1:100) 后震荡混匀,得到量子点-诺如病毒G1型检测单抗重悬液;

[0057] ⑧按照上述同样的方法将诺如病毒GII型检测抗体标记在量子点上得到量子点-诺如病毒GII检测单抗复合物,采用量子点复溶液做适当稀释 (1:100) 后震荡混匀,得到量子点-诺如病毒GII检测单抗重悬液;将量子点-诺如病毒G1型检测单抗重悬液和量子点-诺如病毒GII检测单抗重悬液按1:1的体积比混合,备用,其中,量子点复溶液为含土冉糖6wt%、吐温-40 0.08wt%、甘氨酸0.9wt%和ProClin950 0.06v%的磷酸盐缓冲液,该磷酸盐溶液浓度为0.01M,pH为7.2。

[0058] ⑨将重悬液按照每25 μ l一个结合垫的量浸泡玻璃纤维膜,室温下静置20min,将上述浸泡好的结合垫置于37 $^{\circ}$ 恒温箱中过夜,使其彻底干燥,将量子点-抗体固定在结合垫上,待用。

[0059] (3) 硝酸纤维素膜的制备

[0060] 将硝酸纤维素膜剪切成与结合垫、样品垫都相匹配的合适大小及长度,使用抗体包被缓冲液 (该抗体包被缓冲液为含2%海藻糖和3%牛血清白蛋白的pH7.4的浓度为0.015M的PBS缓冲液) 分别将诺如病毒GI型捕获单克隆抗体、诺如病毒GII型捕获单克隆抗体以及兔抗鼠IgG多克隆抗体稀释到1.0mg/mL浓度,使用定量喷液装置分别将三者以0.5cm的间隔喷印于硝酸纤维素膜上,后于室温干燥不少于3小时,加入干燥剂封存备用。

[0061] 其中具体为:在距离吸水纸端0.5cm处包被浓度为1mg/ml的兔抗小鼠IgG多抗1 μ g,作为质控线C线;在距离结合垫0.5cm处包被浓度为1mg/ml的GI捕获单抗1 μ g,作为检测线T₁线;在T₁线和质控线C线中间部位包被浓度为1mg/ml的GII捕获单抗1 μ g,作为检测线T₂线。

[0062] (4) 诺如病毒GI和GII型抗原量子点联检试纸条的组装

[0063] 如图1所示,在粘性底板上依次将样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸水纸搭接组装,其中,样品垫的右端压住释放垫的左端约0.5cm,释放垫的右端压住硝酸纤维素膜的左端约0.5cm,吸水纸的左端压住硝酸纤维素膜的右端约0.5cm,即组装成为诺如病毒GI和GII型抗原量子点联检试纸条。

[0064] 实施例三、量子点复溶液的筛选实验

[0065] 采用不同的量子点复溶液重悬量子点标记的诺如病毒GI型检测抗体和量子点标记的诺如病毒GII型检测抗体,处理1:量子点复溶液为含土冉糖6wt%、吐温-40 0.08wt%、甘氨酸0.9wt%和ProClin950 0.06v%的磷酸盐缓冲液 (0.01M,pH 7.2);处理2:量子点复溶液为含吐温-40 0.08wt%、甘氨酸0.9wt%和ProClin950 0.06v%的磷酸盐缓冲液

(0.01M, pH 7.2); 处理: 3: 量子点复溶液为含土冉糖6wt%、吐温-40 0.08wt%和ProClin950 0.06v%的磷酸盐缓冲液(0.01M, pH 7.2)。采用上述不同量子点复溶液按照实施例二所述方法制备得到各组试纸条样品, 使用上述制备的各组试纸条样品滴加阴性对照组进行检测, 实验结果显示, 处理1得到的试纸条信号明显强于其他处理的试纸条, 这说明, 本发明量子点复溶液可使样本垫上量子点-抗体达到最大程度的充分释放。

[0066] 实施例四、性能检测

[0067] 试验1、采用实施例二制备的试纸条和诺如病毒GI/GII抗原胶体金法检测试剂盒对116份腹泻病人的粪便悬液标本进行了检测, 对以上两种检测试剂不一致的检测结果, 再用诺如病毒GI/GII型检测试剂盒(RT-PCR探针法)进行复测, 结果如下表1所示:

[0068] 表1检测结果

[0069]	量子点		胶体金	
	阳性	阴性	阳性	阴性
	20 份 (GI 14 份; GII 6 份)	96 份	10 份 (GI 8 份; GII 2 份)	106 份

[0070] 试验2、取上述胶体金检测出的10份阳性标本(GI阳性8份; GII阳性2份), 采用本发明实施例二制备的量子点试纸条进行检测, 结果显示均为阳性。同时, 对实施例二制备的量子点试纸条检测出阳性而胶体金法检测出阴性结果的10份标本, 用诺如病毒GI/GII检测试剂盒(RT-PCR探针法)检测, 结果为阳性, 与本发明量子点联检试纸的检测结果一致。这提示本发明所制备的量子点联检试纸条检出率更高, 假阴性更少, 结果更可靠, 能够很好的应用于实际样品的检测。

[0071] 试验3、交叉试验

[0072] 采用实施例二制备的试纸条检测15份腺病毒及17份轮状病毒阳性标本, 结果显示, 均为阴性结果, 这提示本发明量子点试纸条特异性较好, 与常见的病毒没有交叉反应。

[0073] 试验4、灵敏度试验

[0074] 取已鉴定的诺如病毒GI和GII阳性的粪便悬液标本, 倍比稀释后, 分别用本发明实施例二制备得到的试纸条和市售的诺如病毒GI/GII型抗原胶体金法检测试剂盒检测, 进行检测, 结果如下表2所示:

[0075]

方法		倍比稀释								
		1/2	1/2 ²	1/2 ³	1/2 ⁴	1/2 ⁵	1/2 ⁶	1/2 ⁷	1/2 ⁸	1/2 ⁹
诺如病毒 GI	胶体金	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	量子点	+	+	+	+	+	-	-	-	-
诺如病毒 GII	胶体金	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	量子点	+	+	+	+	+	+	+	+	-

[0076] 从上表可看出, 本发明的量子点联检试纸条的灵敏度较高, 相比胶体金试纸条高至少4倍。

[0077] 上述实施例仅例示性说明本发明的原理及其功效,而非用于限制本发明。任何熟悉此技术的人士皆可在不违背本发明的精神及范畴下,对上述实施例进行修饰或改变。因此,举凡所述技术领域中具有通常知识者在未脱离本发明所揭示的精神与技术思想下所完成的一切等效修饰或改变,仍应由本发明的权利要求所涵盖。

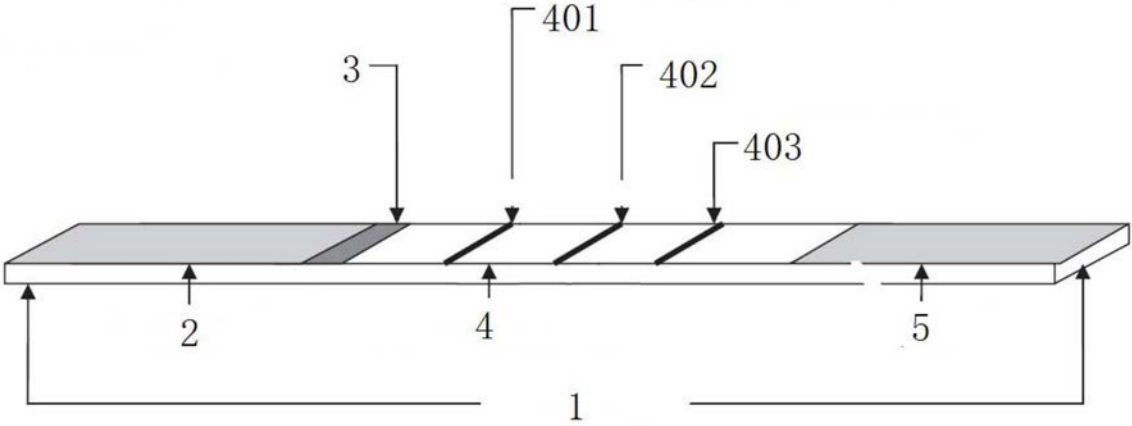


图1