

# 基于硅纳米球探针构建的超灵敏电致化学发光免疫传感器用于丙肝核心抗原检测与临床诊断

蔡心安<sup>1</sup>, 阮福明<sup>2</sup>, 郁金红<sup>3</sup>, 周镇先<sup>3\*</sup>

(<sup>1</sup>解放军第 105 医院检验科, 安徽 合肥 230031; <sup>2</sup>南京市六合区医院检验科, 江苏 南京 211500; <sup>3</sup>南京市第二医院中心实验室, 江苏 南京 210003)

**[摘要]** 目的: 制备硅纳米球包裹的 Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>(SiO<sub>2</sub>@Ru) 作为电致化学发光 (electrogenerated chemiluminescence, ECL) 探针的生物传感器, 评价其在丙型肝炎核心抗原 (HCVcAg) 检测中的应用价值。方法: 采用“油包水”的微乳剂方案, 制备 SiO<sub>2</sub>@Ru 纳米复合物, 纳米粒子粒径一致, 因此具有很好的重复性, 应用戊二醛作为交联剂实现抗体与硅球的交联。SiO<sub>2</sub>@Ru 可作为 ECL 探针, 通过夹心法检测 HCVcAg。结果: HCVcAg 检测的线性范围为 1~1 000 fmol/L, 最低检出限为 3 fmol/L。与临床 HCV RNA 比较, 有较好的相关性, 线性相关系数  $R^2=0.937 9$ 。结论: 构建 HCVcAg 的检测的硅纳米免疫传感器具有很高的灵敏度和很好的重复性, 可用于临床诊断、疗效评价以及血液中心的血源筛查。

**[关键词]** SiO<sub>2</sub>@Ru 纳米复合物; HCVcAg; 夹心法免疫检测; 电致化学发光

**[中图分类号]** R446.61

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2017)10-1257-04

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20171006

## Nanoparticle probe for the detection of HCV core antigen and clinical diagnosis

Cai Xin'an<sup>1</sup>, Ruan Fuming<sup>2</sup>, Yu Jinhong<sup>3</sup>, Zhou Zhenxian<sup>3\*</sup>

(<sup>1</sup>Medical Lab of the 105th Hospital of PLA, Hefei 230031; <sup>2</sup>Medical Lab of Nanjing Liuhe People's Hospital, Nanjing 211500; <sup>3</sup>Medical Lab of Nanjing Second Hospital, Nanjing 210003, China)

**[Abstract]** **Objective:** To prepare Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>(SiO<sub>2</sub>@Ru) coated silica nanospheres as electrochemiluminescence (electrogenerated chemiluminescence, ECL) biosensor probe, and evaluate its application value in the detection of the hepatitis C core antigen (HCVcAg). **Methods:** The water-in-oil(W/O) microemulsion method was employed for one-pot synthesis of SiO<sub>2</sub>@Ru nanoparticles. The as-synthesized SiO<sub>2</sub>@Ru nanoparticles has a narrow size distribution, which allowed reproducible loading of Ru (bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> inside the silica shell and HCVcAg, on the silica surface with glutaraldehyde as linkage. The as-synthesized SiO<sub>2</sub>@Ru could be used as a label for ultrasensitive detection of HCVcAg through a sandwich immunoassay process. **Results:** The calibration range of HCVcAg concentration detection was 1~1 000 fmol/L, the lowest detection limit was 3 fmol/L. Compared with clinical RNA HCV, there was a good correlation, linear correlation coefficient was  $R^2=0.937 9$ . **Conclusion:** With high sensitivity and good reproducibility, SiO<sub>2</sub>@Ru could be used as a label in clinical diagnosis, curative effect evaluation and blood screening of blood center.

**[Key words]** SiO<sub>2</sub>@Ru nanoparticles; HCVcAg; sandwich immunoassay; ECL

[Acta Univ Med Nanjing, 2017, 37(10): 1257-1260]

丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 感染引起的传染病, 全球 HCV 的感染率约为 3%, 多数患者会慢性化, 可进一步发展为肝硬化、肝癌, 对患者健康的影响极大, 已成为严重的社会和公共卫生问题。预防和治疗丙型肝炎的有效方法就是早

期诊断, 切断传染源, 可有效杜绝 HCV 的感染<sup>[1-3]</sup>, HCV 早期感染的重要指标是 HCV 核心抗原 (HCVcAg), 因此检测 HCVcAg, 可用于 HCV 早期诊断<sup>[4]</sup>。

本研究制备了 Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> 加入硅纳米颗粒 (SiO<sub>2</sub>@Ru) 作为电致化学发光 (electrogenerated chemiluminescence, ECL) 探针, 采用双抗体夹心法<sup>[5]</sup>, 成功应用于丙型肝炎核心抗原 (HCVcAg) 的检测。SiO<sub>2</sub>@Ru 通过“一锅式”方案合成, 具有很好的单分散性和均一性, 很好的重复性。同时通过夹心法将

**[基金项目]** 南京市科学技术厅社会发展项目(201201066);

南京市医学科技发展项目(YKK15144)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: zzx0417@126.com

SiO<sub>2</sub>@Ru 连接到金电极表面,获得了很高的灵敏度。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

MPI-E 多功能电化学发光分析仪(西安瑞迈分析仪器有限公司),硅纳米(东南大学化学化工学院刘松琴博士惠赠),标准 HCVAg 与 HCVAb1、HCVAb2(北京热景生物技术有限公司),全自动免疫分析仪(Abbott ARCHTECT i2000SR)以及配套丙肝病毒核心抗原(HCVcAg)检测试剂和丙肝病毒抗体(anti-HCV)试剂(Abbott Laboratories,美国),罗氏COBAS AmpliPrep/TaqMan 48 实时定量 PCR 仪与配套罗氏超敏 HCV RNA 检测试剂(Roche Molecular Diagnostics,美国)。

血清样本:①HCV 血清样本来自 2013—2015 年南京市第二医院门诊和住院确认的 214 例慢性丙型肝炎患者,年龄 24~66 岁。所有患者抗 HCV 抗体和(或)HCV RNA 阳性在 6 个月以上,均符合中华医学会感染病学分会制订的我国《丙型肝炎防治指南》的诊断标准<sup>[6]</sup>。②艾滋病患者伴肝功能异常的血清样本来自 2013—2015 年南京市第二医院进行抗病毒治疗的 87 例住院和门诊艾滋病伴肝功能异常的患者,所有患者符合中华医学会感染病学分会制订的我国《艾滋病诊疗指南》的诊断标准<sup>[7]</sup>。③非 HCV 干扰血清共 141 例,均排除 HCV 感染,来源于 2013—2015 年间南京市第二医院和中国人民解放军第 105 医院的 HCV 阴性(抗 HCV 阴性)的血清,HBsAg 阳性血清 26 例;抗 HEV IgM 阳性血清 15 例;抗 HAV IgM 阳性血清 12 例,梅毒抗体(TP IgG)阳性血清 15 例;单纯疱疹病毒(HSV-1)抗体阳性血清 5 例;抗 HCMV 抗体阳性血清 10 例;血清类风湿因子(RF)阳性血清 16 例;SLE 的自身免疫抗体(抗 Sm 抗体和 ANA)阳性血清 14 例;单纯 IgG 含量增高血清 10 例;单纯 IgM 含量增高血清 10 例以及多次接受输血者血清 8 例。④混合血清:将 HCV 感染患者血清按美国 Abbott 化学发光试剂 HCVcAg 测定结果分 3 组进行混合,即 HCVcAg 阴性混合血清、HCVcAg 弱阳性混合血清、HCVcAg 强阳性混合血清,再经美国 Abbott 化学发光试剂对此 3 份混合血清进行检测,测定值分别为(0.13±0.01)、(5.21±0.36)及(84.22±7.06) fmol/L。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 SiO<sub>2</sub>@Ru 纳米粒子的制备

采用油包水反向微乳法制备 SiO<sub>2</sub>@Ru 纳米粒子。合成步骤参照 Zhang 等<sup>[8]</sup>报道,简述如下:将

1.77 mL Tween-80,7.5 mL 环己烷,1.8 mL 正己醇和 340 μL Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>的水溶液(5 mg/mL)混合均匀,室温下搅拌反应 30 min,使之形成均匀稳定的油包水体系。将 100 μL 正硅酸乙酯(TEOS)加入上述混合物中,再向该体系中加入 60 μL NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O 以引发聚合反应,室温下持续搅拌反应 20 h。反应完成后,向体系中加入适量丙酮使纳米颗粒从油包水的体系中分离沉淀出来。然后以 8 000 r/min 离心 10 min,在离心管底部可以看到橙黄色的沉淀。弃去上清液,用无水乙醇和水分别洗涤沉淀 3 次,充分除去表面活性剂和纳米颗粒表面吸附的 Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>,最后将制得的纳米颗粒分散在 2 mL 无水乙醇中。制备过程如图 1 所示,用反相微乳法制备的 SiO<sub>2</sub>@Ru 纳米粒子尺寸较均一,由 TEM 图可知其平均粒径为(140±5) nm(图 2)。

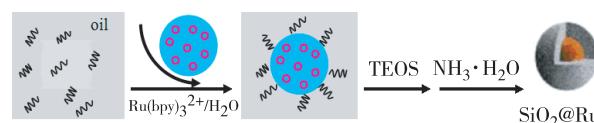


图 1 反相微乳法制备 SiO<sub>2</sub>@Ru 纳米粒子

Figure 1 SiO<sub>2</sub>@Ru nanoparticles synthesized reverse microemulsion method

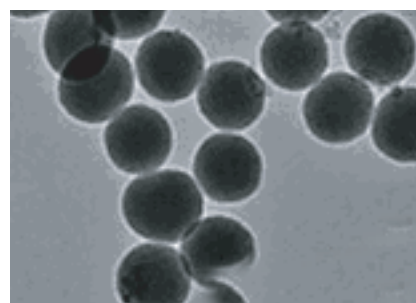


图 2 SiO<sub>2</sub>@Ru 纳米粒子的 TEM 图(×100 000)

Figure 2 TEM diagram of SiO<sub>2</sub>@Ru nanoparticles (×100 000)

#### 1.2.2 硅纳米复合物上较链 HCV Ab2

取 2 mL SiO<sub>2</sub>@Ru 硅纳米复合物乙醇溶液稀释至 6 mL,再加入 400 μL 的 3-氨丙基三乙氧基硅烷(APTS),强烈搅拌 30 min。离心洗涤后获得氨基修饰的 SiO<sub>2</sub>@Ru。SiO<sub>2</sub>@Ru 经戊二醛活化 2 h,离心洗涤后稀释至 3 mL。与 2 mL HCV Ab1 在 37 °C 下反应 2 h,获得 Ab1 修饰的 SiO<sub>2</sub>@Ru 硅纳米复合物(Ab1-SiO<sub>2</sub>@Ru)。Ab1-SiO<sub>2</sub>@Ru 经 5 mL 1% BSA 封闭后,用 PBS 洗涤,所得 Ab1-SiO<sub>2</sub>@Ru 分散在 2 mL 0.02 mol/L pH 7.0 PBS 中,保存于 4 °C 待用。纳米复合物上交联 HCV Ab2 的制备过程如图 3 所示。

#### 1.2.3 制备 MU/MUA 修饰的 Au 电极

Au 工作电极经 2 mol/L KOH 煮 2 h 进行清洁,而后用乙醇和二次水进行清洗。再将 Au 电极浸泡

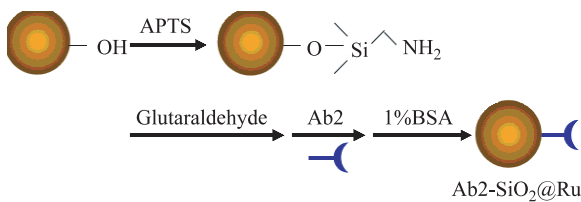


图 3 纳米复合物上交联 HCV Ab2 的制备过程

Figure 3 Process of crosslinked HCVAb2 on nanocomposite

于 30  $\mu\text{L}$  2.5 mmol/L MUA 和 30  $\mu\text{L}$  7.5 mmol/L MU 的乙醇溶液中,4  $^{\circ}\text{C}$  下 10 h,获得 MU/MUA 修饰的 Au 电极。

#### 1.2.4 Au 电极的抗体修饰

MUMUA 修饰的 Au 电极浸泡于 TNTU 溶液 15 min, PBS 冲洗后于 4  $^{\circ}\text{C}$  与 100  $\mu\text{L}$  HCV Ab1 温育 1 h。经 1% BSA 封闭非特异性结合点后得到 Ab1 修饰的 Au 电极 (Ab1-MU/MUA-Au)。其制备过程如图 4 所示。

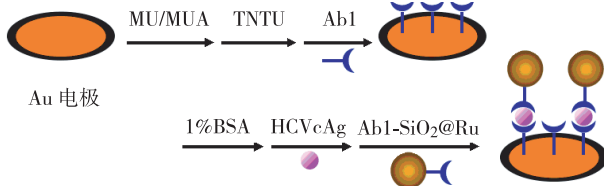


图 4 Ab1 修饰的 Au 电极(Ab1-MU/MUA-Au)的制备过程

Figure 4 Preparation process of Ab1 modified Au electrode (Ab1-MU/MUA-Au)

#### 1.2.5 ECL 信号测定

MPI-E 型电致化学发光检测仪,三电极工作体系: 金丝为工作电极,铂丝电极为对电极,Ag/AgCl 电极 (饱和 KCl) 为参比电极,光电倍增管(PMT)高压设置为 1 000 V,在 0.60~1.25 V 电位区间内进行循环伏安(CVs)扫描,同步记录 ECL 信号。

#### 1.2.6 超敏 HCV RNA 检测

严格按照罗氏超敏 HCV RNA 检测试剂盒说明书操作,最低检测限 15 U/mL。

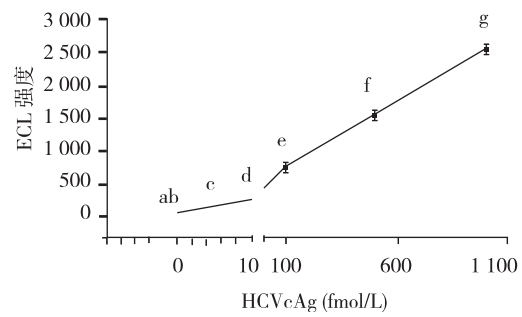
#### 1.2.7 化学发光法检测 HCVcAg

严格按照雅培 HCVcAg 检测试剂盒说明书操作。测定的临界值 >3 fmol/L 时为阳性。

## 2 结果

### 2.1 ECL 灵敏度检测

$\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$  作为共反应剂可大大增强  $\text{SiO}_2\text{@Ru}$  的 ECL 信号,通过条件优化 3 mmol/L 的  $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$  可将其 ECL 信号增加至最强<sup>[9-12]</sup>。在优化的条件下,ECL 强度随着 HCVcAg 的浓度增加而增加,HCVcAg 检测的标准曲线如图 5 所示,线性范围为 1~1 000 fmol/L,回归方程为  $\lg IE = 0.609 8 + 1.468 \lg c$  (其中  $IE$  为 ECL



a~g:0,1,5,10,100,500,1 000 fmol/L。HCVcAg 溶液中温育 30 min 后再与 Ab2-SiO<sub>2</sub>@Ru 温育 30 min。

图 5 ECL 强度与 HCV cAg 浓度定量反应曲线

Figure 5 Quantitative response curve of ECL intensity to HCVcAg concentration

信号强度, $c$  为 HCVcAg 浓度,单位为 fmol/L),线性相关系数  $R^2=0.990 7$ ,最低检出限为 3 fmol/L ( $S/N=3$ )。

### 2.2 重复性测定

将收集的 HCV 感染者的混合血清分 HCVcAg 阴性、弱阳性和强阳性 3 组进行 ECL 重复性检测,计算其批间差异(表 1),其 CV% 值均 <10%。

表 1 电致化学发光(ECL)检测 HCVcAg 的重复性

Table 1 Detection of the repeatability of HCVcAg by electro chemiluminescence (ECL)

样本	重复次数	均值 (fmol/L)	重复性	
			SD	CV(%)
阴性样本	20	0.122	0.011	9.09
弱阳性样本	20	5.315	0.523	9.84
阳性样本	20	83.110	5.834	7.02

### 2.3 临床样本检测

丙型肝炎患者 HCVcAg 检出率与 HCV RNA 载量的分布情况见表 2。对 214 例门诊和住院已确认并正在进行抗病毒治疗的丙型肝炎患者平行进行了 ECL HCVcAg 和超敏 HCV RNA 定量检测,经统计学分析 HCVcAg 检测率与 HCV RNA 的关系: $y=17.043x-6.486$ ,线性相关系数  $R^2=0.937 9$ , $P<0.001$ ,显示 ECL 对 HCVcAg 的检出率与 HCV RNA 载量存在正相关性(表 2)。

141 例非 HCV 感染但患有其他疾病的血清以及可能存在干扰物质血清的 HCVcAg 检出情况见表 3。对 4 例 HCVcAg 阳性血清进行分析,3 例阳性存在 HBsAg 阳性血清中,1 例存在类风湿因子阳性血清中,进行超敏 HCV RNA 和抗 HCV(雅培化学发光法)进行检测,前 3 例血清 HCV RNA 和抗 HCV 均为阳性,确认乙型肝炎与丙型肝炎混合感染者,后 1 例检测为阴性。

表 2 214 例 HCVcAg 检出率与 HCV RNA 载量的分布情况  
Table 2 Detection rate of HCVcAg and the distribution of HCV RNA load in 214 cases

HCV RNA 载量(U/mL)	例数	HCVcAg[n(%)]	
		阳性	阴性
<15	11	1(9.1)	10(90.9)
≥15~<1×10 <sup>2</sup>	22	6(27.3)	16(72.7)
≥1×10 <sup>2</sup> ~<1×10 <sup>3</sup>	40	14(35.0)	26(65.0)
≥1×10 <sup>3</sup> ~<1×10 <sup>4</sup>	45	30(66.7)	15(33.3)
≥1×10 <sup>4</sup> ~<1×10 <sup>5</sup>	34	32(94.1)	2(5.9)
≥1×10 <sup>5</sup> ~<1×10 <sup>6</sup>	33	33(100.0)	0(0.0)
≥1×10 <sup>6</sup>	29	29(100.0)	0(0.0)
合计	214	134	80

表 3 141 例非 HCV 感染者的血清以及可有存在干扰物质的血清的 HCVcAg 检出情况

Table 3 HCVcAg detection in sera of non HCV infected persons and sera with presence of interfering substances 141 cases

组别	总数	(n)		
		初检 阳性数	复检 阳性数	确认 阳性数
非 HCV 感染但患其他病毒感染的血清▲	104	3	3	3
存在干扰物质的血清▼	37	1	1	0
合计	141	4	4	3

▲:104 例非 HCV 感染但患有其他病毒性疾病的患者的血清包括: HBsAg 阳性、HAV IgM 阳性、HEV IgM 阳性、抗 HCMV 阳性、单纯疱疹病毒-1 抗体阳性。▼:37 例其他为可能含潜在干扰物质的血清、类风湿因子阳性血清、多次接受输血者血清、SLE 血清、单纯 IgG 含量增高血清、单纯 IgM 含量增高血清以及梅毒特异性抗体阳性血清。

表 4 艾滋病伴肝功能异常患者的 HCV RNA 载量、HCVcAg、以及抗 HCV 分布情况

Table 4 Distribution of HCV RNA load, HCVcAg, and anti-HCV in AIDS patients with abnormal liver function

HCV RNA 载量(U/mL)	例数	HCV cAg		抗 HCV
		阳性	阴性	阳性
<1×10 <sup>3</sup>	29	4(13.79)	25(86.21)	8(27.59)
≥1×10 <sup>3</sup> , <1×10 <sup>4</sup>	11	3(27.27)	8(72.73)	5(45.45)
≥1×10 <sup>4</sup> , <1×10 <sup>5</sup>	24	8(33.33)	16(66.67)	20(83.33)
≥1×10 <sup>5</sup> , <1×10 <sup>6</sup>	17	7(41.18)	10(58.82)	16(94.11)
≥1×10 <sup>6</sup>	6	5(83.33)	1(16.67)	6(100.00)
合计	87	27(31.03)	60(68.97)	55(63.21)

表 4 显示 87 例艾滋病伴肝功能异常血清样本 HCV RNA、HCVcAg 和抗 HCV 的阳性率分别为 66.67%、31.03%和 63.21%。ECL 法检出 HCVcAg 也与 HCV RNA 载量呈正相关:  $y=15.299x-6.117$ ,  $R^2=$

0.844 3,  $P<0.05$ 。

### 3 讨论

我国是 HCV 感染高发的国家, HCV 的感染主要通过输血传播, 但由于缺乏有效的预防性疫苗, HCV 的预防主要依靠对献血员及高危人群的筛查, 切断传染源, 目前中国对 HCV 的筛查和诊断主要是基于酶免疫分析法(EIA)的抗 HCV 抗体检测以及 HCV RNA 检测。但中国人口基数大, 经济发展不平衡, 所以目前在全国范围内开展核酸检测(NAT)血液筛查难度仍很大。中华医学会肝病学会发布 2015《丙型肝炎防治指南》中已将 HCVcAg 用于丙型肝炎诊断, 在缺乏 HCV RNA 检测时替代 HCV RNA。所以开发成本相对较低, 易自动化的 HCV 抗原检测在我国拥有广阔的发展空间。

本研究通过油包水微乳方案成功合成了 SiO<sub>2</sub>@Ru 纳米复合材料, 具有很高的单分散性和均一性, Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>可负载于硅球内部而 Ab2 可通过戊二醛交联于硅壳表面, 经优化后, 测定的线性范围为 1~1 000 fmol/L, 回归方程为  $\lg IE=0.609 8+1.468 \lg c$ , 线性范围宽。最低检出限为 3 fmol/L。对收集的 HCV 感染的混合血清分 3 组进行测定, 具有很好的重现性, 每组批间差均小于 10%。

对 214 例抗病毒治疗的丙肝患者血清样本进行检测, HCVcAg 的检出率为 62.17%, HCVcAg 与 HCV RNA 总体线性相关好,  $R^2=0.937 9$ , 尤其 HCV RNA 载量大于 1×10<sup>4</sup> 时, 阳性率达 94.1%, 大于 1×10<sup>5</sup> 时, 阳性率高达 100%, 因此在 HCV RNA 缺乏的情况下, 可以用于抗病毒治疗疗效的评估。

对 141 份非 HCV 血清进行 HCVcAg 检测, 发现 4 例阳性, 经 HCV RNA 和抗 HCV 确认, 3 例为乙肝与丙型肝炎混合感染, 另 1 例类风湿因子阳性患者, 因此 HCVcAg 检测可能存在类风湿因子干扰的风险。

对 87 例艾滋病伴肝功能异常的血清样本进行分析, 我们注意到与 214 例丙型肝炎患者的血清样本 HCVcAg 的检测率相比(31.03% vs. 62.17%), 明显低了 1 半, 出现 HCV RNA 与 HCVcAg 线性相关较差的情况, 推测艾滋病患者体内的 HIV 病毒复制时, 可能对 HCV 病毒的表达有较强的抑制作用, 进而出现假阴性结果。提示在临床对 HIV 伴 HCV 感染的患者, 进行抗丙肝治疗时, 需慎用 HCVcAg 替代 HCV RNA 作为疗效的评估指标。

因此 SiO<sub>2</sub>@Ru 可作为 ECL 探针用于病毒标志物的超灵敏检测。SiO<sub>2</sub>@Ru 纳米复(下转第 1277 页)

- 2013, 42(21): 2534-2536
- [8] 徐 明. 微创穿刺血肿引流术与小骨窗血肿清除术及常规方法治疗老年高血压脑出血的疗效比较[J]. 临床和实验医学杂志, 2014, 13(13): 1083-1086
- [9] Bele S, Proescholdt MA, Hochreiter A, et al. Continuous intra-arterial nimodipine infusion in patients with severe refractory cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a feasibility study and outcome results [J]. *Acta Neurochir*, 2015, 157(12): 2041-2050
- [10] 李 格, 沈 铭. 小骨窗开颅血肿清除术与微创穿刺血肿清除术治疗高血压脑出血的疗效对比[J]. 神经损伤与功能重建, 2014, 9(2): 160
- [11] Nanba T, Ogasawara K, Nishimoto H, et al. Postoperative cerebral white matter damage associated with cerebral hyperperfusion and cognitive impairment after carotid endarterectomy: a diffusion tensor magnetic resonance imaging study[J]. *Cerebrovasc Dis*, 2012, 34(5): 358-567
- [12] 杨 军, 聂晓枫. 早期应用微创颅内血肿清除术治疗高血压脑出血的临床疗效及对血清炎症因子水平的影响[J]. 河北医学, 2014, 20(10): 1635-1638
- [13] Huang HZ, Li KY, Wang DH, et al. Analysis of thrombin-antithrombin complex contents in plasma and hematoma fluid of hypertensive intracerebral hemorrhage patients after clot removal[J]. *Eur J Neurol*, 2011, 18(8): 1060-1066
- [收稿日期] 2016-07-13

(上接第 1260 页)

合材料中的 Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>保持了原有的光学性质, Si 纳米球的多孔性使得粒子和电子的交换非常容易。基于 SiO<sub>2</sub>@Ru 构建的夹心免疫传感器具有很高的灵敏度和稳定性, 显示了优越的分析性能。本工作所提出的 ECL 免疫传感策略具有简单、高特异性、低成本等优越性能, 可进一步用于临床样品中 HCVcAg 的检测以及抗丙肝疗效时的评估。

[参考文献]

- [1] 郁金红, 周镇先, 张永臣, 等. 丙型肝炎病毒核心抗原检测在临床诊断 HCV 感染的价值 [J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2009, 29(11): 1545-1549
- [2] 夏敦年, 王 亮, 周镇先, 等. 抗 HCV 抗体双抗原夹心 ELISA 法试剂的应用 [J]. 临床检验杂志, 2009, 37(6): 463
- [3] 李晓敏, 邹先琼. 丙型肝炎病毒抗体与核心抗原检测的比较研究[J]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2010, 4(4): 434-437
- [4] 中华医学会肝病分会, 中华医学会感染病学分会. 丙型肝炎防治指南(2015 更新版)[J]. 中华肝脏病杂志, 2015, 23(12): 906-923
- [5] 谢忠平, 龙润乡, 杨 蓉, 等. HCV 抗原 ABS-ELISA 检测方法的建立及初步评价[J]. 现代预防医学, 2012, 39(21): 5617-5619
- [6] 中华医学会肝病分会, 中华医学会传染病与寄生虫病分会. 丙型肝炎防治指南[J]. 中华肝脏病杂志, 2004, 14(4): 194-198
- [7] 中华医学会感染病学分会艾滋病学组, 艾滋病诊疗指南[J]. 中华传染病杂志, 2011, 29(10): 629-640
- [8] Zhang L, Li D, Meng W, et al. Sequence-specific DNA detection by using biocatalyzed electrochemiluminescence and non-fouling surfaces [J]. *Biosens Bioelectron*, 2009, 25(2): 368-372
- [9] Komori K, Takada K, Hatozaki O, et al. Electrochemiluminescence of Ru(II) complexes immobilized on a magnetic microbead surface: distribution of magnetic microbeads on the electrode surface and effect of azide ion [J]. *Langmuir*, 2007, 23(11): 6446-6452
- [10] Chen XM, Cai ZM, Lin ZJ, et al. A novel non-enzymatic ECL sensor for glucose using Palladium nanoparticles supported on functional Carbon nanotubes [J]. *Biosens Bioelectron*, 2009, 24(12): 3475-3480
- [11] Egashira N, Morita S, Hifumi E, et al. Attomole detection of hemagglutinin molecule of influenza virus by combining an electrochemiluminescence sensor with an immunoliposome that encapsulates a Ru complex[J]. *Anal Chem*, 2008, 80(11): 4020-4025
- [12] Dolci LS, Zanarini S, Della Ciana L, et al. Development of a new device for ultrasensitive electrochemiluminescence microscopy imaging[J]. *Anal Chem*, 2009, 81(15): 6234-6241
- [收稿日期] 2016-10-10