



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102393455 B

(45) 授权公告日 2014. 01. 29

(21) 申请号 201110248547. X

(22) 申请日 2011. 08. 26

(73) 专利权人 厦门出入境检验检疫局检验检疫技术中心

地址 361000 福建省厦门市海沧区建港路 2165 号

(72) 发明人 孔繁德 徐淑菲 刘阳 陈信忠
龚艳清 杨俊萍 郭树林

(74) 专利代理机构 厦门市诚得知识产权代理事务
所(普通合伙) 35209

代理人 方惠春

(51) Int. Cl.

G01N 33/569(2006. 01)

G01N 33/531(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101000345 A, 2007. 07. 18,

CN 101000345 A, 2007. 07. 18,

CN 101819209 A, 2010. 09. 01,

CN 101504416 A, 2009. 08. 12,

CN 101561436 A, 2009. 10. 21,

CN 101609095 A, 2009. 12. 23,

CN 102135537 A, 2011. 07. 27,

CN 102135540 A, 2011. 07. 27,

JP 2007327777 A, 2007. 12. 20,

秦巧玲. 志贺氏菌多克隆抗体制备及 ELISA 检测方法的建立. 《中国优秀硕士学位论文全文数据库》. 2009,

审查员 舒霏霏

权利要求书1页 说明书5页

(54) 发明名称

副溶血弧菌免疫金快速检测试纸的制备方法

(57) 摘要

本发明公开一种副溶血弧菌免疫金快速检测试纸的制备方法,包括以下步骤:a)副溶血弧菌抗原的制备;b)制得副溶血弧菌灭活疫苗;c)用疫苗免疫实验兔制备多价抗血清;d)抗血清纯化;e)胶体金标记;f)免疫金试纸条的制备。采用本发明副溶血弧菌免疫金快速检测试纸的检测技术,具有简单、灵敏、快速、特异等优点,能大大方便口岸进出口货物的通关速度,同时该检测试纸具有价格低廉、不需要仪器设备、操作简便快速、结果容易判断。

1. 副溶血弧菌免疫金快速检测试纸的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

a) 副溶血弧菌抗原的制备:用蛋白胨水培养基将副溶血弧菌培养过夜;

b) 制得副溶血弧菌灭活疫苗;

c) 用疫苗免疫实验兔制备多价抗血清:采用皮下多点注射和静脉直接注射免疫兔子制备兔抗副溶血弧菌多抗抗体,分别得到皮下多点注射制备的兔抗副溶血弧菌抗体和静脉直接注射制备的兔抗副溶血弧菌抗体;

d) 抗血清纯化;

e) 胶体金标记:将纯化的皮下多点注射制备的兔抗副溶血弧菌抗体用胶体金进行标记;

f) 免疫金试纸条的制备:先将步骤 d) 中纯化的静脉直接注射制备的兔抗副溶血弧菌抗体喷在微孔滤膜检测线上,羊抗兔抗体喷在对照线上,再将步骤 e) 中制备的胶体金标记的皮下多点注射制备的兔抗副溶血弧菌抗体喷在玻璃纤维膜上,然后组装成免疫金试纸条;所述的步骤 b), 制得副溶血弧菌灭活疫苗,具体为:先经过 0.3% 的甲醛 37℃ 灭活 24h, 然后经培养检测确实无活菌后作为抗原;所述的步骤 c), 用疫苗免疫实验兔制备多价抗血清, 采用皮下多点注射和静脉直接注射免疫兔子制备兔抗副溶血弧菌多抗抗体,具体为:

1) 静脉注射免疫:每 10 天注射一次,首次 1mL,第二次 1.5mL,第三次 2mL,第四次 3mL,当效价达到 1:1280 或 1:2560 时放血;

2) 弗氏佐剂皮下多点注射免疫:弗氏完全佐剂与菌液等体积混合后,兔颈背部皮下多点注射 4mL,2 周后,用弗氏不完全佐剂与菌液等体积混合液颈背部皮下多点注射 4mL,2 周后,采血前 5-7 天静脉注射 4mL,当效价达到 1:1280 或 1:2560 时放血;所述的步骤 f), 免疫金试纸条的制备,具体为:

用胶体金标记皮下多点注射制备的兔抗副溶血弧菌抗体,建立胶体金免疫层析快速检测副溶血弧菌的方法;应用微孔滤膜作载体的免疫检测,先将静脉直接注射制备的兔抗副溶血弧菌抗体喷在微孔滤膜检测线上,羊抗兔抗体喷在对照线上,胶体金标记的皮下多点注射制备的兔抗副溶血弧菌抗体喷在玻璃纤维膜上,干燥后加入封闭液于微孔滤膜上,烘干液体后组装成检测副溶血弧菌试纸;再通过金颗粒放大免疫反应系统,使反应结果在固相载体微孔滤膜上显示出来;所述封闭液配方采用:含有 1% (W/V) 酪蛋白和 0.05% (V/V) Tween -20 的浓度为 0.01 mol/L 的 PBS 溶液, PBS 溶液的 pH 值为 7.2;所制备的免疫金快速检测试纸用于现场检测时,将试纸条平放在桌面上,在加样端加上 100uL 的样品,样品首先溶解喷在玻璃纤维膜上的金标兔抗副溶血弧菌抗体,然后溶液往微孔滤膜移动,当遇到检测线的兔抗副溶血弧菌抗体时,判断试纸检测结果的标准如下:

样品中含有副溶血弧菌:在检测线和对照线上均显现一条紫红色线;

样品中不含有副溶血弧菌:只在对照线上出现一条紫红色线;

试纸无效:检测线和对照线上均不出现一条紫红色线。

副溶血弧菌免疫金快速检测试纸的制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及检测技术领域,具体涉及一种副溶血弧菌免疫金快速检测试纸的制备方法。

背景技术

[0002] 副溶血性弧菌均属弧菌科弧菌属,是通过食物、水传播的病原菌。副溶血性弧菌具有相似的生物学特性和同样的致病性,均可引起腹泻和食物中毒。

[0003] 副溶血弧菌最早是由 Fujino 等于 1953 年从日本一个食物中毒患者初次分离得到的,又称嗜盐菌,该菌因在含食盐较浓(3%~4%以上)的培养基中能生长,而在不含盐的培养基内不能繁殖而得名。副溶血弧菌分布于世界各地,通常存在于海湾和海岸线区域以及海产品中,人多因食用污染本菌又未经良好加工的海产品如蟹类、牡蛎、虾等而引起食物中毒。副溶血弧菌引起的食物中毒,在细菌性食物中毒中占的比例很高,其危害仅次于沙门氏菌、大肠杆菌、葡萄球菌和肉毒梭菌。我国沿海地区每年都有因副溶血性弧菌引起食物中毒的报道。人中毒后的基本症状包括:腹泻(呈水样便或血样便)、腹部痉挛、恶心、呕吐和头疼,也曾有发烧和发冷的报道,但较少。

[0004] 目前,美国和欧盟对进口水产品都强制性要求进行副溶血弧菌的检测,检验结果为阴性方可通关,否则出口的水产品将被全部自动扣留或就地销毁。这给我国水产品的出口设置了技术壁垒。因此,出口水产品加工厂认真贯彻 HACCP 计划,加强对副溶血弧菌的检测,检疫部门加强对工厂落实 HACCP 计划情况的监管和对出口水产品的检验就显得尤其重要。

[0005] 目前,国内对于副溶血性弧菌的检测已经有了相应的国家标准和行业标准,方法大致分为以下几个过程:(1) 前增菌;(2) 选择性增菌;(3) 选择性培养;(4) 生化鉴定;(5) 神奈川现象和血清学实验。检验过程需要 5d-6d 才能报告阳性结果。检验方法繁琐,费时费力,不仅影响检验机构的工作效率,而且使生产部门的产品运输和仓储时间延长,生产成本加大。

[0006] 胶体金快速诊断试纸法是 20 世纪九十年代以来在单克隆抗体技术、胶体金免疫层析技术和新材料技术基础上发展起来的一项新型体外诊断技术。操作简单,仅须将待检样品滴加到样品槽中即可,过 10 几分钟就可根据颜色判断结果,达到检测的目的。该方法不需要特殊的仪器,一般技术人员即可完成,而且检测成本低,可大大减少工作量,适应于口岸快速检测的需要。因此,尽快建立一套快速检测副溶血性弧菌的准确、可靠、科学的胶体金快速诊断试纸法势在必行。这对于加强进出口水产品中弧菌的快速检验检疫、水产养殖病害的调查和防治、无公害水产品检测和生产以及水产品卫生质量监督检验等方面都具有十分重要的意义。

[0007] 有鉴于此,本发明提供一种副溶血弧菌的免疫金快速检测试纸的制备方法,以建立简便、快速的检测方法。

发明内容

[0008] 本发明旨在以副溶血性弧菌为材料,制备多抗,利用先进的胶体金生产工艺来研制检测副溶血性弧菌标检测试纸。为了实现上述目的,本发明的解决方案如下:

[0009] 副溶血弧菌免疫金快速检测试纸的制备方法,包括以下步骤:

[0010] a) 副溶血弧菌抗原的制备:用蛋白胨水培养基将副溶血弧菌培养过夜;

[0011] b) 制得副溶血弧菌灭活疫苗;

[0012] c) 用疫苗免疫实验兔制备多价抗血清:采用皮下多点注射和静脉直接注射免疫兔子制备兔抗副溶血弧菌多抗抗体,分别得到皮下多点注射制备的兔抗副溶血弧菌抗体(简称为兔抗-1,下同)和静脉直接注射制备的兔抗副溶血弧菌抗体(简称为兔抗-2,下同);

[0013] d) 抗血清纯化;

[0014] e) 胶体金标记:将纯化的兔抗血清胶体金进行标记;

[0015] f) 免疫金试纸条的制备:先将步骤 d) 中纯化的兔抗-2 喷在微孔滤膜检测线上,羊抗兔抗体喷在对照线上,再将步骤 e) 中制备的胶体金标记的兔抗-1 喷在玻璃纤维膜上,然后组装成免疫金试纸条;

[0016] 所述的步骤 b), 制得副溶血弧菌灭活疫苗,具体为:先经过 0.3% 的甲醛 37℃ 灭活 24h, 然后经培养检测确实无活菌后作为抗原;

[0017] 所述的步骤 c), 用疫苗免疫实验兔制备多价抗血清, 采用皮下多点注射和静脉直接注射免疫兔子制备兔抗副溶血弧菌多抗抗体,具体为:

[0018] 1) 静脉注射免疫:每 10 天注射一次,首次 1mL, 第二次 1.5mL, 第三次 2mL, 第四次 3mL, 当效价达到 1:1280 或 1:2560 时放血;

[0019] 2) 弗氏佐剂皮下多点注射免疫:弗氏完全佐剂与菌液等体积混合后,兔颈背部皮下多点注射 4mL, 2 周后,用弗氏不完全佐剂与菌液等体积混合液颈背部皮下多点注射 4mL, 2 周后,采血前 5-7 天静脉注射 4mL, 当效价达到 1:1280 或 1:2560 时放血。

[0020] 所述的步骤 f), 免疫金试纸条的制备, 具体为:

[0021] 用胶体金标记兔抗-1, 建立胶体金免疫层析技术快速检测副溶血弧菌的方法;应用微孔滤膜作载体的免疫检测技术, 先将兔抗-2 喷在微孔滤膜检测线上, 羊抗兔抗体喷在对照线上, 胶体金标记的兔抗-1 喷在玻璃纤维膜上, 干燥后加入封闭液混合, 烘干液体后组装成检测副溶血弧菌;再通过金颗粒放大免疫反应系统, 使反应结果在固相载体微孔滤膜上显示出来。

[0022] 上述封闭液配方采用:含有 1% (W/V) 酪蛋白和 0.05% (V/V) Tween-20 的浓度为 0.01 mol/L 的 PBS 溶液, PBS 溶液的 pH 值为 7.2。

[0023] 副溶血弧菌免疫金快速检测试纸的制备方法, 所制备的免疫金快速检测试纸用于现场检测时, 将试纸条平放在桌面上, 在加样端加上 100uL 的样品, 样品首先溶解喷在玻璃纤维膜上的金标兔抗-1, 然后溶液往 NC 膜移动, 当遇到检测线(T) 的兔抗-2 时, 判断试纸检测结果的标准如下:

[0024] 样品中含有副溶血弧菌:在检测线和对照线(C) 上均显现一条紫红色线(形成夹心反应, 即金标兔抗-1—副溶血弧菌—兔抗-2);

[0025] 样品中不含有副溶血弧菌:只在对照线上出现一条紫红色线;

[0026] 试纸无效:检测线和对照线上均不出现一条紫红色线。

[0027] 本发明的有益效果如下：

[0028] 采用本方法副溶血弧菌免疫金快速检测试纸的操作简便、快速，不需特殊仪器设备，检测线上的紫红色反应线色泽鲜艳，易于判断，且检测结果可以保存。通过应用该试纸条法对 150 份样品的检测，结果试纸条法阳性率为 2%，细菌分离检测阳性率为 2%，两者符合率达 100%。本发明选用的副溶血弧菌抗原免疫原性好，免疫兔子制得的抗体凝集效价达到 2^{11} – 2^{12} ，用胶体金标记组成检测试纸条用于检测副溶血弧菌，具有特异性强，灵敏性高，操作简单，耗时短，结果易于判断，且与溶藻弧菌、大肠杆菌、沙门氏菌、哈维氏菌和不发生交叉反应。该方法的成功研制，能够简单快速检测副溶血弧菌。

[0029] 采用本发明副溶血弧菌免疫金快速检测试纸的检测技术具有简单、灵敏、快速、特异的优点，能大大方便口岸进出口货物的通关速度，同时由于该检测试纸价格低廉、不需要仪器设备、操作简便快速、结果容易判断。这对于预防和控制我国水产品安全具有重要的现实意义。目前未见国内外利用免疫胶体金技术检测进出口水生动物及其产品中副溶血性弧菌的报道，该技术有望为出入境副溶血性弧菌的检测提供一种快速灵敏、简便可靠的方法，特别适合口岸检疫部门实施快速验放需要。

具体实施方式

[0030] 1、本实施例首先制备副溶血弧菌灭活菌液

[0031] 用 0.3% 的甲醛灭活副溶血弧菌的培养液，经检测无存活细菌，将该细菌以含量 16 亿个菌 / 每毫升免疫家兔，采用静脉直接注射免疫和皮下多点注射免疫两种方式，按文献采用抗原吸收法封闭混合抗体与其他肠道杆菌的交差反应，低温保存。

[0032] 2、兔抗副溶血弧菌抗体的制备

[0033] 将灭活的菌液采用静脉注射和弗氏佐剂免疫，具体免疫程序如下：

[0034] 1) 静脉注射免疫：每 10 天注射一次，首次 1mL，第二次 1.5mL，第三次 2mL，第四次 3mL，当效价达到 1 :1280 或 1 :2560 时放血；

[0035] 2) 弗氏佐剂皮下多点注射免疫：弗氏完全佐剂与菌液等体积混合后，兔颈背部皮下多点注射 4mL，2 周后用弗氏不完全佐剂与菌液等体积混合液颈背部皮下多点注射 4mL，2 周后采血前 5–7 天静脉注射 4mL，当效价达到 1 :1280 或 1 :2560 时放血；

[0036] 3) 凝集效价：采用玻片凝集实验检测兔抗副溶血弧菌抗体效价，兔抗副溶血弧菌抗体纯化后佐剂免疫的浓度为 28.72 mg/mL，玻片凝集试验效价为 1:2¹¹，静脉注射免疫的浓度为 28.72 mg/mL，玻片凝集试验效价为 1:2⁷；

[0037] 3、兔抗副溶血弧菌抗体胶体金的制备

[0038] 1) 胶体金溶液的制备：用柠檬酸三钠还原法制备，取 1%(W/V) 氯金酸 1 mL 加入到 99 mL 超纯水中，所得氯金酸溶液浓度为 0.01 (V/V) %，用水浴磁力搅拌锅加热至沸腾，在磁力搅拌器以一定转速不断搅拌下迅速加入 2 mL 的 1% 柠檬酸三钠水溶液，继续搅拌加热约 15 min 至溶液颜色稳定不变。此法制得的胶体金呈葡萄酒色，经紫外分光光度计测其吸收峰在 520 nm 处，得到的胶体金颗粒直径约为 20 nm 左右，冷却后置 4℃ 冰箱避光保存；

[0039] 2) 兔抗 -1 标记：取需制备量的胶体金溶液，用 0.1 mol/L K_2CO_3 和 0.1 mol/L 的 HCl 调其 pH 至 8.5。然后在磁力搅拌下逐滴加入纯化的兔抗 -1 (用佐剂免疫的兔抗体标金，每 mL 胶体金溶液加入兔抗 -1 16.7ug)，继续磁力搅拌 30 min 后加入 5%(W/V) PEG (MW

6000)至终浓度 0.1%(W/V),再继续搅拌 15 min,最后放置 4℃冰箱,静置过夜。次日将标记好的兔抗-1 胶体金 4000 r/min 离心 10min,取上清液 15000 r/min 离心 30 min,小心吸弃上清。沉淀用重悬缓冲液(含 1% 酪蛋白,0.05% (W/V) PEG6000,0.05%(V/V) Tween-20,0.01 mol/L pH7.2 的 PBS 缓冲液)恢复至原体积的二十分之一,置 4℃冰箱备用;

[0040] 4、反应试纸条的制作

[0041] 反应试纸制成大小为 5.0 cm~6.0cm×0.4cm~0.6 cm 左右的试纸条,具体组成为:最底层为 PVC 胶板,试纸条的上端为吸水纸,下端为结合了胶体金的玻璃纤维膜和样品垫,中间为硝酸纤维素膜(NC 膜),其中靠上端喷上了质控试剂,如羊抗兔抗体,靠下端喷上了兔抗-2,试纸条表面覆盖了一层薄膜,起保护作用。

[0042] 所制备的免疫金快速检测试纸用于现场检测时,将试纸条平放在桌面上,在加样端加上 100uL 的样品,样品首先溶解喷在玻璃纤维膜上的金标兔抗-1,然后溶液往 NC 膜移动,当遇到检测线(T)的兔抗-2 时,若样品中含有副溶血弧菌,则形成夹心反应,即金标兔抗-1—副溶血弧菌—兔抗-2,在检测线和对照线(C)上均显现一条紫红色线,若样品中不含有副溶血弧菌,则只在对照线上出现一条紫红色线,若检测线和对照线均不出现一条紫红色线,那么该试纸条为无效试纸条。

[0043] 实施例 1

[0044] 兔抗副溶血弧菌抗体标记,取需制备量的胶体金溶液,用 0.1 mol/L K_2CO_3 和 0.1 mol/L 的 HCl 调其 pH 至 8.5。然后在磁力搅拌下逐滴加入纯化的兔抗副溶血弧菌抗体(用佐剂免疫的兔抗体标金,每 mL 胶体金溶液加入兔抗副溶血弧菌抗体 16.7ug),继续磁力搅拌 30 min 后加入 5%PEG (MW 6000) 至终浓度 0.1%,再继续搅拌 15 min,最后放置 4℃冰箱,静置过夜。次日将标记好的兔抗副溶血弧菌抗体胶体金 4000 r/min 离心 10min,取上清液 15000 r/min 离心 30 min,小心吸弃上清。沉淀用重悬缓冲液(含 1% 酪蛋白,0.05% PEG6000,0.05% Tween-20,0.01 mol/L pH7.2 的 PBS 缓冲液)恢复至原体积的二十分之一,置 4℃冰箱备用。

[0045] 实施例 2

[0046] 反应试纸条组成为:大小为 5.0 cm~6.0cm×0.4cm~0.6 cm 左右,具体组成为:最底层为 PVC 胶板,试纸条的上端为吸水纸,下端为结合了胶体金的玻璃纤维膜和样品垫,中间为硝酸纤维素膜(NC 膜),其中靠上端喷上了质控试剂,如羊抗兔 IgG 或 SPA,靠下端喷上了兔抗-2,试纸条表面覆盖了一层薄膜,起保护作用。

[0047] 实施例 3

[0048] 封闭液的配方选择实验:

[0049] 包被有 T、C 线的 NC 膜分别用以下 8 种封闭液进行封闭:

[0050] (1) 1%BSA、0.5%Tween-20 的 0.01mol/L pH7.2 的 PBS

[0051] (2) 0.5%BSA、0.5%Tween-20 的 0.01 mol/L pH7.2 的 PBS

[0052] (3) 1%BSA、0.05%Tween-20 的 0.01 mol/L pH7.2 的 PBS

[0053] (4) 0.5%BSA、0.05%Tween-20 的 0.01 mol/L pH7.2 的 PBS;

[0054] (5) 1%casein、0.5%Tween-20 的 0.01 mol/L pH7.2 的 PBS;

[0055] (6) 0.5% casein、0.5%Tween-20 的 0.01 mol/L pH7.2 的 PBS;

[0056] (7) 1% casein、0.05% Tween -20 的 0.01 mol/L pH7.2 的 PBS;

[0057] (8) 0.5% casein、0.05%Tween -20 的 0.01 mol/L pH7.2 的 PBS。

[0058] 经过反复实验测试,得到结果为:采用用含 1% casein、0.05%Tween -20 的 0.01 mol/L pH7.2 的 PBS 封闭效果最好,斑点显色清楚,背景较浅。

[0059] 实施例 4

[0060] 通过检测线包被兔抗 -2 的抗体浓度为 0、24.32、48.64、72.96、97.28、121.6mg/ml 的 6 个浓度梯度,胶体金兔抗 -1 的体积为标记时胶体金体积的 1/5、1/10、1/15、和 1/20 时,组合组装成方阵试纸条,然后用 2 倍系列稀释的副溶血弧菌菌悬液进行检测。结果检测线兔抗 -2 浓度为 72.96mg/ml 以上检测线显色较清楚;胶体金兔抗 -1 的体积为标记时胶体金体积的 1/15 时,检测线、对照线显色较清楚且背景颜色较浅。因此最终确定试纸条的检测线兔抗 -2 的浓度为 72.96mg/ml,胶体金兔抗 -1 稀释为标记前体积的 1/15,灵敏度可达到 2.6×10^3 cfu/ml。

[0061] 同样的,对照线包被葡萄球菌 A 蛋白,浓度为 0、2、4、6、8、10mg/ml 的 6 个浓度梯度,再用前面确定的胶体金兔抗 -1 浓度进行反应,最后得出对照线包被葡萄球菌 A 蛋白的最低浓度为 6mg/ml。

[0062] 对照线包被羊抗兔 IgG,浓度为 2、3、4、5、6、7 mg/ml 的 6 个浓度梯度,再用前面确定的胶体金兔抗 -1 浓度进行反应,最后得出对照线包被葡萄球菌 A 蛋白的最低浓度为 4mg/ml。

[0063] 实施例 5

[0064] 试纸条的稳定性测试实验:

[0065] 连续测试 6 个月,测试期间,检测副溶血弧菌菌悬液出现的对照线(C)和检测线(T)的颜色均没有异常变化,这说明试纸条稳定强。

[0066] 经检测,采用本发明制备的副溶血弧菌免疫金快速检测试纸具有很好的特异性和稳定性,具体如下:

[0067] 副溶血弧菌免疫金快速检测试纸的特异性:

[0068] 检测副溶血弧菌、溶藻弧菌、霍乱弧菌、美人鱼弧菌、麦氏弧菌、弗氏枸橼酸杆菌、沙门氏菌等 7 株菌株,只有副溶血弧菌的对照线(C)和检测线(T),均出现紫红色,显示阳性结果;而其余 6 株菌株只有对照线(C)出现紫红色,检测线(T)没有出现紫红色,显示阴性结果。

[0069] 副溶血弧菌免疫金快速检测试纸的稳定性

[0070] 连续测试 6 个月,测试期间,检测副溶血弧菌菌悬液出现的对照线(C)和检测线(T)的颜色均没有异常变化,这说明试纸条稳定强。

[0071] 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。

专利名称(译)	副溶血弧菌免疫金快速检测试纸的制备方法		
公开(公告)号	CN102393455B	公开(公告)日	2014-01-29
申请号	CN201110248547.X	申请日	2011-08-26
[标]申请(专利权)人(译)	厦门出入境检验检疫局检验检疫技术中心		
申请(专利权)人(译)	厦门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)	厦门出入境检验检疫局检验检疫技术中心		
[标]发明人	孔繁德 徐淑菲 刘阳 陈信忠 龚艳清 杨俊萍 郭树林		
发明人	孔繁德 徐淑菲 刘阳 陈信忠 龚艳清 杨俊萍 郭树林		
IPC分类号	G01N33/569 G01N33/531		
其他公开文献	CN102393455A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开一种副溶血弧菌免疫金快速检测试纸的制备方法，包括以下步骤：a) 副溶血弧菌抗原的制备；b) 制得副溶血弧菌灭活疫苗；c) 用疫苗免疫实验兔制备多价抗血清；d) 抗血清纯化；e) 胶体金标记；f) 免疫金试纸条的制备。采用本发明副溶血弧菌免疫金快速检测试纸的检测技术，具有简单、灵敏、快速、特异等优点，能大大方便口岸进出口货物的通关速度，同时该检测试纸具有价格低廉、不需要仪器设备、操作简便快速、结果容易判断。