



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103926404 A

(43) 申请公布日 2014. 07. 16

(21) 申请号 201410178962. 6

(22) 申请日 2014. 04. 29

(71) 申请人 广州市微米生物科技有限公司

地址 510663 广东省广州市广州高新技术产
业开发区科学城科丰路 31 号华南新材
料创新园 G8 栋 502 号

(72) 发明人 汤永平 潘秀华 张晓丽

(74) 专利代理机构 广州市越秀区海心联合专
利代理事务所 (普通合伙)
44295

代理人 黄为

(51) Int. Cl.

G01N 33/569 (2006. 01)

G01N 33/533 (2006. 01)

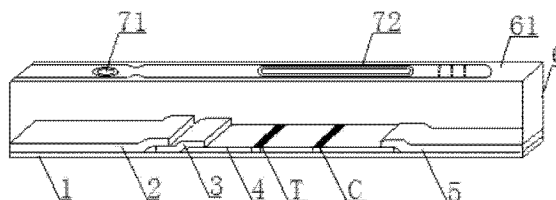
权利要求书2页 说明书6页 附图2页

(54) 发明名称

B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡及其
制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡及其制备方法,旨在提供一种简便,灵敏度高,且检测结果可靠的 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡;该检测试剂卡包括带盒盖的箱体 (6),箱体 (6) 内设检测试纸,所述的检测试纸包括底板 (1),底板 (1) 上依次衔接有样品垫 (2)、抗 B 族链球菌抗体量子点标记垫 (3)、包被膜 (4) 和吸水垫 (5),所述的包被膜 (4) 上设有一条 B 族链球菌抗体检测区 T 线和一条羊抗兔多克隆抗体质控区 C 线,两条线平行排列;属于荧光量子点标记免疫检测领域。



1. 一种 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡,包括带盒盖的盒体 (6),盒体 (6) 内设有检测试纸,所述的检测试纸包括底板 (1),其特征在于,底板 (1) 上依次衔接有样品垫 (2)、抗 B 族链球菌抗体量子点标记垫 (3)、包被膜 (4) 和吸水垫 (5),所述的包被膜 (4) 上设有一条 B 族链球菌抗体检测区 T 线和一条羊抗兔多克隆抗体质控区 C 线,两条线平行排列。

2. 根据权利要求 1 所述的 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡,其特征在于,所述的盒体 (6) 的盒盖 (61) 上设有加样孔 (71) 和结果观察窗口 (72)。

3. 根据权利要求 1 所述的 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡,其特征在于,所述的包被膜 (4) 两端分别与吸水垫 (5) 和抗 B 族链球菌抗体量子点标记垫 (3) 相互交叠连接,在抗 B 族链球菌抗体量子点标记垫 (3) 上压贴有样品垫 (2)。

4. 根据权利要求 1 所述的 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡,其特征在于,所述的样品垫 (2) 为玻璃纤维样品垫。

5. 根据权利要求 1 所述的 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡,其特征在于,所述的包被膜 (4) 为硝酸纤维素膜。

6. 根据权利要求 1 所述的 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡,其特征在于,所述的抗 B 族链球菌抗体量子点标记垫为包被量子点标记 B 族链球菌抗体聚酯纤维素膜。

7. 制备权利要求 1 所述的 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡,其特征在于,依次包括下述步骤:在底板 (1) 上依次衔接有样品垫 (2)、抗 B 族链球菌量子点标记垫 (3)、包被膜 (4) 和吸水垫 (5):

其中:

1) 样品垫的制备方法是:将样品垫裁成 $20\text{mm} \times 300\text{mm}$ 的大小,浸泡在样品垫缓冲液中,1 小时之后取出,于室温干燥 16-18 小时。

样品垫的缓冲液配方如下:2% BSA、1% PVP、0.5% Tween 溶解于 0.01 的 PBS(pH7.4) 缓冲液中。

2) 抗 B 族链球菌抗体量子点标记垫的制备方法是:

①用 10mM pH8.4 的硼酸缓冲液 (2.5mM 硼砂:10mM 硼酸 = 4.5:5.5 (V:V)) 将水溶性羧基量子点 $8\mu\text{M}$ 的 QD525 稀释至 $1\mu\text{M}$;加入 $30\mu\text{L}$ 10mg/mL 的 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸溶液,室温反应 1~2 小时。用 30kDa 的超滤管超滤,除去未反应的 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸,吸取超滤管内剩余液体,加上述缓冲液恢复为原体积。

②将抗 B 族链球菌抗体加入 100kDa 的超滤管中,用 0.05M 的 pH8.4 的硼酸缓冲液将抗体浓度调整为 4mg/mL。

③按 $200\mu\text{g}/1\text{mL}$ 的量,将步骤②制备的抗体加入到步骤①量子点溶液中,室温反应 1~2 小时;

④按 $10\mu\text{L}/1\text{mL}$ 的量,向步骤③中加入甘氨酸,封闭未偶联抗体的活化羧基位点,反应 30~60min;

⑤将偶联抗体的量子点溶液加入到 30kDa 的超滤管中,加入 pH9.0 浓度 0.05M Tris-HCl 溶液置换溶液缓冲体系。重复 3~5 次,恢复终体积为 $100\mu\text{L}$ 。

⑥将步骤⑤中的在溶液 4°C 1800g 离心取上清液;

⑦在步骤⑥所得的上清液中加入 $100\mu\text{L}$ 抗体保存液,所述的保存液为含 1wt%

BSA, 20wt% 蔗糖, 10wt% 海藻糖, 0.1wt% 吐温-20 和 0.1wt% 聚乙烯吡咯烷酮的 0.05M Tris-HCl 缓冲液。

⑧将上述所得的溶液用喷金划膜仪喷至聚酯纤维素膜上, 喷量为 1 ~ 5 $\mu\text{L}/\text{cm}$ (优选 2 $\mu\text{L}/\text{cm}$), 放入 37°C 烘箱, 干燥 2 ~ 5 小时。

3) 包被膜的制备方法是:

①包被

检测线 (T 线): 在硝酸纤维膜上划线, 在膜的一端用记号笔做好 C 线和 T 线的标记, C 线和 T 线的距离为 0.5cm, T 线与硝酸纤维膜下缘的距离为 1cm, 用 0.01M 的 PBS (pH7.4) 将 B 族链球菌抗体稀释到 1.2mg/mL 进行包被, 划线浓度为 1 $\mu\text{L}/\text{cm}$, 速度 100mm/s。

质控线 (C 线): 用 0.01M 的 PBS (pH7.4) 将羊抗兔多克隆抗体稀释到 1.5mg/mL 进行包被, 划线浓度为 1 $\mu\text{L}/\text{cm}$, 速度 100mm/s。

②干燥

放入 37°C 烘箱, 干燥 2 ~ 5 小时。

8. 根据权利要求 7 所述的 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡的制备方法, 其特征在于, 步骤①所述的量子点缓冲液为 0.05M 的 pH8.4 的硼酸缓冲液。

9. 根据权利要求 7 所述的 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡的制备方法, 其特征在于, 所述的样品垫缓冲液的配方为含 2wt% BSA、1w% PVP、0.5w% Tween 的 0.01M PBS 缓冲液。

10. 根据权利要求 7 所述的 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡的制备方法, 其特征在于, 所述的保存液为含 1w% BSA, 20w% 蔗糖, 10w% 海藻糖, 0.1w% 吐温-20 和 0.1w% 聚乙烯吡咯烷酮的 0.05M Tris-HCl 缓冲液。

B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明公开了一种检测试剂卡,具体的说是,一种测定孕妇宫颈或者阴道中 B 族链球菌的检测试剂卡,本发明还公开了该检测试剂卡的制备方法,属于荧光量子点标记免疫检测领域。

背景技术

[0002] B 族链球菌 (Group B Streptococcus, 简称 GBS) 可引起新生儿败血症、肺炎、脑膜炎,甚至死亡。在感染后存活的新生儿,还有可能有严重的神经系统后遗症,包括脑积水、智力障碍、小头畸形、耳聋等。同时, B 族链球菌还可引起孕妇感染、引起早产、胎儿发育不良 (低体重儿)、胎膜早破及晚期流产。因此,对孕妇 B 族链球菌的检测非常重要和必须。目前, B 族链球菌的检测主要有以下三种方法:

[0003] 1、传统的细菌培养检测法,该方法的检测结果较准确,但检测时间较长,一般需 2-3 天才能出来结果,效率较低;

[0004] 2、PCR 检测法,该检测方法简便快速,灵敏度较高,但是,检测时,容易导致交叉扩增反应,从而出现假阳性结果,所以,需要专业的技术人员和特殊的仪器设备,因此,该方法的应用范围受到很大的限制。

[0005] 3、胶体金检测法,该方法操作简单,但是灵敏度低,特别是感染量少的话,可能会出现漏检、误检的情况,这样给胎儿的优生优育带来严重的危害。

发明内容

[0006] 针对上述不足,本发明的目的在于提供一种检测方法简单、快速,灵敏度高,检测结果可靠的 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡。

[0007] 为解决上述技术问题,本发明的提供的前一技术方案是这样的:该 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡,包括带盒盖的箱体,箱体内设有检测试纸,所述的检测试纸包括底板,底板上依次衔接有样品垫、抗 B 族链球菌抗体量子点标记垫、包被膜和吸水垫,所述的包被膜上设有一条 B 族链球菌抗体检测区 T 线和一条羊抗兔多克隆抗体质控区 C 线,两条线平行排列。

[0008] 进一步的,上述的 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡,所述的箱体的盒盖上设有加样孔和结果观察窗口。

[0009] 进一步的,上述的 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡,所述的包被膜两端分别与吸水垫和抗 B 族链球菌抗体量子点标记垫相互交叠连接,在抗 B 族链球菌抗体量子点标记垫上压贴有样品垫。

[0010] 进一步的,上述的 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡,所述的样品垫为玻璃纤维样品垫。

[0011] 进一步的,上述的 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡,所述的包被膜为硝酸纤维素膜。

[0012] 进一步的,上述的B族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡,所述的抗B族链球菌抗体量子点标记垫为包被量子点标记B族链球菌抗体的聚酯纤维素膜。

[0013] 本发明的后一技术方案是提供该B族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡的制备方法,该方法依次包括下述步骤:在底板上依次衔接有样品垫、抗B族链球菌量子点标记垫、包被膜和吸水垫:

[0014] 其中:

[0015] 1) 样品垫的制备方法是:将样品垫裁成20mm×300mm的大小,浸泡在样品垫缓冲液中,1小时之后取出,于室温干燥16-18小时。

[0016] 样品垫的缓冲液配方如下:2% BSA、1% PVP、0.5% Tween 溶解于0.01的PBS(pH7.4)缓冲液中。

[0017] 2) 抗B族链球菌抗体量子点标记垫的制备方法是:

[0018] ①用10mM pH8.4的硼酸缓冲液(2.5mM 硼砂:10mM 硼酸=4.5:5.5(V:V))将水溶性羧基量子点8 μ M的QD525稀释至1 μ M;加入30 μ L10mg/mL的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸溶液,室温反应1~2小时。用30kDa的超滤管超滤,除去未反应的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸,吸取超滤管内剩余液体,加上述缓冲液恢复为原体积。

[0019] ②将抗B族链球菌抗体加入100kDa的超滤管中,用0.05M的pH8.4的硼酸缓冲液将抗体浓度调整为4mg/mL。

[0020] ③按200 μ g/1mL的量,将步骤②制备的抗体加入到步骤①量子点溶液中,室温反应1~2小时;

[0021] ④按10 μ L/1mL的量,向步骤③中加入甘氨酸,封闭未偶联抗体的活化羧基位点,反应30~60min;

[0022] ⑤将偶联抗体的量子点溶液加入到30kDa的超滤管中,加入pH9.0浓度0.05M Tris-HCl溶液置换溶液缓冲体系。重复3~5次,恢复终体积为100 μ L。

[0023] ⑥将步骤⑤中的在溶液4 $^{\circ}$ C 1800g离心取上清液;

[0024] ⑦在步骤⑥所得的上清液中加入100 μ L抗体保存液,所述的保存液为含1wt% BSA,20wt%蔗糖,10wt%海藻糖,0.1wt%吐温-20和0.1wt%聚乙烯吡咯烷酮的0.05M Tris-HCl缓冲液。

[0025] ⑧将上述所得的溶液用喷金划膜仪喷至聚酯纤维素膜上,喷量为1~5 μ L/cm(优选2 μ L/cm),放入37 $^{\circ}$ C烘箱,干燥2~5小时。

[0026] 3) 包被膜的制备方法是:

[0027] ①包被

[0028] 检测线(T线):在硝酸纤维膜上划线,在膜的一端用记号笔做好C线和T线的标记,C线和T线的距离为0.5cm,T线与硝酸纤维素膜下缘的距离为1cm,用0.01M的PBS(pH7.4)将B族链球菌抗体稀释到1.2mg/mL进行包被,划线浓度为1 μ L/cm,速度100mm/s。

[0029] 质控线(C线):用0.01M的PBS(pH7.4)将羊抗兔多克隆抗体稀释到1.5mg/mL进行包被,划线浓度为1 μ L/cm,速度100mm/s。

[0030] ②干燥

[0031] 放入 37℃烘箱,干燥 2 ~ 5 小时。

[0032] 进一步的,上述的 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡的制备方法,步骤①所述的量子点缓冲液为 0.05M 的 pH8.4 的硼酸缓冲液。

[0033] 进一步的,上述的 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡的制备方法,所述的样品垫缓冲液的配方为含 2wt% BSA、1w% PVP、0.5w% Tween 的 0.01M PBS 缓冲液。

[0034] 进一步的,上述的 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡的制备方法,所述的保存液为含 1w% BSA,20w% 蔗糖,10w% 海藻糖,0.1w% 吐温 -20 和 0.1w% 聚乙烯吡咯烷酮的 0.05M Tris-HCl 缓冲液。

[0035] 与现有技术相比,本发明所提供的 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡具有如下优点:

[0036] 1、与传统的细菌培养检测法相比:细菌培养需要 2-3 天出结果,本发明只需要 10-15min,大大缩短了检测时间,提高了检测效率;

[0037] 2、与 PCR 检测法相比:不需要大型仪器设备,无需专门技术人员操作,节约了成本;

[0038] 3、与胶体金法相比:提高了灵敏度和检出率,胶体金检测试剂的灵敏度为 10^5 CFU/mL,本发明检测试剂的灵敏度为 10^3 CFU/mL,明显优于胶体金法。

附图说明

[0039] 图 1 是本发明提供的检测试剂卡结构示意图;

[0040] 图 2 是本发明提供的检测试剂卡的盒盖俯视图;

[0041] 图 3 是本发明提供的检测试纸结构示意图;

[0042] 图 4 是本发明提供的检测试纸俯视图;

[0043] 图 5 是本发明提供的检测卡判定结果为阴性时示意图;

[0044] 图 6 是本发明提供的检测卡判定结果为阳性时示意图。

[0045] 其中:底板 1,样品垫 2,抗 B 族链球菌抗体量子点标记垫 3,包被膜 4,吸水垫 5, B 族链球菌抗体检测区 T 线,羊抗兔多克隆抗体质控区 C 线,盒体 6,盒盖 61,加样孔 71,结果观察窗口 72。

具体实施方式

[0046] 下面结合具体实施例的方式对本发明的权利要求做进一步的详细说明,但并不构成对本发明的任何限制,任何人在本发明权利要求范围内所做的有限次的修改,仍在本发明的权利要求范围之内。

[0047] 实施例 1

[0048] 本发明提供了一种 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡,参阅图 1 至图 4,包括带盒盖的盒体 6,为了方便加样和观察检测结果,所述的盒体 6 的盒盖 61 上设有加样孔 71 和结果观察窗口 72。

[0049] 盒体 6 内设有检测试纸,所述的检测试纸包括底板 1,底板 1 为 PVC 底板,在底板 1 上依次衔接有样品垫 2、抗 B 族链球菌抗体量子点标记垫 3、包被膜 4 和吸水垫 5,在包被膜 4 上设有一条 B 族链球菌抗体检测区 T 线和一条羊抗兔多克隆抗体质控区 C 线,两条线平行

排列。为了达到快速、准确的检测结果,所述的样品垫 2 优选玻璃纤维样品垫;所述的包被膜 4 优选硝酸纤维素膜;所述的抗 B 族链球菌抗体量子点标记垫为包被量子点标记 B 族链球菌抗体聚酯纤维素膜。

[0050] 更具体的说,所述的包被膜 4 压贴在底板 1 中间部位,包被膜 4 的两端分别与吸水垫 5 和抗 B 族链球菌抗体量子点标记垫 3 相互交叠连接,在抗 B 族链球菌抗体量子点标记垫 3 上压贴有样品垫 2。

[0051] 样品垫 2 覆盖在抗 B 族链球菌抗体量子点标记垫 1mm 左右,抗 B 族链球菌抗体量子点标记垫 3 覆盖在包被膜 4 约 1mm, B 族链球菌抗体检测区 T 线距离包被膜 3 左端 7mm,羊抗兔多克隆抗体质控区 C 线距离包被膜 4 右端 8mm,C、T 间距 5mm,吸水垫压在包被膜 2mm 处。

[0052] 本发明还提供的该 B 族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡的制备方法:

[0053] 其中:

[0054] 1) 样品垫的制备方法是:将样品垫裁成 20mm×300mm 的大小,浸泡在样品垫缓冲液

[0055] 中,1 小时之后取出,于室温干燥 16-18 小时。

[0056] 样品垫的缓冲液配方如下:2% BSA、1% PVP、0.5% Tween 溶解于 0.01 的 PBS(pH7.4) 缓冲液中。

[0057] 2) 抗 B 族链球菌抗体量子点标记垫的制备方法是:

[0058] ①用 10mM pH8.4 的硼酸缓冲液(2.5mM 硼砂:10mM 硼酸=4.5:5.5(V:V)) 将水性羧基量子点 8 μ M 的 QD525 稀释至 1 μ M;加入 30 μ L10mg/mL 的 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸溶液,室温反应 1~2 小时。用 30kDa 的超滤管超滤,除去未反应的 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸,吸取超滤管内剩余液体,加上上述缓冲液恢复为原体积。

[0059] ②将抗 B 族链球菌抗体加入 100kDa 的超滤管中,用 0.05M 的 pH8.4 的硼酸缓冲液将抗体浓度调整为 4mg/mL。

[0060] ③按 200 μ g/1mL 的量,将步骤②制备的抗体加入到步骤①量子点溶液中,室温反应 1~2 小时;

[0061] ④按 10 μ L/1mL 的量,向步骤③中加入甘氨酸,封闭未偶联抗体的活化羧基位点,反应 30~60min;

[0062] ⑤将偶联抗体的量子点溶液加入到 30kDa 的超滤管中,加入 pH9.0 浓度 0.05M Tris-HCl 溶液置换溶液缓冲体系。重复 3~5 次,恢复终体积为 100 μ L。

[0063] ⑥将步骤⑤中的在溶液 4 $^{\circ}$ C 1800g 离心取上清液;

[0064] ⑦在步骤⑥所得的上清液中加入 100 μ L 抗体保存液,所述的保存液为含 1wt% BSA,20wt% 蔗糖,10wt% 海藻糖,0.1wt% 吐温-20 和 0.1wt% 聚乙烯吡咯烷酮的 0.05M Tris-HCl 缓冲液。

[0065] ⑧将上述所得的溶液用喷金划膜仪喷至聚酯纤维素膜上,喷量为 1~5 μ L/cm(优选 2 μ L/cm),放入 37 $^{\circ}$ C 烘箱,干燥 2~5 小时。

[0066] 3) 包被膜的制备方法是:

[0067] ①包被

[0068] 检测线(T线):在硝酸纤维素膜上划线,在膜的一端用记号笔做好C线和T线的标记,C线和T线的距离为0.5cm,T线与硝酸纤维素膜下缘的距离为1cm,用0.01M的PBS(pH7.4)将B族链球菌抗体稀释到1.2mg/mL进行包被,划线浓度为 $1\mu\text{L}/\text{cm}$,速度 $100\text{mm}/\text{s}$ 。

[0069] 质控线(C线):用0.01M的PBS(pH7.4)将羊抗兔多克隆抗体稀释到1.5mg/mL进行包被,划线浓度为 $1\mu\text{L}/\text{cm}$,速度 $100\text{mm}/\text{s}$ 。

[0070] ②干燥

[0071] 放入 37°C 烘箱,干燥2~5小时。

[0072] B族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡的组装方法如下:

[0073] ①吸收垫的粘贴:将底板平铺于工作台上;轻轻揭开底板上吸收垫粘贴处的保护膜,将吸收垫粘附于其上,均匀、轻微滚动式推进,以加强粘合力,并防止产生气泡,吸收垫覆盖在硝酸纤维素膜上1mm。

[0074] ②抗B族链球菌抗体量子点标记垫:将抗B族链球菌抗体量子点标记垫裁为 $10\text{mm}\times$

[0075] 300mm ,轻轻揭开硝酸纤维素膜上缘抗B族链球菌抗体量子点标记垫粘贴处的保护膜,将抗B族链球菌抗体量子点标记垫粘附于其上,方法同吸收垫,抗B族链球菌抗体量子点标记垫覆盖在硝酸纤维素膜上1mm。

[0076] ③样品垫的粘贴:轻轻揭开薄板最上端的保护膜,将样品垫粘附于抗B族链球菌抗体量子点标记垫上部,方法同吸收垫。样品垫覆盖在抗B族链球菌抗体量子点标记垫上2mm。

[0077] ③试纸条切割:将粘贴好的底板切成4.0mm宽的试纸条。

[0078] ⑤装卡与入袋:将每一试纸条装入塑料卡内,将每一试剂卡置于铝膜袋中,并加入1g干燥剂1包,热合封口。

[0079] 该B族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡的具体使用方法:

[0080] 使用时除去外包装,取出试剂卡,取 $150\mu\text{L}$ 左右抽提过的B族链球菌加入样品孔中,由于毛细管作用样品将沿着试剂条向吸水垫端移动,当样品中有B族链球菌时,样品中的B族链球菌经过抽提液抽提后,可与抗B族链球菌多克隆抗体量子点标记探针发生特异结合,然后继续移动与包被在硝酸纤维素膜上的抗体结合,从而被抗B族链球菌的多克隆抗体识别,即发生双抗夹心的特异结合,用手持式紫外线灯照射观察窗口,检测线出现量子点荧光条带,从而通过检测样本中的B族链球菌,进行孕妇B族链球菌的早期筛查。

[0081] 结果判断:用手持式紫外线灯照射观察窗口,当质控线和检测线都有量子点荧光出现时,说明样品中B族链球菌的含量超过 $10^3\text{CFU}/\text{mL}$,为阳性;当只有质控线有量子点荧光而检测线无量子点荧光出现时,说明样品中B族链球菌的含量低于 $10^3\text{CFU}/\text{mL}$,为阴性,参阅图5、图6;质控线未出现量子点荧光,则代表操作有误或检测结果无效,需重复试验。

[0082] 为了更好的说明本发明的有益效果,下面给出采用本发明提供的检测试剂与传统的细菌培养检测法,PCR检测法,胶体金方法在检测B族链球菌时的结果对比实验。

[0083] 检测例1

[0084] 传统细菌培养具体步骤如下:将阴道棉拭子接种于绵羊血琼脂平板上,经14-18h培养后,用接种环取 β 溶血素滴加在圆形突起,细小的可疑为链球菌的单个菌落边缘,再

将平板进行孵育,分别在 30、45、60min 检查溶血变化情况。在滴加件溶血素的菌落边缘有协同产生“扇形”增强溶血区的为阳性反应,可鉴定为 B 群链球菌。不出现增强溶血现象的为阴性反应,判为非 B 群链球菌。每次检验时都要用已知阳性菌株作为对照试验。

[0085] PCR 方法具体检测方法:使用荧光定量 PCR 技术检测 B 族链球菌,以编码 C5a 肽酶的 scpB 基因为靶基因时灵敏度为 99.6%、特异度为 100%,灵敏度可以达到 10^2 CFU/mL。

[0086] 胶体金试剂条使用方法与本发明提供的方法基本相似,但是灵敏度较低。

[0087]

使用方法	所需设备	检测时间	灵敏度
传统的细菌培养	选择性培养基	24-48 小时	10^6 CFU/mL
PCR 方法	PCR 仪	6-8 小时	10^2 CFU/mL
胶体金试剂条	无	10-20 分钟	10^5 CFU/mL
本发明提供的方法	手持式紫外线灯	10-20 分钟	10^3 CFU/mL

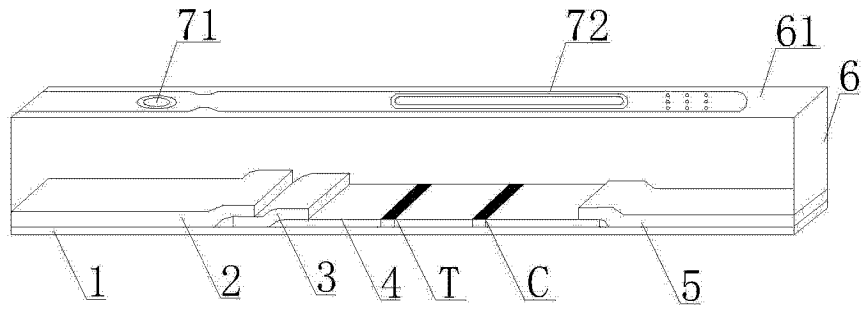


图 1

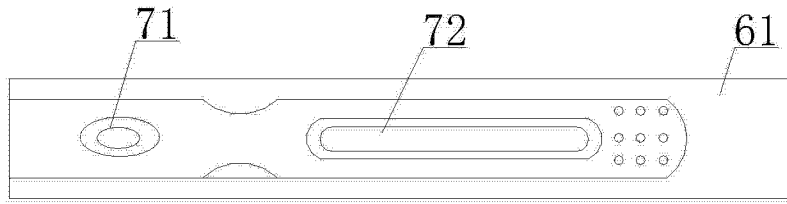


图 2

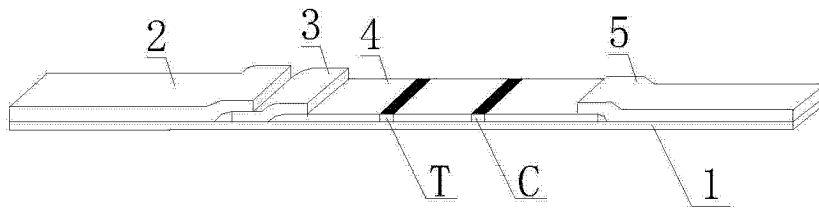


图 3

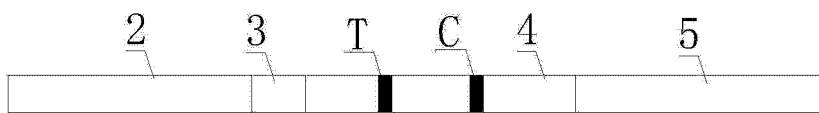


图 4



图 5

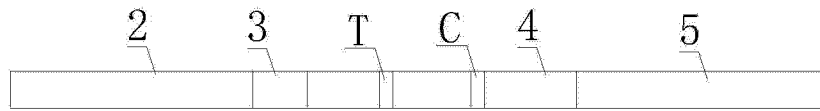


图 6

专利名称(译)	B族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡及其制备方法		
公开(公告)号	CN103926404A	公开(公告)日	2014-07-16
申请号	CN201410178962.6	申请日	2014-04-29
[标]申请(专利权)人(译)	广州市微米生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	广州市微米生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	广州市微米生物科技有限公司		
[标]发明人	汤永平 潘秀华 张晓丽		
发明人	汤永平 潘秀华 张晓丽		
IPC分类号	G01N33/569 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/54386 G01N33/56944 G01N2333/315		
代理人(译)	黄为		
其他公开文献	CN103926404B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种B族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡及其制备方法，旨在提供一种简便，灵敏度高，且检测结果可靠的B族链球菌量子点免疫层析检测试剂卡；该检测试剂卡包括带盒盖的盒体(6)，盒体(6)内设检测试纸，所述的检测试纸包括底板(1)，底板(1)上依次衔接有样品垫(2)、抗B族链球菌抗体量子点标记垫(3)、包被膜(4)和吸水垫(5)，所述的包被膜(4)上设有一条B族链球菌抗体检测区T线和一条羊抗兔多克隆抗体质控区C线，两条线平行排列；属于荧光量子点标记免疫检测领域。

