



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102879563 A

(43) 申请公布日 2013. 01. 16

(21) 申请号 201210401889. 5

(22) 申请日 2012. 10. 19

(71) 申请人 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所

地址 200025 上海市卢湾区瑞金二路 207 号

(72) 发明人 周洋 陈家旭 石锋 蔡玉春

(74) 专利代理机构 上海世贸专利代理有限责任公司 31128

代理人 严新德

(51) Int. Cl.

G01N 33/558 (2006. 01)

G01N 33/531 (2006. 01)

G01N 33/544 (2006. 01)

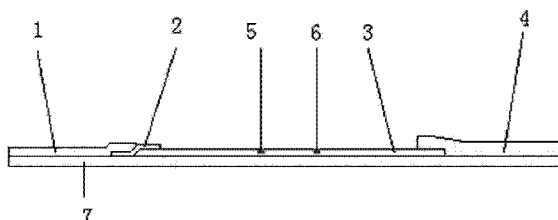
权利要求书 2 页 说明书 6 页 附图 1 页

(54) 发明名称

一种检测异尖线虫病的免疫层析试条及其制备方法

(57) 摘要

一种检测异尖线虫病的免疫层析试条, 包括一个样品垫和一个纤维素膜, 样品垫和纤维素膜之间设置有一个含有胶体金标记探针的金标垫, 金标垫、样品垫分别和一个纤维素膜紧密连接, 在纤维素膜的远离金标垫的一端设置有一个吸水垫, 吸水垫和纤维素膜紧密连接, 纤维素膜上远离金标垫的一端设置有一个质控线, 在质控线和金标垫之间的纤维素膜上设置一个检测线, 检测线有异尖线虫病的天然抗原组成, 质控线由特异性结合胶体金标记探针的抗体组成。本发明还提供了上述试纸条的制备方法, 本发明的免疫层析试纸条具有简便性、敏感性、特异性和快速性的优点, 适于临床和现场使用。



1. 一种用免疫学方法检测异尖线虫病的试剂,其特征在于:包括以下组份:

(1) 异尖线虫病的天然抗原(2) 抗人或抗哺乳动物 IgG 的探针;

其中,异尖线虫病的天然抗原按如下方法制备:将活的异尖线虫III期幼虫,用生理盐水洗净后,用滤纸吸取虫体水分,倒入匀浆器中加入缓冲液后搅碎,反复冻融,冰浴超声粉碎后,0-6℃离心,取上清即为异尖线虫病天然抗原。

2. 如权利要求1所述的用免疫学方法检测异尖线虫病的试剂,其特征在于:所述的抗人或抗哺乳动物 IgG 探针是用人或哺乳动物 IgG 免疫鼠、兔、或者羊获得的多抗或单克隆抗体。

3. 如权利要求1所述的用免疫学方法检测异尖线虫病的试剂,其特征在于:所述的抗人或抗哺乳动物 IgG 探针是鼠抗人 IgG 的单克隆抗体、或者金黄色葡萄球菌 A 蛋白(SPA)、或者链球菌 G 蛋白(SPG)、或者是标记的鼠抗人 IgG 的单克隆抗体、或者是标记的金黄色葡萄球菌 A 蛋白(SPA)、或者标记的链球菌 G 蛋白(SPG)。

4. 如权利要求3所述的用免疫学方法检测异尖线虫病的试剂,其特征在于:所述的标记为胶体金、染料或者乳胶标记。

5. 一种检测异尖线虫病的免疫层析试纸条,其特征在于:包括一个样品垫和一个纤维素膜,所述的样品垫和所述的纤维素膜之间设置有一个含有胶体金标记探针的金标垫,所述的金标垫、所述的样品垫分别和一个纤维素膜紧密连接,在所述的纤维素膜的远离金标垫的一端设置有一个吸水垫,所述的吸水垫和所述的纤维素膜紧密连接,所述纤维素膜上远离金标垫的一端设置有一个质控线,在质控线和金标垫之间的纤维素膜上设置一个检测线,所述的检测线有异尖线虫病的天然抗原组成,所述的质控线由特异性结合胶体金标记探针的抗体组成。

6. 如权利要求5所述的检测异尖线虫病的免疫层析试纸条,其特征在于:所述的胶体金标记探针为用人或哺乳动物 IgG 免疫鼠、兔、或者羊获得的多抗或单克隆抗体。

7. 如权利要求5所述的检测异尖线虫病的免疫层析试纸条,其特征在于:所述标记探针为金黄色葡萄球菌 A 蛋白(SPA),或者链球菌 G 蛋白(SPG)。

8. 如权利要求5所述的检测异尖线虫病的免疫层析试纸条,其特征在于:所述的质控线中的抗体为鸡抗 SPG 的 IgY 抗体。

9. 如权利要求5所述的检测异尖线虫病的免疫层析试纸条,其特征在于:所述的异尖线虫病的天然抗原为异尖线虫III期幼虫提取的粗抗原,其蛋白浓度为 1~10mg/mL,喷涂量为 10 μ L /cm²;胶体金标记探针浓度(以蛋白浓度计):1~5mg/15~20mL;鸡抗 SPG 的 IgY 抗体溶液浓度为 0.1~5mg/mL,喷涂量为 10 μ L /cm²。

10. 如权利要求5所述的检测异尖线虫病的免疫层析试纸条,其特征在于:所述的纤维素膜选自硝酸纤维素膜或醋酸纤维素膜;所述的金标垫选自玻璃纤维膜或聚脂膜;所述样品垫选自滤血膜、玻璃纤维或吸水纸,其中滤血膜是棉籽绒和纤维素的混合物或者玻璃纤维和纤维素混合物,所述吸水垫为吸水纸。

11. 如权利要求5所述的检测异尖线虫病的免疫层析试纸条,其特征在于:所述的纤维素膜、样品垫、金标垫、吸水垫设置在一个起支撑作用的背板上。

12. 如权利要求11所述的检测异尖线虫病的免疫层析试纸条,其特征在于:所述带有背板的免疫层析试纸条设置在一个检测盒体中,所述的盒体的对应于滤血膜样品垫的部位

设有检测孔,对应于检测线和质控线的部位设有观测窗。

13. 一种制备如权利要求 5 所述的检测异尖线虫病的免疫层析试纸条的方法,其特征在于:包括以下步骤:

(1) 制备异尖线虫的天然抗原,将将来源于异尖线虫III期幼虫提取的粗抗原蛋白浓度调整到 $1\sim 10\text{ mg/mL}$;制备胶体金标记探针,将 $1\sim 5\text{mg}$ 以链球菌 G 蛋白 (SPG) 为抗原免疫动物获得的抗体加入 100mL 胶体金溶液,离心去沉淀,复溶到 $15\sim 20\text{mL}$;

(2) 制备与胶体金标记探针特异结合的抗体,将溶液浓度调整到 $0.1\sim 5\text{mg/mL}$;

(3) 将异尖线虫的天然抗原溶液喷到所述纤维素膜上形成检测线,将能与胶体金标记探针特征结合的抗体溶液喷到所述纤维素膜的另一区域形成质控线;

(4) 将玻璃纤维膜或聚脂膜浸入胶体金标记探针溶液,制备金标垫;

(5) 将吸水垫粘贴在所述纤维素膜的远离检测线的一端,将金标垫的一端粘贴在纤维素膜的靠近检测线的一端,将样品垫粘贴于金标垫的另外一端,得到异尖线虫病的免疫层析试纸条。

14. 如权利要求 13 所述的检测异尖线虫病的免疫层析试纸条的制备方法,其特征在于:纤维素膜在喷有检测线、质控线后,在 $30\sim 40^{\circ}\text{C}$ 下干燥 $0.5\sim 2$ 小时,再粘贴吸水垫。

15. 如权利要求 13 所述的检测异尖线虫病的免疫层析试纸条的制备方法,其特征在于:在胶体金标记探针溶液中添加 $2\%\sim 10\%$ 的蔗糖。

16. 如权利要求 13 所述的检测异尖线虫病的免疫层析试纸条的制备方法,其特征在于:将金标垫在 $30\sim 40^{\circ}\text{C}$ 下干燥 0.5 小时,再与纤维素膜粘贴。

一种检测异尖线虫病的免疫层析试条及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及生物学领域,尤其涉及寄生虫疾病的检测技术,特别是一种检测异尖线虫病的免疫层析试条及其制备方法。

背景技术

[0002] 异尖线虫病(anisakiasis),是人食用生的或未煮熟的含异尖线虫Ⅲ期幼虫的海鱼所导致的一种食源性寄生虫病。主要致病的虫种为简单异尖线虫(*Anisakis simplex*)和派氏异尖线虫(*Anisakis pegreffii*)。异尖线虫的成虫和幼虫形态不同,海鱼为异尖线虫Ⅲ期幼虫的第二中间宿主,故食用了含异尖线虫Ⅲ期幼虫的生海鱼,可导致异尖线虫病。

[0003] 20 世纪 60 年代首次报道人异尖线虫病以来,已在全球五大洲均有病例报告,其中大多数病例是来自日本、西班牙等有食生鱼习惯的国家。日本每年有 2000 例异尖线虫病报道,美国每年报道 50 例,欧洲每年报告 500 例。我国已于 1993 年将水生动物异尖线虫病列入了《中华人民共和国禁止进境的动物传染病、寄生虫病名录》。根据阮廷清对 1982-2006 年我国海鱼异尖线虫专项调查报告的数据进行统计分析显示,海鱼类总的感染率为 47.10%,在沿海省市(如辽宁、河北、山东、上海、浙江、福建、广东、海南等)和岛屿均有调查和发现异尖线虫。且已从缅甸进口的带鱼、从印度尼西亚、加拿大和泰国进口的 11 种海鱼中发现了异尖线虫Ⅲ期幼虫。随着人们生食海鱼习惯的流行,异尖线虫病会有逐年增加的趋势。

[0004] 目前临床上确诊异尖线虫病的主要方法仍是通过纤维内窥镜检查在胃内是否存在虫体。在临床上对呕吐、恶心、上腹部疼痛等不典型的异尖线虫病症状的确诊存在困难。故提高现有的检测水平,研制合适的检测异尖线虫病的方法十分必要。

[0005] 对异尖线虫病诊断方法有病原学方法、分子生物学方法和免疫学方法。形态学上只能鉴定幼虫分型,即异尖线虫 I 型幼虫和异尖线虫 II 型幼虫。且若虫体有损坏或者缺少关键鉴定特征,则形态学上就很难区分虫种。分子生物学方面即利用等位酶分析、线粒体 DNAcox2 基因、核糖体 RNA 基因序列、核糖体 DNA 基因序列、多重 PCR 分析来鉴定虫种,虽说其精确性较高,但其花费大、检查时间长、技术专业性等因素限制了其广泛使用,且不适合在需要快速准确鉴定虫种的现场调查中使用。

[0006] 免疫学方法在异尖线虫病诊断上的应用越来越受到重视,最有效的免疫学诊断方法是应用纯化天然抗原或重组抗原检测异尖线虫病人特异性 IgE 抗体,常用的方法主要有酶联免疫吸附法(ELISA)、免疫印迹法(Western blot)。但这些方法费时费力、或对仪器设备及操作人员要求较高、或不适合于快速检测、或交叉反应严重。

发明内容

[0007] 本发明的目的提供一种检测异尖线虫病的免疫层析试纸条及其制备方法,所述的这种检测异尖线虫病的免疫层析试纸条及其制备方法要解决现有技术中检测异尖线虫病的方法费时、费力,可靠性低的技术问题。

[0008] 本发明提供了一种用免疫学方法检测异尖线虫病的试剂,包括:(1)异尖线虫病的天然抗原,(2)抗人或抗哺乳动物 IgG 的探针;

[0009] 其中,异尖线虫病天然抗原按如下方法制备:将活的异尖线虫 III 期幼虫,用生理盐水洗净后,用滤纸吸取虫体水分,倒入玻璃匀浆器中加入缓冲液后手动搅碎,反复冻融,冰浴超声粉碎后,0-6℃ 离心,取上清即为异尖线虫病天然抗原。

[0010] 其中,抗人或抗哺乳动物 IgG 探针是利用人或哺乳动物 IgG 免疫鼠、兔、羊或者其他动物获得多抗或单克隆抗体。

[0011] 进一步的,所述的抗人或抗哺乳动物 IgG 探针还可以是金黄色葡萄球菌 A 蛋白(SPA)、或者链球菌 G 蛋白(SPG)、或者是标记的金黄色葡萄球菌 A 蛋白(SPA)、或者标记的链球菌 G 蛋白(SPG)。

[0012] 具体的,所述的标记为胶体金、染料或者乳胶。

[0013] 本发明还提供了一种检测异尖线虫病的免疫层析试纸条,包括一个样品垫和一个纤维素膜,所述的样品垫和所述的纤维素膜之间设置有一个含有胶体金标记探针的金标垫,所述的金标垫、所述的样品垫分别和一个纤维素膜紧密连接,在所述的纤维素膜的远离金标垫的一端设置有一个吸水垫,所述的吸水垫和所述的纤维素膜紧密连接,所述纤维素膜上远离金标垫的一端设置质控线,在质控线和金标垫之间的纤维素膜上设置一条检测线,所述的检测线有异尖线虫病的天然抗原组成,所述的质控线由特异性结合胶体金标记探针的抗体组成。

[0014] 进一步的,所述的胶体金标记探针为利用人或哺乳动物 IgG 免疫鼠、兔、羊或者其他动物获得的多抗或单克隆抗体。

[0015] 进一步的,所述标记探针为金黄色葡萄球菌 A 蛋白(SPA),或者链球菌 G 蛋白(SPG);

[0016] 进一步的,所述的质控线中的抗体为鸡抗 SPG 的 IgY 抗体。

[0017] 在一个优选方案中,所述的异尖线虫病的天然抗原为异尖线虫 III 期幼虫提取的粗抗原,其蛋白浓度为 1~10mg/mL,喷涂量为 10 μ L/cm²;胶体金标记探针浓度(以蛋白浓度计):1~5mg/15~20mL;鸡抗 SPG 的 IgY 抗体溶液浓度为 0.1~5mg/mL,喷涂量为 10 μ L/cm²。

[0018] 所述支持检测线和质控线的纤维素膜为硝酸纤维素膜(NC 膜)或醋酸纤维素膜;所述支持胶体金标记抗体的金标垫为玻璃纤维膜或聚脂膜;所述样品垫可以是滤血膜样品垫,所述的滤血膜是棉籽绒和纤维素的混合物或者玻璃纤维和纤维素的混合物,适合于全血样品;所述样品垫也可以是玻璃纤维或吸水纸样品垫,适合于血清样品;所述吸水垫由吸水材料制备,如吸水纸。

[0019] 所述的纤维素膜的宽度为 2.5~3.0mm;吸水垫宽度为 20~40mm,厚度为 0.1~0.2mm;金标垫的宽度为 5~10mm;样品垫宽度为 20~40mm。

[0020] 具体的,所述免疫层析试纸条背面设置一个起支撑作用的背板,背板材料的选择是多种多样的,可以是塑料板,如聚氯乙烯板(PVC)等。

[0021] 本发明的一个优选的方案是:将所述带有背板的免疫层析试纸条装入一个检测盒体中,所述的检测盒体的对应于滤血膜样品垫的部位设有检测孔,对应于检测线和质控线的部位设有观测窗。检测样品时将全血或血清加入检测孔中。

[0022] 本发明还提供了一种制备上述检测异尖线虫病的免疫层析纸条的方法,包括以下

步骤：

[0023] (1) 制备异尖线虫的天然抗原,将将来源于异尖线虫Ⅲ期幼虫提取的粗抗原蛋白浓度调整到 1~10mg/mL;制备胶体金标记探针,将 1~5mg 以链球菌 G 蛋白(SPG)为抗原免疫动物获得的抗体加入 100mL 胶体金溶液,离心去沉淀,复溶到 15~20mL;

[0024] (2) 制备与胶体金标记探针特异结合的抗体,将溶液浓度调整到 0.1~5mg/mL;

[0025] (3) 将异尖线虫的天然抗原溶液喷到所述纤维素膜上形成检测线,将能与胶体金标记探针特征结合的抗体溶液喷到所述纤维素膜的另一区域形成质控线;

[0026] (4) 将玻璃纤维膜或聚脂膜浸入胶体金标记探针溶液,制备金标垫;

[0027] (5) 将吸水垫粘贴在所述纤维素膜的远离检测线的一端,将金标垫的一端粘贴在纤维素膜的靠近检测线的一端,将样品垫粘贴于金标垫的另外一端,得到异尖线虫病的免疫层析试纸条。

[0028] 在一个优选的方案中,上述纤维素膜在喷有检测线、质控线后,在 30~40℃下干燥 0.5~2 小时,再粘贴吸水垫。

[0029] 在一个优选的方案中,为使胶体金标记探针溶液与玻璃纤维膜或聚脂膜更好地结合,可向胶体金标记探针溶液中添加 2%~10% 的蔗糖;为使金标垫更易于纤维素膜粘贴,可将金标垫在 30~40℃下干燥 0.5 小时,再与纤维素膜粘贴。

[0030] 异尖线虫病患者体内血液中含有能特异性结合所感染的异尖线虫Ⅲ期幼虫抗原的抗异尖线虫Ⅲ期幼虫的抗体,通过检测受试者体内血液中是否含有抗异尖线虫Ⅲ期幼虫的抗体,可作为辅助诊断受试者是否患有异尖线虫病的指标。

[0031] 本发明的检测异尖线虫病的免疫层析试纸条适用于从异尖线虫病患者体内抽取的全血样品和血清样品。对于全血样品,本发明的检测异尖线虫病的免疫层析试纸条中的样品垫采用滤血膜样品垫;对于血清样品,本发明的检测异尖线虫病的免疫层析试纸条中的样品垫可采用玻璃纤维或吸水纸样品垫。

[0032] 本发明将异尖线虫Ⅲ期幼虫抗原固定在纤维素膜等支持物上作为固相抗原,用以捕获受试者血样中的抗异尖线虫Ⅲ期幼虫抗体。异尖线虫病患者体内血液中含有的抗异尖线虫Ⅲ期幼虫抗体的优势抗体类型为 IgG。胶体金标记探针采用链球菌 G 蛋白(SPG)制备,该链球菌 G 蛋白(SPG)可以是购买的商品化产品,或按照常规方法自行制备。该胶体金标记探针附着于金标垫上。检测过程中,复溶的胶体金标记探针可与受试者血样中的人 IgG 抗体结合,从而当受试者血样中存在异尖线虫病特异性抗体时在检测线位置形成色带。

[0033] 本发明将与胶体金标记探针特异性结合的抗体固定在纤维素膜上作为质控线。无论待检样品中是否含有抗异尖线虫Ⅲ期幼虫抗体,本发明的检测异尖线虫病的免疫层析试纸条中质控线位置总能形成色带,该条色带是判定检测过程是否正常和免疫层析试纸条是否变质的标准。质控线不限于鸡抗 SPG 的 IgY 抗体,只要能与选定的胶体金标记探针特异性结合,同样能实现本发明的发明目的,知识领域的一般技术人员都知晓的。

[0034] 本发明的免疫层析试纸条具有以下优点:(1) 敏感性和特异性高:实验室考核结果显示,本发明的免疫层析试纸条总的敏感性可达 100%,特异性可达 99.4%。(2) 检测方法简单、快速;检测过程中标本处理简单,血清或全血都可以直接使用,无需处理,不需要专门仪器和人员培训,非专业技术人员按照说明书即可操作,并可迅速观察结果,标本中的抗体经 5 分钟左右的纸层析后,即可出现肉眼可见的沉淀线,可便于及时诊断,及时治疗异尖线

虫病,适用于临床和现场使用;(3)制备方法简单,成本低廉,易于进行商业化生产。本发明将在异尖线虫病的检测及其相关疾病的诊断和治疗中发挥重要作用,应用前景广阔。

附图说明

[0035] 图1是本发明的检测异尖线虫病的免疫层析试纸条的纵截面结构示意图。

[0036] 图2是本发明的检测异尖线虫病的免疫层析试纸条的俯视结构示意图。

[0037] 其中:1为样品垫;2为金标垫;3为纤维素膜;4为吸水垫;5为检测线;6为质控线;7为背板。

[0038] 以下结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中所用方法如无特别说明均为常规方法;所述百分含量如无特别说明均为质量/体积百分含量或体积/体积百分含量。

具体实施方式

[0039] 实施例1 检测异尖线虫病的免疫层析试纸条的制备

[0040] 1、针对异尖线虫病的天然抗原的制备

[0041] 从带鱼体内找到活的异尖线虫III期幼虫,用0.9%的生理盐水洗净后,用滤纸吸取虫体水分,倒入玻璃匀浆器中加入适量PBS缓冲液后手动搅碎,反复冻融3天,每天3次,冰浴超声粉碎3次,7000r/min 4℃低温离心30min,取上清,收集分装即为粗抗原。

[0042] 2、制备免疫胶体金探针及金标垫

[0043] 用下述方法制备链球菌G蛋白(SPG)标记的免疫胶体金探针及金标垫;

[0044] 1) 采用柠檬酸盐还原法制备胶体金颗粒,具体方法为,将HAuCl₄ (沪试牌购于上海国药集团化学试剂有限公司)配制成0.01%水溶液,取100mL加热至沸腾,搅动下准确加入1.6mL的1%的柠檬酸三钠水溶液,待液体颜色稳定成葡萄酒红色,得到胶体金溶液。

[0045] 2) 确定胶体金偶联探针饱和浓度

[0046] 用0.2M K₂CO₃调节步骤1)制备的胶体金溶液的pH值至6.0,准备5支洁净试管,分别加入1mL胶体金溶液。将步骤1)链球菌G蛋白(SPG)抗体稀释为0.5mg/mL,分别向4支试管中加入20μL、25μL、30μL、35μL,另一支为空白对照,混匀后于室温下放置5分钟,加入10%NaCl水溶液,混匀,静置10-20分钟后观察液体颜色。胶体金溶液颜色不变时所含量少蛋白量即为稳定1mL胶体金溶液所需抗体的最适浓度,以此为基础增加20%抗体量即为胶体金偶联探针饱和溶液。结果:维持胶体金溶液颜色不变的蛋白量为30μL,即偶联探针浓度为15μg/mL。

[0047] 3) 链球菌G蛋白(SPG)标记的免疫胶体金探针及金标垫的制备;

[0048] 取50mL胶体金溶液,用0.2M K₂CO₃调节pH值为6,按15μg/mL加入链球菌G蛋白(SPG),得到含有浓度为15μg/mL链球菌G蛋白(SPG)的免疫胶体金探针溶液50mL,搅拌1小时,再加入终浓度为0.05%PEG20000,搅拌1小时,10000rpm离心30分钟,弃上清,用20mM硼酸缓冲液洗涤沉淀,并将其保存于10mL含5%蔗糖的20mM硼酸缓冲液中,得到链球菌G蛋白(SPG)标记的胶体金探针溶液。取5mL链球菌G蛋白(SPG)标记胶体金探针溶液均匀加在玻璃纤维膜上,37℃下干燥0.5小时,得到金标垫。

[0049] 3、检测异尖线虫病的免疫层析试纸条的制备

[0050] 该试纸条的制备方法包括以下步骤：

[0051] 1) NC 膜的包被

[0052] 异尖线虫 III 期幼虫抗原包被：用 0.01M pH7.2PBS 稀释上述制备的异尖线虫 III 期幼虫抗原至终浓度为 2mg/mL，用于包被检测线；

[0053] 质控抗体鸡抗 SPG 的 IgY 抗体的包被：用 0.01M pH7.2PBS 稀释鸡抗 SPG 的 IgY 抗体至终浓度为 0.5mg/mL，用于包被质控线；

[0054] BIODOT 公司 XZ1000 喷膜机将分别喷于 300mm 长、25mm 宽的硝酸纤维素膜(购自 MILLIPORE 公司)上，喷涂量为 $10 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ ，形成一条检测线和一条质控线，37℃ 下干燥 1 小时。

[0055] 2) 检测异尖线虫病的免疫层析试纸条的制备

[0056] 用一块单面涂了不干胶的 PVC 背板，中间粘贴上处理好的 NC 膜；NC 膜靠近质控线的一端紧密粘贴吸水垫(购于 MILLIPORE 公司)；NC 膜靠近检测线的一端紧密粘贴金标探针垫；金标探针垫远离检测线的一端紧密连接粘贴滤血膜样品垫(购自 WHATMAN 公司)。得到检测异尖线虫病的免疫层析试纸条，可按所需大小进行切割，加干燥剂后密封保存。

[0057] 4、检测异尖线虫病的免疫层析试剂盒的制备

[0058] 为了方便使用，将步骤 3 制备的检测异尖线虫病的免疫层析试纸条装入一个检测盒体中，加干燥剂后密封保存。该检测盒体对应于样品垫的部位设有点样孔，对应于检测线和质控线的部位设有观测窗。

[0059] 实施例 2、检测异尖线虫病的免疫层析试纸条的实验室考核

[0060] 1、检测方法

[0061] 与实施例 1 制备的免疫层析试纸条的滤血膜样品垫加入待测血清，1 分钟后加入样品稀释液(PBS) 1 滴(约 $50 \mu\text{L}$)，2 分钟后开始观察结果，15 分钟观察终止。

[0062] 检测原理与结果判断：

[0063] 测定时将样本血清或全血加在滤血膜样品垫 1 上，1 分钟后滴一滴(约 50uL) 样本稀释液，稀释液带动样品按样品垫 1、金标垫 2、硝酸纤维素膜 3、吸水垫 4 的方向移动，流经金标垫 2 时使金标垫 2 上的胶体金标记探针复溶，并带动其向硝酸纤维素膜 3、吸水垫 4 移动。胶体金标记探针(本发明实施例为链球菌 G 蛋白(SPG)) 可与样品中有待测抗体结合，形成免疫复合物。此免疫复合物流至检测线 5 时，若标本中有待测抗体(抗异尖线虫病抗原的抗体)，即被检测线 5 的特异性固相抗原所捕获，在硝酸纤维素膜 3 上的检测线 5 位置显出红色检测线条；次免疫复合物流经质控线 6 时，即被质控线 6 的固相抗体(鸡抗 SPG 的 IgY 抗体)所捕获，在硝酸纤维素膜 3 上的质控线 6 位置显出红色质控线条。

[0064] 结果判定：如果检测线 5 和质控线 6 均出现红色条带，即判断为异尖线虫病。如果仅有质控线 6 出现红色条带，即判为阴性。

[0065] 2、实验结果

[0066] 用本发明实施例 1 制备的检测异尖线虫病的免疫层析试纸条进行实验室考核结果如表 1 所示。由表 2 可以看出本发明的免疫层析试纸条的敏感性可达 100%，特异性可达 99.4%。上述检测结果表明本发明的免疫层析试纸条可用于异尖线虫病的快速检测。

[0067] 表 1 本发明检测异尖线虫病的免疫层析试纸条的实验室考核结果

[0068]

血清来源	试验例数	阳性例数(P%)
阳性兔血清	5	100 (100%)
阳性鼠血清	10	100 (100%)
血吸虫病	20	0
肺吸虫病	20	0
旋毛虫病	20	0
肝吸虫病	20	1 (5%)
弓形虫病	10	0
蛔虫病	10	0
钩虫病	10	0
鞭虫病	10	0
正常人	50	0

[0069] 用本发明实施例 2 制备的检测异尖线虫病的免疫层析试纸条进行实验室考核, 结果与表 1 所示结果没有统计学差异。

[0070] 本发明的范围不受所述具体实施方案的限制, 所述实施方案只作为阐明本发明各个方面的单个例子, 本发明范围内还包括功能等同的方法和组分。实际上, 除了本文所述的内容外, 本领域技术人员参照上文的描述和附图可以容易的掌握对本发明的多种改进, 所述改进也落入所附权利要求书的范围之内。

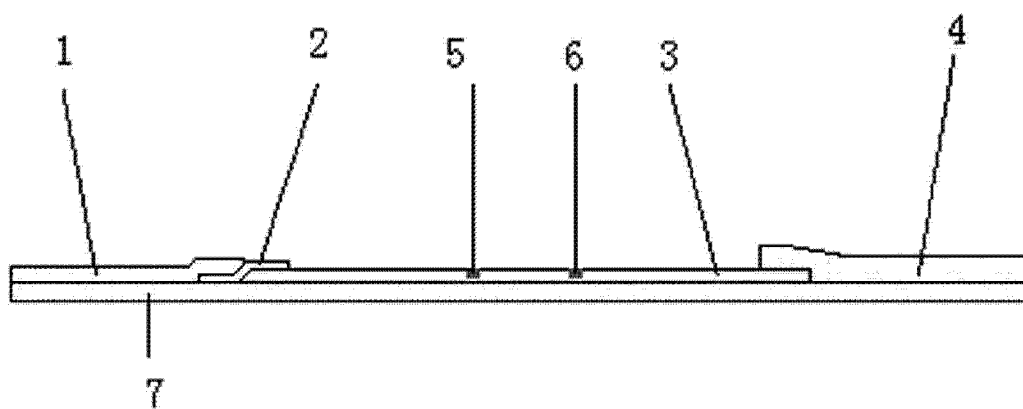


图 1

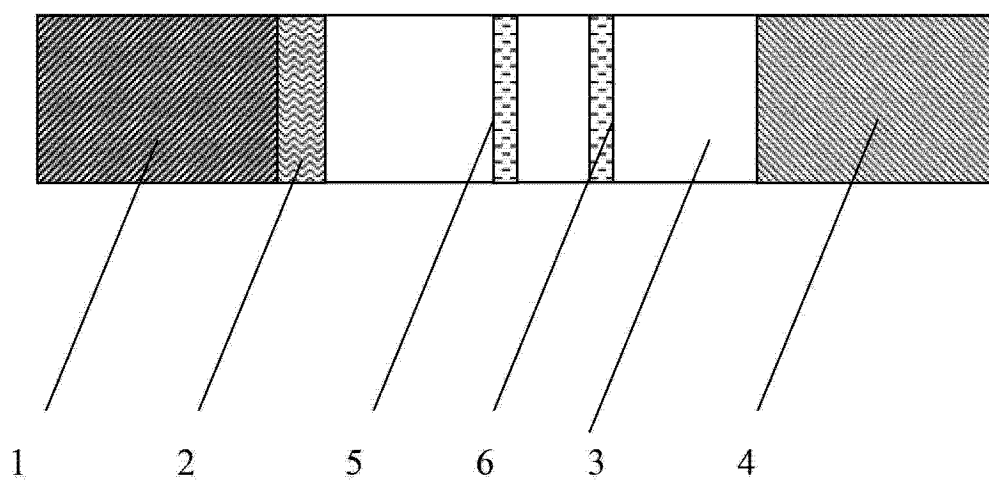


图 2

专利名称(译)	一种检测异尖线虫病的免疫层析试条及其制备方法		
公开(公告)号	CN102879563A	公开(公告)日	2013-01-16
申请号	CN201210401889.5	申请日	2012-10-19
[标]申请(专利权)人(译)	中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所		
申请(专利权)人(译)	中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所		
当前申请(专利权)人(译)	中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所		
[标]发明人	周洋 陈家旭 石锋 蔡玉春		
发明人	周洋 陈家旭 石锋 蔡玉春		
IPC分类号	G01N33/558 G01N33/531 G01N33/544		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种检测异尖线虫病的免疫层析试条，包括一个样品垫和一个纤维素膜，样品垫和纤维素膜之间设置有一个含有胶体金标记探针的金标垫，金标垫、样品垫分别和一个纤维素膜紧密连接，在纤维素膜的远离金标垫的一端设置有一个吸水垫，吸水垫和纤维素膜紧密连接，纤维素膜上远离金标垫的一端设置有一个质控线，在质控线和金标垫之间的纤维素膜上设置一个检测线，检测线有异尖线虫病的天然抗原组成，质控线由特异性结合胶体金标记探针的抗体组成。本发明还提供了上述试纸条的制备方法，本发明的免疫层析试纸条具有简便性、敏感性、特异性和快速性的优点，适于临床和现场使用。

