

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

G01N 33/53

G01N 33/535 G01N 33/547



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 00128713.3

[45] 授权公告日 2004 年 8 月 11 日

[11] 授权公告号 CN 1161610C

[22] 申请日 2000.9.8 [21] 申请号 00128713.3

[71] 专利权人 新疆维吾尔自治区地方病防治研究所

地址 830002 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市碱泉一街4号

[72] 发明人 焦伟 柴君杰

审查员 胡玉连

[74] 专利代理机构 乌鲁木齐合纵专利事务所

代理人 汤建武

权利要求书 1 页 说明书 2 页

[54] 发明名称 犬粪抗原检测酶联免疫吸附试剂盒

[57] 摘要

本发明的犬粪抗原检测酶联免疫吸附试剂盒，涉及防治牲畜寄生虫病传染源的治理领域，特别是防治牲畜包虫病的检测器具，本发明提出一种犬粪抗原检测酶联免疫吸附试剂盒，该产品是通过应用 ELISA 试验检测犬粪中棘球绦虫成虫虫体抗原和排泄分泌抗原的微量诊断方法，用于检测感染棘球绦虫的家犬粪抗原具有足够高的灵敏性和特异性，诊断犬棘球绦虫感染取得成功，并经多次改进，现已制成具体有效的检测成品，即犬粪抗原检测酶联免疫吸附试剂盒，为包虫病的预防和检测工作提供了准确简便有效的检测器具。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种犬粪抗原检测酶联免疫试剂盒，该试剂盒内的成分有：用抗体包被了的微孔反应板 1 块；牛血清 3ml×1 瓶；酶标记抗体 3.2ml×1 瓶；阳性对照 1ml×1 瓶；阴性对照 1ml×1 瓶；浓缩 25 倍的洗涤液 30ml×1 瓶；显色剂 A4ml×1 瓶；显色剂 B4ml×1 瓶；终止液 3.5ml×1 瓶；封板片 3 片；犬粪标本保存液 1 瓶；其特征是包被微孔反应板的抗体是由两种抗体组成的，其中抗体 I 是用细粒棘球绦虫成虫虫体提取的抗原免疫家兔得到的抗体，抗体 II 是用从细粒棘球绦虫成虫培养液中提取的排泄分泌抗原免疫家兔得到的抗体。

犬粪抗原检测酶联免疫吸附试剂盒

技术领域

本发明的犬粪抗原检测酶联免疫吸附试剂盒，涉及防治牲畜寄生虫病传染源的治理领域，特别是防治牲畜包虫病的检测器具。

技术背景

感染棘球绦虫的家犬是包虫病的传染源，确定家犬是否感染棘球绦虫是包虫病预防措施的重要组成部分，也是进行包虫病检测和预防效果考核的基本指标，国际传统的方法是用槟榔碱给犬灌服法，但这种方法工作量大，费时、费力、费人、风险较多，且有 20% 的犬对槟榔碱无反应，即使在反应犬中也不能完全驱出棘球绦虫，因此，国外早就开始寻求新的简便有效的方法，利用免疫学方法检测犬粪中的棘球绦虫抗原是最受重视的方法，英、瑞士的学者取得过较好的成绩，但尚未有具体有效的检测成品器具试制成功。

发明内容

本发明的目的是提出一种犬粪抗原检测酶联免疫吸附试剂盒。该产品是通过应用 ELISA 试验检测犬粪中棘球绦虫成虫虫体抗原和排泄分泌抗原的微量诊断方法，犬棘球绦虫感染取得成功并经多次改进，现已制成具体有效的检测成品，即犬粪抗原检测酶联免疫吸附试剂盒，为包虫病的预防和检测工作提供了准确简便的检测器具。

应用 ELISA 试验检测犬粪中棘球绦虫成虫虫体抗原和排泄分泌抗原的微量诊断方法的主要技术方案：

1. 棘球绦虫成虫虫体 → 提取抗原 → 免疫家兔 → 从血清中提取 IgG → 亲和层析法纯化 IgG 作为诊断抗体 I。
2. 棘球绦虫成虫 → 人工培养 → 收取培养液 → 提取排泄分泌抗原 → 免疫家兔 → 从血清中提取 IgG → 亲和层析法纯化 IgG 作为诊断抗体 II。
3. 将诊断抗体 I 和诊断抗体 II 用辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶标记做为诊断的第二抗体，（指示抗体或标记抗体）
4. 用抗体 I 和抗体 II 包被酶标板，加待检犬粪标本，加标记抗体，加底物显示试验结果 == 双抗体夹心酶联免疫吸附试验。

具体实施方式

应用 ELISA 试验检测犬粪中棘球绦虫成虫虫体抗原和排泄分泌抗原的微量诊断方法的实施方案：

1. 试剂盒成份：

- | | |
|----------|----------------|
| a. 小牛血清 | 3ml×1 瓶 |
| b. 微孔反应板 | 8 孔×6 或 12 孔×4 |
| c. 酶结合抗体 | 3.2 ml×1 瓶 |
| d. 阳性对照 | 1ml×1 瓶 |

- e. 阴性对照 1ml×1 瓶
- f. 洗涤液() 30ml×1 瓶
- g. 显色剂 A 4ml×1 瓶
- h. 显色剂 B 4ml×1 瓶
- l. 终止液 3.5ml×1 瓶
- m. 封板片 3 片
- n. 犬粪标本保存液

2. 实施操作方法:

- a. 取待检犬粪 2g 放入含 2ml 保存液的试管中,充分混合后,离心 2500rpm 10 分钟。
- b. 孔中加入小牛血清和待检犬粪标本各一滴,设阴\阳性对照各 2 孔,每孔加入阴性对照或阳性对照各 2 滴,在 37℃温度下封板 1 小时。
- c. 洗板甩去孔内液体,注入洗液,放 10 秒钟,甩干,重复 4 次,拍干。
- d. 每孔加酶结合抗体 1 滴,在 37℃温度下封板 1 小时。
- e. 洗板同前。
- f. 加显色剂 A 、显色剂 B 各 1 滴,在 37℃温度下停放 20 分钟,每孔加终止液 1 滴。
- g. 读取 450nm OD 值。

应用 ELISA 试验检测犬粪中棘球绦虫成虫虫体抗原和排泄分泌抗原的微量诊断方法,用于检测感染棘球绦虫的家犬粪抗原具有足够的灵敏性和特异性,替代了用槟榔碱给犬灌服的方法,节约了人力时间提高了诊断水平,克服了操作风险。根据应用 ELISA 试验检测犬粪中棘球绦虫成虫虫体抗原和排泄分泌抗原的微量诊断方法研制的本发明的犬粪抗原检测酶联免疫吸附试剂盒能在 2~5℃条件下,保存一年性质不变,适用于农牧区基层开展防治包虫病工作。

专利名称(译)	犬粪抗原检测酶联免疫吸附试剂盒		
公开(公告)号	CN1161610C	公开(公告)日	2004-08-11
申请号	CN00128713.3	申请日	2000-09-08
[标]发明人	焦伟 柴君杰		
发明人	焦伟 柴君杰		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/535 G01N33/547		
其他公开文献	CN1299972A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明的犬粪抗原检测酶联免疫吸附试剂盒，涉及防治牲畜寄生虫病传染源的治理领域，特别是防治牲畜包虫病的检测器具，本发明提出一种犬粪抗原检测酶联免疫吸附试剂盒，该产品是通过应用ELISA试验检测犬粪中棘球绦虫成虫虫体抗原和排泄分泌抗原的微量诊断方法，用于检测感染棘球绦虫的家犬粪抗原具有足够高的灵敏性和特异性，诊断犬棘球绦虫感染取得成功，并经多次改进，现已制成具体有效的检测成品，即犬粪抗原检测酶联免疫吸附试剂盒，为包虫病的预防和检测工作提供了准确简便有效的检测器具。