



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107328927 A

(43)申请公布日 2017. 11. 07

(21)申请号 201710402615.0

(22)申请日 2017.06.01

(71)申请人 力因精准医疗产品(上海)有限公司

地址 201609 上海市松江区叶榭镇叶旺路
59号

(72)发明人 李江 张树林 朱德新 张献新

(74)专利代理机构 上海三方专利事务所 31127

代理人 吴玮 杨懿

(51)Int.Cl.

G01N 33/535(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/569(2006.01)

G01N 33/72(2006.01)

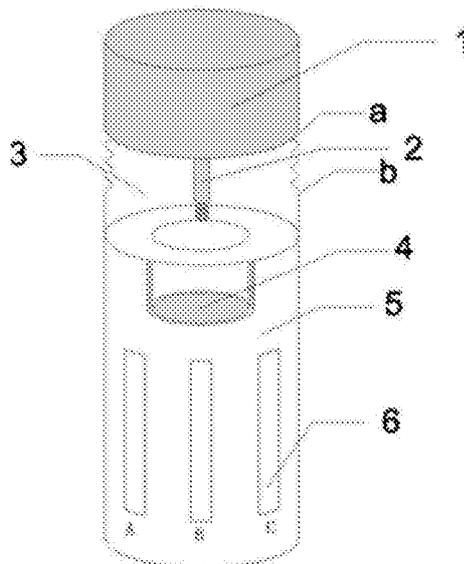
权利要求书1页 说明书5页 附图2页

(54)发明名称

胃幽门螺旋杆菌和消化道出血联合检测试剂盒及使用方法

(57)摘要

本发明涉及胃幽门螺旋杆菌和消化道出血联合检测试剂盒及使用方法,试剂盒包括稀释腔和检测腔,腔体内填充有稀释液,上部开口上设置有取样盖,稀释腔下部设置有连接出口,连接出口处封有隔膜,所述的取样盖内设置有取样管,开口上设置有两段深的连接部,取样盖通过连接部与稀释腔连接,检测腔上部具有与连接出口配合的承接进口,检测腔的侧面内壁上设置有竖向固定试纸条的固定部,检测腔通过固定部固定有幽门螺旋杆菌免疫层析试纸条、血红蛋白免疫层析试纸条以及转铁蛋白免疫层析试纸条,本发明巧妙的将样本采集、稀释以及检测在密闭装置内一步完成,取代了经典的采样、稀释、检测多步操作,大大降低了工作强度,降低了潜在的感染风险。



1. 一种胃幽门螺旋杆菌和消化道出血联合检测试剂盒,其特征在於包括稀释腔体和检测腔体,

a. 稀释腔,上部开口,腔体内填充有稀释液,开口上设置有取样盖,稀释腔下部设置有连接出口,连接出口处封有隔膜,所述的取样盖内设置有取样管,开口上设置有两段深的连接部,取样盖通过连接部与稀释腔连接,取样盖连接在第二段连接部位置时,取样管被完全容置在稀释腔内,取样盖连接在第一段连接部位置时,取样管端部穿破所述的隔膜,

b. 检测腔,上部具有与连接出口配合的承接进口,检测腔的侧面内壁上设置有竖向固定试纸条的固定部,检测腔通过固定部固定有幽门螺旋杆菌免疫层析试纸条、血红蛋白免疫层析试纸条以及转铁蛋白免疫层析试纸条,各个试纸条的采样端靠近腔底。

2. 如权利要求1所述的胃幽门螺旋杆菌和消化道出血联合检测试剂盒,其特征在於所述的胃幽门螺旋杆菌免疫试纸条包括含有显色标记的鼠抗人胃幽门螺旋杆菌单克隆抗体的金垫,以及含有鼠抗人胃幽门螺旋杆菌单克隆抗体的检测线和含有羊抗鼠IgG的质控线的硝酸纤维素膜。

3. 如权利要求1所述的胃幽门螺旋杆菌和消化道出血联合检测试剂盒,其特征在於所述的血红蛋白免疫层析试纸条包括含有显色标记的鼠抗人血红蛋白抗体的金垫,以及含有鼠抗人血红蛋白抗体的检测线和含有羊抗鼠IgG的质控线的硝酸纤维素膜。

4. 如权利要求1所述的胃幽门螺旋杆菌和消化道出血联合检测试剂盒,其特征在於所述的转铁蛋白免疫层析试纸条包括含有显色标记的鼠抗人转铁蛋白抗体的金垫,以及含有鼠抗人转铁蛋白抗体的检测线和含有羊抗鼠IgG的质控线的硝酸纤维素膜。

5. 如权利要求1所述的胃幽门螺旋杆菌和消化道出血联合检测试剂盒,其特征在於所述的试纸条的固定部为燕尾槽。

6. 如权利要求1所述的胃幽门螺旋杆菌和消化道出血联合检测试剂盒,其特征在於取样盖与稀释腔的通过开口上的两段式的螺纹连接,两段螺纹之间通过坡口过渡。

7. 如权利要求1所述的胃幽门螺旋杆菌和消化道出血联合检测试剂盒,其特征在於所述的取样管端部具有凸出的施力点。

8. 一种权利要求1~7任一所述的联合检测试剂盒的使用方法,其特征在於包括以下步骤:

- a. 通过取样盖上的取样管进行取样,
- b. 将取样盖盖回稀释腔内至连接部的第一段深度,通过稀释液稀释所取得样本,
- c. 将取样盖盖至连接部的第二段深度,通过稀释液稀释所取得样本,取样管端部穿破所述的隔膜,稀释后的样本通过连接出口和承接进口流至检测腔底部,各个试纸条的采样端吸收样本进行检测。

胃幽门螺旋杆菌和消化道出血联合检测试剂盒及使用方法

[技术领域]

[0001] 本发明涉及免疫层析试剂盒,具体涉及胃幽门螺旋杆菌和消化道出血联合检测试剂盒及使用方法。

[背景技术]

[0002] 胃肠道出血可由多种疾病引起,美国癌病协会提出在早期诊断和及时治疗的情况下,每年死于此类疾病的人三分之二可挽救。胃幽门螺旋杆菌是引起慢性胃炎、消化性溃疡的重要致病因子,在1994年国际癌症研究中心将胃幽门螺旋杆菌列为I类致癌因子。临床研究证实,粪便中带有癌肿的微量出血是早期消化道癌(食道癌、胃癌、结直肠癌)唯一可以查出的异常现象。消化道癌是最常见的恶性肿瘤之一。近年来,其发病率在世界范围内呈现逐渐下降的趋势,但在东亚地区仍是全球发病率及病死率最高的地区。2011年中国城市及农村病死率分别为19.66/10万和22.09/10万,均居恶性肿瘤死因第3位。与其他癌症不同,消化道癌早期症状隐蔽而易被忽视,多数病人出现便血、腹痛等症状,而确诊时多数为晚期,手术及药物的疗效均差,甚至失去治疗机会。故早期诊断、早期手术是提高患者生存率的关键。目前主要依靠便隐血标志物检查和内窥镜检查。由于内窥镜检查价格昂贵,且易对患者造成不适,尤其是儿童、孕妇、老人以及其他,不宜做内窥镜检查,因此其很难应用于早期消化道癌的筛查。而便隐血检查只需检查患者的粪便样本,具有检测简便、快速、价格低廉、准确等特点,适合所有人群的筛查,但是传统的便隐血检查检查项目较为单一,在检测过程中操作过于繁琐且易对操作人员造成潜在的感染的可能,因此提出一款能一步检测多项目的试剂盒很有必要性。

[0003] 血红蛋白和转铁蛋白是上下消化道出血性疾病的重要标志物,是早期消化道恶性肿瘤筛查的重要指标,胃幽门螺旋杆菌是胃癌发生的主要危险因素,因此联合检测胃幽门螺旋杆菌、血红蛋白以及转铁蛋白有利于帮助临床医生及时发现患者的病情并干预治疗,可大大节约医疗资源,减少患者的病痛和经济负担。在消化道癌早期筛查、临床诊断等方面有较好的临床价值和社会价值。

[0004] 目前用于筛查早期消化道癌主要方法是化学法、免疫单克隆法。

[0005] 化学法:主要有邻联甲苯胺法、还原酚酞法、联苯胺法、氨基比林法、愈创木脂法等。其原理基于血红蛋白中含铁血红素能催化试剂中的过氧化氢,使其释放新生态氧,养活上述色原物质而显色。显色的深浅反映了血红蛋白的多少。化学法虽简单易行,但易受到其他干扰因素多,假阳性率高,方法上缺乏特异性。

[0006] 免疫单克隆法:主要包括胃幽门螺旋杆菌抗原检测和便隐血检测,其原理是用抗人胃幽门螺旋杆菌(或血红蛋白)单克隆的双抗体夹心胶体金显色技术,可检测粪便样本中胃幽门螺旋杆菌(或血红蛋白)。与化学法相比,单抗法敏感性高、特异性强,且不受饮食和某些药物的影响。但是胃幽门螺旋杆菌的感染率极高,在发达国家,30%~50%的成年人有幽门螺杆菌感染,而发展中国家的胃幽门螺旋杆菌感染率则高达80%。我国属于胃幽门螺旋杆菌感染率极高的国家,普通人群中胃幽门螺旋杆菌平均感染率为58.07%,因此单一检

测胃幽门螺旋杆菌或者血红蛋白的临床意义不明显,且各自存在不足。

[0007] 联合检测胃幽门螺旋杆菌、血红蛋白以及转铁蛋白,有利于节约医疗资源,降低医务人员的工作强度,减少患者的医疗检测费用,同时可供临床医生结合患者的临床症状进行系统性的辅助诊断。特别适合于广大基层检验人员以及大批量检测和大面积普查等,具有巨大的发展潜力和广阔的应用前景,特别适合我国国情。

[发明内容]

[0008] 为了解决上述现有技术存在的问题,本发明提供一种在同一装置内同时检测胃幽门螺旋杆菌、血红蛋白以及转铁蛋白的快速试剂盒方法,同时为配合联合检测还提供一种用于粪便样本采集和检测一体化的装置。

[0009] 为了实现上述目的,提供一种胃幽门螺旋杆菌和消化道出血联合检测试剂盒,包括稀释腔体和检测腔体,

[0010] a. 稀释腔,上部开口,腔体内填充有稀释液,开口上设置有取样盖,稀释腔下部设置有连接出口,连接出口处封有隔膜,所述的取样盖内设置有取样管,开口上设置有两段深的连接部,取样盖通过连接部与稀释腔连接,取样盖连接在第二段连接部位置时,取样管被完全容置在稀释腔内,取样盖连接在第一段连接部位置时,取样管端部穿破所述的隔膜,

[0011] b. 检测腔,上部具有与连接出口配合的承接进口,检测腔的侧面内壁上设置有竖向固定试纸条的固定部,检测腔通过固定部固定有幽门螺旋杆菌免疫层析试纸条、血红蛋白免疫层析试纸条以及转铁蛋白免疫层析试纸条,各个试纸条的采样端靠近腔底。

[0012] 该试剂盒还进一步具有如下方案:

[0013] 所述的胃幽门螺旋杆菌免疫试纸条包括含有显色标记的鼠抗人胃幽门螺旋杆菌单克隆抗体的金垫,以及含有鼠抗人胃幽门螺旋杆菌单克隆抗体的检测线和含有羊抗鼠IgG的质控线的硝酸纤维素膜。

[0014] 所述的血红蛋白免疫层析试纸条包括含有显色标记的鼠抗人血红蛋白抗体的金垫,以及含有鼠抗人血红蛋白抗体的检测线和含有羊抗鼠IgG的质控线的硝酸纤维素膜。

[0015] 所述的转铁蛋白免疫层析试纸条包括含有显色标记的鼠抗人转铁蛋白抗体的金垫,以及含有鼠抗人转铁蛋白抗体的检测线和含有羊抗鼠IgG的质控线的硝酸纤维素膜。

[0016] 所述的试纸条的固定部为燕尾槽。

[0017] 取样盖与稀释腔的通过开口上的两段式的螺纹连接,两段螺纹之间通过坡口过渡。

[0018] 所述的取样管端部具有凸出的施力点。

[0019] 本发明还包括上述的联合检测试剂盒的使用方法,包括以下步骤:

[0020] a. 通过取样盖上的取样管进行取样,

[0021] b. 将取样盖盖回稀释腔内至连接部的第一段深度,通过稀释液稀释所取得样本,

[0022] c. 将取样盖盖至连接部的第二段深度,通过稀释液稀释所取得样本,取样管端部穿破所述的隔膜,稀释后的样本通过连接出口和承接进口流至检测腔底部,各个试纸条的采样端吸收样本进行检测。

[0023] 本发明巧妙的将样本采集、稀释以及检测在密闭装置内一步完成,一份样品在采样后被装置内的稀释液进行充分稀释,在一步操作下,稀释的样本进入反应区,完成样本的

检测。该装置具有操作简便、安全、快速、适合在家庭、医院等场合现场使用等特点，大大降低了工作强度，降低了潜在的感染风险。

[附图说明]

[0024] 图1为本发明的结构示意图，

[0025] 图2为图1的纵截面示意图；

[0026] 图3为试纸判读例图；

[0027] 图4为试纸条结构示意图；

图中1.取样盖 2.取样管 3.稀释腔 4.隔膜 5.检测腔 6.燕尾槽 7.承接进口螺纹 a.第一段螺纹 b.第二段螺纹 8.PVC板 9.硝酸纤维素膜 10.金垫 11.样品垫 12.吸水纸。

[具体实施方式]

[0028] 以下，结合实施例和附图对于本发明做进一步说明，应当理解，实施例和附图仅用于解释说明而不用来限定本发明的保护范围。

[0029] 试纸制备实施例：

[0030] 最低检测限确定

[0031] 胃幽门螺旋杆菌最低检测限为200cfu/ml；血红蛋白最低检测限为200ng/ml；转铁蛋白最低检测限为40ng/ml。根据上述最低检测限制制备胃幽门螺旋杆菌、血红蛋白以及转铁蛋白检测试纸的工艺如下：

[0032] 1主要材料

[0033] 1.1鼠抗人胃幽门螺旋杆菌单克隆抗体A1、A2，BBI公司产品；鼠抗人血红蛋白单克隆抗体B1、B2，鼠抗人转铁蛋白单克隆抗体C1、C2，Medix公司产品；经过转染小鼠表达纯化获得，分别用于标记和检测；羊抗鼠IgG抗体：Arista公司产品，用于硝酸纤维素膜质控线或者质控斑点包被；硝酸纤维素膜（NC膜）：MILLIPORE公司产品；样品垫、结合垫、吸水纸、PVC底板和双联卡壳：上海捷宁生物技术有限公司

[0034] 2方法

[0035] 2.1胃幽门螺旋杆菌抗体A1、血红蛋白抗体B1以及转铁蛋白抗体C1的标记

[0036] 以胶体金、乳胶颗粒、荧光微球、量子点、化学发光或者酶标记物及可通过肉眼或者仪器进行检测的分子或者颗粒物分别标记鼠抗人胃幽门螺旋杆菌单克隆抗体A1、鼠抗人血红蛋白抗体B1、鼠抗人转铁蛋白单克隆抗体C1；以不同浓度的PEG、BSA及其他有封闭效果的蛋白或者高分子聚合物分别对标记物进行封闭；标记结束后以9000rpm离心，弃上清，沉淀用硼酸盐缓冲液（0.01M BB+3% BSA+4% 蔗糖）稀释至原溶液体积的1/20；然后用喷金划膜仪XYZ3050（BIODOT公司）将处理好的标记溶液按2 μ l/cm分别喷涂在无纺布或者玻璃纤维或者聚酯膜上制成胃幽门螺旋杆菌金反应垫、血红蛋白金反应垫、转铁蛋白金反应垫，常温（25 $^{\circ}$ C）真空干燥12小时将标记物固相化。

[0037] 2.2胃幽门螺旋杆菌抗体A2、血红蛋白抗体B2、转铁蛋白抗体C2的包被

[0038] 用磷酸盐缓冲液（0.01M PBS+1% 蔗糖）将鼠抗人胃幽门螺旋杆菌单克隆抗体A2、鼠抗人血红蛋白抗体B2、鼠抗人转铁蛋白抗体C2和羊抗鼠IgG抗体分别稀释至1mg/ml，然后用喷金划膜仪XYZ3050（BIODOT公司）把鼠抗人胃幽门螺旋杆菌单克隆抗体A2（检测线T1）和羊抗鼠IgG抗体（质控线C）喷在NC膜上制成胃幽门螺旋杆菌膜；把鼠抗人血红蛋白抗体B2

(检测线T2)和羊抗鼠IgG抗体(质控线C)喷在NC膜组成血红蛋白膜;把鼠抗人转铁蛋白抗体C2(检测线T3)和羊抗鼠IgG抗体(质控线C)喷在NC膜组成转铁蛋白膜;包被完后将胃幽门螺旋杆菌膜、血红蛋白膜以及转铁蛋白膜在常温(25℃)真空干燥12小时将标记物固相化。

[0039] 以下,进行试纸条的组装,试纸条的结构可以参见图4,这种试纸条的结构对于本领域的技术人员是清楚的。

[0040] 2.3胃幽门螺旋杆菌试纸条组装

[0041] 在相对湿度 $\leq 30\%$ 的工作室内将已包被的胃幽门螺旋杆菌膜(9)放置在PVC底板(8)中部粘贴;在胃幽门螺旋杆菌膜T1线一侧搭接胃幽门螺旋杆菌金反应垫(10)(搭接胃幽门螺旋杆菌膜1.5mm);在胃幽门螺旋杆菌金反应垫另一侧搭接粘贴上样品垫(11)(搭接胃幽门螺旋杆菌金反应垫1/3),并粘贴下不干胶;在胃幽门螺旋杆菌膜C线一侧搭接吸水纸(12)(搭接胃幽门螺旋杆菌膜1.5mm),并粘贴上不干胶;然后用裁条机将粘贴好的大板切成一定宽带的试纸条(3-5mm),制成胃幽门螺旋杆菌试纸条。

[0042] 2.4血红蛋白试纸条组装

[0043] 在相对湿度 $\leq 30\%$ 的工作室内将已包被的血红蛋白膜放置在PVC底板中部粘贴;在血红蛋白膜T2线一侧搭接血红蛋白金反应垫(搭接血红蛋白膜1.5mm);在血红蛋白金反应垫另一侧搭接粘贴上样品垫(搭接血红蛋白金反应垫1/3),并粘贴下不干胶;在血红蛋白膜C线一侧搭接吸水纸(搭接血红蛋白膜1.5mm),并粘贴上不干胶;然后用裁条机将粘贴好的大板切成一定宽带的试纸条(3-5mm),制成血红蛋白试纸条。

[0044] 2.5转铁蛋白试纸条组装

[0045] 在相对湿度 $\leq 30\%$ 的工作室内将已包被的转铁蛋白膜放置在PVC底板中部粘贴;在转铁蛋白膜T2线一侧搭接转铁蛋白金反应垫(搭接转铁蛋白膜1.5mm);在转铁蛋白金反应垫另一侧搭接粘贴上样品垫(搭接转铁蛋白金反应垫1/3),并粘贴下不干胶;在转铁蛋白膜C线一侧搭接吸水纸(搭接转铁蛋白膜1.5mm),并粘贴上不干胶;然后用裁条机将粘贴好的大板切成一定宽带的试纸条(3-5mm),制成转铁蛋白试纸条。

[0046] 3.采样和检测一体化装置实施例:

[0047] 该一体化装置示意图见图1,截面示意图见图2。包括稀释腔体和检测腔体:

[0048] a. 稀释腔,上部开口,腔体内填充有0.5mI~5mI的稀释液,开口上设置有取样盖,稀释腔下部设置有连接出口,连接出口处封有隔膜,所述的取样盖内设置有取样管,取样管端部具有凸出的施力点,取样盖与稀释腔的通过开口上的两段式的螺纹连接,两段螺纹之间通过坡口过渡。取样盖通过连接部与稀释腔连接,取样盖连接在第二段螺纹位置时,取样管被完全容置在稀释腔内,取样盖连接在第二段螺纹位置时,取样管端部穿破所述的隔膜(如铝膜等),

[0049] b. 检测腔,为塑料透明材料(如PS、PP、PC等)制成,上部具有与连接出口配合的承接进口,检测腔的侧面内壁上设置有1-5个等距的竖向固定试纸条的燕尾槽,检测腔通过燕尾槽固定有幽门螺旋杆菌免疫层析试纸条、血红蛋白免疫层析试纸条以及转铁蛋白免疫层析试纸条,各个试纸条的采样端靠近腔底。

[0050] 检测时:

[0051] a. 通过取样盖上的取样管进行取样,

[0052] b. 将取样盖盖回稀释腔内至连接部的第一段深度,通过稀释液稀释所取得样本,

[0053] c.将取样盖盖至连接部的第二段深度,通过稀释液稀释所取得样本,取样管端部穿破所述的隔膜,稀释后的样本通过连接出口和承接进口流至检测腔底部,各个试纸条的采样端吸收样本进行检测,5-10min内判读。

[0054] 4结果

[0055] 可通过管壁判读检测区内壁燕尾槽A、B、C内的试纸:

[0056] 当样本中的胃幽门螺旋杆菌、血红蛋白以及转铁蛋白浓度超过最低检测限时,检测线T1、T2、T3均显色(图3),则为患有胃幽门螺旋杆菌,且伴有消化道出血。

[0057] 当样本中的胃幽门螺旋杆菌浓度超过最低检测限而血红蛋白和转铁蛋白浓度没超过最低检测限时,检测线T1显色而T2、T3均不显色(图3),则为患有胃幽门螺旋杆菌,但未出现消化道出血。

[0058] 当样本中的血红蛋白和转铁蛋白浓度超过最低检测限而胃幽门螺旋杆菌浓度没超过最低检测限时,检测线T1不显色而T2、T3均显色(图3),则仅为消化道出血。

[0059] 当样本中的胃幽门螺旋杆菌、血红蛋白以及转铁蛋白浓度均没超过最低检测限时,检测线T1、T2以及T3均不显色(图3)则为胃幽门螺旋杆菌阴性且未出现消化道出血。

[0060] 当质控区(C)未出现红色条带,表明不正确的操作过程或试剂盒已变质损坏。在任何情况下,应重新测试。(图3)。

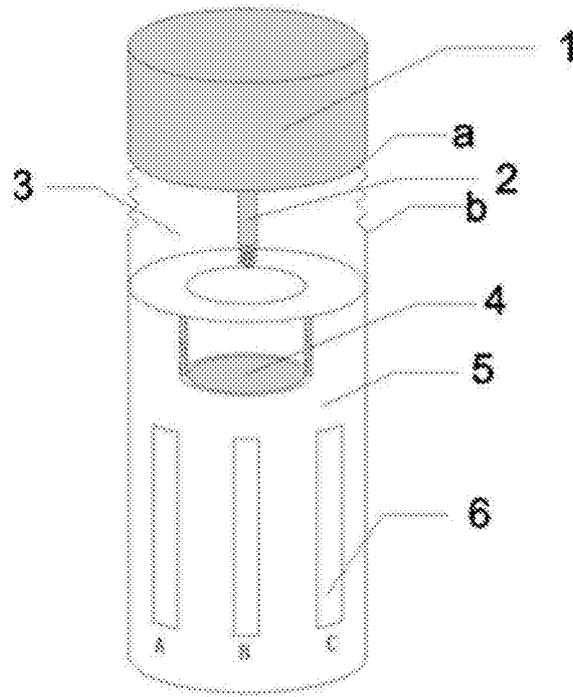


图1

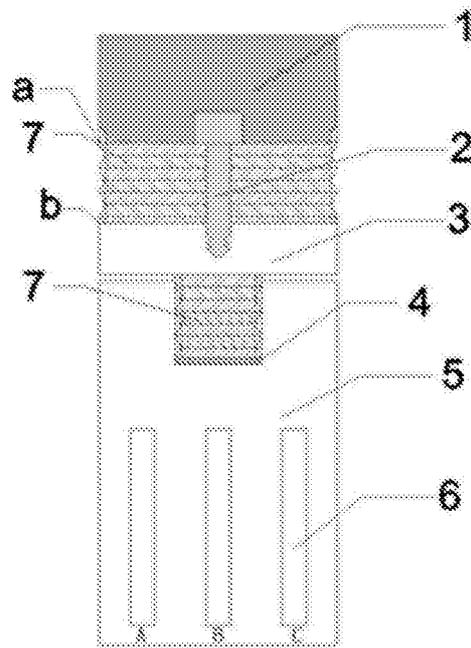


图2

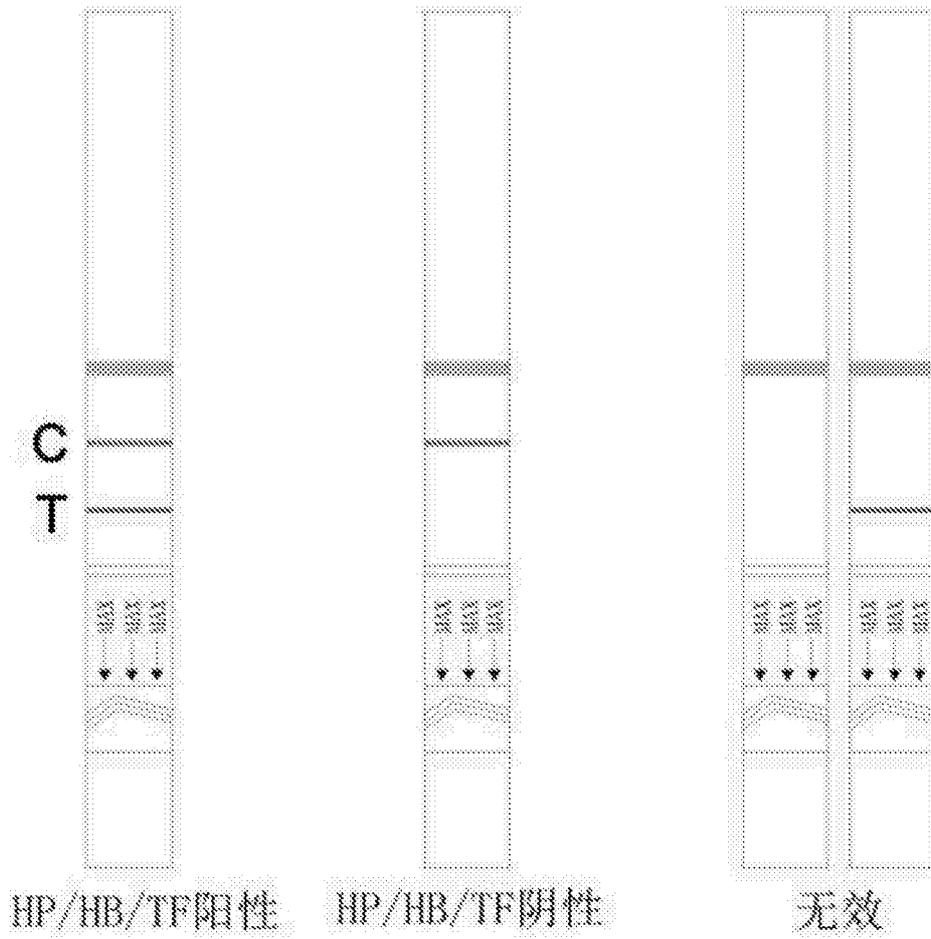


图3

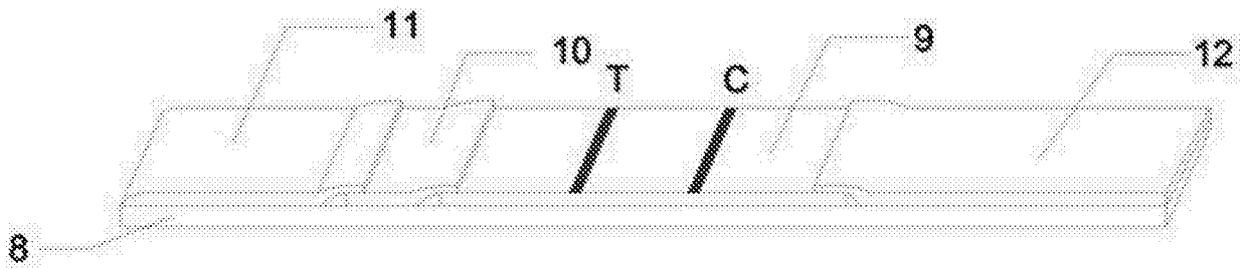


图4

专利名称(译)	胃幽门螺旋杆菌和消化道出血联合检测试剂盒及使用方法		
公开(公告)号	CN107328927A	公开(公告)日	2017-11-07
申请号	CN2017110402615.0	申请日	2017-06-01
申请(专利权)人(译)	力因精准医疗产品(上海)有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	力因精准医疗产品(上海)有限公司		
[标]发明人	李江 张树林 朱德新 张献新		
发明人	李江 张树林 朱德新 张献新		
IPC分类号	G01N33/535 G01N33/577 G01N33/569 G01N33/72		
CPC分类号	G01N33/535 G01N33/56916 G01N33/577 G01N33/721		
代理人(译)	吴玮 杨懿		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及胃幽门螺旋杆菌和消化道出血联合检测试剂盒及使用方法，试剂盒包括稀释腔和检测腔，腔体内填充有稀释液，上部开口上设置有取样盖，稀释腔下部设置有连接出口，连接出口处封有隔膜，所述的取样盖内设置有取样管，开口上设置有两段深的连接部，取样盖通过连接部与稀释腔连接，检测腔上部具有与连接出口配合的承接进口，检测腔的侧面内壁上设置有竖向固定试纸条的固定部，检测腔通过固定部固定有幽门螺旋杆菌免疫层析试纸条、血红蛋白免疫层析试纸条以及转铁蛋白免疫层析试纸条，本发明巧妙的将样本采集、稀释以及检测在密闭装置内一步完成，取代了经典的采样、稀释、检测多步操作，大大降低了工作强度，降低了潜在的感染风险。

