



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101806799 A

(43) 申请公布日 2010.08.18

(21) 申请号 200910147608.6

(22) 申请日 2009.06.09

(71) 申请人 北京金沃夫生物工程科技有限公司
地址 100070 北京市丰台区南四环西路 188 号 1 区 23 号楼 401

(72) 发明人 陈浪 端青 许红伟

(51) Int. Cl.

G01N 33/569 (2006.01)

G01N 33/551 (2006.01)

G01N 33/532 (2006.01)

G01N 33/577 (2006.01)

G01N 33/52 (2006.01)

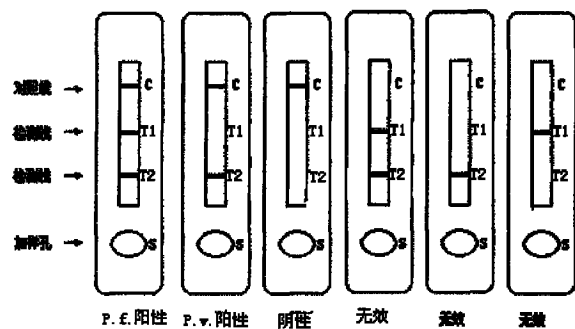
权利要求书 1 页 说明书 3 页 附图 1 页

(54) 发明名称

一种快速检测和鉴别恶性疟和间日疟的试剂盒及其制备方法

(57) 摘要

本发明涉及利用单克隆抗体及免疫层析技术制备一种试剂盒,来定性检测人全血中是否含有间日疟原虫特异的乳酸脱氢酶 (pLDH) 和恶性疟原虫特异性的组胺酸富集蛋白 2 (HRP-2),以检测和鉴别受试者是否恶性疟和间日疟患者。本发明的产品具有灵敏度高,特异性强,能够通过测试而检测和鉴别受试者是否恶性疟和间日疟患者,操作过程简单,无须复杂设备,检测速度快、准确。



1. 一种快速检测和鉴别恶性疟和间日疟的试剂盒,包括检测试剂条和样本裂解液线),其特征在于:所述的检测试纸条由四部分组成,依次是:经处理溶液处理的样品垫、抗 pLDH 抗体和抗 HRP-2 抗体的胶体金颗粒、在检测区 T1/T2 位置分别包被了抗 pLDH 抗体和抗 HRP-2 抗体以及在质控区 C 位置包被了羊抗鼠抗体的硝酸纤维素膜、吸水纸。

2. 权利要求 1 所述的快速检测和鉴别恶性疟和间日疟的试剂盒,其特征在于:样品处理液含有皂素以及表面活性剂的磷酸缓冲液。

3. 权利要求 1 所述的快速检测和鉴别恶性疟和间日疟的试剂盒,用抗 pLDH 抗体和抗 HRP-2 抗体包被 T1/T2 以及在质控区 C 位置包被了羊抗鼠抗体的硝酸纤维素膜,将配制好的标记胶体金溶液干燥到玻璃纤维上,再与吸水纸、胶板紧密依次粘贴制备成试剂条,其特征在于:标记胶体金溶液的处理溶液组分配比为:Tween80 :0.01-2.5% ;PVA :0.01-2.5% ;蔗糖 :0.5-3%,缓冲液 :PH8.0-9.5,0.01-0.5 的硼砂,所述的测试条的干燥工艺为:温度在 35-45℃,相对湿度在 20-30%,干燥时间 12-24 小时。

一种快速检测和鉴别恶性疟和间日疟的试剂盒及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及利用单克隆抗体及免疫层析技术制备一种试剂盒,来定性检测人全血中是否含有间日疟原虫特异的乳酸脱氢酶 (pLDH) 和恶性疟原虫特异性的组氨酸富集蛋白 2 (HRP-2),以检测和鉴别受试者是否恶性疟和间日疟患者。其特征在于:所述的试剂盒的由两大部分组成,包括试剂条和样本裂解液。试剂条由 4 部分组成,依次是:1) 样品垫;2) 抗 pLDH 抗体和抗 HRP-2 抗体标记的胶体金颗粒,标记好的胶体金颗粒干燥于玻璃纤维或者聚酯膜上;3) 在检测区 T1/T2 位置分别包被了抗 pLDH 抗体和抗 HRP-2 抗体,在质控区 C 位置包被了羊抗鼠抗体的硝酸纤维素膜;4) 吸水纸。本发明的产品具有灵敏度高,特异性强,能够通过测试而检测和鉴别受试者是否恶性疟和间日疟患者,操作过程简单,无须复杂设备,检测速度快、准确。

背景技术

[0002] 疟疾是由雌性按蚊叮咬人体时将其体内寄生的疟原虫子孢子传入人体而引起的。临床表现为间歇性、定时性、发作性的寒战、高热和大汗,以及贫血和脾肿大。造成人类疟疾是由四种不同的疟原虫引起,即:恶性疟原虫、间日疟原虫、三日疟原虫、卵形疟原虫,其中后两种仅在少数的几个地区存在较多。疟原虫乳酸脱氢酶 (pLDH) 是同广泛存在于动物、植物及微生物细胞内的乳酸脱氢酶同工酶一样,是糖酵解途径的末端酶,pLDH 在疟原虫的整个红内期均表达,在疟原虫能量代谢中发挥重要作用。早期的研究表明,pLDH 是一种具有疟原虫种属特异性的循环抗原,它的保守基因序列为所有疟原虫所共有,而它同宿主动物 LDH 在理化、免疫学特性和酶学方面有很大的差异,pLDH 是检测疟原虫的理想靶抗原之一。HRP-2(组氨酸富集蛋白)是恶性疟原虫含有的特异性蛋白,是检测恶性疟原虫的理想靶抗原之一。本试剂盒用于检测全血中是否含有 pLDH/HRP-2,从而可检测和区分是否有疟原虫或者恶性疟原虫存在。

发明内容

[0003] 试剂盒采用高度特异性的抗体抗原反应及免疫层析分析技术来定性检测全血中是否含有疟原虫特异 pLDH 和恶性疟原虫特异性 HRP-2,试剂盒含有被事先固定于膜上测试区 (T1) 的抗 HRP-2 抗体和 pLDH 抗体,质控区 (C) 的羊抗鼠抗体。测试时,血标本滴入试剂盒加样孔 (S) 内,血标本中的 pLDH/HRP-2 与预包被在膜上的抗体胶体金结合物反应。然后,混合物随之在毛细效应下向上层析,在测试区 (T1/T2) 与固定在膜上的抗 HRP-2/pLDH 抗体反应。如果血清中含有 HRP-2/pLDH,在测试区内 (T1/T2) 会各出现一条紫红色条带,表明是恶性疟原虫阳性结果。如果血清中含有 pLDH,在测试区内 (T2) 会出现一条紫红色条带,(T1) 不会出现一条紫红色条带,表明是间日疟原虫阳性结果。如果在测试区内 (T1/T2) 没有出现紫红色条带,则血清中不含有 HRP-2/pLDH,表明是阴性结果。无论 HRP-2/pLDH 是否存在于标本中,混合物都会继续向上层析至质控区 (C),与质控区的抗鼠胶体反应出现一条

紫红色条带。质控区内 (C) 所显现的紫红色条带是判定是否有足够血标本,层析过程是否正常的标准,同时也作为试剂的内控标准。

[0004] 操作步骤

[0005] 在进行任何测试前必须先完整阅读使用说明,使用前将检测试剂盒和全血标本恢复至室温,取出反应缓冲液并放置 20 分钟使其恢复至室温 (20-30℃)。

[0006] 1. 从原包装铝箔袋中取出试剂盒 (注意:在打开铝箔袋前应先恢复至室温)。在一小时内进行测试会得到最佳效果,特别是在室温高于 30℃或是在高度潮湿的环境中应尽快地使用。

[0007] 2. 将试剂盒置于干净平坦的台面上,用一次性毛细吸管垂直滴入 10u1 全血标本于加样孔 S 中,然后滴入 3 滴缓冲液于加样孔 S 中。

[0008] 3. 等待紫红色条带的出现,在 15 分钟左右读取测试结果。关键要注意,在紫红色条带出现以前,背景要清晰,特别当样本中含有低滴度的 HRP-2/pLDH,会导致出现的 T1/T2 线颜色很淡,此时更需注意背景要清晰。在 20 分钟后读取的结果无效。

附图说明

[0009] 图 1 【结果判定】

[0010] 阳性 (+):

[0011] 1. 恶性疟原虫阳性 (P. f.):质控区 (C) 出现一条紫红色条带,在测试区内 (T1/T2) 会各出现一条紫红色条带,样本中含有 HRP-2/pLDH,表明是恶性疟原虫阳性结果。

[0012] 2. 间日疟原虫阳性 (P. v.):质控区 (C) 出现一条紫红色条带,在测试区内 (T2) 出现一条紫红色条带,(T1) 没有出现一条紫红色条带,样本中含有 pLDH,无 HRP-2,表明是间日疟原虫阳性结果。

[0013] 阴性 (-):质控区 (C) 出现一条紫红色条带,在测试区内 (T1/T2) 都不出现一条紫红色条带,样本中不含有 HRP-2/pLDH,表明是疟原虫阴性结果。

[0014] 无效:质控区 (C) 未出现紫红色条带,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。如果问题仍然存在,应立即停止使用此批号产品,并与当地供应。

[0015] 注意:测试区 (T) 内的紫红色条带可显现出颜色深浅的现象。但是,在规定的观察时间内,不论该色带颜色深浅,即使只有非常弱的色带也应判为阳性结果。

具体实施方式

[0016] 【包装组成】

[0017] 检测试剂盒 (20 人份)

[0018] 反应缓冲液 (8ml)

[0019] 使用说明书 (1 份)

[0020] 【所需设备】

[0021] 秒表

[0022] 一次性试管

[0023] 采血针

[0024] 【标本收集】

[0025] 标本收集后应尽快使用。标本若不能及时送检,可冷藏于 2℃ -8℃ 3 天。长期保存需冷冻于 -20℃,忌反复冻融。

[0026] 【预计评估】

[0027] 本检测试剂盒与血片检测法进行了比较,两者之间的符合率达到了 95%。

[0028] 【存储和稳定性】

[0029] 原包装储存于 4-30℃ C,并装在密封的袋中。反应缓冲液保存于 4-30℃。试剂盒在有效期内是稳定的,切忌冷冻或在过有效期后使用。

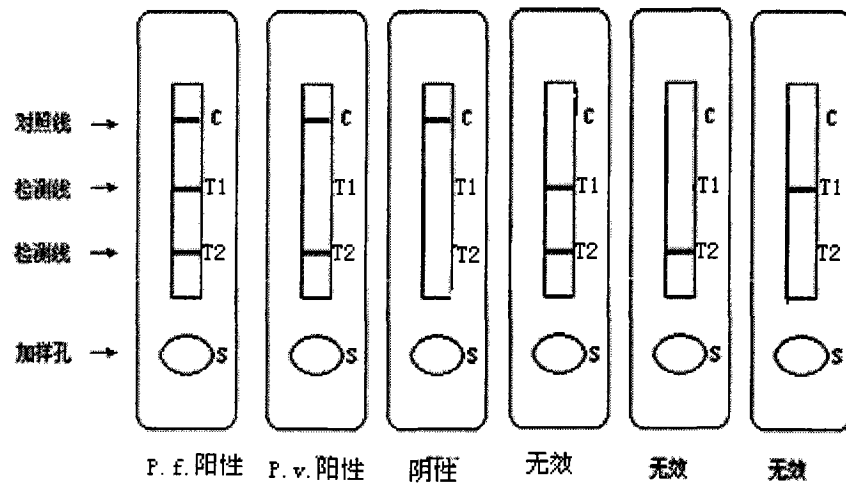


图 1

专利名称(译)	一种快速检测和鉴别恶性疟和间日疟的试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN101806799A	公开(公告)日	2010-08-18
申请号	CN200910147608.6	申请日	2009-06-09
[标]发明人	陈浪 端青 许红伟		
发明人	陈浪 端青 许红伟		
IPC分类号	G01N33/569 G01N33/551 G01N33/532 G01N33/577 G01N33/52		
CPC分类号	Y02A50/58		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及利用单克隆抗体及免疫层析技术制备一种试剂盒，来定性检测人全血中是否含有间日疟原虫特异的乳酸脱氢酶(pLDH)和恶性疟原虫特异性的组胺酸富集蛋白2(HRP-2)，以检测和鉴别受试者是否恶性疟和间日疟患者。本发明的产品具有灵敏度高，特异性强，能够通过测试而检测和鉴别受试者是否恶性疟和间日疟患者，操作过程简单，无须复杂设备，检测速度快、准确。

