



(12)实用新型专利

(10)授权公告号 CN 208621626 U

(45)授权公告日 2019.03.19

(21)申请号 201721431777.9

(22)申请日 2017.11.01

(73)专利权人 成都微瑞生物科技有限公司

地址 610000 四川省成都市高新区天府大道北段1480号1栋2层3号

(72)发明人 吴冠英 吴俊清 章健 王泽洲

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/58(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

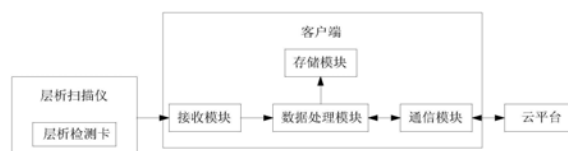
权利要求书1页 说明书5页 附图2页

(54)实用新型名称

布鲁氏杆菌抗体快速定量检测系统

(57)摘要

本实用新型公开了一种布鲁氏杆菌抗体快速定量检测系统,包括层析检测卡、层析扫描仪、客户端和云平台;所述层析扫描仪用于搭载层析检测卡,并对层析检测卡进行扫描;所述层析扫描仪无线连接客户端;客户端通过互联网连接云平台。该云平台用于储存被测布鲁氏杆菌抗体标准曲线。所述层析检测卡的硝酸纤维素膜上包被布鲁氏杆菌脂多糖LPS单抗为检测线,包被兔抗鸡IgY抗体为质控线,标记物为荧光检测微球偶联的布鲁氏杆菌脂多糖LPS抗原和鸡IgY抗体纳米微球混合物。本实用新型可实现布鲁氏杆菌抗体现场快速定量检测,对于实时快速监测和评价疫苗免疫效果,制定科学防控策略及评价动物群体抗具有重要的意义。



1. 一种布鲁氏杆菌抗体快速定量检测系统,其特征在于:包括层析检测卡、层析扫描仪、客户端和云平台;

所述层析扫描仪用于搭载层析检测卡,并对层析检测卡进行扫描;

所述层析扫描仪无线连接客户端;

客户端通过互联网连接云平台,该平台用于储存被测布鲁氏杆菌抗体标准曲线和检测数据;

所述层析检测卡包括检测卡外壳和装配在检测卡外壳内的试纸条,所述试纸条包括带压敏胶的塑料底板,组装顺序依次为在底板上粘贴样品垫、标记物垫、硝酸纤维素膜和吸水纸,所述标记物垫由载体基层和标记物组成,所述硝酸纤维素膜上包被布鲁氏杆菌脂多糖LPS单抗为检测线,包被兔抗鸡IgY抗体为质控线,标记物为荧光微球偶联的布鲁氏杆菌脂多糖LPS抗原和鸡IgY抗体的纳米混合物;

该客户端内置有接收模块、数据处理模块、存储模块和通信模块,所述接收模块、存储模块和通信模块均与数据处理模块连接;接收模块用于接收层析扫描仪传递而来的数据,并传递给数据处理模块;数据处理模块进行数据分析并将结果传递给存储模块和通信模块;通信模块通过互联网连接云平台。

2. 根据权利要求1所述的布鲁氏杆菌抗体快速定量检测系统,其特征在于:所述布鲁氏杆菌脂多糖LPS抗原是布鲁氏杆菌纯化的LPS脂多糖。

3. 根据权利要求1所述的布鲁氏杆菌抗体快速定量检测系统,其特征在于:所述硝酸纤维素膜上质控线采用的兔抗鸡IgY抗体为兔抗鸡IgY的IgG。

4. 根据权利要求1所述的布鲁氏杆菌抗体快速定量检测系统,其特征在于:所述客户端为带有上网功能的手机或平板电脑。

5. 根据权利要求1所述的布鲁氏杆菌抗体快速定量检测系统,其特征在于:所述标记在生物原料上的镧系荧光微球的镧系荧光是指镧系元素Eu、Sm或Tb与 β -二酮配基产生的荧光。

6. 根据权利要求1所述的布鲁氏杆菌抗体快速定量检测系统,其特征在于:所述标记物为载体基层上喷涂镧系荧光检测微球和镧系荧光质控微球形成的一层膜。

布鲁氏杆菌抗体快速定量检测系统

技术领域

[0001] 本实用新型涉及一种检测系统,特别是涉及一种布鲁氏杆菌抗体快速定量检测系统。

背景技术

[0002] 布鲁氏杆菌病(Brucellosis,简称布病)是由布鲁氏菌所引起的一种高传染性的人畜共患病。其中羊、牛、犬、猪等常作为人间布病的主要传染源,人类通过直接接触、消化道、呼吸道等途径获得该病,可严重危害人类健康,并阻碍畜牧业发展,影响全球经济贸易。在我国布病属于传染病防治法法定乙类传染病,是动物的2类法定管理传染病,还是职业病。羊是人间布病的主要传染源。在羊布病疫区,人群感染率可高达42%,患病率高达7%。近些年,该病疫情出现明显回升,在世界范围内呈现“再燃”流行。

[0003] 布鲁氏杆菌病广泛流行于世界许多国家,高发地区为地中海地区,亚洲,中南美洲等。全世界每年新发病例约50万。新中国成立前本病流行严重,新中国成立后成立了专门防治机构,发病率已明显减少,但自1994年以来,我国人畜布鲁氏杆菌病又有回升,很多已经基本控制的地区又有新的人畜布鲁氏杆菌病流行,如山东省滨州地区,河北省磁县以及山西省,辽宁省等。产生疫情回升的主要原因是“不经检疫家畜的自由贸易,交换和流动”。此外,放松对乳及肉等畜产品的监督、管理、消毒,家畜不能及时、广泛免疫,以及防治队伍涣散,对布鲁氏杆菌病防治松懈麻痹等都是重要原因。因此,我们必须加强对布鲁氏杆菌病的防治以期达到在全国范围内长期基本控制的目标。

[0004] 由于布氏杆菌给畜牧业发展造成严重破坏并威胁到人类的健康,再加上布氏杆菌属于胞内寄生菌,抗生素治疗并不能达到较理想效果,使用疫苗是控制布氏杆菌病的最有效方法,同样检测疫苗产生抗体是监测疫苗免疫效果和防止感染的有效途径。

[0005] 目前市场上大量使用检测布鲁氏杆菌抗体酶标试剂盒,ELISA试剂盒需要酶标仪、温育反应条件、洗板条件,操作工作环境和专业技术人员,另外检测样本还需要复杂的前处理,如采集血液,分离血清等;而快速胶体金虽然检测方便,不需专业技术人员和工作环境,但其检测的灵敏度低,且只能定性,检测范围窄。因此,研制快速、便捷、可在现场和野外进行定量检测布病抗体的快速检测技术显得尤为重要。

实用新型内容

[0006] 本实用新型的目的就是提供一种布鲁氏杆菌抗体快速定量检测系统,克服胶体金快速检测卡和酶标试剂盒各自缺点,通过简单的操作,可在现场和野外对猪、牛、羊及其他动物血清样本进行快速、准确、高灵敏地定量检测,该技术既具有ELISA的敏感性,又具有胶体金试纸条的便利性,可以说从根本上解决上述现有技术的不足之处。

[0007] 本实用新型的目的通过下述技术方案来实现:

[0008] 一种布鲁氏杆菌抗体的快速定量检测系统,包括层析检测卡、层析扫描仪、客户端和云平台;所述层析扫描仪用于搭载层析检测卡,并对层析检测卡进行扫描;所述层析扫描

仪无线连接客户端;客户端通过互联网连接云平台,该云平台用于储存布鲁氏杆菌抗体标准曲线;所述层析检测卡包括检测卡外壳和装配在检测卡外壳内的试纸条,所述试纸条包括带压敏胶的塑料底板,在底板上依次粘贴样品垫、标记物垫、硝酸纤维素膜和吸水纸,所述标记物垫由载体基层和标记物组成,所述硝酸纤维素膜上包被布鲁氏杆菌脂多糖LPS单抗为检测线,包被兔抗鸡IgY抗体为质控线,标记物为标记有布鲁氏杆菌脂多糖LPS抗原的荧光检测微球和标记鸡IgY抗体的荧光质控微球混合物;该客户端内置有接收模块、数据处理模块、存储模块和通信模块,所述接收模块、存储模块和通信模块均与数据处理模块连接;接收模块用于接收层析扫描仪传递而来的数据,并传递给数据处理模块;数据处理模块进行数据分析并将结果传递给存储模块和通信模块;通信模块通过互联网连接云平台。

[0009] 作为优选,所述布鲁氏杆菌脂多糖LPS抗原是布鲁氏杆菌纯化的LPS脂多糖。

[0010] 作为优选,所述硝酸纤维素膜上质控线采用的兔抗鸡IgY抗体为兔抗鸡IgY的IgG。

[0011] 作为优选,所述客户端为带有上网功能的手机或平板电脑。

[0012] 作为优选,所述标记在生物原料上的镧系荧光微球的镧系荧光是指镧系元素Eu、Sm或Tb与 β -二酮配基产生的荧光。

[0013] 作为优选,所述标记物为载体基层上喷涂镧系荧光检测微球和镧系荧光质控微球形成的一层膜。

[0014] 名词解释:

[0015] 兔抗鸡IgY的IgG:兔抗鸡IgY的免疫球蛋白G;

[0016] 鸡IgY抗体:鸡卵黄抗体。

[0017] 与现有技术相比,本实用新型的有益效果在于:可实现布鲁氏杆菌抗体现场快速定量检测,将为我国防控布病提供高效、灵敏、快速的监测手段和技术,具有较高的实用价值和推广价值。

附图说明

[0018] 图1是本实用新型的原理框图;

[0019] 图2是本实用新型中层析检测卡的结构示意图;

[0020] 图3是图2中试纸条的结构示意图;

[0021] 图4是图3的俯视图;

[0022] 图5是布鲁氏杆菌抗体检测标准曲线;

[0023] 图6是层析检测卡的另一种结构示意图。

具体实施方式

[0024] 下面结合具体实施例和附图对本实用新型作进一步的说明。

[0025] 如图1至图5所示,一种布鲁氏杆菌抗体快速定量检测系统,包括层析检测卡、层析扫描仪、客户端和云平台。所述层析扫描仪用于搭载层析检测卡,并对层析检测卡进行扫描;所述层析扫描仪无线连接客户端;客户端通过互联网连接云平台,该云平台用于储存布鲁氏杆菌抗体标准曲线。

[0026] 所述层析检测卡包括装配在外壳10内的试纸条,所述试纸条包括带压敏胶的塑料底板1,在塑料底板1上从左至右依次粘贴样品垫2、标记物垫3、硝酸纤维素膜4和吸水纸5,

且样品垫2的右端搭在标记物垫3的左端上,标记物垫3的右端搭在硝酸纤维素膜4的左端上,吸水纸5左端搭在硝酸纤维素膜4的右端上。所述硝酸纤维素膜4上包被布鲁氏杆菌脂多糖LPS单抗为检测线6,包被兔抗鸡IgY抗体为质控线7,在外壳10上对应样品垫2开设加样孔11,对应硝酸纤维素膜4上的检测线6和质控线7开设视窗孔12。

[0027] 作为层析检测卡的一种优选结构,所述层析检测卡的外壳10表面对应吸水纸5的位置开设有多个通孔13,有利于溶剂挥发出外壳10,确保检测结果准确,解决了现有技术的检测卡外壳采用封闭结构,溶剂无法挥发出去的技术问题,参见图6。

[0028] 为了保证挥发效果,在外壳10表面与吸水纸5大小相匹配的区域内等间距均匀开设通孔13。

[0029] 作为层析检测卡的另一种优选结构,所述试纸条倾斜固定在外壳10内,且样品垫2处于低端,吸水纸5处于高端。这种结构使得从加样孔11滴入的待测样品流速减缓,缓慢往上层析,保证足够的层析时间,能有效防止液体样品流动过快而影响检测结果,避免样品过快流入硝酸纤维素膜4导致检测结果失败。因为,如果待测样品流速过快,容易导致层析不充分,进而影响检测结果。试纸条倾斜的角度根据待测样品的不同具体进行设计。

[0030] 作为层析检测卡的另一种优选结构,所述层析检测卡的外壳10内设有容纳槽,且在检测卡本体的两侧对称设有2个容纳槽,在容纳槽内安装有片状干燥剂。这种设计使得干燥剂与检测卡本体保持在一起,使得检测卡本体湿度得到有效控制,从而提高检测精度。

[0031] 作为层析检测卡的另一种优选结构,还可以在层析检测卡的外壳10表面设置带盖的样品储存槽,可以封存样品。所述样品储存槽的盖顶面与外壳10表面齐平,盖上设有凹坑,方便使用者手指施力向外翻开盖。

[0032] 所述标记物垫3由载体基层和标记物组成,标记物为载体基层上喷涂镧系荧光检测微球和镧系荧光质控微球形成的一层膜,且标记物为标记有布鲁氏杆菌脂多糖LPS抗原的荧光检测微球和标记鸡IgY抗体的荧光质控微球。所述标记在生物原料上的镧系荧光微球的镧系荧光是指镧系元素Eu、Sm或Tb与 β -二酮配基产生的荧光。

[0033] 所述布鲁氏杆菌LPS脂多糖抗原是布鲁氏杆菌纯化的脂多糖LPS抗原。

[0034] 所述硝酸纤维素膜4上质控线采用的兔抗鸡IgY抗体为兔抗鸡IgY的IgG。

[0035] 在进行层析检测时,血样品中布鲁氏杆菌抗体与布鲁氏杆菌脂多糖LPS抗体标记物免疫反应形成复合物,竞争硝酸纤维素膜上包被布鲁氏杆菌LPS单抗,通过竞争法来检测猪、牛、羊和其他动物血样本中布鲁氏杆菌抗体。

[0036] 所述客户端内置有接收模块、数据处理模块、存储模块和通信模块,所述接收模块、存储模块和通信模块均与数据处理模块连接;接收模块用于接收层析扫描仪传递而来的数据,并传递给数据处理模块;数据处理模块进行数据分析并将结果传递给存储模块和通信模块;通信模块通过互联网连接云平台。所述客户端为带有上网功能的手机或平板电脑。

[0037] 通信模块通过互联网连接云平台从而实现与网络专家互动,实现云诊断,该云诊断是指网络专家通过互联网对客户进行诊断和指导服务,客户端支持数据统计,并根据网络专家需要通过客户端把统计数据传送给网络专家,寻求技术支持。

[0038] 工作原理:

[0039] 将待测样品进行稀释后,滴入层析检测卡的加样孔中,层析15分钟后,将层析检测

卡放入层析扫描仪进行扫描,层析扫描仪内的激发光源发出激发光,对层析检测卡进行照射,使得层析检测卡上的荧光微球被激发产生荧光,层析扫描仪逐点采集层析检测卡上的荧光信号强度值,进而完成整个层析检测卡的检测。所述层析扫描仪将检测数据通过蓝牙传递给客户端的接收模块,数据处理模块根据层析检测卡的荧光信号强度检测数据,计算出层析检测卡上质控线和检测线的荧光信号强度值,同时数据处理模块通过通讯模块从云平台获得被测样品的布鲁氏杆菌抗体的标准曲线,并储存在存储模块,数据处理模块根据标准曲线(质控线和检测线的荧光信号强度值与标准曲线的对照关系),计算得出被测样品中布鲁氏杆菌抗体的含量,并进行显示,检测结果储存在存储模块中和云平台。

[0040] 制备布鲁氏杆菌抗体检测标准曲线:

[0041] 配置含有布鲁氏杆菌抗体的校准液(含布鲁氏杆菌抗体标准品)6份,浓度分别为0、1/4、1/16、1/64、1/256、1/1024(布鲁氏杆菌抗体标准品倍比稀释)。将上述不同浓度的校准液分别加入装配好的检测卡的加样孔内,层析15分钟后,通过层析扫描仪进行检测,将6次得到的检测结果由客户端处理,客户端计算出标准品对应的检测线和质控线的荧光信号强度值,并根据此数据进行线性回归做出布鲁氏杆菌抗体的标准曲线,客户端将标准曲线传输至云平台储存,参见图4。

[0042] 所述客户端计算得出的标准曲线形成一个文件,并对应生成条形码,客户端通过扫描条形码可以从云平台提取该标准曲线。

[0043] 该检测卡的使用方法:将待检样品(以血清为例)与样品稀释液按1:50比例稀释,将稀释好的样本80 μ l加入加样孔11中,在吸水纸5的作用下,样本从样品垫2向吸水纸5方向移动。在避免强光照射的情况下层析15min,然后用层析扫描仪对检测卡进行检测,层析扫描仪获取检测线6和质控线7的荧光信号,层析扫描仪通过蓝牙把检测数据传到客户端,客户端根据检测数据计算出检测线的荧光信号强度值和质控线的荧光信号强度值,客户端通过扫描此批检测卡的条形码从云平台获得被检测布鲁氏杆菌抗体标准曲线,客户端根据标准曲线与质控线和检测线的荧光信号强度值的对照关系计算得出待测液中布鲁氏杆菌抗体的效价,参见图4的标准曲线。客户端可以为手机或平板电脑。

[0044] 上述检测卡的制备方法如下:

[0045] 步骤一,把硝酸纤维素膜粘贴在PVC底板上,采用点膜喷金专用机器在硝酸纤维素膜上喷涂已稀释至0.25mg/ml的羊抗鸡IgY的IgG形成质控线和已稀释至0.5mg/ml的布鲁氏杆菌LPS单抗(购置杭州亿米诺生物科技有限公司)形成检测线,喷量为1 μ l/cm,然后在37 $^{\circ}$ C的温度下烘制8小时;

[0046] 步骤二,制备标记有鸡IgY的镧系荧光微球和标记有布鲁氏杆菌脂多糖LPS抗原(购置杭州亿米诺生物科技有限公司)的镧系荧光微球,将1mL的镧系荧光微球加入到50mg的MES(2-(N-吗啡啉)乙磺酸)缓冲液(0.1M, pH7.0)中,再加入10mg碳二亚胺(EDC)和10mg N-羟基琥珀酰亚胺磺酸钠盐搅拌溶解,室温反应30分钟后进行离心操作,将离心沉淀物用50mM硼酸缓冲液(pH8.2)复溶,加入2mg透析过的鸡IgY,在室温条件下搅拌反应24小时,然后离心、封闭后,再在稀释液中保存(保存环境温度为2~8 $^{\circ}$ C),即得标记有鸡IgY的镧系荧光微球;采用上述同样的方法标记布鲁氏杆菌脂多糖LPS抗原的镧系荧光微球;

[0047] 步骤三,把标记有鸡IgY和标记有布鲁氏杆菌脂多糖LPS重组抗原的镧系荧光微球并分别稀释至浓度0.1 μ g/ml和3 μ g/ml,采用点膜喷金机器将其喷涂在载体基层上构成标记

垫,喷量为2.5 $\mu\text{l}/\text{cm}$,然后在37℃的温度下烘制8小时;

[0048] 步骤四,把样品垫、标记垫、吸水纸依次粘在PVC底板上,组装成大卡,再用剪切机切割成5mm宽的试纸条,装配在检测卡外壳内,即得到本布鲁氏杆菌抗体检测卡。

[0049] 以上所述仅为本实用新型的较佳实施例而已,并不用以限制本实用新型,凡在本实用新型的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换和改进等,均应包含在本实用新型的保护范围之内。

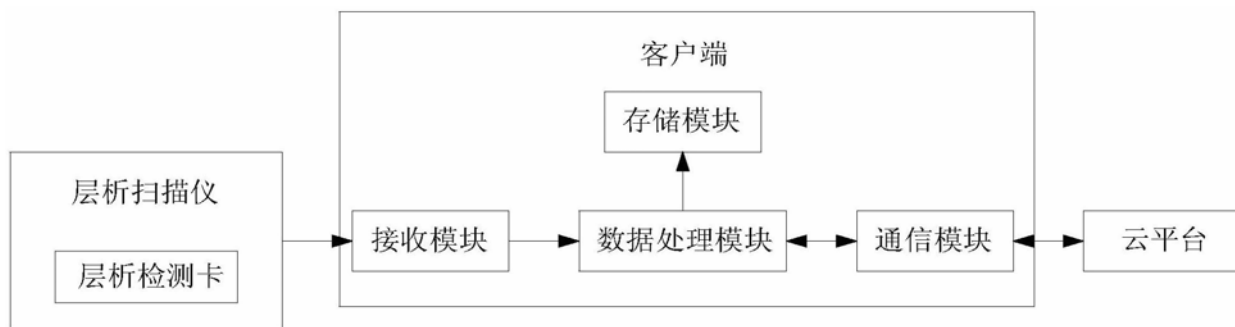


图1

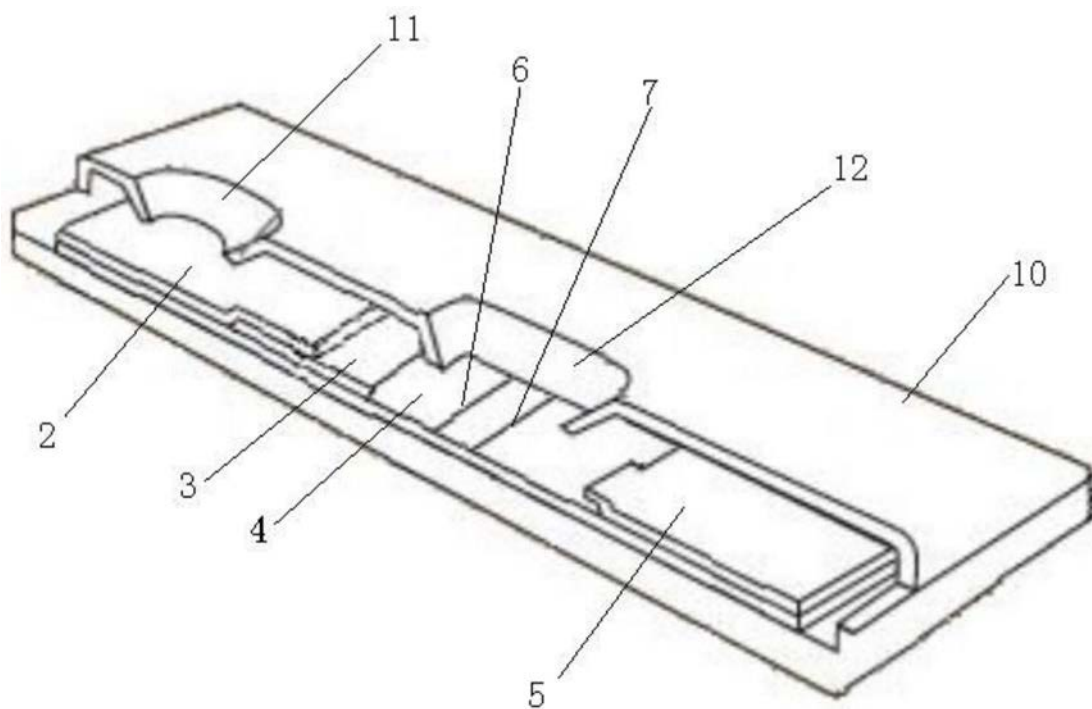


图2

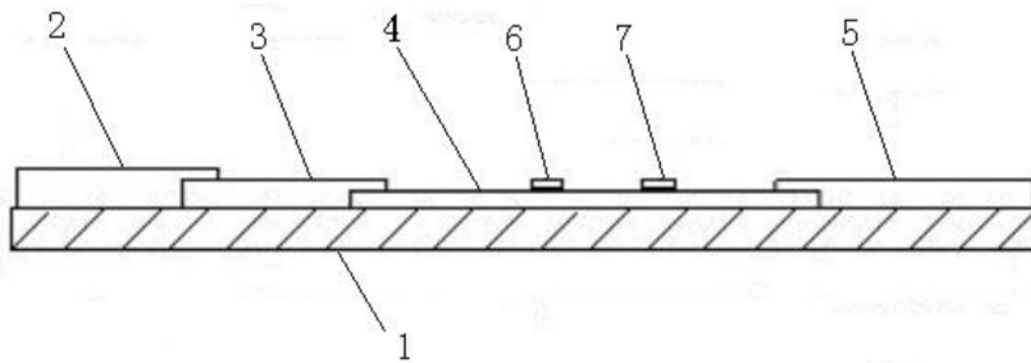


图3

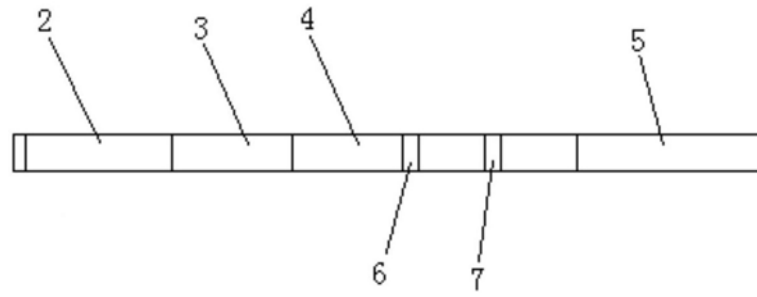


图4

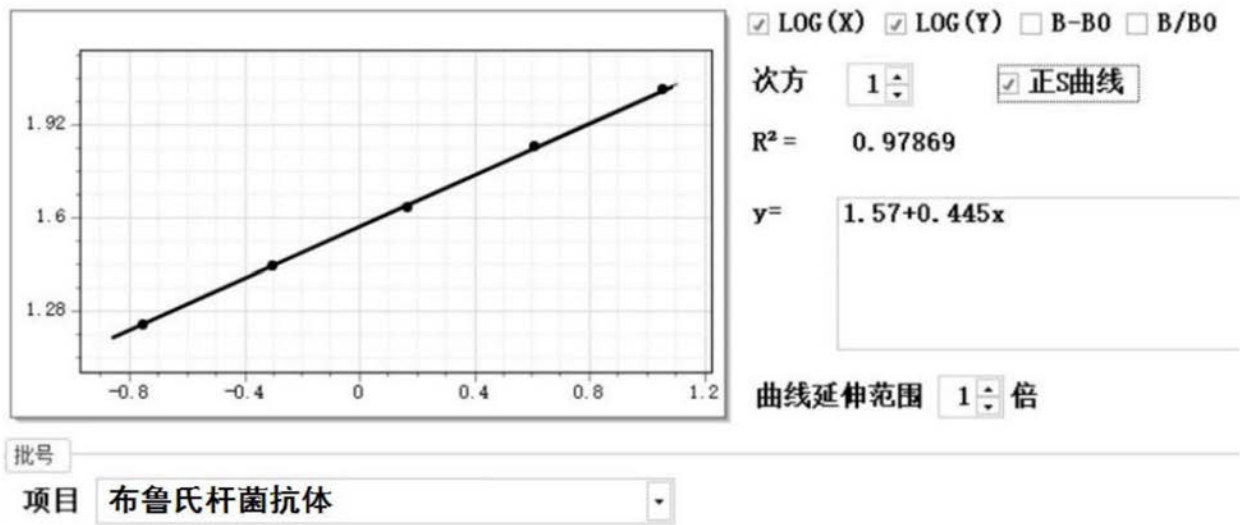


图5

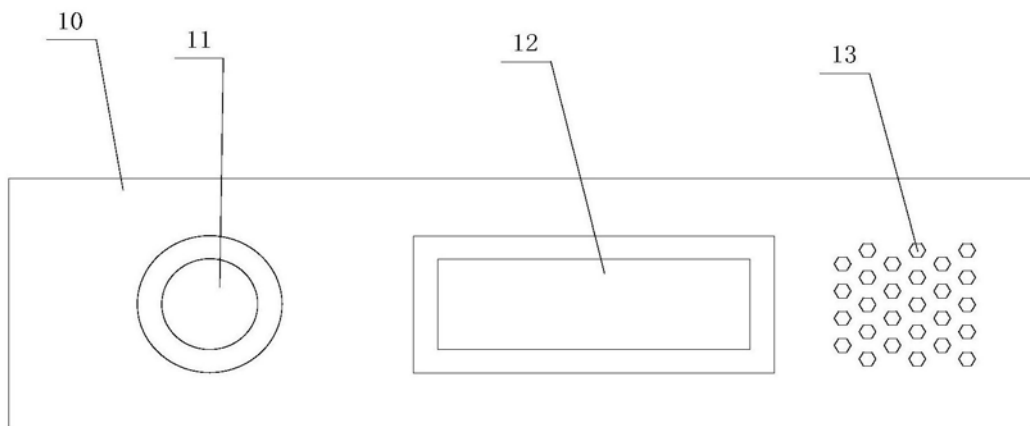


图6

专利名称(译)	布鲁氏杆菌抗体快速定量检测系统		
公开(公告)号	CN208621626U	公开(公告)日	2019-03-19
申请号	CN201721431777.9	申请日	2017-11-01
[标]申请(专利权)人(译)	成都微瑞生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	成都微瑞生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	成都微瑞生物科技有限公司		
[标]发明人	吴冠英 吴俊清 章健 王泽洲		
发明人	吴冠英 吴俊清 章健 王泽洲		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/558 G01N33/58 G01N33/533		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本实用新型公开了一种布鲁氏杆菌抗体快速定量检测系统，包括层析检测卡、层析扫描仪、客户端和云平台；所述层析扫描仪用于搭载层析检测卡，并对层析检测卡进行扫描；所述层析扫描仪无线连接客户端；客户端通过互联网连接云平台。该云平台用于储存被测布鲁氏杆菌抗体标准曲线。所述层析检测卡的硝酸纤维素膜上包被布鲁氏杆菌脂多糖LPS单抗为检测线，包被兔抗鸡IgY抗体为质控线，标记物为荧光检测微球偶联的布鲁氏杆菌脂多糖LPS抗原和鸡IgY抗体纳米微球混合物。本实用新型可实现布鲁氏杆菌抗体现场快速定量检测，对于实时快速监测和评价疫苗免疫效果，制定科学防控策略及评价动物群体抗具有重要的意义。

