

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200610072299.7

[51] Int. Cl.

G01N 33/569 (2006.01)

G01N 33/558 (2006.01)

G01N 33/532 (2006.01)

[43] 公开日 2006 年 9 月 20 日

[11] 公开号 CN 1834650A

[22] 申请日 2006.4.18

[21] 申请号 200610072299.7

[71] 申请人 中国人民解放军军事医学科学院微生物流行病学研究所

地址 100071 北京市丰台区东大街 20 号

[72] 发明人 端 青 朱 虹 何 君 檀 华

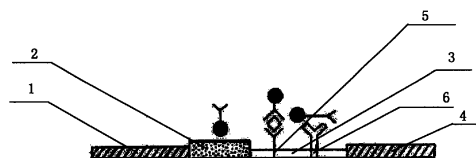
权利要求书 1 页 说明书 8 页 附图 1 页

[54] 发明名称

一种检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸及其制备方法

[57] 摘要

本发明公开了一种检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸及其制备方法。该检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸，包括样品垫 1、紧密连接于所述样品垫一端的含有鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体标记胶体金探针的金标垫 2、与所述金标垫的另一端紧密连接的硝酸纤维素膜(NC 膜)3 和紧密连接于所述硝酸纤维素膜另一端的吸水垫 4；所述硝酸纤维素膜包被有相互分离的检测线 5 和质控线 6，所述检测线为鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体，所述质控线为抗兔抗抗体。本发明用于临床标本、污染物和环境中的鼻疽伯克霍尔德氏菌抗原的检出，也可用于纯培养鼻疽伯克霍尔德氏菌的鉴定。



1、一种检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸，包括样品垫（1）、紧密连接于所述样品垫一端的含有鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体标记胶体金探针的金标垫（2）、与所述金标垫的另一端紧密连接的硝酸纤维膜（3）和紧密连接于所述硝酸纤维膜另一端的吸水垫（4）；所述硝酸纤维膜包被有相互分离的检测线（5）和质控线（6），所述检测线为鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体，所述质控线为能与所述鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体特异结合的抗抗体。

2、根据权利要求1所述的检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸，其特征在于：质控线优选为抗兔抗抗体。

3、根据权利要求1所述的检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸，其特征在于：所述样品垫、吸水垫、金标垫均由吸水材料制成；所述吸水垫的下面还紧密连接有背板。

4、一种制备检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸的方法，包括以下步骤：

1）制备鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体，将鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体溶液喷到纤维膜上，包被 NC 膜的一个区域，得到检测线；抗兔抗抗体溶液喷到纤维膜上，包被 NC 膜的另一区域，得到质控线；37℃干燥 2.5-5.5 小时，然后将其粘贴在吸水纸垫上。

2）制备胶体金标探针，采用柠檬酸盐还原法制备胶体金颗粒，具体方法为：将 HAuCl_4 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% 柠檬酸三钠（ $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ）水溶液，液体颜色稳定成葡萄酒红色，即得到胶体金溶液。用 0.2 M K_2CO_3 调节胶体金溶液 pH9.2-9.5，按 30 $\mu\text{g/ml}$ 加入鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体，搅拌 20-25 分钟，然后加入 10% BSA 5ml，搅拌 20-25 分钟，加 1ml 10% PEG20000，搅拌 20-25 分钟，2800-2900rpm 离心 10-15 分钟，吸出上清，10000-12000rpm 离心 25-35 分钟，弃上清；沉淀用四硼酸钠洗涤一次后用四硼酸钠保存液收集沉淀 5 ml。所述百分含量均为质量百分含量。

3）制备含有鼻疽菌抗体标记免疫胶体金探针溶液；取 5ml，加入 0.5-0.65g 蔗糖充分溶解，将玻璃纤维膜或聚脂膜浸入该免疫胶体金探针溶液，得到金标垫，-20℃~-50℃放置 10-11 小时后，冻干机抽干，将其粘贴在步骤 1）得到的纤维膜的靠近所述检测线的一端。

4）将在步骤 2）中得到的金标垫上面再粘贴样品垫，得到检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸。

5、根据权利要求 4 所述的方法，其特征在于：所述鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体的浓度为 2mg/ml；抗兔 IgG 浓度为 4mg/ml；所述吸水垫的下面还粘贴有背板；所述调节 pH 值的 K_2CO_3 的浓度为 0.2M。。

6、含有权利要求 1-3 中任一所述的检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸的试剂盒。

一种检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸及其制备方法

技术领域

本发明涉及一种检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的试纸，特别涉及一种检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸，还涉及其制备方法。

背景技术

鼻疽是由鼻疽伯克霍尔德氏菌 (*Burkholderia mallei*) 引起的一种致死性和传播性均很强的细菌性疾病。鼻疽菌曾命名为鼻疽费氏杆菌 (*Pfeifferella mallei*, 1918)、鼻疽恶病杆菌 (*Malleonydes mallei*, 1933)、鼻疽放线菌 (*Adtinoei mallei*, 1933)、鼻疽吕氏杆菌 (*Loeffferella mallei*, 1935)、鼻疽不动杆菌 (*Acinetobacter mallei*, 1964) 和鼻疽假单胞菌 (*Pseudomonas mallei*, 1966)，1993 年命名为鼻疽伯克霍尔德氏菌。

由于鼻疽菌容易获得，致病性强，致死率高，如未及时治疗，病死率高达 100%。被公认为经典的生物战剂，已被列入《国际禁止生物武器公约》核查清单。第一次世界大战期间，德国间谍在东部战场蓄意用鼻疽菌感染了大批俄罗斯的马和牛，使战后俄罗斯人鼻疽的发病数增加；第二次世界大战期间，日本人在中国的哈尔滨研究可能使用的生物武器，蓄意将马、平民和战俘感染上鼻疽；二战后美国和前苏联一直将鼻疽菌作为潜在的生物武器研究。“9.11”以后，美国国家反恐预案将鼻疽菌列为可能用于生物恐怖袭击的烈性病原微生物。因此，鼻疽菌的快速检测是反生物恐怖的重要内容 (Bossi P, Guihot A, Bricaire F. *Emerging or re-emerging infections that can be used for bioterrorism Presse Med.* 2005 Jan 29;34(2 Pt 2):149-155)。

鼻疽菌检测的经典方法：鼻疽的临床表现复杂易变，不易诊断，必须借助实验室的试验结果做判断，包括细菌学检查和血清学试验。

临床采集患者鼻腔分泌物、痰、皮肤溃疡分泌物或脓肿穿刺物，直接涂片镜检，同时接种 4% 甘油肉汤琼脂，按照分离培养、生化反应、玻片血清凝集和动物感染试验程序检验。

鼻疽菌为两端钝圆的革兰氏阴性杆菌，3~5 μm 长，0.5~1 μm 宽，散在分

布，无鞭毛，无芽孢，无荚膜。鼻疽菌为需氧菌，在4%甘油琼脂上生长良好。

根据生化反应和动力试验可将鼻疽菌与类鼻疽菌和绿脓假单胞菌区别开。

聚合酶链反应（PCR）是鼻疽菌快速检测方法中最常用的技术，最初根据鼻疽菌23S rRNA基因设计引物：CVMP231：5' AAA CCG ACA CAG GTG G 3'；M232：5' CAC CGA AAC TAG CA 3'，用于鼻疽菌的鉴定（Adolf Bauernfeind, Carsten Roller Molecular procedure for rapid detection of *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei*. J.Clin.Microbiol, 1998, 36:2737-2741）；应用鼻疽菌23S rRNA基因设计引物，也可获得明确的鼻疽菌鉴定结果（Gee JE, Sacchi CT, Glass MB, De BK. Use of 16S rRNA gene sequencing for rapid identification and differentiation of *Burkholderia pseudomallei* and *B. mallei*. J Clin Microbiol. 2003, 41(10):4647-4654）；近年来将实时定量PCR（real-time PCR）技术用于临床标本中鼻疽菌的检测，可检出1~10cfu/ml鼻疽菌（Tomaso H, Scholz HC, Al Dahouk S, Eickhoff M Development of a 5'-nuclease real-time PCR assay targeting *fliP* for the rapid identification of *Burkholderia mallei* in clinical samples. Clin Chem. 2006, 52(2):307-310; Novak RT, Glass MB, Gee JE, Gal D, Mayo MJ. Development and evaluation of a real-time PCR assay targeting the type III secretion system of *Burkholderia pseudomallei* J Clin Microbiol. 2006;44(1):85-90）。

免疫胶体金技术是近年来迅速发展的快速检测技术，该技术与其它方法比较，优势在于：检测过程中标本处理简单，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，很适合突发事件现场和基层使用。

目前尚无见到免疫层析试纸检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的报道。

发明内容

本发明的目的是提供一种检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸（Immuno-Chromatographic Assay, ICA）。

本发明所提供的检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸，包括样品垫、紧密连接于所述样品垫的含有鼻疽伯克霍尔德氏菌特异性抗体标记胶体金探针的金标垫、与所述金标垫紧密连接的硝酸纤维素膜（NC膜）和紧密连接于所述硝

酸纤维膜另一端的吸水垫；所述硝酸纤维膜包被有相互分离的一条检测线和一条质控线，所述检测线为鼻疽伯克霍尔德氏菌特异性抗体，所述质控线为能与所述鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体特异结合的抗抗体。

所述鼻疽伯克霍尔德氏菌特异性抗体优选为兔抗体，所述质控线优选为抗兔抗体。

检测样品时可将检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸的样品垫直接浸于样品中；为了使用更加方便，所述吸水垫的下面还紧密连接有背板，背板的材料可以是多种多样的，如塑料、聚氯乙烯板（PVC板）等。再将该带有背板的试纸装入试剂盒中，该试剂盒对应于样品垫的部位设有点样口，对应于检测线和质控线的部位设有观测窗。

本发明的第二个目的是提供一种制备上述检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸的方法。

本发明所提供的制备上述检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸的方法，包括以下步骤：

1) 制备鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体，将鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体溶液喷到纤维膜上，包被 NC 膜的一个区域，得到检测线；将抗兔 IgG 的抗抗体溶液喷到纤维膜上，包被 NC 膜的另一区域，得到质控线；37℃干燥 2.5-5.5 小时，然后将其粘贴在吸水纸垫上。

2) 制备含有鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体标记免疫胶体金探针溶液：取 5ml，加入 0.5-0.65g 蔗糖充分溶解，将玻璃纤维膜或聚脂膜浸入该免疫胶体金探针溶液，得到金标垫，-20℃~-50℃放置 10-11 小时后，冻干机抽干，将其粘贴在步骤 1) 得到的纤维膜的靠近所述检测线的一端。

3) 将在步骤 2) 中得到的金标垫上面再粘贴样品垫，得到检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸。

为了使用更加方便，所述吸水垫的下面还粘贴背板。

本发明所述鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体标记胶体金探针可由下述方法制备：

1) 将 HAuCl_4 配制成 0.01% 水溶液，取 100ml 加热至沸，搅动下准确加入 1.6ml 的 1% 柠檬酸三钠 ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 水溶液，直到液体颜色稳定成葡萄酒红色，得到胶体金溶液，冷却后用水恢复至原体积；

2) 用 K_2CO_3 或 HCl 调 pH 值为 9.2-9.5，按 $30 \mu\text{g/ml}$ 加入鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体。搅拌 20-25 分钟，然后加入 10% BSA 5ml，搅拌 20-25 分钟，加 1ml 10%

PEG20000, 搅拌 20-25 分钟, 2800-2900rpm 离心 10-15 分钟, 吸出上清, 10000-12000rpm 离心 25-35 分钟, 弃上清; 沉淀用四硼酸钠洗涤一次后用四硼酸钠保存液收集, 得到胶体金标探针。

所述调节 pH 值的 K_2CO_3 的浓度可为 0.15-0.25M, 优选为 0.2M; 所述调节 pH 值的 HCl 的浓度可为 0.05-0.2M, 优选为 0.1M。

免疫胶体金技术检测鼻疽菌抗原的基本原理是: 用鼻疽菌特异性抗体包被硝酸纤维素 (NC) 膜, 用以捕捉标本中的鼻疽菌或鼻疽菌抗原, 然后用标记了特异性抗体的免疫胶体金探针检测。标本中的鼻疽菌或鼻疽菌抗原经过 5 分钟左右的纸层析后, 即出现肉眼可见的沉淀线。

鼻疽伯克霍尔德氏菌多糖抗原是鼻疽菌的特异性抗原。因此, 用鼻疽伯克霍尔德氏菌有毒株制备含丰富多糖抗原的全菌体抗原免疫动物, 可以得到鼻疽伯克霍尔德氏菌特异性抗体。本发明的免疫层析试纸采用双抗体夹心法, 将抗鼻疽伯克霍尔德氏菌特异性抗体包被在硝酸纤维素膜上, 用于捕捉标本中的鼻疽伯克霍尔德氏菌抗原, 然后用特异性抗体标记的免疫胶体金探针进行检测。

本发明研制的鼻疽菌抗原快速检测试剂 (胶体金法) 实验室考核结果显示, 可检测标本中鼻疽菌 10^6 cfu /ml, 并且不与相关细菌发生交叉。

本发明的优势在于检测过程中标本处理简单, 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, 很适合突发事件现场和基层使用。

附图说明

图 1 为鼻疽伯克霍尔德氏菌免疫层析试纸的结构示意图。免疫层析试纸由吸水垫 4、硝酸纤维膜 3、金标垫 2 和玻璃纤维膜样品垫 1 四部分组成; 硝酸纤维膜 3 上包被有检测线 5 和质控线 6。

具体实施方式

主要材料: 氯金酸 ($HAuCl_4$) (购自 Sigma 公司, 1g/瓶包装); 硝酸纤维膜 (NC 膜)、样品垫和吸水滤纸 (购自 Millipore 公司)。

实施例中所用到的菌种均由军事医学科学院微生物流行病学研究所菌种库提供: 鼻疽伯克霍尔德氏菌 (保藏号: 350018), 引自农林部中监所; 类鼻疽 4 株 (越南株、广东株、广西株、海南株各 1 株)、绿脓假单胞菌 3 株。

下述实施例中的实验方法，如无特别说明，均为常规方法。

下述实施例中的百分含量，如无特别说明，均为质量百分含量。

实施例 1、检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸的制备

1、鼻疽伯克霍尔德氏菌特异性抗体的制备

1) 鼻疽伯克霍尔德氏菌抗原的制备

鼻疽菌（保藏号 350018）接种含 4%甘油普通琼脂平板上，37℃ 孵箱培养，观察平板上菌落形态，挑取典型的单个菌落，转种 4%甘油普通琼脂斜面，37℃ 孵箱中培养 24-28 小时。用 5%甲醛盐水洗下粘稠菌苔于盐水瓶中，放置 37℃ 过夜。无菌试验观察 7-8 天，证明无活菌后，将菌液 10,000g-12,000g 离心 10-15 分钟，收集沉淀，用无菌生理盐水配制成 2 倍比浊浓度（约 10^9 cfu 菌/ml），即为鼻疽伯克霍尔德氏菌抗原。

2) 鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体的制备

选用体重 2kg 健康雌性大耳白家兔（购自中国人民解放军军事医学科学院动物中心），皮下多点注射免疫福氏完全佐剂鼻疽菌菌体抗原 2×10^8 cfu 菌/1ml/只，分别于初次免疫后的第 20 日、第 30 日、第 40 日追加免疫水剂 1 针，追加剂量和途径与初次相同，末次免疫后 10 天试血，玻片凝集试验检测血清效价达到 1:1280 以上采血。

采用常规的饱和硫酸铵盐析法对血液中的鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体进行纯化，经琼脂双向扩散法鉴定获得的抗体具有较好的特异性和亲和性。

2、制备免疫胶体金探针

1) 制备胶体金溶液：采用柠檬酸盐还原法制备胶体金颗粒，具体方法为：将 HAuCl_4 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% 柠檬酸三钠（ $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ）水溶液，液体颜色稳定成葡萄酒红色，即得到胶体金溶液。

2) 确定胶体金偶联抗体饱和浓度：用 0.2 M K_2CO_3 调节胶体金溶液 pH9.2，准备 5 支洁净试管，分别加入 1ml 胶体金溶液。将经纯化的鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体稀释为 1mg/ml，分别向 4 支试管中加入 20 μl 、25 μl 、30 μl 、35 μl ，另一支为对照，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最少抗体量，即为稳定 1ml 胶体金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

抗体饱和浓度。结果表明：维持胶体金溶液颜色不变的抗体量为 $25 \mu\text{l}$ ，即 $25 \mu\text{g/ml}$ ，选择偶联抗体浓度为 $30 \mu\text{g/ml}$ 。

3) 金标垫 2 的制备：按上述方法配制含有浓度为 $30 \mu\text{g/ml}$ 的鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体的免疫胶体金探针溶液 50ml。搅拌 20-25 分钟，然后加入 10% BSA 5ml，搅拌 20-25 分钟，加 1ml 10% PEG20000，搅拌 20-25 分钟，2800-2900rpm 离心 10-15 分钟，吸出上清，10000-12000rpm 离心 25-35 分钟，弃上清；沉淀用四硼酸钠洗涤一次后用四硼酸钠保存液收集沉淀 5 ml。取金标探针 5ml 加入 0.5-0.65g 蔗糖，充分溶解均匀加在玻璃纤维膜上， $-20^{\circ}\text{C} \sim -50^{\circ}\text{C}$ 放置 10-11 小时，冻干机抽干，得到金标垫 2。

3、检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸的制备

如图 1 所示，检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸由吸水垫 4、硝酸纤维素膜 3、金标垫 2 和玻璃纤维膜样品垫 1 四部分组成；硝酸纤维素膜 3 上包被有检测线 5 和质控线 6。制备方法包括以下步骤：

1) NC 膜 3 的包被

鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体和羊抗兔 IgG 的包被：用 0.01M pH7.2 PB 稀释鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体至终浓度为 2mg/ml ，用于包被检测线。用 0.01M pH 7.2 的 PBS 稀释羊抗兔 IgG 至终浓度为 4mg/ml ，用于包被质控线。用 BIODOT 公司 XYZ3000 喷膜机分别喷于 300mm 长、25mm 宽硝酸纤维素膜上，形成相互分离的检测线 5 和质控线 6， 37°C 干燥 2.5-5.5h。

2) 检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸的制备

将吸水纸垫 4 用双面胶粘贴于上述包被有鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体和羊抗兔 IgG 的 NC 膜 3 靠近质控线的一端；将在步骤 2 中制备的金标垫 2 用双面胶粘贴于 NC 膜 3 靠近检测线的一端；再在金标垫 2 的上用双面胶粘贴玻璃纤维膜样品垫 1；最后将它们用双面胶粘贴在塑料背板上，按所需大小切割，即为检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸，加干燥剂后密封保存。

4、检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试剂盒的制备

为了方便使用，将步骤 3 制备的检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸的下面再紧密连接一塑料背板，再将该带有背板的试纸装入试剂盒中，加干燥剂后密封保存。该试剂盒对应于样品垫的部位设有点样口，对应于对照带和测试带的部位设有观测窗。

5、检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸的使用方法和原理

测定时将试纸条样品垫1浸入液体标本中,样品垫1即吸取液体向上端移动,流经金标垫2时使干片上的免疫金复合物复溶,并带动其向硝酸纤维膜3渗移。若标本中有待测特异抗原,其可与免疫金复合物的抗体结合,此抗原抗体复合物流至检测线5即被固相抗体所获,在膜上显出红色反应线条。过剩的免疫金复合物继续前行,至质控线6与固相二抗结合,而显出红色质控线条。反之,阴性标本则无反应线条,而仅显示质控线条。

实施例2、鼻疽菌的检测及与其它相关细菌的交叉试验

1、鼻疽菌的检测

1) 由军事医学科学院微生物流行病研究所微生物检验研究中心提供、鼻疽菌350018株,鼻疽菌350019株,浓度均为 1×10^6 cfu/ml,菌悬液作为样品检测液备用。

2) 经实施例1制备的包被鼻疽菌特异性抗体和羊抗兔IgG的免疫层析试纸检测均为阳性结果。

2、其他相关细菌的交叉试验

1) 由军事医学科学院微生物流行病研究所微生物检验研究中心提供、类鼻疽菌350102株,绿脓假单胞菌430023株,浓度均为 1×10^8 cfu/ml,菌悬液作为样品检测液备用。

2) 经实施例1制备的包被鼻疽菌特异性抗体和羊抗兔IgG的免疫层析试纸检测均为阴性结果。

实施例3、实验室考核

1、样品制备

将不同细菌分别接种各自适宜的培养基,并在不同的条件下培养,长出菌苔后用无菌生理盐水洗下,比浊法配制鼻疽菌菌悬液 1×10^6 cfu/ml、 1×10^7 cfu/ml和 1×10^8 cfu/ml,其它细菌菌悬液 1×10^8 cfu/ml,作为检测液备用。

2、实验方法

取鼻疽菌抗原快速检测试剂,分别于样品垫上加入上述样品检测液3滴(约 $150 \mu\text{l}$),2分钟后开始观察结果,15分钟观察终止。结果报告:质控线处出现1条沉淀线为阴性,即无鼻疽菌抗原检出;检测线和质控线处出现2条沉淀线为阳性,即有鼻疽菌抗原检出。

3、实验结果

鼻疽菌抗原快速检测试剂（胶体金法）实验室考核结果见表 1。

表 1 鼻疽菌抗原快速检测试剂（胶体金法）实验室考核

细菌名称	株 号	菌 量 (cfu /ml)		
		10^6	10^7	10^8
鼻疽菌	350011	+	+	+
	350017	+	+	+
	350018	+	+	+
	350019	+	+	+
类鼻疽菌	350101（越南株）			—
	350103（海南株）			—
	350129（广东株）			—
	350139（广西株）			—
绿脓假单胞菌	430022			—
	430023			—
	430024			—

从表 1 可以看出，鼻疽菌抗原快速检测试剂（胶体金法）可以检测出 1×10^6 cfu/ml 鼻疽菌不同株，不与 1×10^8 cfu/ml 类鼻疽伯克霍尔德菌不同地区分离株和绿脓假单胞菌发生交叉反应。

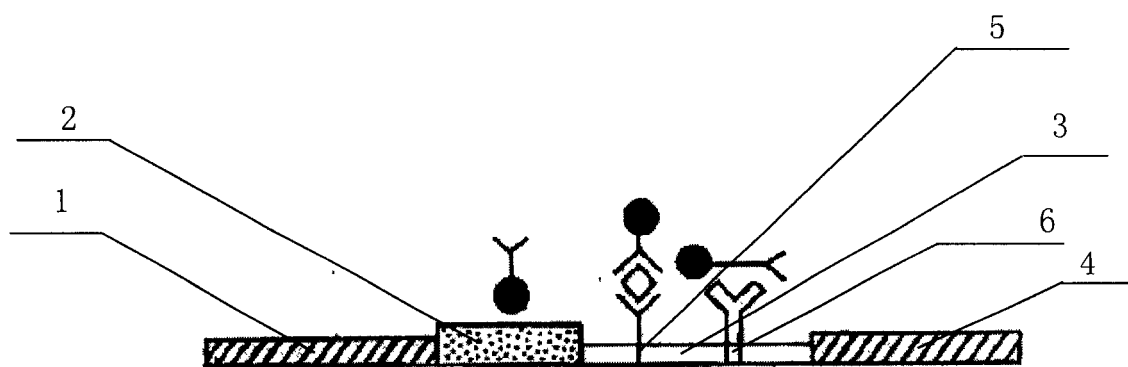


图 1

专利名称(译)	一种检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸及其制备方法		
公开(公告)号	CN1834650A	公开(公告)日	2006-09-20
申请号	CN200610072299.7	申请日	2006-04-18
[标]申请(专利权)人(译)	中国人民解放军军事医学科学院微生物流行病学研究所		
申请(专利权)人(译)	中国人民解放军军事医学科学院微生物流行病学研究所		
当前申请(专利权)人(译)	中国人民解放军军事医学科学院微生物流行病学研究所		
[标]发明人	端青 朱虹 何君 檀华		
发明人	端青 朱虹 何君 檀华		
IPC分类号	G01N33/569 G01N33/558 G01N33/532		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸及其制备方法。该检测鼻疽伯克霍尔德氏菌的免疫层析试纸，包括样品垫1、紧密连接于所述样品垫一端的含有鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体标记胶体金探针的金标垫2、与所述金标垫的另一端紧密连接的硝酸纤维素膜(NC膜)3和紧密连接于所述硝酸纤维素膜另一端的吸水垫4；所述硝酸纤维素膜包被有相互分离的检测线5和质控线6，所述检测线为鼻疽伯克霍尔德氏菌抗体，所述质控线为抗兔抗抗体。本发明用于临床标本、污染物和环境中鼻疽伯克霍尔德氏菌抗原的检出，也可用于纯培养鼻疽伯克霍尔德氏菌的鉴定。

