



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102087294 B

(45) 授权公告日 2014. 08. 20

(21) 申请号 201010620089. 3

(22) 申请日 2010. 12. 31

(73) 专利权人 广州万孚生物技术股份有限公司
地址 510663 广东省广州市萝岗区科学城荔
枝山路 8 号

(72) 发明人 王继华 李国存

(74) 专利代理机构 广州华进联合专利商标代理
有限公司 44224
代理人 万志香 胡杰

JP 2004132892 A, 2004. 04. 30,
EP 1674868 A1, 2006. 06. 28,
CN 1580778 A, 2005. 02. 16,
JP 2008014751 A, 2008. 01. 24,
邱少富等. 胶体金免疫层析技术在疟疾诊断
中的应用. 《微生物学免疫学进展》. 2006, 第 34
卷 (第 2 期),
范培昌等. 快速诊断疟疾的免疫层析试条的
研制. 《分析科学学报》. 2000, 第 16 卷 (第 5 期),
审查员 杨冀川

(51) Int. Cl.

- G01N 33/68 (2006. 01)
- G01N 33/577 (2006. 01)
- G01N 33/573 (2006. 01)
- G01N 33/558 (2006. 01)
- G01N 33/532 (2006. 01)

(56) 对比文件

- CN 101241136 A, 2008. 08. 13,
- CN 101852799 A, 2010. 05. 19,

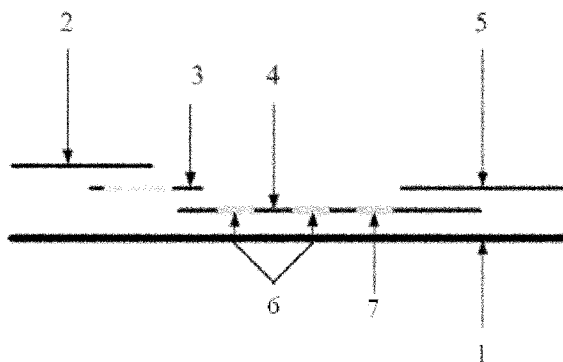
权利要求书2页 说明书6页 附图1页

(54) 发明名称

一种疟疾免疫层析快速检测试纸条及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种疟疾免疫层析快速检测试纸条及制备方法,所述试纸条由样品垫、标记垫、包被膜、吸水纸顺次搭接粘贴在底衬上构成,标记垫上涂覆有彩色胶乳颗粒标记的恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体,包被膜包括检测区和控制区,所述检测区包被与标记垫上的单克隆抗体处于不同表位的恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体,所述控制区包被抗鼠 IgG 单克隆抗体。本发明的试纸条提高了在疟疾筛查的准确性和便捷性;操作简便,具有快速、简便、直观的优点。



1. 一种疟疾免疫层析快速检测试纸条,所述试纸条由样品垫(2)、标记垫(3)、包被膜(4)、吸水纸(5)顺次搭接粘贴在底衬(1)上构成,其特征在于,所述标记垫(3)上涂覆有彩色胶乳颗粒标记的恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体,所述包被膜(4)包括检测区(6)和控制区(7),所述检测区(6)包被与标记垫(3)上的单克隆抗体处于不同表位的恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体,所述控制区(7)包被抗鼠 IgG 单克隆抗体;

所述标记垫上恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体与彩色胶乳颗粒的比例为 1:5 ~ 1:30,所述非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体与彩色胶乳颗粒的比例为 1:5 ~ 1:30;

所述彩色胶乳颗粒标记的恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体的浓度均为 5 ~ 15 $\mu\text{g/ml}$,涂敷在标记垫上的稀释参数为 20 cm^2/ml ~ 30 cm^2/ml ;

所述包被膜上恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和所述非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体在所述检测区的包被浓度均为 1.5 mg/ml ~ 2.0 mg/ml ;所述抗鼠 IgG 单克隆抗体在所述控制区的包被浓度为 1.0 mg/ml ~ 2.0 mg/ml ;

所述恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体在检测区的包被用量均为 0.10 $\mu\text{l/mm}$ ~ 0.25 $\mu\text{l/mm}$;所述抗鼠 IgG 单克隆抗体在控制区的包被用量为 0.10 $\mu\text{l/mm}$ ~ 0.30 $\mu\text{l/mm}$ 。

2. 根据权利要求 1 所述的疟疾免疫层析快速检测试纸条,其特征在于,所述恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体在所述检测区的包被浓度为 1.7 mg/ml ;所述非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体在所述检测区的包被浓度为 2.0 mg/ml ;所述抗鼠 IgG 单克隆抗体在所述控制区的包被浓度为 2.0 mg/ml 。

3. 一种制备权利要求 1 所述的疟疾免疫层析快速检测试纸条的方法,其特征在于,包括以下步骤:

A. 按常规方法纯化恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体的生产菌株;

B. 筛选制备多株富组氨酸蛋白 II 和疟原虫乳酸脱氢酶的单克隆抗体;按常规方法,经过筛选配对筛选合适的两株恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和两株非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体;所述两株恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和两株非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体均分别是相同抗原处于不同的表位单抗;

C. 彩色胶乳标记单克隆抗体

采用彩色胶乳标记一株恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体;所述恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体的浓度均为 5 ~ 15 $\mu\text{g/ml}$,按稀释参数为 20 cm^2/ml ~ 30 cm^2/ml ,将所述恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体喷点标记垫(3)上,然后将标记垫(3)烘干,密封;

D. 将另一株恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体均稀释至 1.5 mg/ml ~ 2.0 mg/ml ,按 0.10 $\mu\text{l/mm}$ ~ 0.25 $\mu\text{l/mm}$ 的包被用量分别包被至包被膜(4)的检测区的 T1 线和 T2 线;将抗鼠 IgG 单克隆抗体稀释至 1.0 mg/ml ~ 2.0 mg/ml ;

ml,按 $0.10 \mu\text{l}/\text{mm} \sim 0.30 \mu\text{l}/\text{mm}$ 的包被用量包被至包被膜 (4) 的控制区;

E. 将样品垫 (2)、标记垫 (3)、包被膜 (4) 和吸水纸 (5) 顺次粘贴在底衬 (1) 上,即得。

4. 根据权利要求 3 所述的疟疾免疫层析快速检测试纸条的制备方法,其特征在于,所述包被膜上 T1 线和 T2 线之间的间距为 3mm-5mm。

一种疟疾免疫层析快速检测试纸条及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于医学检验领域,具体地说,本发明涉及一种恶性疟(P. f)和非恶性疟(P. v、P. o、P. m)快速联测的免疫层析检测试纸条及其制备方法。

背景技术

[0002] 疟疾(Malaria)是一种严重危害人类健康的虫媒传染病,寄生于人体的疟原虫有四种:恶性疟原虫(Plasmodium falciparum)、间日疟原虫(Plasmodium vivax)、三日疟原虫(Plasmodium malariae)和卵形疟原虫(Plasmodium ovale)。我国以前二种为常见。血检疟原虫迄今仍是确诊疟疾最可靠的方法,此法能鉴别虫种和虫期,但耗时、费力,需要熟练的技术人员和一定的实验室条件。对于疟疾的实验室诊断主要是依靠病毒分离培养,虫体形态学观察、PCR和免疫学方法ELISA进行鉴定。虽然灵敏度高,但是需要时间长,往往不便于现场检测。因此,寻找快速、敏感、特异的疟原虫检测方法是当今疟疾防治工作中迫切需要解决的问题之一。

[0003] 免疫层析技术在疟疾诊断中的运用主要是检测3种靶抗原:富组氨酸蛋白(HRP-II)、疟原虫乳酸脱氢酶(pLDH)和疟原虫谷氨酸脱氢酶(pGDH)。(1)HRP-II是恶性疟原虫消化血红蛋白后形成的代谢产物,由血液期无性体和早期配子体合成,含有大量组氨酸,具有种特异性,由于是水溶性抗原其可在疟疾患者的血浆、尿、全血中检测到,是诊断恶性疟的理想靶抗原。(2)pLDH是疟原虫体内代谢酶,红内期疟原虫无性期和配子体期均有表达,其物理生化、免疫学特性、酶催化作用等与人体红细胞和其他许多微生物的乳酸脱氢酶(LDH)差异性大,疟原虫LDH具有种属特异性,可以作为免疫诊断的靶抗原。研究表明,只有活虫体才可以产生LDH,血液pLDH水平与原虫血症平行,且LDH活性与活虫密度消长呈平行改变,因此通过检测pLDH可监测药物疗效以及复燃情况。疟原虫LDH,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。早期的研究揭示了在各种疟原虫LDH之间不但具有共同抗原表位,还具有特异性抗原表位,因而能同时鉴别诊断恶性疟和非恶性;另外LDH仅由活体虫产生,因此可用于鉴别疟原虫的死活,监测治疗效果和复燃的情况,是理想的疟疾免疫诊断试剂的靶抗原。

[0004] 目前,国际、国内在本技术领域的现有技术有利用双抗体夹心法疟疾(Malaria)的胶体金快速诊断试剂,如艾康公司的恶性疟\间日疟免疫层析检测试纸条,该试纸条可以检测恶性疟及间日疟,通过排除法检测虫种,但是不能鉴别混合感染和鉴别虫期。MALAR-check公司的疟疾免疫试纸条基于免疫层析原理,利用双抗体夹心法检测血液标本中恶性疟原虫在血液无性期和配子体早起分泌的富组氨酸蛋白。其检测的敏感性和特异性与PARASHGHT-F法相近。此检测可提高常规镜检测诊断不能区别的混合感染的早起滋养体期。

[0005] 另有现有技术中有产品采用检测恶性疟原虫HRP-II的双抗体夹心法,以重组的恶性疟原虫HRP-II诊断抗原为靶点,制备相应的单克隆抗体检测恶性疟。其缺陷均是无法进行恶性疟和非恶性疟的联检。目前以纳米胶体金为标记物的免疫层析技术发展很成熟,

但其在灵敏度和稳定性方面比 Elisa 法或者 PCR 法有一定的差距,且胶体金标记制备工艺复杂,成本较高。且由于胶体金只能显示红色,不能多样式的显示检测结果,特别是对于多项目联检的试纸条来说,不易区分检测线和质控线,对于检测结果容易造成判断失误。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于克服现有技术的缺陷,提供一种疟疾免疫层析快速检测试纸条,该试纸条可以进行恶性疟和非恶性疟的联检,具有快速、简便、灵敏、操作方便的优点。

[0007] 为实现上述目的,本发明采取了以下技术方案:

[0008] 一种疟疾免疫层析快速检测试纸条,所述试纸条由样品垫、标记垫、包被膜、吸水纸顺次搭接粘贴在底衬上构成,所述标记垫上涂覆有彩色胶乳颗粒标记的恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体,包被膜包括检测区和控制区,所述检测区包被与标记垫上的单克隆抗体处于不同表位的恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体,所述控制区包被抗鼠 IgG 单克隆抗体。

[0009] 优选地,所述标记垫上恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体与彩色胶乳颗粒的比例为 1 : 5 ~ 1 : 30,所述非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体与彩色胶乳颗粒的比例为 1 : 5 ~ 1 : 30。

[0010] 优选地,所述彩色胶乳颗粒标记的恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体的浓度均为 5 ~ 15 $\mu\text{g/ml}$,涂敷在标记垫上的稀释参数为 20 cm^2/ml ~ 30 cm^2/ml 。

[0011] 优选地,所述包被膜上恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和所述非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体在所述检测区的包被浓度均为 1.5 mg/ml ~ 2.0 mg/ml ;所述抗鼠 IgG 单克隆抗体在所述控制区的包被浓度为 1.0 mg/ml ~ 2.0 mg/ml 。

[0012] 优选地,所述恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体在所述检测区的包被浓度为 1.7 mg/ml ;所述非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体在所述检测区的包被浓度为 2.0 mg/ml ;所述抗鼠 IgG 单克隆抗体在所述控制区的包被浓度为 2.0 mg/ml 。

[0013] 优选地,所述恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体在检测区的包被用量均为 0.10 $\mu\text{l/mm}$ ~ 0.25 $\mu\text{l/mm}$;所述抗鼠 IgG 单克隆抗体在控制区的包被用量为 0.10 $\mu\text{l/mm}$ ~ 0.30 $\mu\text{l/mm}$ 。

[0014] 本发明还提供了上述疟疾免疫层析快速检测试纸条的制备方法,采取了以下技术方案:

[0015] 一种制备疟疾免疫层析快速检测试纸条的方法,包括以下步骤:

[0016] A. 按常规方法纯化恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体的生产菌株;

[0017] B. 筛选制备多株富组氨酸蛋白 II 和疟原虫乳酸脱氢酶的单克隆抗体;按常规方法,经过筛选配对筛选合适的两株恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和两株非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体;所述两株恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和两株非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体分别处于不同的表位;

[0018] C. 彩色胶乳标记单克隆抗体

[0019] 采用彩色胶乳标记一株恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体；所述恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体的浓度均为 $5 \sim 15 \mu\text{g/ml}$ ，按稀释参数为 $20\text{cm}^2/\text{ml} \sim 30\text{cm}^2/\text{ml}$ ，将所述恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体喷点标记垫上，然后将标记垫烘干，密封；

[0020] D. 将另一株恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体均稀释至 $1.5\text{mg/ml} \sim 2.0\text{mg/ml}$ ，按 $0.10 \mu\text{l/mm} \sim 0.25 \mu\text{l/mm}$ 的包被用量分别包被至包被膜的检测区的 T1 线和 T2 线；将抗鼠 IgG 单克隆抗体稀释至 $1.0\text{mg/ml} \sim 2.0\text{mg/ml}$ ，按 $0.10 \mu\text{l/mm} \sim 0.30 \mu\text{l/mm}$ 的包被用量包被至包被膜的控制区；

[0021] E. 将样品垫、标记垫、包被膜和吸水纸顺次粘贴在底衬上，即得。

[0022] 优选地，所述包被膜上 T1 线和 T2 线之间的间距为 $3\text{mm} \sim 5\text{mm}$ 。

[0023] 彩色胶乳标记层析检测技术是继胶体金标记技术以后，在胶乳凝集试验的基础上发展起来的，即用抗体致敏高分子胶乳，以直径 $1 \mu\text{m}$ 左右或更大一些的球形胶乳颗粒作为载体，将抗原或抗体结合在此载体上，即成为带有免疫配基的微球。作为一种免疫学方法，这种免疫微球兼有固相化试剂特有的优点和免疫反应的高度专一性，具有快速、操作简便、试剂稳定、可室温储运、不易污染的特点，在疾病诊断、免疫学测定、细胞的标记和识别以及细胞的分离等领域中应用日益广泛。相对于目前的胶体金产品，彩色胶乳的制备相对简单，胶乳载体与蛋白以共价形式结合，稳定性好，灵敏度高，同时彩色胶乳色彩丰富，有利于 OTC 产品多元分析、批间差小和标记方式多样化。

[0024] 本发明采用了彩色胶乳免疫层析法和双抗体夹心的原理，制备一种可以同时检测恶性疟 (P. f) 和非恶性疟 (P. v、P. o、P. m) 的试纸条。本发明中使用彩色胶乳标记的恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II (HRP-II) 单克隆抗体和非恶性疟乳酸脱氢酶 (pLDH) 单克隆抗体，使用双抗体夹心的方法来检测恶性疟或非恶性疟。彩色胶乳微球具有球径可控、反应过程可控以及灵敏性可控的优点，可以进一步提高试纸条的灵敏度和测试的准确度，且显示结果可以多样化显示，更加醒目。

[0025] 与现有技术相比，本发明具有以下有益效果：

[0026] 本发明的试纸条结合多种指标联合检测，提高了在疟疾筛查的准确性和便捷性，避免漏检，提高疟疾和登革热的预防能力，具有重大的经济和社会效益；

[0027] 使用本发明试纸条操作简便，无需技术熟练专业人员，具有快速、简便、直观以及不需要特殊仪器的优点，灵敏性和特异性分别为 92.56% 和 98.57% ，与镜检符合率为 96.38% 。

附图说明

[0028] 图 1 是本发明的结构示意图；

[0029] 附图标记：1、底衬；2、样品垫；3、标记垫；4、包被膜；5、吸水纸；6、检测区；7、控制区。

具体实施方式

[0030] 以下结合附图和具体实施例来详细说明本发明。

[0031] 实施例 1

[0032] 请参阅图 1, 为本发明的疟疾免疫层析快速检测试纸条的结构示意图。本发明提供的一种恶性疟和非恶性疟快速检测试纸条, 包括底衬 1、样品垫 2、标记垫 3、包被膜 4 以及吸水纸 5。标记垫 3 上涂覆有彩色胶乳标记的恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II (HRP-II) 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶 (pLDH) 单克隆抗体, 包被膜 4 由检测区 6 和控制区 7 组成, 检测区 6 包括有检测线 T1 和检测线 T2, 其中 T1 处包被与彩色胶乳标记的恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II (HRP-II) 单克隆抗体处于不同表位的另一株恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II (HRP-II) 单克隆抗体; T2 处包被有与彩色胶乳标记的非恶性疟原虫乳酸脱氢酶 (pLDH) 单克隆抗体处于不同表位的另一株非恶性疟原虫乳酸脱氢酶 (pLDH) 单克隆抗体, 控制区 7C 线包被抗鼠 IgG 单克隆抗体。

[0033] 在该实施例中, 所述恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体与彩色胶乳颗粒的比例为 1 : 10, 所述非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体与彩色胶乳颗粒的比例为 1 : 10, 彩色胶乳颗粒标记的恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体的浓度均为 $5 \mu\text{g/ml}$, 涂敷在标记垫上的稀释参数为 $20\text{cm}^2/\text{ml}$ 。所述恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体在所述检测区的包被浓度和所述非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体在所述检测区的包被浓度均为 1.5mg/ml ; 所述抗鼠 IgG 单克隆抗体在所述控制区的包被浓度为 1.0mg/ml 。所述恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体在检测区的包被用量为 $0.10 \mu\text{l/mm}$; 所述抗鼠 IgG 单克隆抗体在控制区的包被用量为 $0.10 \mu\text{l/mm}$ 。

[0034] 该实施例的制备方法为:

[0035] A. 按常规方法纯化恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体的生产菌株;

[0036] B. 使用免疫原蛋白免疫小鼠, 提取含单抗的小鼠腹水, 采用饱和硫酸铵法纯化, 获取多株恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶的单克隆抗体; 与相应的抗原反应, 比对反应效果, 筛选效果较好的两株, 一株作为标记单抗, 一株作为包被单抗;

[0037] C. 彩色胶乳标记单克隆抗体

[0038] 分别使用不同颜色的 400nm 直径的聚苯乙烯胶体大分子复合物作为彩色胶乳标记恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体; 恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体的浓度均为 $5 \mu\text{g/ml}$, 按稀释参数为 $20\text{cm}^2/\text{ml}$, 用点胶乳机将恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体喷点标记垫 3 上, 然后将标记垫 3 置于 37°C 下烘干 2-3 小时, 密封并置于室温;

[0039] D. 采用浓度为 0.05M 碳酸盐缓冲液 (CBS, pH9.6) 作为包被稀释液, 将恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体 (4.0mg/ml) 和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体 (4.0mg/ml) 均稀释至 1.5mg/ml , 按 $0.10 \mu\text{l/mm}$ 的包被用量分别包被至包被膜 4 的检测区的 T1 线和 T2 线; 将抗鼠 IgG 单克隆抗体 (5.62mg/ml) 稀释至 1.0mg/ml , 按 $0.10 \mu\text{l/mm}$ 的包被用量包被至包被膜 4 的控制区; T1 和 T2 线之间的间距为 4.7mm 。包被膜 4 喷膜后将其放置在干燥房 ($20^\circ\text{C} \sim 45^\circ\text{C}$, 湿度 $10\% - 30\%$), 时间为 12-24h。

[0040] E. 将样品垫 2、标记垫 3、包被膜 4 和吸水纸 5 顺次粘贴在底衬 1 上, 即得。

[0041] 当用本发明的试纸条来检测样本时, (1) 如果试纸条上的两条检测线 T1 和 T2 分别形成一条颜色反应线, 表明样本为恶性疟原虫和非恶性疟原虫混合感染; (2) 如果试纸条上的检测线 T1 形成一条颜色反应线, T2 无颜色反应线出现时, 表明样本为恶性疟原虫阳性; (3) 当检测区 T2 形成一条颜色反应线, T1 无颜色反应线出现时, 此时为非恶性疟原虫感染(间日疟、卵形疟或三日疟)阳性, 表明样本中含有非恶性疟间日疟、卵形疟或三日疟特异性抗原(非恶性疟原虫特异性抗原); (4) 如检测区内没有条带出现, 则是阴性结果, 表明样本中不含有疟原虫抗原。无论样本中是否存在于疟原虫抗原, 一条颜色条带都会出现在质控区 C。当 C 线不出现颜色条带时, 检测结果无效。

[0042] 使用实施例 1 的试纸条操作简便, 具有快速、简便、直观以及不需要特殊仪器的优点, 敏感性(阳性相符率)和特异性(阴性符合率)分别为 92.56% 和 98.57%, 与镜检符合率为 96.38%。

[0043] 实施例 2

[0044] 该实施例中的检测试纸条结构均与实施例 1 相同。

[0045] 在该实施例中, 在该实施例中, 所述恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体与彩色胶乳颗粒的比例为 1 : 15, 所述非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体与彩色胶乳颗粒的比例为 1 : 15, 彩色胶乳颗粒标记的恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体的浓度均为 $10 \mu\text{g/ml}$, 涂敷在标记垫上的稀释参数为 $28\text{cm}^2/\text{ml}$ 。所述恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体在所述检测区的包被浓度为 1.7mg/ml ; 所述非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体在所述检测区的包被浓度为 2.0mg/ml ; 所述抗鼠 IgG 单克隆抗体在所述控制区的包被浓度为 2.0mg/ml 。所述恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体在检测区的包被用量为 $0.15 \mu\text{l/mm}$; 所述抗鼠 IgG 单克隆抗体在控制区的包被用量为 $0.20 \mu\text{l/mm}$ 。

[0046] 该实施例的制备方法与使用方法均与实施例 1 相同。

[0047] 使用实施例 1 的试纸条操作简便, 具有快速、简便、直观以及不需要特殊仪器的优点, 敏感性(阳性相符率)和特异性(阴性相符率)分别为 90.36% 和 98.27%, 与镜检符合率为 96.26%。

[0048] 实施例 3

[0049] 该实施例中的检测试纸条结构均与实施例 1 相同。

[0050] 在该实施例中, 在该实施例中, 所述恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体与彩色胶乳颗粒的比例为 1 : 20, 所述非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体与彩色胶乳颗粒的比例为 1 : 20, 彩色胶乳颗粒标记的恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体的浓度均为 $15 \mu\text{g/ml}$, 涂敷在标记垫上的稀释参数为 $25\text{cm}^2/\text{ml}$ 。所述恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体在所述检测区的包被浓度和所述非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体在所述检测区的包被浓度均为 2.0mg/ml ; 所述抗鼠 IgG 单克隆抗体在所述控制区的包被浓度为 1.5mg/ml 。所述恶性疟原虫富组氨酸蛋白 II 单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体在检测区的包被用量为 $0.25 \mu\text{l/mm}$; 所述抗鼠 IgG 单克隆抗体在控制区的包被用量为 $0.28 \mu\text{l/mm}$ 。

[0051] 该实施例的制备方法与使用方法均与实施例 1 相同。

[0052] 使用实施例 1 的试纸条操作简便, 具有快速、简便、直观以及不需要特殊仪器的优

点,敏感性(阳性相符率)和特异性(阴性相符率)分别为 91.38%和 97.45%,与镜检符合率为 96.11%。

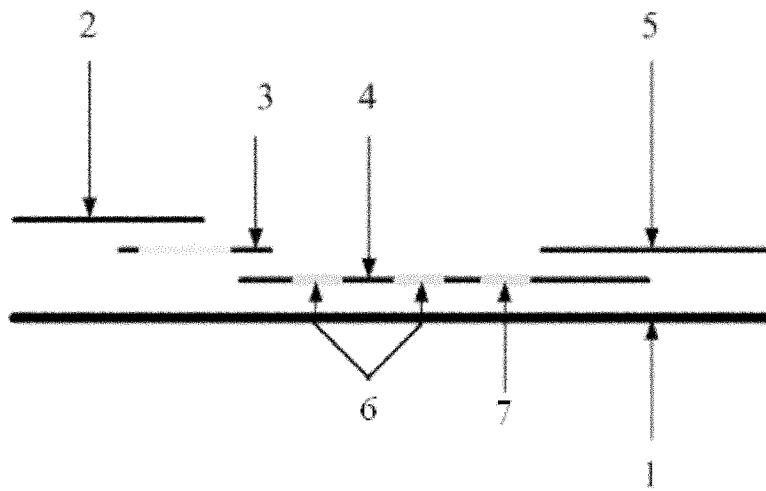


图 1

专利名称(译)	一种疟疾免疫层析快速检测试纸条及其制备方法		
公开(公告)号	CN102087294B	公开(公告)日	2014-08-20
申请号	CN201010620089.3	申请日	2010-12-31
[标]申请(专利权)人(译)	广州万孚生物技术股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	广州万孚生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	广州万孚生物技术股份有限公司		
[标]发明人	王继华 李国存		
发明人	王继华 李国存		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/577 G01N33/573 G01N33/558 G01N33/532		
CPC分类号	Y02A50/58		
代理人(译)	胡杰		
其他公开文献	CN102087294A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种疟疾免疫层析快速检测试纸条及制备方法，所述试纸条由样品垫、标记垫、包被膜、吸水纸顺次搭接粘贴在底衬上构成，标记垫上涂覆有彩色胶乳颗粒标记的恶性疟原虫富组氨酸蛋白II单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体，包被膜包括检测区和控制区，所述检测区包被与标记垫上的单克隆抗体处于不同表位的恶性疟原虫富组氨酸蛋白II单克隆抗体和非恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体，所述控制区包被抗鼠IgG单克隆抗体。本发明的试纸条提高了在疟疾筛查的准确性和便捷性；操作简便，具有快速、简便、直观的优点。

