



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110658338 A

(43)申请公布日 2020.01.07

(21)申请号 201910863358.X

(22)申请日 2019.09.12

(71)申请人 武汉大学

地址 430072 湖北省武汉市武昌区珞珈山
武汉大学

(72)发明人 陈创 刘辉凡 吴淑娟 谭细容
刘长江 张智辉

(74)专利代理机构 武汉科皓知识产权代理事务
所(特殊普通合伙) 42222

代理人 艾小倩

(51)Int.Cl.

G01N 33/569(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

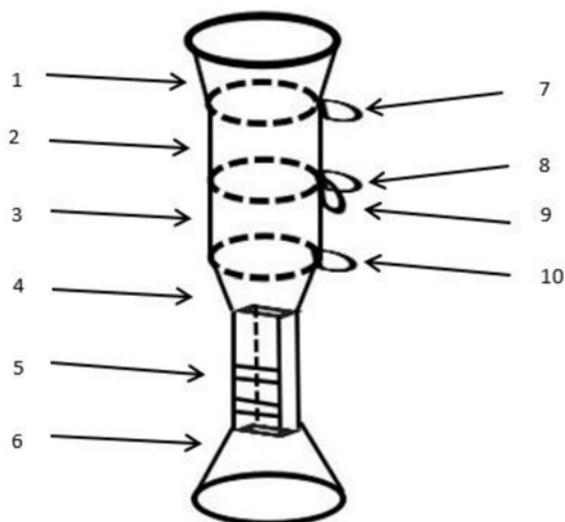
权利要求书2页 说明书6页 附图2页

(54)发明名称

便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测方法

(57)摘要

本发明公开了一种便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测方法。通过纳米免疫磁珠技术和胶体金免疫层析技术的联合使用快速检测MRSA,具体如下:纳米磁珠上偶联了通过杂交瘤技术得到的单抗,形成纳米免疫磁珠;以胶体金标记的另一配对单抗为标记抗体,将多抗血清和羊抗鼠IgG分别作为检测线T和质控线C;含有胶体金标记抗体的结合垫、含有检测线T和质控线C的层析膜、吸水垫这三者组成了胶体金免疫层析试纸;检测样品时,将免疫磁珠与样品中菌体进行特异性的捕获富集,再将其富集液体加入裂解液中进行裂解,然后再将裂解液滴在试纸的样品垫上,依据胶体金的颜色在检测线T和质控线C处形成肉眼可见显色条带的判读,从而实现MRSA的快速半定量检测。



1. 一种便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测方法,其特征在于:通过免疫纳米磁珠技术和胶体金免疫层析技术的联合使用快速检测MRSA,纳米磁珠上偶联了通过杂交瘤技术得到的单抗,形成纳米免疫磁珠;以胶体金标记的另一配对单抗为标记抗体,将多抗血清和羊抗鼠IgG分别作为检测线T和质控线C,具体为:

采用便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测试剂盒进行检测,所述便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测试剂盒包括纳米免疫磁珠、强力磁铁、金黄色葡萄球菌裂解液和胶体金免疫层析试纸;所述胶体金免疫层析试纸含有胶体金标记抗体的结合垫、含有检测线T和质控线C的层析膜和吸水垫,检测样品时,将纳米免疫磁珠与样品中菌体进行特异性的捕获富集,再将其富集液体加入裂解液中进行裂解,然后再将裂解液滴在胶体金免疫层析试纸的样品垫上,依据胶体金的颜色在检测线T和质控线C处形成肉眼可见显色条带的判读,从而实现MRSA的快速半定量检测。

2. 根据权利要求1所述的便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测方法,其特征在于:所述待检样本与纳米磁珠体积比为20:1、10:1、5:1或2:1;所述纳米免疫磁珠捕获富集菌体方法如下:取样品与自制的免疫磁珠在充分震荡混匀后,静置反应30-60min,然后进行磁场分离,经过PBS洗涤3次,即可得到菌体富集液;

所述细菌裂解液与待检样本体积比为1:20、1:10或1:1;将得到裂解液液滴在检测区内,待5-15min后读取T、C线的显色,得到结果。

3. 根据权利要求1或2所述的便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测方法,其特征在于:采用便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测试剂盒进行检测,包括如下步骤:

(2.1) 待测样品与纳米免疫磁珠吸附:在容器中依此加入纳米免疫磁珠、待检样本,混合均匀后在25-40℃中反应30-60min;

(2.2) 磁铁将纳米磁珠吸引聚拢:将盛有上一步所用容器放在一个强力磁铁上静置3min,然后倒掉其中的液体;

(2.3) 裂解细菌:向容器中加50ul/ml的金黄色葡萄球菌裂解液,继续在25-40℃中反应30-60min;

(2.4) 显色:将裂解液倒入胶体金免疫层析试纸样品垫上,层析10-15min观察颜色变化,若呈现两条深红色条带则为强阳性,提示耐药金黄色葡萄球菌感染;若呈现一深一浅提示弱阳性,有耐药金黄色葡萄球菌感染的可能性;若只呈现有一条红色条带则不支持耐药金黄色葡萄球菌感染;若没有呈现红色条带则提示损坏。

4. 根据权利要求1或2所述的便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测方法,其特征在于:所述纳米免疫磁珠的制备步骤如下:

(3.1) 抗体的制备与纯化:以高压灭菌处理MRSA作为抗原免疫小鼠,选取Balb/c,雌性小鼠;其中,抗原注射量为每只小鼠100-200ug,按常规的杂交瘤技术和极限稀释法制备和筛选单克隆抗体细胞株,进而将抗MRSA的特异性抗体细胞株增殖培养,注射到小鼠体内制备腹水,所得腹水经辛酸-硫酸铈沉淀法进行抗体纯化;以高压灭菌处理MRSA菌体作为抗原免疫新西兰大白兔,所得抗MRSA血清经硫酸铈沉淀法进行纯化,所得多克隆抗体保存于-80℃待用;

(3.2) 纳米磁珠与抗体的偶联:选用颗粒直径为10-800nm的纳米磁性粒子,按照纳米免疫磁珠:金黄色葡萄球菌蛋白A IgG=15:1的质量比,将两者震荡混匀6h;然后按照特异性抗

体:硼氢化钠=1:1的质量比加入硼氢化钠,得到特异性抗体偶联的纳米免疫磁珠,用过柱法纯化,于4℃保存。

5.根据权利要求4所述的便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测方法,其特征在于:所述纳米磁性的粒子颗粒直径为60-300nm。

便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测方法

技术领域

[0001] 本发明属于医疗检测技术领域,具体是指一种便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测方法。

背景技术

[0002] MRSA是哺乳期乳腺炎顽固的致病菌,该产品的研制目的是为了及早诊断及治疗,提高疾病的治愈率,减少治疗过程中对乳房带来的损伤。目前临床上尚未有快速检出乳汁中MRSA的便携式技术产品。

[0003] 免疫磁珠富集技术以磁性微球为固相表面,结合免疫学方法建立了一种具有重要应用前景的样品浓缩的方法。磁珠是通过结合抗体而形成免疫磁珠,在液相中可特异性地与相应的抗原结合,依靠磁场的作用力使所需的样本量迅速浓缩。根据磁珠表面偶联的不同抗体,免疫磁珠能在短时间内富集各种类型的抗原,如分子量极小的核酸、小分子毒素、特异性蛋白、细胞或致病微生物。

[0004] 1、磁珠的结构

[0005] 结构上来说,它分为三部分,核心部分由磁性物质构成,如 γ Fe₂O₃、Fe₃O₄和MeFe₂O₃,使磁性微球在磁场作用下能快速聚集;外层由聚苯乙烯、聚乙烯亚胺或聚丙烯酸等高分子材料包裹,保证磁性的密封性良好,不易出现漏磁现象;微球表面还覆盖有特殊的活化基团,常见的化学基团有羧基、氨基、巯基、甲苯磺酸基和环氧基等,能通过共价结合抗体蛋白上的氨基或羧基基团。

[0006] 2、磁珠的制备

[0007] 在医学诊断、治疗方面,多选用纳米级的免疫磁珠,因为纳米级每单位重量具有更大的表面积,分散性更好,对磁场的反应性极敏捷。

[0008] 用于制备免疫磁珠的抗体可以是单克隆抗体也可以是多克隆抗体,单抗特异性较好,利于富集后直接用于检测或分选细胞;多抗的亲合力往往高于单抗,易于捕获抗原,但由于其表位较多,对于富集抗原后的处理,较单抗复杂。

[0009] 缓冲液的体系主要依据磁珠表面活化基团的特点进行选择,一般选择离子浓度较低的缓冲体系,并加入0.5%吐温-20以减少磁珠聚集现象;缓冲液pH通常在pH5~pH9.5之间,过酸或过碱都会影响抗体的活性,不建议采用。对于反应温度、时间和环境,常作为相关因素考虑。反应温度越低,偶联时间越长,常见的反应条件是4℃过夜、室温反应3小时或37℃1小时。

[0010] 制备后的免疫磁珠表面仍存在较多未结合抗体的位点,因此需要以一些不与抗原反应的小分子把表面活性位点封闭,以减少富集过程中的非特异性吸附。常用的封闭剂有BSA、吐温-20、明胶和甘氨酸。

[0011] 3、优点

[0012] 操作步骤简单省时:磁珠富集过程高保真通(通过磁场作用浓缩样品的免疫磁珠富集法能使所需物质高度浓缩,并且在富集过程,不破坏其生物学活性);高特异性富集;有

助于提高检测限(免疫磁珠富集技术能从上游的样品前处理步骤中使目的检测物浓度大大提高,从而间接地降低了整套检测方法的检测限)。

[0013] 4、不足

[0014] 抗体在偶联磁珠后活性、亲和力和效价有所降低往往会影 响下游技术的应用的效果,成为制约此富集技术应用的一个关键因素。因此,优化免疫磁珠制备方法,确保抗体偶联后保持良好活性和亲和力是应用此项富集技术的重要环节。

发明内容

[0015] 为了解决现有技术存在的缺陷,本发明的目的是提供一种便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测方法,通过改善富集条件及提高抗体活性,以PB2a (MRSA产生的 β 内酰胺酶)以及QacA (MRSA的多药泵出蛋白)为抗原,选择特异性抗体制作磁珠,以高特异性、快速、方便检出乳汁中MRSA。

[0016] 为实现上述目的,本发明提供的便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测方法,其特征在于:通过免疫纳米磁珠技术和胶体金免疫层析技术的联合使用快速检测MRSA,纳米磁珠上偶联了通过杂交瘤技术得到的单抗,形成纳米免疫磁珠;以胶体金标记的另一配对单抗为标记抗体,将多抗血清和羊抗鼠IgG分别作为检测线T和质控线C,具体为:

[0017] 采用便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测试剂盒进行检测,所述便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测试剂盒包括纳米免疫磁珠、强力磁铁、金黄色葡萄球菌裂解液和胶体金免疫层析试纸;所述胶体金免疫层析试纸含有胶体金标记抗体的结合垫、含有检测线T和质控线C的层析膜和吸水垫,检测样品时,将纳米免疫磁珠与样品中菌体进行特异性的捕获富集,再将其富集液体加入裂解液中进行裂解,然后再将裂解液滴在胶体金免疫层析试纸的样品垫上,依据胶体金的颜色在检测线T和质控线C处形成肉眼可见显色条带的判读,从而实现MRSA的快速半定量检测。

[0018] 作为优选方案,所述待检样本与纳米磁珠体积比为20:1、10:1、5:1或2:1;所述纳米免疫磁珠捕获富集菌体方法如下:取样品与自制的免疫磁珠在充分震荡混匀后,静置反应30-60min,然后进行磁场分离,经过PBS洗涤3次,即可得到菌体富集液;

[0019] 所述细菌裂解液与待检样本体积比为1:20、1:10或1:1;将得到裂解液液滴在检测区内,待5-15min后读取T、C线的显色,得到结果。

[0020] 进一步地,采用便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测试剂盒进行检测,包括如下步骤:

[0021] (2.1) 待测样品与纳米免疫磁珠吸附:在容器中依此加入纳米免疫磁珠、待检样本,混合均匀后在25-40℃中反应30-60min;

[0022] (2.2) 磁铁将纳米磁珠吸引聚拢:将盛有上一步所用容器放在一个强力磁铁上静置3min,然后倒掉其中的液体;

[0023] (2.3) 裂解细菌:向容器中加入50ul/ml的金黄色葡萄球菌裂解液,继续在25-40℃中反应30-60min;

[0024] (2.4) 显色:将裂解液倒入胶体金免疫层析试纸样品垫上,层析10-15min观察颜色变化,若呈现两条深红色条带则为强阳性,提示耐药金黄色葡萄球菌感染;若呈现一深一浅提示弱阳性,有耐药金黄色葡萄球菌感染的可能性;若只呈现有一条红色条带则不支

持耐药金黄色葡萄球菌感染;若没有呈现红色条带则提示损坏。

[0025] 更进一步地,所述纳米免疫磁珠的制备步骤如下:

[0026] (3.1) 抗体的制备与纯化:以高压灭菌处理MRSA作为抗原免疫小鼠,选取Balb/c,雌性小鼠;其中,抗原注射量为每只小鼠100-200ug,按常规的杂交瘤技术和极限稀释法制备和筛选单克隆抗体细胞株,进而将抗MRSA的特异性抗体细胞株增殖培养,注射到小鼠体内制备腹水,所得腹水经辛酸-硫酸铈沉淀法进行抗体纯化;以高压灭菌处理MRSA菌体作为抗原免疫新西兰大白兔,所得抗MRSA血清经硫酸铈沉淀法进行纯化,所得多克隆抗体保存于-80℃待用;

[0027] (3.2) 纳米磁珠与抗体的偶联:选用颗粒直径为10-800nm的纳米磁性粒子,按照纳米免疫磁珠:金黄色葡萄球菌蛋白A IgG=15:1的质量比,将两者震荡混匀6h;然后按照特异性抗体:硼氢化钠=1:1的质量比加入硼氢化钠,得到特异性抗体偶联的纳米免疫磁珠,用过柱法纯化,于4℃保存。

[0028] 更进一步地,所述纳米磁性的粒子颗粒直径为60-300nm。

[0029] (二) 本发明所述的胶体金免疫层析试纸条制备步骤如下:

[0030] 所述胶体金免疫层析试纸包括吸水纸(样品垫)(1)、玻璃纤维膜(2)、硝酸纤维素膜(3)和吸水纸(4),所述吸水纸(样品垫)(1)、玻璃纤维膜(2)、硝酸纤维素膜(3)和吸水纸(4)首尾互相衔接;所述玻璃纤维膜(2)上吸附着干燥的金标抗体(流动带);所述硝酸纤维素膜(3)上包被着抗原或抗体条带和能与标记物直接起反应的质控物条带(检测带);所述吸水纸(4)宽度20/25mm;

[0031] 1、胶体金制备:柠檬酸三钠还原法制备胶体金—将HAuCl₄先配制为0.01%水溶液。磁力搅拌下准确加入1ml1%的HAuCl₄,同时加入1.5-3ml1%的柠檬酸三钠水溶液。颜色稳定后继续加热,冷却至室温后加纯水补足至100ml,4℃避光保存。

[0032] 2、免疫胶体金制备:制备鼠抗PBP2a蛋白(Qac蛋白)胶体金,干燥吸附在胶体金结合垫(玻璃纤维膜);每毫升胶体金结合5-20ug的单抗。其中,T线固定鼠抗PBP2a蛋白(Qac蛋白)抗体,所用抗体浓度为3-8mg/mL;C线固定羊抗鼠IgG,所用抗体浓度为1-5mg/mL。

[0033] 3、检测线固定抗体:T线固定PBP2a蛋白(Qac蛋白)抗体,C线固定羊抗鼠IgG。分别将两种免疫胶体金各取500u1,分别均匀滴在1cm宽的玻璃纤维上,二者相距1-2cm,让其干燥后吸附在胶体金结合垫(玻璃纤维膜)。

[0034] 4、将各组分首尾相接固定在PVC胶板上,封闭。

[0035] 本发明的有益效果和优点如下:

[0036] 近年来随着二胎政策的开放,生活压力的增大,人们生育年龄的推迟,如今乳腺炎的发病率越来越高,临床需求巨大,本发明以预防与治疗为主,针对性治疗感染性乳腺炎并指导孕妇哺乳,更快捷迅速的查出致病菌,给予合适的抗生素,避免抗生物滥用。

[0037] 在乳腺炎治疗过程中,尤其在治疗方式不断改进的同时,现有的对于乳腺炎致病菌的检测方式,既昂贵,且繁琐,而实际操作过程中本发明并不需要进行如此全面的菌种检测,通过本发明改进的方式可以极大的减轻患者的经济负担。除此之外,本发明制作的产品不仅仅是家用,而可以广泛用于门诊、月子中心、护理中心等孕妇护理相关的场所,市场广阔,经济效益显著。

[0038] 与此同时,本发明制作出的产品亦开拓了一种新的思路,具有极强的转化能力,在

医疗工作中医生可以根据不同疾病、不同的易感染菌种对产品作适当的调整,运用到其他各种疾病致病菌的监测,例如呼吸道感染,本发明便可以迅速根据痰液得出致病菌,更快速的给予相对应的抗生素,再根据医检的检查结果进行调整,通过这种快捷、有效且价格低廉的方式,使疾病的治疗进程大大缩短,患者的满意度自然会随之上升,减少不必要的医疗纠纷。同时本发明也可以向其他领域借鉴推广,运用到生活的各个角落,例如人们现有的生活中缺乏一种经济实惠的产品对家庭生活的卫生状况进行简单便捷的监测,因此本发明便拥有了用武之地,在冰箱中放入本发明进行调整的试纸,便可以随时快捷的得到冰箱中、食物中是否含致病菌的反馈,为人们健康做出相应的保障,及时预防疾病的发生,具有广阔的市场与发展前景。

附图说明

[0039] 图1是本发明中便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测试剂盒的正视图;

[0040] 其中:1、加样区,此区内含免疫纳米磁珠;2、磁铁吸附区,此区的底部有强力磁铁;3、裂解区,此区内含金黄色葡萄球菌裂解液;4、连接区,此区连接前面的反应部件和下方的显色区;5、显色区;6、底座;7、抽屉柄a;8、抽屉柄b;9、抽屉柄c,(注:拉出抽屉柄c,将会把强力磁铁一并拉出);10、抽屉柄d。

[0041] 图2是本发明中便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测试剂盒的显色区简图;

[0042] 其中:11、样品垫,使样品沿着样品垫移动;12、胶体金结合垫;13、层析膜(NC硝酸纤维素膜);14、吸水材料;15、检测线T;16、质控线C;

[0043] 注:除了层析膜13的显色面以外,整个显色区5结构的四个侧面全部用PVC胶板包裹(包括层析膜部分除了显色面以外的其他三个侧面)。显色区结构的上面与连接区4,下面与底座6相连。

[0044] 图3是本发明中便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测试剂盒显色区检测结果示意图;

[0045] 图中:T、C两条线—阳性;C一条线—阴性;没有线—无效。

具体实施方式

[0046] 下面结合具体实施例和附图对本发明做进一步地详细说明。

[0047] (1) 本发明实施例中所用的磁性纳米颗粒为羧基修饰的粒径800nm的磁性纳米粒子,购自武汉珈源量子点技术开发有限责任公司PBP2a适配体,由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,地址:上海市松江区香闵路698号,保藏编号:M23。

[0048] (2) 本发明实施例中所用的免疫胶体金免疫层析试纸的结构,参见图2,反应支持物为6.2cmx0.4cmPCV板;吸水垫为2cmx0.4cm的滤油纸;1.8cmx0.4cm的硝酸纤维素膜依次包被鼠抗PBP2a蛋白(Qac蛋白)抗体(购自鼎国生物技术公司,2mg/ml),羊抗鼠IgG1mg/ml(含有1%BSA封闭剂),含有0.4cmx0.4cm胶体金标记的鼠抗PBP2a蛋白(Qac蛋白)抗体(标金用量:5ug,PBS稀释;最适PH值为8.5)玻璃纤维膜;样品垫为2.7cmx0.4cm的玻璃纤维膜;即形成了MRSA胶体金检测试纸。

[0049] (3) 本实施例基于上述合成的纳米免疫磁珠和免疫胶体金免疫层析试纸,建立高灵敏、高选择性的MRSA检测体系,用于哺乳期乳腺炎MRSA的检测。

[0050] 本发明检测方法的具体步骤如下(所用的检测工具如图1和图2):

[0051] (1) 在加样区1中滴入2mL待检测样本,轻轻震荡1min,使乳液和第一格里预先放好的1mL纳米免疫磁珠充分混匀(肉眼看不到沉淀),然后在室温环境下,反应30min;

[0052] (2) 抽掉抽屉柄a7,让液体和磁珠全部掉入磁铁吸附区2中,让抽屉柄c9连接的强力磁铁吸附磁珠,吸附3min;

[0053] (3) 倒掉第二步剩余的液体,然后先拉出抽屉柄c9,再拉出抽屉柄b8,让纳米免疫磁珠(吸附了MRSA)全部掉入裂解区3里预先放好的1ml金黄色葡萄球菌裂解液中,轻轻震荡,充分混匀,室温下静置30min;

[0054] (4) 抽掉抽屉柄d10,让磁珠和裂解液一起进入连接区4中,室温下静置约15min,等待显色区5显色。

[0055] 在步骤(1)中,IgG抗体包被的磁纳米颗粒用量为1mL(10mg/mL),待检样本为2ml浓度为 10^8 CFU/mL的金黄色葡萄球菌N315菌株。

[0056] 在步骤(2)中,所用磁铁为深圳市粤星磁铁有限公司生产的强磁铁,产品编号为产品编号:192050470。

[0057] 在步骤(3)中,金黄色葡萄球菌裂解试剂为50ug/mL武汉赛思锐微生物技术有限公司生产的staphylococcalysine。

[0058] 在步骤④中,所使用的免疫胶体金免疫层析试纸的制备过程是一每毫升胶体金结合5ug的单抗。其中,T线固定PBP2a蛋白(Qac蛋白)抗体,所用抗体浓度为2mg/mL;C线固定羊抗鼠IgG,所用抗体浓度为1mg/mL。制备T线和C线:分别将两种免疫胶体金各取500ul,分别均匀滴在1cm宽的玻璃纤维上,二者相距2cm,让其干燥后吸附在胶体金结合垫(玻璃纤维膜)。

[0059] 结果分析,室温下静置15min,若两条深红色条带为强阳性,提示耐药金黄色葡萄球菌感染;一深一浅提示弱阳性,可能有耐药金黄色葡萄球菌感染;只有一条红色条带不支持耐药金黄色葡萄球菌感染;没有红色条带提示损坏。参加见图3。

[0060] 结果表明,本发明设计能够有效实现对MRSA的高灵敏度、高选择性检测。

[0061] 本发明的工作原理如下:

[0062] 1、富集原理:

[0063] 免疫磁珠的功能主要是通过表面的特异性抗体,在流体力学作用下,与液态中的相应抗原结合,并通过多次的磁分离作用,使目的抗原与其余杂质彻底分离,从而得到高度浓缩的抗原。根据磁珠表面偶联的不同抗体,免疫磁珠能在短时间内富集各种类型的抗原,如分子量极小的核酸、小分子毒素、特异性蛋白、细胞或致病微生物。

[0064] 2、胶体金免疫层析试纸原理:

[0065] (1) 氯金酸(HAuCl_4)在还原剂作用下,可聚合成一定大小的金颗粒,形成带负电的疏水胶溶液。由于静电作用而成为稳定的胶体状态,故称胶体金。胶体金颗粒表面负电荷与蛋白质的正电荷基团因静电吸附而形成牢固结合。胶体金对蛋白质有很强的吸附功能,蛋白质等高分子被吸附到胶体金颗粒表面,无共价键形成,标记后大分子物质活性不发生改变。

[0066] (2) 双抗体夹心法:首先将已知的特异性抗体(单抗或多抗)以一定的量包被于膜上作为检测带,可与金标物结合的二抗作为质控带。与包被抗体相配对的另一单抗金标结

合物则吸附于金标垫上并进行干燥。干燥的金标垫一端与膜相接,一端与样品垫相连。膜的另一侧粘贴吸水垫。检测时,于样品垫加入一定量的液体样本,借助毛细管作用,样本沿样品垫到吸水垫的方向移动。它首先经过干燥金标垫,使金标结合物复溶,如标本中有待测抗原,则发生抗原抗体反应,形成复合物A(金颗粒-抗体-抗原);样本继续移动到达检测带位置,则与包被抗体再次发生抗原抗体反应,形成复合物B(金颗粒-抗体-抗原-包被抗体),并于检测带的部位聚集,最终达到肉眼可见的程度,如样本中无待检抗原,则不能形成肉眼可见的红色条带。游离的金标结合物或复合物A越过检测带到达质控带,与二抗发生反应,形成复合物C(金颗粒-抗体-二抗),聚集并产生肉眼可见的红色条带。无论样本中是否含有待检物质,质控带都会呈现红色条带。

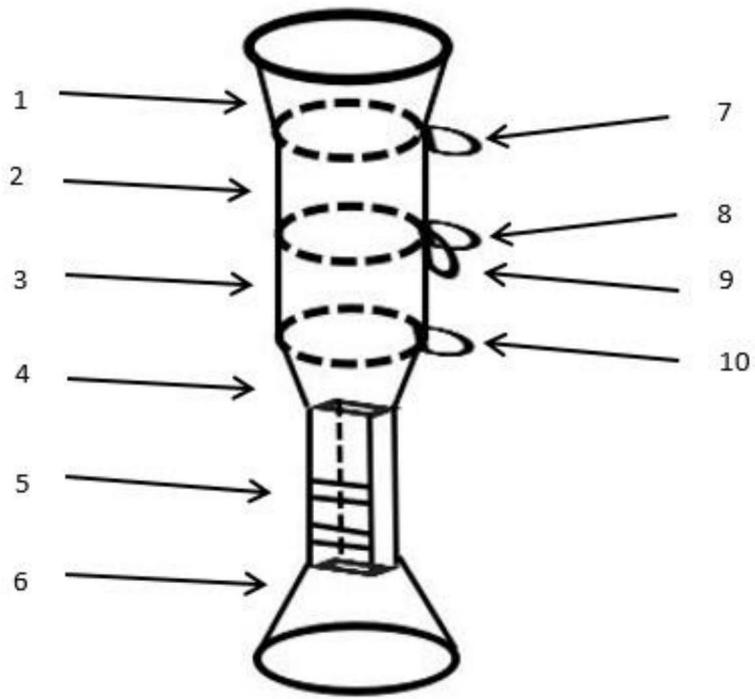


图1

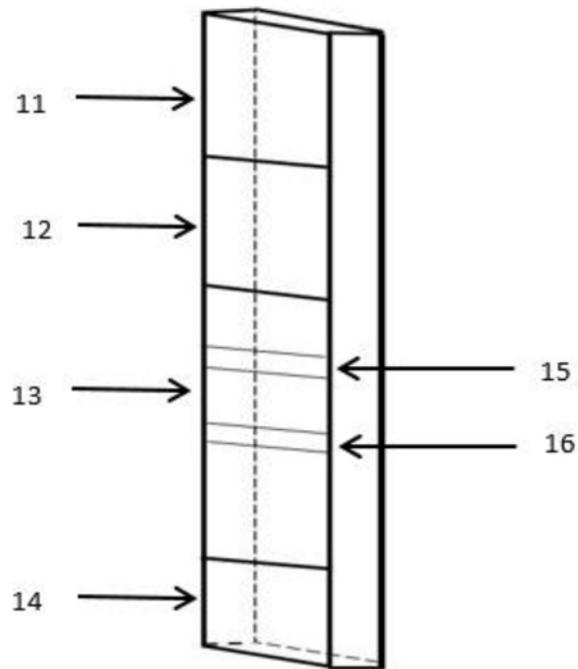


图2

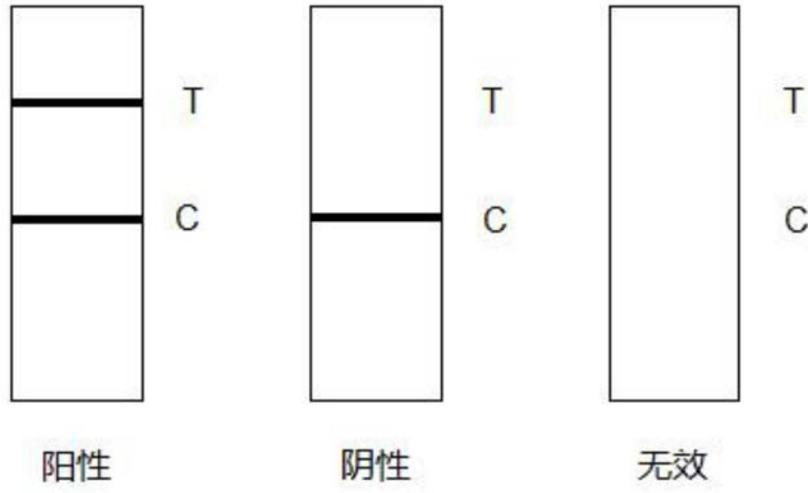


图3

专利名称(译)	便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测方法		
公开(公告)号	CN110658338A	公开(公告)日	2020-01-07
申请号	CN201910863358.X	申请日	2019-09-12
[标]申请(专利权)人(译)	武汉大学		
申请(专利权)人(译)	武汉大学		
当前申请(专利权)人(译)	武汉大学		
[标]发明人	陈创 吴淑娟 刘长江 张智辉		
发明人	陈创 刘辉凡 吴淑娟 谭细容 刘长江 张智辉		
IPC分类号	G01N33/569 G01N33/543 G01N33/532		
CPC分类号	G01N33/532 G01N33/54306 G01N33/54326 G01N33/54346 G01N33/56938		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种便携式哺乳期乳腺炎致病菌MRSA检测方法。通过纳米免疫磁珠技术和胶体金免疫层析技术的联合使用快速检测MRSA，具体如下：纳米磁珠上偶联了通过杂交瘤技术得到的单抗，形成纳米免疫磁珠；以胶体金标记的另一配对单抗为标记抗体，将多抗血清和羊抗鼠IgG分别作为检测线T和质控线C；含有胶体金标记抗体的结合垫、含有检测线T和质控线C的层析膜、吸水垫这三者组成了胶体金免疫层析试纸；检测样品时，将免疫磁珠与样品中菌体进行特异性的捕获富集，再将其富集液体加入裂解液中进行裂解，然后再将裂解液滴在试纸的样品垫上，依据胶体金的颜色在检测线T和质控线C处形成肉眼可见显色条带的判读，从而实现MRSA的快速半定量检测。

