

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02118880.7

[43] 公开日 2002 年 12 月 11 日

[11] 公开号 CN 1384360A

[22] 申请日 2002.4.30 [21] 申请号 02118880.7

[30] 优先权

[32]2001.5.2 [33]KR [31]23645/2001

[71] 申请人 新丰制药株式会社

地址 韩国京畿道

[72] 发明人 赵昇烈 蔡鍾一 洪性臺

韩 信 赵一焕

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事
务所

代理人 唐伟杰

权利要求书 1 页 说明书 11 页 附图 1 页

[54] 发明名称 用于支睾吸虫病、肺吸虫病、猪囊尾蚴病
和裂头蚴病诊断的酶联免疫吸附测定试
剂盒

[57] 摘要

本发明公开了一种 ELISA 试剂盒,能同时诊断华支
睾吸虫、卫斯特曼并殖吸虫、猪囊尾蚴和裂头蚴的感染。
本发明提供的试剂盒能简单、快速、准确的通过标准化方
法一次同时诊断主要的组织寄生的蠕虫类寄生虫的感
染。

1. 一种用于诊断华支睾吸虫、卫斯特曼并殖吸虫、猪囊尾蚴和裂头蚴感染的 ELISA 试剂盒, 包含:

a) 多孔平板或长条, 在之上有来自华支睾吸虫、卫斯特曼并殖吸虫、猪囊尾蚴和裂头蚴的抗原覆盖;

b) 不与上述抗原反应的人血清, 作为阴性对照; 和

c) 作为阳性对照的人血清, 每一种与上述抗原之一特异性反应。

2. 根据权利要求 1 的试剂盒, 进一步包含稀释和清洗溶液、结合物溶液、底物缓冲液、底物和封闭溶液。

3. 根据权利要求 2 的试剂盒, 其中所述的稀释和清洗溶液包含 PBS (磷酸盐缓冲盐水)。

4. 根据权利要求 2 的试剂盒, 其中所述的结合物溶液包含辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG 山羊血清, 底物是 O-苯二胺, 且该试剂盒进一步包含过氧化氢溶液。

5. 根据权利要求 2 的试剂盒, 其中所述的封闭液包含硫酸。

6. 根据权利要求 1 的试剂盒, 其中所述的华支睾吸虫和卫斯特曼并殖吸虫抗原的量分别是 1.5-2.0 μg 蛋白/孔, 且猪囊尾蚴和裂头蚴的抗原的量分别是 2-2.5 μg 蛋白/孔。

7. 根据权利要求 1 的试剂盒, 其中向与华支睾吸虫和猪囊尾蚴的抗原发生反应的孔中加入 26 倍稀释的血清, 并向与卫斯特曼并殖吸虫和裂头蚴的抗原发生反应的孔中加入 101 倍稀释的血清。

用于支睾吸虫病、肺吸虫病、猪囊尾蚴病 和裂头蚴病诊断的酶联免疫吸附测定试剂盒

技术领域

本发明涉及组织寄生虫感染的血清学诊断。更具体地，本发明涉及酶联免疫吸附测定（以下缩写为ELISA）试剂盒，它能同时诊断华支睾吸虫（*Clonorchis sinensis*）、卫斯特曼并殖吸虫（*Paragonimus westermani*）、猪囊尾蚴（*Cysticercus cellulosae*）和裂头蚴（*Sparganum*）的感染。

背景技术

在韩国，人类肠道寄生虫，如人蛔虫、毛首鞭虫、犬钩虫和东方毛圆线虫（它们经常通过粪便检来被检测），已经被明显降低，因此现在是可被忽视的。现在，这样的粪便检验仅在象医院这样的医疗机构进行。相反，迄今为止，居住于组织内的寄生虫不断地出现，因此，也变得相对越来越重要。进一步地，居住于组织内的寄生虫比肠道寄生虫引起更严重的损伤，因此，它们的感染需要一种合适的药物治疗。精确的诊断是适当治疗的第一步，因此，获得合适的诊断工具是关键。

具体地，在许多发展中国家，被华支睾吸虫、卫斯特曼并殖吸虫、猪囊尾蚴和裂头蚴的感染是重要的地方病。很多人已经被它们感染但没有有效的治疗。超过15百万的病人所患支睾吸虫病，一般通过粪便检验进行诊断。然而，很难诊断轻度感染。而且，很多人有不愿做粪便检验的倾向。此外，皮内试验可以用于群体筛选检查，但用作诊断工具时特异性太低。因此，皮内试验倾向于被血清学试验代替。

在另一方面，肺吸虫病、猪囊尾蚴病和裂头蚴病，每年有几万病人在遭受痛苦，只能通过血清学检验进行诊断。这样的血清学试验使用的ELISA包含了准备每种寄生虫抗原的步骤和使用这些抗原的步骤。当前，在韩国，几个试验室已经建立了它们自己的标准，并在自己试验室试验。

然而，这种已知的方法不能被标准化。而且，这种方法一次只能检测一种寄生虫，要检测几种寄生虫要重复几次。因此，需要发展一种新的能通过简单标准化方法一次诊断主要组织内寄生虫的试剂盒。

发明内容

本发明人进行了广泛的研究来解决在组织内寄生虫诊断中的在先的问题。作为结果，本发明人注意了抗原-抗体反应的免疫化学特性。发明人使用了来自华支睾吸虫、卫斯特曼并殖吸虫、猪囊尾蚴和裂头蚴的粗抗原，并使用人血清作为其阳性或阴性对照抗体，对支睾吸虫病、肺吸虫病、猪囊尾蚴病和裂头蚴病同时诊断。

相应地，本发明的目的是提供一种能一次对支睾吸虫病、肺吸虫病、猪囊尾蚴病和裂头蚴病进行标准化血清学诊断的的诊断试剂盒。

本发明涉及诊断支睾吸虫病、肺吸虫病、猪囊尾蚴病和裂头蚴病的ELISA试剂盒，其包含：

- a) 多孔平板或长条，在之上有来自华支睾吸虫、卫斯特曼并殖吸虫、猪囊尾蚴和裂头蚴的抗原覆盖；
- b) 不与上述抗原反应的人血清，作为阴性对照；和
- c) 作为阳性对照的人血清，每一种包含与上述抗原特异性反应的抗体。

这个试剂盒可以进一步包含稀释和清洗溶液、结合物溶液、底物缓冲液、封闭溶液。在优选的实施方案中，稀释和清洗溶液包含了磷酸盐缓冲液（PBS）。结合物溶液包含了辣根过氧化物酶标记的抗人IgG山羊血清。底物是O-苯二胺（OPD）。在这个例子中，试剂盒进一步包含了过氧化氢作为氧化剂。封闭溶液包含硫酸。

优选地，试剂盒分别包含作为蛋白质的来自华支睾吸虫和卫斯特曼并殖吸虫的抗原1.5-2 μg/孔、以及猪囊尾蚴和裂头蚴的抗原2-2.5 μg/孔。也更优选，使用前，与华支睾吸虫、猪囊尾蚴反应的血清被26倍稀释，与卫斯特曼并殖吸虫和裂头蚴反应的血清被101倍稀释。

附图简述

图1：表示抗原覆盖在抗原覆盖平板的每一个小孔上的示意图。

本发明的最好实施方式

本发明提供了一种同时诊断 4 种一般用血清学方法检测的蠕虫类寄生虫，华支睾吸虫、卫斯特曼并殖吸虫、猪囊尾蚴和裂头蚴的试剂盒。更具体的，本发明提供了采用来自华支睾吸虫、卫斯特曼并殖吸虫、猪囊尾蚴和裂头蚴的抗原和包含这些抗原的抗体的人血清间的抗原-抗体反应同时诊断上述寄生虫感染的 ELISA 试剂盒。

因此，本试剂盒的特征在于包含仅一个小平板用来诊断华支睾吸虫、卫斯特曼并殖吸虫、猪囊尾蚴和裂头蚴的感染。那就是说，一个 96 孔小平板或一个 12 × 8 孔长条，被来自华支睾吸虫、卫斯特曼并殖吸虫、猪囊尾蚴和裂头蚴的抗原覆盖并固定。然后，受试验者的血清被加上以诊断寄生虫感染。几种试剂是需要的，它们在这个平板的包装中以给定的量提供。这可以实现一次性标准化诊断。

本发明的一个实施方案是包含作为样品溶液的人血清、辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG 山羊血清作为结合物溶液、0-苯二胺（OPD）作为底物、过氧化氢作为氧化剂的 ELISA 试剂盒。

试剂盒包含下列内容物。它包含合适数量的抗原和未稀释的血清，血清将依据寄生虫的种类在使用前进行稀释：

- i) 有 4 种寄生虫抗原覆盖的小平板：96 孔平板或 12 × 8 孔长条
- ii) 阴性标准血清：一瓶
- iii) 阳性标准血清：相应于华支睾吸虫、卫斯特曼并殖吸虫、猪囊尾蚴和裂头蚴的各一瓶（共 4 瓶）
- iv) 稀释和清洗溶液（5 倍浓缩的）：2 瓶
- v) 结合物溶液（350 倍浓缩的）：1 瓶
- vi) 底物缓冲液：1 瓶
- vii) 底物（0-苯二胺）：4.6mg
- viii) 过氧化氢：1 瓶
- ix) 封闭溶液：1 瓶

上述内容物将在下面具体描述。

- (i) 覆盖抗原的小平板：

表 1: 96 孔小平板或 12 × 8 孔长条上每孔的成分与含量

成分	含量
纯化的来自华支睾吸虫的粗抗原 (A 和 E 行), 23 孔	1.5-2 μg/孔, 蛋白质
纯化的来自卫斯特曼并殖吸虫的 粗抗原 (B 和 F 行), 23 孔	1.5-2 μg/孔, 蛋白质
来自猪囊尾蚴囊液的抗原 (C 和 G 行), 23 孔	2-2.5 μg/孔, 蛋白质
纯化的来自裂头蚴的粗抗原 (D 和 H 行), 23 孔	2-2.5 μg/孔, 蛋白质
碳酸盐缓冲液	适量
磷酸缓冲液	适量
Tween 20	适量
脱脂乳	适量

在 A, B, C, D 行的第一列的孔中没有覆盖抗原

(ii) 阴性标准血清: 一瓶

表 2: 一瓶阴性标准血清中的成分与含量 (15 μl)

成分	含量
不与华支睾吸虫、卫斯特曼并殖 吸虫、猪囊尾蚴和裂头蚴的抗原 反应的正常人血清	未稀释, 15 μl
Proclin 300	0.05v/v%

(iii) 阳性标准血清: 各 1 瓶 (共 4 瓶)

(iii-1) 华支睾吸虫阳性标准血清

表 3: 华支睾吸虫阳性标准血清 1 瓶 (6 μ l) 中的成分与含量

成分	含量
包含高浓度的特异与华支睾吸虫抗原反应的抗体的人灭活血清	未稀释, 6 μ l
Proclin 300	0.05v/v%

(iii-2) 卫斯特曼并殖吸虫阳性标准血清

表 4: 卫斯特曼并殖吸虫阳性标准血清 1 瓶 (2 μ l) 中的成分与含量

成分	含量
包含高浓度的特异与卫斯特曼并殖吸虫抗原反应的抗体的人灭活血清	未稀释, 2 μ l
Proclin 300	0.05v/v%

(iii-3) 猪囊尾蚴阳性标准血清

表 4: 猪囊尾蚴阳性标准血清 1 瓶 (6 μ l) 中的成分与含量

成分	含量
包含高浓度的特异与猪囊尾蚴抗原反应的抗体的人灭活血清	未稀释, 6 μ l
Proclin 300	0.05v/v%

(iii-4) 裂头蚴阳性标准血清

表 4: 裂头蚴阳性标准血清 1 瓶 (2 μ l) 中的成分与含量

成分	含量
包含高浓度的特异与裂头蚴抗原反应的抗体的人灭活血清	未稀释 2 μ l
Proclin 300	0.05v/v%

(iv) 浓缩的稀释、清洗溶液 (10 倍浓缩的): 2 瓶 (使用前 5 倍稀释)

表 7: 稀释、清洗溶液 1 瓶 (25ml) 中的成分与含量

成分	浓度
0.1M PBS	25ml
Tween 20	0.5%
Proclin 300	0.05v/v%

(v) 稀释的 (350 倍) 结合物溶液: 1 瓶 (使用前稀释 100 倍)

表 8: 稀释的结合物溶液 1 瓶中的成分和含量

成分	含量
辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG 山羊血清 (Caltag 结合物)、	1v/v%
牛血清白蛋白 PBS	适量
Proclin300	0.05v/v%

(vi) 底物稀释缓冲液: 1 瓶

表 9: 底物缓冲液 1 瓶 (6ml) 中的成分与含量

成分	含量
底物缓冲液 (PCB)	6ml
Proclin300	0.05v/v%

底物缓冲液 (6ml): 柠檬酸-磷酸缓冲液

(vii) 底物 1 瓶

表 10: 底物 (OPD) 1 瓶中的成分与含量

成分	含量
0-苯二胺盐酸盐	4.6mg

- 0-苯二胺 (OPD) 盐酸盐 (4.6mg) 以粉状提供, 使用前稀释于 5ml PCB 中。

(viii) 过氧化氢: 1 瓶, 包含 30 μ l 30% 未稀释溶液, 在使用前稀释在底物缓冲液中至浓度为 0.1%。

(xi) 封闭溶液: 1 瓶

表 11: 封闭溶液 1 瓶 (15ml) 中的成分和含量

成分	含量
4N 硫酸	15ml

在上述试剂盒中, 下列情况被认为是阳性。

华支睾吸虫: ≥ 0.20 ; 卫斯特曼并殖吸虫: ≥ 0.25 ; 猪囊尾蚴 ≥ 0.25 ; 和裂头蚴: ≥ 0.24 。

本发明试剂盒用下列方法制造:

(i) 抗原覆盖平板的准备

经过纯化的4种寄生虫的粗抗原覆盖在96孔平板上, 封闭并干燥, 然后冷藏。参照孔、阴性标准血清孔和4种阳性标准血清孔, 也包括在这个平板上。在其余的孔中, 21个样品被检测。也就是在A, B, C, D行的第一列的孔中没有覆盖抗原, 被用做空白孔。华支睾吸虫抗原覆盖在A行的第2到第12列和E行的第1到第12列。卫斯特曼并殖吸虫抗原覆盖在B行的第2到第12列和F行的第1到第12列。猪囊尾蚴抗原覆盖在C行的第2到第12列和G行的第1到第12列。裂头蚴抗原覆盖在D行的第2到第12列和H行的第1到第12列。图1表示了小平板上抗原的覆盖。其他试剂通过标准方法准备。

(ii) 标准血清的准备

- 不与4种抗原反应的阴性标准血清
- 与华支睾吸虫抗原反应的血清
- 与卫斯特曼并殖吸虫抗原反应的血清
- 与猪囊尾蚴抗原反应的血清
- 与裂头蚴抗原反应的血清

本发明可以通过下面的实施例更好地理解。然而, 本领域普通技术人员会容易领会, 所描述的具体材料和结果只是例子, 并且不是要, 也不应, 对随后的权利要求书中更全面描述的本发明进行限制。

实施例1: 抗原覆盖小平板的准备

(1) 华支睾吸虫、卫斯特曼并殖吸虫、猪囊尾蚴和裂头蚴抗原的准备

从自然感染的中间宿主(华支睾吸虫: *Pseudorasbora parva*、卫斯特曼并殖吸虫: *Cambaroides similis*)中分离华支睾吸虫、卫斯特曼并殖吸虫的囊蚴。兔子和狗分别被华支睾吸虫和卫斯特曼并殖吸虫口服感染。3到4个月后, 在这些动物身上分别获得2g或更多的华支睾吸虫和卫斯特曼并殖吸虫成虫。

猪肉绦虫(*Taenia solium*)的幼虫被从被地方病地区猪囊尾蚴自然感染的猪中分离, 从幼虫囊肿中分离囊液。约2g或更多的裂头蚴幼虫被

从自然感染的蛇上分离。

获得的华支睾吸虫和卫斯特曼并殖吸虫成虫和裂头蚴被用 10 ml PBS (8g/L NaCl, 0.2g/L KCl, 1.13g/L Na_2HPO_4 和 0.2g/L KH_2PO_4 , pH7.5) 清洗 5 遍。把寄生虫加入到 15ml PBS 中, 在匀浆器中匀浆 1 到 2 分钟。匀浆的天然寄生虫抗原在 4℃ 10000g 离心 60 分钟。测量上清液中蛋白浓度。每小瓶 100 μl 分装并 -70℃ 冷藏。

(2) 在小平板孔上覆盖抗原

使用小平板, Costar™ 产品 (96 孔分析平板, 平底, 聚苯乙烯, Corning)。每种寄生虫抗原用 50mM 的碳酸钠缓冲液 (1.5g/l Na_2CO_3 , 2.93 g/l NaHCO_3 , pH9.6) 稀释, 调整蛋白的量为 20-25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

从华支睾吸虫、卫斯特曼并殖吸虫、猪囊尾蚴和裂头蚴中分离的每种抗原 100 μl 被加到小平板上 A 和 E、B 和 F、C 和 G、D 和 H 行的小孔中 (除了 A1、B1、C1 和 D1)。然后, 平板可以在 4℃ 过夜, 使抗原覆盖在平板底部。

(3) 清洗和封闭

残留的抗原被从小孔中清除。每一小孔用 0.2ml 的 PBST (0.01M 磷酸缓冲液, 0.0027M 氯化钾, 0.137M 氯化钠, pH7.4, 0.05% Tween 20) 清洗 3 遍。每个孔中加入 0.1ml 固定剂 (3% 脱脂乳/PBST, pH7.6)。固定在 37℃ 条件下进行 1 小时。每孔用 0.2ml 的 PBST 清洗 3 遍。倒空平板使平板没有残留的溶液, 干燥、密封, 然后冷藏。

实施例 2: 阴性标准血清的准备

从显示不与华支睾吸虫、卫斯特曼并殖吸虫、猪囊尾蚴和裂头蚴抗原起反应的人上收集 10ml 血液, 从血液中分离血清。将血清加热到 56℃ 30 分钟使之灭活。使用无菌过滤器过滤。定量于 1000 μl , 加入 0.5 μl Proclin300 来获得 1ml 阴性标准血清。血清被分装为 15 μl 每小瓶并冷藏直至使用。

实施例 3: 阳性标准血清的准备

(1) 支睾吸虫病阳性对照血清

从通过粪便检测确认含有华支睾吸虫卵的人上收集 10ml 血液, 从血

液中分离血清。将血清加热到 56℃ 30 分钟使之灭活。使用无菌过滤器过滤。定量于 1000 μ l，加入 0.5 μ l Proclin300 来获得 1ml 华支睾吸虫阳性标准血清。血清被分装为 5 μ l 每小瓶并冷藏。血清在稀释后使用（每 100 μ l 缓冲液中含有 4 μ l 血清）。

（2）肺吸虫病阳性对照血清

从确认感染有卫斯特曼并殖吸虫或与特异抗原反应的人上收集 10ml 血液，从血液中分离血清。将血清加热到 56℃ 30 分钟使之灭活。使用无菌过滤器过滤。定量于 1000 μ l 中，加入 0.5 μ l Proclin300 来获得 1ml 卫斯特曼并殖吸虫阳性对照血清。血清被分装为 2 μ l 每小瓶并冷藏。血清在稀释后使用（每 100 μ l 缓冲液中含有 1 μ l 血清）。

（3）猪囊尾蚴病阳性对照血清

从确认含有猪囊尾蚴或与囊胞液中抗原反应的人上收集 10ml 血液，从血液中分离血清。将血清加热到 56℃ 30 分钟使之灭活。使用无菌过滤器过滤。定量在 1000 μ l 中，加入 0.5 μ l Proclin300 来获得 1ml 猪囊尾蚴阳性对照血清。血清被分装为 5 μ l 每小瓶并冷藏。血清在稀释后使用（每 100 μ l 缓冲液中含有 4 μ l 血清）。

（4）裂头蚴病阳性对照血清

从确认含有裂头蚴或与裂头蚴粗抗原反应的人上收集 10ml 血液，从血液中分离血清。将血清加热到 55℃ 30 分钟使之灭活。使用无菌过滤器过滤。定量在 1000 μ l 中，加入 0.5 μ l Proclin300 来获得 1ml 裂头蚴阳性对照血清。血清被分装为 2 μ l 每小瓶并冷藏。血清在稀释后使用（每 100 μ l 缓冲液中含有 1 μ l 血清）。

实施例 4: 血液中华支睾吸虫、卫斯特曼并殖吸虫、猪囊尾蚴和/或裂头蚴的测定

平板都给定了自己的 ID 号码。待测血清被写在记录表中，识别号被标记作为记录。稀释的标准血清和稀释的血清样品被加入到实施例 1 中制备的抗体覆盖的小平板的小孔中。A1、B1、C1 和 D1 小孔，作为空白小孔，不装任何样品。100 μ l 阴性标准血清被加入到 A2、B2、C2 和 D2 小孔中，100 μ l 阳性标准血清被加入到下一个小孔中。支睾吸虫病阳性血清（1:

26 稀释) 装入 A3 小孔; 肺吸虫病阳性血清 (1: 101 稀释) 装入 B3 小孔; 猪囊尾蚴病阳性血清 (1: 26 稀释) 装入 C3 小孔; 裂头蚴病阳性血清 (1: 101 稀释) 装入 D3 小孔。从 A4、B4、C4 和 D4 到 E12、F12、G12 和 H12 小孔被用来装 21 种稀释的血清来进行 4 孔单位的检测。在识别号的基础上, 在与华支睾吸虫或猪囊尾蚴反应的孔上加入了 100 μ l 26 倍稀释 (将 10 μ l 血清稀释在 250 μ l 稀释溶液中而获得) 的血清。在与卫斯特曼并殖吸虫或裂头蚴反应的孔上加入了 100 μ l 101 倍稀释 (将 2.5 μ l 血清稀释在 250 μ l 稀释液中而获得) 的血清。A 和 E、B 和 F、C 和 G 和 D 和 H 孔分别检测华支睾吸虫、卫斯特曼并殖吸虫、猪囊尾蚴和裂头蚴。因此, 一种合适的稀释血清应根据 ID 号被加入到小孔中。

小平板用盖子盖住并在 37 $^{\circ}$ C 温育 2 小时。然后, 用 200 μ l 稀释的 PBST (0.01M 磷酸缓冲液, 0.0027M 氯化钾, 0.137M 氯化钠, pH7.4, 0.05% Tween 20) 清洗 3 遍, 小平板翻转过来并在吸水纸上轻敲使清洗液流尽。100 μ l 稀释的结合物 (100 倍稀释的辣根过氧化物酶-结合抗人 IgG 山羊血清 (Fc 特异性), 蛋白终浓度: 110-140ng/ml 在 1 \times PBS, 0.05% Proclin 300 中) 溶液被加到小孔中。小孔加盖后在黑暗 37 $^{\circ}$ C 条件下反应 2 小时。反应液被从孔中移去, 用清洗液清洗小孔 3 遍。

50 μ l 底物溶液 (将 O-苯二胺 (OPD) 加入到柠檬酸盐缓冲液中并在使用前加入过氧化氢而制备) 被使用多道移液器加到每一小孔中。反应在黑暗处进行 10 分钟。50 μ l 封闭溶液 (4N 硫酸) 被使用多道移液器加到每一小孔中以终止反应。在 490nm 处测量每一孔的光吸收。

在以上过程后进行检测, 阴性和阳性的光吸收分别在 0.1 或以下和 0.3 或以上, 被确认是有效的。具有每个抗原指定的标准值或更高值的血清被确定为阳性的。4 种寄生虫感染的参照血清的光吸收值在下面的表 11 中列出。

表 12: 4 种寄生虫感染的参照血清的光吸收值

感染 -/+	支睾吸虫病		肺吸虫病		猪囊尾蚴病		裂头蚴病	
	-	+	-	+	-	+	-	+
1	0.126	0.409	0.060	0.410	0.109	0.512	0.102	0.616
2	0.058	0.255	0.035	0.555	0.070	0.395	0.032	0.583
3	0.049	0.314	0.030	0.408	0.060	0.411	0.029	0.490
4	0.103	0.345	0.069	0.413	0.128	0.520	0.152	0.273
5	0.071	0.503	0.046	0.515	0.048	0.374	0.086	0.417
6	0.054	0.261	0.033	0.375	0.040	0.391	0.039	0.419
7	0.066	0.258	0.033	0.305	0.070	0.303	0.033	0.383
8	0.051	0.282	0.036	0.365	0.161	0.299	0.086	0.395
9	0.037	0.404	0.042	0.329	0.068	0.335	0.029	0.527
10	0.042	0.351	0.049	0.313	0.062	0.419	0.028	0.428
11	0.050	0.444	0.035	0.314	0.138	0.405	0.026	0.436
12	0.070	0.254	0.042	0.286	0.137	0.442	0.039	0.443
13	0.040	0.365	0.025	0.351	0.037	0.306	0.024	0.453
14	0.069	0.337	0.038	0.448	0.080	0.485	0.033	0.490
15	0.062	0.301	0.030	0.333	0.058	0.504	0.032	0.521
16	0.071	0.254	0.033	0.383	0.073	0.503	0.035	0.303
17	0.041	0.258	0.027	0.434	0.046	0.515	0.020	0.466
18	0.121	0.387	0.068	0.417	0.102	0.482	0.054	0.482
19	0.045	0.317	0.032	0.304	0.064	0.274	0.024	0.382
20	0.071	0.329	0.063	0.395	0.093	0.364	0.040	0.584
21	0.146	0.386	0.085	0.467	0.139	0.431	0.075	0.455
22	0.074	0.339	0.056	0.409	0.064	0.789	0.036	0.258
23	0.076	0.325	0.049	0.487	0.091	0.521	0.040	0.368
24	0.078	0.394	0.044	0.398	0.071	0.678	0.037	0.380
25	0.060	0.375	0.027	-	0.078	0.323	0.034	0.284
26	0.046	0.293	0.037	-	0.075	0.828	0.032	0.483
27	0.052	0.297	0.029	-	0.062	0.721	0.028	0.579
28	0.119	0.351	0.063	-	0.129	0.507	0.052	0.291
29	0.052	0.377	0.026	-	0.055	0.303	0.028	0.501
30	0.140	0.262	0.098	-	0.127	0.344	0.053	0.479
Average	0.071	0.334	0.045	0.392	0.085	0.456	0.045	0.439
Cut-off	0.200		0.250		0.250		0.240	

工业实用能力

本发明的试剂盒能简单、快速、准确地通过标准化方法一次同时诊断主要的组织寄生的寄生虫，即华支睾吸虫、卫斯特曼并殖吸虫、猪囊尾蚴和裂头蚴，的感染。

图 1: 96 孔小平板上抗原的覆盖

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	B	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl
B	B	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa
C	B	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy
D	B	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp
E	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl
F	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa
G	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy
H	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp

*B: 空白; cl: 华支睾吸虫的抗原; pa: 卫斯特曼并殖吸虫的抗原; cy: 猪囊尾蚴的抗原; sp: 裂头蚴的抗原

专利名称(译)	用于支睾吸虫病、肺吸虫病、猪囊尾蚴病和裂头蚴病诊断的酶联免疫吸附测定试剂盒		
公开(公告)号	CN1384360A	公开(公告)日	2002-12-11
申请号	CN02118880.7	申请日	2002-04-30
[标]发明人	赵昇烈 蔡鍾一 洪性臺 韩信 赵一焕		
发明人	赵昇烈 蔡鍾一 洪性臺 韩信 赵一焕		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/569 G01N33/96		
CPC分类号	G01N33/56966 G01N33/96		
代理人(译)	唐伟杰		
优先权	1020010023645 2001-05-02 KR		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种ELISA试剂盒,能同时诊断华支睾吸虫、卫斯特曼并殖吸虫、猪囊尾蚴和裂头蚴的感染。本发明提供的试剂盒能简单、快速、准确的通过标准化方法一次同时诊断主要的组织寄生的蠕虫类寄生虫的感染。

图 1: 96 孔小平板上抗原的覆盖

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	B	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl
B	B	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa
C	B	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy
D	B	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp
E	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl
F	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa	pa
G	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy	cy
H	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp	sp

*B: 空白; cl: 华支睾吸虫的抗原; pa: 卫斯特曼并殖吸虫的抗原; cy: 猪囊尾蚴的抗原; sp: 裂头蚴的抗原