



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103196906 B

(45) 授权公告日 2015. 06. 03

(21) 申请号 201310107169. 2

菌》. 《陕西医学检验》. 1994, 200-201.

(22) 申请日 2013. 03. 29

审查员 张丽

(73) 专利权人 众爱生河北生物科技有限公司

地址 054400 河北省邢台市南和经济开发区
水源路东侧

(72) 发明人 文凤枝

(74) 专利代理机构 北京市合德专利事务所

11244

代理人 王文会 刘榜美

(51) Int. Cl.

G01N 21/78(2006. 01)

G01N 33/531(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101080497 A, 2007. 11. 28,

WO 2011098085 A1, 2011. 08. 18,

WO 2012135834 A2, 2012. 10. 04,

CN 101555522 A, 2009. 10. 14,

CN 101495869 A, 2009. 07. 29,

林宁等. 《胶乳凝集反应快速检测白色念珠

权利要求书1页 说明书3页

(54) 发明名称

用于检测临床标本中白假丝酵母的特异性方法

(57) 摘要

本发明为一种用于检测临床标本中白假丝酵母的特异性方法, 包括抗血清制备纯化, 乳胶标记和着色处理, 防腐处理, 白假丝酵母的检测等工艺步骤, 与现有的检测技术相比较, 本发明具有快速简单方便, 敏感性高, 结果容易判断等优点。

1. 一种制备用于检测临床标本中白假丝酵母的乳胶致敏着色抗体试剂的制备方法,其特征如下:

步骤 1、抗血清制备,用含多株白假丝酵母的混合菌液免疫动物,获得免疫血清,并进行纯化得到特异性抗体;步骤 2、乳胶标记和着色处理,将特异性抗体吸附到聚苯乙烯乳胶颗粒上,制备得到致敏聚苯乙烯乳胶颗粒,再用结晶紫染料先行在低温条件下使其着色,制成乳胶致敏着色抗体;所述的低温条件是 2-8℃;步骤 3、防腐处理,在着色的抗体致敏乳胶颗粒液体中加入防腐剂。

2. 如权利要求 1 的制备方法,其中步骤 2 中的低温条件是 4℃。

3. 如权利要求 1 所述的制备方法,其中步骤 1 中所述的纯化是通过沉淀、离心或过柱这些生物化学方法,去除杂质,得到特异性抗体;步骤 3 中所述的防腐剂选自化学物质氯化汞、硫柳汞、石碳酸或甲醛。

4. 一种采用权利要求 1 所述制备方法所得到的用于检测临床标本中白假丝酵母的乳胶致敏着色抗体试剂。

5. 用于检测临床标本中白假丝酵母的特异性方法,其技术特征在于在常温条件下将权利要求 4 中所述的乳胶致敏着色抗体试剂和含白假丝酵母的标本滴加于白色凝集试验板上,轻轻混合后,放置 5 ~ 10 分钟,用手均摇反应卡或置于水平振荡器上振荡,观察是否出现蓝色的凝集反应。

6. 如权利要求 5 所述的检测临床标本中白假丝酵母的特异性方法,其特征在于乳胶致敏着色抗体试剂的制备方法中步骤 1 中所述的纯化是通过沉淀、离心或过柱这些生物化学方法,去除杂质,得到特异性抗体;步骤 2 中所述的低温条件是 2-8℃;步骤 3 中所述的防腐剂选自化学物质氯化汞、硫柳汞、石碳酸或甲醛。

7. 如权利要求 6 所述的检测临床标本中白假丝酵母的特异性方法,其中步骤 2 中的低温条件是 4℃。

8. 如权利要求 4 所述的乳胶致敏着色抗体试剂在临床检测白假丝酵母菌中的用途。

9. 如权利要求 8 所述的用途,其特征不在于用于临床检测女性阴道内白假丝酵母菌。

用于检测临床标本中白假丝酵母的特异性方法

技术领域

[0001] 本发明属于临床医学检验领域,为一种检测临床标本中白假丝酵母的特异性方法。

背景技术

[0002] 念珠菌病是指由白假丝酵母(白色念珠菌)引起的原发性或继发性感染。人类生殖器官的皮肤、粘膜被白假丝酵母感染并出现临床症状称为生殖器念珠菌病,包括念珠菌性阴道炎和龟头炎,最常见为女性的阴道炎。念珠菌性阴道炎的诊断是根据病人的临床症状、医师体检和实验室检测结果。

[0003] 目前临床应用的念珠菌的检测方法有以下几种:

[0004] 常规涂片镜检是最基本的细菌学检查方法。其优点是简便、快速和价廉,当天出结果;缺点是敏感性低,特异性差,无法辨别死菌与活菌。通常需用科玛嘉念珠菌显色培养基进一步证实。

[0005] 沙氏培养基是念珠菌感染诊断较为常用的培养基,但临床上念珠菌感染症有的为混合感染,不同的念珠菌在沙氏培养基上生长均呈现白色菌落,要进一步鉴定不同的菌种,有时还必须要做念珠菌的发酵试验和芽管试验,给实验室的诊断带来很大的不便。

[0006] 科玛嘉(CHROM agar)培养基培养法,该培养基含有特殊显色物质,无需通过任何仪器,仅通过观察菌落颜色即能在24~48小时(大多为48小时,30~37℃)用肉眼对念珠菌等进行定性和定量分析。但是培养所用的时间相对较长,不利于快速诊断。

[0007] 另外,随着仪器分析技术的进步和计算机的广泛应用,微生物菌种鉴定逐渐由传统的形态学观察和人工生理生化实验鉴定发展进入了基于仪器自动化分析的鉴定系统阶段。如Biolog微生物自动分析系统、API 20C、ATB 32C、VITEK YBC和API Candid系统等。虽然,目前我国已累计引进Biolog微生物自动分析系统有100余台,但这些快速鉴定系统大多数是应用于临床细菌的鉴定分析,应用于酵母菌鉴定的研究成果很少。

[0008] 分析以上的一些诊断方法,虽然这些方法目前在日常医院感染的监测与预防控制中占主导地位,但存在操作麻烦、所需时间长、成本高及影响因素多等诸多不足。

发明内容

[0009] 本法明的目的就是为了解决上述现有技术存在的缺陷,而为临床提供一种快速、简便、检出率较高而又经济的检测临床标本,特别是阴道中的白假丝酵母的方法。

[0010] 本发明的目的可以通过以下技术方案来实现:

[0011] 本发明提供一种用于检测白假丝酵母的乳胶致敏着色抗体试剂,其制备方法如下:1、抗血清制备,用含多株白假丝酵母的混合菌液免疫动物,获得免疫血清,并进行纯化得到特异性抗体;2、乳胶标记和着色处理,将特异性抗体吸附到聚苯乙烯乳胶颗粒上,制备得到致敏聚苯乙烯乳胶颗粒,再用结晶紫染料在低温条件下使其着色,成乳胶致敏着色抗体;3、防腐处理,在着色的抗体致敏乳胶颗粒液体中加入防腐剂。

[0012] 其中步骤 1 中所述的纯化是通过沉淀、离心、过柱等生物化学方法, 去除杂质, 得到特异性抗体; 步骤 2 中所述的低温条件是 2-8℃, 优选 4℃; 步骤 3 中所述的防护剂为本领域所常用的防护剂, 选自化学物质氯化汞、硫柳汞、石碳酸、甲醛等

[0013] 本发明提供一种快速、简便的临床检测白假丝酵母的特异性方法, 特别是检测女性阴道中的白假丝酵母的方法, 其特征在于: 在常温条件下将本发明提供的乳胶致敏着色抗体试剂和含白假丝酵母的标本滴加于白色凝集试验板上, 轻轻混合后, 放置 5 ~ 10 分钟即可出现肉眼可见的, 紫色的凝集反应。

[0014] 与现有的各种方法相比, 本发明为一种有色的快速乳胶凝集检测法, 对标本中白假丝酵母的检出率达 91%, 比直接镜检和染色镜检检出率高; 比培养方法简单, 时间短, 避免了细菌、真菌以及其他微生物的干扰; 因为是有色反应, 比一般的凝集更容易观察, 灵敏度更高。同时, 本申请反应过程中染色并不是单纯的物理染色, 单纯的物理染色将底色染绿色, 将凝聚颗粒染成红色, 由于白假丝酵母凝聚后的颗粒很小, 容易使得细菌和真菌和其他微生物混淆, 特异性和灵敏度均不高; 本申请采用结晶紫染料, 不仅具有物理染色的特性, 同时在检测白假丝酵母凝聚过程中发生化学变色反应 (均为蓝色, 底色为白色) 很容易识别, 这样使特异性和灵敏度均大为提高, 具有实际的临床意义; 同时抗体稳定性好, 保存条件要求低, 保存时间长, 有利于医疗实践, 更有利于医疗条件差的地区使用, 所以, 转化成商品后, 通过积极推广应用, 有很大的潜在市场, 可产生显著的社会效益和经济效益。

具体实施方式

[0015] 通过具体实施, 对本发明作进一步说明

[0016] 实施例一、临床检测女性阴道内白假丝酵母菌

[0017] 制备乳胶致敏着色抗体试剂, 1、抗血清制备, 用含多株假丝酵母的混合菌液免疫动物, 获得免疫血清, 从免疫动物中得到得抗体粗制品通过沉淀、离心、过柱等生物化学方法, 去除杂质, 得到白假丝酵母特异性抗体; 2、乳胶标记和着色处理, 将特异性抗体吸附到聚苯乙烯乳胶颗粒上, 得到致敏聚苯乙烯乳胶颗粒, 再用结晶紫染料在 4℃ 下使其着色, 成紫色; 3、防腐处理, 在着色的抗体致敏乳胶颗粒液体中加入防腐剂, 制备得到稳定的乳胶致敏着色抗体试剂。

[0018] 标本检测阶段, 具体包括阴道分泌物标本的采集: 用多用途无菌棉拭子, 采取阴道等分泌物, 将拭子插入软试管, 滴加专用缓冲液 (磷酸盐缓冲液) 至 0.5ml 刻度 (当分泌物多时加至 1.0ml 刻度), 搅动拭子 10 秒钟充分混合标本; 检测: 将试管倒置, 由试管滴头处滴加二滴 (约 100ul) 标本在凝集试验反应卡片上的圈环内, 再向圈环内挤滴 2 滴乳胶致敏着色抗体, 轻轻混合后, 放置 5 ~ 10 分钟, 用手均摇反应卡 (或置于水平振荡器) 观察有无蓝色的凝集颗粒产生;

[0019] 实施例二、其他培养物等标本检测

[0020] 如实施例一中所述的方法制备乳胶致敏着色抗体试剂。

[0021] 标本检测阶段, 取自实验室内白假丝酵母培养物标本, 用无菌拭子沾取培养物, 直接混匀在含 100ul 乳胶致敏着色抗体的反应卡片上, 轻轻混合后, 放置 5 ~ 10 分钟, 用手均摇反应卡 (或置于水平振荡器), 观察到有明显蓝色的凝集颗粒产生。

[0022] 采用本发明检测阴道分泌物和其他标本中的假丝酵母, 不需要任何检测设备和器

材,整个检测方法简便、敏感性高,结果容易判断,而且检测过程只需 5 ~ 10 分钟。

专利名称(译)	用于检测临床标本中白假丝酵母的特异性方法		
公开(公告)号	CN103196906B	公开(公告)日	2015-06-03
申请号	CN201310107169.2	申请日	2013-03-29
[标]申请(专利权)人(译)	河北微拉生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	河北微拉生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	众爱生河北生物科技有限公司		
[标]发明人	文凤枝		
发明人	文凤枝		
IPC分类号	G01N21/78 G01N33/531		
代理人(译)	王文会		
审查员(译)	张丽		
其他公开文献	CN103196906A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明为一种用于检测临床标本中白假丝酵母的特异性方法，包括抗血清制备纯化，乳胶标记和着色处理，防腐处理，白假丝酵母的检测等工艺步骤，与现有的检测技术相比较，本发明具有快速简单方便，敏感性高，结果容易判断等优点。