



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106645727 A

(43)申请公布日 2017.05.10

(21)申请号 201610883318.8

G01N 33/531(2006.01)

(22)申请日 2016.10.10

(71)申请人 福建省农业科学院畜牧兽医研究所

地址 350000 福建省福州市晋安区新店埔
档

申请人 厦门市波生生物技术有限公司

(72)发明人 程龙飞 张长弓 黄瑜 何琼

贾志娟 陈慧敏 傅秋玲 傅光华

施少华 万春和 刘荣昌 陈红梅

(74)专利代理机构 北京高沃律师事务所 11569

代理人 王加贵

(51)Int.Cl.

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/569(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

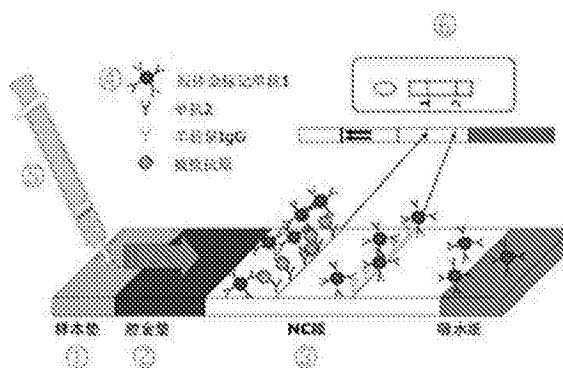
权利要求书1页 说明书6页 附图1页

(54)发明名称

一种能同时检测水禽源细小病毒的胶体金试纸条及制备方法

(57)摘要

本发明涉及动物医学领域,公开了一种检测水禽源细小病毒的胶体金试纸条及制备方法。该试纸条包括底板、样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜、吸水垫;所述金标垫包被了带有抗小鹅瘟病毒单克隆抗体I的胶体金标记蛋白;所述硝酸纤维素膜上沿样品流动方向依次设有检测线和质控线;所述硝酸纤维素膜的检测线包被抗小鹅瘟病毒单克隆抗体II,所述硝酸纤维素膜的质控线包被羊抗鼠IgG抗体。本发明可同时检测鹅细小病毒、番鸭细小病毒和新型番鸭细小病毒,极大程度降低了反应的假阳性,提高了检测的特异性以及灵敏度。



1. 一种检测水禽源细小病毒的胶体金试纸条, 其特征在于, 它包括底板、样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜和吸水垫; 所述底板的一端粘附有所述样品垫, 其另一端粘附有所述吸水垫, 其中部依次粘附有所述金标垫、所述硝酸纤维素膜; 所述金标垫的一端与所述样品垫相粘附, 其另一端与所述硝酸纤维素膜相粘附, 所述硝酸纤维素膜与所述吸水垫相粘附; 所述金标垫包被了带有抗小鹅瘟病毒单克隆抗体 I 的胶体金标记蛋白; 所述硝酸纤维素膜上沿样品流动方向依次设有检测线和质控线; 所述硝酸纤维素膜的检测线包被抗小鹅瘟病毒单克隆抗体 II, 所述硝酸纤维素膜的质控线包被羊抗鼠 IgG 抗体。

2. 根据权利要求 1 所述的胶体金试纸条, 其特征在于, 所述胶体金标记的抗小鹅瘟病毒单克隆抗体 I 的包被浓度为 $20 \sim 90 \mu\text{g/mL}$ 。

3. 根据权利要求 1 所述的胶体金试纸条, 其特征在于, 所述硝酸纤维素膜上抗小鹅瘟病毒单克隆抗体 II 的包被浓度为 $1 \sim 3 \text{mg/mL}$ 。

4. 根据权利要求 1 所述的胶体金试纸条, 其特征在于, 所述硝酸纤维素膜上羊抗鼠 IgG 抗体的包被浓度为 $0.2 \sim 2 \text{mg/mL}$ 。

5. 如权利要求 1-4 任意一项所述的胶体金试纸条的制备方法, 其特征在于, 包括以下步骤:

抗体的制备: 以浓缩并纯化的小鹅瘟病毒为抗原免疫小鼠制备抗小鹅瘟病毒单克隆抗体 I 和抗小鹅瘟病毒单克隆抗体 II, 并进行纯化;

制备抗小鹅瘟病毒单克隆抗体 I 的胶体金标记蛋白溶液: 首先按柠檬酸还原法制备胶体金溶液, 用 0.1mol/L 的 K_2CO_3 溶液调节胶体金溶液的 pH 至 $7.0 \sim 8.0$, 按 $20 \sim 90 \mu\text{g/mL}$ 的比例将抗小鹅瘟病毒单克隆抗体 I 与胶体金溶液搅拌混合, 再加入 $30 \sim 80 \text{g/L}$ 的 BSA 溶液, 使其终质量浓度为 $5 \sim 20 \text{g/L}$, 以 $2000 \sim 5000 \text{r/min}$ 的速度离心取上清, 再以 $10000 \sim 14000 \text{r/min}$ 离心得沉淀物, 沉淀用含 $5 \sim 15 \text{g/L}$ 的 BSA 和 $5 \sim 15 \text{g/L}$ 的蔗糖的 $0.001 \sim 0.1 \text{mol/L}$ 的 Tris-HCl 溶液重悬至原体积的 $1/10 \sim 1/5$, 得到抗小鹅瘟病毒单克隆抗体 I 的胶体金标记蛋白溶液;

金标垫的制备: 将玻璃纤维素膜浸泡于抗小鹅瘟病毒单克隆抗体 I 的胶体金标记蛋白溶液中, 经浸透、室温干燥后, 制得金标垫;

硝酸纤维素膜的制备: 将 $1 \sim 3 \text{mg/mL}$ 的抗小鹅瘟病毒单克隆抗体 II 喷涂于硝酸纤维素膜上的检测线, 将 $0.2 \sim 2 \text{mg/mL}$ 的羊抗鼠 IgG 抗体喷涂于硝酸纤维素膜上的质控线, 室温干燥, 浸泡于 $10 \sim 30 \text{g/L}$ 的 BSA 溶液中, 室温静置后, PBST 洗涤, 室温干燥, 即为硝酸纤维素膜;

组装: 将样品垫和制备好的金标垫、硝酸纤维素膜以及吸水垫依次粘贴于底板上, 得到胶体金试纸条。

一种能同时检测水禽源细小病毒的胶体金试纸条及制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及动物医学领域,具体为一种能同时检测水禽源细小病毒的胶体金试纸条及制备方法。

背景技术

[0002] 水禽源细小病毒,指感染水禽(这里主要指家养的各种鸭和鹅,野生水禽中大雁、天鹅等)并致水禽发病的细小病毒,包括鹅细小病毒、番鸭细小病毒、新型番鸭细小病毒等。

[0003] 水禽细小病毒的检测方法有病毒的分离鉴定、分子生物学检测和血清学检测等。病毒分离鉴定方法是将病料在特定的细胞中培养,几次传代后根据是否出现特定的病变,再根据电镜形态的观察来判断,耗时长,需要的设备多,对人员的技术水平要求高。分子生物学检测中的PCR技术、环介导等温扩增技术和核酸探针技术能特异性检测病料组织中的病毒,准确度高,但技术要求高,需要特殊的设备,操作繁琐,检测成本高,不适宜临床上的推广。血清学检测包括ELISA、琼脂免疫扩散法、反向间接血凝试验、病毒中和试验、免疫荧光抗体技术、胶体金免疫层析技术等。ELISA方法有斑点ELISA、间接ELISA和双抗体夹心ELISA,后两种方法需要先对病毒进行分离,耗时长,只有斑点ELISA能直接检测病料,在4h内完成,其检测限为4.833ng/mg。琼脂免疫扩散法操作简便,需时1天,适于基层推广和应用,但灵敏度不高。反向间接血凝试验可以在3h内可以检测出病料及粪样中的病毒,其检测限为24ng/mL,有很好的实用价值,但易受到非特异性因素的影响。病毒中和试验重复性好,敏感性高,但检测时间长达数天,不适于大量病料组织的快速检测。免疫荧光抗体技术重复性好、具有较强的特异性和敏感性,操作简便、2小时内完成,但需要特殊的仪器,不适合基层推广。现有技术中胶体金试纸条只能检测一种水禽源细小病毒,使用范围窄,限制了其在实际中的应用。

发明内容

[0004] 本发明的目的是提供一种能同时检测水禽源细小病毒的胶体金试纸条及制备方法。

[0005] 本发明具体的技术方案如下:

[0006] 一种检测水禽源细小病毒的胶体金试纸条,它包括底板、样品垫、吸水垫、金标垫、硝酸纤维素膜;所述底板的一端粘附有所述样品垫,其另一端粘附有所述吸水垫,其中部依次粘附有所述金标垫、所述硝酸纤维素膜;所述金标垫的一端与所述样品垫相粘附,其另一端与所述硝酸纤维素膜相粘附,所述硝酸纤维素膜与所述吸水垫相粘附;所述金标垫包被了带有抗小鹅瘟病毒单克隆抗体I的胶体金标记蛋白;所述硝酸纤维素膜上沿样品流动方向依次设有检测线和质控线;所述硝酸纤维素膜的检测线包被抗小鹅瘟病毒单克隆抗体II,所述硝酸纤维素膜的质控线包被羊抗鼠IgG抗体。

[0007] 优选的,所述胶体金标记的抗小鹅瘟病毒单克隆抗体I的包被浓度为20~90μg/

mL。

[0008] 优选的,所述硝酸纤维素膜上抗小鹅瘟病毒单克隆抗体Ⅱ的包被浓度为1~3mg/mL。

[0009] 优选的,所述硝酸纤维素膜上羊抗鼠IgG抗体的包被浓度为0.2~2mg/mL。

[0010] 本发明还包括上述的胶体金试纸条的制备方法,包括以下步骤:

[0011] 抗体的制备:以浓缩并纯化的小鹅瘟病毒为抗原免疫小鼠制备抗小鹅瘟病毒单克隆抗体I和抗小鹅瘟病毒单克隆抗体Ⅱ,并进行纯化;

[0012] 具体为,以浓缩并纯化的小鹅瘟病毒为抗原免疫小鼠,与弗氏完全佐剂乳化,皮下多点注射小鼠,每隔2周以相同的抗原加弗氏不完全佐剂加强免疫。最后一次免疫后1周采血制备血清,以间接ELISA方法测定效价,将血清效价达到1:1000及以上的小鼠进行1次无佐剂抗原加强免疫,3天后取脾脏,进行细胞融合、筛选、克隆化及腹水制备。得到了同属于IgG类IgG1亚类的两株高效价单克隆抗体:抗小鹅瘟病毒单克隆抗体I和抗小鹅瘟病毒单克隆抗体Ⅱ。

[0013] 制备抗小鹅瘟病毒单克隆抗体I的胶体金标记蛋白溶液:首先按柠檬酸还原法制备胶体金溶液,用0.1mol/L的K₂CO₃溶液调节胶体金溶液的pH至7.0~8.0,按20~90μg/mL的比例将抗小鹅瘟病毒单克隆抗体I与胶体金溶液搅拌混合,再加入30~80g/L的BSA溶液,使其终质量浓度为5~20g/L,以2000~5000r/min的速度离心取上清,再以10000~14000r/min离心得沉淀物,沉淀用含5~15g/L的BSA和5~15g/L的蔗糖的0.001~0.1mol/L的Tris-HCl溶液重悬至原体积的1/10~1/5,得到抗小鹅瘟病毒单克隆抗体I的胶体金标记蛋白溶液;

[0014] 本发明纯化的抗小鹅瘟病毒单克隆抗体I与胶体金偶联的pH值为7.0~8.0,优选为7.2~7.8,具体优选为7.4;最佳结合量为20~90μg/mL,优选为30~70μg/mL,进一步为50μg/mL。将金标垫浸渍于胶体金标记的单克隆抗体3D9。

[0015] 金标垫的制备:将玻璃纤维素膜浸泡于抗小鹅瘟病毒单克隆抗体I的胶体金标记蛋白溶液中,经浸透、室温干燥后,制得金标垫;

[0016] 硝酸纤维素膜的制备:将1~3mg/mL的抗小鹅瘟病毒单克隆抗体Ⅱ喷涂于硝酸纤维素膜上的检测线,优选包被浓度为2mg/mL;将0.2~2mg/mL的羊抗鼠IgG抗体喷涂于硝酸纤维素膜上的质控线,优选包被浓度为1mg/mL;室温干燥,浸泡于10~30g/L的BSA溶液中,室温静置后,PBST洗涤,室温干燥,即为硝酸纤维素膜;

[0017] 组装:将样品垫和制备好的金标垫、硝酸纤维素膜以及吸水垫依次粘贴于底板上,得到胶体金试纸条。

[0018] 对制备好的试纸条进行特异性、灵敏度、检测范围的验证。结果表明,本发明的胶体金试纸条对鹅细小病毒(GPV)、番鸭细小病毒(MDPV)和新型番鸭细小病毒(NMDPV)的检测结果为阳性,证明本发明的胶体金试纸条对GPV、MDPV和NMDPV有较好的特异性。

[0019] 本发明的胶体金试纸条是将抗小鹅瘟病毒单克隆抗体I作为捕获抗体,将抗小鹅瘟病毒单克隆抗体Ⅱ作为检测抗体,极大程度降低了反应的假阳性,提高了检测的特异性以及灵敏度。通过一系列稀释梯度的GPV-C3株、MDPV-ZJ株、NMDPV-FJ1341株的鸭胚适应毒进行灵敏度检测,得到本发明胶体金试纸条对GPV、MDPV和NMDPV的最低检出量分别为10^{4.7}ELD₅₀/mL、10^{4.7}ELD₅₀/mL和10^{5.7}ELD₅₀/mL。

[0020] 本发明的胶体金试纸条能同时检测鹅细小病毒、番鸭细小病毒和新型番鸭细小病毒,灵敏度高,重复性好,临床检验没有假阳性。

附图说明

[0021] 下面结合附图对本发明做进一步说明。

[0022] 图1:不同病毒的胶体金试纸条检测结果,从左至右依次为:鹅细小病毒、番鸭细小病毒、新型番鸭细小病毒、猪细小病毒、I型鸭甲肝病毒、坦布苏病毒、产蛋下降综合征病毒、H9N2亚型禽流感病毒、番鸭呼肠孤病毒和新城疫病毒;

[0023] 图2:GPV-C3株的检测敏感性结果,从左至右的稀释倍数依次为:1:4、1:8、1:16、1:32、1:64、1:128、1:256、1:512、1:1024;

[0024] 图3:本发明胶体金试纸条的示意图。

具体实施方式

[0025] 下面将结合本发明中的实施例,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0026] 实施例1:小鹅瘟病毒单克隆抗体的制备

[0027] 1.1小鼠免疫

[0028] 以浓缩并纯化的小鹅瘟病毒为抗原,与弗氏完全佐剂乳化,皮下多点注射小鼠,每隔2周以相同的抗原加弗氏不完全佐剂加强免疫5次。最后一次免疫后1周采血制备血清,以间接ELISA方法测定效价,将血清效价达到1:1000及以上的小鼠进行1次无佐剂抗原加强免疫,3天后进行细胞融合。

[0029] 1.2骨髓瘤细胞的准备

[0030] 融合前48h,将SP2/0骨髓瘤细胞扩大培养于直径为9cm的细胞培养皿中,每个培养皿加10mL含10%胎牛血清的DMEM培养基(Gibco公司产品),置于37℃、5%CO₂培养箱中培养;融合当天,选择形态良好、呈对数生长的SP2/0细胞,将其从瓶壁上轻轻吹下,收集于50mL离心管内,1000r/min离心5min,弃上清;用DMEM培养基混匀细胞后计数,取所需细胞数,用DMEM培养基洗2次,以10mL DMEM培养基重新悬浮,备用。

[0031] 1.3饲养细胞的准备

[0032] 融合前24h,取1只健康未免疫的6周龄雌性BALB/c小鼠,剥离脾脏置于灭菌的平皿中,用DMEM培养基轻轻洗3次,并剥去周围的结缔组织;将脾脏移入另一灭菌平皿中,置于200目铜网上,用灭菌的西林瓶底部挤压研磨脾脏,并用DMEM培养基轻轻冲洗铜网,使脾细胞全部通过铜网压挤到溶液中;将脾细胞溶液转至50mL离心管中,加DMEM培养基至50mL,混匀;1000r/min离心5min,弃上清;沉淀细胞再用DMEM培养基同法离心洗涤一次;先用5mL HAT培养液(Sigma公司产品)将沉淀细胞悬浮并混匀,作细胞计数,然后根据细胞计数结果,补加HAT培养液至30mL,使细胞浓度为 2×10^5 个/mL;将细胞悬液滴于6块96孔细胞培养板中,每孔50μL,然后将培养板置37℃、含5%CO₂培养箱内培养24h后观察细胞生长状态,细胞呈多形性,贴壁,折光性好时即可使用。

[0033] 1.4融合

[0034] 取免疫小鼠1只,按照1.3的方法制备脾细胞悬液;将骨髓瘤细胞与脾细胞按1:10的比例混合在一起,转入50mL离心管内,1000r/min离心10min,弃上清,用滴管吸净残留液体;用滴管轻轻搅动沉淀,使其松散均匀成糊状;在37℃水浴中融合:一手均匀地转动离心管,另一手用吸管吸取PEG4000溶液1mL,并沿转动的管壁(尽量接近细胞处)加入,从加入到加完的时间控制在1min左右,边加边搅动,用吸管在1min内加入1mL预热至37℃的DMEM培养基,重复3次;然后每分钟加入3mL,直至加满到25mL为止(注意此时操作应轻柔,边转动边加,尽量不搅散细胞);37℃培养箱静置10min,800r/min离心10min,弃上清;加入10mL HAT培养液,轻轻吹吸混匀;根据所用96孔培养板的数量,按一块96孔培养板用量15mL,补加HAT培养液至所需的量;将融合好的细胞悬液加入含有饲养细胞的96孔板,每孔150μL,37℃、5%CO₂培养箱内培养。

[0035] 1.5杂交瘤细胞的选择性培养

[0036] 上述细胞培养5d后,吸去表面液体,加HAT培养液15mL,继续培养7d后,吸去表面液体,加HT培养液(Sigma公司产品)15mL,继续培养7d,期间每天仔细观察融合细胞的生长情况,待融合后的细胞克隆生长到覆盖细胞孔底部1/10时,进行下一步。

[0037] 1.6阳性杂交瘤细胞的筛选

[0038] 吸取有克隆生长的细胞孔上清,用间接ELISA方法进行检测,选择检测结果为强阳性的细胞进行克隆。

[0039] 1.7阳性杂交瘤细胞的克隆

[0040] 以有限稀释法进行克隆,具体步骤如下。

[0041] 1.7.1饲养细胞的准备

[0042] 克隆前24h进行,参照上述1.3的方法。

[0043] 1.7.2稀释

[0044] 将检测结果为强阳性的细胞孔中的杂交瘤细胞集落吹起,混匀,取适量细胞悬液至一无菌EP管中,适当稀释后计数;取130个细胞加入到6.5mL含20%胎牛血清的HT培养液,此时的浓度为20个细胞/mL;饲养细胞A、B、C三排,每孔加100μL,即2个细胞。余下2.9mL细胞悬液,再加入2.9mL含20%胎牛血清的HT培养液,此时的浓度为10个细胞/mL;饲养细胞D、E、F三排,每孔加100μL,即1个细胞。

[0045] 1.7.3培养并检测

[0046] 加了稀释细胞的饲养细胞于37℃、5%CO₂培养箱内培养,适时观察细胞的生长状况,待细胞集落生长到孔底1/10面积,吸取上清,用间接ELISA方法进行检测,选择检测结果为强阳性的细胞进行再次克隆。

[0047] 1.8阳性杂交瘤细胞的再次克隆

[0048] 仍以有限稀释法进行,直到所有克隆化细胞检测结果均为阳性时收获杂交瘤细胞。最终获得2株稳定分泌单克隆抗体的杂交瘤细胞株,命名为3D9和5F4。

[0049] 1.9腹水制备

[0050] 选取12周龄SPF雌性BALB/C小鼠,腹腔注射弗氏不完全佐剂,0.4mL/只;1周后每只小鼠注射 5×10^5 个杂交瘤细胞;至10~12d,观察小鼠腹部明显隆起时,抽取腹水,离心后吸取上清液,小管分装保存于-80℃;采用饱和硫酸铵法提纯单克隆抗体。

[0051] 1.10单克隆抗体亚类鉴定

[0052] 根据MAb亚类鉴定试剂盒的说明书进行类及亚类的鉴定,结果表明,3D9和5F4同属于IgG类IgG1亚类。

[0053] 实施例2:单抗3D9的胶体金标记

[0054] 2.1胶体金的制备

[0055] 取1mL 10g/L氯金酸溶液加入到经泡酸和硅化处理过的锥形瓶中,加入100mL去离子水,锡箔纸封口,放入到微波炉中。高火3min使溶液煮至沸腾,取出锥形瓶,迅速加入10g/L柠檬酸三钠溶液1.5mL,同时混匀。溶液会从淡黄色变为无色,再变为灰黑色。锡箔纸封口,将锥形瓶放入到微波炉,中高火加热3min,溶液变为酒红色后,再加热3min,待其冷却至室温后,用去离子水补至100mL,使用450nm滤膜过滤后,4℃避光保存。

[0056] 2.2胶体金标记

[0057] 将制备好的胶体金于4℃3000r/min离心20min,取上清,用0.1mol/L的K₂CO₃溶液调pH至7.4。在磁力搅拌器上,按50μg/mL的比例,加入单克隆抗体3D9,室温搅拌20min,静置10min,加入50g/L的BSA溶液,使其终质量浓度为10g/L,继续搅拌20min。此即为胶体金标记的单克隆抗体3D9,4℃保存。

[0058] 实施例3:胶体金试纸条的组装

[0059] 3.1金标垫的制备

[0060] 将玻璃纤维素膜浸泡于胶体金标记的单克隆抗体3D9中,于37℃静置30min,室温干燥,即为金标垫,4℃保存。

[0061] 3.2硝酸纤维素膜(NC膜)的制备

[0062] 用喷膜系统将2mg/mL的单克隆抗体5F4喷涂于NC膜上的检测线(T);用喷膜系统将1mg/mL的羊抗鼠IgG抗体喷涂于NC膜上的质控线(C)。室温干燥,浸泡于20g/L的BSA溶液中,室温静置30min,PBST洗涤3次,每次5min,室温干燥,即为NC膜,4℃保存。

[0063] 3.3组装

[0064] 将样品垫、制备好的金标垫、NC膜和吸水纸依次粘贴于塑料底板上,切割成4mm宽的试纸条,置于装有干燥剂的铝箔袋中即可,常温保存。

[0065] 实施例4:胶体金试纸条的特异性研究

[0066] 用制备的胶体金试纸条检测,鹅细小病毒(GPV)、番鸭细小病毒(MDPV)和新型番鸭细小病毒(NMDPV)的检测结果为阳性;猪细小病毒、I型鸭甲肝病毒、坦布苏病毒、产蛋下降综合征病毒、H9N2亚型禽流感病毒、番鸭呼肠孤病毒和新城疫病毒,检测结果全为阴性。详见图1。

[0067] 实施例5:胶体金试纸条的敏感性研究

[0068] 将GPV-C3株(效价为 $10^{6.5}$ ELD₅₀/mL)、MDPV-ZJ株(效价为 $10^{6.5}$ ELD₅₀/mL)、NMDPV-FJ1341株(效价为 $10^{7.5}$ ELD₅₀/mL)的鸭胚适应毒分别做倍比稀释,检测,以试纸条能够检测出的最高稀释度对应的病毒效价为试纸条的检测灵敏度。结果显示,滴度不同的水禽源细小病毒,倍比稀释后进行检测,结果相同,稀释倍数为1:64时,试纸条检测结果为阳性,稀释倍数大于1:64后,试纸条的检测结果均为阴性,GPV-C3株的检测敏感性结果见图2。该方法对GPV、MDPV和NMDPV的最低检出量分别为 $10^{4.7}$ ELD₅₀/mL、 $10^{4.7}$ ELD₅₀/mL和 $10^{5.7}$ ELD₅₀/mL。

[0069] 实施例6:胶体金试纸条的重复性研究

[0070] 用同一批次的试纸条,对2株GPV、2株MDPV、2株NMDPV进行检测,每个样品重复3次,均为阳性;用3个不同批次的试纸条,检测上述6株病毒,结果也均为阳性。表明该试纸条的重复性良好。

[0071] 实施例7:胶体金试纸条的应用研究

[0072] 采集疑似病例的粪便样品41份,加等量PBS振荡,静置后取上清,用试纸条进行检测,同时提取核酸进行PCR扩增。两种检测方法的结果见表1,结果显示,PCR检测阳性的样品有35份,其中32份的胶体金试纸检测结果为阳性,3份为阴性。由于临床病例处于发病的不同阶段,从粪便中排出的病毒量也不相同,当病毒量低于检测限时,试纸条即检测不出。PCR检测阴性的样品有6份,胶体金试纸检测结果全为阴性。说明试纸条没有假阳性的结果。

[0073] 表1临床粪便样品的检测结果

[0074]

样品 编号	试纸法	PCR 法	样品 编号	试纸法	PCR 法	样品 编号	试纸法	PCR 法
1	+	+	15	+	+	29	+	+
2	+	+	16	—	—	30	—	+
3	+	+	17	—	+	31	+	+
4	+	+	18	+	+	32	—	—
5	—	—	19	+	+	33	+	+
6	+	+	20	+	+	34	+	+
7	+	+	21	+	+	35	+	+
8	+	+	22	+	+	36	+	+
9	+	+	23	+	+	37	—	—
10	+	+	24	—	—	38	+	+
11	+	+	25	+	+	39	—	+
12	+	+	26	+	+	40	+	+
13	+	+	27	—	—	41	+	+
14	+	+	28	+	+			

[0075] 上述实施方式旨在举例说明本发明可为本领域专业技术人员实现或使用,对上述实施方式进行修改对本领域的专业技术人员来说将是显而易见的,故本发明包括但不限于上述实施方式,任何符合本权利要求书或说明书描述,符合与本文所公开的原理和新颖性、创造性特点的方法、工艺、产品,均落入本发明的保护范围之内。

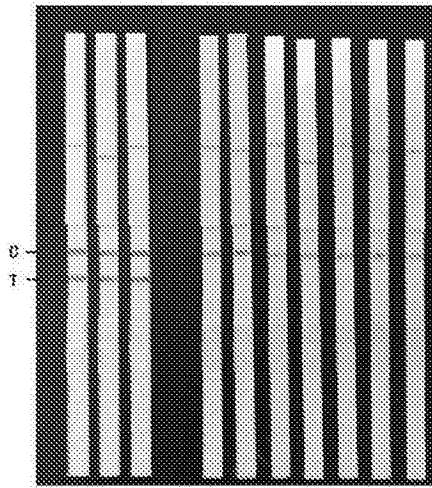


图1

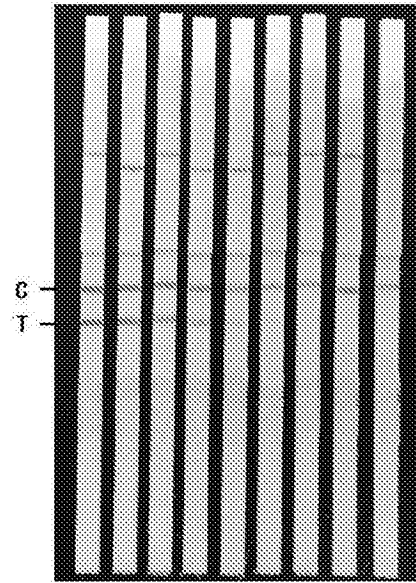


图2

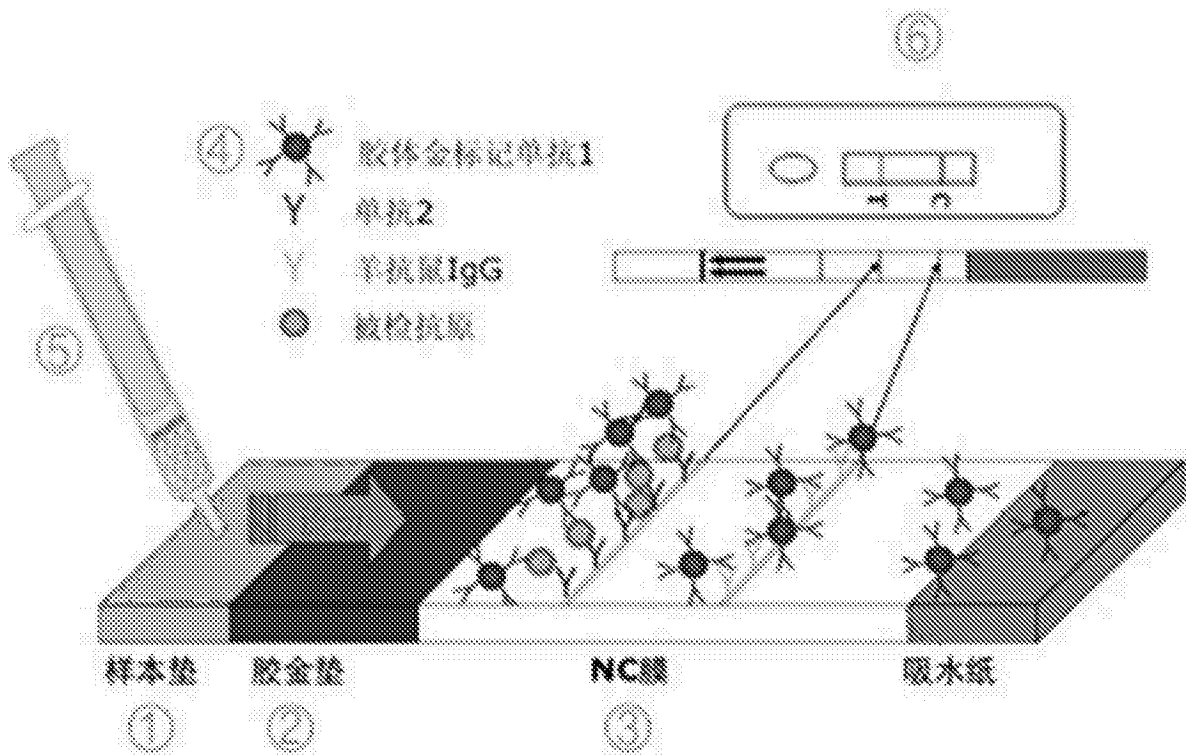


图3

专利名称(译)	一种能同时检测水禽源细小病毒的胶体金试纸条及制备方法		
公开(公告)号	CN106645727A	公开(公告)日	2017-05-10
申请号	CN201610883318.8	申请日	2016-10-10
[标]申请(专利权)人(译)	福建省农业科学院畜牧兽医研究所 厦门市波生生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	福建省农业科学院畜牧兽医研究所 厦门市波生生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	福建省农业科学院畜牧兽医研究所 厦门市波生生物技术有限公司		
[标]发明人	程龙飞 张长弓 黄瑜 何琼 贾志娟 陈慧敏 傅秋玲 傅光华 施少华 万春和 刘荣昌 陈红梅		
发明人	程龙飞 张长弓 黄瑜 何琼 贾志娟 陈慧敏 傅秋玲 傅光华 施少华 万春和 刘荣昌 陈红梅		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/569 G01N33/558 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/531 G01N33/558 G01N33/56983 G01N33/577 G01N2333/015		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及动物医学领域，公开了一种检测水禽源细小病毒的胶体金试纸条及制备方法。该试纸条包括底板、样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜、吸水垫；所述金标垫包被了带有抗小鹅瘟病毒单克隆抗体I的胶体金标记蛋白；所述硝酸纤维素膜上沿样品流动方向依次设有检测线和质控线；所述硝酸纤维素膜的检测线包被抗小鹅瘟病毒单克隆抗体II，所述硝酸纤维素膜的质控线包被羊抗鼠IgG抗体。本发明可同时检测鹅细小病毒、番鸭细小病毒和新型番鸭细小病毒，极大程度降低了反应的假阳性，提高了检测的特异性以及灵敏度。

