

基于抗体的免疫胶体金检测盒

◎ 毛宇凯 刘 艳 胡晓静 贺鹏明 穆林浩 / 河北工程大学 河北 邯郸 056038

摘要:将动物疫病病原抗体检测与胶体金技术结合,解决目前畜牧养殖业生产中疫病检测操作专业、费用高、检测速度慢等难题,为畜牧业疫病检测提供一种全新的操作简单、敏感性高、特异性强、检测速度快、结果易于判定、经济实用的选择。通过完全“傻瓜式”的操作方式,检测盒可以使一个普通农户花1~2分钟便得到一个兽医专业本科生在实验室中花1~2小时才能获得的结果,而花费只需三分之一。

关键词:动物疫病;抗体;胶体金技术

随着我国畜禽养殖数目的不断增多,畜禽疾病检测市场的需求也不断扩大。目前国内畜禽疾病检测市场上使用的方法主要有ELISA诊断法和凝集、沉淀试验诊断法,这两种方法都是成熟的畜禽疾病检测技术,但是,由于我国农业现代化程度不高,畜禽的集约化养殖程度较低,个体养殖户所占比例较大,所以这两种检测方法在这种特殊的畜禽养殖环境中得不到很好的普及,存在较多的缺点。

在这种客观市场环境下,我国畜禽疾病检测市场迫切要求一种能与ELISA检测方法和凝集、沉淀试验检测方法相媲美,但又使用方便,成本低廉的畜禽疾病检测产品。根据胶体金法检测“检测快速、使用简便、灵敏度高、特异性强”的优点,以及其在检测人类疾病成功的经验基础上,我们公司运用胶体金法生产畜禽疾病检测产品用于满足畜禽疾病检测市场的迫切需求,填补国内该产品的相对空白,满足市场。

1 免疫胶体金技术

胶体金免疫层析技术将胶体金标记技术、免疫检测技术和蛋白层析技术相结合的以硝酸纤维素膜为载体的快速固相膜免疫分析技术。它的原理是以条形纤维层析材料(主要是硝酸纤维素膜,NC膜)为固相载体,膜上包被有检测蛋白和质控蛋白;样品溶液滴加在样品垫上,通过样品垫减缓样品渗透速度、去除样品中杂质颗粒、调节样品液PH值或粘度;层析进入金标垫(金标垫多用玻璃纤维素膜)后,样品中的待检物与金标蛋白能够特异性结合形成金标复合物,并通过层析作用流入到NC膜上;待测样品溶液通过毛细作用在NC膜上流动,流动液体中与金标蛋白结合后的待测物与固相载体NC膜上的检测蛋白发生高特异性、高亲和性的免疫反应,层析过程中免疫复合物被富集或截留在层析材料的检测带;而多余的金标蛋白越过检测带继续层析,被质控带上的捕获蛋白富集或截留;通过直接目测金标复合物和金标蛋白聚集后显色来判断结果。胶体金免疫层析技术就是利用胶体金颗粒本身能够显色的特点结合免疫层析技术而达到检测目的,层析时胶体金标记物与待测物结合形成胶体金标记复合物,之后被相应配体捕获而聚集显色,以NC膜上显色带的有无进行快速检测。

2 产品应用前景

动物疫病抗体检测盒主要应用于两方面:

- ①疫病诊断:检测特定疫病抗体,间接检测特定疫病抗原。
- ②疫苗免疫效果评估:检测特定疫病抗体水平。

通过完全“傻瓜式”的操作方式,检测盒可以使一个农户花1~2分钟得出与实验室中一个兽医专业本科生花1~2小时用现今常规ELISA方法检测获得的一样的结果,而花费只是三分之一。

动物病的传染病种类繁多、危害严重,这些病如果预防不好,会给畜牧业造成无法估量的损失。下面以本公司计划推出的第一批的3种猪病产品为例说明:

1猪瘟:急性病例,多在1周左右死亡,死亡率可达60%~80%;

1伪狂犬病:母猪流产率为50%,仔猪死亡率为96.34%;

1口蹄疫:成年猪死亡率5%~10%,仔猪病死率可达60~80%。可感染人,引起社会公共卫生威胁,造成国家农产品进出口贸易巨大损失。因此必须实行防疫措施制度化、经常化,才能更好地控制疫病的发生、保证经营获利。

3 产品优势

①操作简便:室温内操作、结果判断简单、无需专业设备仪器使用者、无需专业背景知识;

②灵敏度高:实验结果表明,胶体金的敏感性可达到ELISA的水平。而结合银染色时,检测的敏感性更大提高;

③检测速度快:1~2分钟可获得结果;

④特异性强:假阳性率可控制在几千分之一;

⑤应用广泛:针对不同的动物疫病可以广泛地开发检测产品,检测范围可覆盖目前几乎所有动物疫病,产品可用于疫苗使用效果的评估、动物疫病的诊断;

⑥经济高效:费用是传统ELISA检测方法的三分之一;

此外,胶体金检测盒还有以下优点:

①试剂和样本用量极小,样本量可低至1~2ul;

②不需 γ -计数器、荧光显微镜、酶标检测仪等贵重仪器,更适于现场应用;

③没有诸如放射性同位素、邻苯二胺等有害物质参与;

④实验结果可以长期保存;

⑤时间大大缩短,提高了检测速度。金标过程中,无共价键形成,是一定离子浓度下的物理吸附。

4 风险

尽管我公司生产经营的产品——胶体金法畜禽疾病快速检测器适应市场需求,严格上来说填补了国内绝大多数省份市场的空白,但是新鲜事物难免要面对市场上不确定因素的风险,主要风险包括:

①强有力竞争对手的加入。我们的企业无疑在科研力量上有很大的优势,但是由于资本与经验的限制使得我们对于强大的竞争对手无能力,甚至会赔上市场开发的费用。有鉴于此,企业应该尽快得到产品的专利,加快产品的更新速度。

②旧有技术的顽强性。旧有技术已统治市场一段很长的时间,与他竞争时我们可能将面对强大的阻力。对于此企业应加大公关营销的力度,强调差异化,让养殖户能更了解我们产品的特性。

5 结语

总而言之,本研究旨在利用胶体金免疫层析法为技术核心,建立一种快速、简便、敏感性高和特异性强,结果直观可靠,且能快速进行抗体检测鉴别诊断方法,用于全病毒灭活疫苗接种动物与自然感染动物的鉴别诊断。检测盒在市场上的面世,满足市场的需求,可为我国动物疫病的预防控制与政府监管作出重大的贡献,产生可观的社会效益和经济效益。

参考文献

- [1] 王岩青.论免疫胶体金技术及其在兽医临床上的应用[J].兽医导刊,2018(6):59.
- [2] 施海燕,盛恩泽,马明,等.氯噻啉胶体金增强免疫层析分析方法的建立[J].分析化学,2017,30(3):403-408.