



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103235134 B

(45) 授权公告日 2015. 10. 14

(21) 申请号 201310166955. X

CN 102445534 A , 2012. 05. 09,

(22) 申请日 2013. 05. 08

CN 102707071 A , 2012. 10. 03,

(73) 专利权人 成都创宜生物科技有限公司

CN 201697917 U , 2011. 01. 05,

地址 610041 四川省成都市高新区科园南路
88 号天府生命科技园 7 号研发楼 302
号

US 2007/0224689 A1 , 2007. 09. 27,

US 2012/0052595 A1 , 2012. 03. 01,

Tao Wang 等. Proteins in leaked

amniotic fluid as biomarkers diagnostic for
prelabor rupture of membranes. 《Proteomics
Clinical Applications》. 2011, 第 5 卷 (第 7 -
8 期),

(72) 发明人 关祥乾 胡怀忠

贾娟娟 等. 心肌肌钙蛋白 I 免疫层析试纸条
的研制. 《检验医学与临床》. 2012, 第 9 卷 (第
22 期),

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限
公司 11227

代理人 李玉秋 郝鹏

审查员 段晓露

(51) Int. Cl.

G01N 33/577(2006. 01)

G01N 33/531(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101309929 A , 2008. 11. 19,

CN 101738474 A , 2010. 06. 16,

CN 101871943 A , 2010. 10. 27,

CN 102053157 A , 2011. 05. 11,

CN 102292638 A , 2011. 12. 21,

权利要求书1页 说明书13页 附图3页

(54) 发明名称

一种检测胎膜早破的免疫层析试纸及其制备
方法

(57) 摘要

本发明公开一种免疫层析试纸, 具体涉及一
种检测胎膜早破的免疫层析试纸。所述免疫层析
试纸上设置有多条检测线, 每条检测线由不同的
抗体包被形成, 所述抗体选自羊抗人可溶性细胞
间粘附分子-1 多克隆抗体、兔抗人胰岛素样生
长因子结合蛋白-1 抗体、兔抗人胎盘 α -微球蛋
白-1 抗体、兔抗人甲胎蛋白多克隆抗体以及兔抗
人 Ax1 多克隆抗体; 质控线为由羊抗鼠 IgG 多克
隆抗体包被形成; 本发明免疫层析试纸在检测胎
膜早破时, 其检测结果的灵敏性和特异性有较明
显的提高, 分别可达到 99% 以上和 96% 以上, 从而
减少误诊的发生率。

CN 103235134 B

1. 一种检测胎膜早破的免疫层析试纸,该免疫层析试纸包括有样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫、胶板;所述样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫依次按顺序与胶板连接;其特征在于:所述层析膜上依次设置有检测区和质控区,所述检测区靠近胶体金结合垫一端,所述质控区靠近吸水垫一端;所述检测区内设置有检测线,所述检测线依次设置为主检测线和副检测线,所述主检测线为由羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1多克隆抗体包被形成;所述副检测线为两种不同的抗体分别包被形成两条副检测线;所述副检测线中包被的抗体分别为兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1抗体、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1抗体;所述质控区内设置有质控线,所述质控线为由羊抗鼠 IgG 多克隆抗体包被形成;

所述各抗体的工作液浓度为:羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1多克隆抗体 1-2.5mg/mL、兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1抗体 0.2-2mg/mL、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1抗体 0.5-2.5mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 0.5-2mg/mL;

所述胶体金结合垫中包被有鼠抗人可溶性细胞间粘附分子-1单克隆抗体。

2. 根据权利要求 1 所述的检测胎膜早破的免疫层析试纸,其特征在于:所述检测线以及质控线中各抗体的工作液浓度为羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1多克隆抗体 1.5-2.5mg/mL、兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1抗体 1-2mg/mL、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1抗体 0.5-1.5mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 0.5-1.5mg/mL。

3. 根据权利要求 2 所述的检测胎膜早破的免疫层析试纸,其特征在于:所述检测线以及质控线中各抗体的工作液浓度为羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1多克隆抗体 2.5mg/mL、兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1抗体 1.5mg/mL、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1抗体 1mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 1.5mg/mL。

4. 一种制备权利要求 1 所述的检测胎膜早破的免疫层析试纸的制备方法,其特征在于包括有以下各步骤:

A、将各抗体检测线工作液和质控线工作液在硝酸纤维素膜上进行包被,所得硝酸纤维素膜在 36-38°C 下干燥 8-12 小时得层析膜;

B、将鼠抗人可溶性细胞间粘附分子-1单克隆抗体和胶体金制备成胶体金结合垫;

C、将 A 和 B 步骤所得的层析膜和胶体金结合垫按照样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫的顺序依次粘贴在胶板上制备得所述检测胎膜早破免疫层析试纸。

一种检测胎膜早破的免疫层析试纸及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种免疫层析试纸,具体涉及一种检测胎膜早破的免疫层析试纸。

背景技术

[0002] 免疫层析试纸是一种利用层析原理将待检测液中的目标检测分子或成分等在试纸条上流动至检测线(T线)和质控线(C线),当检测线发生颜色变化则说明检测结果为阳性,否则为阴性,当质控线发生颜色变化时,则说明检测结果有效,否则无效。

[0003] 免疫层析试纸在检测或诊断某些疾病时具有非常便利的优点,因此其已被充分运用到多种疾病或症状的检测或诊断过程中,例如早孕试纸。一般情况下,免疫层析试纸包含有以下几种结构:样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫、胶板,所述样品垫、胶体金结合垫、层析膜和吸水垫依次粘贴在胶板上;所述层析膜上依次设置有检测线和质控线;其工作原理为:将待测液滴加至样品垫上,待测液利用层析原理流向胶体金结合垫,待测液溶解胶体金结合垫中的胶体金结合物,并与其共同依次流向层析膜上的检测线和质控线;当待测液中含有目标检测分子,则目标检测分子、胶体金结合物会与检测线内包含的抗体成分结合从而形成免疫复合物,同时检测线颜色发生变化;当待测液流至质控线时,质控线内包含的抗体成分会与胶体金结合物结合,从而质控线颜色发生变化。

[0004] 胎膜破裂(Rupture of Fetal Membrane,简称ROM)在孕期可能随时发生,在临产前发生的胎膜破裂称为胎膜早破(PROM)。足月后(37孕周后)PROM的发生率约为10%,足月前(37孕周前)PROM的发生率为2-3.5%。胎膜早破是引起产科病人产前、产后并发症的主要因素,也是导致胎儿早产和新生儿必须入住重症监护室的主要原因。由于医务人员不得不在延长孕周与宫内及孕妇感染的风险和胎儿肺发育问题之间求平衡,因而对胎膜早破患者的管理成本高、难度大,准确及时诊断孕妇是否发生胎膜早破至关重要。

[0005] 现有检测胎膜早破的方法中除以往的临床询问病史等方法外,主要以妊娠妇女阴道分泌物中的可溶性细胞间粘附分子-1(简称sICAM-1)为检测指标的检测工具为较新的方法。其中以sICAM-1为检测指标的检测胎膜早破免疫层析试纸对于产科病人及时诊断是否发生胎膜早破起到了较好的效果;所述免疫层析试纸的检测线内包被有羊抗人sICAM-1多克隆抗体工作液,质控线内包被有羊抗鼠IgG多克隆抗体工作液,胶体金结合物中含有鼠抗人sICAM-1单克隆抗体。

[0006] 现有临床对胎膜早破的诊断过程中,部分胎膜破口大、阴道羊水流量大的产科病人能够得到及时的诊断,而对于部分胎膜破口小、破口位置高、阴道羊水流量小的产科病人而言,目前临床诊断仍然存在一定的困难,从而容易耽误产科病人及时就诊的时间;而现有仅以sICAM-1为检测指标的检测胎膜早破的免疫层析试纸对于前述的胎膜破口小、破口位置高、阴道羊水流量小的产科病人而言,其检测结果的灵敏性和特异性往往受限,不够理想,从而容易造成误诊,对产科病人来说同样会造成不便。

发明内容

[0007] 有鉴于此,本发明提供一种检测胎膜早破的免疫层析试纸,该免疫层析试纸在检测胎膜早破时,其检测结果的灵敏性和特异性有较明显的提高,分别可达到 99% 以上和 96% 以上,从而减少误诊的发生率。

[0008] 为解决以上技术问题,本发明的技术方案是采用一种检测胎膜早破的免疫层析试纸,该免疫层析试纸包括有样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫、胶板;所述样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫依次按顺序与胶板连接;所述层析膜上依次设置有检测区和质控区,所述检测区靠近胶体金结合垫一端,所述质控区靠近吸水垫一端;所述检测区内设置有检测线,所述检测线依次设置为主检测线和副检测线,所述主检测线为由羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1 多克隆抗体包被形成;所述副检测线为由一种或两种不同的抗体分别包被形成一条或两条副检测线;所述副检测线中包被的抗体为选自兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1 抗体、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1 抗体、兔抗人甲胎蛋白多克隆抗体以及兔抗人 Ax1 多克隆抗体;所述质控区内设置有质控线,所述质控线为由羊抗鼠 IgG 多克隆抗体包被形成;

[0009] 所述各抗体的工作液浓度为:羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1 多克隆抗体 1-2.5mg/mL、兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1 抗体 0.2-2mg/mL、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1 抗体 0.5-2.5mg/mL、兔抗人甲胎蛋白多克隆抗体 0.5-2.5mg/mL、兔抗人 Ax1 多克隆抗体 0.5-2mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 0.5-2mg/mL;

[0010] 所述胶体金结合垫中包被有鼠抗人可溶性细胞间粘附分子-1 单克隆抗体。

[0011] 优选的,所述副检测线中包被的抗体为一种或两种选自兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1 抗体、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1 抗体。

[0012] 优选的,所述副检测线中包被的抗体分别为兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1 抗体、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1 抗体。

[0013] 优选的,所述检测线以及质控线中各抗体的工作液浓度为羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1 多克隆抗体 1.5-2.5mg/mL、兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1 抗体 1-2mg/mL、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1 抗体 0.5-1.5mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 0.5-1.5mg/mL。

[0014] 优选的,所述检测线以及质控线中各抗体的工作液浓度为羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1 多克隆抗体 2.5mg/mL、兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1 抗体 1.5mg/mL、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1 抗体 1mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 1.5mg/mL。

[0015] 本发明与现有技术相比,其详细说明如下:

[0016] 本发明采用的技术方案为:检测胎膜早破的免疫层析试纸,该免疫层析试纸包括有样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫、胶板;所述样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫依次按顺序与胶板连接;所述层析膜上依次设置有检测区和质控区,所述检测区靠近胶体金结合垫一端,所述质控区靠近吸水垫一端;所述检测区内设置有检测线,所述检测线依次设置为主检测线和副检测线,所述主检测线为由羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1 多克隆抗体包被形成;所述副检测线为由一种或两种不同的抗体分别包被形成一条或两条副检测线;所述副检测线中包被的抗体为选自兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1 抗体、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1 抗体、兔抗人甲胎蛋白多克隆抗体以及兔抗人 Ax1 多克隆抗体;所述质控区内设置有质控线,所述质控线为由羊抗鼠 IgG 多克隆抗体包被形成;

[0017] 所述各抗体的工作液浓度为:羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1 多克隆抗体

1-2.5mg/mL、兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1 抗体 0.2-2mg/mL、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1 抗体 0.5-2.5mg/mL、兔抗人甲胎蛋白多克隆抗体 0.5-2.5mg/mL、兔抗人 Ax1 多克隆抗体 0.5-2mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 0.5-2mg/mL；

[0018] 所述胶体金结合垫中包被有鼠抗人可溶性细胞间粘附分子-1 单克隆抗体。

[0019] 首先,细胞间粘附分子(intercellular adhesive molecule1,简称 ICAM-1)是一种参与细胞与细胞之间以及细胞与外基质之间相互作用的分子统称,包括有存在于体液中的可溶性细胞间粘附分子(soluble intercellular adhesive molecule1,简称 sICAM-1)和存在于细胞表面的膜型细胞间粘附分子(简称膜型 ICAM-1)。其中,sICAM-1 不仅保留了膜型 ICAM-1 的生物学特性,其还是膜型 ICAM-1 在体液中的可溶形式。本发明人经过充分的研究发现,发生胎膜早破的妊娠妇女受羊水中的单核细胞上 sICAM-1 的表达和中性粒细胞的影响,其阴道分泌物中的 sICAM-1 含量明显升高,现已有将 sICAM-1 为目标分子来检测胎膜早破的检测工具,如免疫层析试纸,但在实际应用过程中,其检测目标分子单一,若发生胎膜早破时,出现胎膜破口小、破口高、阴道羊水流量小的情况时,则易造成灵敏性和特异性均较低,容易产生误诊。

[0020] 本发明所述灵敏性为患病人群中得出阳性检测的样本占病人总数的百分比,特异性为健康人群中得出阴性检测的样本占健康人总数的百分比。影响本发明免疫层析试纸检测结果灵敏性和特异性的因素较多,包括有免疫层析试纸本身的差异,如检测线工作液的选择、检测线工作液的浓度以及质控线工作液的浓度等,另外,试纸本身的制作工艺也同样会对检测结果的灵敏性和特异性有一定的影响。

[0021] 本发明人经过充分的研究发现,sICAM-1 是妊娠晚期出现在羊水中的主要蛋白质之一,含量一般为 14ng/mL 左右;而发生胎膜早破时,羊水中含量较多的 sICAM-1 则会出现在阴道分泌物中。另外,除了上述 sICAM-1 在发生胎膜早破的妇女阴道液样本中含量较多外,其他含量明显增多的抗原还有胰岛素样生长因子结合蛋白-1、胎盘 α -微球蛋白-1、甲胎蛋白以及 Ax1。因此,本发明主要采用以妊娠妇女阴道分泌物中的多种抗原成分作为共同检测目标分子。

[0022] 本发明经过蛋白芯片筛选试验发现,确诊的胎膜早破产妇与确诊的非胎膜早破产妇相比(两组产妇的年龄与妊娠周龄匹配,无基础疾病,无妊娠合并症),其阴道分泌物样本中 sICAM-1、胰岛素样生长因子结合蛋白-1、胎盘 α -微球蛋白-1、甲胎蛋白以及 Ax1 的浓度具有明显差异;其中,确诊的胎膜早破产妇阴道分泌物样本中 sICAM-1 的浓度 90% 以上均在 2ng/mL 以上,而确诊的非胎膜早破产妇阴道分泌物样本中 sICAM-1 的浓度 90% 以上均在 1ng/mL 以下;确诊的胎膜早破产妇以及健康对照组的阴道分泌物样本中的 sICAM-1 的平均浓度、胰岛素样生长因子结合蛋白-1 的平均浓度、以及 Ax1 的平均浓度可参见下表(详见实施例 1);胎盘 α -微球蛋白-1 在检测妊娠妇女胎膜早破的应用等数据可参考文献:郭广玲,刘永珍,等.检测阴道液中胎盘 α -微球蛋白-1 诊断胎膜早破的价值[J].中国医师进修杂志,2010,33(15);甲胎蛋白的平均浓度可参见文献:易媛媛,其木格,等.检测阴道液 HCG 及 AFP 水平诊断胎膜早破的临床价值[J].内蒙古医学杂志,2008,40(7):794-797. 本发明中不再赘述。

[0023]

样本	浓度 (ng/ml)		
	IGFBP-1	sICAM-1	Ax1
胎膜早破组	51.88±35.55	7.83±6.48	3.14±2.70
健康对照组	3.86±7.49	0.88±1.18	0.16±0.42

[0024] 鉴于上述实验结果,为了提高本发明免疫层析试纸对胎膜早破的检测结果的灵敏性和特异性,本发明人经过充分的研究,采用以多种检测目标分子的抗体制备成多重检测线的方式来共同检测胎膜早破,从而更加准确的定性分析妊娠妇女是否发生胎膜早破;本发明检测胎膜早破的免疫层析试纸可以有效的避免某些干扰因素,从而对胎膜早破的诊断有更加准确的分析,从而提高检测结果的灵敏性和特异性。

[0025] 检测线中抗体的不同浓度对于检测样本中的抗原成分的显色程度有着不同的效果;当检测线中的抗体浓度过低,则其和抗原起结合反应的量较少,从而导致显色不明显,导致患病人群中本应检测出阳性结果的检测出阴性结果,灵敏性偏低;当检测线中的抗体浓度过高,则其和抗原起结合反应的量较多,从而导致显色过于明显,导致健康人群中本应检测出阴性结果的检测出阳性结果,特异性偏低。

[0026] 质控线中抗体的不同浓度对于试纸的检测结果有效性的判定有着不同的效果;当检测液经过检测线时,其中的抗原和胶体金结合垫中的抗体(本发明中为鼠抗人可溶性细胞间粘附分子-1单克隆抗体)会与检测线内的抗体结合形成带有一定颜色的结合物,而部分没有结合的胶体金结合垫内的抗体则会继续移动至质控线,从而与质控线中的抗体成分结合成另一种结合物,质控线颜色变化,从而说明检测结果有效。当检测线工作液的浓度过高,则会导致移动至质控线的胶体金结合垫的抗体含量较少,从而导致质控线颜色变化不够明显,导致检测结果失效;当检测线工作液的浓度偏低,则会导致移动至质控线的胶体金结合垫的抗体含量较多,从而导致质控线工作液成本上的浪费。

[0027] 鉴于上述原因,如果仅仅单独调整检测线工作液浓度和质控线工作液浓度,则得到的是两者单独使用时的最佳浓度,但由于免疫层析试纸中检测线和质控线为同时使用,因此两者之间组合后的较佳浓度需要经过大量的实验进行筛选和验证。同时,由于本发明免疫层析试纸的检测线为多重检测线,不同检测线中所包被的抗体成分不同,因此、本发明的免疫层析试纸中每一条检测线的工作液浓度均对检测结果的灵敏性和特异性有影响;鉴于上述原因,本发明需要研究多种检测线工作液的较佳组合浓度,该研究较为繁琐。

[0028] 另外,将各种检测抗体制备成检测线本身就具有多种的组合方式,本发明首先是在多种可检测妊娠妇女胎膜早破的目标分子之上进行筛选,得出本发明所采用的各种抗体检测成分,包括有羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1多克隆抗体、兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1抗体、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1抗体、兔抗人甲胎蛋白多克隆抗体以及兔抗人Ax1多克隆抗体;同时,本发明人在上述各种抗体检测成分的各种组合中经过充分的研究,发现本发明方式将羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1多克隆抗体制备成主检测线,并将其余各种抗体分别制备成一条或两条不同的副检测线的方式运用于免疫层析试纸可以获得更好的检测结果,其灵敏性和特异性均有较大的提高,分别可达到99%和96%以上。

[0029] 本发明所述的免疫层析试纸在使用的过程中,待检样本中的抗原成分首先与胶体金结合垫中的鼠抗人可溶性细胞间粘附分子-1单克隆抗体的胶体金结合物进行结合,然后所得结合物在层析膜的作用下依次移动至主检测线和副检测线,若待检样本中含有抗原成分或抗原成分含量足够,则各检测线均应转变成紫红色线;但实际操作过程中,由于某些不可知的因素影响,从而导致待检样本中某些抗原成分含量不足;鉴于上述原因,本发明的免疫层析试纸中所使用的抗体的工作液浓度经过大量的实验研究,本发明采用将各抗体的工作液浓度设置为羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1多克隆抗体 1-2.5mg/mL、兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1抗体 0.2-2mg/mL、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1抗体 0.5-2.5mg/mL、兔抗人甲胎蛋白多克隆抗体 0.5-2.5mg/mL、兔抗人Ax1多克隆抗体 0.5-2mg/mL、羊抗鼠IgG多克隆抗体 0.5-2mg/mL时。

[0030] 经过实验研究证实,本发明所得免疫层析试纸在使用过程中的检测结果判定如下:当本发明免疫层析试纸上质控线转变为紫红色线时,说明结果有效,否则无效;当仅有一条检测线转变为紫红色线或无检测线转变为紫红色线时,结果判定为阴性,即未发生胎膜早破;当有两条以上检测线转变为紫红色线时,结果判定为阳性;本发明免疫层析试纸采用多种检测线共同检测的方式可以避免某些因素的影响,从而更好的判断出是否发生胎膜早破,其检测结果的灵敏性和特异性分别可达到99%和98%以上。

[0031] 进一步的,本发明免疫层析试纸还可采用更加优选的方式,即优选采用所述副检测线中包被的抗体为一种或两种选自兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1抗体、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1抗体。

[0032] 进一步的,本发明免疫层析试纸还可采用更加优选的方式,即优选采用所述副检测线中包被的抗体分别为兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1抗体、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1抗体。

[0033] 进一步的,本发明免疫层析试纸还可采用更加优选的方式,即优选采用所述检测线以及质控线中各抗体的工作液浓度为羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1多克隆抗体 1.5-2.5mg/mL、兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1抗体 1-2mg/mL、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1抗体 0.5-1.5mg/mL、羊抗鼠IgG多克隆抗体 0.5-1.5mg/mL。

[0034] 进一步的,本发明免疫层析试纸还可采用更加优选的方式,即优选采用所述检测线以及质控线中各抗体的工作液浓度为羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1多克隆抗体 2.5mg/mL、兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1抗体 1.5mg/mL、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1抗体 1mg/mL、羊抗鼠IgG多克隆抗体 1.5mg/mL。

附图说明

[0035] 图1是胎膜早破组阴道分泌物样本的细胞因子/趋化因子抗体芯片检测结果图;

[0036] 图2是健康对照组阴道分泌物样本的细胞因子/趋化因子抗体芯片检测结果图;

[0037] 图3是健康妊娠妇女羊水样本的细胞因子/趋化因子抗体芯片检测结果图;

[0038] 图4是sICAM-1的酶联免疫吸附法的检测结果图;

[0039] 图5是胰岛素样生长因子结合蛋白-1的酶联免疫吸附法的检测结果图;

[0040] 图6是Ax1的酶联免疫吸附法的检测结果图。

具体实施方式

[0041] 为了使本领域的技术人员更好地理解本发明的技术方案,下面结合具体实施例对本发明作进一步的详细说明。

[0042] 实施例 1

[0043] 以四川大学华西第二医院门诊及住院的产妇为实验对象,根据现有检测方法将实验对象分为胎膜早破组、健康对照组和羊水样本组。

[0044] 胎膜早破组:110 例胎膜早破妊娠妇女(其中 80 例足月胎膜早破和 30 例足月前胎膜早破);

[0045] 健康对照组:110 例分娩前的胎膜完整妊娠妇女;

[0046] 羊水样本组:30 例行剖宫产的胎膜完整妊娠妇女。

[0047] 实验对象临床筛选标准:

[0048] 胎膜早破组—(i) 临产前观察到羊水漏出;

[0049] (ii) 阴道分泌物样本 pH 试纸检测阳性;

[0050] (iii) 羊齿植物叶状结晶检测阳性。

[0051] 健康对照组—(i) 临产前未观察到羊水漏出;

[0052] (ii) 阴道分泌物样本 pH 试纸检测阴性;

[0053] (iii) 羊齿植物叶状结晶检测阴性。

[0054] 实验对象年龄分布:80 例足月胎膜早破平均年龄 28 岁(年龄范围 19-35 岁),30 例足月前胎膜早破平均年龄 31 岁(年龄范围 19-45 岁),健康对照组平均年龄 30 岁(年龄范围 18-43 岁)。

[0055] 样本收集方法:妊娠妇女取膀胱截石位(以平仰卧位躺下,双下肢分开屈曲,暴露外阴),窥开阴道后,用一次性无菌棉签伸入阴道后穹窿处,旋转 5 圈取样。将棉签头插入 1mL 样本稀释液(磷酸盐缓冲系统)中,旋转 5 次后,紧贴管壁挤压旋转 2 次,获得待测样本。

[0056] A、实验方法:细胞因子/趋化因子抗体芯片定性检测

[0057] 实验条件:

[0058] 1、将预先标记有 174 个细胞因子抗体的膜(RayBiotech,美国)放入检测盒中,然后加入 2ml 封闭液,室温封闭 6 小时;

[0059] 2、弃去封闭液,加入 1.2ml 待检样本 1 份,4℃过夜孵育;

[0060] 3、弃去样本,用 2ml 洗涤缓冲液清洗 5 次;

[0061] 4、加入 1ml 生物素偶联的检测抗体,室温孵育 2 小时;

[0062] 5、弃去抗体,用 2ml 洗涤缓冲液清洗 5 次;

[0063] 6、加入 2ml 辣根过氧化物酶(HRP)偶联的链霉素亲和素,室温孵育 2 小时;

[0064] 7、弃去液体,用 2ml 洗涤缓冲液清洗 5 次;

[0065] 8、在膜上加入化学发光试剂 500 μ l,避光作用 2 分钟,观察结果。

[0066] 从胎膜早破组、健康对照组和羊水样本组中各收集的待测样本均采用上述实验条件进行检测,所得结果如图 1、图 2 和图 3 所示。

[0067] 实验结果:图 1、图 2 和图 3 中的标记 1 为胰岛素样生长因子结合蛋白-1 的表达信号,标记 2 为 sICAM-1 的表达信号,标记 3 为 Ax1 的表达信号。从图 1、图 2 和图 3 中可以看出,胎膜早破组的阴道分泌物和羊水样本组中胰岛素样生长因子结合蛋白-1、sICAM-1、

Ax1 的表达较强,而健康妊娠妇女阴道分泌物样本中上述三者的表达较弱,上述三者中,又以 sICAM-1 的表达最强。

[0068] B、实验方法:酶联免疫吸附法定量检测

[0069] 实验条件:

[0070] 实验材料:sICAM-1ELISA 检测试剂盒(R&D 公司)

[0071] 1. 试剂的配制

[0072] 洗涤缓冲液(Wash Buffer)

[0073] 底物溶液(Substrate Solution):使用前,将试剂盒中的显色剂 A 和显色剂 B 等量、避光混合 15 分钟,每个孔需要两种显色剂的混合物 200 μ l。

[0074] sICAM-1 标准品:用 1ml 去离子水将 sICAM-1 标准品稀释。稀释后的标准品原液浓度为 250ng/ml。为确保标准品充分混匀,在进一步稀释前,将标准品放于摇床上轻轻晃动混匀至少 15 分钟以上。

[0075] 分别将 250ng/ml 的标准品配置成浓度为 50ng/ml、25ng/ml、12.5ng/ml、6.25ng/ml、3.13ng/ml、1.56ng/ml 的 sICAM-1 检测标准品;RD5-7 校准稀释剂作为空白对照(0ng/ml)

[0076] 2. 检测程序

[0077] 向每个微孔中加入 100 μ l sICAM-1Conjugate;标准品、对照物、样本的加入量为 100 μ l,并加入到对应的微孔中。将微孔用试剂盒提供的胶条盖好。将微孔板在室温条件下置于水平摇床上 500 \pm 50 转/分钟培育 1.5 小时。洗板;每孔加底物溶液(Substrate Solution) 200 μ l,室温条件下,避光、平放培育 30 分钟;每孔加 50 μ l 终止液(Stop Solution)。孔中溶液的颜色将由蓝色变为黄色。如果孔中溶液颜色为绿色或颜色变化不一致,轻轻拍打平板,以确保溶液充分混匀;30 分钟内测 450nm 吸光值。

[0078] 3. 制作标准曲线,计算样本含量。

[0079] 4. 将计算所得的每个待测样本的含量统计并绘制成图表,所得图表见附图 4。

[0080] 胰岛素样生长因子结合蛋白 -1 以及 Ax1 的酶联免疫吸附法定量检测可参照上述 sICAM-1 的酶联免疫吸附法定量检测进行,所采用的检测试剂盒均购自同一家公司,所得实验结果如下。

[0081] 实验结果:图 4-图 6 中,AF of control 为羊水样本,CVF of PROM 为胎膜早破组的阴道分泌物,CVF of control 为健康对照组的阴道分泌物。

[0082] 从图 4 可以看出,sICAM-1 在健康妊娠妇女羊水样本中的浓度最高,平均可达到 80ng/mL;sICAM-1 在胎膜早破组阴道分泌物样本中的浓度 90% 以上可达到 2ng/mL 以上;sICAM-1 在健康对照组阴道分泌物样本中的浓度 90% 以上在 1ng/mL 以下。

[0083] 从图 5 可以看出,胰岛素样生长因子结合蛋白 -1 在健康妊娠妇女羊水样本中的浓度最高,平均可达到 270ng/mL;胰岛素样生长因子结合蛋白 -1 在胎膜早破组阴道分泌物样本中的浓度 90% 以上可达到 15ng/mL 以上;胰岛素样生长因子结合蛋白 -1 在健康对照组阴道分泌物样本中的浓度 90% 以上在 5ng/mL 以下。

[0084] 从图 6 可以看出,Ax1 在健康妊娠妇女羊水样本中的浓度最高,平均可达到 80ng/mL;Ax1 在胎膜早破组阴道分泌物样本中的浓度 90% 以上可达到 1ng/mL 以上;Ax1 在健康对照组阴道分泌物样本中的浓度 90% 以上在 0.5ng/mL 以下。

[0085] 从实施例 1 以及前述文献资料中的实验结果可知,发生胎膜早破妊娠妇女的阴道分泌物中发生含量变化的抗原包括有可溶性细胞间粘附分子 sICAM-1、胰岛素样生长因子结合蛋白-1、胎盘 α -微球蛋白-1、甲胎蛋白以及 Ax1 ;所述抗原主要来自于胎膜破裂的羊水中。

[0086] 以下是以妊娠妇女阴道分泌物中前述各抗原作为共同检测目标分子,并按照现有常规的制备免疫层析试纸的方法制备所得的免疫层析试纸的对照例,各对照例如下:

[0087] 对照例 1

[0088] 对照例 1 免疫层析试纸:包括有样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫、胶板;所述样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫依次按顺序与胶板连接;所述层析膜上依次设置有由羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1 多克隆抗体包被形成的检测线以及由羊抗鼠 IgG 多克隆抗体包被形成的质控线;

[0089] 所述各抗体的工作液浓度为:羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1 多克隆抗体 2.5mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 2mg/mL;

[0090] 所述胶体金结合垫中包被有鼠抗人可溶性细胞间粘附分子-1 单克隆抗体。

[0091] 对照例 2

[0092] 对照例 2 免疫层析试纸:包括有样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫、胶板;所述样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫依次按顺序与胶板连接;所述层析膜上依次设置有分别由兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1 抗体和兔抗人甲胎蛋白多克隆抗体包被形成的两条检测线以及由羊抗鼠 IgG 多克隆抗体包被形成的质控线;

[0093] 所述各抗体的工作液浓度为:胰岛素样生长因子结合蛋白-1 抗体 3mg/mL、兔抗人甲胎蛋白多克隆抗体 3mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 2mg/mL;

[0094] 所述胶体金结合垫中包被有鼠抗人可溶性细胞间粘附分子-1 单克隆抗体。

[0095] 对照例 3

[0096] 对照例 3 免疫层析试纸:包括有样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫、胶板;所述样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫依次按顺序与胶板连接;所述层析膜上依次设置有分别由兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1 抗体和兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1 抗体包被形成的两条检测线以及由羊抗鼠 IgG 多克隆抗体包被形成的质控线;

[0097] 所述各抗体的工作液浓度为:兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1 抗体 1mg/mL、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1 抗体 3mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 1.5mg/mL;

[0098] 所述胶体金结合垫中包被有鼠抗人可溶性细胞间粘附分子-1 单克隆抗体。

[0099] 对照例 4

[0100] 对照例 1 免疫层析试纸:包括有样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫、胶板;所述样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫依次按顺序与胶板连接;所述层析膜上依次设置有分别由兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1 抗体和兔抗人 Ax1 多克隆抗体包被形成的两条检测线以及由羊抗鼠 IgG 多克隆抗体包被形成的质控线;

[0101] 所述各抗体的工作液浓度为:兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1 抗体 2.5mg/mL、兔抗人 Ax1 多克隆抗体 1.5mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 0.5mg/mL;

[0102] 所述胶体金结合垫中包被有鼠抗人可溶性细胞间粘附分子-1 单克隆抗体。

[0103] 对照例 5

[0104] 对照例 1 免疫层析试纸 :包括有样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫、胶板 ;所述样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫依次按顺序与胶板连接 ;所述层析膜上依次设置有分别由兔抗人甲胎蛋白多克隆抗体和兔抗人 Ax1 多克隆抗体包被形成的两条检测线以及由羊抗鼠 IgG 多克隆抗体包被形成的质控线 ;

[0105] 所述各抗体的工作液浓度为 :兔抗人甲胎蛋白 2mg/mL、兔抗人 Ax1 多克隆抗体 1mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 1.5mg/mL ;

[0106] 所述胶体金结合垫中包被有鼠抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 单克隆抗体。

[0107] 对照例 6

[0108] 对照例 1 免疫层析试纸 :包括有样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫、胶板 ;所述样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫依次按顺序与胶板连接 ;所述层析膜上依次设置有分别由羊抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 多克隆抗体和兔抗人甲胎蛋白多克隆抗体包被形成的两条检测线以及由羊抗鼠 IgG 多克隆抗体包被形成的质控线 ;

[0109] 所述各抗体的工作液浓度为 :羊抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 多克隆抗体 3mg/mL、兔抗人甲胎蛋白多克隆抗体 0.5mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 3mg/mL ;

[0110] 所述胶体金结合垫中包被有鼠抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 单克隆抗体。

[0111] 对照例 7

[0112] 对照例 1 免疫层析试纸 :包括有样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫、胶板 ;所述样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫依次按顺序与胶板连接 ;所述层析膜上依次设置有分别由羊抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 多克隆抗体和兔抗人胎盘 α -微球蛋白 -1 抗体包被形成的两条检测线以及由羊抗鼠 IgG 多克隆抗体包被形成的质控线 ;

[0113] 所述各抗体的工作液浓度为 :羊抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 多克隆抗体 1mg/mL、兔抗人胎盘 α -微球蛋白 -1 抗体 3mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 1mg/mL ;

[0114] 所述胶体金结合垫中包被有鼠抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 单克隆抗体。

[0115] 对照例 8

[0116] 对照例 1 免疫层析试纸 :包括有样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫、胶板 ;所述样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫依次按顺序与胶板连接 ;所述层析膜上依次设置有分别由羊抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 多克隆抗体和兔抗人甲胎蛋白多克隆抗体包被形成的两条检测线以及由羊抗鼠 IgG 多克隆抗体包被形成的质控线 ;

[0117] 所述各抗体的工作液浓度为 :羊抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 多克隆抗体 2.5mg/mL、兔抗人甲胎蛋白多克隆抗体 2.5mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 2mg/mL ;

[0118] 所述胶体金结合垫中包被有鼠抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 单克隆抗体。

[0119] 对照例 9

[0120] 对照例 1 免疫层析试纸 :包括有样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫、胶板 ;所述样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫依次按顺序与胶板连接 ;所述层析膜上依次设置有分别由羊抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 多克隆抗体和兔抗人 Ax1 多克隆抗体包被形成的两条检测线以及由羊抗鼠 IgG 多克隆抗体包被形成的质控线 ;

[0121] 所述各抗体的工作液浓度为 :羊抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 多克隆抗体 1.5mg/mL、兔抗人 Ax1 多克隆抗体 1mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 0.5mg/mL ;

[0122] 所述胶体金结合垫中包被有鼠抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 单克隆抗体。

[0123] 对照例 10

[0124] 对照例 1 免疫层析试纸 :包括有样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫、胶板 ;所述样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫依次按顺序与胶板连接 ;所述层析膜上依次设置有分别由羊抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 多克隆抗体、兔抗人甲胎蛋白多克隆抗体和兔抗人 Ax1 多克隆抗体包被形成的三条检测线以及由羊抗鼠 IgG 多克隆抗体包被形成的质控线 ;

[0125] 所述各抗体的工作液浓度为 :羊抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 多克隆抗体 1mg/mL、兔抗人甲胎蛋白多克隆抗体 2.5mg/mL、兔抗人多克隆抗体 Ax12mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 2mg/mL ;

[0126] 所述胶体金结合垫中包被有鼠抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 单克隆抗体。

[0127] 对照例 11

[0128] 对照例 1 免疫层析试纸 :包括有样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫、胶板 ;所述样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫依次按顺序与胶板连接 ;所述层析膜上依次设置有分别由羊抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 多克隆抗体和兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白 -1 抗体包被形成的两条检测线以及由羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 包被形成的质控线 ;

[0129] 所述各抗体的工作液浓度为 :羊抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 多克隆抗体 2.5mg/mL、兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白 -1 抗体 0.2mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 2mg/mL ;

[0130] 所述胶体金结合垫中包被有鼠抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 单克隆抗体。

[0131] 对照例 12

[0132] 对照例 1 免疫层析试纸 :包括有样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫、胶板 ;所述样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫依次按顺序与胶板连接 ;所述层析膜上依次设置有分别由羊抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 多克隆抗体和兔抗人胎盘 α -微球蛋白 -1 抗体包被形成的两条检测线以及由羊抗鼠 IgG 多克隆抗体包被形成的质控线 ;

[0133] 所述各抗体的工作液浓度为 :羊抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 多克隆抗体 2.5mg/mL、兔抗人胎盘 α -微球蛋白 -1 抗体 2.5mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 2mg/mL ;

[0134] 所述胶体金结合垫中包被有鼠抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 单克隆抗体。

[0135] 对照例 13

[0136] 对照例 1 免疫层析试纸 :包括有样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫、胶板 ;所述样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫依次按顺序与胶板连接 ;所述层析膜上依次设置有分别由羊抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 多克隆抗体、兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白 -1 抗体和兔抗人胎盘 α -微球蛋白 -1 抗体包被形成的两条检测线以及由羊抗鼠 IgG 多克隆抗体包被形成的质控线 ;

[0137] 所述各抗体的工作液浓度为 :羊抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 多克隆抗体 1.5mg/mL、兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白 -1 抗体 1mg/mL、兔抗人胎盘 α -微球蛋白 -1 抗体 0.5mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 0.5mg/mL ;

[0138] 所述胶体金结合垫中包被有鼠抗人可溶性细胞间粘附分子 -1 单克隆抗体。

[0139] 对照例 14

[0140] 对照例 1 免疫层析试纸 :包括有样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫、胶板 ;所

述样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫依次按顺序与胶板连接；所述层析膜上依次设置有分别由羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1 多克隆抗体、兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1 抗体和兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1 抗体包被形成的两条检测线以及由羊抗鼠 IgG 多克隆抗体包被形成的质控线；

[0141] 所述各抗体的工作液浓度为：羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1 多克隆抗体 2.5mg/mL、兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1 抗体 2mg/mL、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1 抗体 1.5mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 1.5mg/mL；

[0142] 所述胶体金结合垫中包被有鼠抗人可溶性细胞间粘附分子-1 单克隆抗体。

[0143] 对照例 15

[0144] 对照例 1 免疫层析试纸：包括有样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫、胶板；所述样品垫、胶体金结合垫、层析膜、吸水垫依次按顺序与胶板连接；所述层析膜上依次设置有分别由羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1 多克隆抗体、兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1 抗体和兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1 抗体包被形成的两条检测线以及由羊抗鼠 IgG 多克隆抗体包被形成的质控线；

[0145] 所述各抗体的工作液浓度为：羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1 多克隆抗体 2.5mg/mL、兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1 抗体 1.5mg/mL、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1 抗体 1mg/mL、羊抗鼠 IgG 多克隆抗体 1.5mg/mL；

[0146] 所述胶体金结合垫中包被有鼠抗人可溶性细胞间粘附分子-1 单克隆抗体。

[0147] 上述对照例 1-15 中的材料来源如下：

[0148] 羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1 多克隆抗体：购自 R&D 公司；

[0149] 羊抗鼠 IgG 多克隆抗体：购自上海派坤生物工程有限公司；

[0150] 鼠抗人可溶性细胞间粘附分子-1 单克隆抗体：购自 R&D 公司；

[0151] 兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1 抗体：购自 R&D 公司；

[0152] 兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1 抗体：购自 R&D 公司；

[0153] 兔抗人甲胎蛋白多克隆抗体：购自郑州百基生物公司；

[0154] 兔抗人 Ax1 多克隆抗体：购自北京安必奇生物公司；

[0155] 样品垫(市售)：购自 Ahlstrom 公司；

[0156] 吸水垫(市售)：购自上海杰一生物科技有限公司；

[0157] 胶体金(市售)：购自上海捷宁生物科技有限公司；

[0158] 牛血清白蛋白(BSA)：Roche 公司；

[0159] 实施例 2

[0160] 将制备而成的对照例 1-15 免疫层析试纸分别用于检测同样的妊娠妇女阴道分泌物的临床样本，包括有胎膜早破组和健康对照组，其中胎膜早破组为 500 例，健康对照组为 500 例，试验对象均采用实施例 1 的方法进行临床诊断和筛选；其中胎膜早破组中 70% 以上为胎膜破口小或者破口高导致的阴道羊水量较小的产科病人。

[0161] 样本收集：妊娠妇女取膀胱截石位(以平仰卧位躺下，双下肢分开屈曲，暴露外阴)，窥开阴道后，用一次性无菌棉签伸入阴道后穹窿处，旋转 5 圈取样。将棉签头插入 1mL 样本稀释液(磷酸盐缓冲系统)中，旋转 5 次后，紧贴管壁挤压旋转 2 次，获得样本。

[0162] 样本试验对象年龄分布：500 例胎膜早破平均年龄 27 岁(年龄范围 19-36 岁)，500

例健康对照组平均年龄 30 岁(年龄范围 18-44 岁)。

[0163] 利用对照例 1-15 分别对所收集的 1000 例样本进行检测,所得检测结果的阴性和阳性例数统计见表一:

[0164] 表一

[0165]

样本 对照例	胎膜早破组		健康对照组		灵敏性 (%)	特异性 (%)	准确度 (%)
	阳性	阴性	阴性	阳性			
1	460	40	451	49	92.0	90.2	91.1
2	461	39	450	50	92.2	90.0	91.1
3	463	37	453	47	92.6	90.6	91.6
4	461	39	454	46	92.2	90.8	91.5
5	465	35	452	48	93.0	90.4	91.7
6	487	13	473	27	97.4	95.0	96.2
7	489	11	475	25	97.8	95.0	96.4
8	495	5	481	19	99.0	96.2	97.6
9	495	5	482	18	99.0	96.4	97.7
10	495	4	485	15	99.0	97.0	98.1
11	496	4	488	12	99.2	97.6	98.4
12	496	4	488	12	99.2	97.6	98.4
13	497	3	489	11	99.4	97.8	98.6
14	497	3	489	11	99.4	97.8	98.6
15	498	2	493	7	99.6	98.6	99.1

[0166] 上表一中,对照例 1 为现有的免疫层析试纸,对照例 2-7 为普通的采用多种抗体检测线的免疫层析试纸,对照例 8-15 为本发明实施方式的免疫层析试纸;其中,对照例 8-15 与对照例 2-7 的差异在于抗体检测成分的选择,检测线中抗体的工作液浓度以及不同检测线中各抗体的依次顺序等不同之处;对照例 11-12 为在本发明免疫层析试纸上进一步进行优选的实施方式,对照例 13-15 为更加进一步的优选实施方式。从表一中的检测结果可以看出,本发明实施方式的免疫层析试纸相对于现有的免疫层析试纸和普通的采用多种抗体检测线的免疫层析试纸而言,具有更好的灵敏性和特异性,分别可达到 99% 和 96% 以上;

另外,从对照例 11-15 实施方式的免疫层析试纸可以看出,其相对于对照例 8-10 具有效果更加明显的灵敏性和特异性,尤其是特异性的提升较为显著;更加进一步的,对照例 15 实施方式的免疫层析试纸在特异性上具有更好的效果。

[0167] 以上仅是本发明的优选实施方式,应当指出的是,上述优选实施方式不应视为对本发明的限制,本发明的保护范围应当以权利要求所限定的范围为准。对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明的精神和范围内,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

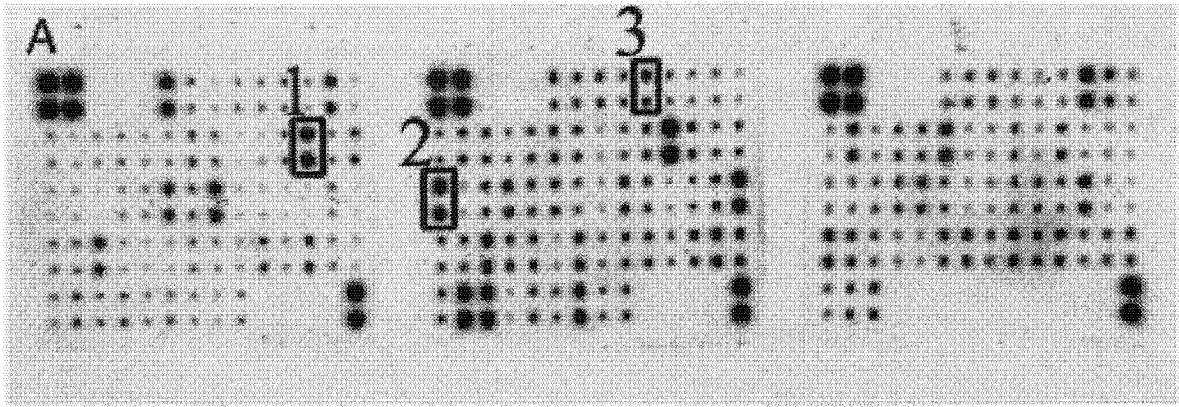


图 1

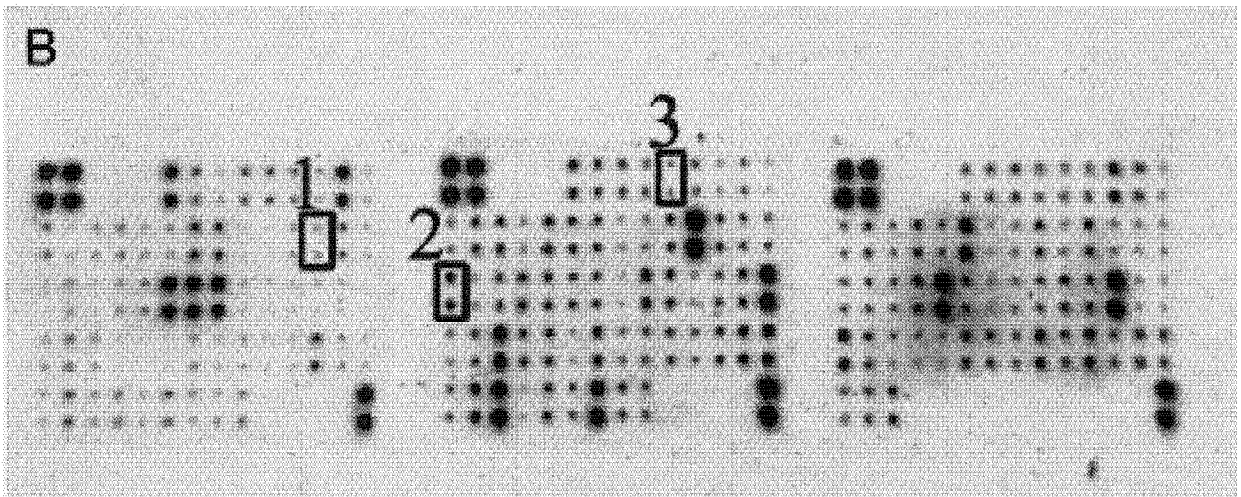


图 2

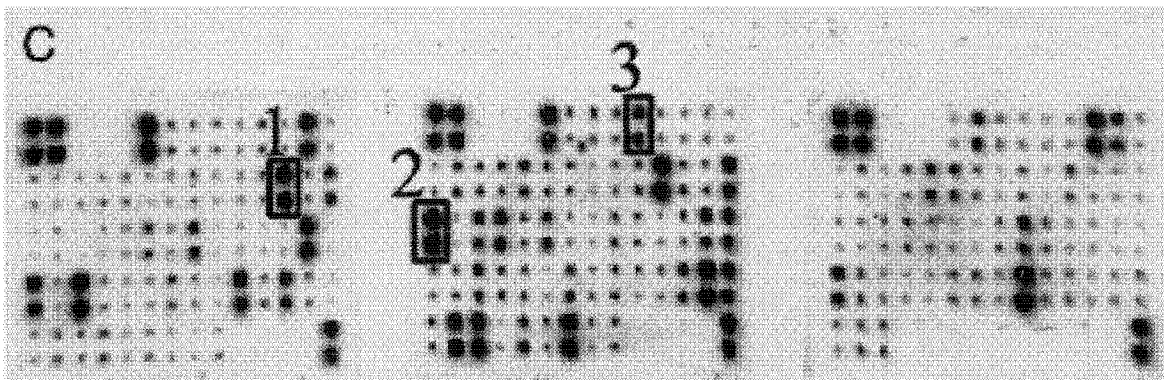


图 3

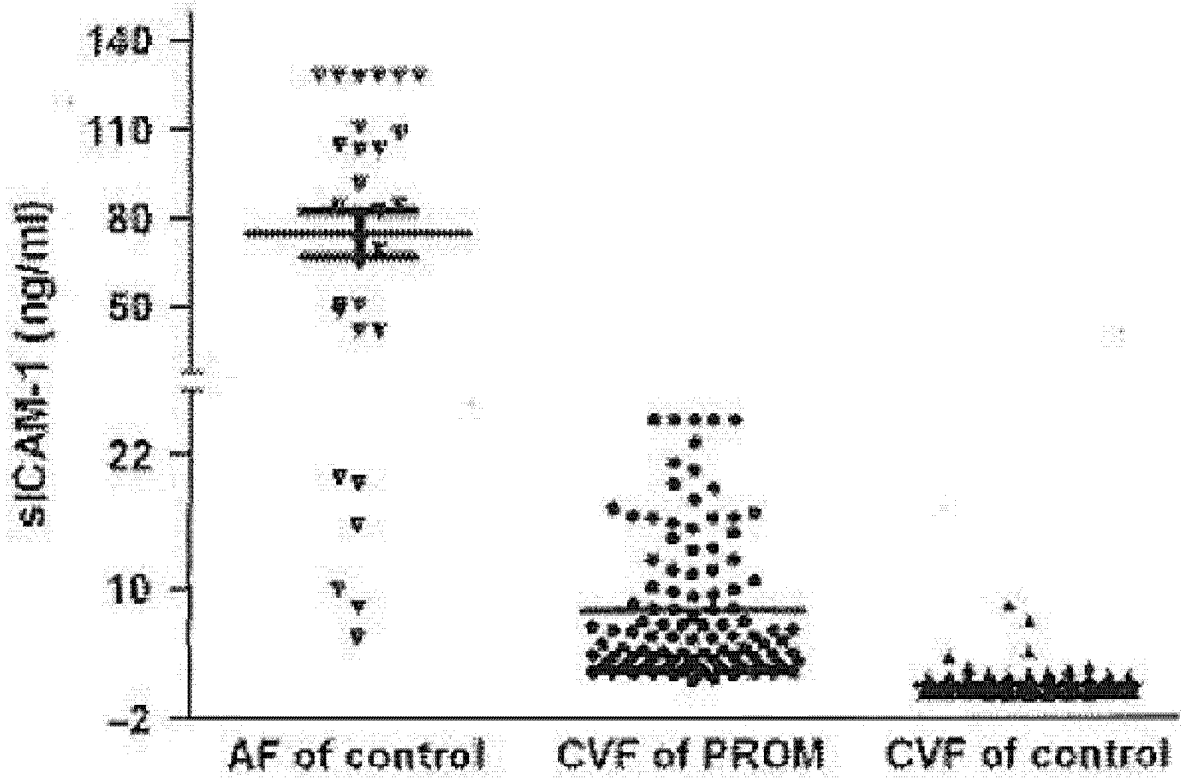


图 4

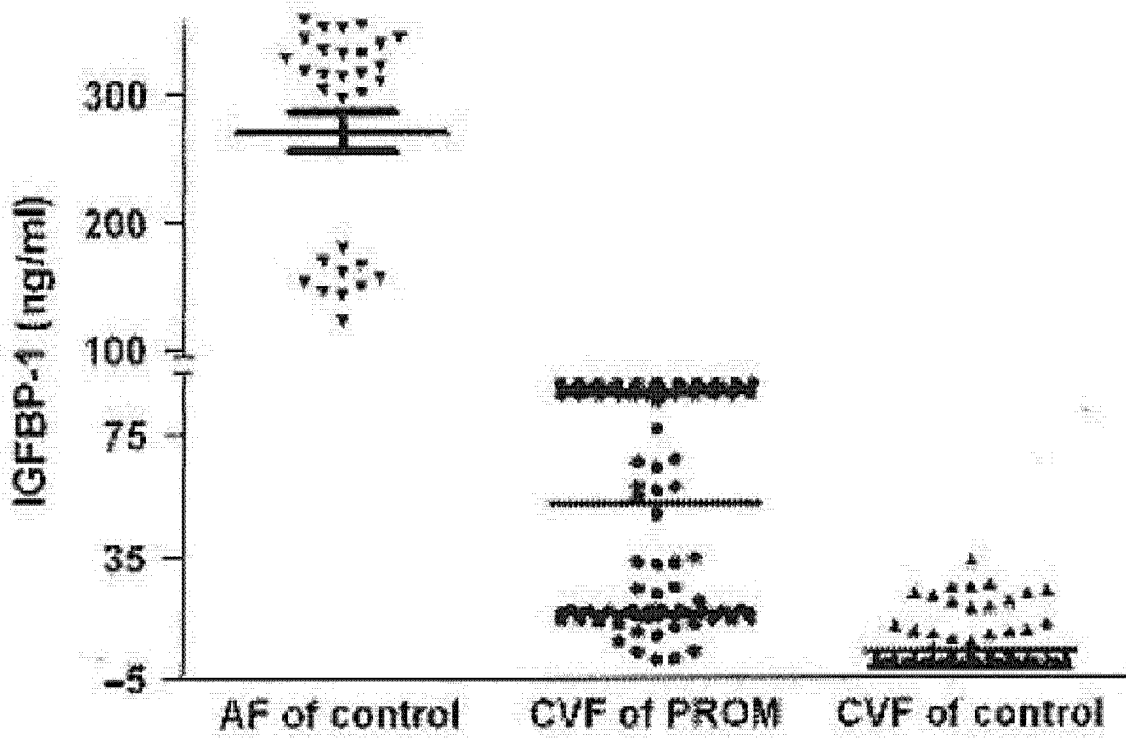


图 5

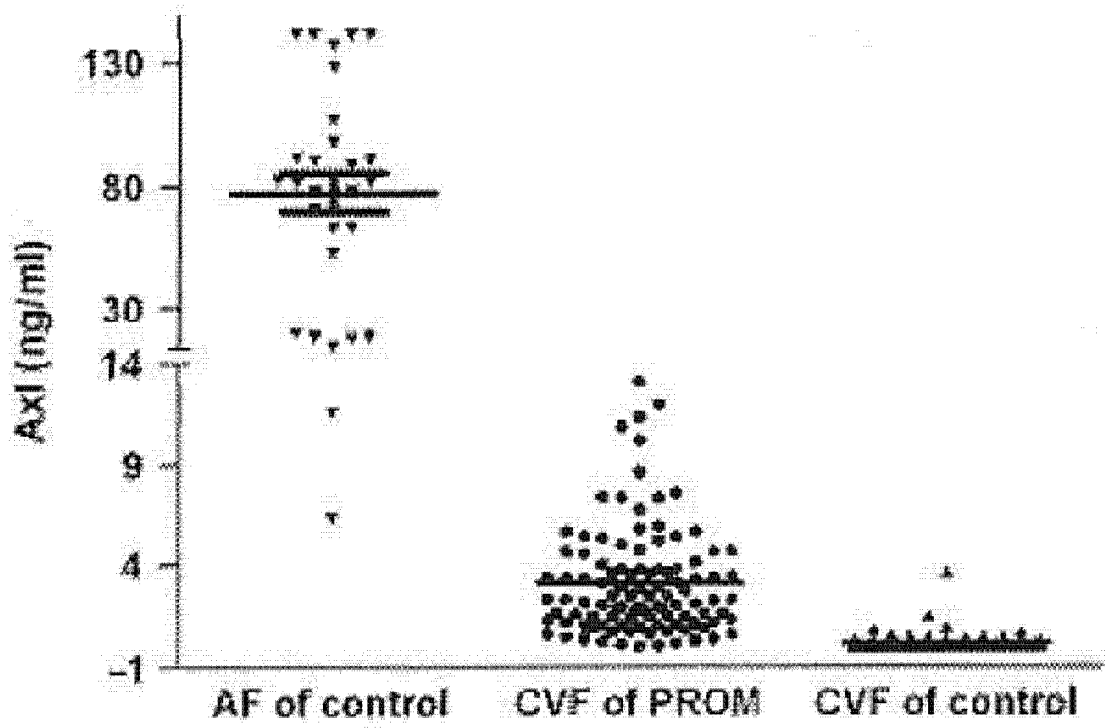


图 6

专利名称(译)	一种检测胎膜早破的免疫层析试纸及其制备方法		
公开(公告)号	CN103235134B	公开(公告)日	2015-10-14
申请号	CN201310166955.X	申请日	2013-05-08
[标]申请(专利权)人(译)	成都创宜生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	成都创宜生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	成都创宜生物科技有限公司		
[标]发明人	关祥乾 胡怀忠		
发明人	关祥乾 胡怀忠		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/531		
代理人(译)	李玉秋 郝鹏		
审查员(译)	段晓露		
其他公开文献	CN103235134A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开一种免疫层析试纸，具体涉及一种检测胎膜早破的免疫层析试纸。所述免疫层析试纸上设置有多条检测线，每条检测线由不同的抗体包被形成，所述抗体选自羊抗人可溶性细胞间粘附分子-1多克隆抗体、兔抗人胰岛素样生长因子结合蛋白-1抗体、兔抗人胎盘 α -微球蛋白-1抗体、兔抗人甲胎蛋白多克隆抗体以及兔抗人Ax1多克隆抗体；质控线为由羊抗鼠IgG多克隆抗体包被形成；本发明免疫层析试纸在检测胎膜早破时，其检测结果的灵敏性和特异性有较明显的提高，分别可达到99%以上和96%以上，从而减少误诊的发生率。

样本	浓度 (ng/ml)		
	IGFBP-1	sICAM-1	Ax1
胎膜早破组	51.88±35.55	7.83±6.48	3.14±2.70
健康对照组	3.86±7.49	0.88±1.18	0.16±0.42