



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107219371 A

(43)申请公布日 2017.09.29

(21)申请号 201710666455.0

(22)申请日 2017.08.07

(71)申请人 广州市微米生物科技有限公司

地址 510663 广东省广州市广州高新技术  
产业开发区科学城科丰路31号华南新  
材料创新园G8栋502号

(72)发明人 汤永平 叶向荣 张晓丽 李之华  
潘秀华

(74)专利代理机构 北京科家知识产权代理事务  
所(普通合伙) 11427

代理人 陈娟

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

权利要求书1页 说明书5页 附图1页

(54)发明名称

PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡及其制备  
方法

(57)摘要

本发明公开了一种PCT荧光微球免疫层析检  
测试剂卡及其制备方法,旨在提供一种操作方  
便,可以同时检测出低浓度和高浓度的PCT抗原,  
并且检测结果可靠的PCT荧光微球免疫层析检  
测试剂卡;其技术要点,包括底板,所述的底板上依  
次衔接有样品垫、结合垫、包被膜和吸收垫,所述  
的结合垫喷涂有两种不同粒径荧光微球标记的  
PCT抗体,荧光微球标记的鸡IgY;所述的包被膜T  
线位置包被有抗PCT抗体,C线位置包被有羊抗鸡  
IgY;属于生物检测技术领域。



1. 一种PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡，包括底板(1)，所述的底板(1)上依次衔接有样品垫(2)、结合垫(3)、包被膜(4)和吸收垫(5)，其特征在于，所述的结合垫(3)喷涂有两种不同粒径荧光微球标记的PCT抗体，以及荧光微球标记的鸡IgY；所述的包被膜(4)T线位置包被有抗PCT抗体，C线位置包被有羊抗鸡IgY。

2. 根据权利要求1所述的一种PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡，其特征在于，所述的两种不同粒径荧光微球是粒径为100nm荧光微球和300nm荧光微球。

3. 根据权利要求1或2所述的一种PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡，其特征在于，所述的粒径为100nm荧光微球和300nm荧光微球的比重为5:1~7:1。

4. 制备权利要求所述的一种PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡的方法，在底板上依次衔接有PVC底板、样品垫、结合垫、硝酸纤维膜和吸水纸，其特征在于，所述的结合垫采用下述方法依次制得的：

1) 制备100nm荧光微球标记抗PCT抗体

在1mL 0.1M pH6.0的4-羟乙基哌嗪乙磺酸中加入100nm粒径的荧光微球和抗PCT抗体，两者比重为1:5~1:20；加入 10mg/mL的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐溶液，室温反应30min, 16000rpm离心30min, 去上清，加入保存液，超声混匀；

制备300nm荧光微球标记抗PCT抗体

在1mL 0.1M pH6.0的4-羟乙基哌嗪乙磺酸中加入300nm粒径的荧光微球和抗PCT抗体，两者比重为1:10~1:50；加入 10mg/mL的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐溶液，室温反应30min, 16000rpm离心30min, 去上清，加入保存液，超声混匀；

制备荧光微球标记鸡IgY抗体

在1mL 0.1M pH6.0的4-羟乙基哌嗪乙磺酸中加入荧光微球和鸡IgY，两者比重为1:5~1:20；加入 10mg/mL的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐溶液，室温反应30min, 16000rpm离心30min, 去上清，加入保存液，超声混匀；

将上述步骤1)和步骤2)所制备的100nm、300nm粒径荧光微球按重量比5:1~7:1混合，混合后离心去上清，用添加了0.1%SDS、1%BSA和0.5%PEG20000的0.1M 3-(N-吗啉基)-2-羟基丙磺酸复溶，得混合标记液，混合后的标记液与步骤3)荧光微球标记鸡IgY抗体按照重量比20:1混合，用喷金划膜仪喷至聚酯纤维素膜上，喷量为3μL/cm，放入37℃烘箱，干燥8小时。

5. 根据权利要求4所述的一种PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡的制备方法，其特征在于，所述的包被膜的制备方法是反应膜上T线位置包被的是抗PCT抗体，C线位置包被的是羊抗鸡IgY。

6. 根据权利要求4所述的一种PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡的制备方法，其特征在于，所述的样品垫的制备方法将样品垫裁成20mm×300mm的大小，浸泡在样品垫缓冲液中，1小时之后取出，于室温干燥16~18小时；所述的样品垫缓冲液配方如下：2%L-山梨糖、0.5% S9和0.1mg/mL兔抗人红细胞抗体溶解于0.2M PB pH7.4缓冲液中。

7. 根据权利要求4所述的一种PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡的制备方法，其特征在于，所述的荧光微球的固含量1%。

8. 根据权利要求4所述的一种PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡的制备方法，其特征在于，所述的保存液为：10%蔗糖、1.5%BSA溶解于0.1M GIy-NaOH溶液中。

## PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明公开了一种检测卡,具体涉及一种PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡,本发明还是涉及该PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡的制备方法。

### 背景技术

[0002] 降钙素原(Procalcitonin, PCT)是一个小分子蛋白,分子量约为13kDa,通常由甲状腺的C细胞产生。PCT现已被看作是伴随有全身性炎症和败血症的主要标志物。

[0003] PCT由CALC-1基因编码,是降钙素的前体。PCT来源于降钙素原前体,后者由141个氨基酸组成,去除信号肽(1-25位氨基酸)后得到含有116个氨基酸残基的PCT,PCT经过连续的裂解,最终形成三个分子,分别是N端片段(N端PCT,57个氨基酸残基),降钙素(32个氨基酸残基)和抗钙素(21个氨基酸残基)。

[0004] 1993年,有报道发现PCT水平在细菌系统感染患者中有所升高(1)。经证实,与炎症相关的PCT并非由甲状腺C细胞产生,而是由所有薄壁组织和已分化类细胞产生(2-4)。PCT是一种很理想的细菌感染标志物,因为它在正常人中浓度非常低,而病毒性感染只会使PCT浓度略微升高。此外,PCT更重要的诊断价值在于它的浓度与炎症的严重程度密切相关。

[0005] 除了炎症或败血症能引起PCT升高外,手术、多处创伤、高温休克、烧伤和心源性休克有时同样可以导致PCT浓度的升高。此外,多项研究已证实心脏手术或心脏移植后PCT水平监测的重要性,PCT的改变可以用来鉴别急性排斥反应和由细菌或者真菌引起的感染。

[0006] 在正常及健康的个体中,其血清浓度极低,仅为10-50pg/mL,一般方法检测不到。在 全身性细菌、真菌及寄生虫感染,系统炎症反应综合症、败血症、急慢性肺炎、急性胰腺炎、活动性肝炎、创伤等患者的血清PCT水平异常增高,其浓度比正常水平大几倍甚至上万倍; 其在病毒感染,自身免疫性疾病,器官移植排除反应等患者血清中的浓度不增高或轻微增 高。这现象决定了PCT的高度特异性,因此可用于此类疾病的鉴别诊断,在全身性细菌感染 和脓毒症辅助鉴别诊断、预后判断、疗效观察等方面有很高的临床价值,可广泛用于ICU病 房、血液科、外科、内科、器官移植科、治疗实验室等。目前PCT在医院和血液系统广泛使用标记免疫分析技术是放射免疫分析(RIA)和酶免疫分析(EIA),但在实际应用中存在以下缺陷:放射免疫分析的放射性核素污染;酶联免疫的酶的活性容易失活,酶的大分子标记容易影响被标记物的空间结构。

[0007] 免疫层析(Lateral Flow Immunoassay,LFIA)技术是近几年来国内外兴起的一种快速诊断技术。LFIA以硝酸纤维素膜( NC膜 )为载体,先将特异的抗体(抗原)固定于NC膜的某一区带,当膜条一端滴加样品(尿液或血清)后,由于毛细管作用,样品将沿着该膜向前 移动,当移动至固定有抗体(抗原)的区域时,样品中相应的抗原(抗体)即与该抗体发生特 异性结合,用免疫胶体金等染色可使该区域显示一定的颜色,从而实现特异性的免疫 诊断。目前的LFIA快速检测试剂盒多以胶体金、彩色乳胶颗粒或者荧光素作为标记物。基于胶体金标记技术开发的快速检测产品,存在灵敏度低、主要应用于定性或者半定量、批间 差异较大等问题;基于彩色乳胶颗粒虽然批间差异有所改善,但灵敏度依然较低,也只能说

明定性或半定量；基于荧光素标记技术的免疫层析灵敏度得到很大提高，能进行定量检测，但是由于样本中含有较高的荧光本底信号，且stock位移较小，会对检测产生较大的影响。时间分辨荧光 (Time-resolved Fluorescence, TRF ) 是一种非同位素荧光标记物，与普通荧光相比，具有stock位移大，荧光寿命长等特点，可以有效的避免样品中的本底荧光，以及激发光等杂散光的影响，因此相比普通的荧光具有更高的灵敏度和抗干扰能力。

[0008] 中国专利ZL 201610031801.3 公开了一种时间分辨荧光定量检测 PCT 的试剂盒，但是该试剂盒对荧光微球抗体复合物制备要求高，-80℃低温和需要冻干，检测灵敏度低，仅0.1ng/mL，并且只能仅检测血清，检测时间长，需要20分钟。

## 发明内容

[0009] 针对上述问题，本发明的目的是提供一种操作方便，可以同时检测出低浓度和高浓度的PCT抗原，并且检测结果可靠的PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡。

[0010] 本发明的另外一个目的是提供上述检测试剂卡的制备方法。

[0011] 为此，本发明提供的第一个技术方案是这样的：

一种PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡，包括底板，所述的底板上依次衔接有样品垫、结合垫、包被膜和吸收垫，所述的结合垫喷涂有两种不同粒径荧光微球标记的PCT抗体，以及荧光微球标记的鸡IgY；所述的包被膜T线位置包被有抗PCT抗体，C线位置包被有羊抗鸡IgY。

[0012] 作为本发明的进一步优选，上述的一种PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡，所述的两种不同粒径荧光微球是粒径为100nm荧光微球和300nm荧光微球。

[0013] 作为本发明的进一步优选，上述的一种PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡，所述的粒径为100nm荧光微球和300nm荧光微球的比重为5:1~7:1。

[0014] 本发明提供的后一个技术方案为：

一种PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡的制备方法，在底板上依次衔接有PVC底板、样品垫、结合垫、硝酸纤维膜和吸水纸，所述的结合垫采用下述方法依次制得的：

### 1) 制备100nm荧光微球标记抗PCT抗体

在1mL 0.1M pH6.0的4-羟乙基哌嗪乙磺酸中加入100nm粒径的荧光微球和抗PCT抗体，两者比重为1:5~1:20；加入 10mg/mL的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐溶液，室温反应30min, 16000rpm离心30min, 去上清，加入保存液，超声混匀；

### 2) 制备300nm荧光微球标记抗PCT抗体

在1mL 0.1M pH6.0的4-羟乙基哌嗪乙磺酸中加入300nm粒径的荧光微球和抗PCT抗体，两者比重为1:10~1:50；加入 10mg/mL的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐溶液，室温反应30min, 16000rpm离心30min, 去上清，加入保存液，超声混匀；

### 3) 制备荧光微球标记鸡IgY抗体

在1mL 0.1M pH6.0的4-羟乙基哌嗪乙磺酸中加入荧光微球和鸡IgY，两者比重为1:5~1:20；加入 10mg/mL的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐溶液，室温反应30min。16000rpm离心30min, 去上清，加入保存液，超声混匀；

4) 将上述步骤1) 和步骤2) 所制备的100nm、300nm粒径荧光微球按重量比5:1~7:1混合，混合后离心去上清，用添加了0.1%SDS、1%BSA和0.5%PEG20000的0.1M 3-(N-吗啉基)-2-羟

基丙磺酸复溶,得混合标记液,混合后的标记液与步骤3)荧光微球标记鸡IgY抗体按照重量比20:1混合,用喷金划膜仪喷至聚酯纤维素膜上,喷量为3 $\mu$ L/cm,放入37℃烘箱,干燥8小时。

[0015] 进一步的,上述的一种PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡的制备方法,所述的包被膜的制备方法是反应膜上T线位置包被的是抗PCT抗体,C线位置包被的是羊抗鸡IgY。

[0016] 进一步的,上述的一种PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡的制备方法,所述的样品垫的制备方法将样品垫裁成20mm×300mm的大小,浸泡在样品垫缓冲液中,1小时之后取出,于室温干燥16-18小时;所述的样品垫缓冲液配方如下:2%山梨糖、0.5% S9和0.1mg/mL兔抗人红细胞抗体溶解于0.2M PB pH7.4缓冲液中。

[0017] 进一步的,上述的一种PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡的制备方法,所述的荧光微球的固含量1%。

[0018] 进一步的,上述的一种PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡的制备方法,所述的保存液为:10%蔗糖、1.5%BSA溶解于0.1M GIy-NaOH溶液中。

[0019] 与现有技术相比,本发明提供的PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡具有如下优点:

本发明提供的技术方案具体检测时将稀释后的样品(血清、血浆、全血)加入样品垫时,样品依次透过样品垫,结合垫,在毛细管作用样品将沿着试剂条向吸收垫的方向移动。当样品中含有高浓度PCT时,样品中的PCT可同时与偶联两种粒径(100nm和300nm)荧光微球的抗PCT单克隆抗体和包被在NC膜上抗PCT单克隆抗体发生特异结合,在T<sub>1</sub>处形成双抗体夹心结构,此时在T线处的荧光强度为两种粒径荧光微球的总和。

[0020] 当样品中PCT的浓度低时,样品中的PCT主要与偶联300nm粒径的荧光微球的抗PCT单克隆抗体和包被在NC膜上抗PCT单克隆抗体发生特异结合,在T处形成双抗体夹心结构,此时在T线处的荧光强度为300nm粒径荧光微球的荧光;有效解决了粒径小的荧光微球能检测出高浓度的PCT抗原而在低浓度时无法检测,粒径大的荧光微球能检测出低浓度的抗原,而在高浓度出无法检测,本发明提供的技术方案选择两种粒径微球可以同时检测出低浓度和高浓度的PCT抗原,检测灵敏度高。

## 附图说明

[0021] 图1是本发明提供的PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡结构示意图。

[0022] 图2是本发明提供的PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡检测曲线图。

## 具体实施方式

[0023] 下面结合具体实施方式,对本发明的权利要求做进一步的限定,但是不构成对本发明的任何限制。

[0024] 实施例1

本发明提供的一种PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡,参阅图1,包括底板1,所述的底板1上依次衔接有样品垫2、结合垫3、包被膜4和吸收垫5,所述的结合垫3喷涂有粒径为100nm荧光微球标记的PCT抗体和300nm荧光微球标记的PCT抗体,以及荧光微球标记的鸡IgY;所述的粒径为100nm荧光微球和300nm荧光微球的比重为5:1~7:1;所述的包被膜T线位置包被有抗PCT抗体,C线位置包被有羊抗鸡IgY。

[0025] 上述的PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡的制备方法：

(1) 样品垫的制备方法

样品垫的缓冲液配方如下：2%山梨糖、0.5% S9和0.1mg/mL兔抗人红细胞抗体溶解于0.2M PB(pH7.4)缓冲液中。

[0026] (2)结合垫的制备方法

100nm荧光微球标记抗PCT抗体的步骤

在1mL 0.1M pH6.0的4-羟乙基哌嗪乙磺酸中加入100nm粒径的荧光微球(固含量1%)和抗PCT抗体，两者比重为1:5~1:20；加入 10mg/mL的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)溶液，室温反应30min,16000rpm离心30min,去上清，加入保存液，超声混匀。

[0027] 300nm荧光微球标记抗PCT抗体的步骤

在1mL 0.1M pH6.0的4-羟乙基哌嗪乙磺酸中加入300nm粒径的荧光微球(固含量1%)和抗PCT抗体，两者比重为1:10~1:50；加入 10mg/mL的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)溶液，室温反应30min,16000rpm离心30min,去上清，加入保存液，超声混匀。

[0028] 所述的荧光微球标记鸡IgY抗体的步骤为：

在1mL 0.1M pH6.0的4-羟乙基哌嗪乙磺酸中加入荧光微球(固含量1%)和鸡IgY，两者比重为1:5~1:20；加入 10mg/mL的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)溶液，室温反应30min,16000rpm离心30min,去上清，加入保存液，超声混匀。

[0029] 所述的保存液为：10%蔗糖、1.5%BSA溶解于0.1M GIy-NaOH溶液中。

[0030] 将所制备的100nm、300nm粒径荧光微球按重量比5:1~7:1混合(优选6:1)，混合后离心去上清，用添加了0.1%SDS、1%BSA和0.5%PEG20000的0.1M 3-(N-吗啉基)-2-羟基丙磺酸复溶，得混合标记液，混合后的标记液与步骤3)荧光微球标记鸡IgY抗体按照重量比20:1混合，用喷金划膜仪喷至聚酯纤维素膜上，喷量为3μL/cm，放入37℃烘箱，干燥8小时。

[0031] (3)包被膜的制备方法为：

在检测线T线将0.01M的PBS(pH7.4 含1%的葡萄糖)将抗PCT抗体稀释至1mg/mL，进行画膜，画膜参数为1μL/cm。

[0032] 在检测线C线将0.01M的PBS(pH7.4 含1%的葡萄糖)将羊抗鸡IgY抗体稀释至1mg/mL，进行画膜，画膜参数为1μL/cm，再在37℃烘箱干燥，干燥时间16h。

[0033] 上述的PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡的组装方法如下：

各组件在底板上的排列顺序依次为吸收垫--硝酸纤维素膜--结合垫--样品垫

①吸收垫的粘贴：将底板平铺于工作台面上；揭开底板上缘吸收垫粘贴处的保护膜，将吸收垫粘附于其上，均匀、轻微滚动式推进，以加强粘合力，并防止产生气泡，吸收垫覆盖在硝酸纤维素膜上2mm。

[0034] ②结合垫粘贴：将结合垫裁为宽15mm×长300mm，揭开硝酸纤维素膜下缘结合垫粘贴处的保护膜，将结合垫粘附于其上，方法同吸收垫，结合垫覆盖在硝酸纤维素膜上2mm。

[0035] ③样品垫的粘贴：将样品垫粘附于结合垫下部，方法同吸收垫。样品垫覆盖在结合垫上2mm。

[0036] ④试纸条切割：将粘贴好的底板放入切条机中，切成4mm宽的试纸条。

[0037] ⑤装卡与入袋：将每一试纸条装入塑料卡内，将每一试剂卡置于铝膜袋中，并加入1g干燥剂1包，热合封口。

[0038] PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡的具体使用方法：

打开仪器，插入与试剂批号相同的芯片；使用时除去试剂卡外包装，取出试剂卡，水平放置；精确吸取稀释后75 $\mu$ L血清/血浆，或100 $\mu$ L全血样品，加入到检测卡的加样孔中，然后开始计时；待室温反应10min后，将检测卡放入到仪器的卡槽中；点击仪器上的“测试”按键，仪器将开始测试，并显示结果；点击“打印”，可打印检测结果报告。

[0039] 本发明型PCT的检测原理如下：

将样品(血清、血浆、全血)加入样品孔时，样品依次透过样品垫，结合垫，在毛细管作用样品将沿着试剂条向吸收垫的方向移动。当样品中含有高浓度PCT时，样品中的PCT可同时与偶联两种粒径(100nm和300nm)荧光微球的抗PCT单克隆抗体和包被在NC膜上抗PCT单克隆抗体发生特异结合，在T处形成双抗体夹心结构。此时在T线处的荧光强度为两种粒径荧光微球的总和。

[0040] 当样品中PCT的浓度低时，样品中的PCT主要与偶联300nm粒径的荧光微球的抗PCT单克隆抗体和包被在NC膜上抗PCT单克隆抗体发生特异结合，在T处形成双抗体夹心结构，此时在T线处的荧光强度为300nm粒径荧光微球的荧光。

[0041] 这样有效避免了在粒径小的荧光微球能检测出高浓度的PCT抗原而在低浓度时无法检测，粒径大的荧光微球能检测出低浓度的抗原，而在高浓度出无法检测。选择一定比例的两种粒径微球可以同时检测出低浓度和高浓度的PCT抗原。

[0042] 为了证明本发明提供的技术方案的效果，下述试验例将PCT校准品，稀释浓度至0.05ng/mL、0.5ng/mL、5ng/mL、50ng/mL、100ng/mL的样本，使用移液器取75 $\mu$ L的样本加入加样孔中，静置10分钟后放入荧光检测仪中读值。每个样本浓度检测三次，取平均值后以样本浓度值对检测值作图，参阅图2。

标准品	0ng/mL	0.05ng/mL	0.5ng/mL	5ng/mL	50ng/mL	100ng/mL
检测T/C值	0.025	0.045	0.17	1.02	10.3	19.8

[0043] 为了更好的说明本发明型的有益效果，下面给出采用本发明型提供的检测试剂与传统的酶联免疫分析法、胶体金法、荧光免疫层析法在检测PCT时的结果对比实验。

检测方法	专利公开号	检测限
化学发光	CN 106093416 A	0.05ng/mL
胶体金免疫层析	CN 106093431 A	0.1ng/mL
胶乳增强免疫比浊	CN 102759631 B	0.2ng/mL
荧光免疫层析	CN 104714033 B	0.1ng/mL
本发明提供的方法		0.05ng/mL

[0044] 上述实施例为本发明较佳的实施方式，但本发明的实施方式并不受上述实施例的限制，其他的任何未背离本发明的精神实质与原理下所作的改变、修饰、替代、组合、简化，均应为等效的置换方式，都包含在本发明的保护范围之内。

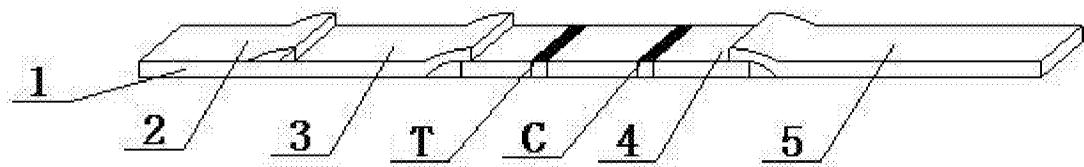


图1

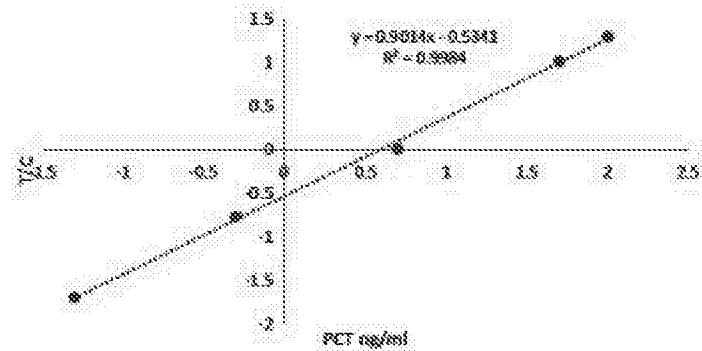


图2

专利名称(译)	PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡及其制备方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN107219371A</a>	公开(公告)日	2017-09-29
申请号	CN201710666455.0	申请日	2017-08-07
[标]申请(专利权)人(译)	广州市微米生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	广州市微米生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	广州市微米生物科技有限公司		
[标]发明人	汤永平 叶向荣 张晓丽 李之华 潘秀华		
发明人	汤永平 叶向荣 张晓丽 李之华 潘秀华		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/68 G01N33/533		
代理人(译)	陈娟		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">Sipo</a>		

**摘要(译)**

本发明公开了一种PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡及其制备方法，旨在提供一种操作方便，可以同时检测出低浓度和高浓度的PCT抗原，并且检测结果可靠的PCT荧光微球免疫层析检测试剂卡；其技术要点，包括底板，所述的底板上依次衔接有样品垫、结合垫、包被膜和吸收垫，所述的结合垫喷涂有两种不同粒径荧光微球标记的PCT抗体，荧光微球标记的鸡IgY；所述的包被膜T线位置包被有抗PCT抗体，C线位置包被有羊抗鸡IgY；属于生物检测技术领域。

