



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103777002 B

(45) 授权公告日 2015. 07. 01

(21) 申请号 201410018255. 0

(22) 申请日 2014. 01. 15

(73) 专利权人 南通市伊士生物技术有限责任公司

地址 226000 江苏省南通市经济技术开发区  
星湖大道 1692 号 15 号厂房 A 座

(72) 发明人 欧卫军

(74) 专利代理机构 南京正联知识产权代理有限公司 32243

代理人 顾伯兴

(51) Int. Cl.

G01N 33/558(2006. 01)

G01N 33/531(2006. 01)

G01N 33/76(2006. 01)

审查员 李宏悦

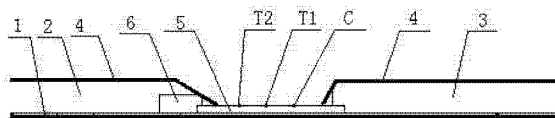
权利要求书2页 说明书6页 附图1页

(54) 发明名称

一种早孕多功能检测试纸的制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种早孕多功能检测试纸的制备方法,步骤包括:硝酸纤维素膜的制备;聚酯纤维条的标记及固相;组装及裁切。本发明应用双抗体夹心法及免疫层析法的原理定性检测尿液中人绒毛膜促性腺激素β核心片段和人绒毛膜促性腺激素规则分子,检测步骤较为简单,5分钟内就可以观察到结果,一般使用者可以自己进行检测,检测结果较为精确。本发明通过第一检测线 and 第二检测线颜色深浅比较,从而判断是否怀孕、是否正常怀孕、及对异位妊娠和先兆流产进行风险评估。



1. 一种早孕多功能检测试纸的制备方法,其特征在于:所述早孕多功能检测试纸包括塑料基片(1),所述塑料基片(1)上设有上样垫(2)和吸水垫(3),所述上样垫(2)和所述吸水垫(3)上均设有保护膜(4),所述上样垫(2)和所述吸水垫(3)之间下方设有硝酸纤维素膜(5),所述上样垫(2)的连接端设有固相化胶体金(6),所述固相化胶体金(6)的一端与所述硝酸纤维素膜(5)的一端搭接在一起,所述硝酸纤维素膜(5)上依次包被有第二检测线、第一检测线和质控线;

所述早孕多功能检测试纸的制备方法包括以下步骤:

A、硝酸纤维素膜的制备:

a、选择3um~10um孔径的硝酸纤维素膜,根据需要将膜分切成宽度为大于等于2.0cm,长度为30.5cm的规格;

b、用0.1MTris-Hcl缓冲液配制供第一检测线包被使用的抗人绒毛膜促性腺激素 $\beta$ 核心片段抗体0.35mg/ml、供第二检测线包被使用的抗人绒毛膜促性腺激素 $\alpha$ -HCG抗体1.8mg/ml及供质控线包被使用的抗鼠IgG抗体1.2mg/ml;

c、选择硝酸纤维素膜的抗体包被面并作标记,将需包被的第一检测线、第二检测线和质控线平行均匀的包被在膜片上,且第一检测线与第二检测线距离0.4cm、第二检测线与质控线的间距控制在距离0.8cm,硝酸纤维素膜在4℃~35℃的恒温条件下干燥备用;

d、配置封闭处理浸泡液,向配液罐加入纯化水;用电子分析天平称量0.1mol缓冲液、0.5%糖份、1%封闭蛋白、0.05%防腐剂,直接加入到配液罐中搅拌,搅拌直至完全溶解,加纯化水定容至所需体积,充分搅拌均匀,搅拌时间不少于10分钟,备用;

e、将硝酸纤维素膜用0.01mol磷酸盐浸泡洗涤后,浸泡于封闭处理液中30min,取出晾干备用;

B、胶体金吸附垫的标记及固相:

a、胶体金复溶液的配制:向配液罐加入纯化水;用电子分析天平称量5%海藻糖、2%牛血清白蛋白、0.5%柠檬酸三钠、0.05%聚乙二醇、0.05%NaN<sub>3</sub>,直接加入到配液罐中搅拌,搅拌直至完全溶解,加纯化水定容至所需体积,充分搅拌均匀,搅拌时间不少于30分钟,备用;

b、用量筒量取需要标记量的胶体金,按pH6.5-7.0进行调节,即加入0.35%0.2mol/L的碳酸钾溶液,于磁力搅拌器上搅拌15分钟后,取HCG- $\beta$ 单克隆抗体按11ug/ml的标记量于胶体金体积5%的双蒸水中稀释并混合均匀,加入胶体金中,于磁力搅拌器上搅拌30分钟后加入0.5%稳定剂后搅拌30分钟后离心,收集沉淀,用胶体金复溶液按3%复溶,于磁力搅拌器上搅拌至混合均匀,备用;

c、取上述3%复溶的胶体金,用胶体金复溶液按4%复溶,于磁力搅拌器上混合均匀,将混合均匀的胶体金溶液用喷金机按照3.5u1/cm的线浓度喷于胶体金吸附垫上,置于干燥室晾干 $\geq$ 4个小时,干燥室控制温度18-28℃,相对湿度 $\leq$ 40%,保证空气畅通且气流不能直接吹于胶体金吸附垫上,将干燥好的胶体金吸附垫放入到装有干燥剂的铝箔袋中,密封保存,备用;

C、组装及裁切:

a、取已粘贴硝酸纤维素膜的透明基片半成品,将固相了的胶体金吸附垫粘贴在透明基片上,并保持与硝酸纤维素膜呈搭接1mm,将吸水纸复合在硝酸纤维素膜的透明基片膜上端

并与膜搭接 1mm,将吸样载体复合在固相了的胶体金吸附垫下端并与其搭接 1mm,备用;

b、根据相应的反应装置,将已组装备用的基片,切割成条状试纸,备用。

2. 根据权利要求 1 所述一种早孕多功能检测试纸的制备方法,其特征在于:硝酸纤维素膜制备 d 步骤和 e 步骤中的封闭处理浸泡液含有的缓冲液为磷酸盐或 Tris 盐。

3. 根据权利要求 1 所述一种早孕多功能检测试纸的制备方法,其特征在于:硝酸纤维素膜制备 d 步骤和 e 步骤中的封闭处理浸泡液含有的糖份为蔗糖或海藻糖。

4. 根据权利要求 1 所述一种早孕多功能检测试纸的制备方法,其特征在于:硝酸纤维素膜制备 d 步骤和 e 步骤中的封闭处理浸泡液含有的封闭蛋白为酪蛋白或牛血清白蛋白。

5. 根据权利要求 1 所述一种早孕多功能检测试纸的制备方法,其特征在于:硝酸纤维素膜制备 d 步骤和 e 步骤中的封闭处理浸泡液含有的防腐剂为  $\text{NaN}_3$ 或硫柳汞。

## 一种早孕多功能检测试纸的制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于医学检验试剂领域,涉及一种早孕多功能检测试纸的制备方法。

### 背景技术

[0002] 在早孕期间,怀孕天数是从上一次月经结束后的第一天开始算起,这种计算方法较为不精确;一般的早孕检测试纸是采用双抗体夹心一步法进行检测的,以胶体金为指示标记,检测尿液中 HCG 浓度,只能用以判断是否怀孕,而不能检测出怀孕时间及是否宫外孕。正常情况下,受精卵会由输卵管迁移到子宫腔,然后安家落户,慢慢发育成胎儿。但是,由于种种原因,受精卵在迁移的过程中出了岔子,没有到达子宫,而是在别的地方停留下来,这就成了宫外孕,医学术语又叫异位妊娠。90% 以上的宫外孕发生在输卵管。这样的受精卵不但不能发育成正常胎儿,还会像定时炸弹一样引发危险。易患人群为人工流产者,近年来,国内宫外孕的发生率增加了 4~6 倍,这主要与现代女性不节制地做人工流产有关。频繁地做人流,会导致子宫内创伤,胚胎不易在子宫内着床,就会转移到别的地方安家落户;患有盆腔子宫内膜异位症也可能是宫外孕的危险因素;有过宫外孕病史者;患慢性输卵管的妇女;输卵管发育不良或畸形的妇女;输卵管阻塞后再通的妇女也易发生异位妊娠。宫外孕是造成世界范围内母体发病率和死亡率的一个原因。近几年母体的发病率和死亡率稳步下降,但由宫外孕引起的疾病却显著增加。过去的 30 年中,美国的宫外孕事件从 17800 起上升到了 109000 起,占以报道怀孕总数的 2%。已知的引起宫外孕的因素包括盆腔炎病史,先前的药剂流产,使用宫内节育器以及之前的消毒过程。体外受精及其他辅助怀孕方法可使这种风险显著增加(每 30 例中有 1 例)。这种增加的宫外孕事件将同样引起盆腔炎的发病率提高和影响更好的利用辅助生殖方法。化学的检测方法也需要用来确定宫外孕从而减少孕妇的死亡率、致残率,丧失生育能力的风险以及外科干预最小化。

[0003] 根据报道,在第一次正常分娩中约占 6-19% (或 12%) 发生自发流产。这些自发流产主要是因为胚胎发育中的固有缺陷,不正常的精子细胞以及着床缺陷。自发流产事件在试管受精怀孕中更加明显(22%)。自发流产的孕妇常伴有复杂的感染和败血性休克,有时导致母体的死亡。早期的确定和治疗宫外孕和其他类型的潜在不孕症是重要的。

[0004] 目前,通过抽血检验、超声检测、HCG 检测与超声检测结合的方法来检测怀孕天数或是检测子宫外孕,但是这些方法需要专业人员经过较长时间的检测才能得到检测结果,操作较为复杂。

### 发明内容

[0005] 本发明的目的是为了克服以上的不足,提供一种检测方便、检测速度快、检测效率高的早孕多功能检测试纸的制备方法。

[0006] 本发明的目的通过以下技术方案来实现:一种早孕多功能检测试纸的制备方法,早孕多功能检测试纸包括塑料基片,塑料基片上设有上样垫和吸水垫,上样垫和吸水垫上均设有保护膜,上样垫和吸水垫之间下方设有硝酸纤维素膜,上样垫的连接端设有固相化

胶体金,固相化胶体金的一端与硝酸纤维素膜的一端搭接在一起,硝酸纤维素膜上依次包被有第二检测线、第一检测线和质控线;

[0007] 早孕多功能检测试纸的制备方法包括以下步骤:

[0008] A、硝酸纤维素膜的制备:

[0009] a、选择 3um ~ 10um 孔径的硝酸纤维素膜,根据需要将膜分切成宽度为大于等于 2.0cm,长度为 30.5cm 的规格备;

[0010] b、用 0.1MTris-Hcl 缓冲液配制供第一检测线包被使用的抗人绒毛膜促性腺激素  $\beta$  核心片段抗体 0.35mg/ml、供第二检测线包被使用的抗人绒毛膜促性腺激素  $\alpha$ -HCG 抗体 1.8mg/ml 及供质控线包被使用的抗鼠 IgG 抗体 1.2mg/ml;

[0011] c、选择硝酸纤维素膜的抗体包被面并作标记,将需包被的第一检测线、第二检测线和质控线平行均匀的包被在膜片上,且第一检测线与第二检测线距离 0.4cm、第二检测线与质控线的间距控制在距离 0.8cm,硝酸纤维素膜在 4℃ ~ 35℃ 的恒温条件下干燥备用;

[0012] d、配置封闭处理浸泡液,向配液罐加入实际生产量的纯化水;用电子分析天平称量 0.1Mol 缓冲液、0.5% 糖份、1% 封闭蛋白、0.05% 防腐剂,直接加入到配液罐中搅拌,搅拌直至完全溶解,加纯化水定容至所需体积,充分搅拌均匀,搅拌时间不少于 10 分钟,备用;

[0013] e、将硝酸纤维素膜用 0.01Mol 磷酸盐浸泡洗涤后,浸泡于封闭处理液中 30min,取出晾干备用;

[0014] B、聚酯纤维条的标记及固相:

[0015] a、胶体金复溶液的配制:向配液罐加入实际生产量的纯化水;用电子分析天平称量 5% 海藻糖、2% 牛血清白蛋白、0.5% 柠檬酸三钠、0.05% 聚乙二醇、0.05%  $\text{Na}_3\text{N}$ ,直接加入到配液罐中搅拌,搅拌直至完全溶解,加纯化水定容至所需体积,充分搅拌均匀,搅拌时间不少于 30 分钟,备用;

[0016] b、用量筒量取需要标记量的胶体金,按 PH6.5-7.0 进行调节,即加入 0.35% 0.2mol/L 的碳酸钾溶液,于磁力搅拌器上搅拌 15 分钟后,取 HCG- $\beta$  单克隆抗体按 11ug/ml 标记胶体金体积 5% 的双蒸水中稀释并混合均匀,加入胶体金中,于磁力搅拌器上搅拌 30 分钟后加入 0.5% 稳定剂后搅拌 30 分钟后离心,收集沉淀,用胶体金复溶液按 3% 复溶,于磁力搅拌器上搅拌至混合均匀,备用;

[0017] c、取上述 3% 复溶的胶体金,用胶体金复溶液按 4% 复溶,于磁力搅拌器上混合均匀。将混合均匀的胶体金溶液用喷金机按照 3.5ul/cm 的线浓度喷于胶体金吸附垫上,置于干燥室晾干  $\geq 4$  个小时,干燥室控制温度 18-28℃,相对湿度  $\leq 40\%$ ,保证空气畅通且气流不能直接吹于聚酯纤维条上,将干燥好的标记金放入到装有干燥剂的铝箔袋中,密封保存,备用;

[0018] C、组装及裁切:

[0019] a、取已粘贴硝酸纤维素膜的透明基片半成品,将固相了的聚酯纤维条粘贴在透明基片上,并保持与硝酸纤维素膜呈搭接约 1mm,将吸水纸复合在硝酸纤维素膜的透明基片膜上端并与膜搭接约 1mm,将吸样载体复合在固相了的聚酯纤维条下端并与其搭接约 1mm,备用;

[0020] b、根据相应的反应装置,将已组装备用的基片,切割成条状试纸,备用。

[0021] 本发明的进一步改进在于:硝酸纤维素膜制备 d 步骤和 e 步骤中的封闭处理浸泡

液含有的缓冲液为磷酸盐或 Tris 盐。

[0022] 本发明的进一步改进在于：硝酸纤维素膜制备 d 步骤和 e 步骤中的封闭处理浸泡液含有的糖份为蔗糖或海藻糖。

[0023] 本发明的进一步改进在于：硝酸纤维素膜制备 d 步骤和 e 步骤中的封闭处理浸泡液含有的封闭蛋白为络蛋白或牛血清白蛋白。

[0024] 本发明的进一步改进在于：硝酸纤维素膜制备 d 步骤和 e 步骤中的封闭处理浸泡液含有的防腐剂为  $\text{NaN}_3$  或硫柳汞。

[0025] 本发明与现有技术相比具有以下优点：本发明应用双抗体夹心法及免疫层析法的原理定性检测尿液中人绒毛膜促性腺激素  $\beta$  核心片段和人绒毛膜促性腺激素规则分子，检测步骤较为简单，5 分钟内就可以观察到结果，一般使用者可以自己进行检测，检测结果较为精确。本发明通过第一检测线和第二检测线颜色深浅比较，从而判断是否怀孕、是否正常怀孕、及对异位妊娠和先兆流产进行风险评估。

[0026] 附图说明：

[0027] 图 1 为本发明的结构示意图；

[0028] 图中标号：1- 塑料基片、2- 上样垫、3- 吸水垫、4- 保护膜、5- 硝酸纤维素膜、6- 固相化胶体金、 $T_1$ - 第一检测线、 $T_2$ - 第二检测线、C- 质控线。

[0029] 具体实施方式：

[0030] 为了加深对本发明的理解，下面将结合实施例和附图对本发明作进一步详述，该实施例仅用于解释本发明，并不构成对本发明保护范围的限定。

[0031] 如图 1 示出了本发明一种早孕多功能检测试纸的一种实施方式，早孕多功能检测试纸包括塑料基片 1，塑料基片 1 上设有上样垫 2 和吸水垫 3，上样垫 2 和吸水垫 3 上均设有保护膜 4，上样垫 2 和吸水垫 3 之间下方设有硝酸纤维素膜 5，上样垫 2 的连接端设有固相化胶体金 6，固相化胶体金 6 的一端与硝酸纤维素膜 5 的一端搭接在一起，硝酸纤维素膜 5 上依次包被有第二检测线  $T_2$ 、第一检测线  $T_1$  和质控线 C；固相化胶体金为抗人绒毛膜促性腺激素规则分子  $\beta$  HCG 单克隆抗体；第二检测线  $T_2$  包被抗人绒毛膜促性腺激素  $\alpha$ -HCG 抗体；第一检测线  $T_1$  包被抗人绒毛膜促性腺激素  $\beta$  核心片段抗体；质控线 C 包被抗鼠 IgG 抗体。

[0032] 早孕多功能检测试纸的制备方法包括以下步骤：

[0033] A、硝酸纤维素膜的制备：

[0034] a、选择 3um ~ 10um 孔径的硝酸纤维素膜，根据需要将膜分切成宽度为大于等于 2.0cm，长度为 30.5cm 的规格备；

[0035] b、用 0.1MTris-Hcl 缓冲液配制供第一检测线包被使用的抗人绒毛膜促性腺激素  $\beta$  核心片段抗体 0.35mg/ml、供第二检测线包被使用的抗人绒毛膜促性腺激素  $\alpha$ -HCG 抗体 1.8mg/ml 及供质控线包被使用的抗鼠 IgG 抗体 1.2mg/ml；

[0036] c、选择硝酸纤维素膜的抗体包被面并作标记，将需包被的第一检测线、第二检测线和质控线平行均匀的包被在膜片上，且第一检测线与第二检测线距离 0.4cm、第二检测线与质控线的间距控制在距离 0.8cm，硝酸纤维素膜在 4℃ ~ 35℃ 的恒温条件下干燥备用；

[0037] d、配置封闭处理浸泡液，向配液罐加入实际生产量的纯化水；用电子分析天平称量 0.1Mol 缓冲液、0.5% 糖份、1% 封闭蛋白、0.05% 防腐剂，直接加入到配液罐中搅拌，搅拌

- 直至完全溶解,加纯化水定容至所需体积,充分搅拌均匀,搅拌时间不少于 10 分钟,备用;
- [0038] e、将硝酸纤维素膜用 0.01mol 磷酸盐浸泡洗涤后,浸泡于封闭处理液中 30min,取出晾干备用;
- [0039] 封闭处理浸泡液含有的缓冲液为磷酸盐或 Tris 盐、糖份为蔗糖或海藻糖、封闭蛋白为络蛋白或牛血清白蛋白、防腐剂为  $\text{NaN}_3$ 或硫柳汞;
- [0040] B、聚酯纤维条的标记及固相:
- [0041] a、胶体金复溶液的配制:向配液罐加入实际生产量的纯化水;用电子分析天平称量 5% 海藻糖、2% 牛血清白蛋白、0.5% 柠檬酸三钠、0.05% 聚乙二醇、0.05%  $\text{NaN}_3$ ,直接加入到配液罐中搅拌,搅拌直至完全溶解,加纯化水定容至所需体积,充分搅拌均匀,搅拌时间不少于 30 分钟,备用;
- [0042] b、用量筒量取需要标记量的胶体金,按 PH6.5-7.0 进行调节,即加入 0.35% 0.2mol/L 的碳酸钾溶液,于磁力搅拌器上搅拌 15 分钟后,取 HCG- $\beta$  单克隆抗体按 11ug/ml 标记胶体金体积 5% 的双蒸水中稀释并混合均匀,加入胶体金中,于磁力搅拌器上搅拌 30 分钟后加入 0.5% 稳定剂后搅拌 30 分钟后离心,收集沉淀,用胶体金复溶液按 3% 复溶,于磁力搅拌器上搅拌至混合均匀,备用;
- [0043] c、取上述 3% 复溶的胶体金,用胶体金复溶液按 4% 复溶,于磁力搅拌器上混合均匀。将混合均匀的胶体金溶液用喷金机按照 3.5ul/cm 的线浓度喷于胶体金吸附垫上,置于干燥室晾干 $\geq$ 4 个小时,干燥室控制温度 18-28 $^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度 $\leq$ 40%,保证空气畅通且气流不能直接吹于聚酯纤维条上,将干燥好的标记金放入到装有干燥剂的铝箔袋中,密封保存,备用;
- [0044] C、组装及裁切:
- [0045] a、取已粘贴硝酸纤维素膜的透明基片半成品,将固相了的聚酯纤维条粘贴在透明基片上,并保持与硝酸纤维素膜呈搭接约 1mm,将吸水纸复合在硝酸纤维素膜的透明基片膜上端并与膜搭接约 1mm,将吸样载体复合在固相了的聚酯纤维条下端并与其搭接约 1mm,备用;
- [0046] b、根据相应的反应装置,将已组装备用的基片,切割成条状试纸,备用。
- [0047] 本发明的应用为:本产品系由在硝酸纤维素膜上第一检测线 T1 位置包被抗人绒毛膜促性腺激素  $\beta$  核心片段抗体,第二检测线 T2 位置包被抗人绒毛膜促性腺激素  $\alpha$ -HCG 抗体和质控线 C 位置包被抗鼠 IgG 抗体,及在聚酯纤维膜上吸附的胶体金-抗人绒毛膜促性腺激素规则分子  $\beta$  HCG 单克隆抗体结合物组成,应用双抗体夹心法及免疫层析法的原理定性检测尿液中人绒毛膜促性腺激素  $\beta$  核心片段和人绒毛膜促性腺激素规则分子。
- [0048] 检测的开始时间为月经应该来但没有来的当天。每间隔三天测定一次,连续检测三周共计六次(即第 1 天、第 5 天,第 9 天,第 13 天,第 17 天,第 21 天)。具体检测步骤为:(1) 被检样品、试剂盒及其他所用器材均在室温平衡;(2) 除去试剂盒外包装,在试纸卡上标明被检样品或对照品;(3) 用滴管取尿样后,在加样孔内加入 2-3 滴尿样;(4) 5 分钟内观察结果,将第一检测线 T1 和第二检测线 T2 比对颜色深浅。
- [0049] 本发明通过第一检测线 T1 和第二检测线 T2 颜色深浅比较,从而判断是否怀孕,是否正常怀孕,及对异位妊娠和先兆流产进行风险评估。检验结果如下:(1) 阴性(未怀孕):只有对照质控线 C 显色,表明检测不到人绒毛膜促性腺激素(HCG);(2) 怀孕:对照质控线 C

和第二检测线 T2 同时显色,表明已怀孕;(3)正常怀孕:对照质控线 C 显色,第一检测线 T1 显色接近或深于第二检测线 T2 显色,表明正常怀孕;(4)异位妊娠和流产迹象:对照质控线 C 显色,第一检测线 T1 无显色或明显浅于第二检测线 T2 显色,表明有异位妊娠和流产迹象可能;(5)无效:若第一检测线 T1 和第二检测线 T2 与质控线 C 均无紫红色线出现,或者质控线 C 无紫红色线出现,表示该试纸已经失效。

[0050] 本发明应用双抗体夹心法及免疫层析法的原理定性检测尿液中人绒毛膜促性腺激素  $\beta$  核心片段和人绒毛膜促性腺激素规则分子,检测步骤较为简单,5 分钟内就可以观察到结果,一般使用者可以自己进行检测,检测结果较为精确。本发明通过第一检测线和第二检测线颜色深浅比较,从而判断是否怀孕、是否正常怀孕、及对异位妊娠和先兆流产进行风险评估。

[0051] 实施例 1:

[0052] 从同一批中随机抽样,最低抽样量不得少于检测用量的 3 倍。

[0053] 取样后将待检品置于黄色待检区,能当天检验的当天检验,不能的情况下必须于第二天检验完毕。检验合格剩下的纸条可作为留样,暂置于合格品区,然后根据产量以及留样要求再从生产上抽取一定的数量进行成品的留样。

[0054] 1、所需试剂如下:0mIU/ml 的样品液:含蛋白的磷酸盐缓冲液(PBS)即为 0mIU/ml 的 HCG 样品液。10ng/ml,5ng/ml,2ng/ml 的人绒毛膜促性腺激素  $\beta$  片段( $\beta$ -HCG)样品液:将人绒毛膜促性腺激素  $\beta$  片段( $\beta$ -HCG)标准品用磷酸盐缓冲液(0.01M PBS)配制相应浓度;50mIU/ml,25 mIU/ml,12.5 mIU/ml 的规则人绒毛膜促性腺激素(i-HCG)样品液:将规则人绒毛膜促性腺激素(i-HCG)标准品用磷酸盐缓冲液(PBS)配制相应浓度;500mIU/ml 人促黄体生成素(hLH):将 hLH 标准品用磷酸盐缓冲液(PBS)复溶后,用 0mIU/ml 的 HCG 样品液将其配制浓度为 500mIU/ml,即为 hLH A 液;用 5ng/ml 的人绒毛膜促性腺激素  $\beta$  片段样品液将其配制浓度为 500mIU/ml,即为 hLH B 液;用 25mIU/ml 的规则人绒毛膜促性腺激素样品液将其配制浓度为 500mIU/ml,即为 hLH C 液;1000mIU/ml 人卵泡刺激素(hFSH):将 hFSH 标准品用磷酸盐缓冲液(PBS)复溶后,用 0mIU/ml 的 HCG 样品液将其配制浓度为 1000mIU/ml,即为 hFSH A 液;用 5ng/ml 的人绒毛膜促性腺激素  $\beta$  片段样品液将其配制浓度为 1000mIU/ml,即为 hFSH B 液;用 25mIU/ml 的规则人绒毛膜促性腺激素样品液将其配制浓度为 1000mIU/ml,即为 hFSH C 液;1000 $\mu$ IU/ml 人促甲状腺激素(hTSH):将 hTSH 标准品用磷酸盐缓冲液(PBS)复溶后,用 0mIU/ml 的 HCG 样品液将其配制浓度为 1000 $\mu$ IU/ml,即为 hTSH A 液;用 5ng/ml 的人绒毛膜促性腺激素  $\beta$  片段样品液将其配制浓度为 1000 $\mu$ IU/ml,即为 hTSH B 液;用 25mIU/ml 的规则人绒毛膜促性腺激素样品液将其配制浓度为 1000 $\mu$ IU/ml,即为 hTSH C 液。

[0055] 2、物理性状:检验外观性状:取出试纸条,用目力观察,纸条应整洁完整、无毛刺、无破损、无污染;材料附着牢固。如果是笔、卡或棒型的还要检查其装配是否正确。膜条宽度:取 3 人份纸条用量尺测量纸条上膜的宽度。液体移行速度:取 3 人份纸条按说明书进行操作,条型和笔型的吸样端浸入生理盐水中 3~10 秒钟后水平放置,卡型用加样器滴加生理盐水,用秒表记录液体从反应区下端移行至上端所需时间,结果应符合液体移行速度不低于 10mm/min,层析状态:规则,胶金不与水分层,5 分钟内本底基本清晰。

[0056] 3、检验最低检出量:用国家级人绒毛膜促性腺激素  $\beta$  亚单位标准品检验,配成浓

度分别为 2ng/ml、5ng/ml、10ng/ml 的标准液,抽取待检品 3 人份,进行检测,5 分钟内观察结果,T1 检测线最低检出量为 5ng/ml,T2 检测线无显色为阴性。用国家级规则人绒毛膜促性腺激素标准品检验,配成浓度分别为、12.5 mIU/ml、25 mIU/ml、50 mIU/ml 的标准液,抽取待检品 3 人份,进行检测,5 分钟内观察结果,T2 检测线最低检出量 25 mIU/ml,T1 检测线应无显色为阴性。

[0057] 4、特异性:阴性特异性:将浓度为 500mIU/ml hLH A 液、1000mIU/ml hFSH A 液、1000 $\mu$ IU/ml hTSH A 液分别进行检测,各重复 3 次,各溶液的 3 次结果 T1 检测线和 T2 检测线均为阴性才可判为此浓度的结果为阴性。阳性特异性:将浓度为 500mIU/ml hLH B 液、1000mIU/ml hFSH B 液、1000 $\mu$ IU/ml hTSH B 液分别进行检测,各重复 3 次,各溶液的 3 次结果 T1 检测线结果应均为阳性,T2 检测线无显色,为阴性。将浓度为 500mIU/ml hLH C 液、1000mIU/ml hFSH C 液、1000 $\mu$ IU/ml hTSH C 液分别进行检测,各重复 3 次,各溶液的 3 次结果 T2 检测线结果应均为阳性,T1 检测线无显色,为阴性。

[0058] 5、重复性:随机抽取同一批号的试纸 10 条,以浓度为 5ng/ml 人绒毛膜促性腺激素  $\beta$  片段( $\beta$ -HCG)标准品测定,10 次结果应符合 T1 检测线全部为阳性显色,且显色强度一致,T2 检测线无显色,为阴性。随机抽取同一批号的试纸 10 条,以浓度为 25mIU/ml 规则人绒毛膜促性腺激素(i-HCG)标准品测定,10 次结果应符合 T2 检测线全部为阳性显色,且显色强度一致。T1 检测线无显色,为阴性。

[0059] 6、检验稳定性:将试纸于 37 $^{\circ}$ C 放置 21 天后,或者取产品有效期后一个月的产品进行检测,按照 2、3 项、4 项、5 项的规定要求检验,结果应符合要求。

[0060] 7、检验批间差:取 3 个批号的试纸,用 5ng/ml 的人绒毛膜促性腺激素  $\beta$  片段( $\beta$ -HCG)标准品进行检测,重复测定 10 次,T1 检测线全部为阳性显色,且显色强度一致。T2 检测线无显色,为阴性。取 3 个批号的试纸,用 25mIU/ml 的规则人绒毛膜促性腺激素(i-HCG)标准品进行检测,每个批号各重复测定 10 次,T2 检测线全部为阳性显色,且显色强度一致。T1 检测线无显色,为阴性。

[0061] 用人绒毛膜促性腺激素  $\beta$  核心片段检测来确定宫外孕和自然流产。人绒毛膜促性腺激素(HCG)是由滋养层细胞产生的,怀孕过程中血清中的 HCG  $\beta$  相关分子是非常重要的。 $\beta$ -核心片段是 HCG  $\beta$  亚单位的最终降解产物(分子量 9000,相对于 HCG 的分子量 37000),在孕妇尿液中是 HCG  $\beta$  亚单位重要的相关分子。检测来自急诊室病人尿样中的整分子 HCG 和  $\beta$  核心片段,在宫外孕孕妇中,HCG 只有 48 倍的降低,而  $\beta$  核心片段却又 800 倍的降低,在正常孕妇和宫外孕孕妇中,HCG 水平有明显 8.3% 的重叠,而  $\beta$  核心片段水平只检测到 2.3% 的重叠。所以依赖于  $\beta$  核心片段可以建立诊断宫外孕的检测系统。一个基于怀孕妇女尿液中整分子 HCG 和  $\beta$  核心片段在某一段时间含量水平,制作的相关曲线可以区别正常怀孕,宫外孕以及自然流产。 $\beta$ -核心片段的持续低水平有 92% 中是即将宫外孕的,67% 即将自然流产的,4% 是宫内孕的。

[0062] 本发明应用双抗体夹心法及免疫层析法的原理定性检测尿液中人绒毛膜促性腺激素  $\beta$  核心片段和人绒毛膜促性腺激素规则分子,检测步骤较为简单,5 分钟内就可以观察到结果,一般使用者可以自己进行检测,检测结果较为精确。本发明通过第一检测线和第二检测线颜色深浅比较,从而判断是否怀孕、是否正常怀孕、及对异位妊娠和先兆流产进行风险评估。

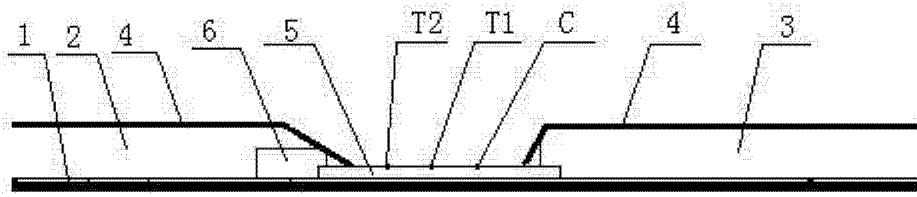


图 1

专利名称(译)	一种早孕多功能检测试纸的制备方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN103777002B</a>	公开(公告)日	2015-07-01
申请号	CN201410018255.0	申请日	2014-01-15
[标]申请(专利权)人(译)	南通市伊士生物技术有限责任公司		
申请(专利权)人(译)	南通市伊士生物技术有限责任公司		
当前申请(专利权)人(译)	南通市伊士生物技术有限责任公司		
[标]发明人	欧卫军		
发明人	欧卫军		
IPC分类号	G01N33/558 G01N33/531 G01N33/76		
CPC分类号	G01N33/558 G01N33/76 G01N2333/59 G01N2800/368		
其他公开文献	CN103777002A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>	<a href="#">SIPO</a>	

摘要(译)

本发明公开了一种早孕多功能检测试纸的制造方法，步骤包括：硝酸纤维素膜的制备；聚酯纤维条的标记及固相；组装及裁切。本发明应用双抗体夹心法及免疫层析法的原理定性检测尿液中人绒毛膜促性腺激素β核心片段和人绒毛膜促性腺激素规则分子，检测步骤较为简单，5分钟内就可以观察到结果，一般使用者可以自己进行检测，检测结果较为精确。本发明通过第一检测线和第二检测线颜色深浅比较，从而判断是否怀孕、是否正常怀孕、及对异位妊娠和先兆流产进行风险评估。

