



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103529206 A

(43) 申请公布日 2014. 01. 22

(21) 申请号 201310539534. 7

(22) 申请日 2013. 11. 04

(71) 申请人 无锡博慧斯生物医药科技有限公司  
地址 214092 江苏省无锡市滨湖区马山梅梁路 136 号

(72) 发明人 陆月 时振华 胡越 韦彦余

(74) 专利代理机构 无锡市大为专利商标事务所  
32104

代理人 殷红梅

(51) Int. Cl.

G01N 33/569 (2006. 01)

G01N 33/531 (2006. 01)

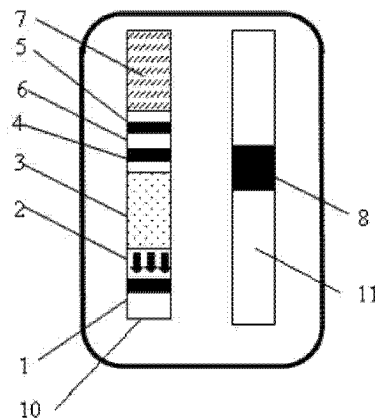
权利要求书1页 说明书9页 附图2页

(54) 发明名称

一种促黄体生成素和细菌性阴道炎联检试剂盒

(57) 摘要

本发明涉及一种促黄体生成素和细菌性阴道炎联检试剂盒,特别涉及一种促黄体生成素(LH)和细菌性阴道炎(BV)联检试剂盒,属于检测技术领域。其包括LH免疫层析检测试纸条,以及pH试纸,唾液酸酶检测试纸,白细胞酯酶检测试纸,过氧化氢检测试纸和胺试纸中一种或几种,较佳地,免疫层析检测试纸条的结合垫和层析膜上分别包被相应的免疫标记抗体和检测抗体,LH免疫层析检测试纸条与pH试纸,唾液酸酶检测试纸,白细胞酯酶检测试纸,过氧化氢检测试纸和胺试纸中一种或多种并列设置或置于底板的上下表面,本发明可以通过自我取样,同时检测LH和细菌性阴道炎,其联检结果为优生优育和合理避孕提供有力证据,简单方便,适合大规模推广应用。



1. 一种促黄体生成素和细菌性阴道炎联检试剂盒,包括第一底板(10),其特征是:在第一底板(10)的一面上设置有层析膜(6),层析膜(6)的前端设置不透明保护膜(3),不透明保护膜(3)的前端设置箭头(2);箭头(2)的前端设置结合垫(1);层析膜(6)上还依次设置有检测线(4)和质控线(5),层析膜(6)后端设置有吸水垫(7)。

2. 如权利要求1所述促黄体生成素和细菌性阴道炎联检试剂盒,其特征是:还包括感染指标检测区(8)。

3. 如权利要求2所述促黄体生成素和细菌性阴道炎联检试剂盒,其特征是:所述感染指标检测区(8)附着于第二底板(11)上或复合于第一底板(10)的任意一个表面上。

4. 一种促黄体生成素和细菌性阴道炎联检试剂盒,包括第一底板(10),其特征是:在第一底板(10)的一面上设置有层析膜(6),层析膜(6)的前端设置结合垫(1),结合垫(1)的前方还设置样品垫(9);层析膜(6)上还依次设置有检测线(4)和质控线(5),层析膜(6)后端设置有吸水垫(7);第一底板(10)的下表面上还设置有感染指标检测区(8)。

5. 如权利要求2或4所述促黄体生成素和细菌性阴道炎联检试剂盒,其特征是:所述感染指标检测区(8)设置有pH试纸,唾液酸酶检测试纸,白细胞酯酶检测试纸,过氧化氢检测试纸和胺试纸中的一种或几种。

6. 如权利要求5所述促黄体生成素和细菌性阴道炎联检试剂盒,其特征是:所述附着pH试纸,唾液酸酶检测试纸,白细胞酯酶检测试纸,过氧化氢检测试纸和胺试纸的第一底板(10)或第二底板(11)的材料为PET、PVC、PE、PP或PS中的一种,长为10-300mm,宽2-30mm,厚度为0.1-1.5mm。

7. 如权利要求5所述促黄体生成素和细菌性阴道炎联检试剂盒,其特征是:所述pH试纸,唾液酸酶检测试纸,白细胞酯酶检测试纸,过氧化氢检测试纸和胺试纸的基础材料为纤维素滤纸,玻璃纤维滤纸,层析纸,聚酯膜或尼龙膜;所述试纸的形状为正方形,长方形,圆形,椭圆形,三角形,菱形或梯形;大小为长1-30mm;宽1-30mm;厚度0.01-5mm;多种试纸之间的间距为1-30mm。

8. 如权利要求1或4所述促黄体生成素和细菌性阴道炎联检试剂盒,其特征是:所述结合垫(1)上有促黄体生成素LH免疫标记抗体。

9. 如权利要求1或4所述促黄体生成素和细菌性阴道炎联检试剂盒,其特征是:所述层析膜(6)上包被有促黄体生成素LH检测抗体。

## 一种促黄体生成素和细菌性阴道炎联检试剂盒

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种促黄体生成素和细菌性阴道炎联检试剂盒,特别涉及一种促黄体生成素(LH)和细菌性阴道炎(BV)联检试剂盒,属于检测技术领域。

### 背景技术

[0002] 促黄体生成素(LH)由腺垂体嗜碱粒细胞分泌,存在于人的血液和尿液中,其作用是刺激卵巢内成熟卵子的释放。尿液中的LH浓度通常在排卵前36-48小时左右突然大幅度上升,在14-28小时达到高峰,高峰后约14~28小时卵泡膜破裂,排出成熟卵子。女性在LH高峰后的1-3天内最容易受孕,因而,检测LH在尿液中的存在水平能够用于预测排卵时间,从而合理避孕或怀孕。

[0003] 细菌性阴道炎(BV)是指一类在细菌学上表现为生殖道正常菌群(产H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的乳酸杆菌)数量减少,代之以一组厌氧群(类杆菌属族、加德纳菌、莫比伦氏菌属、人型支原体属和消化链球菌属等)数量增加所致的临床症候群。BV对母亲和胎儿及婴儿的健康可引起严重后果,如:宫腔感染,盆腔感染及绒毛羊膜感染,产后感染,先兆流产,早产,胎膜早破,低体重儿等,因而对其的准确诊断具有非常重要的意义。临床的标准是Amse1金标准:①阴道分泌物呈乳液状;②pH>4.5;③胺试验阳性;④阴道分泌物中检出线索细胞(>20%)。如果④阴性,但涂片革兰氏染色可见大量革兰氏阴性球杆菌,无或偶见乳酸菌亦可判为BV阳性。上述方法均对检验人员有经验要求,诊断标准不易掌握,需要显微镜涂片,费时费力,不便于门诊临床快速检测。

### 发明内容

[0004] 本发明的目的在于克服上述不足之处,提供一种促黄体生成素(LH)和细菌性阴道炎(BV)联检试剂盒,通过自我取样,可以快速检测细菌性阴道炎,同时可以准确预测排卵时间,增加受孕几率或达到合理避孕。

[0005] 按照本发明提供的技术方案,一种促黄体生成素和细菌性阴道炎联检试剂盒,包括第一底板,在第一底板的一面上设置有层析膜,层析膜的前端设置不透明保护膜,不透明保护膜的前端设置箭头;箭头的前端设置结合垫;层析膜上还依次设置有检测线和质控线,层析膜后端设置有吸水垫。

[0006] 还包括感染指标检测区。

[0007] 所述感染指标检测区附着于第二底板上或复合于第一底板的任意一个表面上。

[0008] 在第一底板的一面上设置有层析膜,层析膜的前端设置结合垫,结合垫的前方还设置样品垫;层析膜上还依次设置有检测线和质控线,层析膜后端设置有吸水垫;第一底板的下表面上还设置有感染指标检测区。

[0009] 所述感染指标检测区设置有pH试纸,唾液酸酶检测试纸,白细胞酯酶检测试纸,过氧化氢检测试纸和胺试纸中的一种或几种。

[0010] 所述附着pH试纸,唾液酸酶检测试纸,白细胞酯酶检测试纸,过氧化氢检测试纸

和胺试纸的第一底板或第二底板的材料为 PET、PVC、PE、PP 或 PS 中的一种,长为 10-300mm,宽 2-30mm,厚度为 0.1-1.5mm。

[0011] 所述 pH 试纸,唾液酸酶检测试纸,白细胞酯酶检测试纸,过氧化氢检测试纸和胺试纸的基础材料为纤维素滤纸,玻璃纤维滤纸,层析纸,聚酯膜或尼龙膜;所述试纸的形状为正方形,长方形,圆形,椭圆形,三角形,菱形或梯形;大小为长 1-30 mm;宽 1-30 mm;厚度 0.01-5 mm;多种试纸之间的间距为 1-30 mm。

[0012] 所述结合垫上有促黄体生成素 LH 免疫标记抗体。

[0013] 所述层析膜上包被有促黄体生成素 LH 检测抗体。

[0014] 本发明的有益效果:本发明可以通过自我取样,可以快速检测细菌性阴道炎,同时可以准确判别是否有早期妊娠,简单方便,适合大规模推广应用。

### 附图说明

[0015] 图 1 是实施例 1 第一底板 10 结构示意图。

[0016] 图 2 是实施例 1 第二底板 11 结构示意图。

[0017] 图 3 是实施例 2 结构示意图。

[0018] 图 4 是实施例 3 结构示意图。

[0019] 图 5 是实施例 4 结构示意图。

[0020] 图 6 是实施例 1 感染指标检测区结构示意图。

[0021] 图 7 是实施例 2 感染指标检测区结构示意图。

[0022] 图 8 是实施例 3 感染指标检测区结构示意图。

[0023] 图 9 是实施例 4 感染指标检测区结构示意图。

### 具体实施方式

#### [0024] 实施例 1

如图 1、2、5 所示,一种促黄体生成素和细菌性阴道炎联检试剂盒,包括第一底板 10,在第一底板 10 的一面上设置有层析膜 6,层析膜 6 的前端设置不透明保护膜 3,不透明保护膜 3 的前端设置箭头 2;箭头 2 的前端设置结合垫 1;层析膜 6 上还依次设置有检测线 4 和质控线 5,层析膜 6 后端设置有吸水垫 7。

[0025] 还包括感染指标检测区 8。所述感染指标检测区 8 附着于第一底板 10 的上表面。

[0026] 所述感染指标检测区 8 设置有所述 pH 试纸。包括 LH 免疫层析检测试纸条,以及泌尿系统感染指标检测区,包括所述 pH 试纸,以水平覆盖方式或内置嵌入方式置于底板 10 的上表面。

#### [0027] 实施例 2

如图 3、7 所示,一种促黄体生成素和细菌性阴道炎联检试剂盒,包括第一底板 10,在第一底板 10 的一面上设置有层析膜 6,层析膜 6 的前端设置不透明保护膜 3,不透明保护膜 3 的前端设置箭头 2;箭头 2 的前端设置结合垫 1;层析膜 6 上还依次设置有检测线 4 和质控线 5,层析膜 6 后端设置有吸水垫 7。

[0028] 还包括感染指标检测区 8。所述感染指标检测区 8 附着于第二底板 11 上。

[0029] 所述感染指标检测区 8 设置有唾液酸酶检测试纸,白细胞酯酶检测试纸,。以水平

覆盖方式或内置嵌入方式置于底板的上表面,且与 LH 免疫层析检测试纸条并列设置于卡槽上。

#### [0030] 实施例 3

如图 3、8 所示,一种促黄体生成素和细菌性阴道炎联检试剂盒,包括第一底板 10,在第一底板 10 的一面上设置有层析膜 6,层析膜 6 的前端设置结合垫 1,结合垫 1 的前方还设置样品垫 9;层析膜 6 上还依次设置有检测线 4 和质控线 5,层析膜 6 后端设置有吸水垫 7;第一底板 10 的下表面上还设置有感染指标检测区 8。

[0031] 所述感染指标检测区 8 附着于第一底板 10 的下表面上。

[0032] 所述感染指标检测区 8 设置有唾液酸酶检测试纸,白细胞酯酶检测试纸,过氧化氢检测试纸,以水平覆盖方式或内置嵌入方式置于底板的表面,且与 LH 免疫层析检测试纸条分别置于底板的上下表面。

#### [0033] 实施例 4

如图 5、9 所示,一种促黄体生成素和细菌性阴道炎联检试剂盒,包括第一底板 10,在第一底板 10 的一面上设置有层析膜 6,层析膜 6 的前端设置不透明保护膜 3,不透明保护膜 3 的前端设置箭头 2;箭头 2 的前端设置结合垫 1;层析膜 6 上还依次设置有检测线 4 和质控线 5,层析膜 6 后端设置有吸水垫 7。所述感染指标检测区 8 附着于第二底板 11 上。

[0034] 在实施例 1-4 中,所述 LH 免疫标记抗体是抗人 LH 胶体金免疫标记抗体,所述 LH 检测抗体是抗人 LH 检测抗体,其中的抗人 LH 胶体金免疫标记抗体和抗人 LH 检测抗体结合人 LH 的不同部位。

[0035] 所述感染指标检测区 8 设置有唾液酸酶检测试纸,白细胞酯酶检测试纸,过氧化氢检测试纸和胺试纸,以水平覆盖方式或内置嵌入方式置于底板的上表面,且与 LH 免疫层析检测试纸条置于可拆卸的卡槽上。

[0036] 所述 pH 试纸为将空白滤纸在甲基橙和溴甲酚绿组成的溶液中浸泡后干燥处理,所述甲基橙在溶液中的浓度为  $10\sim 600$  mg/L,所述溴甲酚绿在溶液中的浓度为  $10\sim 300$  mg/L;

所述唾液酸酶检测试纸为将空白滤纸浸泡在 5-溴-4-氯-3-吡啶乙酰基神经氨酸盐,氯化硝基四氮唑蓝,海藻糖和 PBS 缓冲液组成的溶液中浸泡后干燥处理,所述 5-溴-4-氯-3-吡啶乙酰基神经氨酸盐在溶液中的浓度为  $5\sim 200$  mg/L,所述氯化硝基四氮唑蓝在溶液中的浓度为  $10\sim 500$  mg/L,所述海藻糖在在溶液中的浓度为  $200\sim 10000$  mg/L,所述 PBS 的 pH 值为 6.5,摩尔浓度为  $0.01\sim 1$  M;

所述白细胞酯酶检测试纸为将空白滤纸在 5-溴-4-氯-3-吡啶乙酸盐和蔗糖组成的溶液中浸泡后干燥处理,所述 5-溴-4-氯-3-吡啶乙酸盐在溶液中的浓度为  $40\sim 1000$  mg/L,所述蔗糖在溶液中的浓度为  $200\sim 10000$  mg/L;

所述过氧化氢检测试纸为将空白滤纸在过氧化物酶,表面活性剂和四甲基联苯胺(TMB)组成的酶溶液中浸泡后干燥处理,所述过氧化物酶在溶液中的浓度为  $1.0\sim 3.0\times 10^5$  U/L,表面活性剂在溶液中的浓度为 0.1-10%,TMB 在酶溶液中的浓度为 200-1000 mg/L;

所述胺试纸为将空白滤纸在氢氧化钾溶液中浸泡后干燥处理的试剂块 A 粘贴于在溴甲酚绿和 Triton X-100 溶液中浸泡后干燥处理的试剂块 B,其中 A 试剂块中氢氧化钾浓度为 400-10000 mg/L,B 试剂块中溴甲酚绿浓度为  $100\sim 1000$ ,Triton X-100 为 0.1~10%。

[0037] 样本稀释液为 0.9 % NaCl。

[0038] 应用实施例 1

使用本发明促黄体生成素(LH)和细菌性阴道炎(BV)联检试剂盒的操作步骤如下:

- (1) 用棉签从阴道后穹窿取分泌物先直接涂在 pH 试纸上;
- (2) 再用棉签从阴道后穹窿取分泌物,加入 300~500  $\mu$ L 的样本稀释液稀释分泌物;
- (3) 分别在 LH 免疫层析检测试纸条,唾液酸酶检测试纸,白细胞酯酶检测试纸,过氧化氢检测试纸和胺试纸上滴加适量的稀释的分泌物。

[0039] (4)将试纸条在室温下静置 10 分钟左右或在 37 $^{\circ}$ C 恒温箱中静置 10 分钟左右后目视比色。

[0040] 判读结果:检测时如果 LH 免疫层析检测试纸条 C 区出现条带,则 T 区出现条带即表示样品为阳性,未出现条带则表示阴性;如果 C 区未出现条带,则表示试纸条失效。pH 试纸出现红色或浅绿表示正常,出现深绿色表示不正常。唾液酸酶检测试纸不显色表示正常,出现紫色或褐色表示不正常。白细胞酯酶检测试纸不显色表示正常,出现蓝色或绿色表示不正常。过氧化氢检测试纸出现蓝色表示正常,不显色表示不正常。胺试纸不显色表示正常,出现绿色表示不正常。

[0041] 制备实施例 1

用于 LH 检测的抗体胶体金标记方法为加入 200  $\mu$ L,3% 的碳酸钾调节 50 mL 胶体金溶液的 pH;在搅拌条件下逐渐加入 0.15 mL,6.6 mg/mL 待标记抗 LH 抗体于上述胶体金溶液中,混匀,室温静置 30 min;将 12.5 mL 封闭液缓慢加入上述胶体金溶液中,混匀,室温静置 30 min;8000 g 4 $^{\circ}$ C 离心 1h,去上清,留疏松沉淀;各管沉淀用 25 mL 洗涤液溶解,6000 g 4 $^{\circ}$ C 离心 1h,去上清,留疏松沉淀;各管沉淀用 1.2 mL 洗涤液溶解,转入 1.5 mL 离心管中,4500 g 4 $^{\circ}$ C 离心 1h,去上清;所有沉淀用 1 mL 胶体金抗体重悬液重悬,4 $^{\circ}$ C 保存。

[0042] 用于 LH 检测的抗体胶体金垫的喷点方法如下:用胶体金抗体重悬液将上述制备的胶体金抗体结合物稀释 4 倍;开启点膜仪的电源,设定喷点程序,喷点量为 8  $\mu$ L/cm;1 号管道为喷点通道;将 1 号管道置于胶体金抗体重悬溶液中,选择初始化程序,初始化 6 个循环;将金标垫按固定位置平放在点膜仪上,按控制面板上“GO”键开始喷点,点完后取下,检查喷点好的金标垫,喷点的胶体金抗体条带均匀、连续和贯通整个金标垫的直线为合格喷点品,两条直线中出现断点为不合格喷点品;每放一片金标垫,按一次控制面板上的“GO”键为喷点一次(一片);喷点结束,将喷点的金标垫置于室温中自然干燥 1 个小时,膜上应看不到喷点痕迹。

[0043] 用于 LH 检测的抗体层析膜制备方法如下:取鼠抗人 LH 抗体 500  $\mu$ g,加到 5 mL 刻度离心管中,抗体稀释液至 1 mL,容器标记 T 标志。取羊抗鼠 IgG 抗体 25  $\mu$ L,加到 5 mL 刻度离心管中,抗体稀释液至 1 mL,容器标记 C 标志;开启点膜仪的电源,设定喷点程序,喷点量为 1  $\mu$ L/cm,1 号管道为检测带喷点通道,2 号管道为对照带喷点通道;将 1 号管道置于检测带溶液中,将 2 号管道置于对照带溶液中,选择初始化程序,初始化 6 个循环;将层析膜按固定位置平放在点膜仪上,按控制面板上“GO”键开始喷点,点完后取下,检查喷点好的层析膜,检测带和对照带为两条均匀、连续和贯通整个层析膜的直线为合格喷点品,两条直线中出现断点为不合格喷点品;每放一片层析膜,按一次控制面板上的“GO”键为喷点一次(一片);喷点结束,将喷点的层析膜置于室温中自然干燥 1 个小时,膜上应看不到喷点痕迹。

[0044] 将底板上较宽部分的保护纸除去,沿上面保护纸的下边缘,将划好线的层析膜,以C线在上方的方式贴到底板上;将胶体金垫贴在T线下方,与NC膜少许接触;将样品垫贴在胶体金垫下方,与胶体金垫少许接触;接着除去上方保护纸,将吸水垫贴在NC膜的上方,与NC膜少许接触;将保护纸及指示带纸逐一贴在组装好的试纸条外面,组装成大卡。接通切割机电源,设定切膜程序,设定切割宽度为4mm;将大卡合格品平放入切割机平台轨道中,正面朝上,按操作面板上“GO”键,开始切割;每放一片大卡合格品,按操作面板上“GO”键一次,直至切割完所有大卡合格品。

[0045] pH试纸,唾液酸酶检测试纸,白细胞酯酶检测试纸,过氧化氢检测试纸和胺试纸的滤纸材料为层析纸和尼龙膜,底板使用的材料为透明PVC片。

[0046] pH试纸制作:将滤纸浸泡在甲基橙浓度为300 mg/L,溴甲酚绿浓度为200 mg/L的溶液中,烘干后使用切割机切成边长为4 mm的正方形;

唾液酸酶检测试纸制作:将滤纸浸泡在5-溴-4-氯-3-吡啶乙酰基神经氨酸浓度为200 mg/L,氯化硝基四氮唑蓝浓度为400 mg/L,海藻糖浓度为2000 mg/L,PBS缓冲液的pH值为6.5,摩尔浓度为0.01 M的溶液中,烘干后使用切割机切成边长为4 mm的正方形;

白细胞酯酶检测试纸制作:将滤纸浸泡在5-溴-4-氯-3-吡啶乙酸盐浓度为300 mg/L,蔗糖浓度为2000 mg/L的溶液中,烘干后使用切割机切成边长为4 mm的正方形;

过氧化氢检测试纸制作:将滤纸浸泡在过氧化物酶浓度为 $2.0 \times 10^5$  U/L,表面活性剂在溶液中的浓度为0.2%,TMB在酶溶液中的浓度为700 mg/L的溶液中,烘干后使用切割机切成边长为4 mm的正方形;

胺试纸制作:试剂块A为将滤纸浸泡在氢氧化钾浓度为10000 mg/L的溶液中,烘干;试剂块B为将尼龙膜浸泡在溴甲酚绿浓度为500 mg/L,Triton X-100为0.2%的溶液中,烘干。将试剂块A和B用双面胶粘合后用切割机切成边长为4 mm的正方形;

分别将pH试纸,唾液酸酶检测试纸,白细胞酯酶检测试纸,过氧化氢检测试纸和胺试纸中的任意一种以水平覆盖或内置嵌入方式粘贴固定于透明的PVC片上,各试纸间距为5 mm,切成边长为4 mm的试纸条即成。

[0047] 制备实施例2

用于LH检测的抗体胶体金标记方法为加入200  $\mu$ L,3%的碳酸钾调节50 mL胶体金溶液的pH;在搅拌条件下逐渐加入0.15 mL,6.6 mg/mL待标记抗LH抗体于上述胶体金溶液中,混匀,室温静置30 min;将12.5 mL封闭液缓慢加入上述胶体金溶液中,混匀,室温静置30 min;8000 g 4 $^{\circ}$ C离心1h,去上清,留疏松沉淀;各管沉淀用25 mL洗涤液溶解,6000 g 4 $^{\circ}$ C离心1h,去上清,留疏松沉淀;各管沉淀用1.2 mL洗涤液溶解,转入1.5 mL离心管中,4500 g 4 $^{\circ}$ C离心1h,去上清;所有沉淀用1 mL胶体金抗体重悬液重悬,4 $^{\circ}$ C保存。

[0048] 用于LH检测的抗体胶体金垫的喷点方法如下:用胶体金抗体重悬液将上述制备的胶体金抗体结合物稀释4倍;开启点膜仪的电源,设定喷点程序,喷点量为8  $\mu$ L/cm;1号管道为喷点通道;将1号管道置于胶体金抗体重悬溶液中,选择初始化程序,初始化6个循环;将金标垫按固定位置平放在点膜仪上,按控制面板上“GO”键开始喷点,点完后取下,检查喷点好的金标垫,喷点的胶体金抗体条带均匀、连续和贯通整个金标垫的直线为合格喷点品,两条直线中出现断点为不合格喷点品;每放一片金标垫,按一次控制面板上的“GO”键为喷点一次(一片);喷点结束,将喷点的金标垫置于室温中自然干燥1小时,膜上应看不

到喷点痕迹。

[0049] 用于 LH 检测的抗体层析膜制备方法如下：取鼠抗人 LH 抗体 500  $\mu\text{g}$ ，加到 5 mL 刻度离心管中，抗体稀释液至 1 mL，容器标记 T 标志。取羊抗鼠 IgG 抗体 25  $\mu\text{L}$ ，加到 5 mL 刻度离心管中，抗体稀释液至 1 mL，容器标记 C 标志；开启点膜仪的电源，设定喷点程序，喷点量为 1  $\mu\text{L}/\text{cm}$ ，1 号管道为检测带喷点通道，2 号管道为对照带喷点通道；将 1 号管道置于检测带溶液中，将 2 号管道置于对照带溶液中，选择初始化程序，初始化 6 个循环；将层析膜按固定位置平放在点膜仪上，按控制面板上“GO”键开始喷点，点完后取下，检查喷点好的层析膜，检测带和对照带为两条均匀、连续和贯通整个层析膜的直线为合格喷点品，两条直线中出现断点为不合格喷点品；每放一片层析膜，按一次控制面板上的“GO”键为喷点一次（一片）；喷点结束，将喷点的层析膜置于室温中自然干燥 1 个小时，膜上应看不到喷点痕迹。

[0050] 将底板上较宽部分的保护纸除去，沿上面保护纸的下边缘，将划好线的层析膜，以 C 线在上方的方式贴到底板上；将胶体金垫贴在 T 线下方，与 NC 膜少许接触；将样品垫贴在胶体金垫下方，与胶体金垫少许接触；接着除去上方保护纸，将吸水垫贴在 NC 膜的上方，与 NC 膜少许接触；将保护纸及指示带纸逐一贴在组装好的试纸条外面，组装成大卡。接通切割机电源，设定切膜程序，设定切割宽度为 4 mm；将大卡合格品平放入切割机平台轨道中，正面朝上，按操作面板上“GO”键，开始切割；每放一片大卡合格品，按操作面板上“GO”键一次，直至切割完所有大卡合格品。

[0051] pH 试纸，唾液酸酶检测试纸，白细胞酯酶检测试纸，过氧化氢检测试纸和胺试纸的滤纸材料为层析纸和尼龙膜，底板使用的材料为透明 PVC 片。

[0052] pH 试纸制作：将滤纸浸泡在甲基橙浓度为 300 mg/L，溴甲酚绿浓度为 200 mg/L 的溶液中，烘干后使用切割机切成边长为 4 mm 的正方形；

唾液酸酶检测试纸制作：将滤纸浸泡在 5-溴-4-氯-3-吡啶乙酰基神经氨酸盐浓度为 200 mg/L，氯化硝基四氮唑蓝浓度为 400 mg/L，海藻糖浓度为 2000 mg/L，PBS 缓冲液的 pH 值为 6.5，摩尔浓度为 0.01 M 的溶液中，烘干后使用切割机切成边长为 4 mm 的正方形；

白细胞酯酶检测试纸制作：将滤纸浸泡在 5-溴-4-氯-3-吡啶乙酸盐浓度为 300 mg/L，蔗糖浓度为 2000 mg/L 的溶液中，烘干后使用切割机切成边长为 4 mm 的正方形；

过氧化氢检测试纸制作：将滤纸浸泡在过氧化物酶浓度为  $2.0 \times 10^5$  U/L，表面活性剂在溶液中的浓度为 0.2%，TMB 在酶溶液中的浓度为 700 mg/L 的溶液中，烘干后使用切割机切成边长为 4 mm 的正方形；

胺试纸制作：试剂块 A 为将滤纸浸泡在氢氧化钾浓度为 10000 mg/L 的溶液中，烘干；试剂块 B 为将尼龙膜浸泡在溴甲酚绿浓度为 500 mg/L，Triton X-100 为 0.2% 的溶液中，烘干。将试剂块 A 和 B 用双面胶粘合后用切割机切成边长为 4 mm 的正方形；

将切割好的 pH 试纸，唾液酸酶检测试纸，白细胞酯酶检测试纸，过氧化氢检测试纸和胺试纸中的任意两种以水平覆盖或内置嵌入的方式置于透明 PVC 底板上，且与 LH 免疫层析检测试纸条并列设置于卡槽上。

[0053] 制备实施例 3

用于 LH 检测的抗体胶体金标记方法为加入 200  $\mu\text{L}$ ，3% 的碳酸钾调节 50 mL 胶体金溶液的 pH；在搅拌条件下逐渐加入 0.15 mL，6.6 mg/mL 待标记抗 LH 抗体于上述胶体金溶液中，混匀，室温静置 30 min；将 12.5 mL 封闭液缓慢加入上述胶体金溶液中，混匀，室温静置

30 min;8000 g 4℃离心 1h,去上清,留疏松沉淀;各管沉淀用 25 mL 洗涤液溶解,6000 g 4℃离心 1h,去上清,留疏松沉淀;各管沉淀用 1.2 mL 洗涤液溶解,转入 1.5 mL 离心管中,4500 g 4℃离心 1h,去上清;所有沉淀用 1 mL 胶体金抗体重悬液重悬,4℃保存。

[0054] 用于 LH 检测的抗体胶体金垫的喷点方法如下:用胶体金抗体重悬液将上述制备的胶体金抗体结合物稀释 4 倍;开启点膜仪的电源,设定喷点程序,喷点量为 8  $\mu$ L/cm;1 号管道为喷点通道;将 1 号管道置于胶体金抗体重悬溶液中,选择初始化程序,初始化 6 个循环;将金标垫按固定位置平放在点膜仪上,按控制面板上“GO”键开始喷点,点完后取下,检查喷点好的金标垫,喷点的胶体金抗体条带均匀、连续和贯通整个金标垫的直线为合格喷点品,两条直线中出现断点为不合格喷点品;每放一片金标垫,按一次控制面板上的“GO”键为喷点一次(一片);喷点结束,将喷点的金标垫置于室温中自然干燥 1 小时,膜上应看不到喷点痕迹。

[0055] 用于 LH 检测的抗体层析膜制备方法如下:取鼠抗人 LH 抗体 500  $\mu$ g,加到 5 mL 刻度离心管中,抗体稀释液至 1 mL,容器标记 T 标志。取羊抗鼠 IgG 抗体 25  $\mu$ L,加到 5 mL 刻度离心管中,抗体稀释液至 1 mL,容器标记 C 标志;开启点膜仪的电源,设定喷点程序,喷点量为 1  $\mu$ L/cm,1 号管道为检测带喷点通道,2 号管道为对照带喷点通道;将 1 号管道置于检测带溶液中,将 2 号管道置于对照带溶液中,选择初始化程序,初始化 6 个循环;将层析膜按固定位置平放在点膜仪上,按控制面板上“GO”键开始喷点,点完后取下,检查喷点好的层析膜,检测带和对照带为两条均匀、连续和贯通整个层析膜的直线为合格喷点品,两条直线中出现断点为不合格喷点品;每放一片层析膜,按一次控制面板上的“GO”键为喷点一次(一片);喷点结束,将喷点的层析膜置于室温中自然干燥 1 个小时,膜上应看不到喷点痕迹。

[0056] 将底板上较宽部分的保护纸除去,沿上面保护纸的下边缘,将划好线的层析膜,以 C 线在上方的方式贴到底板上;将胶体金垫贴在 T 线下方,与 NC 膜少许接触;将样品垫贴在胶体金垫下方,与胶体金垫少许接触;接着除去上方保护纸,将吸水垫贴在 NC 膜的上方,与 NC 膜少许接触;将保护纸及指示带纸逐一贴在组装好的试纸条外面,组装成大卡。接通切割机电源,设定切膜程序,设定切割宽度为 4 mm;将大卡合格品平放入切割机平台轨道中,正面朝上,按操作面板上“GO”键,开始切割;每放一片大卡合格品,按操作面板上“GO”键一次,直至切割完所有大卡合格品。

[0057] pH 试纸,唾液酸酶检测试纸,白细胞酯酶检测试纸,过氧化氢检测试纸和胺试纸的滤纸材料为层析纸和尼龙膜,底板使用的材料为透明 PVC 片。

[0058] pH 试纸制作:将滤纸浸泡在甲基橙浓度为 300 mg/L,溴甲酚绿浓度为 200 mg/L 的溶液中,烘干后使用切割机切成边长为 4 mm 的正方形;

唾液酸酶检测试纸制作:将滤纸浸泡在 5-溴-4-氯-3-吡啶乙酰基神经氨酸盐浓度为 200 mg/L,氯化硝基四氮唑蓝浓度为 400 mg/L,海藻糖浓度为 2000 mg/L, PBS 缓冲液的 pH 值为 6.5,摩尔浓度为 0.01 M 的溶液中,烘干后使用切割机切成边长为 4 mm 的正方形;

白细胞酯酶检测试纸制作:将滤纸浸泡在 5-溴-4-氯-3-吡啶乙酸盐浓度为 300 mg/L,蔗糖浓度为 2000 mg/L 的溶液中,烘干后使用切割机切成边长为 4 mm 的正方形;

过氧化氢检测试纸制作:将滤纸浸泡在过氧化物酶浓度为  $2.0 \times 10^5$  U/L,表面活性剂在溶液中的浓度为 0.2%,TMB 在酶溶液中的浓度为 700 mg/L 的溶液中,烘干后使用切割机切成边长为 4 mm 的正方形;

胺试纸制作：试剂块 A 为将滤纸浸泡在氢氧化钾浓度为 10000 mg/L 的溶液中，烘干；试剂块 B 为将尼龙膜浸泡在溴甲酚绿浓度为 500 mg/L, Triton X-100 为 0.2% 的溶液中，烘干。将试剂块 A 和 B 用双面胶粘合后用切割机切成边长为 4 mm 的正方形；

将切割好的 pH 试纸，唾液酸酶检测试纸，白细胞酯酶检测试纸，过氧化氢检测试纸和胺试纸中任意三种以水平覆盖或内置嵌入的方式置于透明 PVC 底板上，且与 LH 免疫层析检测试纸条分别置于底板的上下表面。

#### [0059] 制备实施例 4

用于 LH 检测的抗体胶体金标记方法为加入 200  $\mu$ L, 3% 的碳酸钾调节 50 mL 胶体金溶液的 pH；在搅拌条件下逐渐加入 0.15 mL, 6.6 mg/mL 待标记抗 LH 抗体于上述胶体金溶液中，混匀，室温静置 30 min；将 12.5 mL 封闭液缓慢加入上述胶体金溶液中，混匀，室温静置 30 min；8000 g 4 $^{\circ}$ C 离心 1h，去上清，留疏松沉淀；各管沉淀用 25 mL 洗涤液溶解，6000 g 4 $^{\circ}$ C 离心 1h，去上清，留疏松沉淀；各管沉淀用 1.2 mL 洗涤液溶解，转入 1.5 mL 离心管中，4500 g 4 $^{\circ}$ C 离心 1h，去上清；所有沉淀用 1 mL 胶体金抗体重悬液重悬，4 $^{\circ}$ C 保存。

[0060] 用于 LH 检测的抗体胶体金垫的喷点方法如下：用胶体金抗体重悬液将上述制备的胶体金抗体结合物稀释 4 倍；开启点膜仪的电源，设定喷点程序，喷点量为 8  $\mu$ L/cm；1 号管道为喷点通道；将 1 号管道置于胶体金抗体重悬溶液中，选择初始化程序，初始化 6 个循环；将金标垫按固定位置平放在点膜仪上，按控制面板上“GO”键开始喷点，点完后取下，检查喷点好的金标垫，喷点的胶体金抗体条带均匀、连续和贯通整个金标垫的直线为合格喷点品，两条直线中出现断点为不合格喷点品；每放一片金标垫，按一次控制面板上的“GO”键为喷点一次（一片）；喷点结束，将喷点的金标垫置于室温中自然干燥 1 小时，膜上应看不到喷点痕迹。

[0061] 用于 LH 检测的抗体层析膜制备方法如下：取鼠抗人 LH 抗体 500  $\mu$ g，加到 5 mL 刻度离心管中，抗体稀释液至 1 mL，容器标记 T 标志。取羊抗鼠 IgG 抗体 25  $\mu$ L，加到 5 mL 刻度离心管中，抗体稀释液至 1 mL，容器标记 C 标志；开启点膜仪的电源，设定喷点程序，喷点量为 1  $\mu$ L/cm，1 号管道为检测带喷点通道，2 号管道为对照带喷点通道；将 1 号管道置于检测带溶液中，将 2 号管道置于对照带溶液中，选择初始化程序，初始化 6 个循环；将层析膜按固定位置平放在点膜仪上，按控制面板上“GO”键开始喷点，点完后取下，检查喷点好的层析膜，检测带和对照带为两条均匀、连续和贯通整个层析膜的直线为合格喷点品，两条直线中出现断点为不合格喷点品；每放一片层析膜，按一次控制面板上的“GO”键为喷点一次（一片）；喷点结束，将喷点的层析膜置于室温中自然干燥 1 个小时，膜上应看不到喷点痕迹。

[0062] 将底板上较宽部分的保护纸除去，沿上面保护纸的下边缘，将划好线的层析膜，以 C 线在上方的方式贴到底板上；将胶体金垫贴在 T 线下方，与 NC 膜少许接触；将样品垫贴在胶体金垫下方，与胶体金垫少许接触；接着除去上方保护纸，将吸水垫贴在 NC 膜的上方，与 NC 膜少许接触；将保护纸及指示带纸逐一贴在组装好的试纸条外面，组装成大卡。接通切割机电源，设定切膜程序，设定切割宽度为 4 mm；将大卡合格品平放入切割机平台轨道中，正面朝上，按操作面板上“GO”键，开始切割；每放一片大卡合格品，按操作面板上“GO”键一次，直至切割完所有大卡合格品。

[0063] pH 试纸，唾液酸酶检测试纸，白细胞酯酶检测试纸，过氧化氢检测试纸和胺试纸的滤纸材料为层析纸和尼龙膜，底板使用的材料为透明 PVC 片。

[0064] pH试纸制作 :将滤纸浸泡在甲基橙浓度为 300 mg/L,溴甲酚绿浓度为 200 mg/L的溶液中,烘干后使用切割机切成边长为 4 mm 的正方形 ;

唾液酸酶检测试纸制作 :将滤纸浸泡在 5- 溴 -4- 氯 -3- 吡啶乙酰基神经氨酸盐浓度为 200 mg/L,氯化硝基四氮唑蓝浓度为 400 mg/L,海藻糖浓度为 2000 mg/L, PBS 缓冲液的 pH 值为 6.5,摩尔浓度为 0.01 M 的溶液中,烘干后使用切割机切成边长为 4 mm 的正方形 ;

白细胞酯酶检测试纸制作 :将滤纸浸泡在 5- 溴 -4- 氯 -3- 吡啶乙酸盐浓度为 300 mg/L,蔗糖浓度为 2000 mg/L 的溶液中,烘干后使用切割机切成边长为 4 mm 的正方形 ;

过氧化氢检测试纸制作 :将滤纸浸泡在过氧化物酶浓度为  $2.0 \times 10^5$  U/L,表面活性剂在溶液中的浓度为 0.2 %,TMB 在酶溶液中的浓度为 700 mg/L 的溶液中,烘干后使用切割机切成边长为 4 mm 的正方形 ;

胺试纸制作 :试剂块 A 为将滤纸浸泡在氢氧化钾浓度为 10000 mg/L 的溶液中,烘干 ;试剂块 B 为将尼龙膜浸泡在溴甲酚绿浓度为 500 mg/L,Triton X-100 为 0.2% 的溶液中,烘干。将试剂块 A 和 B 用双面胶粘合后用切割机切成边长为 4 mm 的正方形 ;

将切割好的 pH 试纸,唾液酸酶检测试纸,白细胞酯酶检测试纸,过氧化氢检测试纸和胺试纸中的任意四种以水平覆盖或内置嵌入的方式置于透明 PVC 底板上,且与 LH 免疫层析检测试纸条并列设置于可拆卸的卡槽上。

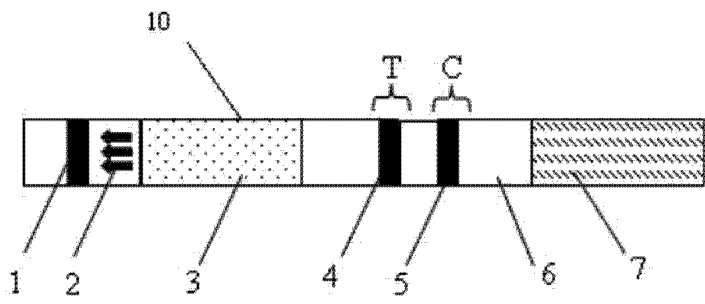


图 1

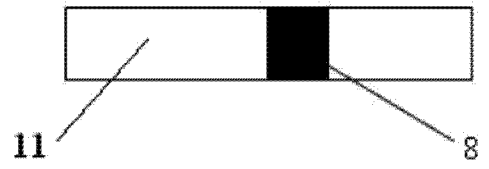


图 2

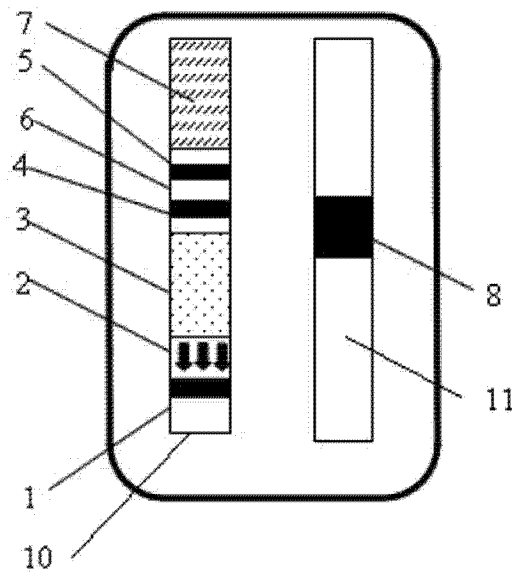


图 3

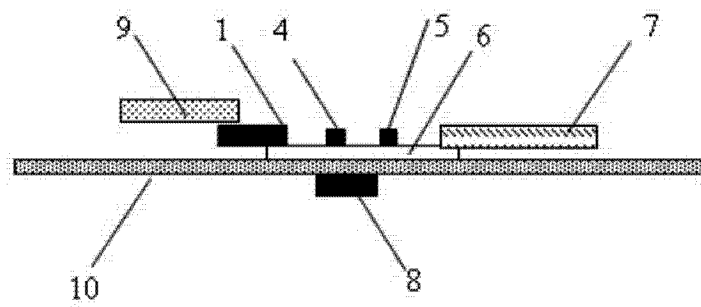


图 4

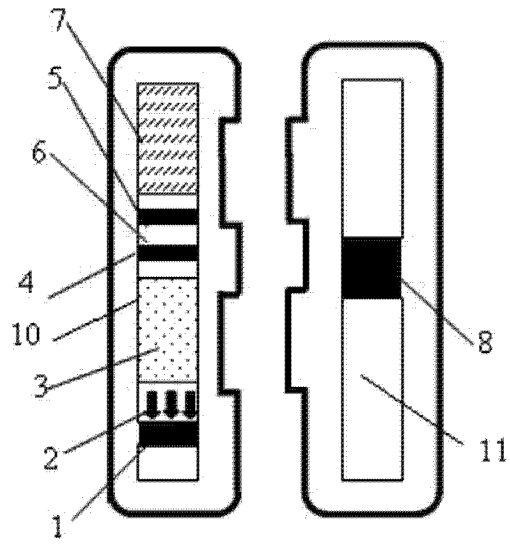


图 5



图 6



图 7



图 8



图 9

|                |  |         |            |
|----------------|--|---------|------------|
| 专利名称(译)        | 一种促黄体生成素和细菌性阴道炎联检试剂盒   |         |            |
| 公开(公告)号        | <a href="#">CN103529206A</a>   | 公开(公告)日 | 2014-01-22 |
| 申请号            | CN201310539534.7   | 申请日     | 2013-11-04 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 无锡博慧斯生物医药科技有限公司  |         |            |
| 申请(专利权)人(译)    | 无锡博慧斯生物医药科技有限公司  |         |            |
| 当前申请(专利权)人(译)  | 无锡博慧斯生物医药科技有限公司  |         |            |
| [标]发明人         | 陆月<br>时振华<br>胡越<br>韦彦余   |         |            |
| 发明人            | 陆月<br>时振华<br>胡越<br>韦彦余   |         |            |
| IPC分类号         | G01N33/569 G01N33/531  |         |            |
| CPC分类号         | G01N33/54386 G01N33/558 G01N33/56911 G01N33/76 G01N2800/36 G01N2800/7095 |         |            |
| 代理人(译)         | 殷红梅  |         |            |
| 其他公开文献         | CN103529206B   |         |            |
| 外部链接           | <a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>                           |         |            |

摘要(译)

本发明涉及一种促黄体生成素和细菌性阴道炎联检试剂盒，特别涉及一种促黄体生成素(LH)和细菌性阴道炎(BV)联检试剂盒，属于检测技术领域。其包括LH免疫层析检测试纸条，以及pH试纸，唾液酸酶检测试纸，白细胞酯酶检测试纸，过氧化氢检测试纸和胺试纸中一种或几种，较佳地，免疫层析检测试纸条的结合垫和层析膜上分别包被相应的免疫标记抗体和检测抗体，LH免疫层析检测试纸条与pH试纸，唾液酸酶检测试纸，白细胞酯酶检测试纸，过氧化氢检测试纸和胺试纸中一种或多种并列设置或置于底板的上下表面，本发明可以通过自我取样，同时检测LH和细菌性阴道炎，其联检结果为优生优育和合理避孕提供有力证据，简单方便，适合大规模推广应用。

