

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>

G01N 33/94

G01N 33/53 C12P 21/08



# [12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 02145333.0

[45] 授权公告日 2005 年 2 月 2 日

[11] 授权公告号 CN 1187618C

[22] 申请日 2002.11.22 [21] 申请号 02145333.0

[71] 专利权人 上海凯创生物技术有限公司

地址 201319 上海市南汇区川周公路 2728 号

[72] 发明人 刘 剑

审查员 刘 铭

[74] 专利代理机构 上海浦东良风专利代理有限责  
任公司

代理人 陈志良

权利要求书 1 页 说明书 11 页

[54] 发明名称 一种快速检测甲基安非他明的试剂盒及其制备工艺

[57] 摘要

本发明涉及一种利用抗甲基安非他明单克隆抗体及胶体金免疫层析技术检测甲基安非他明试剂盒及其制备工艺，试剂盒包括试剂条和外包装盒，试剂条从加样端开始依次由滤样纸、胶体金纸片、含有检测区和质控区的硝酸纤维素膜、吸水纸组成，其特征在于：所述滤样纸处理溶液的配方为：Br-ij：0.05~3%；Triton X-100：0.01~2%；牛血清白蛋白：0.5~3%；氯化钠 NaCl：3~9%；纯水：90~97%；磷酸钠缓冲液：0.01~0.03mmol/l；制备工艺特征在于：所述胶体金纸片和硝酸纤维素膜采用真空干燥工艺，温度在 15℃~25℃；真空干燥时间 2~5 小时，干燥时真空容器里的大气压应小于 0.1mba。本发明的产品具有灵敏度高，特异性强，重复性好，精确度高，操作过程简单，无须复杂设备，检测速度快、准确。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

- 1、一种检测甲基安非他明试剂盒，包括试剂条和外包装盒，试剂条从加样端开始依次由滤样纸、胶体金纸片、含有检测区和质控区的硝酸纤维素膜、吸水纸组成，所述滤样纸处理溶液中含有重量配方比为：屈立通 X-100 0.01~2%、牛血清白蛋白 0.5~3%、氯化钠 3~9%、PH值为 7.2 的磷酸钠缓冲液浓度 0.01~0.03mmol/l，其特征在于：配方中还含有布里杰 0.05~3%。
- 2、根据权利要求1所述的检测甲基安非他明试剂盒，其特征在于：滤样纸处理溶液的配方比中其余为纯水。
- 3、一种由权利要求1或2检测甲基安非他明试剂盒的制备工艺，包括试剂条和外包装盒，试剂条从加样端开始依次由滤样纸、胶体金纸片、含有检测区和质控区的硝酸纤维素膜、吸水纸组成，其特征在于：所述滤样纸先用滤样纸处理溶液进行浸渍处理，然后对试剂条采用真空干燥工艺，温度在 15℃~25℃；真空干燥时间 2~5 小时，干燥时真空容器里的大气压应小于0.1mba。
- 4、根据权利要求3所述的检测甲基安非他明试剂盒的制备工艺，其特征在于：所述滤样纸处理溶液重量配方比为：屈立通 X-100 0.01~2%、牛血清白蛋白 0.5~3%、氯化钠 3~9%、布里杰 0.05~3%、PH值为 7.2 的磷酸钠缓冲液浓度 0.01~0.03mmol/l，其余为纯水。

## 一种检测甲基安非他明的试剂盒及其制备工艺

### 一、技术领域：

本发明涉及利用抗甲基安非他明单克隆抗体及胶体金免疫层析技术制作的一种检测试剂盒，以及用本试剂盒来检测人体尿液中的甲基安非他明的方法。属于医学检验用品领域。

### 二、背景技术：

甲基安非他明（Methamphetamine，又称甲基苯丙胺，去氧麻黄素，俗称“冰毒”），是一种拟交感神经兴奋作用的治疗药物。属于中枢神经兴奋剂，也是国际和我国严格管制的精神药品，为 $\alpha$ 和 $\beta$ 受体兴奋剂。急性较高浓度服用后会致中枢神经系统的兴奋增强，产生异常欣快感，敏感性增高，心跳及呼吸加快，并自觉精力充沛。长期或大量服用者会产生耐受性和躯体依赖性，并导致滥用。进一步的中毒反应可产生焦虑，偏执妄想，精神变态和心功能异常。中毒时出现的典型精神症状可能与精神分裂症不易区分。

甲基安非他明通常以安非他明衍生物等形式从体内排出，但是仍有40%左右的以原药形式从尿液中排泄出来。因此，尿中出现这些相关的化合物表明曾经使用过甲基安非他明。

80年代初，国际毒潮进一步泛滥，曾经彻底灭绝“毒”害数十年的中国也再一次受到毒品的侵袭。据有关的资料表明，我国登记在册的毒品滥用者至2001年底已经达到近100万人。而社会上实际的毒品滥用者还要远远多于这个数字。近些年来，由于甲基安非他明（即甲基苯丙胺，俗称“冰毒”）原料合成较方便，吸食甲基安非他明的人数每年在快速增加。特别是上个世纪90年代后期，大量的吸毒者从传统的吸食大麻、海洛因（吗啡类）等毒品转而吸食毒性更猛烈、药力作用时间更长的甲基安非他明。近几年来在我国大城市的一些迪厅等娱乐场所大量使用的“摇头丸”也常常含有甲基安非他明成分。初始滥用时可使精神亢奋，运动量明显增加，可诱发暴力行为和刑事犯罪。长期滥用可造成精神失常，易怒，行为失控甚至发生自杀和伤人行为。

随着甲基安非他明滥用的日益严重，一种准确、方便、快速的检测方法对有关部门禁毒查毒是非常必须的。传统的甲基安非他明的检测方法有色谱法（如GC/MS法）和免疫法（车宗伶，质谱法测定冰毒，分析测试学报，1997.（16）：45；Rasmussen S, et al.

Methamphetamine in antomortem blood and urine by radioimmunoassay and GC/MS. J Anal Toxi, 1989, 13: 263-267）色谱法是通用的精确定量、定性分析法，但设备昂贵、操作烦琐、耗时长、不适合于处理批量样品。免疫法主要有放射免疫法、酶联免疫法、荧光免疫法等，但也有类似的缺陷。用色谱法和免疫法检测毒品的成本高、不方便、时间长，特别是对第

一线公安人员的查毒禁毒以及小城市的禁毒戒毒机构的监测工作带来很大的困难。

国内外均有相关的类似检测方法文献报道(美国专利5,026,827.使用N-(4-胺丁基)苯丙胺与蛋白质的结合物产生能与结甲基苯丙胺结合的抗体; Kuroiwa,Forensic Science International 44:245-455,1990; 中国专利96120324.2,对甲基苯丙胺具有特异性的单克隆抗体,产生该抗体之杂交瘤,含此抗体之试剂盒及其用途),但是因为免疫反应在免疫动物的个体差异、抗原位点(抗原决定族)的多样性以及免疫应答的多样性等方面的因素,决定了生产的抗体的特异性、效价(比活性)均有差异。本发明提供了一种从尿液中检测甲基安非他明的试剂盒及其制作方法,使得本发明在稳定性和精确性等方面都有很大的进步,本发明的试剂盒较之已有的相关技术有明显的先进性。

### 三、发明内容:

本发明的目的是克服现有的方法在准确性、实用性等技术上的缺陷,利用抗基安非他明单克隆抗体及胶体金免疫层析技术制作一种检测试剂盒。

本发明的原理是:

采用免疫竞争抑制法检测尿中甲基安非他命的存在,即蛋白标记(牛血清白蛋白、牛甲状腺球蛋白、卵清蛋白)的甲基安非他明(甲基安非他明载体)同尿液中存在的甲基安非他明竞争有限的抗体结合位点。在试剂盒内放置一条检测试纸条,试纸条由四部分组成,依次是:滤样纸、胶体金标记的甲基安非他命抗体玻璃纤维、在T线区域(检测区)包被了甲基安非他明-BSA和在C线区域(质控区)包被了羊抗鼠抗体的硝酸纤维素膜、吸水纸。当病人尿液样品滴加到滤样纸上后,尿液将因毛细管作用向吸水纸端层析,如果尿液中无甲基安非他明,标记了抗甲基安非他命抗体的胶体金颗粒将随同尿样溶液运行至膜上T线位置后,与T线包被好的甲基安非他命载体结合物发生免疫结合反应,胶体金颗粒在T线位置的堆积使得在T线呈现出一肉眼可见的粉红色线条,此为阴性结果。如果尿液中含有甲基安非他明,它们将和T线位置包被的甲基安非他明-BSA竞争有限的抗体结合位点,当病人尿液中的甲基安非他明浓度达到一定量时,它将占据胶体金颗粒上标记的所有抗体结合位点,因而阻止了T线位置上的甲基安非他明载体与其抗体胶体金的结合,这样,T线区无线条出现,表示结果阳性。

本发明是这样实现的:包括试剂条和外包装盒,试剂条从加样端开始依次由滤样纸、胶体金纸片、含有检测区和质控区的硝酸纤维素膜、吸水纸组成,所述滤样纸处理溶液中含有重量配方比为:表面活性剂屈立通 X-100 0.01~2%、牛血清白蛋白 0.5~3%、氯化钠 3~9%、PH值为 7.2 的磷酸钠缓冲液浓度 0.01~0.03mmol/l,其特征在于:配方中还含有去污剂布里杰 0.05~3%,其余为纯水。一种检测甲基安非他明试剂盒的制备工艺,包括试剂条和外包装盒,试剂条从加样端开始依次由滤样纸、胶体金纸片、含有检测区和质控

区的硝酸纤维素膜、吸水纸组成，其特征在于：所述滤样纸先用滤样纸处理溶液进行浸渍处理，然后对试剂条采用真空干燥工艺，温度在 15℃~25℃；真空干燥时间 2~5 小时，干燥时真空容器里的大气压应小于0.1mba。

本发明对甲基安非他明的检测仅需5-8分钟，检测灵敏度可达到800ng/ml。本发明在对域值（CUTOFF值）设置上非常重要，灵敏度太高容易引起正常合理用药也检测为阳性，灵敏度太底则会造成漏检，而本发明通过单克隆抗体的发明和工艺的创新，发明了一个最适合临床需要的灵敏度（域值）的试剂盒的制备方法。经过对40多种常用的滥用药物和分子结构类似药物以及常用普通药物的交叉反应实验研究表明，本发明对这些物质均无交叉反应，特异性强。

本发明产品的性能指标情况是：

#### 1) 灵敏度高

本发明检测尿液中甲基安非他命的存在，检出阈值为800ng/ml。将本发明与GC/MS实验进行比较发现：

A. 检测120例健康志愿人员尿样，两者均为阴性（100%符合）。

B. 55份取自临床实验室的尿样，经GC/MS确认，其尿中甲基安非他命的浓度自1250~100,000ng/ml不等，本发明检测均给予阳性结果。

#### 2) 重复性好

本发明经在三个不同地区检测，其中60份样品为500ng/ml，均检测阴性；60份样品甲基安非他命浓度为2,000ng/ml，均检测阳性。

#### 3) 精确度高

用配制的标准品进行精密度检测如下，500ng/ml均给予阴性结果；1500ng/ml均给予阳性结果。

甲基安非他命浓度	检测数量	阳性	阴性	临界	符合率
500ng/ml	40	0	0	0	100%
700 ng/ml	40	0	39	1	97.5%
1000ng/ml	40	39	0	1	97.5%
1500 ng/ml	40	40	0	0	100%

#### 4) 特异性强

本发明检测试剂盒对不同的药物、药物代谢物和其他可能在尿液中出现的化合物进行了测试，结果如下：

A. 下列结构类似的化合物在小于如下浓度时为均阴性结果。

化合物	浓度 (ng/ml)
D-安非他明D-Amphetamine	50,000
氯喹Chloroquine	50,000
+/-麻黄碱素 (+/-)-Ephedrine	50,000
(+) -甲基安非他明, (+) -脱氯麻黄碱 (+) -Methamphetamine	1,000
(-) -Methamphetamine ((-) -甲基安非他明, (-) -脱氯麻黄碱)	25,000
(+/-) -3,4-亚甲二氧基安非他明 (+/-) -3,4-methylenedioxyamphetamine	2,000
普鲁卡因Procaine	10,000
$\beta$ -苯乙胺 $\beta$ -Phenylethylamine	50,000
雷尼替丁Ranitidine	50,000

B. 下列结构类似的化合物在大于或等于如下浓度时可能产生阳性结果。下列化合物在浓度等于或低于 100  $\mu\text{g/ml}$  时结果为阴性。

化合物	浓度 ( $\mu\text{g/ml}$ )
扑热息痛Acetaminophen	100
氢可酮, 二氢可待因酮Hydrocodone	100
白蛋白, 清蛋白Albumin	100
阿米替林Amitriptyline	100
L-安非他明L-amphetamine	100
氨苄青霉素Ampicillin	100
阿司帕坦, 天冬甜素Aspartame	100
天冬氨酰, 苯丙氨酸甲酯Asparton	100
阿司匹林Aspirin	100
阿托品Atropine	100
氨基苯甲酸乙酯Benzocaine	100
胆红素Bilirubin	100
苯甲酰爱康宁, 苯酰牙子碱Bengoylecgonine	100
溴苯那敏, 溴苯吡胺(+)-Brompheniramine	100

咖啡因Caffeine	100
马来那敏, 扑尔敏Chlorphenamine maleate	100
氯苯那敏, 右旋氯苯吡胺Chlorpheniramine	100
肌酸, 甲胍基乙酸Creatine	100
右溴苯那敏Dexbrompheniramine	100
(右旋) 美沙芬Dextromethorphan	100
地西洋, 安定Diazepam	100
4-二甲氨基安替比林(二甲基苯基吡唑酮) 4-Dimethylaminoantipyrine	100
多巴胺Dopamine	100
多西拉敏Doxylamine	100
牙子碱Ecgonine	100
芽子碱甲基Ecgonine Methylester	100
麻黄(碱)素Ephedrine	100
肾上腺素Epinephrine	100
红霉素Erythromycin	100
乙醇Ethanol	100
葡萄糖Glucose	100
愈创木酚甘油醚Guaiacol Glyceryl Ether	100
血红蛋白Hemoglobin	100
丙酮Acetone	100
丙咪嗪Imipramine	100
异丙肾上腺素Isoproterenol	100
利多卡因Lidocaine	100
羟考酮; 14-羟基二氧可待因酮Oxycodone	100
哌甲酯, 利他灵Methylphenidate	100
N-甲基麻黄素N-Methyl-Ephedrine	100
哌替啶, 杜冷丁Meperidine	100
苯福林L-Phenylephrine	100
降麻黄碱, 去甲麻黄碱Norephedrine	100

萘普生Naproxen	100
吗啡Morphine	100
草酸Oxalic acid	100
奥沙西洋, 氯羟氧二氮卓Oxazepam	100
美沙酮, 美散痛Methadone	100
青霉素-G Penicillin-G	100
维生素B2Riboflavin	100
吩噻嗪Phenothiazine	100
(+/-)-3,4 亚 甲 二 氧 基 安 非 他 命 (+/-)-3,4-melhylenedioxyamphetamine	100
苯乙胺 $\beta$ -Phenylepylamine	100
普鲁卡因Procaine	100
喹尼丁Quinidine	100
(苯拉明) 抗感明, 非尼拉敏Pheniramine	100
苏灵大Sulindac	100
酪胺Tyramine	100
维生素C Vitamin C	100

本发明的一个方面, 提供了一种抗甲基安非他明单克隆抗体细胞株的制备方法, 以及抗甲基安非他明单克隆抗体纯化制备, 内容包括:

- 1) 甲基安非他明-BSA (牛血清白蛋白) 以及甲基安非他明- BTG (牛甲状腺球蛋白) 交联体的制备;

当外界抗原进入体内后, 人体免疫系统就会对进入的抗原如细菌、病毒、异己大蛋白等产生免疫反应, 并产生特异性的抗体, 以保护机体不被感染。当抗原分子很小, 甚至是化合物时, 则本身不能刺激免疫系统产生抗体, 也就不能形成抗原-抗体反应。我们需要检测的毒品就是不同形式的化合物。要建立毒品的免疫学检测方法, 首先就要得到特异性的毒品抗体, 并且能建立抗原-抗体的反应系统。由于毒品本身是分子量很小的化合物, 本身并不能刺激免疫系统产生抗体, 因此, 需要将毒品与大蛋白质分子联接起来, 形成蛋白交联体, 同时保留毒品结构的特性, 这样可以形成完整抗原结构, 完成免疫反应。

最常用的交联物为大分子蛋白质。其中包括牛血清白蛋白 (BSA), 牛甲状腺球蛋白

(BTG), 卵清蛋白(OB)等。我们应用BSA交联体做为免疫原, 制备单克隆抗体, 同时用BTG进行单抗筛选, 并组装试剂条。

A. 主要材料:

甲基安非他明M-AMP;

BSA和BTG;

MES;

NaCl;

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>和NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ;

EDC;

以上均为市售产品。

B. 方法:

①配置MES-NaCl缓冲液, 将BSA或BTG溶于该缓冲液, 浓度为10-20mg/ml。

②用上述缓冲溶液: 配制5-8mg/ml甲基安非他明溶液。

③用EDC交联BSA或BTG和甲基安非他明, 用PB透析, 除去游离甲基安非他明。

2) 用纯化甲基安非他明-BSA免疫BALB/C小鼠;

3) 用免疫小鼠的脾细胞和小鼠骨髓瘤细胞进行融合, 用纯化后的甲基安非他明- BTG进行单抗筛选, 通过细胞克隆化后得到杂交瘤细胞;

4) 用小鼠腹水体内培养杂交瘤的方法, 纯化制备抗甲基安非他明单克隆抗体。

本发明的另一个方面, 提供了利用上述抗甲基安非他明单克隆抗体的胶体金一步法检测甲基安非他明的试剂盒以及方法。

本发明的又一个方面, 提供了一种新的胶体金一步法检测试剂盒的生产工艺。

生产工艺对试剂盒的稳定性有很大的影响, 文献报道的生产工艺硝酸纤维素膜包被抗原或抗体后以及胶体金标记玻璃纤维纸均用恒温恒湿干燥, 本工艺采用真空干燥, 1) 温度在15-25℃; 2) 真空干燥时间2-5小时; 3) 干燥时真空容器里的大气压应小于0.1毫巴(mba)。该工艺确保了试剂盒的均一性和更好的稳定性, 试剂盒能够在常温下稳定保存2年以上。

本发明的还一个方面, 为了改进试剂盒的性能特点, 保证试剂盒的进步性, 本发明还在配方上进行了创新。

试剂盒制备: 制备本发明检测尿液中甲基安非他命的存在的试剂盒, 主要的抗体抗原材料为本发明人自制的基安非他明单克隆抗体和甲基安非他明的BSA交联物

(MAMP-BSA)。制备的过程如下：

1. 胶体金的制备：用柠檬酸三钠还原法制备胶体金。
2. 免疫胶体金制备：用0.2M的碳酸钾或0.1M盐酸调节胶体金溶液的PH至选定值，将适量体积的合适浓度的抗M-AMP单抗与胶体金溶液快速混合标记。通过离心纯化免疫胶体金标记物。
3. 甲基安非他明（M-AMP）检测试剂盒制备

1) 主要材料

- ①甲基安非他明-BSA复合物（M-AMP-BSA）
- ②抗M-AMP单克隆抗体
- ③羊抗鼠IgG抗体
- ④硝酸纤维膜
- ⑤免疫胶体金溶液
- ⑥塑料盒（由上、下盖组成）
- ⑦吸水纸
- ⑧胶板

2) 制备

用抗M-AMP单克隆抗体配置T线溶液，羊抗鼠IgG抗体配置C线溶液，然后把它们分别点到硝酸纤维素膜上的T线、C线区域；把调配好适当浓度的免疫胶体金溶液点到玻璃纤维上；再与吸水纸组合粘贴到胶板上成试纸条，把试纸条组装到塑料盒中，放真空泵里真空干燥后密封即为试剂盒。

1. 试剂盒的组成：

本发明主要由两大部分组成：试剂条和外包装盒

检测试剂条为整个发明的核心部分，从加样端开始依次是：滤样纸、胶体金纸片、在T线区域（检测区）包被了甲基安非他明-BSA和在C线区域（质控区）包被了羊抗鼠抗体的硝酸纤维素膜、吸水纸四个部分。这四个部分均依次粘贴到一块不干胶的胶板上，然后切割成宽4.5mm,长80mm的条子，装入设计好的塑料盒里。本组件的特征是：滤样纸使用了使用了本发明的特殊封闭试剂配方；硝酸纤维素膜上的T、C线区分别包被了甲基安非他明-BSA复合物（M-AMP-BSA）、羊抗鼠IgG抗体。

本发明操作过程简单，无须复杂的设备，检测速度非常快、准确性高。结果判断一目了然。

## 2. 滤样纸处理溶液配方比:

硝酸纤维素膜本身特性是疏水的,水分之所以能层析进入硝酸纤维素膜是由于膜内间质水分存在的缘故。膜疏水非常重要,比如被检测物是疏水性的,它与膜的非特异性作用导致膜明显的非特异性标记;膜内间质水分的失去会导致长期贮存和困难;重湿润速率和层析速率可能太低而影响快速分析的效果。因此膜的疏水性是试剂盒制备需要解决的关键技术难点之一,为了减少或消除这些问题,本发明选择使用封闭试剂处理滤样纸来解决,它可以在实验时确保一个最佳的有助于让系统确保产品的稳定性和可重复性的特点。它可以明显地降低非特异性背景斑点的水平。而且当用样品进行分析测试时能使膜保持平均一致的重湿润特性。但是,疏水的非特异性吸附和抗原抗体的特异性反应往往是相互排斥的。例如:若封闭试剂降低非特异性的相互作用,它通常也将降低特异性结合的量。本发明使用如下的配方就很好的解决了这个技术难点,与现有的技术方法相比较,明显克服了由于非特异性反应引起假阳性结果的现象,因此,本发明明显提高了检测的准确性。

滤样纸处理溶液的配方比

No.	名称	含量
No.1	Brij	0.05 - 3%
No.2	Triton X-100	0.01-2%
No.3	牛血清白蛋白 (BSA)	0.5-3%
No.4	氯化钠NaCl	3-9%
No.5	纯水	90-97%
No.6	磷酸钠(PB)缓冲液	0.01-0.03mmol/l

## 3. 检测试剂条的干燥工艺

生产工艺对试剂盒的稳定性有很大的影响,试剂盒的稳定性主要取决于抗原抗体的稳定性,而关键因素就在于硝酸纤维素膜和胶体金标记玻璃纤维纸的干燥程度和干燥的均一性,文献报道的生产工艺硝酸纤维素膜包被抗原或抗体后以及胶体金标记玻璃纤维纸均用恒温恒湿干燥,本工艺采用的真空干燥工艺特征:

- i. 温度在15-25℃;
- ii. 真空干燥时间2-5小时;
- iii. 干燥时真空容器里的大气压应小于0.1毫巴 (mba)。

该工艺确保了试剂盒的均一性和更好的稳定性,国外文献报道的同类发明的常温有效期都在1年半以下,而本发明在常温下稳定保存2年以上。

#### 四、具体实施方式:

##### 实施例1:

从尿液中检测甲基安非他明的试剂盒及其制作:

- 1、检测试剂条的制作
- 2、使用的滤样纸处理溶液的配方

No.	名称	含量
No.1	Brij	0.05%
No.2	Triton X-100	0.01%
No.3	牛血清白蛋白 (BSA)	0.5%
No.4	氯化钠NaCl	3%
No.5	纯水	90%
No.6	磷酸钠(PB)缓冲液	0.01mmol/l

- 3、试剂条的制作及各种试剂的添加

#### 4、检测试剂条的干燥工艺

- a) 温度在15℃;
- b) 真空干燥时间5小时;
- c) 干燥时真空容器里的大气压0.05毫巴(mba)。

#### 5、检测试剂盒的封装及其使用

本发明的塑料盒的使用,使得检测的操作过程更加方便:

- i. 用吸管取尿样约0.2ml,然后全部滴入加样孔。
- ii. 在滴加样品后5分钟读结果。
- iii. 观察窗口出现两条色带,表示样品中无毒品存在,为阴性结果;观察窗口只在C线区出现色带,表示样品中有毒品存在,为阳性结果。

##### 实施例2:

从尿液中检测甲基安非他明的试剂盒及其制作:

- 1、检测试剂条的制作
- 2、使用的滤样纸处理溶液的配方

No.	名称	含量
No.1	Brij	3%
No.2	Triton X-100	2%
No.3	牛血清白蛋白 (BSA)	3%
No.4	氯化钠NaCl	9%
No.5	纯水	97%
No.6	磷酸钠(PB)缓冲液	0.01mmol/l

### 3、试剂条的制作及各种试剂的添加

### 4、测试剂条的干燥工艺

- a) 温度在25℃;
- b) 真空干燥时间2小时;
- c) 干燥时真空容器里的大气压0.01毫巴(mba)。

### 5、测试剂盒的封装及其使用

本发明的塑料盒的使用,使得检测的操作过程更加方便:

- i. 用吸管取尿样约0.2ml,然后全部滴入加样孔。
- ii. 在滴加样品后5分钟读结果。
- iii. 观察窗口出现两条色带,表示样品中无毒品存在,为阴性结果;观察窗口只在C线区出现色带,表示样品中有毒品存在,为阳性结果。

专利名称(译)	一种快速检测甲基安非他明的试剂盒及其制备工艺		
公开(公告)号	<a href="#">CN1187618C</a>	公开(公告)日	2005-02-02
申请号	CN02145333.0	申请日	2002-11-22
[标]申请(专利权)人(译)	上海凯创生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	上海凯创生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	上海凯创生物技术有限公司		
[标]发明人	刘剑		
发明人	刘剑		
IPC分类号	C12P21/08 G01N33/53 G01N33/531 G01N33/543 G01N33/558 G01N33/577 G01N33/94		
代理人(译)	陈志良		
其他公开文献	CN1410770A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及一种利用抗甲基安非他明单克隆抗体及胶体金免疫层析技术检测甲基安非他明试剂盒及其制备工艺，试剂盒包括试剂条和外包装盒，试剂条从加样端开始依次由滤样纸、胶体金纸片、含有检测区和质控区的硝酸纤维素膜、吸水纸组成，其特征在于：所述滤样纸处理溶液的配方为：Brij：0.05~3%；Triton X-100：0.01~2%；牛血清白蛋白：0.5~3%；氯化钠NaCl：3~9%；纯水：90~97%；磷酸钠缓冲液：0.01~0.03mmol/l；制备工艺特征在于：所述胶体金纸片和硝酸纤维素膜采用真空干燥工艺，温度在15°C~25°C；真空干燥时间2~5小时，干燥时真空容器里的大气压应小于0.1mba。本发明的产品具有灵敏度高，特异性强，重复性好，精确度高，操作过程简单，无须复杂设备，检测速度快、准确。

甲基安非他命浓度	检测数量	阳性	阴性	临界	符合率
500ng/ml	40	0	0	0	100%
700 ng/ml	40	0	39	1	97.5%
1000ng/ml	40	39	0	1	97.5%
1500 ng/ml	40	40	0	0	100%