



(12)发明专利申请



(10)申请公布号 CN 107942075 A

(43)申请公布日 2018.04.20

(21)申请号 201711180761.X

G01N 33/577(2006.01)

(22)申请日 2017.11.23

(71)申请人 中山市创艺生化工程有限公司

地址 528400 广东省中山市火炬开发区国家健康基地康泰路8号

(72)发明人 何平 梁婷婷 李冰 陈润文  
周琼华

(74)专利代理机构 广州嘉权专利商标事务所有  
限公司 44205

代理人 舒胜英

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

权利要求书1页 说明书8页 附图2页

(54)发明名称

一种检测肌钙蛋白I免疫荧光定量试纸条

(57)摘要

本发明公开了一种检测肌钙蛋白I免疫荧光定量试纸条。本发明样品垫预处理液搭配本发明包被液制备的肌钙蛋白I免疫荧光定量试纸条精密度好,37℃加速七天后,检测效果仅下降5%以内;检测值与理论值偏差小( $R^2=0.9998$ ),检测的准确率高;检测结果的出峰效果较好,出峰信号高,基线平整,前段几乎无抬起,不影响软件对峰面积的计算,读值准确度高;荧光微球释放效果更好,软件计算面积更加准确有关。适合临床上检测,具有很好的临床指导意义,具有操作简便、反应快速、灵敏度高、特异性强、适合现场检测和经济实用等优点。

1. 一种检测肌钙蛋白I免疫荧光定量试纸条,其特征在于,该试纸条中的样品垫耗材是玻璃纤维素膜,经过样品垫预处理液浸泡,烘干所得;该试纸条中的硝酸纤维素膜上划有检测线和质控线,分别包被液稀释的肌钙蛋白I单克隆抗体和羊抗鼠IgG多克隆抗体。

2. 根据权利要求1所述的试纸条,其特征在于,所述的样品垫预处理液配方为:PBS的质量浓度是10~200mM、Triton X-100的百分浓度是0.01%~10%、BSA的百分浓度是0.1%~8%、PVA的百分浓度是0.01%~4%、NaCl的百分浓度是0.01%~5%、葡聚糖的百分浓度是0.01%~5%、异嗜性抗体的质量浓度0~20mg/ml、ProcIn300或叠氮钠的百分浓度为0.01%~1.5%,余量为水,pH6.0~10.0。

3. 根据权利要求1所述的试纸条,其特征在于,所述的包被液配方为:PB的质量浓度为5~100mM、异丙醇的百分浓度为0%~3.8%、葡聚糖2万的百分浓度为0.05%~5%,BSA的百分浓度为0.1%~10%、ProcIn300或叠氮钠的百分浓度为0.01%~1.5%,余量为水,pH6.0~9.0。

4. 根据权利要求2所述的试纸条,其特征在于,样品垫预处理液配方为:PBS的质量浓度是25~150mM、Triton X-100的百分浓度是0.01%~3%、BSA的百分浓度是0.1%~3%、PVA的百分浓度是0.01%~2%、NaCl的百分浓度是0.01%~2%、葡聚糖的百分浓度是0.01%~2%、异嗜性抗体的质量浓度0~6mg/ml、ProcIn300或叠氮钠的百分浓度为0.01%~1.5%,余量为水,pH7.0~9.0。

5. 根据权利要求3所述的试纸条,其特征在于:包被液配方为:PB的质量浓度为5~50mM、异丙醇的百分浓度为0%~1.9%、葡聚糖2万的百分浓度为0.05%~2%,BSA的百分浓度为0.1%~3%、ProcIn300或叠氮钠的百分浓度为0.01%~0.5%,余量为水,pH7.0~9.0。

6. 根据权利要求1所述的试纸条,其特征在于,该试纸条中还含有结合垫和吸水滤纸。

7. 根据权利要求6所述的试纸条,其特征在于,该试纸条由样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸水滤纸依次搭接地粘贴在PVC底板上制得。

8. 根据权利要求7所述的试纸条,其特征在于,所述结合垫的材质为玻璃纤维膜。

9. 权利要求1~8任一项所述的试纸条的检测方法,其特征在于,将该试纸条加样层析后,检测质控线和检测线的荧光信号强度,并以质控线荧光信号强度校正检测线的荧光信号强度,实现肌钙蛋白I的定量检测。

## 一种检测肌钙蛋白I免疫荧光定量试纸条

### 技术领域

[0001] 本发明免疫学检测领域,更具体地涉及一种检测肌钙蛋白I免疫荧光定量试纸条。

### 背景技术

[0002] 肌钙蛋白(troponin,Tn)是与心肌收缩有关的调节蛋白,调节心肌的收缩和舒张。已知肌钙蛋白是包含3种蛋白:肌钙蛋白I(tropomyosin inhibitory component,TnI)、肌钙蛋白T(tropomyosin-binding component,TnT)、肌钙蛋白C(calininbinding component,TnC)的肌原纤维蛋白复合体,通过肌球蛋白和肌动蛋白的相互作用,有助于对钙离子所致的肌肉收缩进行调节。TnI分子量为21kD,是肌原纤维ATP酶的抑制性亚单位,它可抑制肌球蛋白与肌动蛋白的偶联,松弛骨骼肌或心肌。TnT分子量为37kD,是与原肌球蛋白结合的亚单位,它将肌钙蛋白C和肌钙蛋白I连接到肌动蛋白和原肌蛋白上,从而在肌纤维收缩和舒展工程中发挥中介作用。3个亚单位结合与原肌球蛋白一起构成Tm-Tn复合体,调节肌肉收缩和舒张的力量和速度。

[0003] 目前,肌钙蛋白的检测在心肌缺血损伤的临床诊断和预后判断中的应用非常广泛。如急性冠状动脉综合症(包括隐性心绞痛和不稳定心绞痛,急性心肌梗死等)、心肌炎、心肌创伤、围手术期心脏并发症、脓毒血症导致的左心衰竭等等。此外还可用于溶栓治疗效果观察,心肌损伤面积的估计,心脏移植后排异反应观察,某些药物疗效观察等。因此开发灵敏度更高、快捷方便的心肌肌钙蛋白测量产品,仍是临床诊断产品研究领域亟需解决的重要问题。

[0004] 荧光免疫层析定量检测技术是免疫层析技术和荧光标记技术的结合,其具有检测仪器精巧轻便、操作简单迅速、结果精准等优点,被广泛应用于多类抗原物质的检测。其中,抗体-荧光微球偶联物实施荧光免疫层析定量检测的关键分子之一,其稳定性关乎抗原荧光定量检测的准确度及其产品的保存期。因此,对结合抗体-荧光微球偶联物的NC膜特性的要求很高。另外承载样品的样品垫对样品的检测也是至关重要的,因此寻找一种助稳性能更好、能提高检测准确度的样品垫预处理液和用于NC膜的包被液对检测肌钙蛋白I非常具有现实意义。

### 发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种检测肌钙蛋白I免疫荧光定量试纸条。

[0006] 本发明所采取的技术方案是:

[0007] 一种检测肌钙蛋白I免疫荧光定量试纸条,该试纸条中的样品垫耗材是玻璃纤维素膜,经过样品垫预处理液浸泡,烘干所得;该试纸条中的硝酸纤维素膜上划有检测线和质控线,分别包被液稀释的肌钙蛋白I单克隆抗体和羊抗鼠IgG多克隆抗体。

[0008] 进一步的,所述的样品垫预处理液配方为:PBS的质量浓度是10~200mM、Triton X-100的百分浓度是0.01%~10%、BSA的百分浓度是0.1%~8%、PVA的百分浓度是0.01%~4%、NaCl的百分浓度是0.01%~5%、葡聚糖的百分浓度是0.01%~5%、异嗜性抗体的

质量浓度0~20mg/mL、ProcIn300或叠氮钠的百分浓度为0.01%~1.5%，余量为水，pH6.0~10.0。

[0009] 进一步的，所述的包被液配方为：PB的质量浓度为5~100mM、异丙醇的百分浓度为0%~3.8%、葡聚糖2万的百分浓度为0.05%~5%，BSA的百分浓度为0.1%~10%、ProcIn300或叠氮钠的百分浓度为0.01%~1.5%，余量为水，pH6.0~9.0。

[0010] 进一步的，样品垫预处理液配方为：PBS的质量浓度是25~150mM、Triton X-100的百分浓度是0.01%~3%、BSA的百分浓度是0.1%~3%、PVA的百分浓度是0.01%~2%、NaCl的百分浓度是0.01%~2%、葡聚糖的百分浓度是0.01%~2%、异嗜性抗体的质量浓度0~6mg/mL、ProcIn300或叠氮钠的百分浓度为0.01%~1.5%，余量为水，pH7.0~9.0。

[0011] 进一步的，包被液配方为：PB的质量浓度为5~50mM、异丙醇的百分浓度为0%~1.9%、葡聚糖2万的百分浓度为0.05%~2%，BSA的百分浓度为0.1%~3%、ProcIn300或叠氮钠的百分浓度为0.01%~0.5%，余量为水，pH7.0~9.0。

[0012] 进一步的，该试纸条中还含有结合垫和吸水滤纸。

[0013] 进一步的，该试纸条由样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸水滤纸依次搭接地粘贴在PVC底板上制得。

[0014] 进一步的，所述结合垫的材质为玻璃纤维膜。

[0015] 上述任一项所述的试纸条的检测方法，将该试纸条加样层析后，检测质控线和检测线的荧光信号强度，并以质控线荧光信号强度校正检测线的荧光信号强度，实现肌钙蛋白I的定量检测。

[0016] 本发明的有益效果是：

[0017] 本发明样品垫预处理液搭配本发明包被液制备的肌钙蛋白I免疫荧光定量试纸条精密度好，37℃加速七天后，检测效果仅下降5%以内；检测值与理论值偏差小( $R^2=0.9998$ )，检测的准确率高；检测结果的出峰效果较好，出峰信号高，基线平整，前段几乎无抬起，不影响软件对峰面积的计算，读值准确度高；荧光微球释放效果更好，软件计算面积更加准确有关。适合临床上检测，具有很好的临床指导意义，具有操作简便、反应快速、灵敏度高、特异性强、适合现场检测和经济实用等优点。

## 附图说明

[0018] 图1为本发明荧光免疫层析试纸条组成结构示意图；

[0019] 图2为本发明样品垫预处理液搭配本发明包被液制备的肌钙蛋白I免疫荧光定量试纸条检测雅培I2000的肌钙蛋白I标准曲线；

[0020] 图3为本发明样品垫预处理液搭配本发明包被液制备的肌钙蛋白I免疫荧光定量试纸条检测肌钙蛋白I重组抗原的检测值与理论值散点图；

[0021] 图4为本发明样品垫预处理液搭配本发明包被液制备的肌钙蛋白I免疫荧光定量试纸条检测掺入干扰物的肌钙蛋白I校准品的荧光检测折线图；

[0022] 图5为本发明样品垫预处理液搭配本发明包被液制备的试纸条检测含肌钙蛋白I的病人血清样本检测值与雅培I2000的CTnI检测值的相关图。

## 具体实施方式

**[0023] 实施例1**

**[0024]** 本发明样品垫预处理液的优选配方:PBS的质量浓度是100mM、Triton X-100的百分浓度是0.75%、BSA的百分浓度是2.0%、PVA的百分浓度是1.0%、NaCl的百分浓度是0.5%、葡聚糖的百分浓度是1.2%、异嗜性抗体的质量浓度5mg/mL、ProcIn300百分浓度为0.05%、PH7.5

**[0025]** 样品垫预处理液制备方法:称取5g的PVA加入250mL PBS母液和230mL纯水浸泡过夜,称取6g葡聚糖加入其中,放置70℃加热溶解。用加样枪加入3.75mL的Triton X-100,异嗜性抗体根据原浓度加入相应体积稀释至5mg/mL,反复打匀;称取10gBSA,2.5gNaCl放入磁力搅拌器溶解;加入150μL的ProcIn300,用6M的HCl调节PH值至7.5,振荡混匀。最后室温定容至500mL,过滤除菌,制得样品垫预处理液。

**[0026]** 0.2M PBS配制方法为:称取71.6g的 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 和31.2g的 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 分别加入1L纯水溶解,按比例配成需要使用的接近PH值的PBS母液。

**[0027] 实施例2**

**[0028]** 本发明包被液的优选配方:PB的质量浓度为5~50mM、异丙醇的百分浓度为0%~1.9%、葡聚糖2万的百分浓度为0.05%~2%,BSA的百分浓度为0.1%~3%、ProcIn300或叠氮钠的百分浓度为0.01%~0.5%、PH7.0~9.0。

**[0029]** 包被液制备方法:称取0.025~1g的葡聚糖2万加入45mL纯水浸泡过夜,放置60℃加热溶解。用加样枪加入PB母液稀释至工作浓度,0~0.95mL的异丙醇,反复打匀;称取0.05~1.5g BSA,放入磁力搅拌器溶解;加入5~250μL的ProcIn300,用1M的HCl或NaOH调节PH值至7.0~9.0,振荡混匀。最后室温定容至50mL,过滤除菌,制得储存液。

**[0030]** PB配制方法为:称取29g的 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 和2g的 $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,加入1L纯水溶解配成为100mM的PB母液。

**[0031] 实施例3**

**[0032]** 肌钙蛋白I免疫荧光定量试纸条的制备过程如下:

**[0033]** (1) 储存液的制备:PB的质量浓度为20mM、BSA的百分浓度为1.8%、Tween-80的百分浓度为0.5%,葡萄糖的百分浓度为0.5%、甘氨酸的百分浓度为2%、PEG4000的百分浓度为1%、PEG20000的百分浓度为1.5%、ProcIn300百分浓度为0.03%、PH7.8~8.0,按上述配方配制混匀后过滤除菌,制得储存液;

**[0034]** (2) 样品垫的制备:用样品垫处理液浸泡玻璃纤维膜10min,置于干燥间37℃湿度30%,烘干5h,制得样品垫,备用;

**[0035]** (3) 结合垫的制备:用结合垫处理液浸泡玻璃纤维素膜10min,浸泡处理后,置于干燥间37℃湿度30%,烘干5h,用裁纸刀切至使用宽度(1cm\*30cm),制得结合垫半成品,备用;

**[0036]** (4) 将1mg的200nm聚苯乙烯荧光微球先后加入20μL的0.5mg/mL的EDC和0.5mg/mL的NHS,在活化缓冲液37℃活化1h;

**[0037]** (5) 加入0.1mg鼠源肌钙蛋白I单克隆抗体,在200μL偶联缓冲液中与荧光微球偶联,完毕后加入封闭液20μL,制得鼠源肌钙蛋白I单克隆抗体-荧光微球偶联物,19000rpm冷冻离心15min后,加入200μL储存液,制得鼠源肌钙蛋白I单克隆抗体-荧光微球偶联物浓度为5mg/mL,2~8℃保存;

**[0038]** (6) 用储存液将鼠源肌钙蛋白I单克隆抗体-荧光微球偶联物稀释到0.5mg/mL,用

喷金划膜仪喷于经结合垫处理液处理后的结合垫上,用鼓风干燥箱干燥7h。铝箔袋密封置于20-25℃、湿度约30%的条件下存放备用;

[0039] (7) 将1mg/mL羊抗鼠IgG多克隆抗体和1mg/mL鼠源肌钙蛋白I单克隆抗体分别用包被液包被,以条带状1.0mm用喷金划膜仪分别固定于硝酸纤维素膜上分别作为质控线和检测线;

[0040] (8) 在PVC底板上依次搭接地粘贴样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸水滤纸(如图1),并剪切成宽度4.1mm即成为荧光免疫层析试纸条;

[0041] (9) 将上步切好的试纸条装卡,过压壳机,准备检测;

[0042] (10) 样品垫处理液:100mMPBS、0.75% Triton-100、2.0% BSA、1.0% PVA、0.5% NaCl、1.2% 葡聚糖、异嗜性抗体5mg/mL、0.05% ProcIn300, pH7.5;

[0043] (11) 结合垫处理液:0.8% Triton X-100、2.0% PVA、1.25% 蔗糖、0.03% ProcIn300、PH7.2~7.4;

[0044] (12) 活化缓冲液为75mM MES, pH5.5;

[0045] (13) 偶联缓冲液:20mM PB, pH7.5;

[0046] (14) 封闭液:20% BSA;

[0047] (15) 包被液:5~50mM PB、0%~1.9% 异丙醇、0.05%~2% 葡聚糖2万,0.1%~3% BSA、0.01%~0.5% ProcIn300、PH7.0~9.0。

[0048] 实施例4

[0049] 配制对照样品垫预处理液,具体配方为:PBS的质量浓度是50mM、Triton X-100的百分浓度是1.0%、BSA的百分浓度是1.0%、PVA的百分浓度是1.0%、NaCl的百分浓度是1.0%、葡聚糖的百分浓度是0.05%、ProcIn300或叠氮钠的百分浓度为0.05%、PH7.0。

[0050] 配制对照包被液,具体配方为:PB的质量浓度为5mM、异丙醇的百分浓度为2.0%、葡聚糖2万的百分浓度为2.0%、BSA的百分浓度为5.0%、ProcIn300的百分浓度为0.5%、PH7.0。

[0051] 采用实施例1制备的优选样品垫预处理液搭配实施例2制备的优选包被液(以下简称双液2)与对照样品垫预处理液搭配对照包被液(以下简称双液1)进行稳定性能和精密度对比,实施方法和结果如下:

[0052] 用双液1和双液2,对相同工艺标记肌钙蛋白I (CTnI) 单抗的荧光微球进行喷膜干燥,分别组装成40个试纸条,放铝箔袋、干燥剂封口。一袋放置冰箱4℃保存7天(对照组),另外一袋放置温箱37℃加速7天。完整7天后,取出卡条,分别加入浓度为0.5ng/mL和1ng/mL的CTnI重组抗原检测。根据理论37℃加速7天相当于4℃保存1年,模拟1年后的抗原检测情况,结果如下表1、表2所示。

[0053] 表1、2种双液制得的试纸条测试0.5ng/mL CTnI重组抗原的效果对比

[0054]

双液 1			双液 2		
测试浓度	0.5ng/mL		测试浓度	0.5ng/mL	
保存温度	4℃	37℃加速 7 天	测试温度	4℃	37℃加速 7 天
测试 1	0.499926	0.249266	测试 1	0.491628	0.489866
测试 2	0.480777	0.385036	测试 2	0.541764	0.473825
测试 3	0.459767	0.369291	测试 3	0.514252	0.477672
测试 4	0.512178	0.398942	测试 4	0.505251	0.475419
测试 5	0.533007	0.45352	测试 5	0.490077	0.492508
测试 6	0.478947	0.346795	测试 6	0.467048	0.528062

[0055]

测试 7	0.41992	0.481794	测试 7	0.562079	0.422646
测试 8	0.446895	0.365277	测试 8	0.541612	0.515919
测试 9	0.443342	0.501474	测试 9	0.496602	0.472214
测试 10	0.495479	0.480185	测试 10	0.510884	0.483592
测试 11	0.499924	0.515764	测试 11	0.532271	0.50889
测试 12	0.587743	0.415942	测试 12	0.488525	0.431449
测试 13	0.401983	0.377701	测试 13	0.513753	0.452511
测试 14	0.547032	0.401961	测试 14	0.490513	0.474157
测试 15	0.630513	0.435219	测试 15	0.528062	0.497722
测试 16	0.477203	0.382046	测试 16	0.478762	0.543907
测试 17	0.486533	0.456091	测试 17	0.468517	0.468168
测试 18	0.516663	0.412224	测试 18	0.503165	0.479271
测试 19	0.534186	0.392418	测试 19	0.526874	0.4996
测试 20	0.424572	0.363717	测试 20	0.44591	0.492594
AVE	0.493829	0.409233	AVE	0.504877	0.484
SD	0.056083	0.061938	SD	0.028845	0.029042
CV	11.36%	15.14%	CV	5.71%	6.00%
下降比例	17.13%		下降比例	4.14%	

[0056] 表2、2种双液制得的试纸条测试1ng/mL CTnI重组抗原的效果对比

[0057]	双液 1			双液 2		
	测试浓度	1ng/mL		测试浓度	1ng/mL	
	保存温度	4℃	37℃加速 7天	测试温度	4℃	37℃加速 7天
	测试 1	0.999784	1.056304	测试 1	1.195296	0.983284
	测试 2	1.186806	1.111307	测试 2	1.271558	1.194128
	测试 3	1.277565	1.083538	测试 3	1.438909	1.126335
	测试 4	1.168324	0.856164	测试 4	1.251525	1.207851
	测试 5	1.2289	1.104699	测试 5	1.23266	1.168558
	测试 6	1.281164	1.132344	测试 6	1.177479	1.189028
	测试 7	1.194287	0.847851	测试 7	1.205976	1.163475
	测试 8	1.215247	1.10405	测试 8	1.236681	0.935413
	测试 9	1.00345	0.977893	测试 9	1.005876	1.151826
	测试 10	1.354251	1.009847	测试 10	1.206729	1.160556
	测试 11	1.243613	1.419336	测试 11	1.23355	1.255635
	测试 12	1.185701	1.153599	测试 12	1.206904	1.098227
	测试 13	1.264003	0.900023	测试 13	1.265464	1.177301
	测试 14	1.122621	1.108277	测试 14	1.252916	1.146424
	测试 15	1.246243	1.065459	测试 15	1.162615	1.134506
	测试 16	0.997991	1.084934	测试 16	1.184706	1.28271
测试 17	1.212924	0.834183	测试 17	1.202464	1.305446	
测试 18	1.298226	1.100886	测试 18	1.153935	1.237487	
[0058]	测试 19	1.55874	1.29279	测试 19	1.149971	1.170279
	测试 20	1.25874	0.967356	测试 20	1.221275	1.218791
	AVE	1.214929	1.060542	AVE	1.212824	1.165363
	SD	0.12774	0.143284	SD	0.078554	0.087824
	CV	10.51%	13.51%	CV	6.48%	7.54%
	下降比例	12.70%		下降比例	3.91%	

[0059] 从表1、2得出,双液2(实施例1样品垫预处理液和实施例2包被液)在37℃加速七天后,仅下降5%以内,且精密度较好,在5%左右;而对照双液1在37℃加速七天后,下降15%左右,精密度相对较差。

[0060] 实施例5

[0061] 将实施例2制备的肌钙蛋白I免疫荧光定量试纸条建立标准曲线并进行检测,实施方法如下:

[0062] (1) 建立标准曲线:用雅培肌钙蛋白I标准品稀释至500pg/mL、1000pg/mL、2000pg/mL、5000pg/mL、10000pg/mL、20000pg/mL、50000pg/mL、七个浓度。用制备好的试纸条加样80 μL上免疫荧光分析以检测,每个浓度重复3次取平均值。以稀释浓度(Xi)为自变量,以检测结果实测值(Yi)为因变量求出线性回归方程,如图2所示;

[0063] (2) 用抗原稀释液对重组抗原肌钙蛋白I倍比稀释至250pg/mL、500pg/mL、1000pg/mL、2000pg/mL、4000pg/mL、8000pg/mL、16000pg/mL、32000pg/mL、64000pg/mL九个浓度。抗

原稀释液:20mMPBS,0.5%BSA,0.5%Tween-20,PH7.2。将求得T/C峰面代入 $y=0.0003x+0.1375$ 中Y,求得X为所测抗原值。

[0064] 如图3所示,可以看出实施例2制备的试纸条检测值与理论值偏差小( $R^2=0.9998$ ),检测的准确率高。

[0065] 实施例6

[0066] 用双液1和双液2(同实施例4),作结合垫半成品并对相同工艺标记CTnI单抗的荧光微球进行喷膜干燥,组装好试纸条,分别用浓度为500pg/mL、1000pg/mL的含CTnI抗原的校准品掺入2g/L胆红素、30g/L甘油三脂、15g/L胆固醇对两种试纸条加样检测,每个重复10次,随后用配套检测仪器对试纸条窗口信息进行读取。通过仪器激光对窗口的荧光微球进行激发,再采集窗口300个位置(作横坐标)的发射荧光强度(作纵坐标),利用荧光分析软件将300个点按顺序连在一起形成折线图。

[0067] 如图4所示,折线图可反映荧光微球在NC膜上的跑膜情况,图中有两个峰,左边为T峰(对应肉眼视卡条为检测线),右边为C峰(对应肉眼视卡条为质控线)。从图中可以看出,使用双液2的整体出峰效果较好,说明双液2对抗体-荧光微球偶联物从结合垫释放到NC膜效果较好,说抗干扰能力强。使用双液1的则出峰信号不高,基线不平整,前段抬起较明显,影响软件对峰面积的计算,进而影响读值的准确度,说明抗干扰能力差。测试数据如下表3、表4所示。

[0068] 表3、双液1制得的试纸条测试500pg/mL、1000pg/mL CTnI校准品的抗干扰能力

[0069]

干扰物 类型	干扰物 添加浓 度	检测 次数	校准品 500pg/mL		校准品 1000pg/mL	
			测定值 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$ )	相对偏差 (%)	测定值 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$ )	相对偏差 (%)
胆红素	2	10	338 $\pm$ 83	32.40%	896 $\pm$ 97	10.40%
甘油三 脂	30	10	431 $\pm$ 47	13.80%	911 $\pm$ 74	8.90%
胆固醇	15	10	422 $\pm$ 49	15.60%	926 $\pm$ 81	7.40%

[0070] 表4、双液2制得的试纸条测试500pg/mL、1000pg/mL CTnI校准品的抗干扰能力

[0071]

干扰物 类型	干扰物 添加浓 度	检测 次数	校准品 500pg/mL		校准品 1000pg/mL	
			测定值 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$ )	相对偏 差 (%)	测定值 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$ )	相对偏差 (%)
胆红素	2	10	456 $\pm$ 48	8.80%	935 $\pm$ 62	6.50%
甘油三 脂	30	10	527 $\pm$ 33	5.40%	1047 $\pm$ 59	4.70%
胆固醇	15	10	482 $\pm$ 23	3.60%	1039 $\pm$ 47	3.90%

[0072] 从表3、4得出,优选的双液2能把测试结果的相对偏差控制在 $\pm 15\%$ 以内,而双液1不能,说明双液2(本发明样品垫预处理液和包被液)有很好的抗干扰能力。

[0073] 实施例7

[0074] 用双液1和双液2(同实施例4),作结合垫半成品并对相同工艺CTnI单抗标记的荧光微球进行喷膜干燥,分别组装33个试纸条,用33个不同浓度的含CTnI抗原的病人血清样

本同时对两种试纸条加样检测。用配套检测仪器对试纸条窗口信息进行读取,用荧光分析软件计算T峰面积与C峰面积,同时用IVD行业权威公司雅培旗下的I2000全自动免疫发光仪检测的结果值。

[0075] 以雅培-I2000评价2种双液制备的试纸条检测结果的临床诊断准确性。如图5所示,纵坐标为T峰面积/C峰面积,横坐标雅培-I2000结果值,双液2制备的试纸条检测结果与雅培公司的I2000仪器检测结果较吻合 ( $R^2=0.9815$ ),而双液1的血清线性相关较差 ( $R^2=0.8679$ ),重复性也不好。这与前述双液2让荧光微球释放效果更好,软件计算面积更加准确有关。

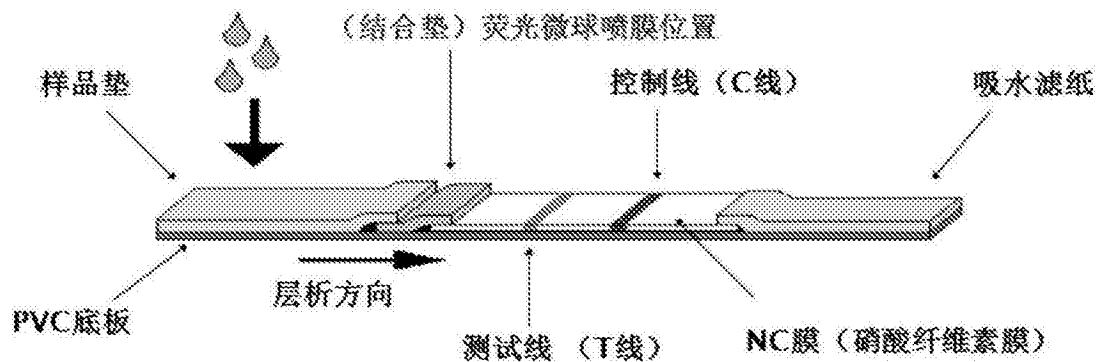


图1

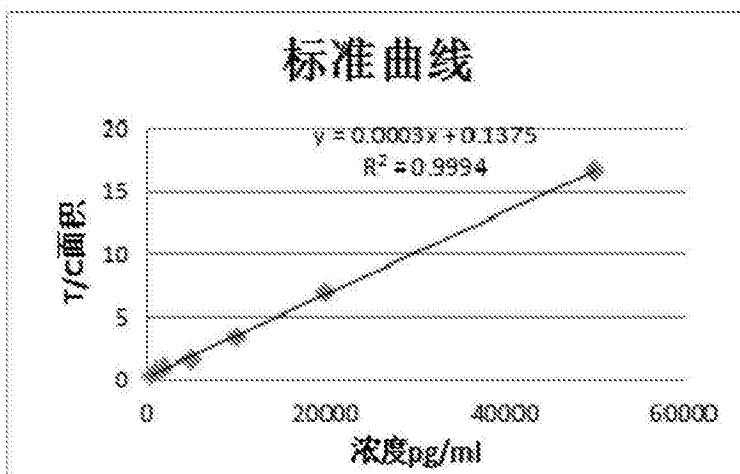


图2

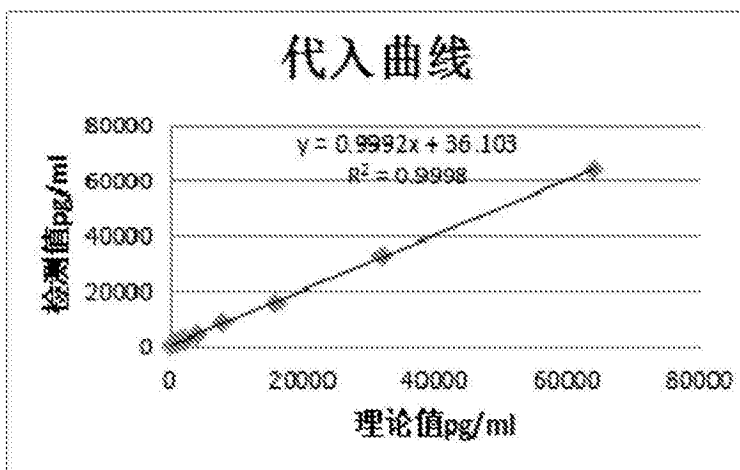


图3

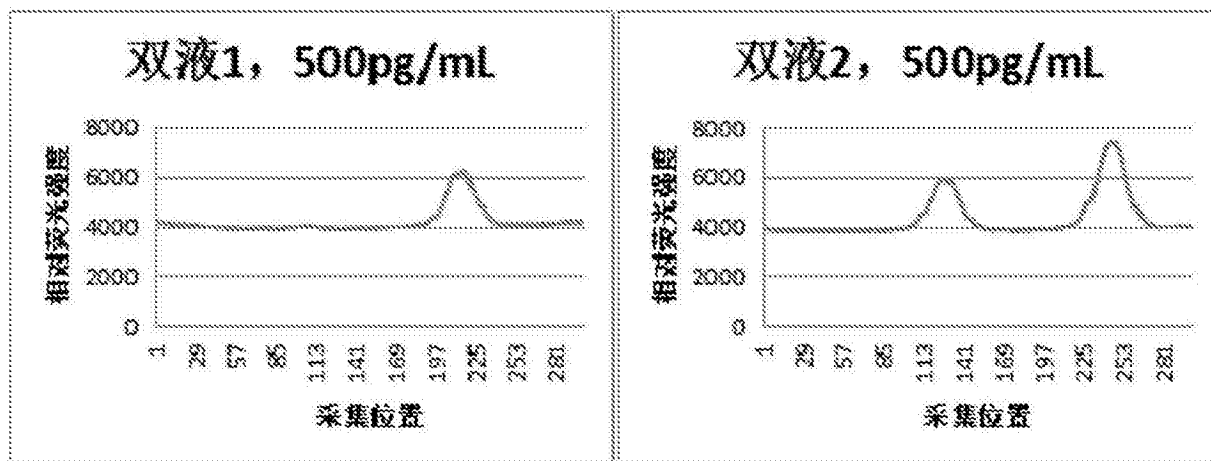


图4

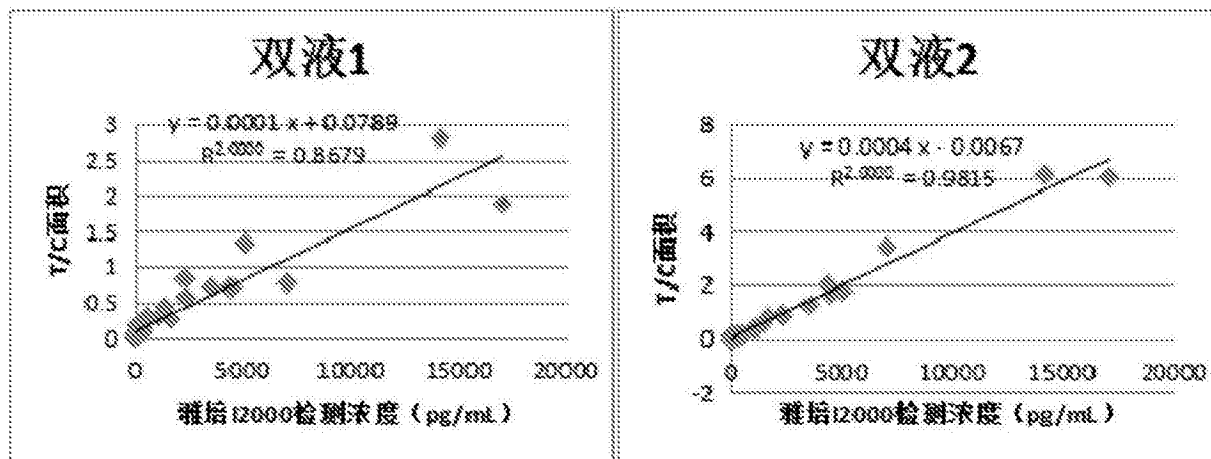


图5

专利名称(译)	一种检测肌钙蛋白I免疫荧光定量试纸条		
公开(公告)号	<a href="#">CN107942075A</a>	公开(公告)日	2018-04-20
申请号	CN201711180761.X	申请日	2017-11-23
[标]申请(专利权)人(译)	中山市创艺生化工程有限公司		
申请(专利权)人(译)	中山市创艺生化工程有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	中山市创艺生化工程有限公司		
[标]发明人	何平 梁婷婷 李冰 陈润文 周琼华		
发明人	何平 梁婷婷 李冰 陈润文 周琼华		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/533 G01N33/558 G01N33/543 G01N33/577		
CPC分类号	G01N33/6887 G01N33/533 G01N33/54313 G01N33/558 G01N33/577 G01N2333/4712 G01N2333/4727		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

#### 摘要(译)

本发明公开了一种检测肌钙蛋白I免疫荧光定量试纸条。本发明样品垫预处理液搭配本发明包被液制备的肌钙蛋白I免疫荧光定量试纸条精密度好，37℃加速七天后，检测效果仅下降5%以内；检测值与理论值偏差小(R2 = 0.9998)，检测的准确率高；检测结果的出峰效果较好，出峰信号高，基线平整，前段几乎无抬起，不影响软件对峰面积的计算，读值准确度高；荧光微球释放效果更好，软件计算面积更加准确有关。适合临床上检测，具有很好的临床指导意义，具有操作简便、反应快速、灵敏度高、特异性强、适合现场检测和经济实用等优点。

双液 1			双液 2		
测试浓度	0.5ng/mL		测试浓度	0.5ng/mL	
保存温度	4℃	37℃加速 7 天	测试温度	4℃	37℃加速 7 天
测试 1	0.499926	0.249266	测试 1	0.491628	0.489866
测试 2	0.480777	0.385036	测试 2	0.541764	0.473825
测试 3	0.459767	0.369291	测试 3	0.514252	0.477672
测试 4	0.512178	0.398942	测试 4	0.505251	0.475419
测试 5	0.533007	0.45352	测试 5	0.490077	0.492508
测试 6	0.478947	0.346795	测试 6	0.467048	0.528062