



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108918865 A

(43)申请公布日 2018. 11. 30

(21)申请号 201810491770.9

(22)申请日 2018.05.21

(71)申请人 德康润生物科技(北京)有限公司

地址 100000 北京市北京经济技术开发区
科创六街88号院8号楼4单元301室

(72)发明人 董常慧 王昊 杨玮 刘琦
冯建敏 张林杰

(74)专利代理机构 北京超凡志成知识产权代理
事务所(普通合伙) 11371

代理人 杨勋

(51)Int.Cl.

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

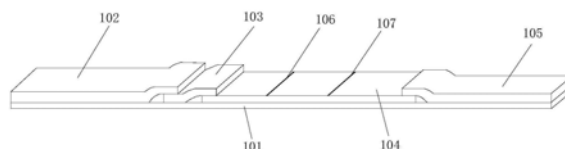
权利要求书1页 说明书12页 附图4页

(54)发明名称

荧光免疫层析试纸条及试剂卡

(57)摘要

本发明涉及免疫检测技术领域,尤其是涉及一种荧光免疫层析试纸条及试剂卡。荧光免疫层析试纸条,包括底板,底板上沿其长度方向顺次设置有样品垫、荧光垫、硝酸纤维素膜和吸样垫;样品垫与荧光垫部分重叠,荧光垫与硝酸纤维素膜部分重叠,且荧光垫的一侧边位于样品垫的下方,荧光垫的相对的另一侧边位于硝酸纤维素膜的一侧边的上方;硝酸纤维素膜与吸样垫部分重叠,且硝酸纤维素膜的相对的另一侧边位于吸样垫的下方;硝酸纤维素膜上设置有检测线和质控线,且检测线靠近荧光垫;样品垫采用样品垫处理液处理,样品垫处理液中含有0.1%~0.5%的浓度为10%的溴甲酚绿乙醇溶液。本发明具有较高的检测灵敏度,且检测效率和准确率较高。



1. 一种荧光免疫层析试纸条, 其特征在于, 包括底板, 所述底板上沿其长度方向顺次设置有样品垫、荧光垫、硝酸纤维素膜和吸样垫; 所述样品垫与所述荧光垫部分重叠, 所述荧光垫与所述硝酸纤维素膜部分重叠, 且所述荧光垫的一侧边位于所述样品垫的下方, 所述荧光垫的相对的另一侧边位于所述硝酸纤维素膜的一侧边的上方; 所述硝酸纤维素膜与所述吸样垫部分重叠, 且硝酸纤维素膜的相对的另一侧边位于所述吸样垫的下方; 所述硝酸纤维素膜上设置有检测线和质控线, 且所述检测线靠近所述荧光垫;

所述样品垫采用样品垫处理液处理, 所述样品垫处理液中含有0.1%~0.5%的浓度为10%的溴甲酚绿乙醇溶液。

2. 根据权利要求1所述的荧光免疫层析试纸条, 其特征在于, 所述溴甲酚绿乙醇溶液中的乙醇的浓度为75%。

3. 根据权利要求1所述的荧光免疫层析试纸条, 其特征在于, 还包括固定件, 所述固定件压合覆盖在所述样品垫、所述荧光垫和所述硝酸纤维素膜的上方, 其中, 所述固定件的一端位于所述样品垫的两端之间, 所述固定件的另一端位于所述荧光垫的相对的另一侧边与所述检测线之间。

4. 根据权利要求3所述的荧光免疫层析试纸条, 其特征在于, 所述固定件为隐形胶带。

5. 根据权利要求1至4中任一项所述的荧光免疫层析试纸条, 其特征在于, 所述荧光垫上涂覆有荧光微球标记的单克隆抗体。

6. 根据权利要求5所述的荧光免疫层析试纸条, 其特征在于, 所述检测线上包被有与所述荧光微球标记的单克隆抗体配对的单克隆抗体。

7. 根据权利要求1至4中任一项所述的荧光免疫层析试纸条, 其特征在于, 所述质控线处包被有羊抗鼠IgG抗体。

8. 根据权利要求1至4中任一项所述的荧光免疫层析试纸条, 其特征在于, 所述样品垫、所述荧光垫、所述硝酸纤维素膜和所述吸样垫分别与所述底板粘接。

9. 一种试剂卡, 其特征在于, 包括壳体和如权利要求1至8中任一项所述的荧光免疫层析试纸条, 所述荧光免疫层析试纸条位于所述壳体的内部。

10. 根据权利要求9所述的试剂卡, 其特征在于, 所述壳体包括上盖和底壳, 所述上盖盖合于所述底壳上, 所述上盖设置有加样孔和观察窗口, 所述样品垫位于所述加样孔的下方, 所述检测线和所述质控线位于所述观察窗口的下方。

荧光免疫层析试纸条及试剂卡

技术领域

[0001] 本发明涉及免疫检测技术领域,尤其是涉及一种荧光免疫层析试纸条及试剂卡。

背景技术

[0002] 免疫层析法具有直观、快速、操作简便、费用低廉等特点,待测试液可以是血、尿、唾液等,因此在快速临床诊断,野外以及实验条件不具备的场所使用中的应用发展迅速。胶体金免疫层析试纸应用最广泛,借助于硝酸纤维素膜制造业的进步和抗体制备以及其他支持技术的成熟,从上世纪八十年代晚期第一个免疫层析试剂盒推向市场开始,免疫层析技术已经应用在临床监测领域,包括妊娠检测、传染病检测、乙肝表面抗原、心肌肌钙蛋白、幽门螺杆菌等的检测;在环境领域的应用包括检测镉离子等有毒重金属;在食品安全领域包括检测农药残留以及包括肉毒毒素在内的各种毒素;免疫层析技术还广泛应用于兽医学领域,包括检测禽流感,犬类细小病毒和口蹄疫等方面;在滥用药物检测方面应用于检测甲基苯丙胺等毒品方面。

[0003] 除了纳米金标记物以外,研究开发者探索使用的标记物也发展到脂质体,荧光探针,荧光聚合物微球,顺磁性聚合物微球,上转换发光探针和量子点等。

[0004] 荧光免疫层析技术是基于抗原抗体特异性免疫反应的新型膜检测技术。该技术需要采用专用的试纸条来完成,即以固定有检测线(包被抗体或包被抗原)和质控线(抗抗体)的条状纤维层析材料为固定相,测试液为流动相,荧光标记抗体或抗原固定于连接垫,通过毛细管作用使待分析物在层析条上移动。对于带有多个抗原决定簇的大分子抗原(蛋白、病毒、致病菌等),通常采用“三明治”型双抗夹心免疫层析方法,即待测物在流动相作用下先与荧光标记抗体结合,当到达检测线时再与包被抗体结合形成双抗夹心的“三明治”型。

[0005] 然而,现有的用于荧光免疫层析的试纸条灵敏度较低,且不易被观察出是否已经加过样品,导致重复加样,降低了检测效率和准确率。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于提供一种荧光免疫层析试纸条,以解决现有技术中存在的检测灵敏度低且检测效率和准确率低的技术问题。

[0007] 本发明的目的还在于提供一种试剂卡,以解决现有技术中存在的检测灵敏度低且检测效率和准确率低的技术问题。

[0008] 基于上述第一目的,本发明提供了一种荧光免疫层析试纸条,包括底板,所述底板上沿其长度方向顺次设置有样品垫、荧光垫、硝酸纤维素膜和吸样垫;所述样品垫与所述荧光垫部分重叠,所述荧光垫与所述硝酸纤维素膜部分重叠,且所述荧光垫的一侧边位于所述样品垫的下方,所述荧光垫的相对的另一侧边位于所述硝酸纤维素膜的一侧边的上方;所述硝酸纤维素膜与所述吸样垫部分重叠,且硝酸纤维素膜的相对的另一侧边位于所述吸样垫的下方;所述硝酸纤维素膜上设置有检测线和质控线,且所述检测线靠近所述荧光垫;

[0009] 所述样品垫采用样品垫处理液处理,所述样品垫处理液中含有0.1%~0.5%的浓

度为10%的溴甲酚绿乙醇溶液。

[0010] 进一步地,在某些实施例中,所述溴甲酚绿乙醇溶液中的乙醇的浓度为75%。

[0011] 进一步地,在某些实施例中,还包括固定件,所述固定件压合覆盖在所述样品垫、所述荧光垫和所述硝酸纤维素膜的上方,其中,所述固定件的一端位于所述样品垫的两端之间,所述固定件的另一端位于所述荧光垫的相对的另一侧边与所述检测线之间。

[0012] 进一步地,在某些实施例中,所述固定件为隐形胶带。

[0013] 进一步地,在某些实施例中,所述荧光垫上涂覆有荧光微球标记的单克隆抗体。

[0014] 进一步地,在某些实施例中,所述检测线上包被有与所述荧光微球标记的单克隆抗体配对的单克隆抗体。

[0015] 进一步地,在某些实施例中,所述质控线处包被有羊抗鼠IgG抗体。

[0016] 进一步地,在某些实施例中,所述样品垫、所述荧光垫、所述硝酸纤维素膜和所述吸样垫分别与所述底板粘接。

[0017] 基于上述第二目的,本发明还提供了一种试剂卡,包括壳体 and 所述的荧光免疫层析试纸条,所述荧光免疫层析试纸条位于所述壳体的内部。

[0018] 进一步地,在某些实施例中,所述壳体包括上盖和底壳,所述上盖盖合于所述底壳上,所述上盖设置有加样孔和观察窗口,所述样品垫位于所述加样孔的下方,所述检测线和所述质控线位于所述观察窗口的下方。

[0019] 与现有技术相比,本发明的有益效果为:

[0020] 本发明提供的荧光免疫层析试纸条,包括底板,所述底板上沿其长度方向顺次设置有样品垫、荧光垫、硝酸纤维素膜和吸样垫;所述样品垫与所述荧光垫部分重叠,所述荧光垫与所述硝酸纤维素膜部分重叠,且所述荧光垫的一侧边位于所述样品垫的下方,所述荧光垫的相对的另一侧边位于所述硝酸纤维素膜的一侧边的上方;所述硝酸纤维素膜与所述吸样垫部分重叠,且硝酸纤维素膜的相对的另一侧边位于所述吸样垫的下方;所述硝酸纤维素膜上设置有检测线和质控线,且所述检测线靠近所述荧光垫;所述样品垫采用样品垫处理液处理,所述样品垫处理液中含有0.1%~0.5%的浓度为10%的溴甲酚绿乙醇溶液。

[0021] 基于该结构,本发明提供的荧光免疫层析试纸条,由于样品垫处理液中含有0.1%~0.5%的浓度为10%的溴甲酚绿乙醇溶液,在加样前,样品垫呈淡蓝灰色,加样后,样品垫几乎无色,便于观察,有效地缓解了对于稀释倍数过大的样品,在加样垫上加样后肉眼难以分辨试纸条是否加过样品的难题,避免了重复加样,提高了检测效率和准确率。此外,由于样品垫处理液中添加了溴甲酚绿,降低了荧光检测的背景强度,提高了检测灵敏度。

[0022] 本发明提供的试剂卡,由于使用了本发明提供的荧光免疫层析试纸条,具有较高的检测灵敏度,且检测效率和准确率较高。

[0023] 综上所述,本发明具有上述诸多的优点及实用价值,并在同类产品中未见有类似的方法公开发表或使用而确属创新,产生了较好的实用的效果,并具有广泛的产业价值。

[0024] 下面将配合附图,作详细说明。

附图说明

[0025] 为了更清楚地说明本发明具体实施方式或现有技术中的技术方案,下面将对具体

实施方式或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图是本发明的一些实施方式,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0026] 图1为本发明实施例一提供的荧光免疫层析试纸条的结构示意图;

[0027] 图2为本发明实验例1中的对照组的样品浓度与拟合浓度的线性回归曲线图;

[0028] 图3为本发明实验例1中的实验组的样品浓度与拟合浓度的线性回归曲线图;

[0029] 图4为本发明实验例2中的对照组的样品浓度与拟合浓度的线性回归曲线图;

[0030] 图5为本发明实验例2中的实验组的样品浓度与拟合浓度的线性回归曲线图;

[0031] 图6为本发明实验例3中的对照组的样品浓度与拟合浓度的线性回归曲线图;

[0032] 图7为本发明实验例3中的实验组的样品浓度与拟合浓度的线性回归曲线图;

[0033] 图8为本发明实施例二提供的荧光免疫层析试纸条的结构示意图;

[0034] 图9为本发明实施例三提供的试剂卡的结构示意图。

[0035] 图标:101-底板;102-样品垫;103-荧光垫;104-硝酸纤维素膜;105-吸样垫;106-检测线;107-质控线;108-隐形胶带;109-上盖;110-加样孔;111-观察窗口。

具体实施方式

[0036] 下面将结合附图对本发明的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0037] 在本发明的描述中,需要说明的是,如出现术语“中心”、“上”、“下”、“左”、“右”、“竖直”、“水平”、“内”、“外”等,其指示的方位或位置关系为基于附图所示的方位或位置关系,仅是为了便于描述本发明和简化描述,而不是指示或暗示所指的装置或元件必须具有特定的方位、以特定的方位构造和操作,因此不能理解为对本发明的限制。此外,如出现术语“第一”、“第二”、“第三”仅用于描述目的,而不能理解为指示或暗示相对重要性。

[0038] 在本发明的描述中,需要说明的是,除非另有明确的规定和限定,如出现术语“安装”、“相连”、“连接”应做广义理解,例如,可以是固定连接,也可以是可拆卸连接,或一体地连接;可以是机械连接,也可以是电连接;可以是直接相连,也可以通过中间媒介间接相连,可以是两个元件内部的连通。对于本领域的普通技术人员而言,可以根据具体情况理解上述术语在本发明中的具体含义。

[0039] 实施例一

[0040] 参见图1所示,本实施例提供了一种荧光免疫层析试纸条,包括底板101,底板101上沿其长度方向顺次设置有样品垫102、荧光垫103、硝酸纤维素膜104和吸样垫105;样品垫102与荧光垫103部分重叠,荧光垫103与硝酸纤维素膜104部分重叠,且荧光垫103的一侧边位于样品垫102的下方,荧光垫103的相对的另一侧边位于硝酸纤维素膜104的一侧边的上方;硝酸纤维素膜104与吸样垫105部分重叠,且硝酸纤维素膜104的相对的另一侧边位于吸样垫105的下方;硝酸纤维素膜104上设置有检测线106和质控线107,且检测线106靠近荧光垫103;样品垫102采用样品垫处理液处理,样品垫处理液中含有0.1%~0.5%的浓度为10%的溴甲酚绿乙醇溶液。其中,样品垫处理液中的其他组分及含量为现有技术,本领域技术人员可以根据待测样品的种类自由选取相应的样品垫处理液,样品垫处理液也可以为

水。本实施例提供的荧光免疫层析试纸条,适用范围广,能够对血清、血浆、全血、尿液等人源样本进行定性或定量测定。在使用时,将样品滴加在样品垫102上,样品开始向吸样垫105的方向流动,进行层析。

[0041] 基于该结构,本实施例提供的荧光免疫层析试纸条,由于样品垫处理液中含有0.1%~0.5%的浓度为10%的溴甲酚绿乙醇溶液,在加样前,样品垫102呈淡蓝灰色,加样后,样品垫102几乎无色,便于观察,有效地缓解了对于稀释倍数过大的样品,在加样垫上加样后肉眼难以分辨试纸条是否加过样品的难题,避免了重复加样,提高了检测效率和准确率。此外,由于样品垫处理液中添加了溴甲酚绿,降低了荧光检测的背景强度,提高了检测灵敏度。

[0042] 进一步地,在某些实施例中,溴甲酚绿乙醇溶液中的乙醇的浓度为75%。

[0043] 溴甲酚绿易溶于乙醇,先将溴甲酚绿固体粉末用75%的乙醇溶解稀释,然后再添加到样品垫处理液中,能够准确吸取定量的溴甲酚绿乙醇溶液,并容易与样品垫处理液充分混合,提高了样品垫102的处理效果。

[0044] 进一步地,在某些实施例中,荧光垫103上涂覆有荧光微球标记的单克隆抗体。这样的方式能够负载大量的荧光染料分子,而且便于荧光染料分子在检测线106和质控线107处聚集,起到信号放大作用,能够实现快速定量检测,提高检测准确性,为临床使用提供了极大的便利。

[0045] 荧光微球标记的单克隆抗体采用目前常见的荧光微球标记的单克隆抗体,根据待测样本的不同,自由选择相应的荧光微球标记的单克隆抗体。

[0046] 进一步地,在某些实施例中,检测线106上包被有与荧光微球标记的单克隆抗体配对的单克隆抗体。

[0047] 检测线106上包被有与荧光微球标记的单克隆抗体配对的单克隆抗体(简称包被抗体),实现对荧光微球标记的单克隆抗体的反应,使得样品在检测时能够与检测线106上的物质充分反应,达到检测效果明显显示的目的。

[0048] 进一步地,在某些实施例中,质控线107处包被有羊抗鼠IgG抗体。用于判断检测结果是否有效。在实施时,采用荧光免疫分析仪检测质控线107处的信号值,若能够检测到信号值,证明检测结果有效,可以进行下一步操作,来判断结果为阴性或阳性。

[0049] 进一步地,在某些实施例中,样品垫102、荧光垫103、硝酸纤维素膜104和吸样垫105分别与底板101粘接。

[0050] 样品垫102、荧光垫103、硝酸纤维素膜104和吸样垫105分别通过双面胶与底板101粘接,样品垫102、荧光垫103、硝酸纤维素膜104和吸样垫105的重叠部分也采用双面胶粘接。当样品垫102、荧光垫103、硝酸纤维素膜104和吸样垫105中的一个或者多个损坏或者丢失时,可直接进行替换。采用双面胶连接的方式,结构简单,成本较低,替换简单,为实验提供了便利。

[0051] 需要说明的是,样品垫102、荧光垫103、硝酸纤维素膜104、吸样垫105和底板101之间还可以采用其他的粘贴方式,只要能实现连接即可。

[0052] 本实施例中,底板101的材质优选为PVC,吸样垫105采用常见的吸水滤纸。

[0053] 本实施例提供的荧光免疫层析试纸条的制备方法,包括以下步骤:

[0054] S1. 样品垫102预处理:将样品垫102用样品垫处理液处理后,置于湿度<20%的40

~50℃的烘箱干燥后,于2~30℃密封保存,备用;

[0055] S2. 荧光垫103的制备:根据待测样品的种类不同,选择相应的工艺制备荧光垫103,于湿度<20%的40~50℃的烘箱干燥后,于2~30℃密封保存,备用;

[0056] S3. 硝酸纤维素膜104的处理:将包被抗体和羊抗鼠IgG抗体用包被缓冲液调节至适当浓度,按膜包被液量均为0.1~0.2μL/mm(每毫米检测线106所需的包被抗体的体积为0.1~0.2μL,每毫米质控线107所需的羊抗鼠IgG抗体的体积为0.1~0.2μL)分别包被在硝酸纤维素膜104的检测线106和质控线107位置,置于湿度<20%的40~50℃的烘箱干燥;

[0057] S4. 在底板101上顺次相互搭接地黏贴样品垫102、荧光垫103、硝酸纤维素膜104和吸样垫105,得到试纸板,切割成宽度为2.96~4mm的试纸条。

[0058] 对比例

[0059] 本对比例提供的荧光免疫层析试纸条,为现有的样品垫处理液中不含溴甲酚绿乙醇溶液的荧光免疫层析试纸条。

[0060] 实验例1

[0061] 为了对本发明提供的荧光免疫层析试纸条的有益效果进行进一步的说明,分别采用实施例一提供的荧光免疫层析试纸条和对比例提供的荧光免疫层析试纸条对不同浓度的S100-β蛋白样品进行测定,其中,采用本实施例提供的荧光免疫层析试纸条进行测定的为实验组,采用对比例提供的荧光免疫层析试纸条进行测定的为对照组。

[0062] S100-β蛋白样品的浓度以及对应的检测线信号值和质控线信号值如表1所示,其中,对比例提供的荧光免疫层析试纸条上的检测线信号值和质控线信号值分别用T1和C1表示,实施例一提供的荧光免疫层析试纸条上的检测线信号值和质控线信号值分别用T2和C2表示。

[0063] 表1不同样品浓度对应的检测线信号值和质控线信号值

[0064]

待测样品 浓度 (ng/ml)	T1	C1	T1/ C1	T2	C2	T2/ C2
10	5305	4722	1.123	6482	4728	1.371
	6003	4806	1.249	6779	4835	1.402
	6031	4798	1.257	6699	4929	1.359
5	3907	4618	0.846	5314	4809	1.105
	5161	5450	0.947	6707	5650	1.187
	6008	5850	1.027	4884	4050	1.206
2	4411	5850	0.754	3455	4650	0.743
	3529	4950	0.713	3904	5150	0.758
	3171	4350	0.729	3979	5750	0.692
1	2905	5450	0.533	2636	5200	0.507
	1930	4150	0.465	2266	4550	0.498
	2981	5700	0.523	2121	4150	0.511
0.5	1995	5050	0.395	1759	5250	0.335
	1814	4650	0.390	1372	4300	0.319
	1967	4500	0.437	1867	4900	0.381
0.2	633	4250	0.149	473	4500	0.105
	804	5700	0.141	549	4900	0.112
	738	5350	0.138	436	4000	0.109
0.08	497	5345	0.093	194	5540	0.038
	417	5211	0.080	236	5478	0.043
	494	5089	0.097	226	5523	0.041
0	439	5357	0.082	112	4646	0.024
	524	5407	0.097	96	5309	0.020
	523	5396	0.097	105	5008	0.021

[0065] 对表1中的数据进行均一性分析,对每个样品浓度所对应的三组T1/C1值和T2/C2值的变异系数(CV)进行计算,结果如表2所示,由表2可知,实验组和对照组的CV值均在10%以下,满足实验的一般要求,因此,样品垫处理液中添加溴甲酚绿乙醇溶液不会影响试剂均一性,保证了良好的实验效果。

[0066] 表2对照组与实验组的变异系数对比表

[0067]	待测样品 浓度 (ng/ml)	10	5	2	1	0.5	0.2	0.08
	对照组 CV(%)	6.21	9.65	2.82	6.34	3.99	9.88	9.41
	实验组 CV(%)	1.61	4.6	4.73	9.33	3.23	6.19	9.61

[0068] 表3信号值偏差对比表

[0069]

待测样品 浓度 (ng/ml)	T1 均值	T2 均值	T 值偏 差	C1 均值	C2 均值	C 值 偏差	T1/C1 均值	T2/C2 均值	T/C 偏差
10	5780	6653	15.10%	4775	4831	1%	1.21	1.377	14%
5	5025	5635	12.14%	5306	4836	-9%	0.947	1.165	23%
2	3704	3779	2.02%	5050	5183	3%	0.733	0.729	-1%
1	2605	2341	-10.13%	5100	4633	-9%	0.511	0.505	-1%
0.5	1925	1666	-13.45%	4733	4817	2%	0.407	0.346	-15%
0.2	725	486	-32.97%	5100	4467	-12%	0.142	0.109	-23%
0.08	469	219	-53.30%	5215	5514	6%	0.09	0.04	-56%
0	495	104	-78.99%	5387	4988	-7%	0.092	0.021	-77%

[0070] 如表3所示,实验组的T2均值明显高于对照组的T1均值,实验组的C2均值与对照组的C1均值基本相当,甚至略高于对照组,由此可见,样品垫处理液中添加溴甲酚绿,能够提高检测灵敏度。

[0071] 以样品浓度为横坐标,T1/C1均值为纵坐标,进行四参数曲线拟合,得到方程:

[0072] $y = 2.98 / [1 + (x/11.42)^{-0.43}] - 0.25, R^2 = 0.9930$

[0073] 以样品浓度为横坐标,T2/C2均值为纵坐标,进行四参数曲线拟合,得到方程:

[0074] $y = 2.03 / [1 + (x/3.20)^{-0.80}] - 0.06, R^2 = 0.9973$

[0075] 上述结果表明,实验组的回归系数 R^2 高于对照组的回归系数 R^2 ,由此可知,实施例一提供的荧光免疫层析试纸条对比比例提供的试纸条的性能更优越。

[0076] 用以上曲线方程分别拟合各自的T/C值(即y值),得出拟合浓度(即x值),以样品浓度为横坐标,拟合浓度为纵坐标,做散点图,并计算相关系数。参见图2所示,对照组的线性回归方程为 $y = 1.0215x - 0.0418$,相关系数 $r = 0.997$;参见图3所示,实验组的线性回归方程为 $y = 0.9805x + 0.0453$,相关系数 $r = 0.998$ 。

[0077] 以上结果表明,实验组的样品浓度与拟合浓度的相关系数和对照组的样品浓度与拟合浓度的相关系数相当,可见实施例一提供的荧光免疫层析试纸条在提高试剂灵敏度的情况下,不影响检测准确度。

[0078] 实验例2

[0079] 与实验例1的区别是,所测定的样品及样品浓度不同,本实验例采用的样品为N端脑钠肽前体(NT-proBNP),不同样品浓度对应的检测线信号值和质控线信号值见表4所示。

[0080] 表4不同样品浓度对应的检测线信号值和质控线信号值

[0081]	待测样品 浓度 (ng/ml)	T1	C1	T1/ C1	T2	C2	T2/ C2
	35000	9908	3081	3.216	11513	2707	4.253
		10339	3360	3.077	12431	3090	4.023
		9223	3150	2.928	13035	3120	4.178
	10000	7702	5037	1.529	9070	4093	2.216
		8064	5445	1.481	10585	4860	2.178
		8520	5170	1.648	10653	4590	2.321
	5000	5115	5115	1.000	6290	4230	1.487
		5365	5665	0.947	6305	4140	1.523
		6428	5775	1.113	7546	4725	1.597
[0082]	1000	2110	5995	0.352	2252	4050	0.556
		2529	6050	0.418	2132	4545	0.469
		2061	5555	0.371	2233	4320	0.517
	200	657	5170	0.127	946	4185	0.226
		657	5665	0.116	868	4320	0.201
		705	5225	0.135	1045	4860	0.215
	30	446	6764	0.066	758	6213	0.122
		452	6370	0.071	804	6760	0.119
		376	6370	0.059	887	6825	0.130
	0	618	7829	0.079	524	6891	0.076
		583	6695	0.087	427	6890	0.062
		443	7150	0.062	357	6045	0.059

[0083] 对表4中的数据进行均一性分析,对每个样品浓度所对应的三组T1/C1值和T2/C2值的变异系数(CV)进行计算,结果如表5所示,由表5可知,实验组和对照组的CV值均在10%以下,且实验组的CV值比对照组的更低,因此,样品垫处理液中添加溴甲酚绿乙醇溶液能够在一定程度上提高试剂均一性,保证了良好的实验效果。

[0084] 表5对照组与实验组的变异系数对比表

[0085]	待测样品 浓度 (ng/ml)	35000	10000	5000	1000	200	30	35000
	对照组 CV(%)	4.69	5.54	8.31	8.93	7.57	9.23	4.69
	实验组 CV(%)	2.83	3.31	3.65	8.48	5.86	4.6	2.83

[0086] 表6信号值偏差对比表

[0087]

待测样品 浓度 (ng/ml)	T1 均值	T2 均 值	T 值 偏差	C1 均值	C2 均值	C 值 偏差	T1/C1 均值	T2/C2 均值	T/C 偏差
35000	9823	12326	25%	3197	2972	-7%	3.074	4.151	35%
10000	8095	10103	25%	5217	4514	-13%	1.553	2.238	44%
5000	5636	6714	19%	5518	4365	-21%	1.02	1.536	51%

[0088]

1000	2233	2206	-1%	5867	4305	-27%	0.38	0.514	35%
200	673	953	42%	5353	4455	-17%	0.126	0.214	70%
30	425	816	92%	6501	6599	2%	0.065	0.124	91%
0	1648	436	-74%	7225	6609	-9%	0.076	0.066	-13%

[0089] 如表6所示,实验组的T2均值高于对照组的T1均值,实验组的C2均值低于对照组的C1均值,且T2/C2均值的梯度更明显,对照组0点与最低点区分不开,而实验组能够较好地地区分开,由此可见,样品垫处理液中添加溴甲酚绿,能够在一定程度上提高抗原抗体反应的亲和力,提高了检测灵敏度。

[0090] 以样品浓度为横坐标,T1/C1均值为纵坐标,进行四参数曲线拟合,得到方程:

[0091] $y = 10.53 / [1 + (x/126483.59)^{-0.7}] + 0.026$, $R^2 = 0.9999$

[0092] 以样品浓度为横坐标,T2/C2均值为纵坐标,进行四参数曲线拟合,得到方程:

[0093] $y = 8.37 / [1 + (x/37685.53)^{-0.79}] + 0.083$, $R^2 = 0.9998$

[0094] 上述结果表明,实验组的回归系数 R^2 与对照组的回归系数 R^2 相当,均满足要求。

[0095] 用以上曲线方程分别拟合各自的T/C值(即y值),得出拟合浓度(即x值),以样品浓度为横坐标,拟合浓度为纵坐标,做散点图,并计算相关系数。参见图4所示,对照组的线性回归方程为 $y = x - 0.3007$,相关系数 $r = 1$;参见图5所示,实验组的线性回归方程为 $y = 1.0011x + 7.5958$,相关系数 $r = 0.9999$ 。

[0096] 以上结果表明,实验组的样品浓度与拟合浓度的相关系数和对照组的样品浓度与拟合浓度的相关系数相当,可见实施例一提供的荧光免疫层析试纸条在提高试剂灵敏度的情况下,不影响检测准确度。

[0097] 实验例3

[0098] 与实验例1的区别是,所测定的样品及样品浓度不同,本实验例采用的样品为心肌钙蛋白I (cTnI),不同样品浓度对应的检测线信号值和质控线信号值见表7所示。

[0099] 表7不同样品浓度对应的检测线信号值和质控线信号值

[0100]

待测样品 浓度 (ng/ml)	T1	C1	T1/ C1	T2	C2	T2/ C2
50	4144	393	10.545	5442	624	8.721
	4231	382	11.076	5333	612	8.714
	4632	380	12.189	5442	664	8.196
20	2920	542	5.387	3569	722	4.943
	3920	627	6.252	3747	700	5.353
	3462	538	6.435	3533	758	4.661
10	2283	508	4.494	2706	885	3.058
	2724	627	4.344	2760	903	3.056
	2733	644	4.244	2706	903	2.997
5	1868	777	2.404	1529	1001	1.527
	1540	684	2.251	1544	1031	1.498
	2058	830	2.480	1498	1031	1.453
1	358	695	0.515	444	1167	0.380
	487	901	0.541	462	1144	0.404
	475	889	0.534	444	1214	0.366
0.5	221	881	0.251	238	1236	0.193
	299	1099	0.272	243	1236	0.197
	261	960	0.272	253	1174	0.216
0.1	53	1021	0.052	60	1226	0.049
	52	1032	0.050	73	1299	0.056
	57	1095	0.052	65	1379	0.047
0	0	991	0.000	7	1216	0.006
	8	1182	0.007	9	1192	0.008
	10	1072	0.009	10	1220	0.008

[0101] 对表7中的数据进行均一性分析,对每个样品浓度所对应的三组T1/C1值和T2/C2值的变异系数(CV)进行计算,结果如表8所示,由表8可知,实验组和对照组的CV值均在10%以下,满足实验的一般要求,因此,样品垫处理液中添加溴甲酚绿乙醇溶液不会影响试剂均一性,保证了良好的实验效果。

[0102] 表8对照组与实验组的变异系数对比表

[0103]	待测样品 浓度 (ng/ml)	50	20	10	5	1	0.5	0.1
	对照组 CV(%)	7.45	9.29	2.89	4.89	2.5	4.6	1.8
	实验组 CV(%)	3.53	6.98	1.15	2.51	5.01	6.08	9.45

[0104] 表9信号值偏差对比表

[0105]

待测样品 浓度 (ng/ml)	T1 均值	T2 均值	T 值偏 差	C1 均值	C2 均值	C 值 偏差	T1/C1 均值	T2/C2 均值	T/C 偏差
50	4336	5406	24.68%	385	633	64%	11.27	8.544	-24%
20	3434	3616	5.30%	569	727	28%	6.025	4.986	-17%
10	2580	2724	5.58%	593	897	51%	4.361	3.037	-30%
5	1822	1924	5.60%	764	1021	34%	2.378	1.493	-37%
1	440	450	2.27%	828	1175	42%	0.53	0.383	-28%
0.5	260	245	-5.77%	980	1215	24%	0.265	0.202	-24%
0.1	54	66	22.22%	1049	1335	27%	0.051	0.051	0%
0	6	9	50.00%	1082	1209	12%	0.005	0.007	40%

[0106] 如表9所示,实验组的T2均值和C2均值分别高于对照组的T1均值和C1均值,且C2均值升高更明显,由此可见,在获得同等强度的信号值时,采用实施例一提供的试纸条进行检测时,能够更节约包被抗体,检测灵敏度更高。

[0107] 以样品浓度为横坐标,T1/C1均值为纵坐标,进行四参数曲线拟合,得到方程:

[0108] $y = 233.51 / [1 + (x/5236.05)^{-0.64}] - 0.32, R^2 = 0.9973$

[0109] 以样品浓度为横坐标,T2/C2均值为纵坐标,进行四参数曲线拟合,得到方程:

[0110] $y = 14.86 / [1 + (x/38.08)^{-1.06}] + 0.042, R^2 = 0.9996$

[0111] 上述结果表明,实验组的回归系数 R^2 高于对照组的回归系数 R^2 ,由此可知,实施例一提供的荧光免疫层析试纸条对比比例提供的试纸条的性能更优越。

[0112] 用以上曲线方程分别拟合各自的T/C值(即y值),得出拟合浓度(即x值),以样品浓度为横坐标,拟合浓度为纵坐标,做散点图,并计算相关系数。参见图6所示,对照组的线性回归方程为 $y = 1.0003x + 0.0048$,相关系数 $r = 0.998$;参见图7所示,实验组的线性回归方程为 $y = 1.0007x - 0.0055$,相关系数 $r = 0.9998$ 。

[0113] 以上结果表明,实验组的样品浓度与拟合浓度的相关系数和对照组的样品浓度与拟合浓度的相关系数相当,可见实施例一提供的荧光免疫层析试纸条在提高试剂灵敏度的情况下,不影响检测准确度。

[0114] 实施例二

[0115] 参见图8所示,本实施例也提供了一种荧光免疫层析试纸条,本实施例的荧光免疫

层析试纸条是在实施例一的基础上的改进,除此之外的实施例一的技术方案也属于该实施例,在此不再重复描述。相同的零部件使用与实施例一相同的附图标记,在此参照对实施例一的描述。

[0116] 进一步地,在某些实施例中,还包括固定件,固定件压合覆盖在样品垫102、荧光垫103和硝酸纤维素膜104的上方,其中,固定件的一端位于样品垫102的两端之间,固定件的另一端位于荧光垫103的相对的另一侧边与检测线106之间。通过设置固定件,不仅能够使样品垫102、荧光垫103以及硝酸纤维素膜104相对位置更稳固,防止样品垫102、荧光垫103或硝酸纤维素膜104在使用时位置发生偏移,造成检测失效,而且还能够提高荧光垫103释放的均一性以及抗原与抗体反应的充分性,从而提高检测灵敏度,缩短展层时间并改善展层效果。

[0117] 可选地,固定件只需要覆盖到硝酸纤维素膜104上1-2mm宽即可,其他部分则粘贴覆盖在荧光垫103和样品垫102上,对于固定件与样品垫102的重叠部分的宽度,可以根据需要适当选取。

[0118] 进一步地,在某些实施例中,固定件为隐形胶带108。

[0119] 与传统的透明胶带相比,隐形胶带108粘度较低,组装起来更容易操作,可以实现返工操作,而透明胶带则是一次性粘贴,不允许返工操作。隐形胶带108的设置很好的控制了检测试剂的重复性和精密度。

[0120] 实施例三

[0121] 参见图9所示,本实施例提供了一种试剂卡,包括壳体和本发明实施例一提供的荧光免疫层析试纸条,荧光免疫层析试纸条位于壳体的内部。

[0122] 本实施例提供的试剂卡,由于使用了本发明实施例一提供的荧光免疫层析试纸条,具有较高的检测灵敏度,且检测效率和准确率较高。

[0123] 进一步地,在某些实施例中,壳体包括上盖109和底壳,上盖109盖合于底壳上,上盖109设置有加样孔110和观察窗口111,样品垫102位于加样孔110的下方,检测线106和质控线107位于观察窗口111的下方。

[0124] 通过加样孔110能够直接观察到样品垫102的颜色,从而快速得知是否加过样品。检测线106和质控线107从观察窗口111露出,便于用仪器检测吸光度。

[0125] 需要说明的是,本实施例提供的试剂卡,也可采用实施例二提供的荧光免疫层析试纸条。

[0126] 最后应说明的是:以上各实施例仅用以说明本发明的技术方案,而非对其限制;尽管参照前述各实施例对本发明进行了详细的说明,本领域的普通技术人员应当理解:其依然可以对前述各实施例所记载的技术方案进行修改,或者对其中部分或者全部技术特征进行等同替换;而这些修改或者替换,并不使相应技术方案的本质脱离本发明各实施例技术方案的范围。

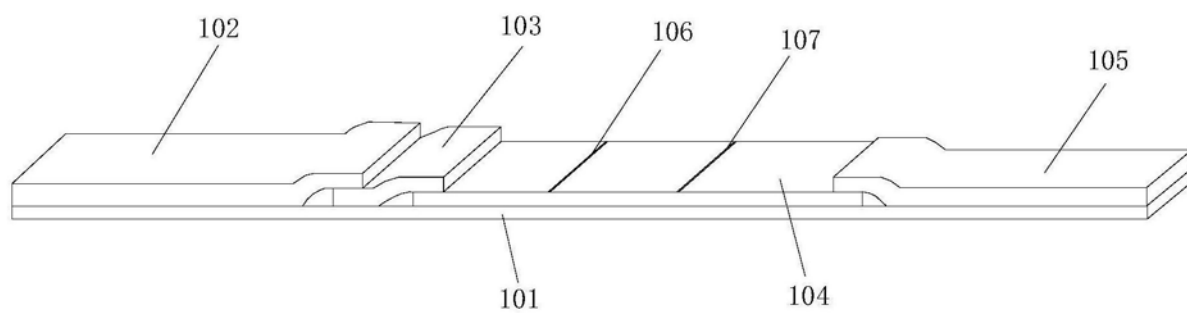


图1

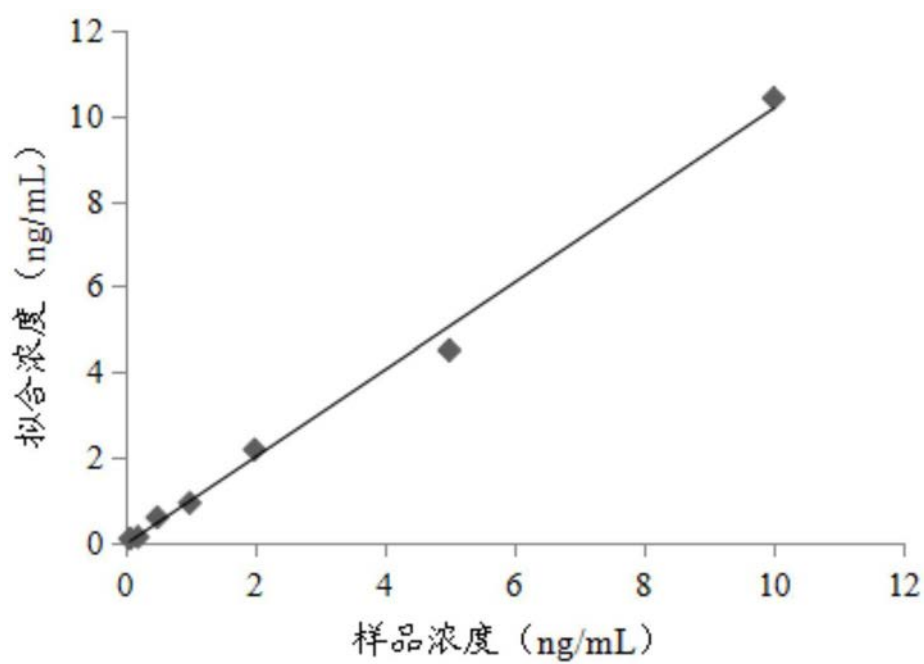


图2

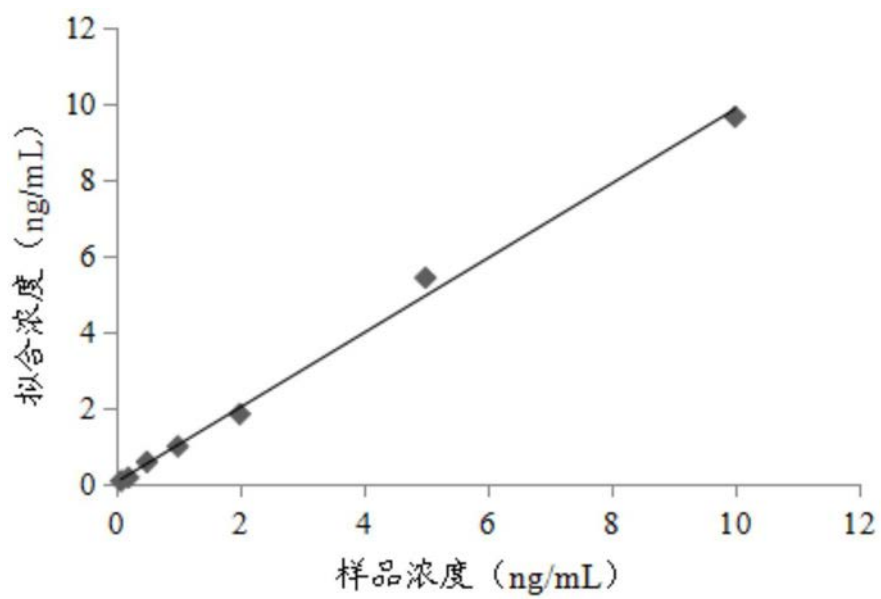


图3

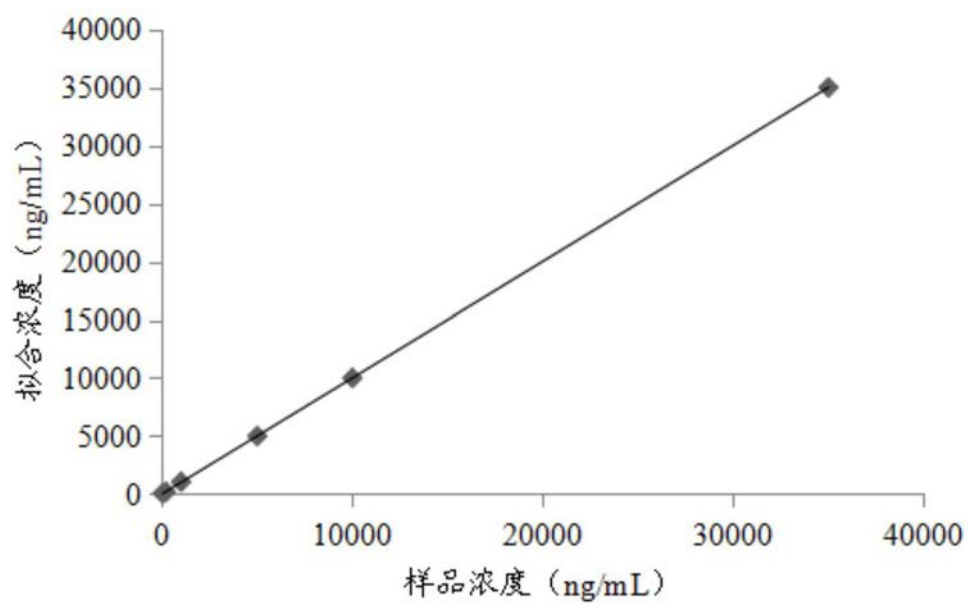


图4

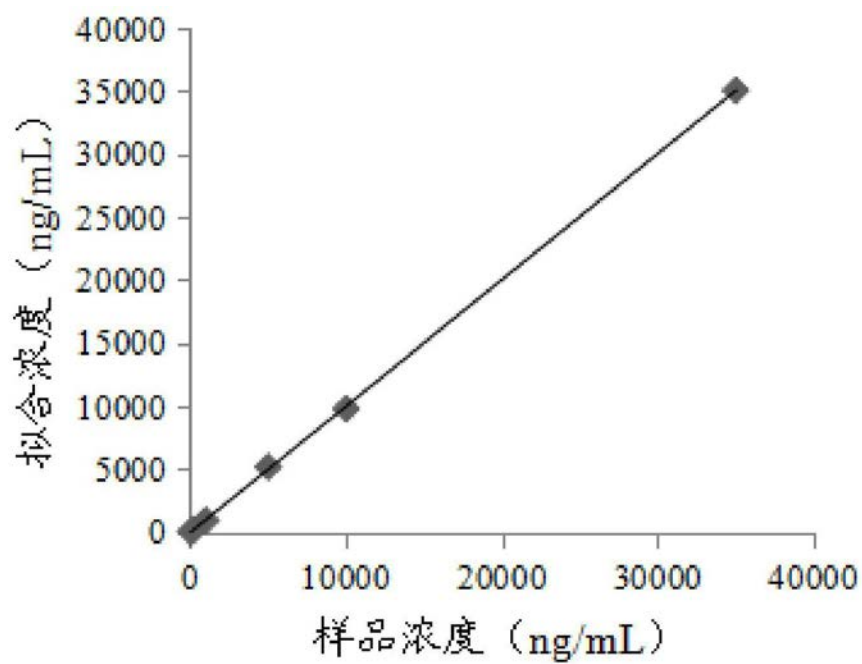


图5

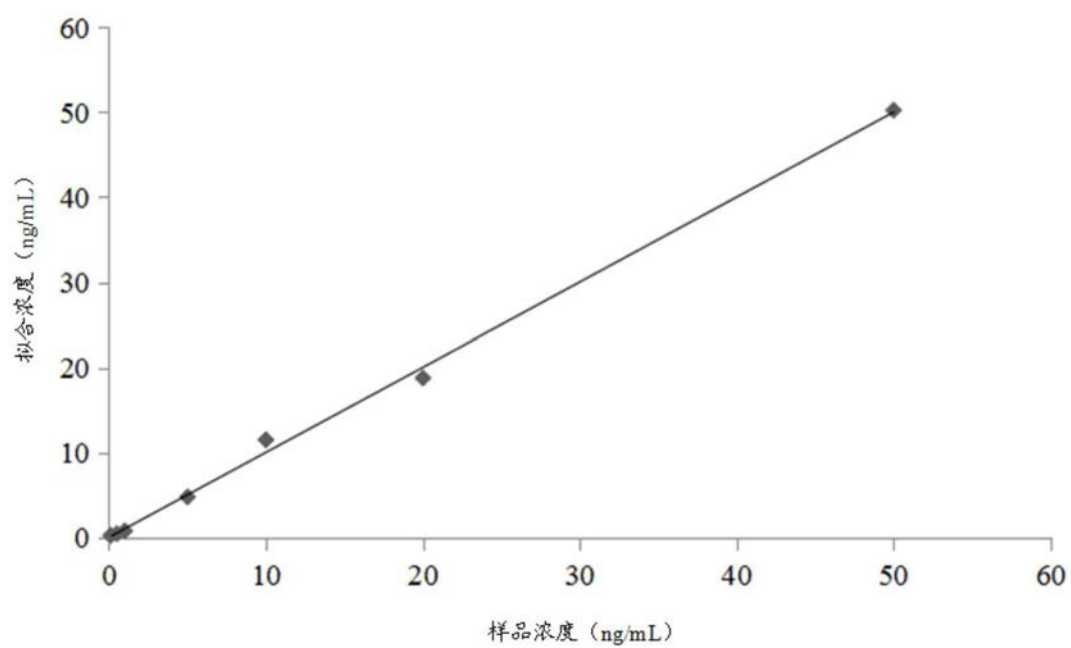


图6

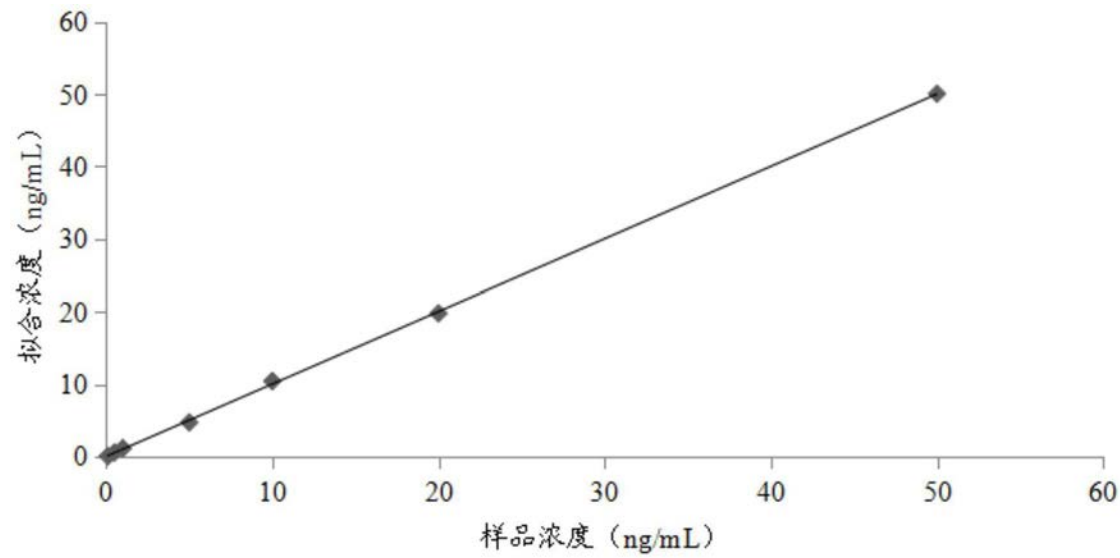


图7

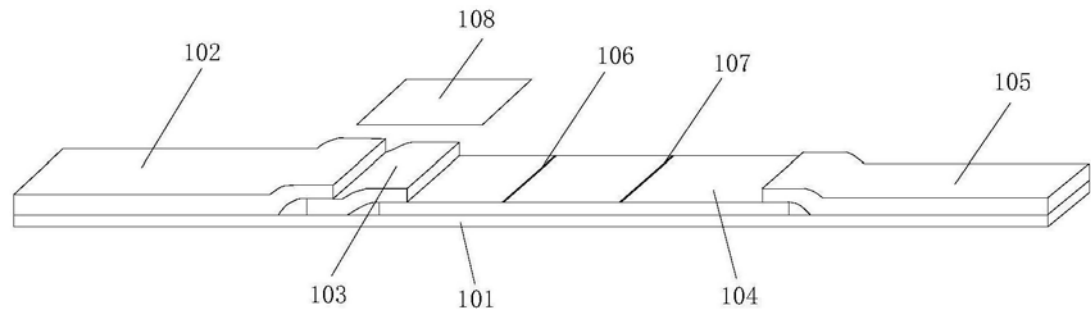


图8

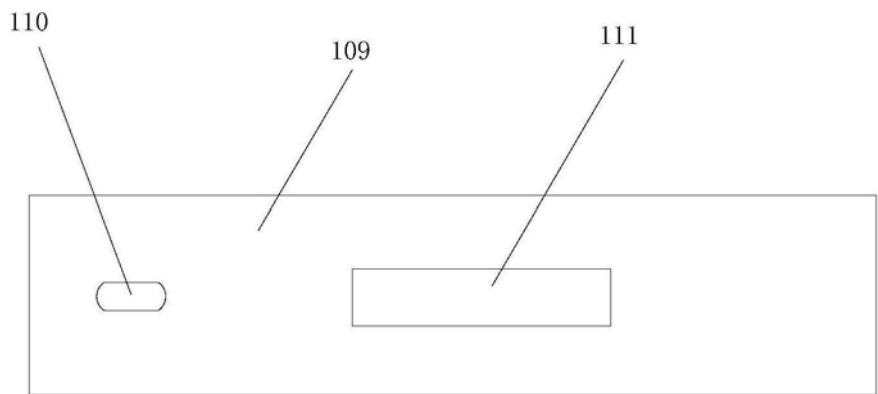


图9

专利名称(译)	荧光免疫层析试纸条及试剂卡		
公开(公告)号	CN108918865A	公开(公告)日	2018-11-30
申请号	CN201810491770.9	申请日	2018-05-21
[标]发明人	董常慧 王昊 杨玮 刘琦 冯建敏 张林杰		
发明人	董常慧 王昊 杨玮 刘琦 冯建敏 张林杰		
IPC分类号	G01N33/558 G01N33/533 G01N33/543		
CPC分类号	G01N33/558 G01N33/533 G01N33/54306		
代理人(译)	杨勋		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及免疫检测技术领域，尤其是涉及一种荧光免疫层析试纸条及试剂卡。荧光免疫层析试纸条，包括底板，底板上沿其长度方向顺次设置有样品垫、荧光垫、硝酸纤维素膜和吸样垫；样品垫与荧光垫部分重叠，荧光垫与硝酸纤维素膜部分重叠，且荧光垫的一侧边位于样品垫的下方，荧光垫的相对的另一侧边位于硝酸纤维素膜的一侧边的上方；硝酸纤维素膜与吸样垫部分重叠，且硝酸纤维素膜的相对的另一侧边位于吸样垫的下方；硝酸纤维素膜上设置有检测线和质控线，且检测线靠近荧光垫；样品垫采用样品垫处理液处理，样品垫处理液中含有0.1%~0.5%的浓度为10%的溴甲酚绿乙醇溶液。本发明具有较高的检测灵敏度，且检测效率和准确率较高。

