

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C12Q 1/00

C12Q 1/54

C12Q 1/28

G01N 33/53



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03813861.1

[43] 公开日 2005 年 8 月 31 日

[11] 公开号 CN 1662659A

[22] 申请日 2003.6.13 [21] 申请号 03813861.1

[30] 优先权

[32] 2002.6.15 [33] US [31] 10/173,457

[86] 国际申请 PCT/US2003/018726 2003.6.13

[87] 国际公布 WO2003/106968 英 2003.12.24

[85] 进入国家阶段日期 2004.12.14

[71] 申请人 艾康实验室公司

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 J-N·林 C-L·王

[74] 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司

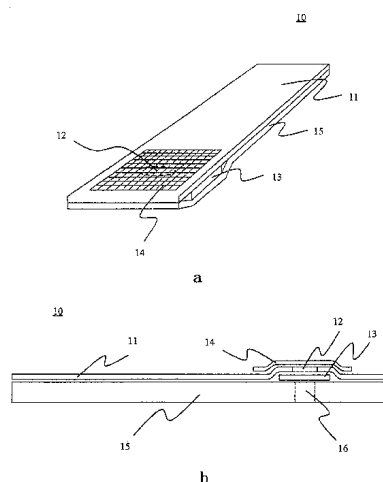
代理人 赵蓉民 路小龙

权利要求书 7 页 说明书 21 页 附图 7 页

[54] 发明名称 用于测定分析物的测试条及使用方
法

[57] 摘要

本发明的一个方面是试剂测试条，包括：a) 一个顶部支撑层，其包括一个试样孔；b) 一个隔膜，其包括一个指示目标物浓度的试剂体系；c) 一个扩散层；d) 一个底部支撑层，其包括一个与所述试样孔基本对准或近似对准的测量口。优选地，隔膜被固定到顶部支撑层；隔膜位于顶部支撑层和底部支撑层之间；扩散层位于顶部支撑层上方，且与试样孔基本对准或近似对准；以及，加到所述扩散层上的流体穿过试样孔并与隔膜相接触。图(1)显示本发明的测试条的优选实施方案的透视图和侧视图。



ISSN 1008-4274

1. 试剂测试条，包括：
 - a. 一个顶部支撑层，其包括一个试样孔；
 - b. 一个隔膜，其包括一个指示目标物浓度的试剂体系；
 - c. 一个扩散层；
 - 5 d. 一个底部支撑层，其包括一个与所述试样孔基本对准或近似对准的测量口；
- 其中所述的隔膜固定到所述的顶部支撑层；
- 进一步地，其中所述的隔膜位于所述的顶部支撑层和所述的底部支撑层之间；
- 10 进一步地，其中所述的扩散层位于所述的顶部支撑层上方，且与所述的试样孔基本对准或近似对准；以及
- 更进一步地，其中加到所述扩散层上的流体穿过所述的试样孔并与所述的隔膜相接触。
2. 根据权利要求1的试剂测试条，其中所述的隔膜是亲水性的。
- 15 3. 根据权利要求1的试剂测试条，其中所述的隔膜基本能排斥血细胞。
4. 根据权利要求1的试剂测试条，其中所述的所述的隔膜是对称性隔膜或非对称性隔膜。
5. 根据权利要求1的试剂测试条，其中所述的隔膜包括聚砜、聚醚砜、尼龙，或硝化纤维。
- 20 6. 根据权利要求1的试剂测试条，其中所述的试剂体系包括酶。
7. 根据权利要求1的试剂测试条，其中所述的酶为葡萄糖氧化酶。
8. 根据权利要求1的试剂测试条，其中所述的酶是辣根过氧化物酶。

9. 根据权利要求 1 的试剂测试条, 其中所述的试剂体系包括葡萄糖氧化酶和辣根过氧化物酶。

10. 根据权利要求 1 的试剂测试条, 其中所述的试剂体系包括能形成发色团的底物。

5 11. 根据权利要求 10 的试剂测试条, 其中所述的底物是 APP 和 MAOS。

12. 根据权利要求 10 的试剂测试条, 其中所述的发色团由测定反射率而检测。

10 13. 根据权利要求 12 的试剂测试条, 其中所述的反射率指示了所述目标物的浓度。

14. 根据权利要求 12 的试剂测试条, 其中所述的发射率在所述隔膜上直接检测。

15. 根据权利要求 10 的试剂测试条, 其中所述的发色团吸收波长范围为从约 500 nm 到约 800 nm 的光。

15 16. 根据权利要求 10 的试剂测试条, 其中所述的发色团吸收波长范围为从约 600 nm 到约 700 nm 的光。

17. 根据权利要求 1 的试剂测试条, 其中所述的目标物是生物组成部分或化学组成部分。

20 18. 根据权利要求 1 的试剂测试条, 其中所述的目标物是蛋白质或核酸。

19. 根据权利要求 1 的试剂测试条, 其中所述的目标物是葡萄糖。

20. 根据权利要求 1 的试剂测试条, 其中所述的扩散层是亲水性的。

21. 根据权利要求 1 的试剂测试条，其中所述的流体包括全血。
22. 根据权利要求 1 的试剂测试条，其中所述的测试条减少了所述流体穿过所述膜造成的湿透性。
23. 试剂测试条，包括：
- 5 a. 一个顶部支撑层，其包括一个试样孔；
- b. 一个隔膜，其包括一个指示目标物浓度的试剂体系；
- c. 至少一个垫片，其能减少所述隔膜和表面之间的接触；以及
- 其中所述的隔膜固定到所述的顶部支撑层之下，且与所述的试样孔基本对准或近似对准。
- 10 24. 测定试样中目标物存在或浓度的方法，包括下列步骤：
- a. 将被怀疑含有目标物的流体加到权利要求 1 的试剂测试条 10 上；
- b. 通过所述测量口检测所述隔膜的反射率；以及
- c. 测定目标物的存在或浓度。
- 15 25. 根据权利要求 24 的测定试样中目标物存在或浓度的方法，其中测定存在或浓度的步骤包括测量发色团的吸光度。
26. 测定试样中目标物浓度的方法，包括下列步骤：
- a. 从权利要求 1 的试剂测试条测定干燥试条读数；
- 20 b. 运行预编程的阈值循环指令；
- c. 测定第一反射率测量值；
- d. 运行预编程的动力学循环指令；
- e. 确定目标物存在与否或测定目标物浓度；
- 25 其中所述的阈值循环指令包括下列步骤：
- 测定阈值比较测量值；
- 比较所述的阈值比较测量值和预定的阈值；
- 重复循环直至所述的阈值比较测量值小于或等于所述的预定阈

值;

进一步地, 其中在运行所述的阈值循环指令的步骤期间加入被怀疑包括目标物的流体;

5

进一步地, 其中所述的测定循环指令包括下列步骤:

测定第二反射率测量值;

比较所述的第一反射率测量值和所述的第二反射率测量值;

如果所述的比较结果小于或等于预定的截止值, 则结束循环;

10

将所述的第一反射测量值替换为所述的第二反射率测量值; 以及重复循环。

27. 根据权利要求 26 的方法, 其中测定所述目标物存在与否或测定目标物浓度的步骤包括采用所述第二反射率测量值计算浓度。

28. 测定试样中目标物浓度的方法, 包括下列步骤:

15

a. 从本发明的试剂测试条测定干燥试条读数;

b. 运行预编程的阈值循环指令;

c. 测定第一反射率测量值;

d. 运行预编程的动力学循环指令;

20

e. 运行连续比较指令;

e. 确定目标物存在与否或确定目标物浓度;

其中所述的阈值循环指令包括下列步骤:

测定阈值比较测量值;

25

比较所述的阈值比较测量值和预定的阈值;

重复循环直至所述的阈值比较测量值小于或等于所述的预定阈值;

30

进一步地, 其中在运行所述的阈值循环指令的步骤期间加入被怀疑包括目标物的流体;

进一步地，其中所述的动力学循环指令包括下列步骤：

测定第二反射率测量值；

比较所述的第一反射率测量值和所述的第二反射率测量值；

5 如果所述的比较结果小于或等于预定的截止值，则结束循环；

将所述的第一反射测量值替换为所述的第二反射率测量值；以及
重复循环；

进一步地，其中所述的连续比较指令包括下列步骤：

10 测定第三反射率测量值；

比较所述的第二反射率测量值和所述的第三反射率测量值；

如果所述的比较结果小于所述的预定截止值，则结束连续比较指
令；

15 将所述的第一反射测量值替换为所述的第三反射率测量值；以及
回到运行动力学循环指令的步骤中。

29. 测定试样中目标物浓度的方法，包括下列步骤：

a. 从权利要求 1 的试剂测试条测定干燥试条读数；

b. 运行预编程的阈值循环指令；

20 c. 开始一个预定的时间点，从而能达到一个固定的时间点；

d. 测定第一反射率测量值；

e. 运行预编程的动力学循环指令；

f. 测定目标物存在与否或测定其浓度；

25 其中所述的阈值循环指令包括下列步骤：

测定阈值比较测量值；

比较所述的阈值比较测量值和预定的阈值；

重复循环直至所述的阈值比较测量值小于或等于所述的预定阈
值；

30

进一步地，其中在运行所述的阈值循环指令的步骤期间加入被怀

疑包括目标物的流体；

进一步地，其中所述的动力学循环指令包括下列步骤：

测定第二反射率测量值；

5 比较所述的第一反射率测量值和所述的第二反射率测量值；

如果所述的第二反射率测量值小于或等于预定的截止值，或如果达到了所述的固定时间点，则结束循环；

将所述的第一反射测量值替换为所述的第二反射率测量值；以及重复循环。

10 30. 测定试样中目标物浓度的方法，包括下列步骤：

a. 从本发明的试剂测试条测定干燥试条读数；

b. 运行预编程的阈值循环指令；

c. 开始一个预定的时间点，从而能达到一个固定的时间点；

15 d. 测定第一反射率测量值；

e. 运行预编程的动力学循环指令；

f. 运行连续比较指令；

f. 测定目标物存在与否或测定其浓度；

20 其中所述的阈值循环指令包括下列步骤：

测定阈值比较测量值；

比较所述的阈值比较测量值和预定的阈值；

重复循环直至所述的阈值比较测量值小于或等于所述的预定阈值；

25

进一步地，其中在运行所述的阈值循环指令的步骤期间加入被怀疑包括目标物的流体；

进一步地，其中所述的动力学循环指令包括下列步骤：

30 测定第二反射率测量值；

比较所述的第一反射率测量值和所述的第二反射率测量值；

如果所述的第二反射测量值小于或等于预定的截止值，或者如果达到了所述的固定时间点，则结束循环；

将所述的第一反射测量值替换为所述的第二反射率测量值；以及重复循环；

5

进一步地，其中所述的连续比较指令包括下列步骤：

测定第三反射率测量值；

比较所述的第二反射率测量值和所述的第三反射率测量值；

如果所述的比较结果小于所述的预定截止值，或者如果达到了所述的固定时间点，则结束连续比较指令；

将所述的第一反射测量值替换为所述的第三反射率测量值；以及回到运行动力学循环指令的步骤中。

31. 测定试样中目标物浓度的方法，包括下列步骤：

15

a. 从本发明的试剂测试条 10 测定干燥试条读数；

b. 运行预编程的阈值循环指令；

c. 开始一个预定的时间点，从而能达到一个固定的时间点；

d. 当达到所述的固定时间点时，测定试样中的目标物存在与否或测定其浓度；

20

其中所述的阈值循环指令包括下列步骤：

测定阈值比较值；

比较所述的阈值比较值和预定的阈值；

重复循环直至所述的阈值比较值小于或等于所述的预定阈值；以

25 及

进一步地，其中在运行所述的阈值循环指令的步骤期间加入被怀疑包括目标物的流体。

用于测定分析物的测试条及使用方法

技术领域

- 5 本发明一般涉及测试条装置及检测分析物的方法的所属领域。更具体地，本发明涉及用于对全血中的葡萄糖进行比色检测的测试条和使用方法。

背景技术

- 10 用于检测试样中的分析物的测试条有很多种可以使用，并描述在文献中。在这些测试条中，有很多种可用于检测全血中的葡萄糖。然而，这些装置存在很多缺点。有些需要在测试条上施加较大试样体积，有些存在湿透问题，而有些又会导致测试条托盘的污染。本发明致力于解决这些问题，并提供相关的益处。

15

附图说明

- 图 1a 和图 1b 是本发明一种测试条的优选实施方式的透视侧景图。
图 2 是本发明一种测试条的一个替换优选实施方式的侧视图。
图 3 是使用动态终点测量法测定某个目标是否存在或测定其浓度的方法的一个优选实施方式的方框图。
20 图 4 是使用动态终点测量法测定某个目标是否存在或测定其浓度的方法的另一个优选实施方式的方框图。
图 5 是使用固定时间点动态测量法测定某个目标是否存在或测定其浓度的方法的一个优选实施方式的方框图。
25 图 6 是使用固定时间点动态测量法测定某个目标是否存在或测定其浓度的方法的另一个优选实施方式的方框图。

发明内容

- 30 本发明认识到，通过改变测试条的设计可对传统的测试条设计进行改进，以减轻润透问题并减少污染问题。本发明提供了这样的设备

及使用方法。

本发明的第一方面是一种试剂测试条，其包括：a) 一个顶部支撑层，其包括一个试样孔；b) 一个隔膜，其包括一个指示目标物浓度的试剂体系；c) 一个扩散层；以及 d) 一个底部支撑层，其包括一个与所述试样孔基本对准或近似对准的测量口。优选地，所述隔膜固定到所述顶部支撑层。优选地，所述隔膜位于所述顶部支撑层和所述底部支撑层之间。优选地，所述扩散层位于所述顶部支撑层之上，并与试样孔基本上或近似地对准。优选地，一种液体被施加到所述扩散层上，其通过试样孔，与隔膜接触。

10 本发明的第二方面是测定试样中目标物存在与否或测定目标物浓度的方法，其包括下列步骤：a) 将被怀疑含有目标物的流体加到本发明的试剂测试条上；b) 检测隔膜的反射率；以及 c) 测定目标物存在与否或测定目标物浓度。

15 本发明的第三方面是测定试样中目标物的浓度的方法，其包括下列步骤：a) 从本发明的试剂测试条测出干燥试条读数；b) 运行预编程的阈值循环指令；c) 测出第一反射率测量值；d) 运行预编程的动力学循环指令；和 e) 测定目标物存在与否或测定目标物浓度。优选地，阈值循环指令包括下列步骤：测定阈值比较测量值；比较阈值比较测量值和预定的阈值；以及重复循环直至阈值比较测量值小于或等于预定的阈值。优选地，在运行阈值循环指令的步骤期间，加入被怀疑包括目标物的流体。优选地，测定循环指令包括下列步骤：测定第二反射率测量值；比较第一反射率测量值和第二反射率测量值；如果比较结果小于或等于预定的截止值，则结束循环；将第一反射测量值替换为第二反射率测量值；以及重复循环。

25 本发明的第四方面是测定试样中目标物浓度的方法，该方法包括下列步骤：a) 从本发明的试剂测试条测定干燥试条读数；b) 运行预编程的阈值循环指令；c) 测定第一反射率测量值；d) 运行预编程的动力学循环指令；以及 e) 运行连续比较指令；f) 测定目标物存在与否或测定目标物浓度。优选地，阈值循环指令包括下列步骤：测定阈值比较测量值；比较阈值比较测量值和预定的阈值；以及重复循环直至阈值比较测量值小于或等于预定的阈值。优选地，在运行阈值循环指令的

30

步骤期间，加入被怀疑包括目标物的流体。优选地，动力学循环指令包括下列步骤：测定第二反射率测量值；比较第一反射率测量值和第二反射率测量值；如果比较结果小于或等于预定的截止值，则结束循环；将第一反射测量值替换为第二反射率测量值；以及重复循环。优选地，连续比较指令包括下列步骤：测定第三反射率测量值；比较第二反射率测量值和第三反射率测量值；如果比较结果小于预定的截止值，则结束连续比较指令；将第一反射测量值替换为第三反射率测量值；以及回到运行动力学循环指令的步骤中。

本发明的第五个方面是测定试样中目标物浓度的方法，该方法包括下列步骤：a) 从本发明的试剂测试条测定干燥试条读数；b) 运行预编程的阈值循环指令；c) 开始一个预定的时间点，从而能达到一个固定的时间点；d) 测定第一反射率测量值；e) 运行预编程的动力学循环指令；以及 f) 测定目标物存在与否或测定目标物浓度。优选地，阈值循环指令包括下列步骤：测定阈值比较测量值；比较阈值比较测量值和预定的阈值；以及重复循环直至阈值比较测量值小于或等于预定的阈值。优选地，在运行阈值循环指令的步骤期间加入被怀疑包括目标物的流体。优选地，动力学循环指令包括下列步骤：测定第二反射率测量值；比较第一反射率测量值和第二反射率测量值；如果比较结果小于或等于预定的截止值，或如果达到了固定时间点，则结束循环；将第一反射测量值替换为第二反射率测量值；以及重复循环。

本发明的第六方面是测定试样中目标物浓度的方法，该方法包括下列步骤：a) 从本发明的试剂测试条测定干燥试条读数；b) 运行预编程的阈值循环指令；c) 开始一个预定的时间点，从而能达到一个固定的时间点；d) 测定第一反射率测量值；e) 运行预编程的动力学循环指令；f) 运行连续比较指令；以及 g) 测定目标物存在与否或测定其浓度。优选地，阈值循环指令包括下列步骤：测定阈值比较测量值；比较阈值比较测量值和预定的阈值；以及重复循环直至阈值比较测量值小于或等于预定的阈值。优选地，在运行阈值循环指令的步骤期间加入被怀疑包括目标物的流体。优选地，动力学循环指令包括下列步骤：测定第二反射率测量值；比较第一反射率测量值和第二反射率测量值；如果第二反射测量值小于或等于预定的截止值，或者如果达到了固定

的时间点，则结束循环；将第一反射测量值替换为第二反射率测量值；以及重复循环。优选地，连续比较指令包括下列步骤：测定第三反射率测量值；比较第二反射率测量值和第三反射率测量值；如果比较结果小于预定的截止值，或者如果达到了固定的时间点，则结束连续比较指令；将第一反射测量值替换为第三反射率测量值；以及回到运行动力学循环指令的步骤中。

本发明的第七个方面是测定试样中目标物浓度的方法，该方法包括下列步骤：a) 从本发明的试剂测试条测定干燥试条读数；b) 运行预编程的阈值循环指令；c) 开始一个预定的时间点，从而能达到一个固定的时间点；以及 d) 当达到固定时间点时，测定试样中的目标物存在与否或测定其浓度。优选地，阈值循环指令包括下列步骤：测定阈值比较测量值；比较阈值比较测量值和预定的阈值；以及重复循环直至阈值比较测量值小于或等于预定的阈值。优选地，在运行阈值循环指令的步骤期间加入被怀疑包括目标物的流体。

15

发明详述

定义

除非另行说明，本文中所采用的所有技术术语的意义与本发明所属技术领域的技术人员通常理解的意义相同。一般来说，本文中所采用的术语和下述的工厂或实验室工艺都是公知的，也是本领域所通常采用的。这些工艺中采用了常规方法，如本领域和大量普通的参考文献中所提供的方法。方向性术语如“上(up)”和“下(down)”或“上面(upper)”和“下面(lower)”和类似术语是指设备使用期间各部件的方向。当所采用的术语为单数时，发明人也预示了包括该术语的复数形式。本文中采用的术语和下述的实验室工艺是公知的，也是本领域所通常采用的。除非另行说明，应该理解整篇公开内容中所采用的以下术语具有如下的意义：

本文中所采用的术语“湿透”是指当隔膜负载过多流体时，流体具有四处迁移或过度穿过隔膜的趋势。湿透可导致测定之间的差异。

本文中所采用的术语“循环指令”是指计算设备可重复执行直到满足某个条件的一组编程命令。该条件可以为循环指令的组成部分，

从而使所执行的循环数随着加入到测试条的不同试样而发生变化。

本文中所采用的术语“阈值”是指绝对原始值，从而能测定阈值比较测量值并直接进行比较。阈值是设备中预定和预编程的，且不要
5 求例如确定反射率等的进一步计算。一旦阈值比较测量值小于或等于
阈值，则结束阈值循环指令。

本文中所采用的其它技术术语具有本领域中的通常意义，例如各种技术词典中所采用的意义。

介绍

本发明认识到通过改变测试条的设计，可能会改进传统测试条的
10 设计，以减少湿透问题和减少污染问题。本发明提供了这样的设备和
使用方法。

作为对本发明的广度的非限定性介绍，本发明包括几个一般和有
用的方面，其包括：

15 1) 试剂测试条，其包括：a) 一个顶部支撑层，其包括一个试样孔；
b) 一个隔膜，其包括一个指示目标物浓度的试剂体系；c) 一个扩散层；
和 d) 一个底部支撑层，其包括一个与所述试样孔基本对准或近似对准
的测量口；

20 2) 测定试样中目标物存在与否或测定目标物浓度的方法，其包括
下列步骤：a) 将被怀疑含有目标物的流体加到本发明的试剂测试条上；
b) 测定隔膜的反射率；以及 c) 测定目标物存在与否或测定目标物浓
度；

25 3) 测定试样中目标物的浓度的方法，其包括下列步骤：a) 从本发
明的试剂测试条测出干燥试条读数；b) 运行预编程的阈值循环指令；
c) 测出第一反射率测量值；d) 运行预编程的动力学循环指令；e) 测
定目标物存在与否或测定目标物浓度；其中该阈值循环指令包括下列
步骤：测定阈值比较测量值；比较阈值比较测量值和预定的阈值；重
30 复循环直至阈值比较测量值小于或等于预定的阈值；进一步地，其中
在运行阈值循环指令的步骤期间加入被怀疑包括目标物的流体；更进

一步地，其中该测定循环指令包括下列步骤：测定第二反射率测量值；比较第一反射率测量值和第二反射率测量值；如果比较结果小于或等于预定的截止值，则结束循环；将第一反射测量值替换为第二反射率测量值；以及重复循环；

5

4) 测定试样中目标物浓度的方法，该方法包括下列步骤：a) 从本发明的试剂测试条测定干燥试条读数；b) 运行预编程的阈值循环指令；c) 测定第一反射率测量值；d) 运行预编程的动力学循环指令；e) 运行连续比较指令；f) 测定目标物存在与否或测定其浓度；其中该阈值循环指令包括下列步骤：

10

测定阈值比较测量值；比较阈值比较测量值和预定的阈值；重复循环直至阈值比较测量值小于或等于预定的阈值；进一步地，其中在运行阈值循环指令的步骤期间加入被怀疑包括目标物的流体；进一步地，其中该动力学循环指令包括下列步骤：测定第二反射率测量值；比较第一反射率测量值和第二反射率测量值；如果比较结果小于或等于预定的截止值，则结束循环；将第一反射测量值替换为第二反射率测量值；以及重复循环；更进一步地，其中该连续比较指令包括下列步骤：测定第三反射率测量值；比较第二反射率测量值和第三反射率测量值；如果比较结果小于预定的截止值，则结束连续比较指令；将第一反射测量值替换为第三反射率测量值；和

15

20

回到运行动力学循环指令的步骤中；

5) 测定试样中目标物浓度的方法，该方法包括下列步骤：a) 从本发明的试剂测试条测定干燥试条读数；b) 运行预编程的阈值循环指令；c) 开始一个预定的时间点，从而能达到一个固定的时间点；d) 测定第一反射率测量值；f) 运行预编程的动力学循环指令；e) 测定目标物存在与否或测定其浓度；其中阈值循环指令包括下列步骤：测定阈值比较测量值；比较阈值比较测量值和预定的阈值；重复循环直至阈值比较测量值小于或等于预定的阈值；进一步地，其中在运行阈值循环指令的步骤期间加入被怀疑包括目标物的流体；更进一步地，其中该动力学循环指令包括下列步骤：测定第二反射率测量值；比较第一反射

25

30

率测量值和第二反射率测量值；如果比较结果小于或等于预定的截止值，或如果达到了固定时间点，则结束循环；将第一反射测量值替换为第二反射率测量值；以及重复循环；

- 5 6) 测定试样中目标物浓度的方法，该方法包括下列步骤：a) 从本发明的试剂测试条测定干燥试条读数；b) 将被怀疑含有目标物的流体加入到试剂测试条上；c) 运行预编程的阈值循环指令；d) 开始一个预定的时间点，从而能达到一个固定的时间点；e) 当达到固定时间点时，测定试样中的目标物存在与否或测定其浓度；其中，阈值循环指令包
10 括下列步骤：测定阈值比较测量值；比较阈值比较测量值和预定的阈值；重复循环直至阈值比较测量值小于或等于预定的阈值；进一步地，其中在运行阈值循环指令的步骤期间加入被怀疑包括目标物的流体；

- 7) 测定试样中目标物浓度的方法，该方法包括下列步骤：a) 从本
15 发明的试剂测试条测定干燥试条读数；b) 运行预编程的阈值循环指令；c) 开始一个预定的时间点，从而能达到一个固定的时间点；d) 测定第一反射率测量值；e) 运行预编程的动力学循环指令；f) 运行连续比较指令；以及 g) 测定目标物存在与否或测定其浓度；其中该阈值循环指令包括下列步骤：测定阈值比较测量值；

- 20 比较阈值比较测量值和预定的阈值；重复循环直至阈值比较测量值小于或等于预定的阈值；进一步地，其中在运行阈值循环指令的步骤期间加入被怀疑包括目标物的流体；进一步地，其中该动力学循环指令包括下列步骤：测定第二反射率测量值；比较第一反射率测量值和第二反射率测量值；如果第二反射测量值小于或等于预定的截止值，
25 或者如果达到了固定的时间点，则结束循环；将第一反射测量值替换为第二反射率测量值；和

- 重复循环；更进一步地，其中该连续比较指令包括下列步骤：测定第三反射率测量值；比较第二反射率测量值和第三反射率测量值；如果比较结果小于预定的截止值，或者如果达到了固定的时间点，则
30 结束连续比较指令；将第一反射测量值替换为第三反射率测量值；以及回到运行动力学循环指令的步骤中。

采用本文中所述实质内容的方法、制造的物品和组合物，可实现本发明的这些方面以及本文中所述的其它方面。为充分理解本发明的范围，应该进一步认识到，可并入本发明的各个方面，而得到本发明的理想实施方式。

I 试剂测试条

参见图 1b，本发明涵盖试剂条 10，它包括：a) 一个顶部支撑层 11，其包括一个试样孔 12；b) 一个隔膜 13，其包括一个指示目标物浓度的试剂体系；c) 一个扩散层 14；和 d) 一个底部支撑层 15，其包括一个与所述试样孔 12 基本对准或近似对准的测量口 16。优选地，隔膜 13 固定到顶部支撑层 11。优选地，隔膜 13 位于顶部支撑层 11 和底部支撑层 15 之间。优选地，扩散层 14 位于顶部支撑层 11 之上，且与试样孔 12 基本或近似对准。优选地，加到扩散层 14 上的流体穿过试样孔 12 并与隔膜 13 相接触。

试剂测试条 10 的每一个部件通常都是独立制造的，然而装配成为所需的结构。装配可包括单个测试条 10 的单独装配，或者可包括装配一组测试条 10，然后将每个测试条剪切成为所需的大小和形状。

采用试剂测试条 10 一般包括将试剂测试条 10 插入到测量设备的测试条托盘上，测出干燥试条读数，将被怀疑含有目标物的流体加到试剂测试条 10 上，以及测出膜的反射率。采用单滴或多滴流体可应用本发明。

顶部支撑层

顶部支撑层 11 可防止样品进入处于穿过试样孔 12 可到达的区域范围之外的隔膜 13，并可提供让使用者能抓住试剂测试条 10 的结构。顶部支撑层 11 大于试样孔 12，并与试样孔 12 范围之外的隔膜 13 相接触，从而不再需要测试条 10 内部的槽。优选地，顶部支撑层 11 大于隔膜。

顶部支撑层 11 可与顶部支撑层 15 联合使用，如图 1a 所示，或者顶部支撑层 11 也可在缺乏底部支撑层 15 的情况下使用，如图 2 所示。

参见图 1a, 当与底部支撑层 15 联合使用时, 隔膜 13 夹在顶部支撑层 11 和底部支撑层 15 之间。顶部支撑层 11 可固定到隔膜 13, 和固定到顶部支撑层 15。当顶部支撑层 11 在缺乏底部支撑层 15 的情况下使用时, 如图 2 所示, 则隔膜 13 位于顶部支撑层 11 的下方, 且至少一个
5 垫片 17 被固定到顶部支撑层 11, 从而在将试剂测试条 10 插入到测量设备如反射率测量计时, 从测试条托盘上升高隔膜 13。

一般将顶部支撑层 11 制成片、卷或卡, 并再分为大小合适的部分。可从基本能排斥加到测试条 10 的流体的任何材料制备顶部支撑层 11。一些示例为聚丙烯、聚苯乙烯、聚酯和聚合物塑料。优选的尺寸为长约 5 厘米, 宽约 6.5 毫米, 然而根据反射率测量计的测试条托盘的大小,
10 测试条的尺寸可有所不同。顶部支撑层 11 的厚度可为约 0.5 密尔到约 30 密尔, 优选小于约 5 密尔, 最优选为约 0.2 密尔到约 3 密尔。然而, 根据测试条 10 的所需构造和刚度, 厚度可有所变化。例如, 如图 1b 所示, 当顶部支撑层 11 和底部支撑层 15 联合使用时, 顶部支撑层 15
15 可提供允许采用较薄的顶部支撑层 11 的大部分刚度。或者, 如通过比较图 1b 与图 2 可以看到的, 当顶部支撑层 11 不与底部支撑层 15 联合使用时, 由于顶部支撑层提供大部分的刚度, 因此可能需要较厚的顶部支撑层。

可采用各种技术如利用胶粘剂将顶部支撑层 11 可固定到隔膜 13。
20 根据顶层支撑层 11、隔膜 13 和底部支撑层 15 所选用的材料, 可能希望采用特殊的胶粘剂。本发明可采用的胶粘剂例子有基于丙烯酸衍生物、橡胶、乙酸乙烯酯(EVA)的制剂, 热熔型胶粘剂和基于硅氧烷的胶粘剂。

参见图 1b, 试样孔 12 允许流体穿过顶部支撑层 11 而与隔膜相接触。试样孔 12 应该与测量口 16 基本或近似对准, 以使目标物以基本垂直的路径迁移穿过样品孔 12。流体可在重力或毛细力的作用下迁移穿过试样孔 12。
25

底部支撑层

30 底部支撑层 15 可防止或减少隔膜与测量设备的测试条托盘之间发生接触, 可增加测试条 10 的刚度, 并可提供让使用者能抓住试剂测试

条 10 的结构。参见图 1b, 底部支撑层 15 包括与试样孔 12 基本对准或近似对准的测量口 16, 从而使测量设备如反射率测量计可对隔膜 13 的表面进行测量。

可从基本能排斥加到测试条 10 的流体的任何材料制备底部支撑层 15, 从而试样不会漏过底部支撑层 15 而与使用者或测试条托盘相接触。而且, 可能需要从刚度足够大的材料制备底部支撑层 15, 从而使测试条 10 可插入到测量装置中而不发生过度的弯曲或扭曲。合适材料的一些例子为聚丙烯、聚苯乙烯、聚酯, 以及聚合物塑料。一般将顶部支撑层 15 制成片材、卷或卡片, 然后将其再分为大小合适的部分。优选的尺寸为长约 5 厘米, 宽约 6.5 毫米。厚度可为约 1 密尔到约 30 密尔。底部支撑层 15 可例如采用胶粘剂而固定到隔膜 13, 或固定到顶部支撑层 11, 或者固定到两者上。合适的胶粘剂有基于丙烯酸衍生物、橡胶、乙酸乙烯酯(EVA)的制剂, 热熔型胶粘剂和基于硅氧烷的胶粘剂。

测量口 16 提供了一个区域, 借此测量装置例如反射率测量计能够检测来自隔膜 13 的表面的反射率。测量口 16 应该足够大, 以便当测试条 10 正确地插入到反射率测量计测试条托盘中时, 底部支撑层 15 不干扰反射率测量计的检测。优选地, 测量口 16 是一个孔。

扩散层

扩散层 14 使试样均匀地分散跨过试样孔 12, 从而使试样可以均匀地向隔膜迁移。参见图 1b, 扩散层 14 位于上面, 并与试样孔 12 基本对准或近似对准。一般来说, 扩散层 14 粘性地固定在顶部支撑层 11 上。孔应该足够大, 允许目标物流过扩散层 14。优选地, 扩散层 14 用下述材料构成, 该材料对试样体积要求最小、快速吸收流体, 并使流体穿过试样孔 12 而均匀分配到隔膜 13。适于扩散层 14 的材料的一些例子包括尼龙、纸、玻璃纤维、聚合物纤维、烧结塑料、机织织物、无纺布, 以及薄膜。

隔膜

试样迁移穿过扩散层 14, 试样孔 12, 并和隔膜 13 相接触。随着试样被吸收到隔膜 13 中, 孔的大小就阻止了较大的颗粒穿过隔膜 13。

剩余的试样继续迁移穿过隔膜 13，并与信号产生处的试剂体系相接触。从试剂孔 12 对侧的隔膜 13 的表面检测信号。

隔膜 13 的孔径大小决定了尺寸排除程度，并根据感兴趣的目标物和使用者的希望排除的化合物而有所不同。一般说来，当本发明和生物试样如血液一起采用，并进行光学葡萄糖检测试验时，孔径大小应该为从约 $0.1\ \mu\text{m}$ 到约 $15\ \mu\text{m}$ (微米)。隔膜 13 可包括相同的孔径大小，也可包括不同的孔径大小。当孔径大小可变化时，可将孔构造成对称梯度或不对称梯度的结构。适于制备隔膜 13 的材料的一些例子有聚砜、聚醚砜、硝化纤维，以及尼龙。聚醚砜薄膜在降低血红细胞溶解方面是特别好的。

隔膜 13 可为带正电荷的、带负电荷的，或者为不带电荷的。隔膜 13 的电荷可为采用试剂缓冲剂浸透隔膜之后的净电荷。例如，采用酸性缓冲剂浸透不带电荷的隔膜 13，可能会导致净正电荷。当检测整个血液中是否存在葡萄糖时，优选隔膜 13 为亲水性的，并可为带正电荷、带负电荷或不带电的。

试剂体系

试剂体系担当目标物直接存在或间接存在的指示器，从而检测试样中是否存在目标物。因此试剂体系必须能与目标物进行直接的或间接的反应，且必须产生可检测的信号。通常，试剂体系包括与隔膜共价结合或非共价结合的酶体系。优选地，酶体系选择性地催化与感兴趣的分析物进行的初级反应。初级反应的产物可为能在颜色上发生变化的染料或发色团，这种颜色变化可在试样孔 12 对侧的隔膜 13 的表面上被检测到。或者，初级反应的产物可为中间体，该中间体经历另一个反应，优选也是酶催化的，参加次级反应，该次级反应，直接或间接，导致能在颜色上发生变化的染料或发色团，这种颜色变化可在试样孔 12 相反侧的隔膜 13 的表面上被检测到。然后可通过视觉或通过测量设备如反射率测量计检测该信号，可测定目标物的存在与否或测定目标物的浓度。

酶体系包括至少一种酶。一些示例中，可将两种或两种以上的酶相互联合使用。此外，试剂体系可包括能形成发色团的底物。当采用

这一结构时，发色团就表示目标物的存在与否或目标物浓度。

当目标物是葡萄糖时，一种有用的试剂体系包括葡萄糖糖氧化酶和辣根过氧化物酶。葡萄糖氧化酶与葡萄糖和氧气进行反应，产生葡萄糖酸内脂和过氧化氢。在过氧化物酶如辣根过氧化物酶的存在下，过氧化氢氧化染料或发色团，产生可检测的信号。在这种方式中，可测定从约 500 nm 到约 800 nm 范围内，优选从约 600 nm 到约 700 nm 范围内，最优选为约 660 nm 处的反射率。可与本发明一起使用的底物的例子有邻-二茴香胺，邻-甲苯胺，邻-联甲苯胺，2,2'-联氨基二-(3-乙基苯并-噻唑啉磺酸-(6))，3-甲基-2-苯并噻唑啉酮脒加上 N,N-二甲基苯胺，苯酚加上 4-氨基吩嗪酮，磺化的 2,4-二氯苯酚加上 4-氨基-吩嗪酮，3-甲基-2-苯并噻唑啉脒加上 3-(二甲基氨基) 苯甲酸，2-甲氧基-4-烯丙基苯酚，4-氨基安替比林-二甲基苯胺，MTBH-DMAB 染料对 (3-甲基-2-苯并噻唑啉酮脒盐酸盐和 3-二甲基氨基苯甲酸)，AAP-CTA 染料对(4-氨基安替比林和变色酸)，游离形式或酸形式的 3-甲基-2-苯并噻唑啉脒 (MTBH) 和酸形式或游离形式的 8-苯胺基-1-萘磺酸盐 (ANS)，4-氨基安替比林 (AAP) 和 变色酸，AAP 和 8-苯胺基-1-萘磺酸盐(ANS)，AAP 和 N-乙基-N-(2-羟基-3-磺化丙基)-间-甲苯(TOOS)，与其甲醛吡嗪相结合的 MTBH，无色亚甲基蓝，BISMAP，AAP 和 MAPS，AAP 和 N-乙基-N-(2-羟基-3-磺化丙基)-3,5-二甲基苯胺、钠盐、单水合物 (MAOS)，SMBTH 和 MAOS，AAP 和 8-苯胺基-1-萘磺酸盐(ANS)，与其甲醛吡嗪相结合的 MTBH，3,3',5,5'-四甲基联苯胺 (TMB)，4-氨基安替比林。此外，本发明也可采用以下的底物：SMBTH 和 ALPS，MBTH 和 ALPS，AAP 和 DAPS，AAP 和 DAOS，MBTH 和 DMAB，BISMAP，及其组合物。

目标物

本发明用于检测各种试样中的各种目标物。优选的目标物是葡萄糖，优选的试样是全血。然而，通过更改隔膜 13 而包括能检测所需目标物的试剂体系，本发明可适用于测定各种目标物的浓度或测定其存在与否。一般说来，目标物是生物组成部分或化学组成部分。目标物可为蛋白质或核酸。

湿透

相对于现在采用的技术而言，本发明进行了改进。传统的测试条中通常存在三个问题。首先，不具有顶部支撑层的测试条经常存在湿透问题。第二，不具有底部支撑层，以及不具有至少一个垫片的测试条可能会存在与湿透有关的污染问题。第三，在两个支撑层之间具有扩散层的测试条需要其它材料如吸收槽以捕获过量的流体。参见图 1a，通过利用具有试样孔 12 的顶部支撑层 11，使隔膜 13 与顶部支撑层 11 相接触，本发明减少了湿透问题。通过将底部支撑层 15 与测量口 16（如图 1b 所示）并在一起，或通过并入垫片 17（如图 2 所示），本发明解决了污染问题。

当在隔膜中加入过量的试样时，发生了湿透问题。过量的试剂使隔膜超载，且可能会泄漏在隔膜四周或穿过隔膜。针对这一问题的传统解决办法是加入吸收槽，参见 WO92/15863。然而，当采用小的试样体积时，该吸收槽结构的作用并不大。大片区域覆盖了隔膜和槽，与具有固定到顶部支撑层的隔膜的这种结构相比，这要求使用者采用体积更大的试样。重要的是，测试条设计的一个目的是为使用者最大程度地降低试样体积。因此，参见图 1a，通过隔膜 13 与顶部支撑层 11 的接触，使隔膜 13 基本对准或近似对准试样孔 12，本发明显著减少了湿透问题。

不具有底部支撑层 15 的测试条的一种内在问题是对测试设备、其它测试条或另一个使用者造成污染。测试条通常放置在反射率测量计中。将缺少底部支撑层的传统测试条如美国专利 5,753,452 中公开的设备插入仪器中时，隔膜可与测量设备相接触。这可能会在测试仪上弄脏试剂体系或含有目标物的流体，并可能会要求使用者频繁地清洁测试仪。此外，当试样是生物流体如全血时，试样的一部分可能会弄脏测试条托盘，可能会与其它的使用者接触。由于如图 1b 所示的底部支撑层 15 的存在，或由于如图 2 所示的垫片 17 的存在，本发明克服了这些问题。本发明使隔膜 13 悬挂于测量仪之上，从而防止了隔膜与测试仪之间发生接触。

任选的垫片

参见图 2, 本发明的另一方面公开了试剂测试条 10, 其包括: a) 一个顶部支撑层 11, 其包括一个试样孔 12; b) 一个隔膜 13, 其包括一个指示目标物浓度的试剂体系; c) 至少一个垫片 17, 其能减少隔膜 13 和表面之间的接触, 且其中的隔膜 13 位于顶部支撑层 11 的下方, 并
5 与试样孔 12 基本对准或接近于对准。

垫片 17 的作用是从例如测量设备的测试条托盘的表面升高隔膜 13。可采用能支撑测试条 10 的重量的任何材料制备垫片。垫片 17 的尺寸和数量取决于测试条托盘的结构, 当插入到测量设备中时, 垫片 17 的尺寸和数量应该从测试条托盘抬高隔膜 13。合适材料的一些例子
10 有聚丙烯、聚苯乙烯、聚酯、聚合物塑料和纸。

II. 采用测试条测定目标物存在与否或测定目标物浓度的方法

本发明也包括测定试样中目标物存在与否或测定其浓度的方法, 该方法包括下列步骤: a) 将被怀疑含有目标物的流体加到本发明的试剂测试条 10 上; b) 检测隔膜的反射率; 以及 c) 测定目标物存在与否
15 或测定目标物浓度。

可采用各种技术如通过使流体与测试条 10 直接接触, 或通过采用分配设备如毛细管加入被怀疑含有目标物的流体。直接将流体加到测试条 10 的方法可以优选为在实验室外监测目标物浓度的方法, 如对糖尿病人进行常规的葡萄糖检测。一般地, 糖尿病人要求在白天对血浆葡萄糖进行多次检测, 并刺入身体的一部分而抽出少量的全血。
20

通过隔膜 13 的反射率变化而检测目标物存在与否。试剂体系产生发色团, 该发色团在直接或间接暴露于目标物时, 表现出颜色变化。通过观察颜色变化可由视觉检测反射率, 或者可采用测量设备如反射计进行检测。当由视觉检测颜色变化时, 可以提供比色图表作为一系列的标准。优选的测量设备是反射计。反射计的优点在于具有较高的敏感度和精确度。可直接从反射率值确定浓度。或者, 反射率可转换为 K/S 值, 然后再转换为浓度。K/S 值和反射率之间的关系在 D.B. Judd 和 G. Wyszecki, *Color in Business, Science and Industry* (John Wiley & Sons, NY(1975)) 中有所描述, 将该文献列于此以作参考。
25
30

III. 采用动力学终点测量法测定目标物存在与否或测定其浓度的方法

本发明也提供了，一旦目标物和试剂体系之间的反应完全或接近完全的情况下，测定目标物存在与否或测定其浓度的方法。当两个反射率值之间的差值等于或小于预定的终点时，试验完成或接近完成。

- 5 该方法可采用经历可测量的光散射变化直到达到动力学终点的任何试剂测试条。参见图 3，测定试样中目标物浓度的方法包括下列步骤：a) 从本发明的试剂测试条测定干燥试条读数；b) 运行预编程的阈值循环指令；c) 测定第一反射率测量值；d) 运行预编程的动力学循环指令；e) 测定目标物存在与否或测定其浓度；其中该阈值循环指令包括下列
- 10 步骤：测定阈值比较测量值；比较阈值比较测量值和预定的阈值；重复循环直至阈值比较测量值小于或等于预定的阈值；进一步地，其中在运行阈值循环指令的步骤期间加入被怀疑包括目标物的流体；更进一步地，其中该测定循环指令包括下列步骤：测定第二反射率测量值；比较第一反射率测量值和第二反射率测量值；如果比较结果小于或等
- 15 于预定的截止值，则结束循环；将第一反射测量值替换为第二反射率测量值；以及重复循环。

- 干燥试条读数担当使第一和/或第二反射率测量值标准化的参照值。将被怀疑含有目标物的流体加到测试条 10 上，重力或毛细力导致目标物迁移穿过隔膜。一旦位于试样孔 12 相反侧的隔膜 13 的表面被
- 20 润湿之后，光散射被减少了。当检测到的值下降至预定的阈值以下时，可在预定的时间间隔处获得两个测量值。这些测量值分别是第一反射率测量值和第二反射率测量值。比较第二反射率测量值和第一反射率测量值。当比较结果小于或约等于预定的动力学终点时，反应完全或接近完全，并可测定目标物的浓度。预定的动力学终点可为从约 0.2% 到约 5%，优选为从约 0.5% 到约 1%。一般来说，采用第二反射率测量值来确定浓度，然而，也可采用第一反射率测量值或新的反射率测量值。或者，如果比较值大于预定的动力学终点时，可用第二反射率测量值代替第一反射率测量值，且可确定新的第二反射率测量值，并将其与新替代的第一反射率测量值进行比较。用第二反射率测量值代
- 25 替第一反射率测量值的一种选择方式是，本发明包括了循环指令，其中可测定第三反射率测量值，并与第二反射率测量值进行比较。本发
- 30

明还包括比较至少两组反射率测量值的步骤，从而使两组值都必须等于或小于预定的动力学终点。

通过计算反射率测量值的变化并将该结果与预定值进行比较，可以获得确定动力学终点是否达到的方法。例如，如果 R1 代表第一反射率测量值（first reflectance measurement），R2 代表第二反射率测量值（second reflectance measurement），且 1% 代表预定动力学终点（predetermined kinetic endpoint, PKE），则比较结果（comparison, C）可通过下式计算： $C = ((R1 - R2) / R2) \times 100\%$ 。如果 C 小于或等于 PKE（例如 1%），可计算目标物的浓度。否则 R2 的值变化为 R1，测定新的 R2，并将其与新的 R1 进行比较。继续循环，直到比较结果 C 小于或等于预定动力学终点 PKE。本发明认识到预定的动力学终点和比较值不限于百分比，但可以表示为各种单位。

或者，希望对至少两组反射率值之间进行比较，从而使两组比较值小于或等于预定的动力学终点。在这种方式下可采用多组反射率值。参见图 4，其揭示了测定试样中目标物浓度的方法，该方法包括下列步骤：a) 从本发明的试剂测试条测定干燥试条读数；b) 运行预编程的阈值循环指令；c) 测定第一反射率测量值；d) 运行预编程的动力学循环指令；e) 运行连续比较指令；f) 测定目标物存在与否或测定其浓度；其中该阈值循环指令包括下列步骤：测定阈值比较测量值；比较阈值比较测量值和预定的阈值；重复循环直至阈值比较测量值小于或等于预定的阈值；进一步地，其中在运行阈值循环指令的步骤期间加入被怀疑包括目标物的流体；进一步地，其中该动力学循环指令包括下列步骤：测定第二反射率测量值；比较第一反射率测量值和第二反射率测量值；如果比较结果小于或等于预定的截止值，则结束循环；将第一反射测量值替换为第二反射率测量值；以及重复循环；更进一步地，其中该连续比较指令包括下列步骤：测定第三反射率测量值；比较第二反射率测量值和第三反射率测量值；如果比较结果小于预定的截止值，则结束连续比较指令；将第一反射测量值替换为第三反射率测量值；以及回到运行动力学循环指令的步骤中。例如，除了以上的方程之外，希望得到第三反射率和第四反射率的值，即 R3 和 R4。在这一例子中， $C1 = ((R1 - R2) / R2) \times 100\%$ 和 $C2 = ((R4 - R3) / R4) \times 100\%$ 。一旦

C1 和 C2 小于或者等于 PKE，可以确定该浓度。参考图 4，本发明也包括其中 $C1 = ((R1 - R2)/R2) \times 100\%$ 和 $C2 = ((R3 - R2)/R3) \times 100\%$ 的情形。

对直接从反射率计算浓度的一种选择方式是，本发明也可采用隔膜 13 的 K/S 比。Kubelka 和 Munk 推导了 K/S 比，并在 D.B. Judd 和
5 G. Wyszecki, *Color in Business, Science and Industry* (John Wiley & Sons, NY(1975)) 中有所描述，将该文献列于此以作参考。与反射率相关的 K/S 比，由 $K/S = (1 - R)^2 / 2R$ 计算。

IV 采用固定的时间点和动力学终点测量法而测定目标物的方法

10 也可利用包括固定时间点和动力学终点法的混合方法测定目标物存在与否或测定其浓度。在这一方面，如前述一样进行动力学方法，但是还计算了固定时间点。固定时间点 (fixed time point) 是预定时间点 (predetermined time point) 的端点，其开始于到达或接近达到阈值时。只要第一反射率读数和第二反射率读数之间的比较结果不满足达到
15 到预定的动力学终点或固定时间点 (无论是哪一个先到达)，则方法继续进行。该方法可与任何试剂测试条一起使用，该试剂测试条经历可测量的光散射变化，直至达到动力学终点。

参见图 5，本发明包括测定试样中目标物浓度的方法，该方法包括下列步骤：a) 从本发明的试剂测试条测定干燥试条读数；b) 将被怀疑
20 含有目标物的流体加到试剂测试条上；c) 运行预编程的阈值循环指令；d) 开始一个预定的时间点，从而能达到一个固定的时间点；e) 测定第一反射率测量值；以及 f) 运行预编程的动力学循环指令；g) 测定目标物存在与否或测定其浓度。优选地，阈值循环指令包括下列步骤：测定阈值比较测量值；比较阈值比较测量值和预定的阈值；重复循环直至
25 阈值比较测量值小于或等于预定的阈值；进一步地，其中在运行阈值循环指令的步骤期间加入被怀疑包括目标物的流体；更进一步地，其中该动力学循环指令包括下列步骤：测定第二反射率测量值；比较第一反射率测量值和第二反射率测量值；如果比较结果小于或等于预定的截止值，或如果达到了固定时间点，则结束循环；将第一反射
30 测量值替换为第二反射率测量值；以及重复循环。

参见图 6，本发明也公开了测定试样中目标物浓度的方法，该方法

包括下列步骤：a) 从本发明的试剂测试条测定干燥试条读数；b) 运行预编程的阈值循环指令；c) 开始一个预定的时间点，从而能达到一个固定的时间点；d) 测定第一反射率测量值；e) 运行预编程的动力学循环指令；f) 运行连续比较指令；以及 g) 测定目标物存在与否或测定其浓度；其中该阈值循环指令包括下列步骤：测定阈值比较测量值；比较阈值比较测量值和预定的阈值；重复循环直至阈值比较测量值小于或等于预定的阈值；进一步地，其中在运行阈值循环指令的步骤期间加入被怀疑包括目标物的流体；进一步地，其中该动力学循环指令包括下列步骤：测定第二反射率测量值；比较第一反射率测量值和第二反射率测量值；如果第二反射测量值小于或等于预定的截止值，或者如果达到了固定的时间点，则结束循环；将第一反射测量值替换为第二反射率测量值；以及重复循环；更进一步地，其中该连续比较指令包括下列步骤：测定第三反射率测量值；比较第二反射率测量值和第三反射率测量值；如果比较结果小于预定的截止值，或者如果达到了固定的时间点，则结束连续比较指令；将第一反射测量值替换为第三反射率测量值；以及回到运行动力学循环指令的步骤中。

V. 利用固定时间点测定目标物的方法

本发明也提供了一旦达到固定时间点的情况下测定目标物存在与否或测定目标物浓度的方法。固定时间点开始于阈值比较测量值小于或等于预定的阈值时。本发明提供了测定试样中目标物浓度的方法，该方法包括下列步骤：a) 从本发明的试剂测试条 10 测定干燥试条读数；b) 将被怀疑含有目标物的流体加入到试剂测试条 10 上；c) 运行预编程的阈值循环指令；d) 开始一个预定的时间点，从而能达到一个固定的时间点；e) 当达到固定时间点时，测定试样中的目标物存在与否或测定其浓度。优选地的阈值循环指令包括下列步骤：测定阈值比较值；比较阈值比较值和预定的阈值；重复循环直至阈值比较值小于或等于预定的阈值。

实施例

实施例 1

证明本发明的测试条的减小的湿透问题

以下的实施例例示性说明了本发明的测试条 10 的减少与其它测试条 10 结构有关的湿透问题的能力。

以下的每个结构中的隔膜 13 都是以相同的方式制备。用葡萄糖氧化酶/辣根过氧化物酶体系 (Toyobo Inc., Tokyo, Japan) 和 AAP (4-氨基安替比林, Sigma, St. Louis, MO) /MAOS(N-乙基-N-(2-羟基-3-磺丙基)-3,5-二甲基苯胺、钠盐、单水合物, Dojindo Laboratories, Dumamoto, Japan)染料体系浸渍隔膜 13, 即孔径大小为 $0.65\ \mu\text{m}$ 的 Biodyne A 尼龙隔膜 13 (Pall Corp., Port Washington, NY)。

结构 A 是本发明的一个方面。结构 A 包括隔膜 13, 它被固定到顶部支撑层 11, 并位于底部支撑层 15 上方, 从而允许反射计测量穿过测量口 16 的光散射。亲水性的编织聚酯网扩散层 14 (SaatiTech, Inc., Veniano, Italy) 位于顶部支撑层 11 上方, 与顶部支撑层 11 的试样孔 12 基本或近似对准。

用于比较的另一种结构如下。结构 B 包括隔膜 13 和亲水性的编织聚酯网扩散层 14 (SaatiTech, Inc., Veniano, Italy) 夹在顶部支撑层 11 和隔膜 13 之间。结构 C 包括隔膜 13, 它被固定到基部支撑层上, 从而将试样直接加到隔膜 13 上。

通过向试样中掺入浓缩的葡萄糖溶液, 制备得到血球比率被调节为 42% 以及用作为抗凝血剂的肝素钠处理的全血试样。制备得到葡萄糖浓度为约 100, 250 和 450 mg/dL 的全血试样。采用 YSI 230 STAT-PLUS Glucose Analyzer (YSI 230 STAT-PLUS 葡萄糖分析仪, Yellow Springs Instruments Inc., Yellow Springs, OH) 验证最终的葡萄糖浓度。

将 5, 10, 20 和 $30\ \mu\text{L}$ 的试样加到每个结构的 10 片试条上。一旦测试条 10 插入反射计后, 将每个试样加到测试条 10 上, 在 660 nm 下测定反射率。基于标定曲线将反射率读数转化为葡萄糖浓度值, 在每个测试组中取平均值, 相对于 $5\ \mu\text{L}$ 测试组进行标准化 (表 1), 确定变异系数(CV)(表 2)。然后由视觉观察测试条 10, 得到湿透程度 (表 3)。

表 1

葡萄糖 mg/dL (采用 YSI)		5 μ L (与 5 μ L 相比的差 值%)	10 μ L (与 5 μ L 相比的差 值%)	20 μ L (与 5 μ L 相比的差 值%)	30 μ L (与 5 μ L 相比的差 值%)
104	结构 A	0	+4.4	+5.1	+2.8
104	结构 B	0	+8.0	+11.3	+15.0
104	结构 C	0	+1.2	+6.5	+10.3
246	结构 A	0	-2.1	-5.0	-4.0
246	结构 B	0	+2.1	+20.4	+39.9
246	结构 C	0	-2.6	+3.8	+20.7
467	结构 A	0	+1.8	-8.9	-9.7
467	结构 B	0	+23.8	+54.9	+147.1
467	结构 C	0	+2.9	+15.3	+38.7

表 2

葡萄糖 mg/dL (采用 YSI)		5 μ L (%CV)	10 μ L (%CV)	20 μ L (%CV)	30 μ L (%CV)
104	结构 A	5.5	3.4	5.7	5.2
104	结构 B	3.3	4.2	2.5	2.7
104	结构 C	3.0	2.1	3.5	3.7
246	结构 A	3.3	3.2	4.7	3.4
246	结构 B	3.1	4.1	3.5	3.8
246	结构 C	1.8	1.9	6.6	10.1
467	结构 A	4.6	3.5	4.4	5.6
467	结构 B	5.3	4.1	4.2	9.0
467	结构 C	3.7	3.3	6.4	14.8

表 3

葡萄糖 mg/dL (采用 YSI)		5 μ L 是否湿透	10 μ L 是否湿透	20 μ L 是否湿透	30 μ L 是否湿透
104	结构 A	否	否	否	否
104	结构 B	否	是	是	是
104	结构 C	否	否	是	是
246	结构 A	否	否	否	否
246	结构 B	否	是	是	是
246	结构 C	否	否	是	是
467	结构 A	否	否	否	否
467	结构 B	否	是	是	是
467	结构 C	否	否	否	是

5 为了达到与分别列入各个公开文献的程度相同的目的，将本申请中所参照的，包括专利文献和科技文章的所有公布文献，以及参考书目和附件整体列入以作参考。

所有标题是为了方便读者，应该不是用于限制在该标题之下的文本涵义的，除非特别指出。

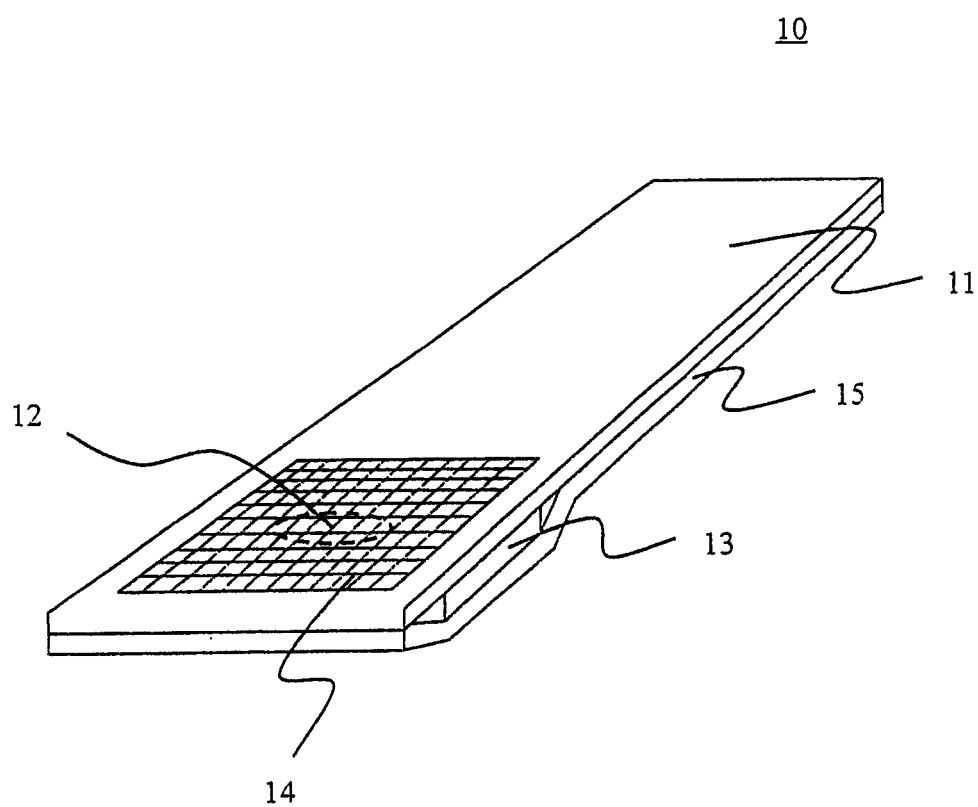


图1a

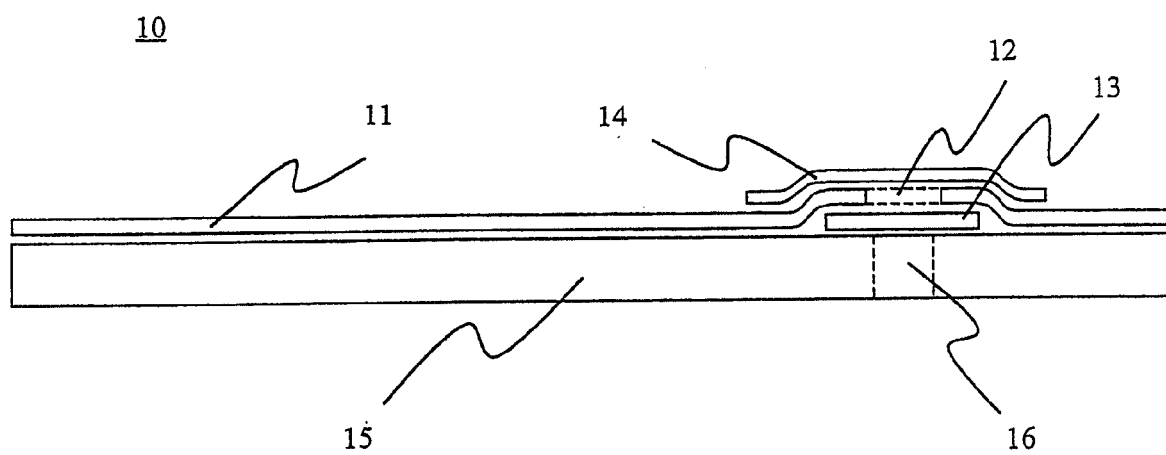


图1b

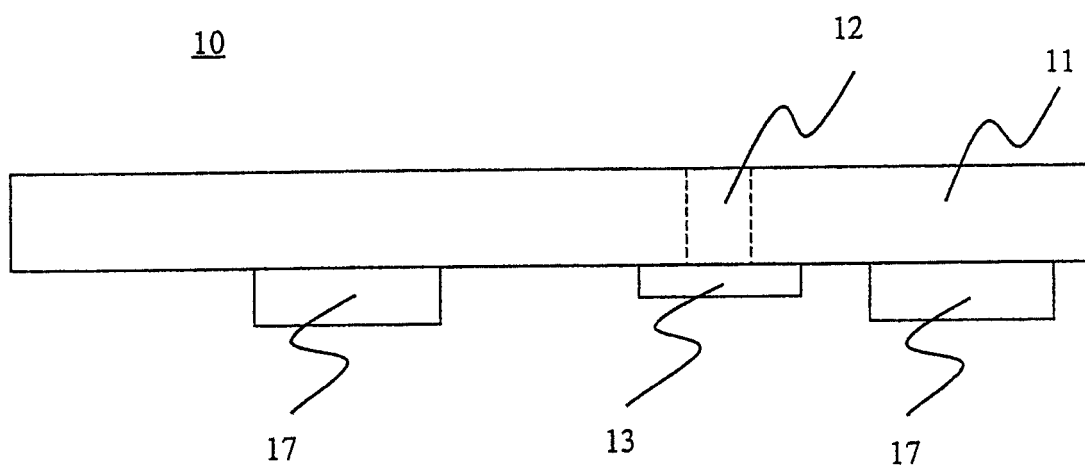


图2

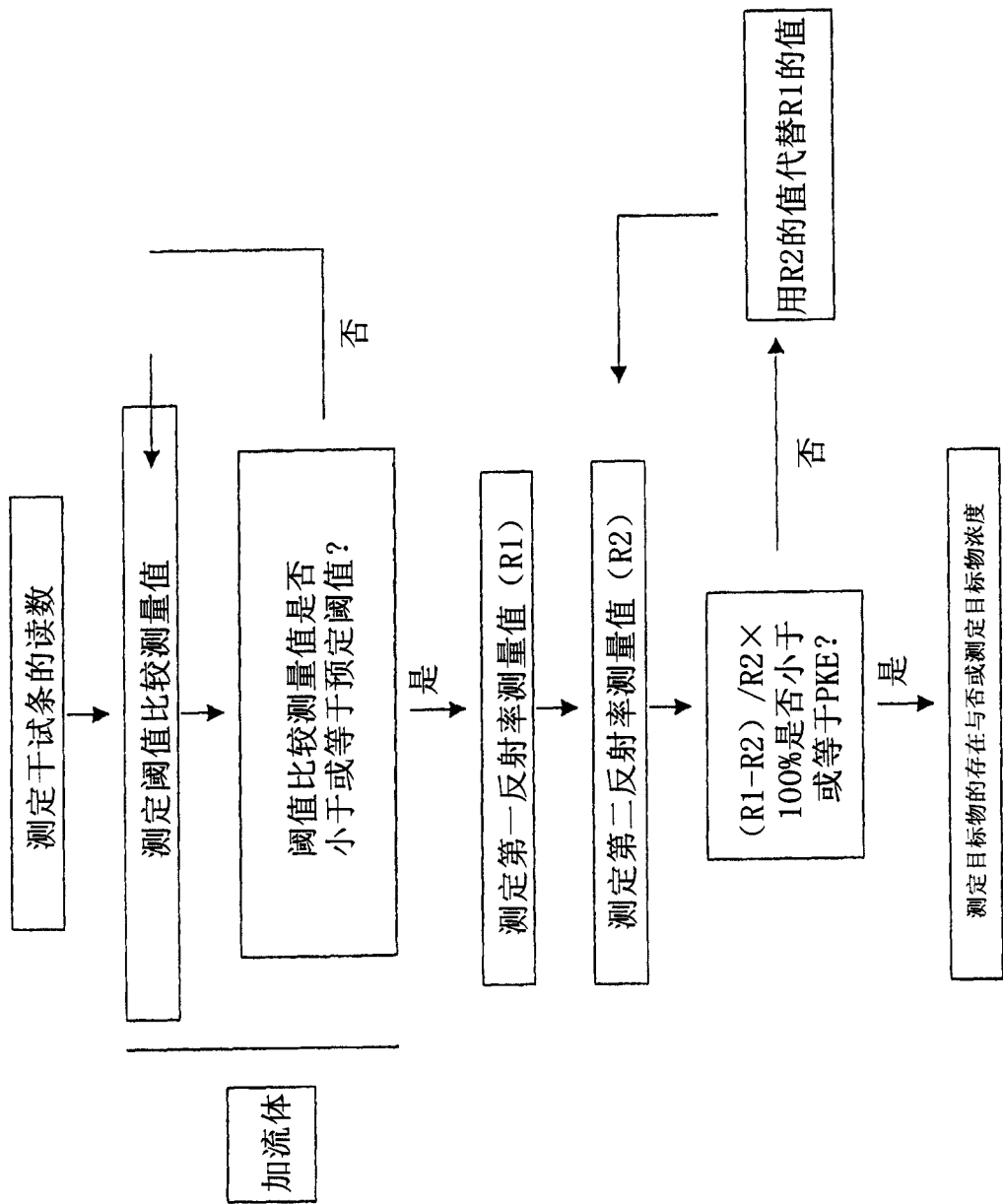


图3

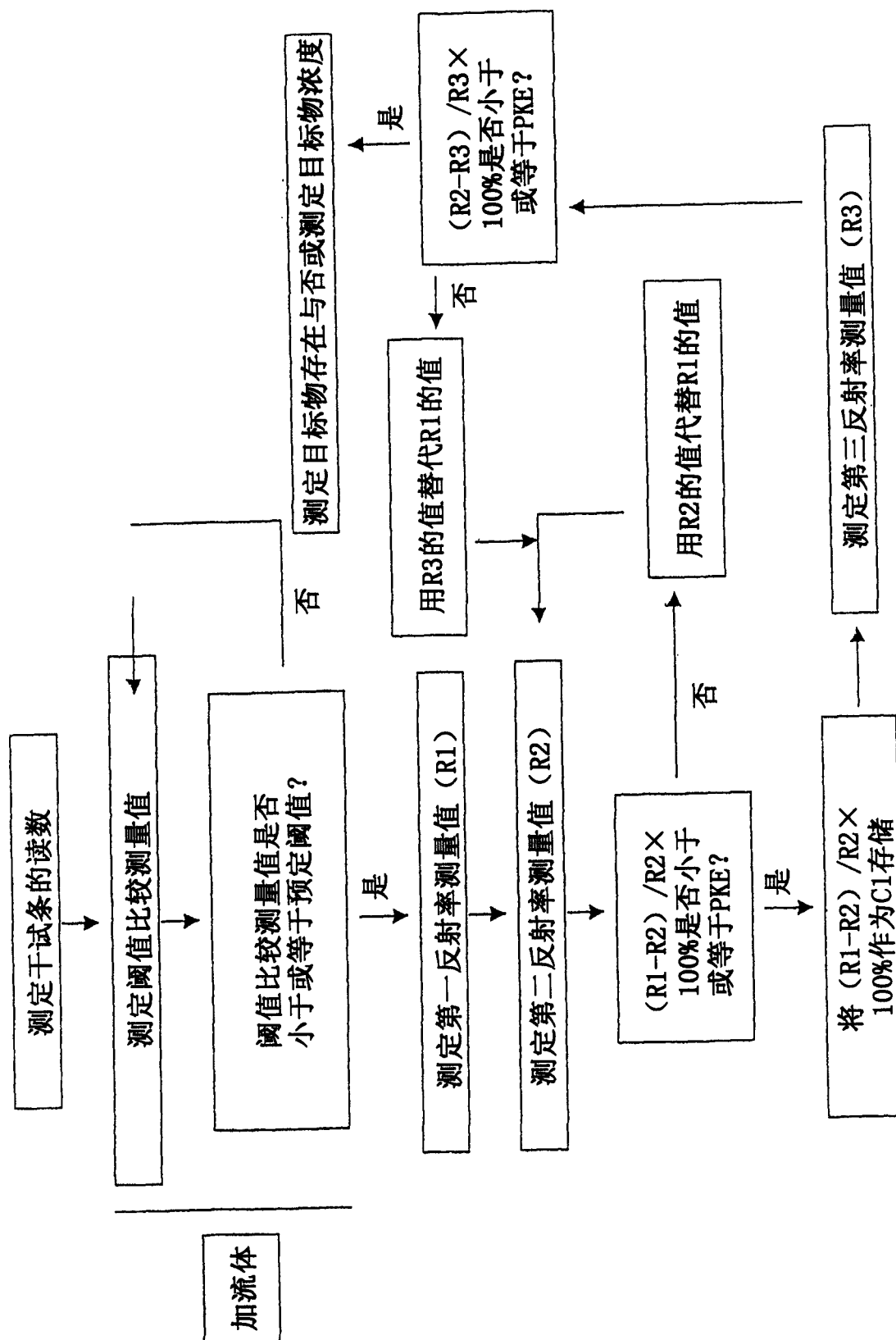


图4

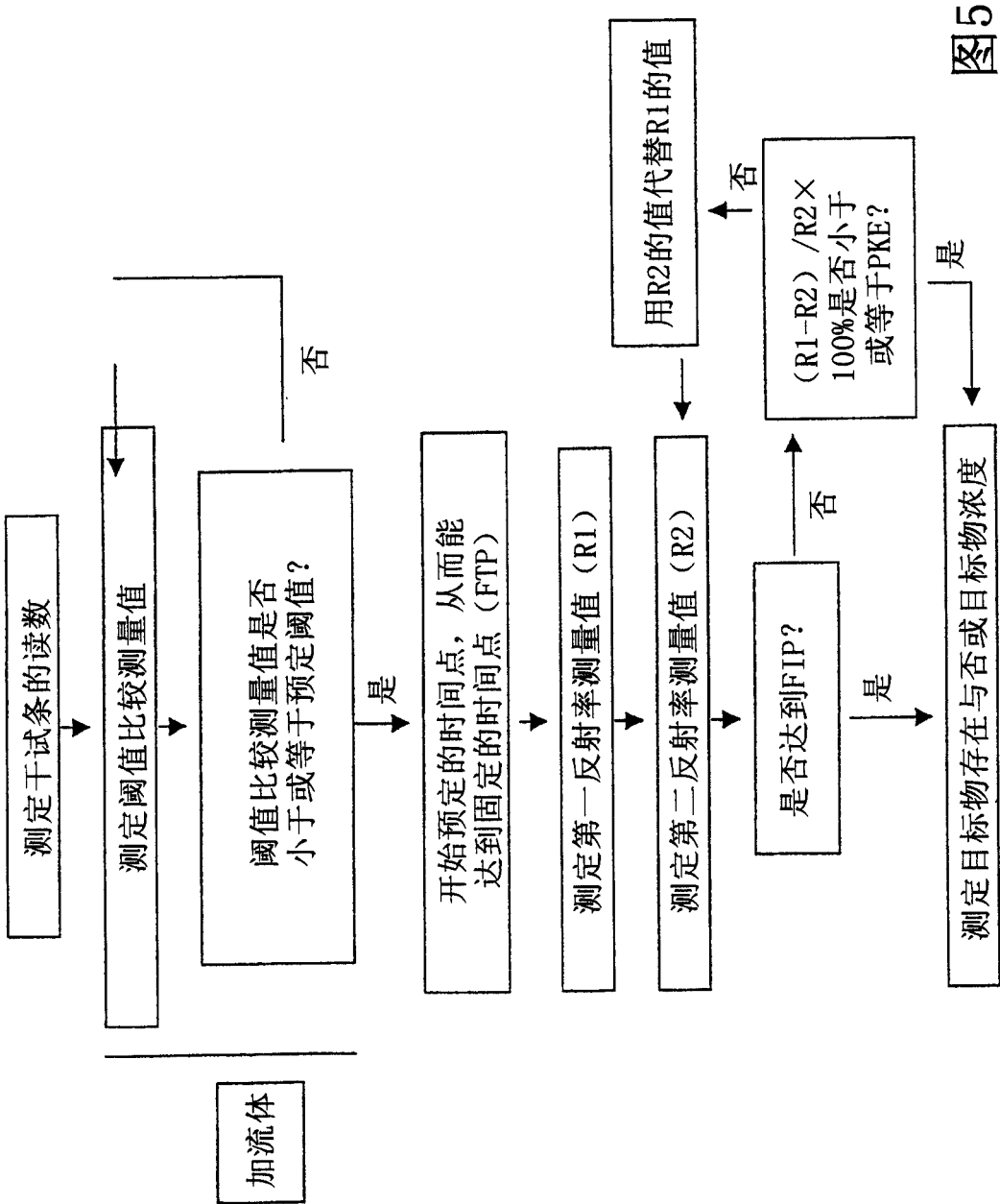


图5

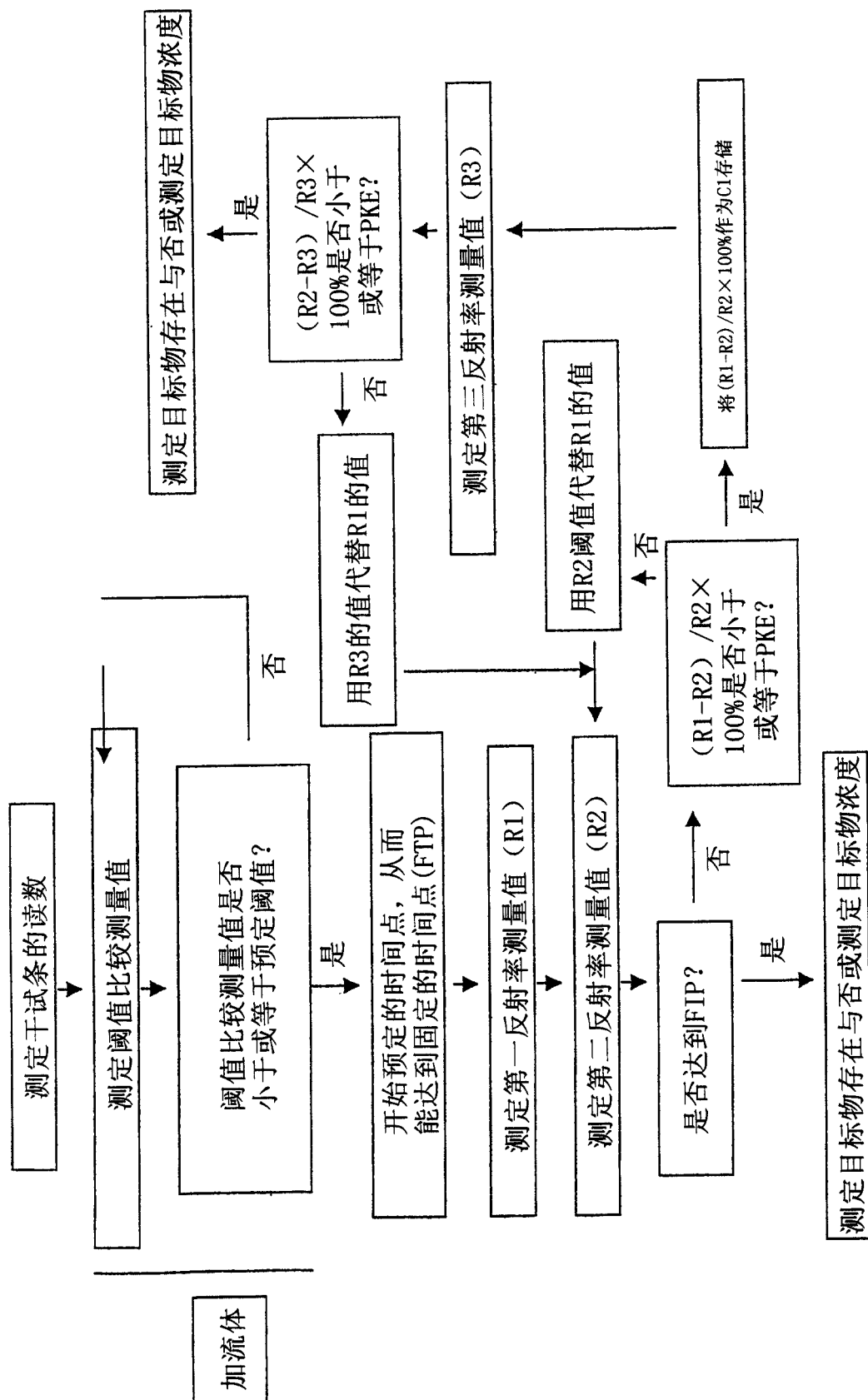


图6

专利名称(译)	用于测定分析物的测试条及使用方法		
公开(公告)号	CN1662659A	公开(公告)日	2005-08-31
申请号	CN03813861.1	申请日	2003-06-13
[标]申请(专利权)人(译)	艾康实验室公司		
申请(专利权)人(译)	艾康实验室公司		
当前申请(专利权)人(译)	艾康实验室公司		
[标]发明人	C L王		
发明人	J-N·林 C-L·王		
IPC分类号	C12Q1/54 G01N33/52 C12Q1/00 C12Q1/28 G01N33/53		
CPC分类号	C12Q1/54 Y10S435/968 Y10S435/97 G01N33/525		
代理人(译)	路小龙		
优先权	10/173457 2002-06-15 US		
其他公开文献	CN100529098C		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明的一个方面是试剂测试条，包括：a)一个顶部支撑层，其包括一个试样孔；b)一个隔膜，其包括一个指示目标物浓度的试剂体系；c)一个扩散层；d)一个底部支撑层，其包括一个与所述试样孔基本对准或近似对准的测量口。优选地，隔膜被固定到顶部支撑层；隔膜位于顶部支撑层和底部支撑层之间；扩散层位于顶部支撑层上方，且与试样孔基本对准或近似对准；以及，加到所述扩散层上的流体穿过试样孔并与隔膜相接触。图(1)显示本发明的测试条的优选实施方案的透视图和侧视图。

