



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110361529 A

(43)申请公布日 2019.10.22

(21)申请号 201910657081.5

(22)申请日 2019.07.19

(71)申请人 广东盛泽康华生物医药有限公司

地址 510300 广东省广州市广州开发区国际生物岛螺旋四路9号C401

(72)发明人 黄静峰 李之华

(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

代理人 郭帅

(51)Int.Cl.

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

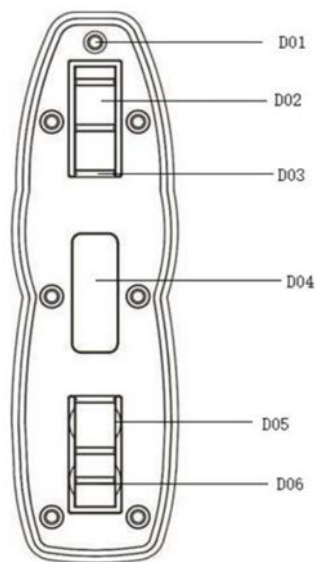
权利要求书2页 说明书9页 附图6页

(54)发明名称

一种试剂卡、检测方法及应用

(57)摘要

本发明提供了一种试剂卡、检测方法及应用,所述面盖和所述底盖之间通过定位孔和定位柱卡接将试纸条固定;所述底盖内部设置卡槽结构、凸起平台;所述卡槽结构内设置有支撑凸起,所述支撑凸起的高度小于等于所述凸起平台的高度;所述面盖设置固定板、反应窗口、加样孔、检测液孔;所述面盖和所述底盖通过定位孔和定位柱卡接后,在所述面盖固定板和检测液孔的挤压下,所述试纸条中部向上凸起,与水平面形成“拱桥”结构。这一“拱桥”结构控制检测液液体在试纸条上的流向及层析速度,进而提高了试剂卡的检测结果准确度和精密度,达到精准检测微量样本的目的,填补了现有POCT微量样本检测产品的市场空白。



1. 一种试剂卡,包括面盖、底盖、试纸条;所述面盖和所述底盖将试纸条固定;其特征在于:

所述底盖内部设置卡槽结构、凸起平台;所述卡槽结构内设置有支撑凸起,所述支撑凸起的高度小于等于所述凸起平台的高度;

所述面盖设置固定板、反应窗口、加样孔、检测液孔;所述反应窗口、加样孔、检测液孔依次设置;所述固定板分布在所述反应窗口两侧;

所述试纸条装入所述底盖的卡槽结构固定后,所述试纸条被所述凸起平台和支撑凸起支撑,所述面盖和所述底盖通过定位孔和定位柱卡接后,在所述面盖固定板和检测液孔的挤压下,所述试纸条中部向上凸起。

2. 根据权利要求1所述的一种试剂卡,其特征在于,所述试纸条包括三层或四层结构,第一层为底板,第二层为反应膜,第三层为吸收垫、结合垫和缓冲垫;或者第一层为底板,第二层为反应膜和缓冲垫,第三层为吸收垫、和结合垫;或者第一层为底板,第二层为反应膜,第三层为吸收垫和结合垫,第四层为缓冲垫;

所述反应膜设置在所述底板中部,所述反应膜上分布有检测线T和质控线C,所述检测线T和质控线C与所述反应窗口对应;

所述反应膜的一端设置结合垫,所述反应膜的另外一端设置吸收垫,所述结合垫与所述加样孔对应;

所述结合垫上或结合垫下设置缓冲垫或者所述结合垫与所述缓冲垫对接,所述缓冲垫与所述检测液孔对应。

3. 根据权利要求2所述的一种试剂卡,其特征在于,所述卡槽结构数量为两个,分布在所述凸起平台两侧。

4. 根据权利要求3所述的一种试剂卡,其特征在于,所述卡槽结构内设置1-5个支撑凸起。

5. 根据权利要求4所述的一种试剂卡,其特征在于,所述卡槽结构内设置3个支撑凸起。

6. 根据权利要求5所述的一种试剂卡,其特征在于,与所述检测液孔对应的所述卡槽结构的两边对称设置有导流口。

7. 根据权利要求6所述的一种试剂卡,其特征在于,所述卡槽结构的深度为1.2-1.7mm,所述支撑凸起的高度为0.1-0.15mm,所述凸起平台高度为0.15-0.25mm。

8. 根据权利要求7所述的一种试剂卡,其特征在于,所述固定板的数量为4个,分别为用于固定所述试纸条的第一固定板、用于固定所述试纸条的第二固定板、用于固定所述试纸条上所述吸收垫和反应膜结合的第三固定板、用于固定所述试纸条上所述反应膜和结合垫结合的第四固定板;所述第四固定板设置在所述加样孔和所述反应窗口之间,所述第一固定板、第二固定板、第三固定板分布在所述反应窗口另一侧。

9. 根据权利要求8所述的一种试剂卡,其特征在于,第一固定板、第二固定板、第三固定板、第四固定板的宽度为3-5mm;第一固定板、第二固定板的高度为1.0-1.5mm,第三固定板、第四固定板的高度为0.1-0.3mm。

10. 根据权利要求9所述的一种试剂卡,其特征在于,所述加样孔为漏斗状结构,面盖正面圆直径4-6mm,面盖内部圆直径为3-5mm,凸起高度为0.1-0.2mm,孔壁与水平面呈30°-45°夹角。

11. 根据权利要求10所述的一种试剂卡, 其特征在于, 所述检测液孔为漏斗状结构, 面盖正面圆直径6-8mm, 面盖内部圆直径为1-3mm, 凸起高度为0.3~0.5mm, 孔壁与水平面呈30°-45°夹角。

12. 根据权利要求11所述的一种试剂卡, 其特征在于, 所述反应窗口为椭圆形环结构, 面盖正面椭圆长150-200mm, 宽度为70-90mm, 面盖内部圆直径为130-150mm, 凸起高度为0.1-0.2mm, 孔壁与水平面呈30°-45°夹角, 反应窗内底部与试纸条接触面为0.01-0.02mm的垂直凸起。

13. 根据权利要求12所述的一种试剂卡, 其特征在于, 所述面盖包括手持端, 所述手持端的表面为螺纹状或凸点状凸起结构。

14. 根据权利要求13所述的一种试剂卡, 其特征在于, 所述面盖和所述底盖之间通过定位孔和定位柱通过定位孔和定位柱卡接。

15. 根据权利要求12所述的一种试剂卡, 其特征在于, 所述反应膜上分布的检测线T为一条或两条或多条。

16. 使用权利要求1-15任一试剂卡实现的检测方法, 其特征在于:

步骤(1) 加样孔内加样

样本采集后, 将样本加入所述加样孔内的结合垫上, 结合垫上有纳米微球偶联的抗体, 即抗体纳米微球, 样本中的待测物与结合垫上的抗体纳米微球免疫结合形成抗体纳米微球复合物;

步骤(2) 检测液孔内加入检测液

在检测液孔中加入检测液后, 检测液开始沿着试纸条的吸水垫端的方向开始层析, 检测液层析经过加样孔位置溶解结合垫上未与待测物结合的抗体纳米微球及已与待测物结合的抗体纳米微球复合物, 检测液在试纸条上的层析经历了“爬坡、平行、下坡”, 检测液在试纸条上移动, 在“平行”阶段进行第二次免疫识别反应, 步骤(1)中抗体纳米微球复合物在检测线T处进行第二次免疫识别反应, 并且开始显色; 而不与检测线T反应的抗体纳米微球则继续向前运动, 与质控线C结合显色。

17. 如权利要求16所述的检测方法, 其特征在于: 加样孔内加样为0.1-50ul; 检测液孔内加入检测液0-150ul。

18. 如权利要求17所述的检测方法, 其特征在于: 所述试剂卡反应完成后通过仪器检测或者色卡对比T、C线的信号值或色深来计算样本中待测物的浓度。

19. 使用权利要求15-18任一检测方法用于对泪液、伤口渗出液、组织液、汗液、房水、眼表润洗液微量样本的检测。

一种试剂卡、检测方法及应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种试剂卡,具体说是一种微量样本体外精准简捷检测的试剂卡、检测方法及应用。

背景技术

[0002] POCT,即时检验(point-of-care testing),指在病人旁边进行的临床检测及床边检测(bedside testing),通常不一定是临床检验师来进行,而是在采样现场即刻进行分析,省去标本在实验室检验时的复杂处理程序,快速得到检验结果的一类新方法。

[0003] 试剂卡是即时检验中常用的工具,用于检验血液、尿、粪便和其他体液中的生化物质,例如血清、血浆和尿中的胆红素和蛋白质、葡萄糖、血红素、酮体、亚硝酸盐、尿胆素原等生物标记物。

[0004] 试剂卡由卡壳(面盖及底盖)与卡壳内的试纸条组成,试纸条固定于底盖的卡槽内,将面盖与底盖结合后组装成试剂卡。

[0005] 目前的快速检测技术,对样本体积要求一般至少10uL。可是临床上有些样本仅可获得1uL甚至更少,例如泪液样本。

[0006] 现有的快速检测技术,对于样本量体积极为微量的情况下如2uL,如果对样本进行额外步骤的操作处理,例如稀释,这会不可避免地降低检测灵敏度、精密度和准确度,增加检测操作的复杂性、对工具的要求较高和产生差错的机率较大。

[0007] 现有的快速检测技术其灵敏度一般在0.05ng/mL(荧光免疫检测 0.1ng/mL,量子点0.05ng/mL),精密度一般在5%~15%。如果以待测物的总量检测下限计算:约为0.5pg,对于微量样本来说测试较为困难。

[0008] 对于眼类疾病来说,由于眼睛器官的敏感和脆弱,其对检测要求比较高;而在实际操作中,由于眼睛可采的样本泪液、房水、眼表润洗液均属微量样本,检测难度大;例如患者眼睛红肿、结膜充血,临床医生不借助检测技术很难判断病因,是感染还是过敏引起,准确快速诊断病因对指导用药具有十分重要作用;如果是过敏引起会使用抗过敏药,如果是感染,例如病毒感染或者阿米巴感染会使用抗病毒或相应的抗阿米巴感染治疗;如果因为误诊对感染的眼睛使用了抗过敏药甚至激素的话,有可能会对患者病情更加严重,甚至造成严重的医疗事故。

发明内容

[0009] 有鉴于此,本发明提供了一种试剂卡,通过卡壳结构的特殊设计,控制检测液液体在试纸条上的的流向及层析速度,达到精准检测临床上微量样本的目的,用于解决现有技术中存在的问题。

[0010] 本发明提供了一种试剂卡,包括面盖、底盖、试纸条;所述面盖和所述底盖将试纸条固定;

[0011] 所述底盖内部设置卡槽结构、凸起平台;所述卡槽结构内设置有支撑凸起,所述支

撑凸起的高度小于等于所述凸起平台的高度；

[0012] 所述面盖设置固定板、反应窗口、加样孔、检测液孔；所述反应窗口、加样孔、检测液孔依次设置；所述固定板分布在所述反应窗口两侧；

[0013] 所述试纸条装入所述底盖的卡槽结构固定后，所述试纸条被所述凸起平台和支撑凸起支撑，所述面盖和所述底盖通过定位孔和定位柱卡接后，在所述面盖固定板和检测液孔的挤压下，所述试纸条中部向上凸起。

[0014] 优选地，所述试纸条包括三层或四层结构，第一层为底板，第二层为反应膜，第三层为吸收垫、结合垫和缓冲垫；或者第一层为底板，第二层为反应膜和缓冲垫，第三层为吸收垫、和结合垫；或者第一层为底板，第二层为反应膜，第三层为吸收垫和结合垫，第四层为缓冲垫；

[0015] 所述反应膜设置在所述底板中部，所述反应膜上分布有检测线T和质控线C，所述检测线T和质控线C与所述反应窗口对应；

[0016] 所述反应膜的一端设置结合垫，所述反应膜的另外一端设置吸收垫，所述结合垫与所述加样孔对应；

[0017] 所述结合垫上或结合垫下设置缓冲垫或者所述结合垫与所述缓冲垫对接，所述缓冲垫与所述检测液孔对应。

[0018] 优选地，所述卡槽结构数量为两个，分布在所述凸起平台两侧。

[0019] 优选地，所述卡槽结构内设置1-5个支撑凸起。

[0020] 优选地，所述卡槽结构内设置3个支撑凸起

[0021] 优选地，与所述检测液孔对应的所述卡槽结构的两边对称设置有导流口。

[0022] 优选地，所述卡槽结构的深度为1.2-1.7mm，所述支撑凸起的高度为 0.1-0.15mm，所述凸起平台高度为0.15-0.25mm。

[0023] 优选地，所述固定板的数量为4个，分别为用于固定所述试纸条的第一固定板、用于固定所述试纸条的第二固定板、用于固定所述试纸条上所述吸收垫和反应膜结合的第三固定板、用于固定所述试纸条上所述反应膜和结合垫结合的第四固定板；所述第四固定板设置在所述加样孔和所述反应窗口之间，所述第一固定板、第二固定板、第三固定板分布在所述反应窗口另一侧。

[0024] 优选地，第一固定板、第二固定板、第三固定板、第四固定板的宽度为 3-5mm；第一固定板、第二固定板的高度为1.0-1.5mm，第三固定板、第四固定板的高度为0.1-0.3mm。

[0025] 优选地，所述加样孔为漏斗状结构，面盖正面圆直径4-6mm，面盖内部圆直径为3-5mm，凸起高度为0.1-0.2mm，孔壁与水平面呈30°-45°夹角。

[0026] 优选地，所述检测液孔为漏斗状结构，面盖正面圆直径6-8mm，面盖内部圆直径为1-3mm，凸起高度为0.3~0.5mm，孔壁与水平面呈30°-45°夹角。

[0027] 优选地，所述反应窗口为椭圆形环结构，面盖正面椭圆长150-200mm，宽度为70-90mm，面盖内部圆直径为130-150mm，凸起高度为0.1-0.2mm，孔壁与水平面呈30°-45°夹角，反应窗内底部与试纸条接触面为 0.01-0.02mm的垂直凸起。

[0028] 优选地，所述面盖包括手持端，所述手持端的表面为螺纹状或凸点状凸起结构。

[0029] 优选地，所述面盖和所述底盖之间通过定位孔和定位柱卡接。

[0030] 所述反应膜上分布的检测线T为一条、两条或多条。

[0031] 此外,本申请还提供了一种使用上述任一试剂卡实现的检测方法,步骤 (1) 加样孔内加样

[0032] 样本采集后,将样本加入所述加样孔内的结合垫上,结合垫上有纳米微球偶联的抗体,即抗体纳米微球,样本中的待测物与结合垫上的抗体纳米微球免疫结合形成抗体纳米微球复合物;

[0033] 步骤(2)检测液孔内加入检测液

[0034] 在检测液孔中加入检测液后,检测液开始沿着试纸条的吸水垫端的方向开始层析,检测液层析经过加样孔位置溶解结合垫上未与待测物结合的抗体纳米微球及已与待测物结合的抗体纳米微球复合物,检测液在试纸条上的层析经历了“爬坡、平行、下坡”,检测液在试纸条上移动,在“平行”阶段进行第二次免疫识别反应,步骤(1)中抗体纳米微球复合物在检测线T处进行第二次免疫识别反应,并且开始显色;而不与检测线T反应的抗体纳米微球则继续向前运动,与质控线C结合显色。

[0035] 优选地,加样孔内加样为0.1-50ul;检测液孔内加入检测液0-150ul。

[0036] 优选地,所述试剂卡反应完成后通过仪器检测或者色卡对比T、C线的信号值或色深来计算样本中待测物的浓度。

[0037] 优选地,上述检测方法用于对泪液、伤口渗出液、组织液、汗液、房水、眼表润洗液等微量样本的检测,也可用于对于常规样本血液(末梢血、血清、血浆)、唾液、尿液等常规样本的检测;也可用于对于其它非临床样本的检测,例如宠物、畜牧业、农业、鱼类、食品、环保检测等。

[0038] 由于所述支撑凸起的高度小于等于所述凸起平台的高度,试纸条装入卡槽固定后,试纸条在两端卡槽内的支撑凸起的支撑下形成“桥”的结构;在面盖和底盖通过定位孔和定位柱卡接过程中,面盖上固定板、加样孔、检测液孔与凸起平台配合向下挤压,中间部位反应膜向上凸起,与水平面形成“拱桥”结构。这一“拱桥”结构控制检测液液体在试纸条上的流向及层析速度,进而提高了试剂卡的检测结果准确度和精密度,达到精准检测临床上微量样本的目的,填补了现有POCT微量样本检测产品的市场空白。

附图说明

[0039] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,下面将对实施例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,下面描述中的附图仅仅是本发明的实施例,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,还可以根据提供的附图获得其他的附图。

[0040] 图1为面盖示意图;

[0041] 图2为底盖示意图;

[0042] 图3a为试纸条实施例1示意图;

[0043] 图3b为试纸条实施例2示意图;

[0044] 图3c为试纸条实施例3示意图;

[0045] 图4为试剂卡示意图;

[0046] 图5a为面盖正面示意图;

[0047] 图5b为面盖反面示意图;

- [0048] 图5c为面盖截面示意图；
[0049] 图6a为底盖正面示意图；
[0050] 图6b为底盖反面示意图；
[0051] 图6c为底盖截面示意图；
[0052] 图7a为试剂卡拆解示意图；
[0053] 图7b为试剂卡截面示意图；
[0054] 图8a为试剂卡组装后的截面示意图；
[0055] 图8b为试剂卡组装后的截面局部放大图。
[0056] 图中：1.底板，2.缓冲垫，3.结合垫，4.反应膜，5.检测线T，6.质控线C，7.吸收垫，G01.定位柱，G02.第一固定板，G03.第二固定板，G04.第三固定板，G05.反应窗口，G06.第四固定板，A.加样孔，B.检测液孔，C.手持端，D01.定位孔，D02.第一卡槽结构，D03.支撑凸起，D04.凸起平台，D05.导流口，D06.第二卡槽结构。

具体实施方式

- [0057] 本发明实施例提供了一种试剂卡，用于解决现有技术中存在的问题。
- [0058] 下面将对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述，显然，所描述的实施例仅仅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。
- [0059] 为了更详细说明本发明，下面结合附图对本发明提供的一种试剂卡，进行具体地描述。
- [0060] 参见图1-4，本发明提供了一种试剂卡，包括面盖、底盖、试纸条；所述面盖和所述底盖之间通过定位孔和定位柱卡接将试纸条固定；面盖上设有定位柱G01，底盖上设置有定位孔D01，通过定位柱G01和定位孔D01的配合将试纸条固定；定位柱G01位置前、中、后三组对称分布，定位柱G01高度 2.5~3.5mm，直径1.0~1.5mm，主要支撑和固定试剂卡的作用；定位孔D01 位置前、中、后三组对称分布，柱孔高度2.5~3.5mm，直径1.1~1.6mm，与面盖的柱子结合支撑和固定试剂卡的作用。
- [0061] 如图6a-6c所示，所述底盖内部设置卡槽结构（D02、D06）、凸起平台 D04；所述卡槽结构内设置有支撑凸起D03，所述支撑凸起D03的高度小于等于所述凸起平台D04的高度；
- [0062] 如图5a-5c所示，所述面盖设置固定板（G02、G03、G04、G06）、反应窗口G05、加样孔A、检测液孔B；所述反应窗口G05、加样孔A、检测液孔 B依次设置；所述固定板（G02、G03、G04、G06）分布在所述反应窗口G05 两侧；
- [0063] 所述试纸条装入所述底盖的卡槽结构（D02、D06）固定后，所述试纸条被所述凸起平台D04和支撑凸起D03支撑，所述面盖和所述底盖通过定位孔和定位柱卡接后，在所述面盖固定板（G02、G03、G04、G06）和检测液孔B 的挤压下，所述试纸条中部向上凸起。
- [0064] 如图3所示，所述试纸条包括三层或四层结构，第一层为底板1，材料优选为PVC，第二层为反应膜4，第三层为吸收垫7、结合垫3和缓冲垫2；或者第一层为底板1，第二层为反应膜4，第三层为吸收垫7和结合垫3，第四层为缓冲垫2；
- [0065] 所述反应膜4设置在所述底板1中部，所述反应膜4上分布有检测线T5 和质控线

C6,所述检测线T5和质控线C6与所述反应窗口G05对应;所述检测线T5可以为两条,用于两种疾病的区分。

[0066] 所述反应膜4的一端设置结合垫3,所述反应膜4的另外一端设置吸收垫 7,所述结合垫3与所述加样孔A对应;

[0067] 所述结合垫3上设置缓冲垫2或者所述结合垫3与所述缓冲垫2对接,所述缓冲垫2与所述检测液孔B对应。

[0068] 所述卡槽结构数量为两个分别为第一卡槽结构D02和第二卡槽结构D06,第一卡槽结构D02和第二卡槽结构D06分布在所述凸起平台D04两侧。

[0069] 所述卡槽结构内设置1-5个支撑凸起;优选地,所述卡槽结构内设置3 个支撑凸起,如图6a-6c所示,第一卡槽结构D02和第二卡槽结构D06内分别设置有三个支撑凸起D03。

[0070] 与所述检测液孔B对应的所述第二卡槽结构D06的两边对称设置有导流口D05;两组导流口D05于卡槽两端对称设置,确保检测液沿试纸条层析,避免因试剂卡表面张力导致液体粘在卡壳上或者渗到试纸条背面。

[0071] 第一卡槽结构D02和第二卡槽结构D06的宽度3-5mm,长度10-18mm,深度为1.2-1.7mm,所述支撑凸起D03的高度为0.1-0.15mm,宽度3-5mm,所述凸起平台D04高度为0.15-0.25mm。支撑凸起D03类似于桥墩的工作原理,在卡槽内的两端均有分布,在吸收垫端设置了三个,起固定和支持试纸条的作用。

[0072] 所述固定板的数量为4个,分别为用于固定所述试纸条的第一固定板G02、用于固定所述试纸条的第二固定板G03、用于固定所述试纸条上所述吸收垫和反应膜结合的第三固定板G04、用于固定所述试纸条上所述反应膜和结合垫结合的第四固定板G06;所述第四固定板G06设置在所述加样孔和所述反应窗口之间,所述第一固定板G02、第二固定板G03、第三固定板G04 分布在所述反应窗口G05另一侧。

[0073] 所述第一固定板G02、第二固定板G03、第三固定板G04、第四固定板 G06的宽度为3-5mm;所述第一固定板G02、第二固定板G03的高度为 1.0-1.5mm,第三固定板G04、第四固定板G06的高度为0.1-0.3mm。

[0074] 第一固定板G02、第二固定板G03用于固定卡壳组装后的试纸条,区别于其他厂家的试纸条采用胶布固定的方式;第三固定板G04主要作用固定试纸条上吸收垫7与反应膜4结合,确保免疫层析后期液体有牵引力继续层析移动;第四固定板G06主要作用固定试纸条上结合垫3与反应膜4结合,使第一步反应物和溶液顺利到达反应膜4,进行第二步的反应;

[0075] 所述加样孔A为漏斗状结构,面盖正面圆直径4-6mm,面盖内部圆直径为3-5mm,凸起高度为0.1-0.2mm,孔壁与水平面呈30°-45°夹角;广口设计有利于微量样本加样时与试纸条的结合垫3接触,也方便多种器具采集样本后的加样,充分的被结合垫吸收。

[0076] 所述检测液孔B为漏斗状结构,面盖正面圆直径6-8mm,面盖内部圆直径为1-3mm,凸起高度为0.3-0.5mm,孔壁与水平面呈30°-45°夹角;漏斗形设计在加检测液后存储液体、形成液压驱动液体向结合垫3、反应膜4方向运动;凸起高度0.3~0.5mm与底盖结合后压紧卡槽部位的缓冲垫2,容量约 90μL,在毛细作用下定向的缓慢释放液体,避免液体流速过快,导致第一步免疫反应不充分;

[0077] 所述反应窗口G05为椭圆形环结构,面盖正面椭圆长150-200mm,宽度为70-90mm,面盖内部圆直径为130-150mm,凸起高度为0.1-0.2mm,孔壁与水平面呈30°-45°夹角,反应

窗内底部与试纸条接触面为0.01-0.02mm的垂直凸起;0.01-0.02mm的垂直凸起的设计避免了在液体反应膜4上层析运动时受到内凸起边缘效应的影响;同时,凸起的高度0.1-0.2mm与加样孔A的高度相同,均低于检测液B0.3-0.5mm,保证了试剂卡内部的空气流通,使得液体层析过程中不受气压的影响。反应窗口G05为免疫反应第二步反应的部位,反应结束后,可以通过仪器检测T、C线的信号值或者色卡对比T、C线色深来计算样本中待测物的浓度;

[0078] 所述面盖包括手持端C,所述手持端C的表面为螺纹状或凸点状凸起结构。

[0079] 凸起平台D04的长度15.0-0.0mm,宽度3.0-5.0mm,高度0.15-0.25mm;这一凸起平台D04位于面盖反应窗口,是进行第二步免疫结合反应的部位;由于所述支撑凸起D03的高度小于等于所述凸起平台D04的高度,试纸条装入卡槽固定后,试纸条在两端卡槽内的支撑凸起D03的支撑下形成“桥”的结构;在面盖和底盖通过定位孔和定位柱卡接过程中,面盖上固定板(G02、G03、G04、G06)、加样孔A、检测液孔B与凸起平台D04配合向下挤压,使试纸条中间部位反应膜4水平面抬高,中间部位反应膜4向上凸起 0.15-0.25mm,与水平面形成“拱桥”结构(参见图8b)。这一“拱桥”结构的形成对于试剂卡的检测结果准确度和精密度有着重要的作用;这一设计具有以下两方面的作用:一、控制层析速度,使反应膜分子筛的作用进一步扩大:液体在层析的过程中,试纸条水平面逐渐上升,液体层析时处于一种爬坡状态,此时层析速度减慢,延长了第二步反应的时间,在第一步未被充分结合的待测物在移动的过程中被进一步识别结合,在减慢层析速度的情况下,进一步发挥反应膜分子筛的作用,将一些样本中的非目标物分离;第二步充分反应后液体开始下坡状态,并且在吸收垫的作用下,层析速度加快,整个反应过程于10~15min内完成,试剂卡液体层析速度约为45mm/s;二、液体流向统一:试剂条形成“拱桥”的结构(参见图8b),液体在毛细作用下向同一方向层析运动,避免在滴加检测液时由于液压导致液体向四周扩散,使待测物流失的情况;保证了微量样品液的有效检测浓度。

[0080] 此外,本申请还提供了一种使用上述任一试剂卡实现的检测方法,步骤 (1) 加样孔内加样

[0081] 样本采集后,将样本加入所述加样孔内的结合垫上,结合垫上有纳米微球偶联的抗体,即抗体纳米微球,样本中的待测物与结合垫上的抗体纳米微球免疫结合形成抗体纳米微球复合物;

[0082] 步骤(2) 检测液孔内加入检测液

[0083] 在检测液孔中加入检测液后,检测液开始沿着试纸条的吸水垫端的方向开始层析,检测液层析经过加样孔位置溶解结合垫上未与待测物结合的抗体纳米微球及已与待测物结合的抗体纳米微球复合物,检测液在试纸条上的层析经历了“爬坡、平行、下坡”(参见图8b),检测液在试纸条上移动,在“平行”阶段进行第二次免疫识别反应,步骤(1)中抗体纳米微球复合物在检测线T处进行第二次免疫识别反应,并且开始显色;而不与检测线T反应的抗体纳米微球则继续向前运动,与质控线C结合显色。

[0084] 加样孔内加样为0.1-50ul;检测液孔内加入检测液0-150ul。

[0085] 所述试剂卡反应完成后通过仪器检测或者色卡对比T、C线的信号值或色深来计算样本中待测物的浓度,C线显色是否充分是评价本试剂卡反应是否完成,测值是否准确的重要指标。C线为质控线,对试剂卡测试结果判读起重要的作用,C线需充分显色并达到既定的数值,才能判断检测结果是有效的;C线不显色,测值低,可能存在干扰,检测结果无效;C线

显色不充分,测值偏低,提示使用者可能操作错误,检测结果无效。

[0086] 上述检测方法用于对泪液、伤口渗出液、组织液、汗液、房水、眼表润洗液的检测。

[0087] 对于微量样本的检测,提高样本的利用率,充分的让待测物被相应的抗体识别并发生免疫结合的反应是确保检测结果准确可靠的关键,在本试剂卡的设计中主要从以下四方面来实现:

[0088] (1) 加样

[0089] 试剂卡正面(面盖)的设计有加样孔A和检测液孔B,当样本量1~5 μ L 时,微量的样本采集后,将样本加入加样孔A内的结合垫上,再在检测液孔 B滴加检测液,开始免疫层析的反应,整个过程操作简捷;

[0090] 加样孔A处于试纸条的结合垫处,结合垫的材质为亲水性的玻璃纤维素,在结合垫上有纳米颗粒标记的抗体AB-1,将样本直接加于结合垫上,亲水性的材质有利于样本的扩散,从而使样本中的待测物与纳米颗粒标记的抗体 AB-1识别并发生免疫结合,样本的利用率几乎达到了100%,而且微量的液体0.1~5 μ L并不引起后续的层析反应;备选也可以加更多体积的样本, $\geq 50 \mu$ L,直接加样后进行检测;

[0091] (2) 第一步免疫反应

[0092] 样本加入加样孔A后,待测物便与纳米微球标记的抗体AB-1结合,形成双抗体夹心法“三明治”结构的底层和中间层,完成免疫层析法检测的第一步反应;

[0093] (3) 免疫层析过程中液体流动方向及流速的控制

[0094] 在检测液孔B中加入检测液后,检测液液体开始沿着试纸条吸水垫端的方向开始层析,从开始至整个反应完成的过程中,液体在试纸条上的层析经历了“爬坡、平行、下坡”(参见图8b),液体流动方向及流速的控制均依赖于试剂卡特殊的设计来完成;

[0095] (4) 第二步免疫反应

[0096] 液体在试纸条上移动在“平行”阶段进行第二次免疫识别反应,与检测线T形成完整的“三明治”结构,并且开始显色,颜色的深浅与待测物即“三明治”中间层的含量成正相关;而不与T线反应的纳米颗粒则继续向前运动,与质控线C结合显色。试剂卡反应完成后可以通过仪器检测或者色卡对比T、C线的信号值或色深来计算样本中待测物的浓度,C线显色是否充分是评价本试剂卡反应是否完成,测值是否准确的重要指标。

[0097] 通过卡壳结构的特殊设计,控制检测液液体在试纸条上的的流向及层析速度,达到精准检测临床上微量样本的目的,填补了现有POCT微量样本检测产品的市场空白。

[0098] 检测方法实施例1

[0099] 本申请提供的试剂卡可用于干眼症的辅助诊断;

[0100] 步骤(1) 加样孔内加样

[0101] 泪液样本采集后,将泪液样本1 μ L加入所述加样孔内的结合垫上,结合垫上有纳米微球偶联的 α 淋巴毒素(LTA)抗体,即抗体纳米微球,样本中的待测物与结合垫上的抗体纳米微球免疫结合形成抗体纳米微球复合物;

[0102] 步骤(2) 检测液孔内加入检测液

[0103] 在检测液孔中加入 α 淋巴毒素(LTA)检测液后,检测液开始沿着试纸条的吸水垫端的方向开始层析,检测液层析经过加样孔位置溶解结合垫上未与待测物结合的抗体纳米微球及已与待测物结合的抗体纳米微球复合物,检测液在试纸条上的层析经历了“爬坡、平

行、下坡”(参见图8b),检测液在试纸条上移动,在“平行”阶段进行第二次免疫识别反应,步骤(1)中抗体纳米微球复合物在检测线T处进行第二次免疫识别反应,并且开始显色;而不与检测线T反应的抗体纳米微球则继续向前运动,与质控线C结合显色。经过多次试验,灵敏度达到0.15ng/mL;精密度CV达到5%~10%。

[0104] 检测方法实施例2

[0105] 本申请提供的试剂卡可用于炎症的辅助诊断;

[0106] 步骤(1)加样孔内加样

[0107] 房水样本采集后,将房水样本0.5μL加入所述加样孔内的结合垫上,结合垫上有纳米微球偶联的基质金属蛋白酶9(MMP-9)抗体,即抗体纳米微球,样本中的待测物与结合垫上的抗体纳米微球免疫结合形成抗体纳米微球复合物;

[0108] 步骤(2)检测液孔内加入检测液

[0109] 在检测液孔中加入基质金属蛋白酶9(MMP-9)检测液后,检测液开始沿着试纸条的吸水垫端的方向开始层析,检测液层析经过加样孔位置溶解结合垫上未与待测物结合的抗体纳米微球及已与待测物结合的抗体纳米微球复合物,检测液在试纸条上的层析经历了“爬坡、平行、下坡”(参见图8b),检测液在试纸条上移动,在“平行”阶段进行第二次免疫识别反应,步骤(1)中抗体纳米微球复合物在检测线T处进行第二次免疫识别反应,并且开始显色;而不与检测线T反应的抗体纳米微球则继续向前运动,与质控线C结合显色。经过多次试验,灵敏度达到1.0ng/mL;精密度CV达到5%~10%。

[0110] 检测方法实施例3

[0111] 本申请提供的试剂卡可用于过敏性结膜炎的辅助诊断;

[0112] 步骤(1)加样孔内加样

[0113] 眼表润洗液样本采集后,将眼表润洗液样本2.2μL加入所述加样孔内的结合垫上,结合垫上有纳米微球偶联的总免疫球蛋白E(IgE)抗体,即抗体纳米微球,样本中的待测物与结合垫上的抗体纳米微球免疫结合形成抗体纳米微球复合物;

[0114] 步骤(2)检测液孔内加入检测液

[0115] 在检测液孔中加入总免疫球蛋白E(IgE)检测液后,检测液开始沿着试纸条的吸水垫端的方向开始层析,检测液层析经过加样孔位置溶解结合垫上未与待测物结合的抗体纳米微球及已与待测物结合的抗体纳米微球复合物,检测液在试纸条上的层析经历了“爬坡、平行、下坡”(参见图8b),检测液在试纸条上移动,在“平行”阶段进行第二次免疫识别反应,步骤(1)中抗体纳米微球复合物在检测线T处进行第二次免疫识别反应,并且开始显色;而不与检测线T反应的抗体纳米微球则继续向前运动,与质控线C结合显色。经过多次试验,灵敏度达到0.5IU/mL;精密度CV达到5%~10%。

[0116] 检测方法实施例4

[0117] 本申请提供的试剂卡可用于结膜炎的辅助诊断,对过敏或病毒感染引起的结膜炎鉴别诊断;

[0118] 步骤(1)加样孔内加样

[0119] 眼表润洗液样本采集后,将眼表润洗液样本2.2μL加入所述加样孔内的结合垫上,结合垫上有纳米微球偶联的总免疫球蛋白E(IgE)抗体和病毒抗体,即抗体纳米微球,样本中的待测物与结合垫上的抗体纳米微球免疫结合形成抗体纳米微球复合物;

[0120] 步骤(2)检测液孔内加入检测液

[0121] 在检测液孔中加入总免疫球蛋白E (IgE) 和病毒检测液后,检测液开始沿着试纸条的吸水垫端的方向开始层析,检测液层析经过加样孔位置溶解结合垫上未与待测物结合的抗体纳米微球及已与待测物结合的抗体纳米微球复合物,检测液在试纸条上的层析经历了“爬坡、平行、下坡”(参见图8b),检测液在试纸条上移动,在“平行”阶段进行第二次免疫识别反应,步骤(1)中抗体纳米微球复合物在两条检测线T(分别为病毒检测线T和总IgE检测线T)处进行第二次免疫识别反应,并且开始显色,根据病毒检测线T和总IgE检测线T的显色情况可以判断眼疾具体为病毒感染还是过敏引起;而不与检测线T反应的抗体纳米微球则继续向前运动,与质控线C结合显色。经过多次试验,灵敏度达到0.5IU/mL或0.5ng/mL;精密度CV达到5%~10%。

[0122] 以上所述仅是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

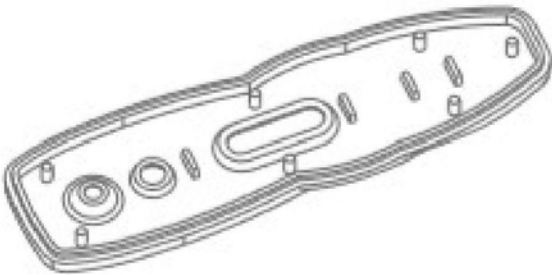


图1

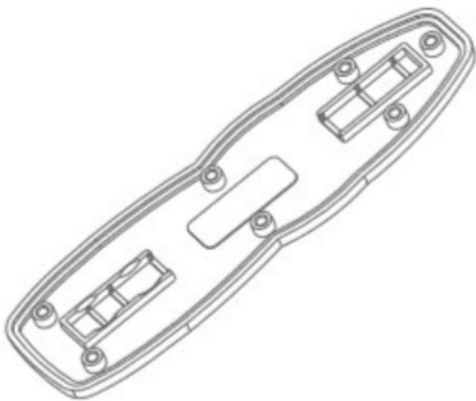


图2



图3a

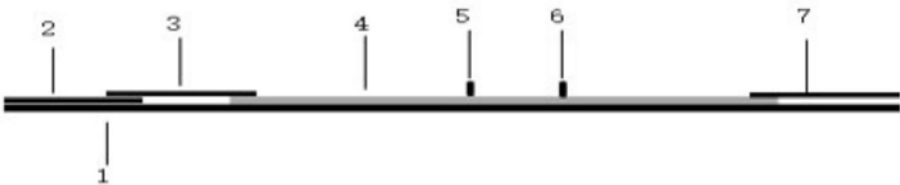


图3b



图3c

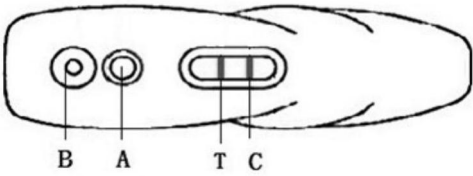


图4

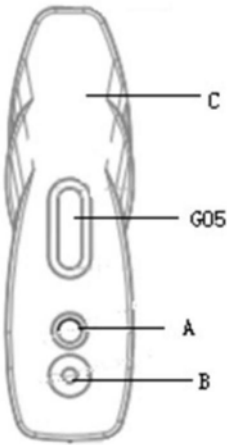


图5a

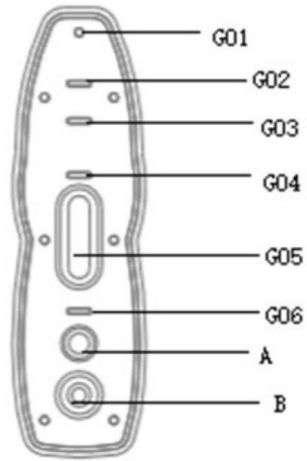


图5b

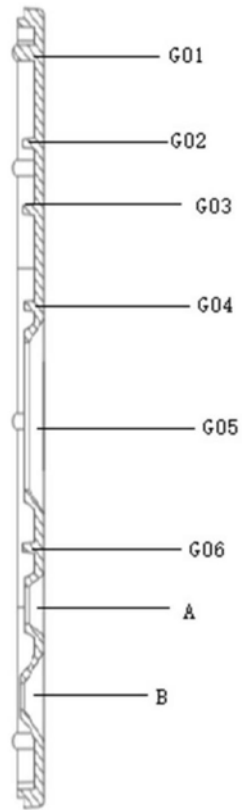


图5c



图6a

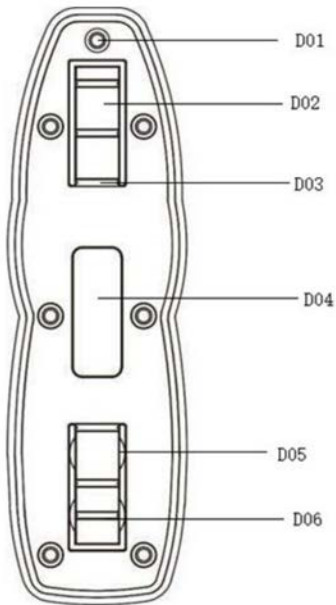


图6b

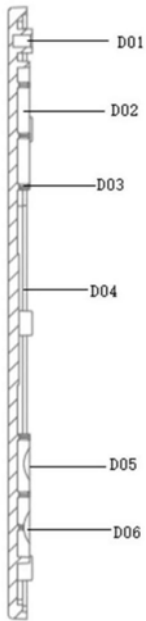


图6c

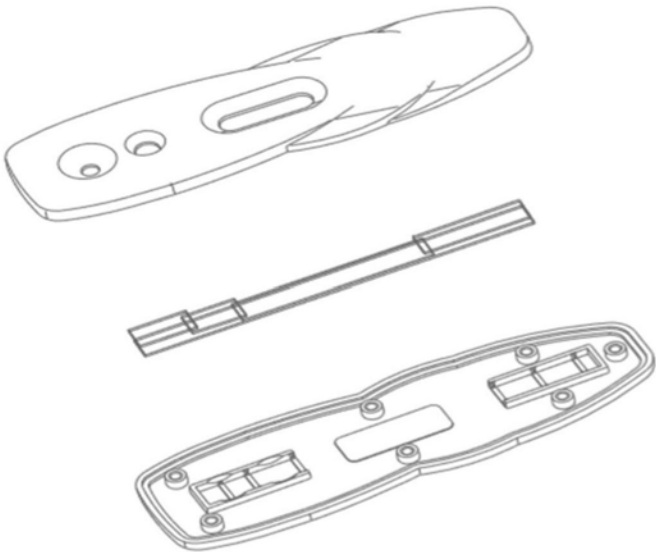


图7a

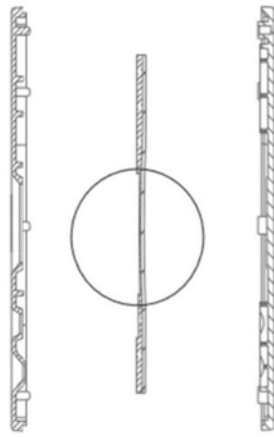


图7b

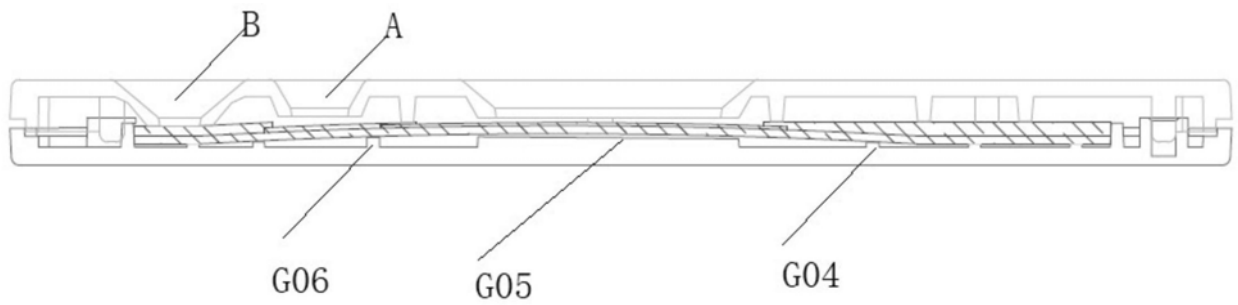


图8a

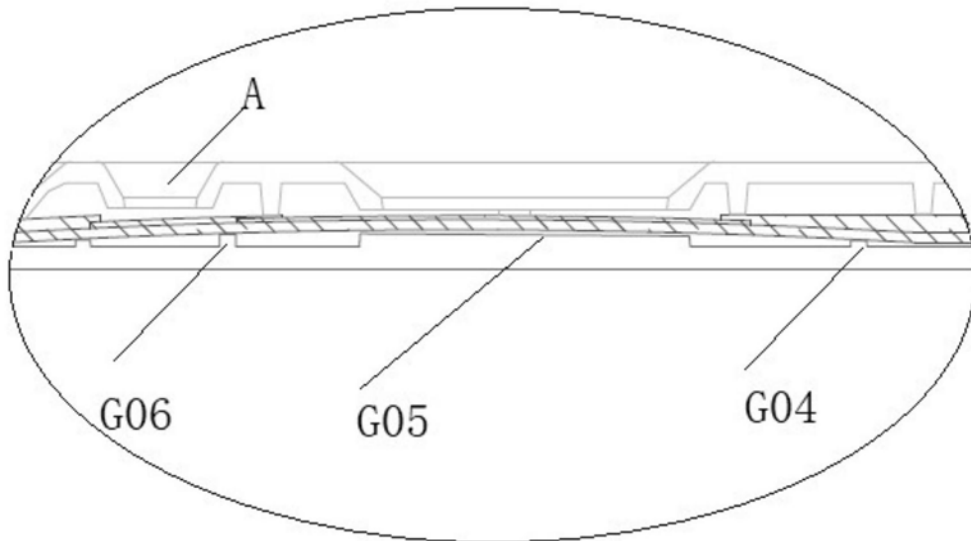


图8b

专利名称(译)	一种试剂卡、检测方法及应用		
公开(公告)号	CN110361529A	公开(公告)日	2019-10-22
申请号	CN201910657081.5	申请日	2019-07-19
[标]申请(专利权)人(译)	广东盛泽康华生物医药有限公司		
申请(专利权)人(译)	广东盛泽康华生物医药有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	广东盛泽康华生物医药有限公司		
[标]发明人	黄静峰 李之华		
发明人	黄静峰 李之华		
IPC分类号	G01N33/533 G01N33/53 G01N33/543		
CPC分类号	G01N33/53 G01N33/533 G01N33/54346		
代理人(译)	郭帅		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种试剂卡、检测方法及应用，所述面盖和所述底盖之间通过定位孔和定位柱卡接将试纸条固定；所述底盖内部设置卡槽结构、凸起平台；所述卡槽结构内设置有支撑凸起，所述支撑凸起的高度小于等于所述凸起平台的高度；所述面盖设置固定板、反应窗口、加样孔、检测液孔；所述面盖和所述底盖通过定位孔和定位柱卡接后，在所述面盖固定板和检测液孔的挤压下，所述试纸条中部向上凸起，与水平面形成“拱桥”结构。这一“拱桥”结构控制检测液液体在试纸条上的流向及层析速度，进而提高了试剂卡的检测结果准确度和精密度，达到精准检测微量样本的目的，填补了现有POCT微量样本检测产品的市场空白。

