

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200410052202.7

G01N 35/00 (2006.01)
G01N 33/50 (2006.01)
G01N 21/31 (2006.01)
G01N 21/64 (2006.01)

[43] 公开日 2006年5月17日

[11] 公开号 CN 1773288A

[22] 申请日 2004.11.9

[21] 申请号 200410052202.7

[71] 申请人 盛进生物工程(深圳)有限公司

地址 518067 广东省深圳市南山区蛇口工业
五路南水工业村七栋四楼

[72] 发明人 周思亮

[74] 专利代理机构 深圳市中知专利商标代理有限公司
代理人 王雄杰

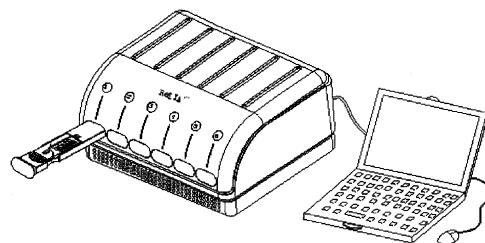
权利要求书7页 说明书23页 附图12页

[54] 发明名称

侧流分析系统和方法

[57] 摘要

本发明涉及一种快速诊断的侧流分析系统和方法,该检测系统包括1个主单元和1~20个测试模块,并通过USB或蓝牙无线接收器连接到电脑主机,电脑主机通过相关软件控制检测仪运行。其采用生化反应的平台,实施各种检测项目,用检测仪提供一个或多个生化反应所需的温度条件及孵育,用可测光对生化反应产生的可检测区域(色带或色点)进行测定,通过对照物与待测物之间光密度值比值的计算和分析,由检测仪对用于液态生物标本,并不限于人类的待检标本的待检项目作出定量或定性的判断,通过预设程序将检测结果储存于数据库。借此,本发明检测系统与方法能快速、相对高通量对临床液态生物标本的多种检测内容进行准确量的检测。



- 1、 一种侧流分析方法，用以生化反平台，实施各种检测项目，用检测仪提供一个或多个生化反应所需的温度条件及孵育，其特征在于用可测光对生化反应产生的可检测色带或色点进行测定，通过对照物与待测物之间光密度值比值的计算和分析，由检测仪对用于液态生物标本，并不限于人类的待检标本的待检项目作出定量或定性的判断，通过预设程序将检测结果储存於数据库。
- 2、 根据权利要求 1 所述的侧流分析方法，其特征在于所述的生化反应中设置了一个或以上对照物区域，该对照区域所用物质为人体内不存在的物质，如使用 DNP 二硝基酚。
- 3、 根据权利要求 1 所述的侧流分析方法，其特征在于所述的检测仪通过通讯接口与计算机相连，并通过该系统操作软件对检测试的项目类别进行识别。
- 4、 根据权利要求 3 所述的侧流分析方法，其特征在于所述的检测实现对待检样本的生化反应：利用毛细管层析作用，使待检液态标本在支持物上定向流动，与相对应检测物相遇并发生生化反应。
- 5、 根据权利要求 4 所述的侧流分析方法，其特征在于所述的待检样本为人工或自然的液态标本，如全血、血清、血浆、尿液、

- 唾液或其它体液。
- 6、 根据权利要求4所述的侧流分析方法，其特征在于所述的生化反应利用胶体金颗粒或银或荧光染料或 C^{14} 或其它金属或染料产生的可被光反射原理检测的色带，将检测信息经检测仪系统反馈到计算机分析系统上。
 - 7、 根据权利要求6所述的侧流分析方法，其特征在于所述胶体金颗粒或银或荧光染料或 C^{14} 或其它金属或染料产生的可被可见光检测的色带，将检测信息经检测仪的光电扫描系统反馈到计算机分析系统上。
 - 8、 根据权利要求6所述的侧流分析方法，其特征在于所述的胶体金颗粒或银或荧光染料或 C^{14} 或其它金属或染料产生的可被可见光检测的色带，将检测信息经检测仪的 CCD 摄象系统反馈到计算机分析系统上。
 - 9、 根据权利要求7或8所述的侧流分析方法，其特征在于所述的生化反应通过物理机械运动和电子线路对待完成项目实行检测时间和温度的控制，通过光密度反射捕获检测结果并反馈到计算机预设数据库。
 - 10、 根据权利要求9所述的侧流分析方法，其特征在于所述的数据库根据所捕获光密度分测待检标本所产生的相对光密度，并根据预设阈值或标准曲线分析，得出定性或定量的检测结果。
 - 11、 根据权利要求10所述的侧流分析方法，其特征在于系统预设程序对所测条带进行光密度值分析，以待检测带光密度值 / 对照

带光密度值计算待检带的相对光密度比值；并将该相对光密度比值与电脑内预置的，与该检测项目相关的检测相对光密度比值阈值或标准曲线相对光密度比值进行相关分析，得出定性或定量的检测结果。

- 12、根据权利要求 11 所述的侧流分析方法，其特征在于所述的待检标本的定性或定量的检测结果通过系统运行软件进行自动储存，并可被下载或打印。
- 13、根据权利要求 12 所述的侧流分析方法，其特征在于所述的检测仪通过对测试盒外壳上的条形码识别该测试盒所含的检测内容，并通过该条形码识别所检测项目批间差的校正值。
- 14、根据权利要求 13 所述的侧流分析方法，其特征在于液体样本加入所述测试盒窗口 A 后，通过毛细管层析作用向 B 端流动；途经预先包被的检测带上的可与待检物质产生生化反应的抗原或抗体，形成免疫复合物。
- 15、根据权利要求 11 所述的侧流分析方法，其特征在于所述的测试条 B 端包被有以胶体金偶联的，可与待检物质或在检测带上所形成的免疫复合物产生生化反应的抗原或抗体；以及已偶联的，可与观察窗区预包被的对照物质反应的抗原或抗体。
- 16、根据权利要求 15 所述的侧流分析方法，其特征在于将液体样本或缓冲液加入 B 端，溶解该预包被偶合物，通过毛细管作用向 A 端流动，途径观察窗区；已溶解的 B 端物质中可与预包被的对照物质产生生化反应的胶体金偶合抗对照物与对照物质产生

- 生化复合物而沉积在反应原点。
- 17、 根据权利要求 16 所述的侧流分析方法,其特征在于所述的而胶体金偶合的抗检测带物质或抗已形成的免疫复合物与检测带或区域上已形成的生化复合物发生第二次生化反应而沉积在反应处。
 - 18、 根据权利要求 17 所述的侧流分析方法,其特征在于所述的胶体金的红色,在积沉处形成可见的条带或区域;测试的 A 端安置有吸水垫片以吸收反应中多余的液体。
 - 19、 根据权利要求 18 所述的侧流分析方法,其特征在于为克服同批次不同所述的测试盒对同一样本检测结果的差异,在硝基纤维素膜上包被了高、低浓度两条对照带;使检测仪扫描后不直接用得到的光密度值判读结果,而用待检测带光密度值比上预先指定的高浓度对照带或低浓度对照带的相对光密度值来判读结果。
 - 20、 根据权利要求 19 所述的侧流分析方法,其特征在于每一特定检测项目的检定阈值经由特定的标准流程确定,每批生产的产品之间该检定阈值的变异,将被编入条形码而传递到仪器解读校正测定结果的过程中。
 - 21、 根据权利要求 20 所述的侧流分析方法,其特征在于在定量测试盒的生产中,通过改变不同批次条形码涵盖的信息来调整标准曲线的常用参数值及相对光密度值(RI 值)以达到减小批间差的目的。

- 22、 根据权利要求 21 所述的侧流分析方法,其特征在于每批生产测试盒后,做与第一批生产的测试盒同一系列浓度的标准品,并测得相应的高带光密度值(HC)、低带光密度值(LC)、待检测带光密度值(TD),再通过计算 $(\text{TEST (DR)} / \text{HC (DR)})$ 或 $\text{TEST (DR)} / \text{HC (DR)}$ 得到相应的 RI 值。
- 23、 根据权利要求 22 所述的侧流分析方法,其特征在于将得到的一系列浓度标准品的 RI 值和标准品的浓度用软件做成一条标准线,新的曲线与原预设的曲线比较,用 RI 值通过 Excel 表格计算两条曲线的误差斜率和截距,调整新曲线的参数,使光密度的曲线与标准曲线接近,从调整后的曲线,得出条形码中所涵盖的调整参数。
- 24、 根据权利要求 23 所述的侧流分析方法,其特征在于将所述参数信息输入软件后,软件将所有这些信息编为数码,然后将这些数码输入到的能制作条形码的软件中,通过软件可翻译成条形码,用此条形码制作成钢板印模,通过丝印机或移印机打印在测试盒盒盖上。
- 25、 一种侧流分析系统,包括 1 个主单元和 1~20 个测试模块,并通过 USB 或蓝牙无线接收器连接到电脑主机,电脑主机通过相关软件控制检测仪运行,识别检测项目,获取并分析检测结果,贮存待检样本信息及检测结果。
- 26、 根据权利要求 25 所述的侧流分析系统,其特征在于所述的系统的主单元与测试模块通过电缆连接,系统可以选择使用 1 个或

- 多个测试模块，主单元与测试模块之间被设计成相对独立关系。
- 27、 根据权利要求 26 所述的侧流分析系统，其特征在于所述的检测模块包含一个可用马达控制前、后移动托盘，承载测试盒，托盘底部特定位置安有电容传感器，以监控检测操作中的加样过程；托盘底部的特定部位还装置温控系统，以热电阻元件实现加温，以珀耳帖效应元件实现降温。
 - 28、 根据权利要求 27 所述的侧流分析系统，其特征在于主单元给各化验模块供电，协调多个化验模块的活动，并与相连的计算机提供通讯连接。
 - 29、 根据权利要求 28 所述的侧流分析系统，其特征在于所述的主单元从化验模块中接收到接收检测项目及反应条带的图像信息并反馈到相连的计算机上进行数据处理。
 - 30、 根据权利要求 29 所述的侧流分析系统，其特征在于所棕的计算机上运行的操作软件控制要求控制检测模块运行，包括温度控制、托盘运动、照明、摄像等。
 - 31、 根据权利要求 30 所述的侧流分析系统，其特征在于系统中的各化验模块均含有 1 个微处理器，可以执行诸如控制测试条带的照明、监控托盘的位置、监控环境温度和加热片温度、监控加样侦测电容传感器、通过 I2C 接口与主单元通讯，在制冷单元中还可监控帕尔帖热接收器的温度和风扇的转速，化验模块收集检测项目的图像信息并上传给主单元。
 - 32、 根据权利要求 31 所述的侧流分析系统，其特征在于系统利用

CCD 摄像对识别检测项目，捕获检测结果，通过相对光密度分析得出检测结论。

- 33、根据权利要求 32 所述的侧流分析系统，其特征在于所述的 CCD 摄像的区域包括测试盒上盖的条形码区和测试窗区；CCD 相机摄取测试窗区呈现的图象，系统对色带的光密度进行测定，并根据预设程序进行待检条带相对光密度分析，与预置参数比较后得出定量或定性的检测结论。

侧流分析系统和方法

技术领域

本发明涉及了一种快速诊断的方法及医疗器械，特别适用于一种可同时对多个样本、多种检测项目同时进行快速定量或定性免疫学检测的方法及系统。

背景技术

灵敏、便捷、定量、快速的诊断方法是当今日益普及的“床前即时诊断”（Point of care test, POCT）医疗诊断系统的发展方向。自80年代初问世的，基于毛细管层析原理的快速免疫检测方法（快速检测试纸条）逐渐普及（如 Eisinger; Robert W, US patent 4,943,522, Pawlaketal, US patent 5,770,460, Charlton; David E., UA patent 5714389），被广泛应用于早孕、吸毒、激素、传染病、心血管病的早期诊断。这些快速检测试纸条一般应用重金属（如金、银等）或染料标记，利用待检物质呈现的可见条带或斑点的光密度进行肉眼判断，从而不可避免地带来主观判断的误差，且不可能对待检物进行定量分析。美国 Biosite Inc. 最近推出可用于脑钠肽（BNP）等心肌梗塞快速诊断的小型设备，利用荧光素标记——免疫学方法定量检测患者血清中 BNP 或 Pro—NBNP，但仅限于与冠心病相关的几个项目，且每

次只能测定单个患者。美国 Praxsys Biosystems Inc. 开发了一种可用于定性和定量的基于毛细管层析原理和光电扫描原理的快速免疫检测系统 (Relia™, US patent 6,136,610)。该系统由检测仪和与之配套的检测试纸盒组成。检测试纸盒用于执行胶体金标记免疫反应。检测试纸条上包被一或两条对照带, 待检条带与其中任一对照带 (或两条对照带的均值) 之间的光密度之比为待检标本所产生的相对光密度 (RI), 检测仪通过光电扫描获取检测试纸条上对照带和检测带所产生的光密度, 并对其相对光密度进行分析, 经软件处理, 得出定量或定性的结论。Relia™ 系统使用单通道, 即一次仅能检测单一患者样本。由于通过光电扫描捕获光密度值, 易受测试条上样本中与检测无关杂质的影响, 得出错误的光密度值, 从而使 RI 分析精度受到影响。

发明内容

本发明的目的是要提供一种能快速、相对高通量对液态生物标本的多种检测内容进行准确定量的检测系统及方法。

本发明侧流分析方法是通过如下技术方案来实现的: 用生化反应的平台, 实施各种检测项目, 用检测仪提供一个或多个生化反应所需的温度条件及孵育, 其特征在于用可测光对生化反应产生的可检测区域(色带或色点)进行测定, 通过对照物与待测物之间光密度值比值的计算和分析, 由检测仪对用于液态生物标本, 并不限于人类的待检标本的待检项目作出定量或定性的判断, 通过预设程序将检测结果储存于数据库。

本发明所述的生化反应中设置了一个或以上对照物区域，该对照区域所用物质为人体内不存在的物质，如使用 DNP(二硝基酚)。

本发明所述的检测仪通过通讯接口与计算机相连，并通过该系统操作软件对待检测的项目类别进行识别。所述的检测实现对待检样本的生化反应：利用毛细管层析作用，使待检液态标本在支持物上定向流动，与相对应检测物相遇并发生生化反应。所述的待检样本为人工或自然的液态标本，如全血、血清、血浆、尿液、唾液或其它体液。

本发明所述的生化反应可利用胶体金颗粒或银或荧光染料或 C^{14} 或其它金属或染料产生的可被光反射原理检测的信息，将检测信息经检测仪系统反馈到计算机分析系统上。所述胶体金颗粒或银或荧光染料或 C^{14} 或其它金属或染料产生的可被光反射原理检测的色带，将检测信息经检测仪的光密度捕获系统反馈到计算机分析系统上。所述的光密度捕获系统可以是光电扫描仪，CCD 摄象系统，或荧光光谱测定系统。

本发明所述的生化反应通过物理机械运动和电子线路对待完成项目实行检测时间和温度的控制，通过光密度反射捕获检测结果并反馈到计算机预设数据库。所述的数据库根据所捕获光密度分析待检标本所产生的相对光密度，并根据预设阈值或标准曲线分析，得出定性或定量的检测结果。系统预设程序对所测区带进行光密度值分析，以待检测带光密度值 / 对照带光密度值计算待检带的相对光密度比值；并将该相对光密度比值与电脑内预置的，与该检测项目相关的检测相

对光密度比值阈值或标准曲线相对光密度比值进行相关分析,得出定性或定量的检测结果。

所述的待检标本的定性或定量的检测结果通过系统运行软件进行自动储存,并可被下载或打印。

本发明所述的检测仪通过对测试盒外壳上的条形码识别该测试盒所含的检测内容,并通过该条形码识别所检测项目批间差的校正值。测试盒由外壳和有特定结构的测试条组成。测试条的特定结构提供了毛细管层析所需的压差。当液体样本加入所述测试盒窗口 A 后,由於 B 端毛细管层析压差高於 A 端,液体样本从 A 向 B 端流动;途经预先包被的检测带上的、可与待检物质产生生化反应的抗原或抗体,形成免疫复合物(第一次水平测流)。所述的测试条 B 端包被有以胶体金偶联的,可与待检物质,或已在检测带上所形成的免疫复合物产生生化反应的抗原或抗体;以及已偶联的,可与观察窗区预包被的对照物质反应的抗原或抗体。此时测试条已被第一次水平测流的液体浸湿,安置在 A 端的吸水垫片使 A 端的毛细管层析压差高於 B 端。此时将液体样本或缓冲液加入 B 端,溶解该预包被偶合物,通过毛细管作用从 B 向 A 端流动(第二次水平测流),途径观察窗区;已溶解的 B 端物质中可与预包被的对照物质或已产生的免疫复合物发生生化反应而沉积在反应原点。所述的胶体金偶联的抗检测带物质,或胶体金偶联的抗已形成的免疫复合物与检测区带上已形成的生化复合物相遇,发生第二次生化反应而沉积在反应处。胶体金的红色,在沉积处形成可见的条带或区域;测试条 A 端的吸水垫片以吸收第二

次水平测流反应中多余的液体。

本发明为克服同批次不同所述的测试盒对同一样本检测结果的差异，在硝基纤维素膜上包被了高、低浓度两条对照带；使检测仪捕获检测区的光密度后不直接用得到的光密度值判读结果，而用待检测区带光密度值比上预先指定的高浓度对照带或低浓度对照带的相对光密度值(即相对光密度值, RI 值)来判读结果。在定性测试盒的生产中，每一特定检测项目的检定阈值(Cut-off 值, 为判断阳性或阴性的分界)经由特定的标准流程确定，每批生产的产品之间该检定阈值的变异，将被编入条形码而传递到仪器,并解读校正测定结果的过程中。在定量测试盒的生产中，通过改变不同批次条形码涵盖的信息来调整标准曲线的常用参数值及相对光密度值 (RI 值) 以达到减小批间差的目的。标准曲线由已知标准品的已知浓度与其在本系统中产生的 RI 值确定。每批生产测试盒后，用与第一批生产的测试盒同一系列浓度的标准品，测得相应的 RI 值,得到适应於本批产品的标准曲线。新的曲线与原预设的曲线比较，用 RI 值通过 Excel 表格计算两条曲线的误差斜率和截距,得到调整新曲线的参数，使之与原预设的曲线一致,从而达到不需要校正仪器就可以正确判读批次不同的同一产品的目的。将所述参数信息输入软件后，软件将所有这些信息编为数码，然后将这些数码输入到的能制作条形码的软件中，通过软件可翻译成条形码，用此条码制作成钢板印模,通过丝印机或移印机打印在测试盒盒盖上。仪器通过对条形码的识别自动校正对所测项目的判断标准。

本发明的侧流分析系统，包括1个主单元和1~20个测试模块，并通过USB或蓝牙无线接收器连接到电脑主机，电脑主机通过相关软件控制检测仪运行，识别检测项目，获取并分析检测结果，贮存待检样本信息及检测结果。

本发明所述的系统的主单元与测试模块通过电缆连接，系统可以选择使用1个或多个测试模块，主单元与测试模块之间被设计成相对独立关系。检测模块包含一个可用马达控制前、后移动托盘，承载测试盒，托盘底部特定位置安有电容传感器，以监控检测操作中的加样过程；托盘底部的特定部位还装置温控系统，以热电阻元件实现加温，以珀耳帖效应元件实现降温。主单元给各化验模块供电，协调多个化验模块的活动，并与相连的计算机提供通讯连接。主单元从化验模块中接收到接收检测项目及反应条带的图像信息并反馈到相连的计算机上进行数据处理。计算机上运行的操作软件控制检测模块运行，包括温度控制、托盘运动、照明、摄像等。

本发明系统中的各化验模块均含有1个微处理器，可以执行诸如控制测试条带的照明、监控托盘的位置、监控环境温度和加热片温度、监控加样侦测电容传感器、通过I2C接口与主单元通讯，在制冷单元中还可监控帕尔帖热接收器的温度和风扇的转速，化验模块收集检测项目的图像信息并上传给主单元。系统可利用CCD摄像识别检测项目，捕获检测结果，通过相对光密度分析得出检测结论。CCD摄像的区域包括测试盒上盖的条形码区和测试窗区；CCD相机摄取测试窗区呈现的图象，系统对色带的光密度进行测定，并根据预设程序进

行待检条带相对光密度分析,与预置参数比较后得出定量或定性的检测结论。

本发明检测系统与方法与现有技术相比,通过对液态生物标本在反应区带由生化反应产生的可检测光密度(色带或色点)进行测定,通过对照物与待测物之间光密度值比值的计算和分析,由检测仪通过预设程序将检测结果储存于数据库,从而能快速、相对高通量对临床液体标本的多种检测内容进行准确定量地检测。

附图说明

图 1 为本发明侧流分析系统的组成结构图。

图 2 为本发明作为免疫检测的承载平台的测试盒的结构图。

图 3 为本发明检测仪对条形码的识别曲线图。

图 4 为本发明测试盒中测试条的俯视图。

图 5 为本发明测试盒中测试条的侧视图。

图 6 为本发明双向水平侧流免疫检测工作的原理图。

图 7 为本发明将样本直接加入 B 端产生由胶体金而呈现的红色带示意图。

图 8 为本发明检测仪中的 CCD 相机摄取图象的示意图。

图 9 为本发明 TSH 预设线性曲线图。

图 10 为本发明系统工作的结构图。

图 11 为本发明系统主单元与检测模块的结构图。

图 12 为本发明检测模块的结构图。

图 13 为本发明主单元功能块的原理框图。

图 14 为本发明系统各化验模块功能块的原理框图。

图 15 为本发明软件控制和管理数据的流程框图。

图 16 为本发明系统摄取图像的区域原理图。

图 17 为本发明系统摄取图像的光电反身射途径的原理图。

图 18 为本发明摄像系统与被摄区段的结构设计原理图。

图 19 为本发明不同检测仪对 PSA 检测精密度实验的线性浓度的线性曲线图。

图 20 是本发明 A,B 两批测试盒的 RI 曲线图。

图 21 是本发明 A,B 两批测试盒 RI 的相关性的曲线图。

图 22 是本发明 A,B 两批测试盒浓度相关性的曲线图。

具体实施方式

本发明用如图 1 所示的检测试纸盒作为免疫反应的平台，承载各种检测项目，用检测仪提供一个或多个免疫反应所需的温度条件及孵育平台，并用 CCD 摄像系统对测试盒上由于免疫反应产生的可见色带或色点进行照像，通过相对光密度值的计算和分析，由检测仪对待检标本的待检项目作出定量或定性的判断，并通过预设程序将检测结果储存于数据库。检测结果可打印或下载。

本发明的工作原理流程：

检测仪通过 USB 接口与计算机相连，并通过该系统操作软件对检测试纸盒的项目类别进行识别；通过物理机械运动和电子线路对待

完成项目实行检测时间和温度的控制,通过光密度反射捕获检测结果并反馈到计算机预设数据库;数据库根据所捕获光密度分测待检标本所产生的相对光密度,并根据预设阈值或标准曲线分析,得出定性或定量的检测结果。待检标本的信息和检测数据通过系统运行软件进行自动储存,并可被下载或打印。

检测试纸盒实现对待检样本的生化反应。利用毛细管层析作用,使待检液态标本在固相支持物上定向流动,与相对应检测物相遇并发生免疫反应。利用胶体金颗粒产生的可被可见光检测的色带(或色点),将检测信息经检测仪的光电扫描或 CCD 摄像系统反馈到计算机分析系统上。

本发明的技术方案如下:

本发明的检测仪通过对测试盒外壳上的条形码,如图 3 所示,识别该测试盒所含的检测内容。

本发明的测试盒为免疫检测的承载平台。该测试盒由测试条及其外壳组成。如图 2 所示,外壳上盖上有三个窗口:两端的加样窗 A、B 及中间的观察窗 1。根据检测内容及要求,待检标本可被加样于加样窗 A 或加样窗 B,或同时加入加样窗 A 和 B。检测结果显示在观察窗 1 中。

如图 4~6 所示,免疫反应发生在检测试纸条上,该测试条包括与加样窗 B 对应的胶体金标记物垫 7、与加样窗 A 对应的样本吸收垫 8 和液体吸收垫 9、以及对照带 4、6 和测试带 5、硝基纤维素膜 11

和支撑垫 12。液体样本加入加样窗 A 后，经过样本吸收垫 8 并通过毛细管层析作用向 B 端流动。途经预先包被的检测带 5 上的可与待检物质（蛋白、多糖、多肽、核酸等大分子）产生免疫反应的抗原或抗体，形成免疫复合物。测试条 B 端上胶体金标记物垫 7 包被有以胶体金（或其它可产生可检测光密度的大分子）偶联的，可与待检物质或在检测带 5 上所形成的免疫复合物产生免疫反应的抗原或抗体；以及已偶联的，可与观察窗 1 区预包被的对照物质反应的抗原或抗体。将液体样本或缓冲液加入 B 端，溶解该预包被偶合物，通过毛细管作用向 A 端流动，途径观察窗 1 区。已溶解的 B 端物质中可与预包被的对照物质产生免疫反应的胶体金偶合抗对照物与对照物质产生免疫复合物而沉积在反应原点；而胶体金偶合的抗检测带物质（或抗已形成的免疫复合物）与检测带 5 上已形成的免疫复合物发生第二次免疫反应而沉积在反应处。由于胶体金（或其它可产生可检测光密度的大分子）的红色，在积沉处形成可见的条带：对照带 4、6 和检测带 5（如果样本中含有该待检物质）。测试条的 A 端安置的液体吸收垫 9 以吸收反应中多余的液体。

如果样本直接加入加样窗 B，则可在 A 端加入缓冲液以预湿反应区。此种情况下，样本直接与 B 端胶体金偶联的相应抗原/抗体反应，并在流经检测区时再次产生免疫反应而沉积，产生由胶体金而呈现的红色带，如图 7 所示。这里，可参照中国专利文献 ZL0045278.2 中所述的相关内容。

本发明测试盒批内差异的解决实验：

批内差异表现为同批次不同测试盒对同一样本检测结果的差异。理论上包被在同一测试条上的三条带（HC、LC 和待检测带）在出现批内差异时呈同等趋势的变化，从而他们之间光密度的比值在同批次的各测试带之间就应趋于一个稳定的范围。按此原理，如图 5 所示，我们在硝基纤维素膜 11 上包被了高、低浓度两条对照带（HC、LC 带）。使检测仪扫描后不直接用得到的光密度值（即绝对光密度值）判读结果，而用待检测带光密度值比上预先指定的高浓度对照带或低浓度对照带的光密度值（相对光密度值）来判读结果，这样可使产品的批内差减到最小。例如，用同一样本，选同批次 HCV 测试盒 10 个，检测同一份 HCV 抗体阳性标本，检测结果如表 1

表 1 HCV 测试盒的批内差

	HC	LC	HCV 测试带光密度	HC/LC	HCV/HC	HCV/LC
	光密度	光密度	(绝对光密度值)		(相对光密度值)	(相对光密度值)
测试条 A	0.3250	0.2682	0.0402	1.2118	0.1237	0.1499
测试条 B	0.3108	0.2625	0.0381	1.1840	0.1226	0.1451
测试条 C	0.3652	0.3024	0.0455	1.2077	0.1246	0.1505
测试条 D	0.3375	0.2668	0.0428	1.2650	0.1268	0.1604
测试条 E	0.3547	0.2634	0.0384	1.3466	0.1083	0.1458
测试条 F	0.2683	0.2248	0.0335	1.1935	0.1249	0.1490
测试条 G	0.2931	0.2318	0.0341	1.2645	0.1163	0.1471
测试条 H	0.3172	0.2546	0.0378	1.2459	0.1192	0.1485
测试条 I	0.3663	0.2988	0.0392	1.2259	0.1070	0.1312
测试条 J	0.3142	0.2727	0.0402	1.1522	0.1279	0.1474
AV	0.3252	0.2646	0.0390	1.2297	0.1201	0.1475
SD	0.0316	0.0246	0.0036	0.0544	0.0074	0.0071

CV%	10%	9%	9%	4%	6%	5%
-----	-----	----	----	----	----	----

从上表可以看出：10 个 HCV 测试盒测试带绝对光密度值的 CV%为 9%，相对光密度值的 CV%分别为 HCV/LC=5%，HCV/HC=6%，这两个相对光密度值均比绝对光密度值变异小。

同时，给 HC 和 LC 光密度比值限定一个变化范围（例如 0.8~1.5），超出该设定参数范围，说明测试条质量有误或检测过程出错，进一步确保将批内差异降到最低。

本发明对测试盒定性产品批间差的校正：

批间差异是一种系统差异，表现为同一产品不同批次对同一标准品的检测读数（在此为相对光密度值, RI）呈同一趋势的上升或下降。定性检测时，待检标本产生的 RI 阳性与阈值(cut off 值)RI 之比称为信噪比(S/CO), S/CO>1 判为阳性。由于仪器判读结果时，根据的是仪器出厂时已设定的 cut off 值作为判断待检标本是否阳性，仪器对这种批次之间的误差将通过识别打印在测试盒外壳上的条形码进行校正。具体过程为：每批生产的测试盒，都将以该产品生产规程所规定的若干例临床阴性血清测定该批次产品的 cut off 值，将此新得的 cut off 值与已输入仪器的 cut off 参数相比，得到的差异信息（例如新 cut off 值比预设 cut off 值高出 10%）将被编入条形码而传递到仪器解读校正测定结果的过程中。例如，HCV 检测试纸盒 A 批产品的 cut off 值为 0.25，B 批产品的 cut off 值为 0.275，两批间 cut off 值变化为 10%，将该信息输入到 B 批测试盒的条形码中，比较两批测试盒对同一例

阴性 (Y) 或阳性 (X) 样本的检测结果, 见表 2。

如表 2 所示, 对同一标本, 两批测试盒得到不同的 RI 值, 但其 S/CO 值无显著差异。

表 2:

样本	A 批 (cut off=0.25)		B 批 (cut off=0.275)	
	RI	S/CO	RI	S/CO
X	0.3125	$1.25 = 0.3125 \div 0.25$	0.3548	$1.29 = [0.3548 \div (0.25 + 0.25 \times 10\%)]$
Y	0.238	$0.952 = 0.238 \div 0.25$	0.2640	$0.96 = [0.2640 \div (0.25 + 0.25 \times 10\%)]$

样本 Y(阴性标准品)在 B 批产品得到 RI 为 0.2640, 若以 A 批产品的 cut off 值 0.25 计算 S/CO, 将得到 $S/CO = 0.2640 / 0.25 = 1.056$, 即 >1 的假阳性结果;通过对不批次的 cut off 值批间差的校正,仪器自动识别 B 批的 cut off 值应为 0.275,则得到 $S/CO = 0.2640 / 0.275 = 0.96$, 即 $S/CO < 1$ 的阴性正确结果。

本发明对测试盒定量产品批间差的校正:

定量检测时, 待检标本产生的 RI 值经已知标准曲线计算, 得到定量的判断(浓度或单位)。每批生产测试盒后, 用与第一批生产的测试盒同一系列浓度的标准品检测, 得到相应的 RI 值, 即适应於本批产品的标准曲线。新的曲线与原预设的曲线比较, 用 RI 值通过 Excel 表格计算两条曲线的误差斜率和截距, 得到调整新曲线的参数(校正参数), 使校正后的曲线与原预设的曲线一致。将该校正参数输入到的能制作条形码的软件中, 通过软件可翻译成条形码, 用此条形码制作成钢板印模, 通过丝印机打印在测试盒盒盖上, 以达到不需要校正仪器就可以正确判读批次不同的同一产品, 有效控制批间差的目的。

例如：生产 A、B 两批 TSH 测试盒，用 A 批作为第一批，B 批作为第二批，用两批测试盒检测同一系列梯度的标准品，两批测试盒之间会得到不同的 RI 值，若以 A 批的标准曲线计算，则将得到不同的浓度，但用上述方法对 B 批测试盒的标准曲线（斜率和截距）进行校正后，B 批测试盒将对同一标本得到与 A 批测试盒无显著差异的浓度值。检测和校正过程如下：

①、A、B 两批 TSH 测试盒检测同一系列标准品，获取 RI 值及其差异：

表 3

标准品浓度	A 批 RI 均值	B 批 RI 均值
0	0.004	0.004
0.5	0.067	0.074
1	0.081	0.090
2	0.120	0.132
5	0.280	0.305
10	0.497	0.547
15	0.745	0.817
25	0.875	0.960
50	1.348	1.470
100	1.887	2.114

由图 20,两条曲线之间存在差异，需要校正使 B 曲线等于 A 曲线，否则仪器将根据已预设的 A 曲线对 B 批产品所测 RI 值进行计算而得出错误的浓度信息。根据如图 21 所示曲线相关性分析，计算校正值（斜率和截距）如下：

$$\text{斜率}=1/1.111=0.90009; \text{截距}=0.0048$$

②、将以上校正值输入 B 曲线，并将此校正值信息转化后制作成条形码，使已出厂的仪器可以自动识别已校正的 B 批测试盒的浓度计算公式。表 4 显示经校正后，对同一梯度系列标准品，B 批产品得到与

仪器中用 A 批产品预设的标准曲线一致的浓度结果:

表 4

标准品浓度	A 批浓度均值	B 批浓度均值
0	0.046	0.083
0.5	0.742	0.797
1	0.946	1.002
2	1.512	1.569
5	4.506	4.503
10	10.011	10.005
15	18.415	18.232
25	23.363	23.097
50	50.814	49.337
100	101.632	103.895

对以上结果作相关性分析,以校正后的 B 曲线计算出的标准品浓度与以 A 曲线计算出的标准品浓度呈高度线性相果($R^2 > 0.999$)。

以上数据和图 22, 通过校正 B 批测试盒的曲线误差斜率和截距可以使得 A、B 两批测试盒对同一样本定量检测的结果无显著差异。即用这种方法解决了不同批次测试盒之间的批间差。

如图 8 所示, 对测试条带进行照明, 其上所形成的可见条带的图像经仪器内置的位于检测盒观察窗上方的镜片反射至预置于检测仪中的 CCD 相机摄取图象。

如图 2 所示: 该系统预设程序对所摄条带进行光密度值分析, 以待检测带光密度值 / 对照带光密度值计算待检带的相对光密度比值 (RI); 并将该 RI 值与电脑内预置的, 与该检测项目相关的检测 RI 阈值或标准曲线 RI 值进行相关分析, 得出定性或定量的检测结果。以促甲状腺激素(TSH, 中检所, 600uIU/ml, 批号: 150530-0308)为例: 用已知浓度 TSH 标准品, 用缓冲液 (5%BSA 的 PBS 磷酸盐缓冲液)

系列稀释浓度梯度；每浓度加样 150 μ l，用已制备的胶体金标记(三羟四氯金精酸 ,Tetrachloroauric Acid Trihydrate, Sigma., USA, Cat#)TSH 测试盒在本系统中检测，检测结果如表 5：

表 5

TSH 标准品浓度 (uIU/ml)	对照光密度 值	实测光密度 值	RI	实测浓度 uIU/ml
0	0.2506	0.0020	0.0080	0.000
1	0.2409	0.0143	0.0594	0.980
2	0.2473	0.0267	0.1080	1.828
5	0.2197	0.0512	0.2330	4.530
10	0.2258	0.1315	0.5824	9.389
15	0.2106	0.1811	0.8599	15.950
25	0.2288	0.2505	1.0948	23.490
50	0.2160	0.3587	1.6606	50.410
100	0.2645	0.5475	2.0699	96.310

以实测 TSH 系列梯度标准品的 RI 值作图，呈现随浓度增加而 RI 值增大的线性（见图 9）

如图 10 示：该系统包括 1 个主单元和 1~20 个测试模块，并通过 USB 或蓝牙无线接收器连接到电脑主机。电脑主机通过相关软件控制检测仪运行，识别检测项目，获取并分析检测结果，贮存待检样本信息及检测结果。

如图 11：系统的主单元与测试模块通过电缆连接，系统可以任意选择使用 1 个或多个测试模块 13。主单元 14 与测试模块 13 之间被设计成相对独立关系，即：（1）任一测试模块 13 发生故障不影响其它测试模块运行；（2）主单元 14 发生故障时，所有的测试单元可被拆卸并与另一主单元重新装配。

如图 12 示：测试在检测模块中进行。

检测模块包含一个可用马达控制前、后移动托盘，承载测试盒。托盘底部特定位置安有电容传感器，以监控检测操作中的加样过程。托盘底部的特定部位还装置温控系统，以热电阻元件实现加温，以珀耳帖效应元件实现降温。

如图 13 示：主单元给各化验模块供电，协调多个化验模块的活动，并与相连的计算机提供通讯连接。主单元从化验模块中接收到接收检测项目及反应条带的图像信息并反馈到相连的计算机上进行数据处理；也可根据计算机上运行的操作软件控制要求，如图 16 所示，控制检测模块运行（包括温度控制、托盘运动、照明、摄像等）。

如图 14 和图 15 示，系统中的各化验模块均含有 1 个微处理器，可以执行诸如控制测试条带的照明、监控托盘的位置、监控环境温度和加热片温度、监控加样侦测电容传感器、通过 I2C 接口与主单元通讯，在制冷单元中还可监控帕尔帖热接收器的温度和风扇的转速。化验模块收集检测项目的图像信息并上传给主单元。

如图 16~图 18 所示，本系统利用 CCD 摄像对识别检测项目，捕获检测结果，通过相对光密度分析得出检测结论。CCD 摄像的区域包括测试盒上盖的条形码区和测试窗区。检测项目的名称以及产品批间差的纠正参数体现在条形码中。CCD 相机摄取测试窗区呈现的图象（对照带和检测带），系统对色带的光密度进行测定，并根据预设程序进行待检条带相对光密度（RI）分析，与预置参数比较后得出定量

或定性的检测结论。为减少待检样本与测定试剂之间的交叉反应，选用了人体内不存在的小分子物质邻苯二甲酸二壬酯(DNP)(DNP-X-SE 6-(2,4-dinitrophenyl) aminohexanoic acid , N-hydroxy succinimide ester MW 394.34, Molecular Probe, USA, 目录号 A-23018)作为对照带。

本系统从软件上实施数据管理的设计非常完善而且高度自动化。

本发明的实施：

实例 1，对促甲状腺激素(TSH)的定量检测

对 TSH 临床血清用已制备的胶体金(三羟四氯金精酸,Tetrachloroauric Acid Trihydrate)标记 TSH 测试盒在本系统中检测，并用酶联检测方法(ELISA, Biocheck 批号：RN-17790)对比检测，检测结果如表 6。

表 6 TSH 临床血清标本检测结果 (uIU/ml)

样本号	本系统所测浓度	ELISA 所测浓度
1	0.00	0
2	0.00	0
3	1.28	1.1
4	1.77	1.27
5	2.21	1.99
6	4.58	4.18
7	7.18	7.05
8	8.71	8.62
9	18.86	18.51
10	22.70	22.46

以上检测结果与配制标准品浓度作配对 t 检验

胶体金 TSH 测试盒与 ELISA 试纸盒的对比结果

- 1、 假设胶体金 TSH 测试盒与 ELISA 试纸盒的对比结果相同，则相差的总体均数为 0，即 $H_0 = \mu = \mu_0; \mu \neq \mu_0$

2、 令显著性水准 $\alpha=0.05$,由本例 $v=10-1=9$,查临界值 $t_{0.05}=2.262$ (双侧)

3、 求样本统统计量平均相差数 \bar{d} 、差数的标准差 S_d 、标准误差 $S_{\bar{d}}$ 及检验统计量 t 值

$$\bar{d}=-0.0240 \quad S_d=0.1669 \quad S_{\bar{d}}=0.0528 \quad t=|-0.4547|=0.4547$$

4、 令 $t=0.4547 < t_{0.05}=2.262$, 故在 $\alpha=0.05$

水准处拒绝 H_1 而接受 H_0 。胶体金 TSH 测试盒与 ELISA 试纸盒的对比结果无显著差异

实例 2 对丙型肝炎抗体（抗 HCV）的定性检测

用已制备的胶体金标记抗 HCV 测试盒，检测中国食品与药品监督管理局抗 HCV 诊断试剂标准品（已知 HCV 抗体阳性或阴性血清），以信噪比（S/CO）判断，并与同行业(Abbott Laboratories, Ortho Diagnostics) HCV 检测 ELISA 方法比较，以 Chiron 第三代 HCV 确认试剂(RIBA)作为判断标准，检测结果如表 5 和表 6：

表 7. HCV 抗体胶体金诊断试剂检测标准品：阳性系列

血清号	本系统 HCV 测试盒		ABBOTT ELISA		Ortho ELISA		Chiron RIBA3.0			
	S/CO 值	结果	OD	结果	OD	结果	c100	C33C	C22	NS5
1	4.56	+	1.702	+	1.925	+	1+	2+	-	-
2	5.46	+	1.811	+	1.557	+	1+	±	±	-
3	4.66	+	2.381	+	0.832	+	±	±	2+	-
4	4.38	+	1.209	+	1.39	+	1+	1+	-	-
5	2.88	+	1.793	+	1.184	+	±	±	2+	-
6	2.34	+	2.776	+	1.747	+	±	±	2+	-
7	4.34	+	2.7	+	1.395	+	±	±	2+	-

8	1.40	+	1.766	+	1.759	+	1+	2+	-	-
9	2.15	+	3.112	+	3.171	+	4+	4+	4+	4+
10	5.14	+	3.112	+	3.066	+	1+	2+	2+	-
11	2.09	+	3.191	+	3.309	+	4+	4+	4+	4+
12	2.25	+	3.077	+	3.309	+	1+	4+	4+	4+
13	5.26	+	3.15	+	3.258	+	1+	4+	4+	2+
14	1.73	+	3.191	+	3.309	+	3+	4+	4+	-
15	2.44	+	1.958	+	1.393	+	±	1+	-	-
16	2.41	+	3.191	+	3.309	+	2+	3+	4+	±
17	3.57	+	3.198	+	3.44	+	±	2+	4+	-
18	2.55	+	3.163	+	1.488	+	-	2+	-	-
19	1.41	+	0.523	-	0.865	+	2+	3+	-	-
20	6.04	+	2.484	+	2.507	+	4+	4+	-	-

表 8 HCV 抗体诊断试剂检测标准品：阴性系列

血清号	本系统		ABBOTT		Ortho ELISA		Chiron RIBA3.0			
	HCV 测试盒		ELISA							
	S/CO 值	结果	OD	结果	OD	结果	c100	C33C	C22	NSS
1	0.12	-	0.142	-	0.007	-	-	-	-	-
2	0.11	-	0.404	-	0.101	-	-	±	-	-
3	0.81	-	0.206	-	0.014	-	-	±	-	-
4	0.87	-	0.144	-	0.003	-	-	-	-	-
5	0.62	-	0.133	-	0.106	-	-	-	-	-
6	0.25	-	0.106	-	0.005	-	-	-	-	-
7	0.51	-	0.146	-	0.009	-	-	-	-	-
8	0.14	-	0.113	-	0.003	-	-	-	-	-
9	0.23	-	0.105	-	0.004	-	-	-	-	-
10	0.30	-	0.194	-	0.005	-	-	-	-	-
11	0.26	-	0.427	-	0.12	-	-	-	-	-
12	0.28	-	0.345	-	0.012	-	-	-	-	-
13	0.29	-	0.4	-	0.01	-	-	-	-	-
14	0.19	-	0.169	-	0.03	-	-	-	-	-
15	0.28	-	1.069	+	0.066	-	-	-	-	-
16	0.32	-	0.148	-	0.003	-	-	-	-	-
17	0.20	-	0.443	-	0.241	-	-	-	-	-
18	0.14	-	0.116	-	0.005	-	-	-	-	-
19	0.14	-	0.104	-	0.003	-	-	-	-	-
20	0.23	-	0.178	-	0.006	-	-	-	-	-

结果显示：利用本系统的 HCV 检测试纸盒对中国食品药品监督管理局抗 HCV 诊断试剂标准品进行定性检测，结果符合要求。与国际知名企业（ABBOTT 和 Ortho）相应的酶联（ELISA）诊断产品比较，其灵敏度和特异性均达到 ELISA 标准。

实例 3 单机测试模块精密度实验

用同一检测仪的不同测试模块重复（10 次）检测不同浓度的同一项目标准品(乙肝表面抗原 HBsAg, 1ng/ml 、20ng/ml 、60ng/ml)，获得其 RI 值。经过统计、比较、分析得出多个测试模块间所测 RI 值的变异系数（CV），结果如表 10:

表 10 HBsAg 定量检测精密度检测结果

	同一检测模块		同机 6 个不同检测模块	
	RI(10 次)均值	CV	RI(10 次)均值	CV
5ng	0.0912	7.95%	0.0934	8.22%
20ng	0.33791	0.79%	0.34184	0.97%
60ng	1.03965	0.37%	1.04028	0.77%

结果表明，本系统的同一检测模块，以及不同检测模块对不同浓度的 HBsAg 的定量检测检验结果重复性高，即使国家规定的可检测的最低限（1ng/ml）其变异系数仍低于 10%。

实例 4 不同检测仪精密度实验

在不同检测仪的测试模块中，用胶体金标记(三羟四氯金精

酸,Tetrachloroauric Acid Trihydrate, Sigma., USA,)的前列腺特异抗原(PSA)测试盒,重复检测不同浓度的 PSA 标准品(2ng/ml、4ng/ml、15ng/ml、30ng/ml,中检所,批号:544-0004),获得其 RI 值及实测浓度,比较不同检测仪之间的检测线性,结果见图 19。

图 19 台检测仪对相同梯度浓度的 PSA 定量检测的 RI 线性曲线图。由图 19,不同的检测仪对同一浓度的 PSA 的定量检测呈现高度可重复性。

附录

一、缓冲液

1、Tris (三羟甲基氨基甲烷)缓冲液, PH7.5

含 10mM 三羟甲基氨基甲烷-盐酸 (Tris.Cl)

1mM EDTA

2、PBS 磷酸盐缓冲液, PH7.0

含 氯化钾 0.02%

氯化钠 0.8%

磷酸氢二钾 0.02%

磷酸氢二钠 0.215%

3、化学偶合物垫片,样本吸收垫片及缓冲液吸收垫片封闭液,

PH7.0

PBS 缓冲液,含以下试剂:

1%小牛血清白蛋白

1%Triton X-100

0. 3% PVP (聚乙烯基吡咯烷酮)

1. 5%蔗糖

2mg/ml 兔丙种球蛋白

4、化学偶合物释放缓冲液

10 倍浓缩 PBS 缓冲液

酪蛋白 0.1%

小牛血清白蛋白 1%

Tween-20 1%

EDTA 2mM

叠氮钠 0.1%

5、化学偶合物包被缓冲液

5.5 倍浓度 PBS 缓冲液

酪蛋白 0.05%

小牛血清白蛋白 1%

Tween-20 0.5%

EDTA 2mM

叠氮钠 0.1%

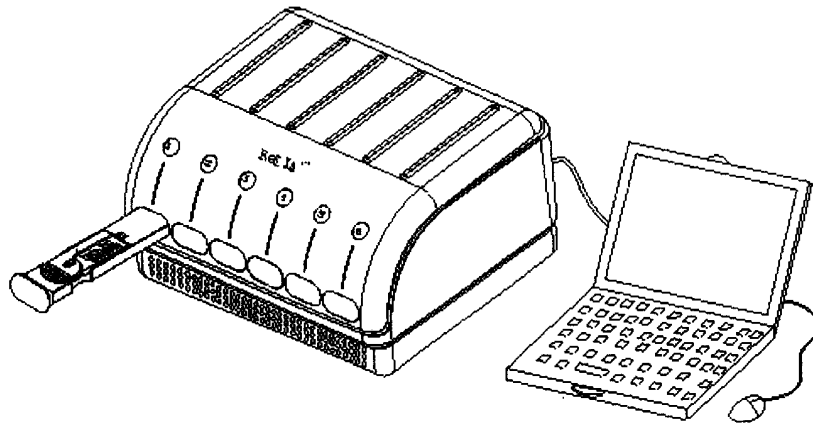


图 1

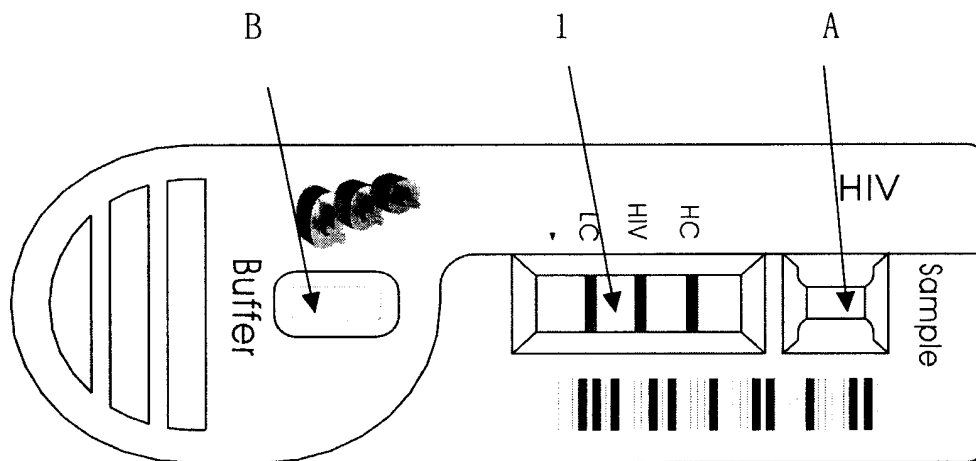


图 2

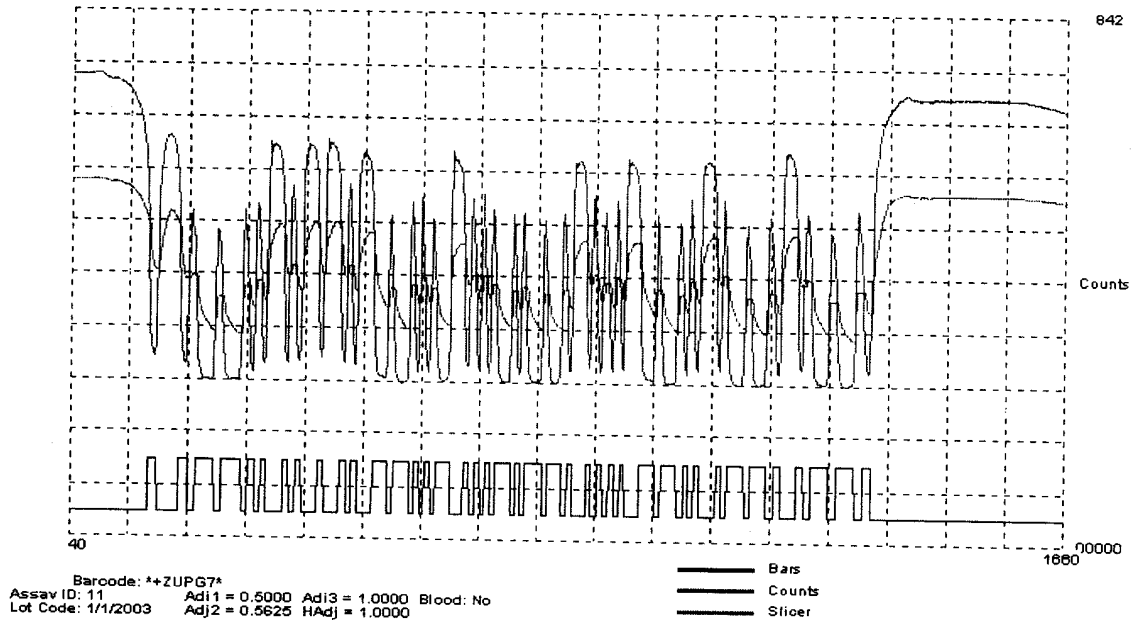


图 3

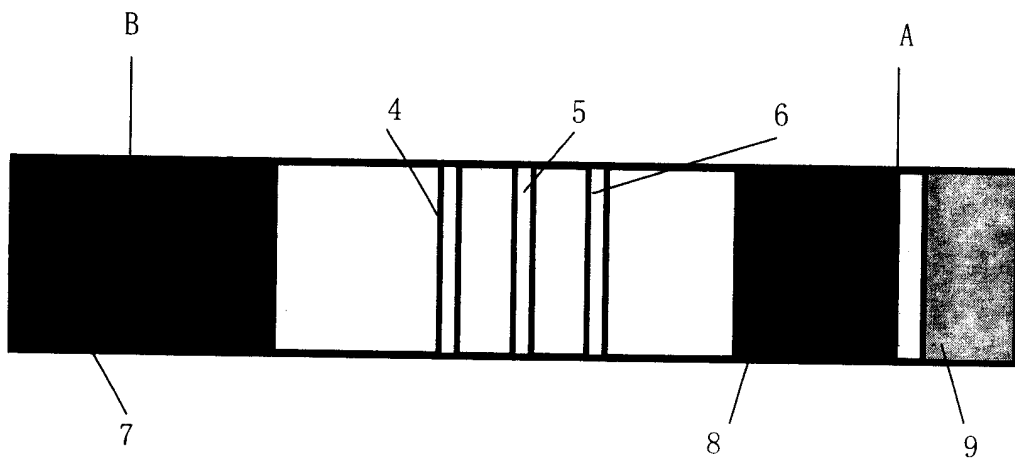


图 4



图 5

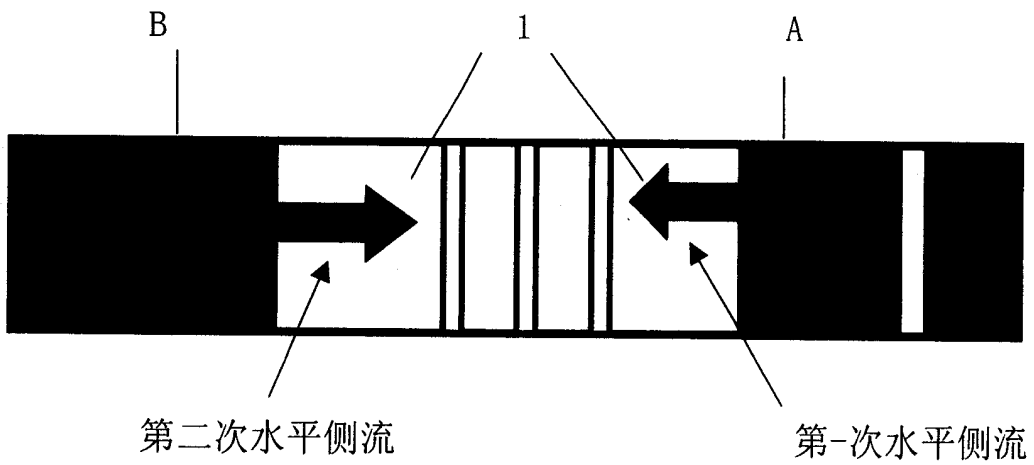


图 6

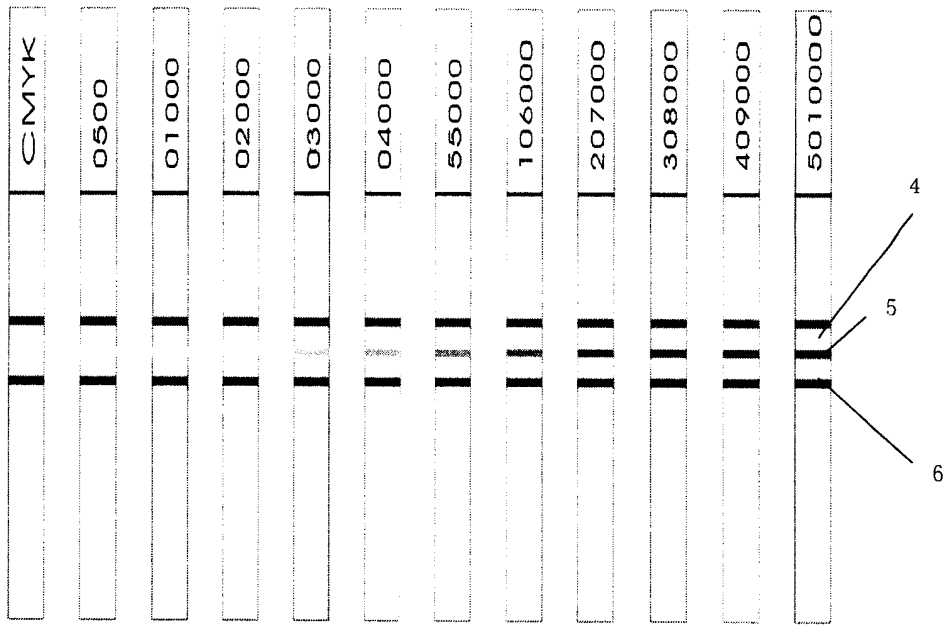


图 7

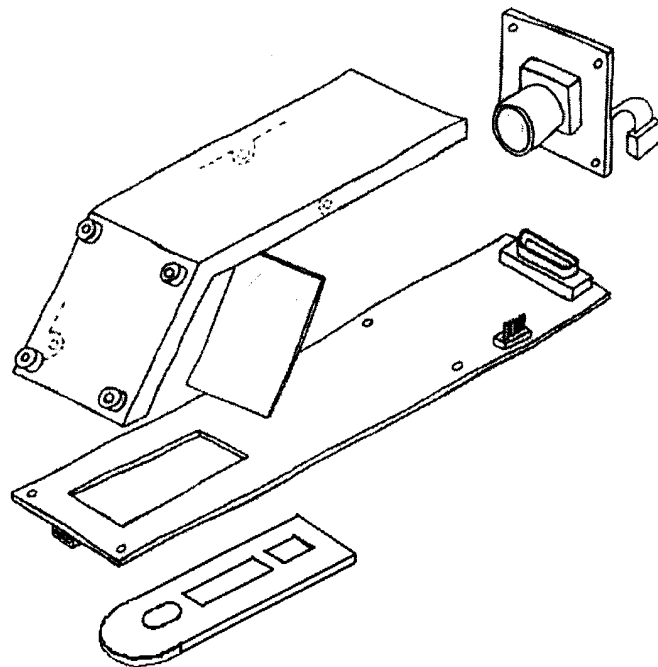


图 8

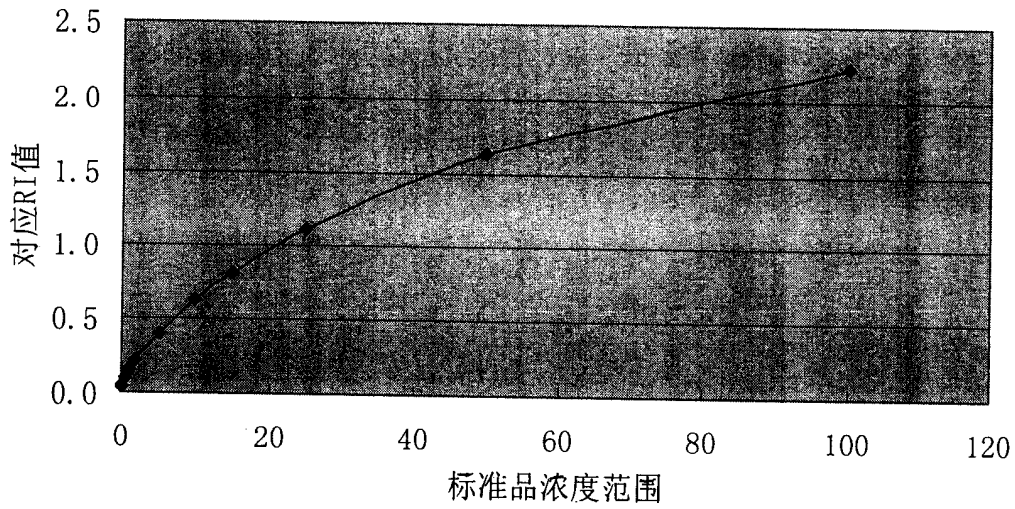


图 9

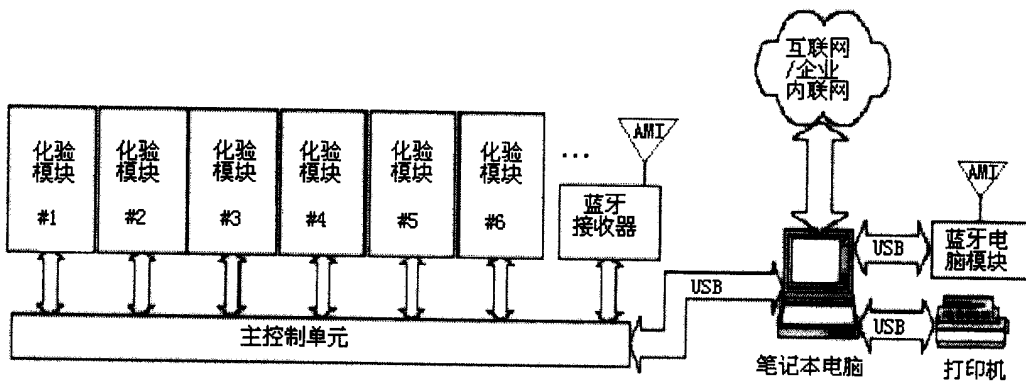


图 10

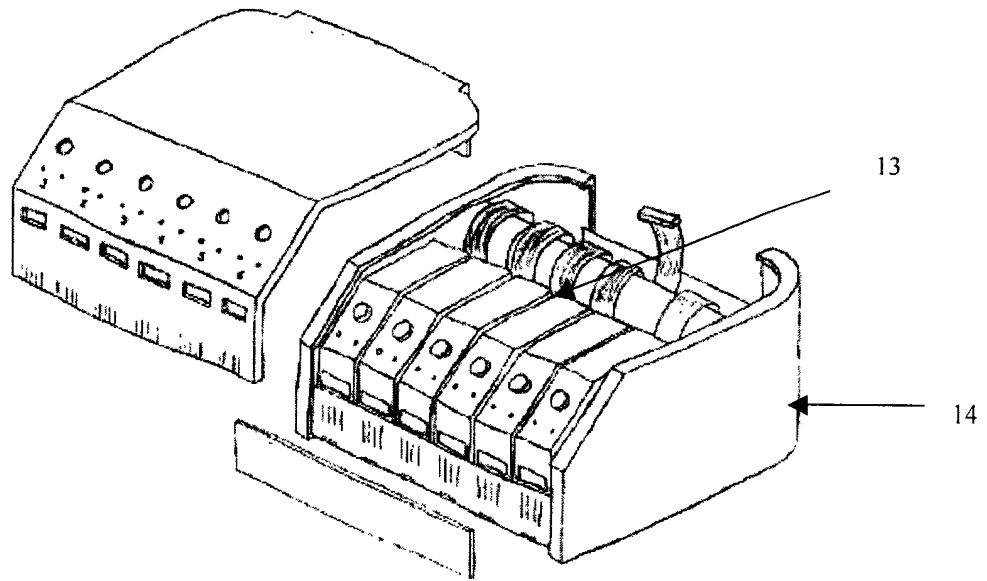


图 11

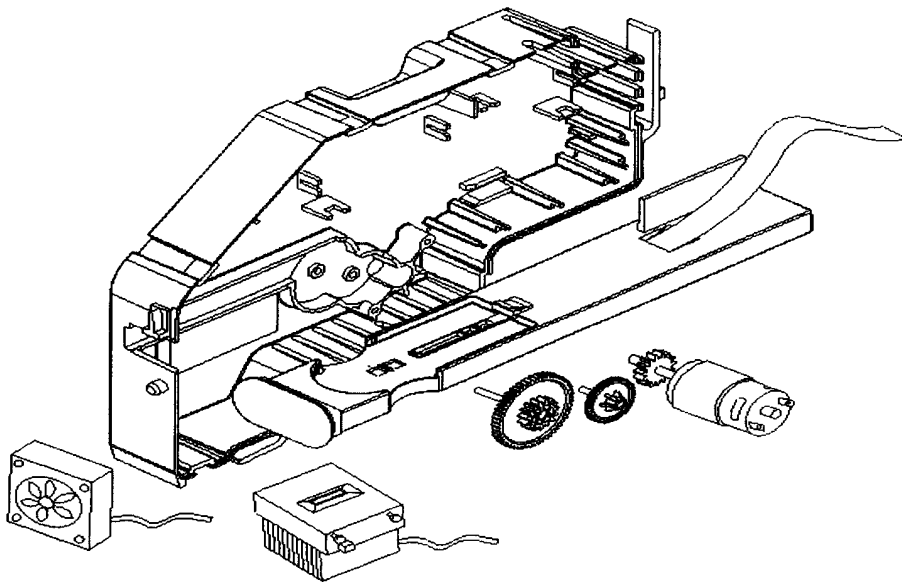


图 12

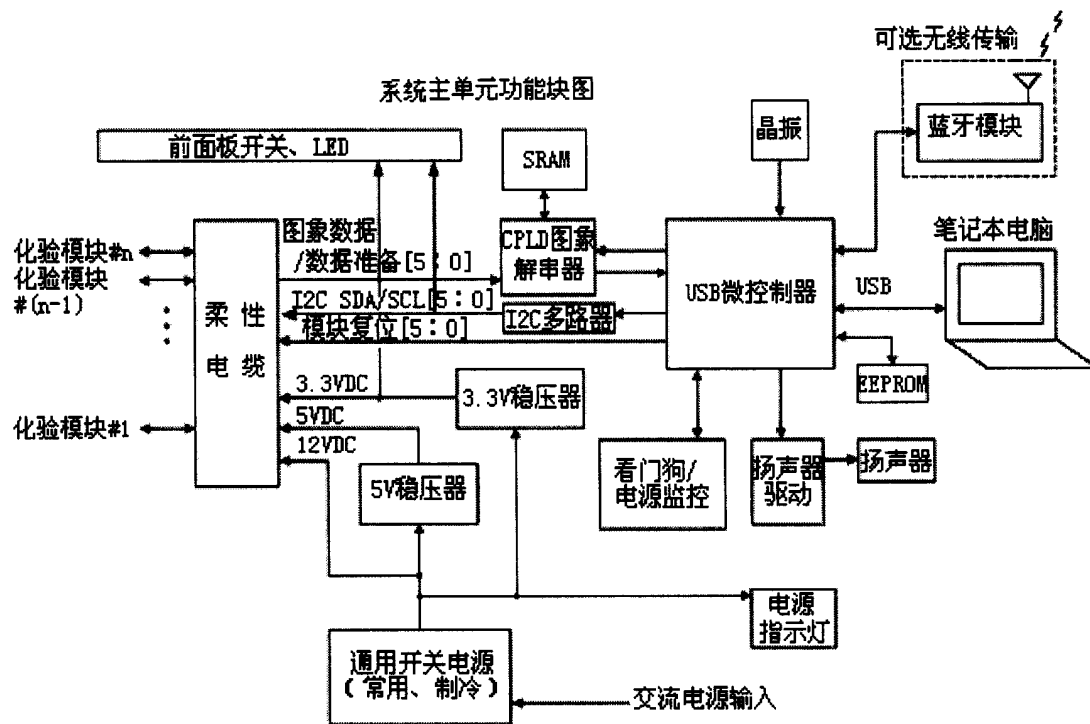


图 13

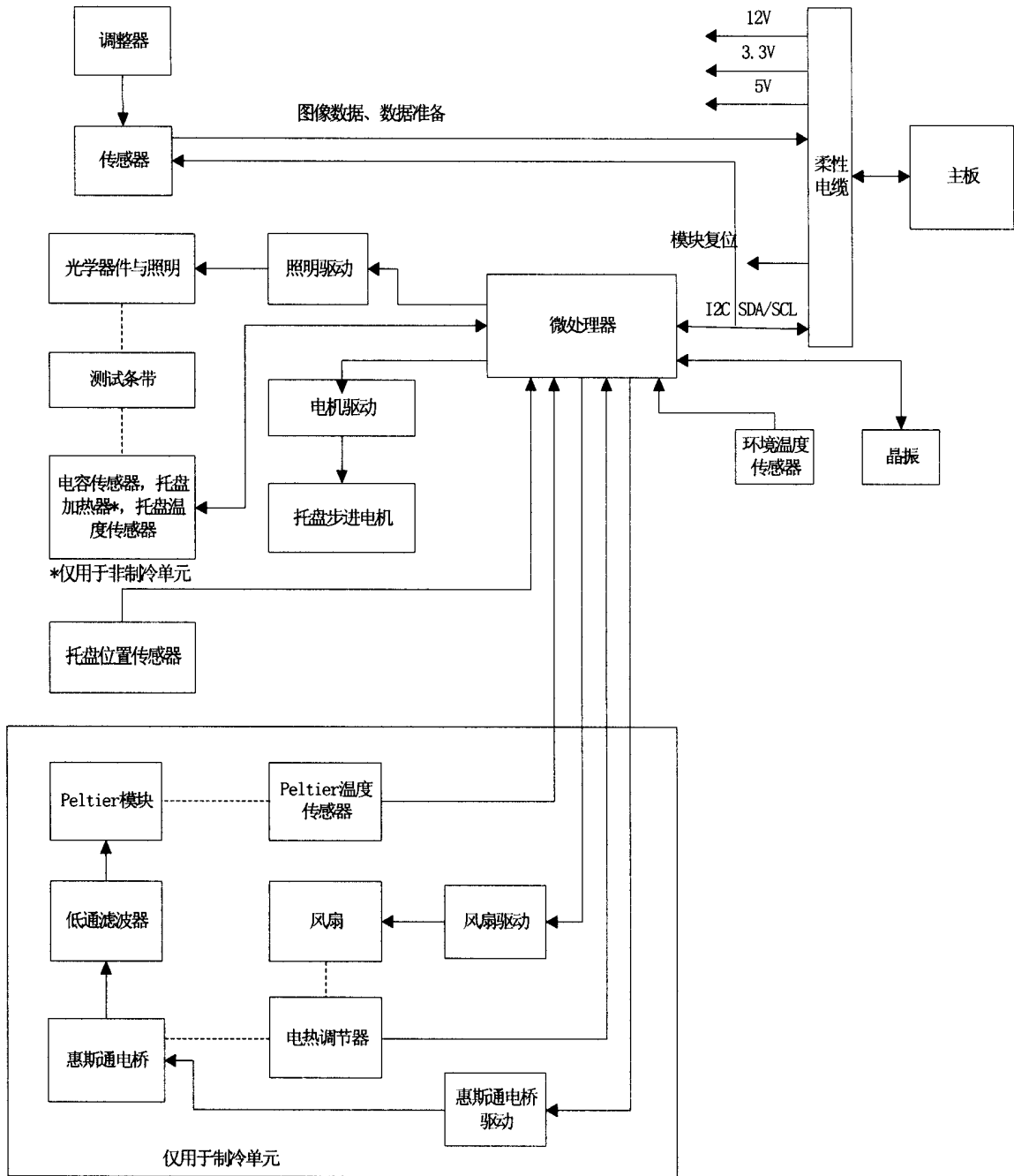


图 14

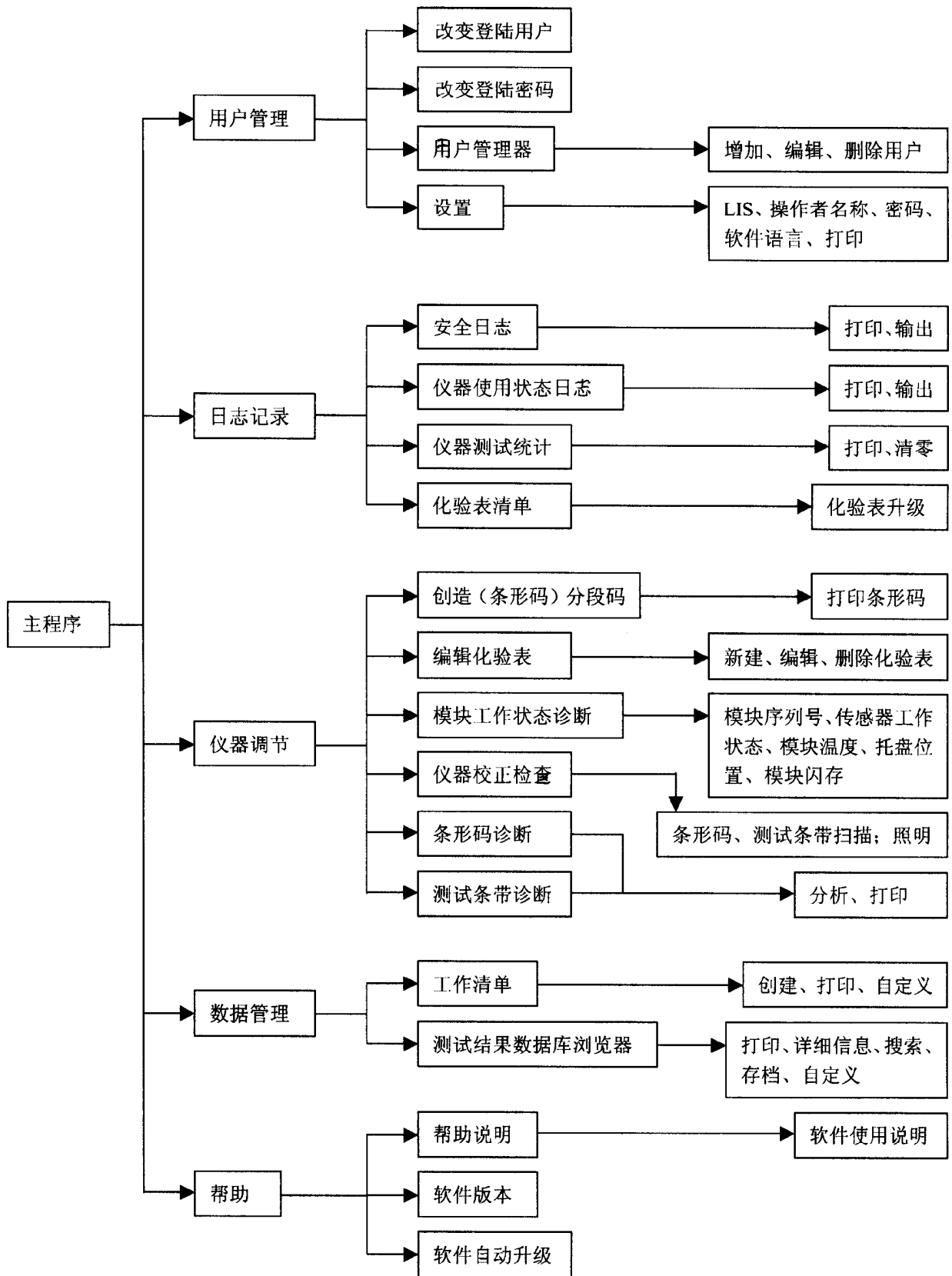


图 15

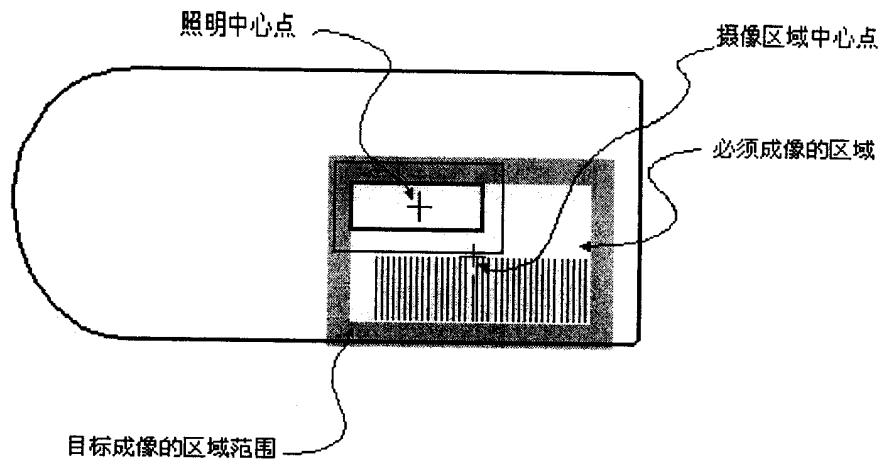


图 16

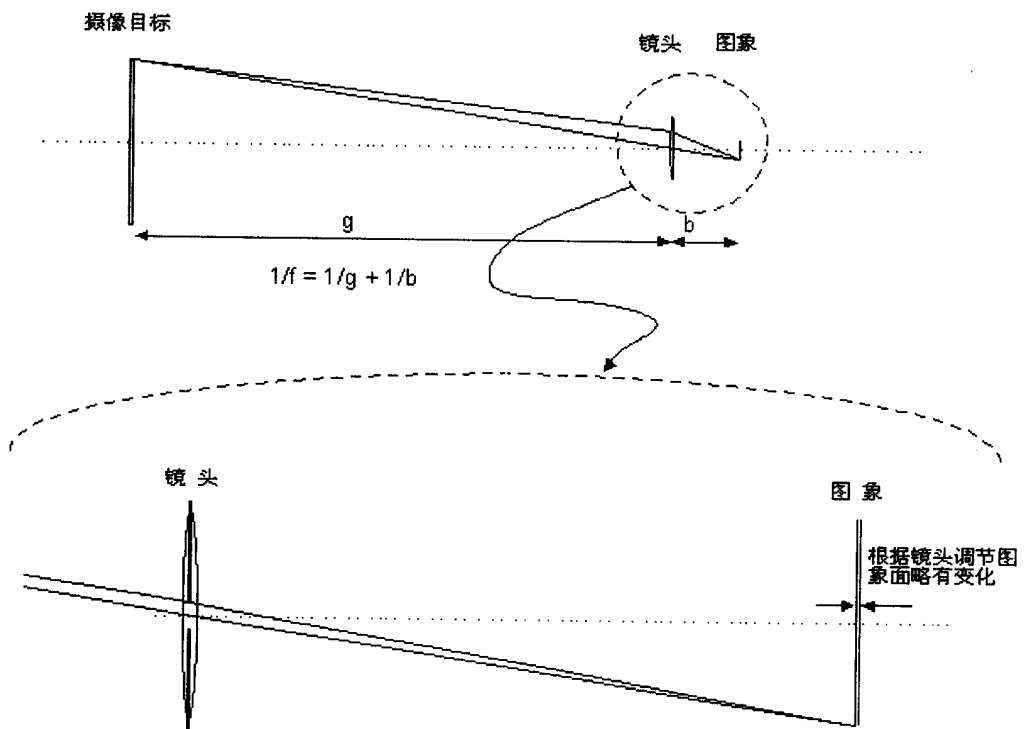


图 17

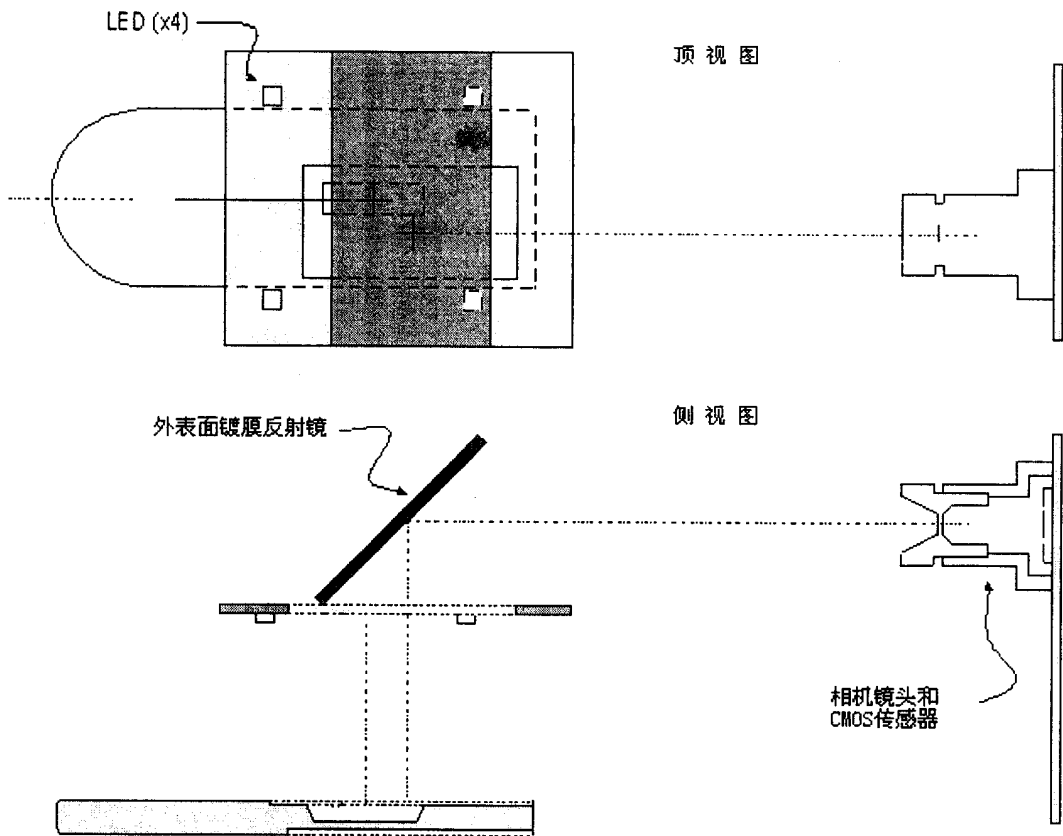


图 18

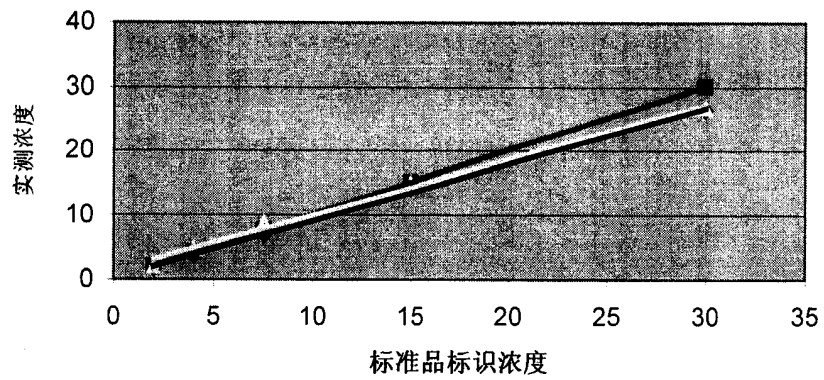


图 19

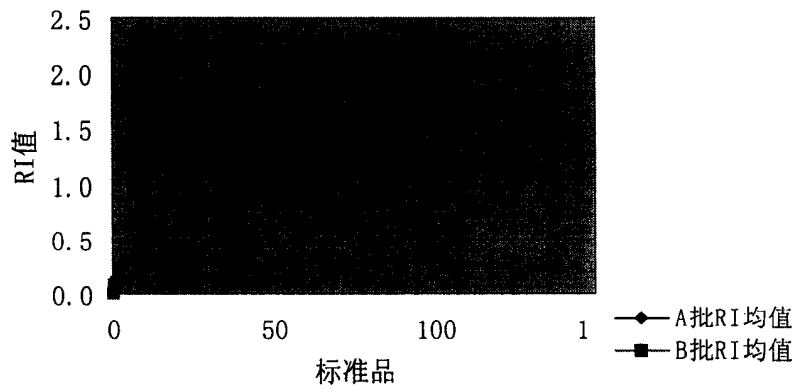


图 20

A, B两批测试盒RI的相关性

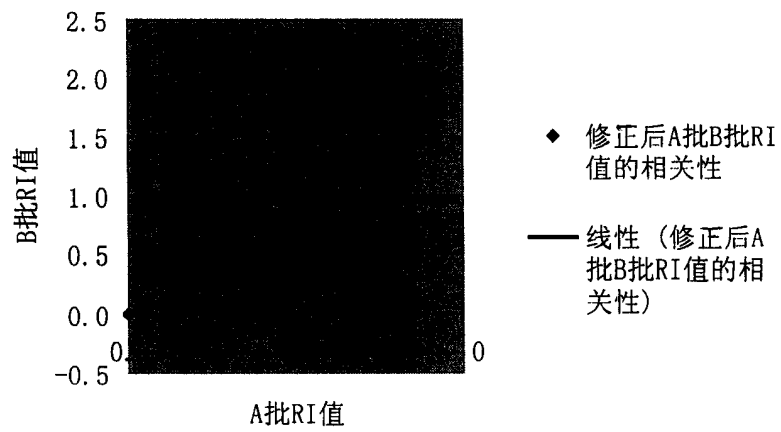


图 21



图 22