

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103201628 A

(43) 申请公布日 2013.07.10

(21) 申请号 201180047820.0

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2011.09.30

G01N 33/543 (2006.01)

(30) 优先权数据

G01N 33/58 (2006.01)

61/389,171 2010.10.01 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2013.04.01

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2011/054236 2011.09.30

(87) PCT申请的公布数据

W02012/044938 EN 2012.04.05

(71) 申请人 霍罗杰克股份有限公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 莉娜·拜敦

(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限

责任公司 11240

代理人 余刚 张英

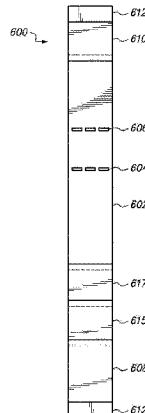
权利要求书1页 说明书11页 附图6页

(54) 发明名称

用于诊断系统中使用的免疫测定测试条

(57) 摘要

一种免疫测定测试条包括：样品垫，用于接受液体患者样品；结合垫，流体地连接至样品垫，其中，结合垫容纳有基本均匀施加的结合试剂；接触垫，流体地连接至结合垫；多孔或吸水部件，例如，由硝酸纤维素制成，流体地连接至能够沿着测试条运输液体样品的接触垫，其中，多孔或吸水部件充当在其上发生免疫反应的固体载体，以及吸收垫，流体地连接至多孔或吸水部件，该吸收垫用于分别通过结合垫、接触垫以及多孔或吸水部件引入至样品垫上的样品液体。



1. 一种免疫测定测试条,其中,通过使用反射读数器可以检测到的所述测试条的颜色或其它特性的变化,可检测患者样品的免疫测定测试结果,所述免疫测定测试条包括:

样品垫,用于接收液体患者样品;

结合垫,流体地连接至所述样品垫,其中,所述结合垫容纳有基本均匀施加的结合试剂;

接触垫,流体地连接至所述结合垫;

多孔或吸水部件,流体地连接至能够沿着所述测试条运输液体样品的所述接触垫,其中,所述多孔或吸水部件充当在其上发生免疫反应的固体载体,以及

吸收垫,流体地连接至所述多孔或吸水部件,所述吸收垫用于吸收分别通过所述结合垫、接触垫以及多孔或吸水部件引入至所述样品垫上的样品液体。

2. 根据权利要求 1 所述的测试条,其中,所述多孔或吸水部件包括硝化纤维素。

3. 根据权利要求 1 所述的测试条,其中,所述多孔或吸水部件包括固定的捕获抗体,所述固定的捕获抗体在检测区中结合至所述样品液体中的感兴趣的分析物。

4. 根据权利要求 1 所述的测试条,其中,所述多孔或吸水部件包括弥散地结合其上的抗体。

5. 根据权利要求 1 所述的测试条,其中,所述免疫测定测试的结果是定性的。

6. 根据权利要求 1 所述的测试条,其中,所述免疫测定测试的结果是定量的。

7. 根据权利要求 1 所述的测试条,其中,所述免疫测定测试检检样品中胎儿纤连蛋白的存在。

用于诊断系统中使用的免疫测定测试条

技术领域

[0001] 本申请中的发明涉及在利用生物化学数据及患者历史数据(包括来自医疗点(point of care)诊断测试或检验的数据)对患者提供医学诊断或风险评估、并且处理这些信息以给出医学症状或风险的指示中给予帮助的系统和方法。具体地,本申请描述了改进的免疫测定测试条(试纸条, test strip),用于在诊断系统及相关方法,如美国专利号6267722、6394952 和 6867051 中描述的诊断系统和方法中使用。

背景技术

[0002] 美国专利号 6267722、6394952 和 6867051 描述了降低与解释性免疫层析技术(interpreting immunochromato-graphic) 及其它检验测试结果相关的误差的客观技术, 包括提供用于客观评估来自生物化学和其它测试的数据的系统、方法、装置和仪器以及使用这些数据用于诊断和风险评估, 包括将决策支持方法结合于这类系统中从而增强其诊断和风险评估能力。

[0003] 更具体地, 美国专利号 6267722、6394952 和 6867051 描述了提供用于检测及测量患者样品中靶分析物的水平、分析结果数据、以及提供诊断或风险评估的系统和方法。该系统和方法包含与读数器(读取器)(尤其是计算机辅助读数器, 如反射读数器)相结合的检验装置, 以及采用数据简化与曲线拟合算法的数据处理软件, 可选地与训练神经网络(trained neural network)相结合用于精确的测量生物样品中分析物的存在或浓度。该方法包括使用特定结构的测试条针对患者样品实施免疫测定检验, 利用反射读数器读取数据, 并利用采用了数据简化算法的数据处理软件处理反射数据。软件包括曲线拟合算法, 可选地与训练神经网络相结合, 将该软件用于测定所给样品中分析物的存在或量。然后可以通过医学诊断系统进一步处理由读数器获得的数据以提供医学症状的风险评估或诊断作为输出。

[0004] 在一个示例实施方式中, 该检验装置是包装在壳体(将该壳体设计为通过读数器来读取)中的侧向流动(横向流动, lateral flow)测试条, 并且该检验是夹心免疫测定(sandwich immunoassay)。将患者样品与用于指示疾病、紊乱或者其风险的所选靶分析物的抗体接触。通过将抗体结合至物理可检测的标记来标记抗体, 并且在抗体与包含靶分析物的样品接触时形成复合物, 其中使抗体 - 分析物复合物接着与固定在固体载体上用于抗原的第二抗体接触。第二抗体捕获抗体 - 分析物复合物以形成抗体 - 分析物 - 抗体夹心复合物, 并且所得到的固定在固体载体上的复合物借助于标记是可检测的。然后将测试条插入读数器中, 在其中测量来自复合物的标记的信号。此外, 可以将该测试条安装在包含符号(symbology), 如条形码的壳体中, 该符号也是通过读数器读取, 并且包含与检验装置和 / 或测试运行(test run)相关联的数据。

[0005] 利用采用数据简化及曲线拟合算法的数据处理软件, 可选地与训练神经网络相结合, 来处理所获得的信号, 以便给出定性(即, 阳性或阴性)结果, 或样品中分析物浓度的定量测定, 这与指示疾病或紊乱的风险或存在的结果相关。可以可选地将结果输入决策支持

系统，并处理以提供医学症状风险的增强评估作为输出。整个过程可以是自动化的和 / 或计算机控制的。

[0006] 被检测的分析物可以是胎儿纤连蛋白(胎儿纤维连接蛋白)(fFN)，所获得的结果是以下的阳性或阴性指示：妊娠或者某些妊娠相关症状的风险或者生育力及不育相关症状，包括异位妊娠、早产、先兆子痫、紧急分娩、引产(term induction)和胎膜破裂。因此，美国专利号 6267722、6394952 和 6867051 描述了使用侧向流动测试装置的快速 fFN 测试，该测试提供了在整个妊娠期检测和定量 fFN 浓度以及评估风险并检测与其相关的症状的方法。由于在本文中提供的读数器以及装置的结合的灵敏度，可以在整个妊娠期(包括它不能被较低灵敏度系统检测的时期)监测 fFN。

[0007] 医疗点诊断和风险评估系统

[0008] 美国专利号 6267722、6394952 和 6867051 描述了用于诊断和评估某些医学风险的系统。系统被设计用于在检查和测试患者的医疗点的现场应用，以及用于远离现场的操作。系统被设计用于接受以患者数据形式的输入，包括，但不限于生化测试数据、物理测试数据、历史数据及其它这类数据，并且用于处理和输出信息，如与医学诊断或疾病风险指示剂相关的数据。患者数据，如医疗记录或医疗历史(病例或病史)可以包含在系统之内，或者可以作为来自医学测试或程序，例如，免疫测定测试数据、血压读数、超声、X-射线或 MRI 的信号或图像输入，或者以任何其它形式引入。可以将具体的测试数据数字化、处理并输入医学诊断专家系统中，其中测试数据可以与其他的患者信息相结合。系统所输出的是疾病风险指数或医学诊断。

[0009] 医疗点测试是指可以在快速的时间帧内完成的实时诊断测试，以便所得到的测试比没有采用该系统的比对测试更快地实施。例如，在美国专利号 6267722、6394952 和 6867051 中描述的，实施示例性 fFN 免疫测定的时间显著少于 fFN ELISA 测定，例如，少于半小时。此外，医疗点测试是指可以在现场快速实施的测试，如在医生办公室、在病床边、在标准实验室(统计实验室，stat laboratory)、急诊室或其它这类场所，尤其是需要快速且精确结果的地方。一般而言，“诊断”是指预测过程，其中评估了疾病、紊乱或其它医学症状的存在、不存在、严重性或治疗过程。对于本文的目的，诊断也将包括用于确定因治疗而引起的结果的预测过程。如本文中使用的，风险是指在其中评估特定结果的可能性的预测过程。

[0010] 在一个示例性实施方式中，医疗点诊断和风险评估系统包括用于读取患者数据的读数器(如反射或传输读数器，如反射读数器)、设计为在读数器中被读取的检验装置以及用于分析数据的软件。在塑料壳体中的测试条装置被设计用于与读数器一起使用，可选地包含符号，如字母数字式字符条形码或其它机器可读代码，并且还提供了设计用于分析由测试条产生的数据的软件。

[0011] 检验(测定)

[0012] 美国专利号 6267722、6394952 和 6867051 描述了用于实施检验(测定)的系统，包括但不限于：核酸检测(包括使用扩增与非扩增方法)，依赖量热检测或光谱检测的任何检验(包括荧光、发光检测，如肌酸、血红蛋白酯类离子检验和血液化学)。免疫测定，包括竞争性和非竞争性免疫测定，是在用于测定患者样品中分析物的存在或量的那些优选测定之中。免疫测定可以是利用抗原与第二材料优先结合的任何方法，结合配对体(binding partner)通常是抗体或具有抗原结合位点的另一种物质，结合配对体与胎儿限制性抗原的

表位优先结合。如本文中使用的优先地结合,是指在结合配对体之间的选择性并且通常是特异性的结合,并且表现出小于10%,优选小于5%的非特异性交叉结合。这类免疫测定方法包括,但不限于,夹心,竞争,凝集或沉淀。任何已知的免疫测定方法,尤其是可以适用于与如本文描述的水平流动装置结合应用的那些,可以应用在美国专利号6267722、6394952和6867051中提供的系统和方法中,并且也在本文中进一步提供。

[0013] 测试装置

[0014] 与读数器(如反射读数器)兼容使用的用于测量检验结果的任何装置可以考虑在本文中使用。如本文中所使用的,“测试条”是指以形成图像的方式或从中产生图像的方式在其上产生、记录或显示患者测试数据或其它数据的任何装置(工具,means)。这类测试条,包括,但不限于,免疫层析测试条(如侧向流动装置)、X-射线胶片(如X-射线与由测序胶产生的胶片)、EKG输出纸带(EKG printout),MRI结果和其它这类产生的工具或可以由其产生图像的工具。测试条可以适用于通过读数器扫描或读取。尽管称为“条”,测试条可以是任何形状或几何形状,包括矩形、三维的、圆形等。在美国专利号6267722、6394952和6867051中描述了测试条可以适用于与读数器结合应用。

[0015] 例如,典型地这些测试装置旨在用于与生物样品,如唾液、血液、血清、脑脊髓液、宫颈阴道样品一起应用。也考虑其它生物学样品,如用于检测例如被细菌或昆虫污染的食品样品。靶分析物包括,但不限于:核酸、蛋白、多肽,如人类免疫缺陷病毒(HIV)抗原、细菌指示性抗原、如沙门氏菌属及大肠杆菌、酵母或寄生虫感染、载脂蛋白(a)及脂蛋白(a)、环境抗原、人绒毛膜促性腺素(hCG)、E-3-G、白细胞介素类和其它细胞因子类与免疫调节蛋白,如IL-6和干扰素、小分子核核糖颗粒(small nuclear ribonuclear particles)(snRNP)抗原、fFN和其它指示剂,如妊娠相关紊乱的IGF结合蛋白-1。

[0016] 免疫测定测试条

[0017] 如图1A和图1B所示,将在下文中详细描述在美国专利号6267722、6394952和6867051中描述的示例性现有技术的免疫测定测试条,其包括限定液体流动路径的膜系统。这类侧向流动测试免疫测定装置在用于实施免疫测定的优选的那些之中,其中膜系统形成沿着测试条的单独液体流动路径。膜系统包括充当用于免疫反应的固体载体的部件。例如,可以将多孔或吸水或吸收性材料置于测试条上以使它们部分重叠,或者可以使用单一材料,以便沿着测试条传导液体。可以将膜材料支持在衬板上,如塑料衬板。在示例性现有技术实施方式中,测试条包括玻璃纤维垫、硝酸纤维素条和支持在塑料衬板上的吸收性纤维素纸条。

[0018] 将与靶分析物和/或可检测标记系统反应的抗体固定在固体载体上。“固体载体”是指将抗体连接于其上的材料。多种材料可以用作固体载体。载体材料包括可以充当用于附着感兴趣分子(关注分子)的载体的任何材料。这些材料包括,但不限于,有机或无机聚合物,天然的和合成的聚合物,包括但不限于,琼脂糖、纤维素、硝酸纤维素、醋酸纤维素、其它纤维素衍生物、葡聚糖、葡聚糖衍生物及葡聚糖共聚物、其它多糖类、玻璃、硅胶、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、人造纤维(人造丝,rayon)、尼龙、聚乙烯、聚丙烯、聚丁烯、聚碳酸酯、多酯类、聚酰胺、乙烯基聚合物、聚乙烯醇、聚苯乙烯及聚苯乙烯共聚物、与二乙烯基苯等交联的聚苯乙烯、丙烯酸树脂类、丙烯酸盐类及丙烯酸类、丙烯酰胺类、聚丙烯酰胺类、聚丙烯酰胺混合物、乙烯酰胺与丙烯酰胺共聚物、甲基丙烯酸酯类、甲基丙烯酸酯衍生物及其聚物、与各

种官能团的其它聚合物与共聚物、胶乳、丁基橡胶及其它合成橡胶、硅、玻璃、纸、天然海绵、不溶蛋白、表面活性剂、血红细胞、金属、非金属、磁性材料、或其它商购介质。

[0019] 通过使用偶联剂如戊二醛,经由吸附、离子结合、范德华吸附、静电结合或共价结合将抗体与测试条结合。在如图 1A 和图 1B 示出的现有技术测试条中,利用容量陶瓷活塞泵分配器(volumetric ceramic piston pump dispenser)将抗体施加于结合垫及硝酸纤维素条上,来使结合感兴趣分析物的抗体条纹化(条带化, stripe),包括在玻璃纤维结合垫及硝酸纤维素条上的标记抗体结合物。测试条可以进行或可以不进行其他处理,例如,用糖处理,以促进沿着测试条的流动性,或者用水溶性非免疫性动物蛋白,如白蛋白类,包括牛血清白蛋白(BSA),其它动物蛋白,水溶性聚氨基酸类或酪蛋白处理,从而阻断非特异性结合位点。

[0020] 抗-fFN 抗体是与 fFN 选择性结合的抗体。可以容易地将这类抗体分离。胎儿限制性抗原是指仅存在于孕妇中或在数量上与非孕妇相比大量升高的在产妇的血清、血浆、尿、唾液、汗液、眼泪及其它体液中的抗原。胎儿纤连蛋白是在胎盘、羊水及胎儿结缔组织中发现的胎儿限制性抗原,其在结构上与成人纤连蛋白不同。胎儿纤连蛋白并不大量存在于产妇的血浆或血清中,并且可以被一般的结合抗体捕获,如抗-纤连蛋白抗体或者抗-胎儿限制性抗原抗体,如抗-胎儿纤连蛋白抗体。

[0021] 测试条壳体

[0022] 可选地,将测试条容纳在专门壳体中,该壳体成形用于插入反射读数器中。壳体可以由塑料或其它不干扰检验过程的惰性材料制成。将在下文中详细描述包括美国专利号 6267722、6394952 和 6867051,图 2- 图 5 中描述的测试条和壳体部件的示例性现有技术的检验装置。

[0023] 测试条壳体可以包括符号,如可以与关于检验装置、病人数据和 / 或测试运行的数据相关的条形码。例如,与装置相关的信息,如批号、有效期、分析物及强度值,或者关于测试运行的信息,如日期、反射值或可以被编码的及相关联的其它这类信息,如在具有印刷在装置上的条形码的数据库中。图 2A、图 2B 和图 3 描述了可选地分别包括条形码 216 和条形码 316 的检验装置。

[0024] 抗体

[0025] 任何结合兴趣分析物的抗体,包括多克隆或单克隆抗体,或其任何片段,如 Fab 片段,都可以被考虑用于与本文中描述的测试条一起使用。可以使用单克隆和 / 或多克隆抗体。例如,可以在标记抗体结合物中使用鼠单克隆抗-胎儿纤连蛋白抗体用于检测胎儿纤连蛋白,并且还可以将多克隆山羊抗鼠抗体用于结合胎儿纤连蛋白以形成夹心复合物。可以将不与胎儿纤连蛋白复合的结合至标记抗体结合物的抗体固定在测试条上并且用作对照抗体。例如,当胎儿纤连蛋白是分析物时,可以使用多克隆山羊抗-鼠 IgG 抗体。

[0026] 将与兴趣分析物结合的抗体结合至可检测标记。在一个具体实施方式中,其中胎儿纤连蛋白待被检测,可以使用结合至含有蓝色染料的胶乳颗粒的鼠单克隆抗 fFN 抗体(参见,例如,美国专利号 5281522)。在一个实施方式中,将人类纤连蛋白的山羊多克隆抗体结合至胶体金标记。在示例性实施方式中,将不与胎儿纤连蛋白复合的结合至标记抗体结合物的抗体用作对照抗体。例如,其中使用标记结合物包括单克隆抗胎儿纤连蛋白、多克隆山羊抗-鼠 IgG 抗体。可以使用来自公开可用来源的方法来提取和纯化抗体。

[0027] 抗体与标记的结合

[0028] 可以使用包含可检测标记的抗体结合物来结合感兴趣的分析物。在抗体结合物中使用的可检测标记可以是任何物理的或化学的标记,能够利用读数器(如反射读数器)在固体载体上被检测,并且在检验中能够用于从其它化合物和材料中识别待被检测的试剂。合适的抗体标记是熟知的。这些标记包括,但不限于在反应时产生颜色的酶底物组合物、有色颗粒,如胶乳颗粒、胶体金属或金属或碳溶胶标记、荧光标记、及脂质体或聚合液囊(polymer sac),由于标记的聚集将它们检测出来。示例性标记是有色胶乳颗粒。还可以在标记抗体结合物中使用胶体金。

[0029] 可以使标记衍生用于结合抗体,如通过在颗粒表面上附加官能团,如羧基基团来允许抗体的共价连接。可以利用已知的偶联方法将抗体结合至标记。可以使用偶联剂如戊二醛或碳二亚胺。通过化学或物理结合将标记结合或偶联至抗体。可以使用碳二亚胺偶联剂,1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳化二亚胺(EDAC)将抗体连接至胶乳颗粒。

[0030] 分析物的测量

[0031] 考虑将可以在任何检验中尤其是比色测定,包括免疫测定中检测到的,并且可以与紊乱相关联的任何分析物作为靶。合适的分析物是在检验中可以与特异性结合配对体(特异性结合伴侣),如抗体或竞争剂(如类似物)一起使用的任何那些。分析物可以包括,但不限于蛋白类、半抗原类、免疫球蛋白类、酶类、激素类(例如, hCG、LH、E-3-G 雌酮-3-葡萄糖酸和 P-3-G (孕酮-3-葡萄糖酸))、聚核苷酸类、甾类、脂蛋白类、药物、细菌或病毒抗原(如链球菌属,奈瑟球菌属及衣原体属)、淋巴因子类、细胞因子类等。在美国专利号 5686315 中描述了大量合适的分析物。虽然提供了用于测定宫颈阴道样品中胎儿纤连蛋白的例子,但是在美国专利号 6267722、6394952 和 6867051 中描述的及本文中进一步提供的系统和方法,并不限于胎儿纤连蛋白的检测和测量,而是适用于任何生化测试,尤其适用于对其而言可以开发测试条或对其而言测试条是已知的那些生化测试。

[0032] 用于检测 fFN 和细胞纤连蛋白的测试条

[0033] 用于测量宫颈阴道的样品中胎儿纤连蛋白水平及细胞纤连蛋白水平的方法是已知的,(参见,例如,美国专利号 5096830、5185270、5223440、5236846、5281522、5468619 和 5516702),并且用于各种妊娠相关的紊乱的诊断测试是可利用的(参见,例如,如美国专利号 5096830 和 5079171)。这些方法可以适用于与本文描述的免疫测定测试条及装置一起使用。

[0034] 胎儿纤连蛋白检验(测定)过程

[0035] 在执行该检验(测定)中,获得患者样品。该样品可以包括液体与颗粒固体,因此,在应用至检验测试条之前可以将其过滤。可以通过利用具有纤维头的棉签、抽吸器、吸出或灌洗装置、注射器或任何其他已知的移取身体样品的方法,包括用于收集尿液或唾液的被动方法来从患者中移取样品。具体地,可以将样品提取至缓冲溶液中,并且可选地,例如在 37°C 下加热,并过滤。其中待检测的胎儿纤连蛋白在样品中,利用具有聚脂纤维头或其它纤维头的棉签从阴道后穹窿、子宫颈阴道部或外部子宫颈外口的附近获得样品。

[0036] 然后使用任何已知用于运送生物样品的工具(例如,标准的塑料移液管)将一定体积的测试样品递送至测试条。样品中的任何分析物结合至标记抗体并且所得到的复合物沿着测试条移动。可替代地,可以将样品与标记结合物预混合,之后将复合物施加至测试条。

当标记抗体 - 分析物复合物遇到测试条的检测区时,在那里的固定抗体结合复合物以形成夹心复合物,从而形成有色的条纹。任何未结合的胶乳结合的抗体继续移动至对照区,在对照区未结合的胶乳结合的抗体被第二固定抗体或其它能够结合该结合物的试剂捕获,从而,由于包含染料的胶乳珠的聚集形成第二有色条纹(条带)。这表明已经完成检验流程。

[0037] 读数器

[0038] 读数器是指用于如在测试条上检测和 / 或定量数据的仪器。该数据可以是肉眼可视的,但并不必须是可视的。在美国专利号 6267722,6394952 和 6867051 中描述了这类读数器。如在其中所描述的,反射读数器是指适合利用反射光,包括荧光或任何波长的电磁辐射读取测试条的仪器。可以利用光检测器或其它检测器,如电荷耦合二极管(CCD)来检测反射。示例性反射读数器包括适于接受测试条的盒式槽、发光二极管、光纤、传感头(包括用于沿着测试条定位传感头的工具)、用于读取光检测器输出并控制操作发光二极管开与关的控制电路、用于储存原数据和 / 或处理的数据的存储电路、光检测器如硅光电二极管检测器。应当理解颜色变化是指颜色的强度或色彩的改变或者可以是在无颜色存在的地方颜色的出现或者颜色的消失。

[0039] 在美国专利号 6267722,6394952 和 6867051 中描述的示例性实施方式中,将样品施加至诊断免疫测定测试条,并且产生有色带或暗带。通过测试条的测试区(或检测区)中的有色标记所反射出的颜色强度,对于感兴趣的分析物的浓度范围而言,与存在于被检测样品中的分析物的量是直接成比例的或者另外地是相关的。依照当前的实施方式,利用读数器装置,例如,适用于读取测试条的反射读数器,来读取所产生的颜色强度。通过测试条的测试区(或检测区)中的有色标记所反射出的颜色强度与存在于被检测样品中的分析物的量直接成比例。换言之,在测试区中深色线表明较大量分析物,而在测试区的浅色线表明较少量的分析物。所产生的颜色强度,即,有色线的深或浅,是利用读数器装置来读取的,例如,适于读取测试条的反射读数器。

[0040] 通过读数器装置获得的反射测量与存在于样品中的分析物的存在和 / 或量有关。该读数器沿着测试条获取大量读数,所获取的数据用于产生指示存在于样品中的分析物的存在和 / 或量的结果。系统可以将这类数据与紊乱、症状或其风险的存在相关联。

[0041] 如上文所述,除了读取测试条外,读数器可以(可选地)适于读取符号,如条形码,该符号存在于测试条或壳体上并且编码与测试条装置和 / 或测试结果和 / 或患者、和 / 或试剂或其它期望信息相关的信息。典型地,将相关信息储存在远程计算机数据库中,但是也可以手工储存。此外,当使用装置以及在其中被编码的信息时可以将符号打印。

发明内容

[0042] 提供了一种免疫测定测试条,其中,通过使用反射读数器可以检测到测试条的颜色或其它特性的变化,可检测患者样品的免疫测定测试结果。在一个实施方式中,免疫测定测试条包括:样品垫,用于接受液体患者样品;结合垫,流体地连接至(fluidly coupled to)样品垫,其中,结合垫容纳有基本均匀施加的结合试剂;接触垫,流体地连接至结合垫;多孔或吸水部件,例如,由硝酸纤维素制成,流体地连接至能够沿着测试条运输液体样品的接触垫,其中,多孔或吸水部件充当在其上发生免疫反应的固体载体,以及吸收垫,流体地连接至多孔或吸水部件,该吸收垫用于分别通过结合垫、接触垫以及多孔或吸水部件引入

至样品垫上的样品液体。

[0043] 该多孔或吸水部件可以包括固定的捕获抗体，固定的捕获抗体在检测区中结合样品液体中感兴趣的分析物。例如，多孔或吸水部件可以具有弥散地(分散地)结合其上的抗体。免疫测定检验的结果可以是定性的和 / 或定量的。在一个实施方式中，免疫测定测试检测样品中胎儿纤连蛋白的存在。

[0044] 随着回顾以下的具体实施方式及其相关附图，本发明的其他的以及进一步的实施方式将是显而易见的。

附图说明

[0045] 应当领会在图示中示出的系统和装置未必按比例绘制，将用强调来代替置于说明例示性实施方式的各种特征，其中：

[0046] 图 1A 是现有技术免疫测定测试条的俯视图；

[0047] 图 1B 是图 1A 的免疫测定测试条的侧视图；

[0048] 图 2A 是现有技术检验装置的透视图，包括图 1A 和图 1B 的检验测试条与壳体部件，并且示出了条形码，该条形码可以可选地附着至壳体；

[0049] 图 2B 是现有技术检验装置的可替代的实施方式的透视图，包括图 1A 和图 1B 的检验测试条与壳体部件，并且示出了条形码，该条形码可以可选地附着至壳体；

[0050] 图 3 是图 2B 的检验装置的透视图，示出该装置的单个部件；

[0051] 图 4 是用于图 1A 和图 1B 的检验测试条的示例性现有技术的壳体部件的俯视图；

[0052] 图 5 是图 4 的壳体部件的侧面部件视图；

[0053] 图 6A 是根据本发明的一个实施方式构成的改进的免疫测定测试条的俯视图；

[0054] 图 6B 是图 6A 的免疫测定测试条的侧面视图；

[0055] 图 7 是卡片的顶部表面的图示，从该卡片中切割如那些在图 6A 与图 6B 中示出的测试条，在结合物条纹化过程已经在视觉上使膜系统的结合物饱和垫后取出该卡片；以及

[0056] 图 8 是类似于图 6A 与图 6B 中示出的测试条的顶部表面的图示，将其取出除去结合垫，以显示出接触垫的下面部分，包括在条纹化过程期间沉积在接触垫上的来自结合垫的结合材料。

具体实施方式

[0057] 最初的参考文献是根据来自美国专利号 6867051 中的现有技术图 1- 图 5 而定的。

[0058] 如图 1A 和图 1B 所示，在美国专利号 6867051 中描述的现有技术测试条 100 包括了包括三个部件的膜系统：多孔或吸水部件 102；结合垫 108；以及吸收垫 110。膜系统安装在基板或衬板 112 上，伴随结合垫 108 与吸收垫 110 与插入它们之间的多孔或吸水部件 102 轻微地重叠。如所能看到的，结合垫 108 与多孔或吸水部件 102 重叠，以便位于结合垫 108 上的液体样品从结合垫 108 传递至多孔或吸水部件 102。类似地，吸收垫 110 与多孔或吸水性部件 102 重叠，以便将液体样品从结合垫 108 引入多孔或吸水部件 102 之后，传输至吸收垫 110。在该方式中，结合垫 108、吸收垫 110 以及多孔或吸水部件 102 彼此分别是流体连通，因此位于结合垫 108 上的液体样品能够通过结合垫 108 扩散至多孔或吸水部件 102，然后从多孔或吸水部件 102 至吸收垫 110。

[0059] 多孔或吸水部件 102 能够沿着测试条运输液体样品并且充当在其上发生免疫反应的固体载体。与靶分析物和 / 或标记反应的抗体固定在固体载体上。可能的固体载体包括纸与纤维素衍生物, 如纤维素酯类和纤维素醚类, 天然的与合成的聚合材料, 如乙烯基聚合物类和部分水解衍生物, 缩聚物, 共聚物和无机材料。一种这样的固体载体是硝酸纤维素膜。如图中所看到的, 多孔或吸水部件 102 包含两个不同的区, 检测区 104, 和对照区 106, 在这两个区中固定了两种不同的抗体。检测区容纳有结合感兴趣的分析物的固定捕获抗体, 然而对照区容纳有结合未与分析物结合的标记抗体结合物的固定抗体或其它成分如抗原。结合垫 108 充当样品施加部件, 并且伴随结合有可检测标记的抗体至分析物时产生条纹。尤其是, 该标记抗体结合物弥散地结合至结合垫 108, 并且当施加液体样品时是可移动的并沿着测试条 100 移动。结合垫 108 是由多孔材料如玻璃纤维制成的。结合垫 108 还可以充当样品的预滤器。吸收垫 110 适用于连续地吸引通过装置的液体, 并且吸收垫 110 可以由如纤维素纸的材料或其它材料制成。

[0060] 现在参考图 2A, 在美国专利号 6867051 中的免疫测定装置包括测试条 (100) 与壳体部件 200, 其中壳体 202 通常包围测试条 100 (图 1A 和图 1B) 并且包括开口 204, 通过该开口施加测试样品, 以及检测区及对照区 206 上方的壳口 (aperture), 其允许通过读数器测量标记的量, 该量与测试样品中分析物的量相关。壳体 202 在其上表面 208 包括用于握住壳体 202 的增厚端 210, 通过施加窗口 204 (或样品窗口) 将样品施加至壳体 202 内的免疫测定测试条的结合垫 108。该壳体 202 还包括测试窗口 214, 通过其观察免疫测定的测试结果。根据实施方式所示, 不将窗口材料安装在测试窗口 214 (或样品窗口 212) 的内部。从而, 来自壳体 202 外部穿过测试窗口 214 至免疫测定测试条的光程是清楚的 (甚至如穿过透明的材料)。如图 2A 和图 2B 所示, 壳体还可以包括符号, 举例如可以被读数器或单独的阅读装置读取的条形码 216 或 316 并且其与识别涉及具体装置和 / 或测试流程或其它信息的信息相关。

[0061] 图 2B 中示出测试装置的可替代实施方式。在图 3 中示出该装置的部件, 包括壳体的上部件和下部件 302 和 320 以及测试条 100。还示出了样品施加口 304, 测试窗口 306, 以及可选地包括条形码 316。

[0062] 图 4 是示出了图 2A 的免疫测定测试条壳体 202 的俯视图, 示出样品窗口 212, 和测试窗口 214, 以及扩大的抓握部 210。还示出了在壳体 202 内用于保持免疫测定测试部件的结构 402 以及用于使壳体 202 的上半部分和下半部分彼此固定在一起的结构 404。

[0063] 图 5 是测试条壳体 202 的部件的侧剖面组装图, 示出样品窗口 212、测试窗口 214、以及用于保持免疫测定测试条部件位于壳体 202 中的结构 402。如图所示, 壳体 202 的上半部分 502 与壳体 202 的下半部分 504 是成对的。免疫测定测试条夹在壳体 202 的上半部分 502 和下半部分 504 之间的并且被上半部分 502 的结构 402 固定在合适位置。当将免疫测定测试条部件固定在壳体内部时, 定位该免疫测定测试条以便其通过测试窗口 214 是可观测的, 并且定位结合垫以便其通过样品窗口 212 是可接触的。

[0064] 这些上文描述的和例示性的图 1- 图 5 的装置尤其适于与美国专利号 6867051 中描述的反射读数器一起使用。

[0065] 在图 6- 图 8 中描述了本文中本发明的实施方式, 并且涉及一种用于在诊断系统和相关方法中应用, 尤其用于在如美国专利号 6867051 中描述的那些诊断系统和方法中应用

的改进的免疫测定测试条。具体地，本文中描述的改进的免疫测定测试条的示例性实施方式优选尺寸和结构能够容易地代替图1A和图1B的现有技术测试条100，而不需要改变壳体200或读数器。然而，本文中描述的改良的免疫测定测试条并不限于在美国专利号6867051中描述的在诊断系统和方法中的应用。

[0066] 现在参考图6A和图6B，改进的免疫测定测试条600的示例性实施方式包括具有五个主要部件的膜系统：样品垫608；结合垫615；接触垫617；包含硝酸纤维素薄膜的多孔或吸水部分602；以及吸收垫610。将测试条600的膜系统(608, 615, 617, 602, 610)安装在合适的基板或衬板612上，其中样品垫608与结合垫615重叠，结合垫615与接触垫617(稍微地)重叠，并且接触垫617和吸收垫610分别与插入它们之间的硝酸纤维素膜602重叠。尤其是，如在图6B中所看到的，样品垫608与结合垫615重叠，以便例如，通过在包围免疫测定测试条600的壳体(未显示)中的开放的样品窗口置于样品垫608上的液体样品容易地从样品垫608传送至结合垫615。类似地，结合垫615与接触垫617稍微地重叠，并且接触垫617和吸收垫610分别与硝酸纤维素膜602重叠，以便置于样品垫608上的液体样品容易地分别从样品垫608扩散至结合垫615，从结合垫615至接触垫617，从接触垫617至硝酸纤维素膜602，并从硝酸纤维素膜602至吸收垫610。

[0067] 以此方式，样品垫608、结合垫615、接触垫617、硝酸纤维素膜602和吸收垫610彼此分别都是流体连通。如下文中更加详细的解释，用于形成各自膜系统602, 608, 610, 615和617的材料，连同它们各自的尺寸以及相邻元件之间各自重叠的量一起，将会大大地影响引入样品垫608上的样品液体一路至吸收垫610的流动速率。

[0068] 如美国专利6867051的现有技术测试条100的多孔或吸水部件102，本测试条600的硝酸纤维素膜602能够运输液体样品，并且还充当在其上发生免疫反应的固体载体。与靶分析物和/或标记反应的抗体固定在固体载体上。可能的固体载体包括纸与纤维素衍生物如纤维素酯类和纤维素醚类、自然的与合成的聚合物材料如乙烯基聚合物类与部分水解衍生物、缩聚物、共聚物和无机材料。如在图6A和图6B中可以看到的，硝酸纤维素膜602包含分离的检测区604，和分离的对照区606，在这两个区域固定两种不同的抗体。检测区604容纳有结合感兴趣的分析物的固定捕获抗体，然而对照区606容纳有结合没有结合至分析物的标记抗体结合物的固定的抗体或其它成分如抗原。

[0069] 为了更好地理解改进的免疫测定测试条，现在将描述单个的部件和示例性制造方法。

[0070] 样品垫

[0071] 测试条600的样品垫608与图1A和图1B的现有技术的测试条相比基本没有改变，除了样品垫608不与任何结合物条纹化，并仅作为样品液体流动路径起作用以外。

[0072] 结合垫

[0073] 测试条600的结合垫615在现有技术测试条100中没有相应的部件。在示例性实施方式中，结合垫是预处理的亲水材料，如由Porex Technologies供应的尼龙。在制造过程期间，在将硝酸纤维素膜602与(多孔的)接触垫617分别施加(对于硝酸纤维素膜602)或粘附(对于接触垫617)至基板612后，将结合垫615粘附至基板612，以便结合垫615具有一个边缘与接触垫617非常轻微地重叠(如图6B所示)，伴随另一个边缘非常轻微地分离的临时离型膜，覆盖在随后会将样品垫608粘附其上的基板612的粘合物质上。此后，但是

在分别将样品垫 608 与吸收垫 610 附着至基板 612 (基板 612 以伸长的卡片尺寸的形式保持, 用于制作大量的, 如几打的测试条) 之前, 根据已知方法“剥离” (“striped”), 其中, 将形成测试区 604 与对照区 606 的各自的抗体和 / 或其它成分施加至硝酸纤维素膜 602, 并且同时将结合试剂材料施加在(沉积在)结合垫 615 上。

[0074] 尤其是, 将结合试剂施加至结合垫达到整个垫出现“视觉上饱和的”(是指, 当它在技术上能够容纳另外的体积时, 该试剂平均且完全地分布在整个结合垫)程度。因为结合垫 615 的一个边缘与接触垫 617 轻微地重叠, 伴随另一个边缘与离型衬里(release liner)分离, 覆盖在随后会将样品垫 608 粘附其上的基板 612 的粘合物质上, 在条纹化(striping)过程期间防止任何过量结合材料的“后端”芯吸(“back end” wicking), 伴随任何这类过量结合材料被替代的接触垫 617 吸收。然而, 如图 8 中所示(伴随在条纹化过程后除去结合垫), 接触垫 617 充分密实, 因此过量的结合物不能够芯吸至(wick into)硝酸纤维素膜 602 中。相对于现有技术的测试条 100, 认为这种排列提供了每个不同测试条 600 显著减少的可变性, 因为每个所得到的结合垫 615 的结合物覆盖的(基本为方形)部分容纳相似量的结合物。此外, 对于每个不同测试条 600, 结合物非常一致地脱离结合垫 615。

[0075] 尤其是, 已经发现利用视觉上饱和的预处理 Porex 材料作为结合垫在过程中导致样品与结合珠(conjugated bead)混合, 伴随结合的样品混合物脱离结合垫 615 并在施加的几秒内移动至接触垫 617。以此方式, 结合垫 615 允许类似于具有垂直运行条(例如, 在试管中)的液体免疫测定系统来实施测试条 600, 向其中加入已知量的结合物, 并且在加入至条中之前允许与样品混合。一旦将测试条 600 从卡片上切割, 结合垫 615 在其长度 - 宽度维度中优选为正方形。在一个实施方式中, 最终测试条 600 的结合垫 615 在其长度 - 宽度维度中约是 0.320" 乘 0.320"。

[0076] 接触垫

[0077] 与结合垫 615 相似, 测试条 600 的接触垫 617 在现有技术测试条 100 中也没有相应的部件。如上文所描述的, 将另外的接触垫 617 插入测试条 600 的流体路径, 该插入允许利用条纹化过程将结合试剂施加至结合垫 615, 同时, 将形成检测区 604 和对照区 606 的各自的抗体和 / 或其它成分施加至硝酸纤维素膜 602, 因为接触垫 617 阻止从结合垫 615 芯吸入硝酸纤维素材料 602 的任何过量结合材料。此外, 接触垫 617 用来阻挡(gate)过程中的结合物 / 样品混合物, 并且在硝酸纤维素膜 602 上计量该混合物几分钟。该结合物 / 样品混合物在过程中的计量允许更多的结合并且减慢了反应, 反过来允许更期望的反应时间和灵敏度。

[0078] 吸收垫

[0079] 测试条 600 的吸收垫 610 与图 1A 与图 1B 的现有技术测试条 100 相比基本没有改变, 起到吸引样品液体流动经过流体路径, 尤其是经过硝酸纤维素膜 602 的作用。

[0080] 示例性制造过程

[0081] 根据一个实施方式, 在乙烯基衬板卡片上(即, 基板 612)进行固相的层积(lamination), 该衬板卡片为约 0.010" ± 0.0005" 厚、2.7" 宽及 17.73" 长, 具有 10mm、18.25mm、23mm 与 56mm 的预刻痕离型衬里(release liner)。10mm 的离型衬里将允许在该衬里(该衬里覆盖样品垫 608 的最终位置)与结合垫 615 之间的空隙。该空隙对于使结合试剂条纹化而不引起膜 615 后端泄露而言是至关重要的。

[0082] 层积顺序如下：

[0083] 1. 硝酸纤维素膜 - 来自 Sartorius 的具有 33mm 宽度的 Unisart(PN:1UN95E)。硝酸纤维素应该具有 240–270um (包括 100um 的聚酯衬板膜) 的厚度与 90–135s/4cm 的穿过滚筒的芯吸速度(两者都基于制造商分析证书)。

[0084] 2. 接触垫 -Whatman, Grade :S14, 宽度 :5.8±0.1mm, 长度约 450mm。

[0085] 3. 结合垫 -Porex[X-41210 (布料器 #), X-4588 (制造商 #)] 薄亲水膜, 0.025" ±0.004" 厚, 75–110um 的孔径。所收到的垫为 10" X17.75" 的片, 使用旋转截切机切成 0.0320" 的条或通过 Interstate Specialty Products 将其预切成 17.75" x0.32" 的条。重要的是, 由于 Porex 材料的存储容量不在滚筒中接收该材料, 并且将其存储在黑暗环境中。

[0086] 接着上述层积过程的第一步, 使用条纹化装置进行将下面的试剂施加在固相上。

[0087] 4. 施加试剂 -A137-MS 结合试剂在合适的%固体下是条纹化的, 这取决于结合物的滴定度。Porex 结合膜中批次与批次的变化以及结合垫及接触垫之间重叠的可变性将影响需要的结合试剂的体积以及精确位置(needle position)以保证合适的饱和水平。

[0088] 图 7 是卡片的顶部表面的图示, 从该卡片中切割如那些在图 6A 与图 6B 中示出的测试条, 在结合物条纹化过程已经在视觉上使膜系统的结合物饱和垫后取出该卡片。尤其是, 图 7 描述了在施加结合物之后, 在用结合物将其两端完全覆盖后的结合垫 615。

[0089] 图 8 是类似于图 6A 与图 6B 中示出的测试条的顶部表面的图示, 将其取出除去结合垫, 以显示出接触垫的下面部分, 包括在条纹化过程期间沉积在接触垫上的来自结合垫的结合材料。尤其是, 图 8 示出条纹化的快速 fFN10Q 条的实例, 伴随(在视觉上饱和之前)除去结合垫 615。在其中结合垫 615 分别与接触垫 617 重叠的接触垫 617 的区域中的有限量的结合材料, 在条纹化过程期间, 从结合垫 615 “可控地”泄露至接触垫 617。这是理想的条纹化的 10Q 条的代表。相比之下, 具有“白色”区域或缺失一些结合物的区域的接触垫是不理想的并且可能导致更高的可变性。对于可接受的条纹化而言, 接触垫上 Porex 的完全覆盖与可控的泄露两者都是必要的。

[0090] 在试剂施加在硝酸纤维素膜 602 与结合垫 615 上后, 优选将卡片留在受控的温度下干燥过夜。干燥后, 优选将卡片平展着储存, 在冷却器中干燥。

[0091] 在条纹化之后, 继续固相的层积, 并且包括样品垫 608 与吸收垫 610 的放置:

[0092] 5. 样品垫 -Whatman, 等级 :S14, 宽度 :0.515" ±0.005"

[0093] 6. 吸收垫 - Whatman 公司, 宽度 :0.65" 具有 684–753um 的厚度与 13.9–16.2s/300ml/sq" 的孔隙度, 等级 :C7218

[0094] 优选在最终层积(在层积步骤或在切割步骤)后将卡片卷起(roll)。

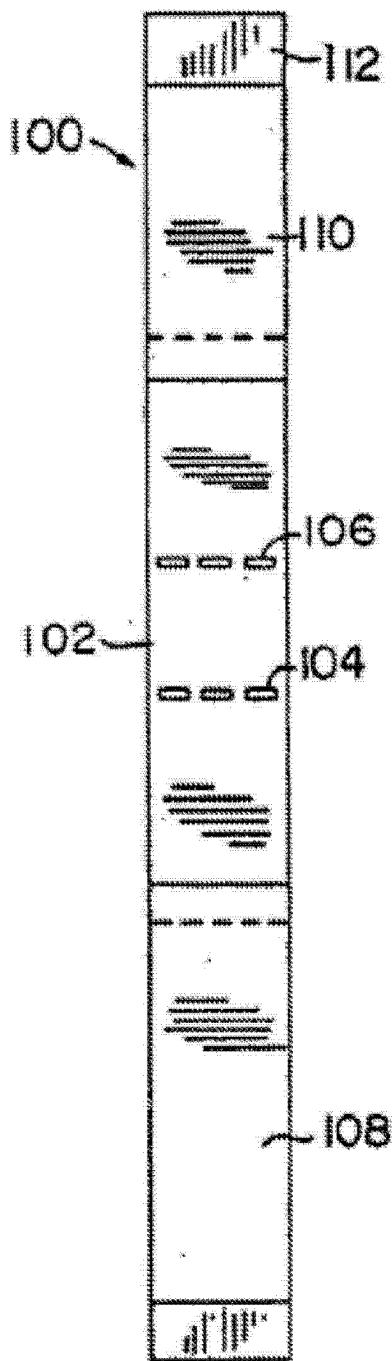


图1A

(现有技术)

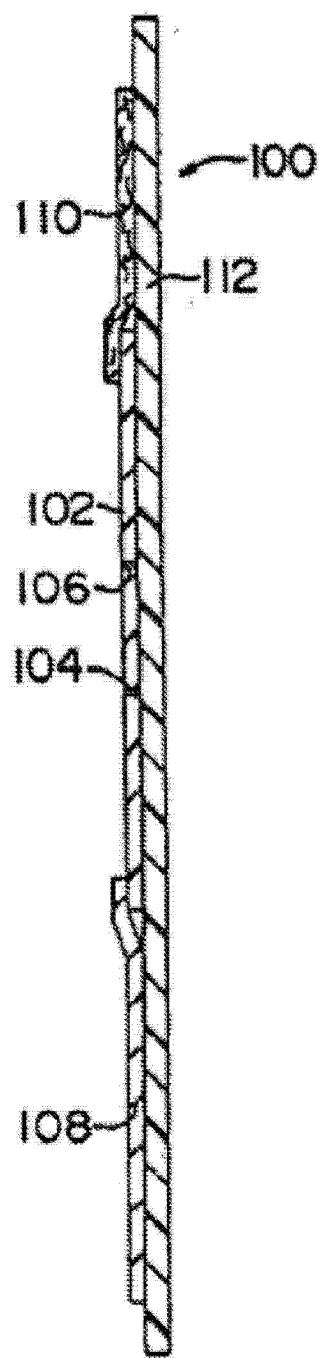


图1B

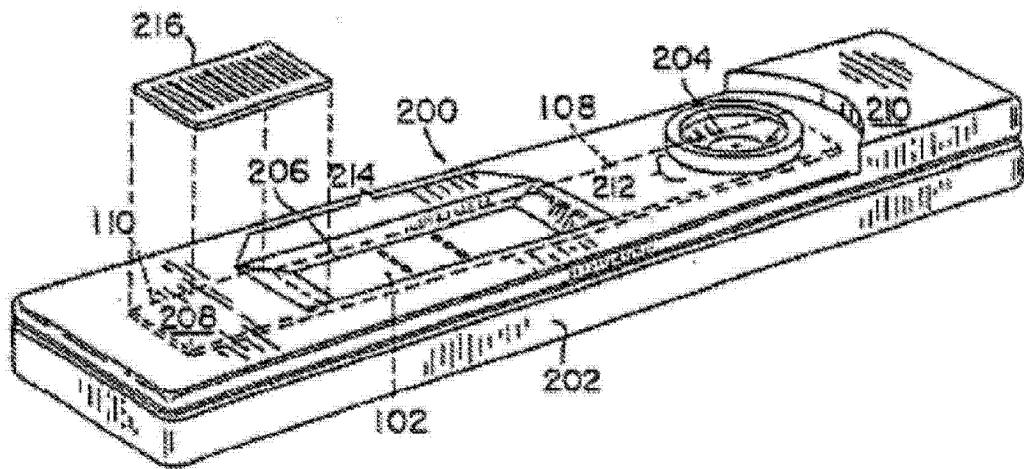


图 2A

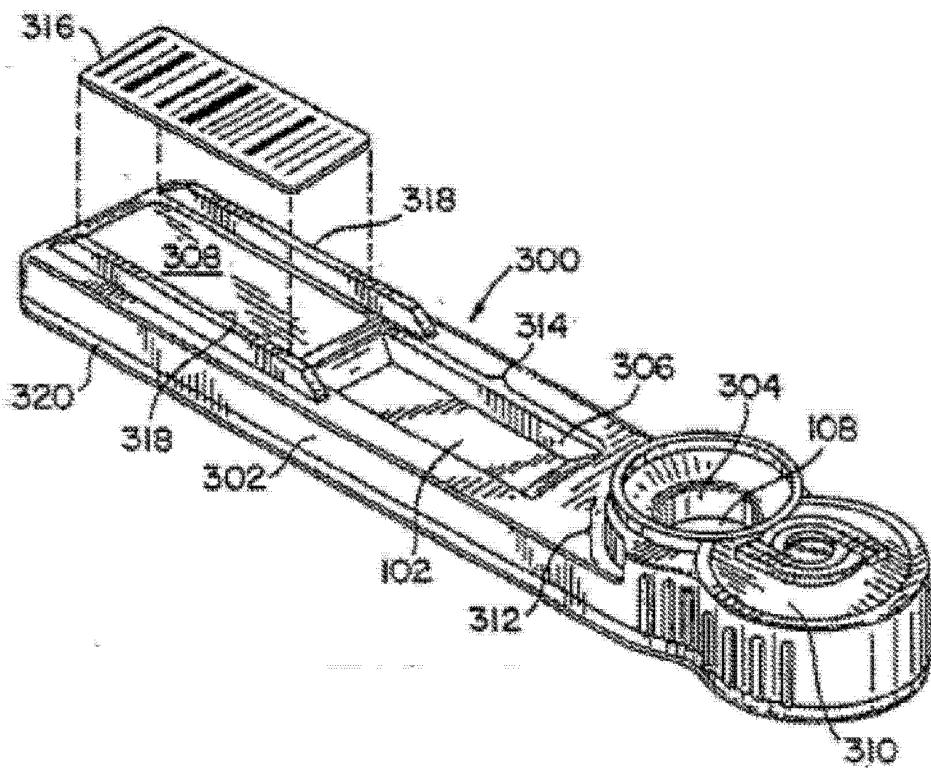


图 2B(现有技术)

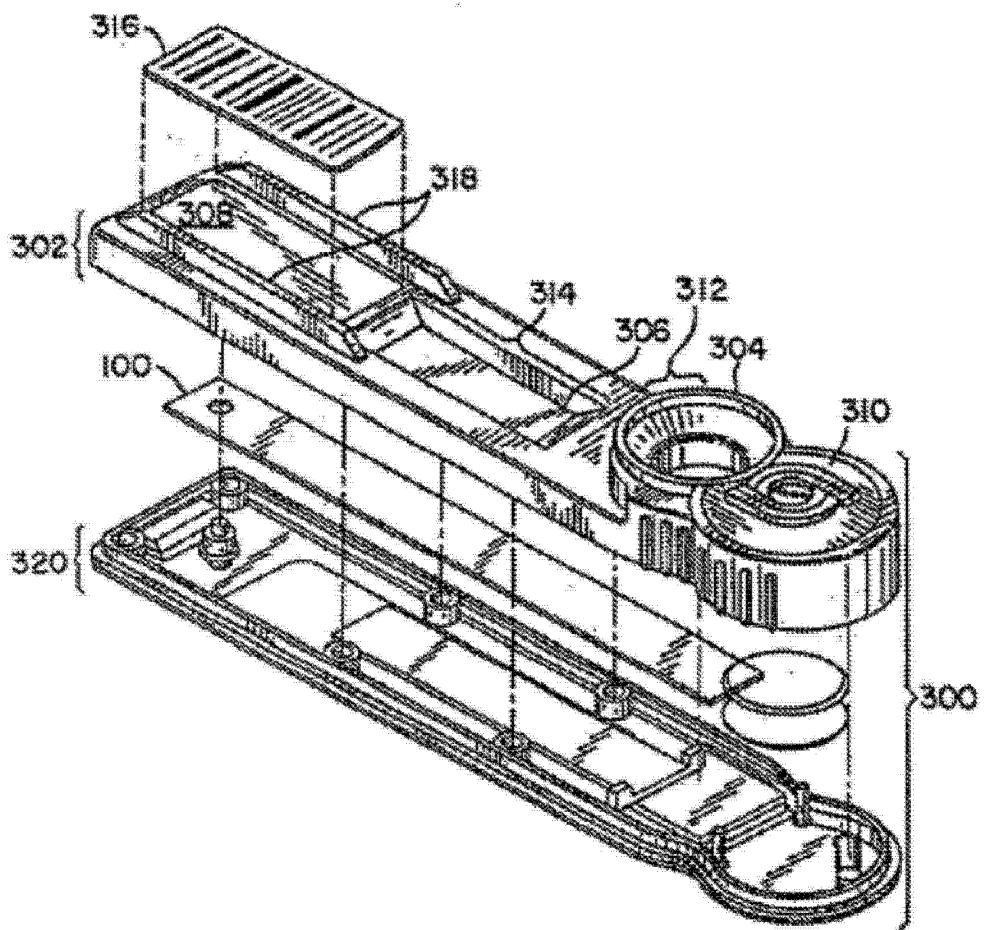


图 3(现有技术)

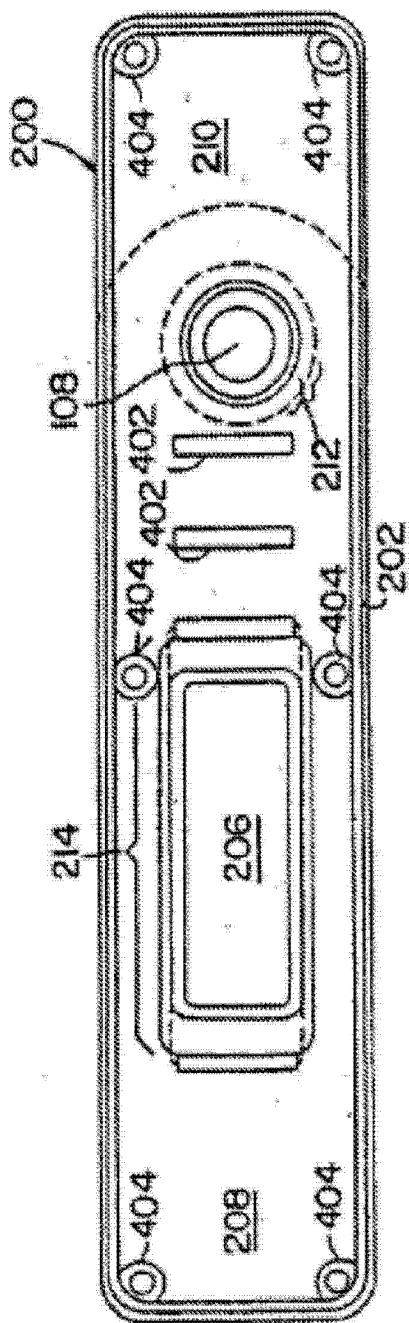


图4

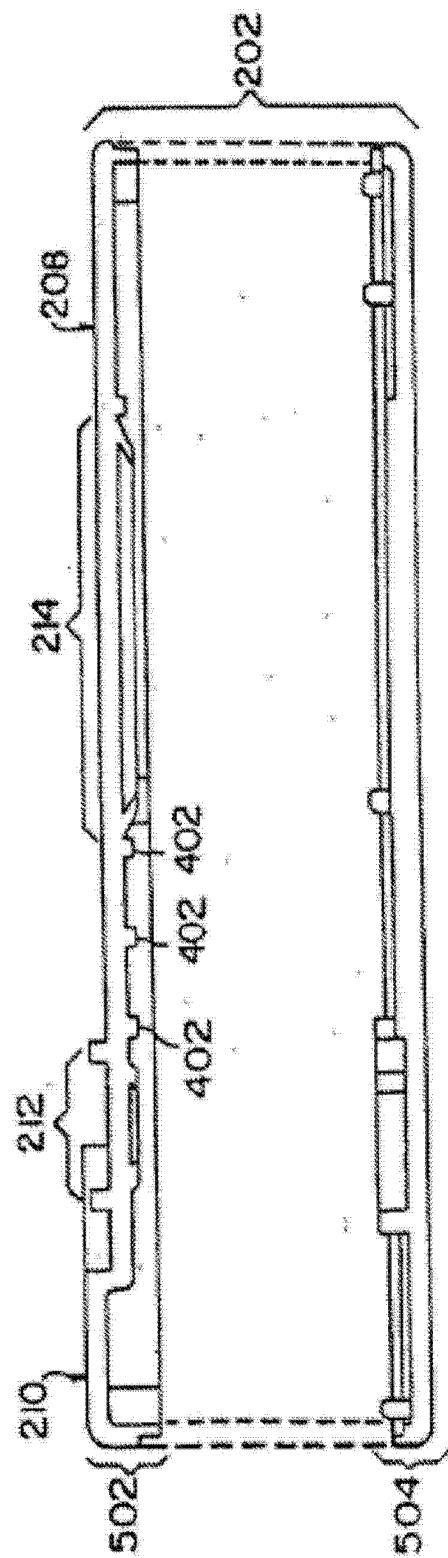


图5

(现有技术)

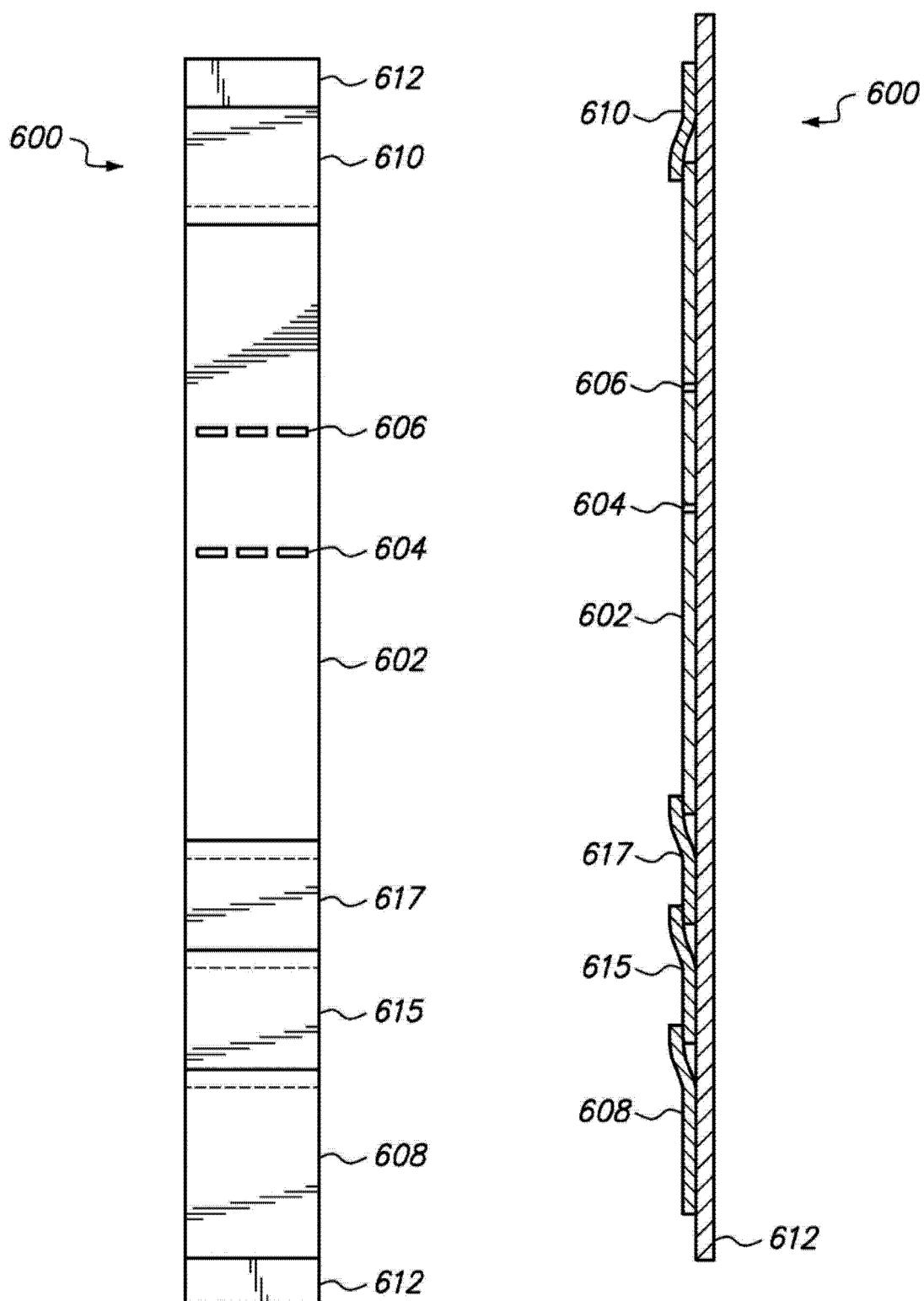


图 6B

图 6A

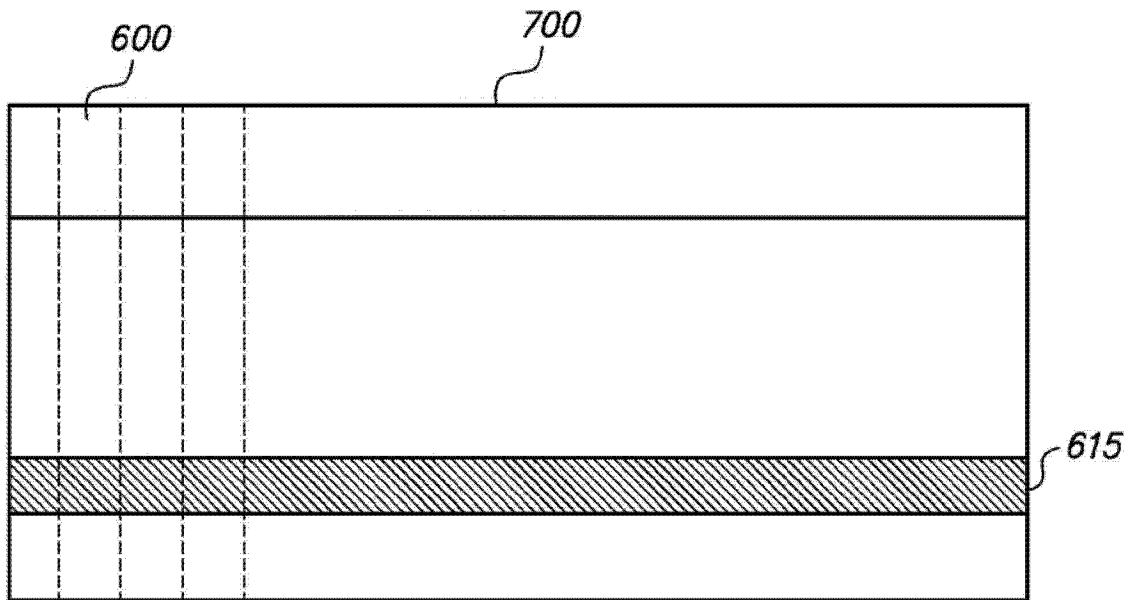


图 7

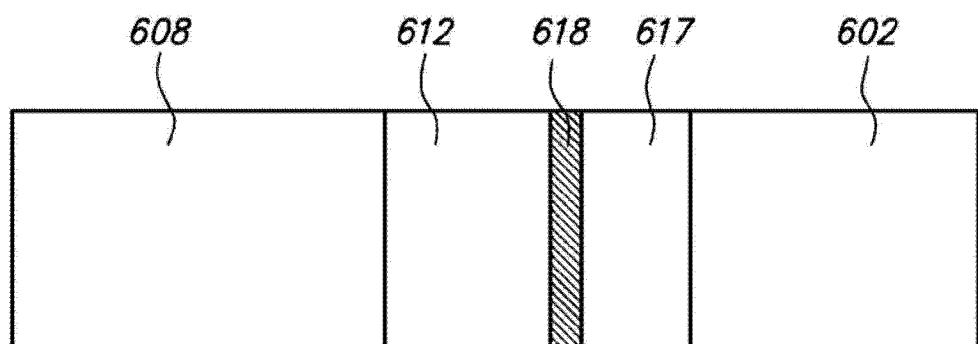


图 8