

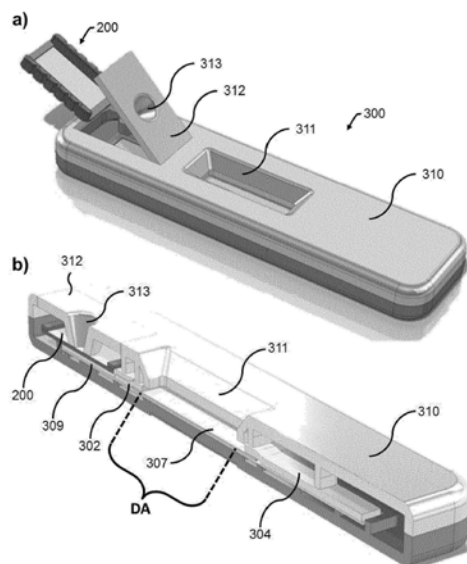


(45) 授权公告日 2022.03.22

审查员 李现荣

权利要求书3页 说明书15页 附图8页

本发明提供了一种诊断套件、用于侧流测定装置的插入物、以及检测方法。用于检测一种或多种测试分析物在从哺乳动物的体表获取的测试样本中的存在或者量的诊断套件包括：用于侧流装置(200、411)的独立插入物，该独立插入物包括固定至刚性支撑物(202)的隔膜(201)，并且该独立插入物被配置成获取测试样本；侧流测定装置(300、400)，该侧流测定装置被配置成接收独立插入物(200、411)；固定元件(210)，该固定元件被配置成将独立插入物可解除地附装(211)至哺乳动物(213)的体表；其中固定元件(210)包括能膨胀层(212)，该能膨胀层被配置成向独立插入物(200、411)施加压力从而将该独立插入物(200、411)压紧抵靠在哺乳动物(213)的体表面上。



1. 一种诊断套件, 所述诊断套件用于检测在从哺乳动物的皮肤表面获取的测试样本中一种或多种测试分析物的存在或量, 所述诊断套件包括:

a) 用于侧流测定装置的独立插入物, 所述独立插入物包括隔膜 (201), 所述隔膜具有厚度、宽度和长度, 所述隔膜固定至刚性支撑框架 (202), 并且所述独立插入物配置成获取所述测试样本,

b) 侧流测定装置, 所述侧流测定装置配置成接收所述独立插入物 (200、411),

c) 固定元件 (210), 所述固定元件配置成将所述独立插入物能解除地附装 (211) 至哺乳动物 (213) 的皮肤表面, 其中, 所述固定元件 (210) 包括能膨胀层 (212), 所述能膨胀层被配置成向所述独立插入物 (200、411) 施加压力, 从而将所述独立插入物 (200、411) 压紧抵靠所述哺乳动物 (213) 的所述皮肤表面, 并且其中, 所述能膨胀层不与所述独立插入物 (200、411) 流体连通。

2. 根据权利要求1所述的诊断套件, 其中, 所述侧流测定装置构造成在所述侧流测定装置与所述独立插入物配合时形成毛细管床, 其中, 与所述独立插入物配合的所述侧流测定装置包括洗脱区和检测区域 (DA) 以及下列中的一个或多个: 结合垫 (102、502) 和渗吸垫 (104、504)。

3. 根据权利要求1至2中任一项所述的诊断套件, 其中, 所述隔膜的厚度等于或小于4mm, 并且所述隔膜的宽度和长度均大于所述厚度, 其中, 所述侧流测定装置被配置成具有大体上在由所述隔膜的所述宽度和所述长度形成的平面的方向上的侧流方向 (L)。

4. 根据权利要求2所述的诊断套件, 所述侧流测定装置包括洗脱区和检测区域 (DA), 并且其中, 所述独立插入物是所述洗脱区而不是所述检测区域 (DA)。

5. 根据权利要求2所述的诊断套件, 所述侧流测定装置包括洗脱区和检测区域 (DA), 并且其中, 所述独立插入物是所述检测区域 (DA) 而不是所述洗脱区。

6. 根据权利要求1所述的诊断套件, 其中, 所述刚性支撑框架 (202) 覆盖所述隔膜 (201) 的周缘。

7. 根据权利要求1所述的诊断套件, 其中, 所述固定元件的所述能膨胀层包含压缩的纤维素。

8. 根据权利要求4所述的诊断套件, 其中, 所述检测区域 (DA) 包括检测区 (105、505) 和选择性地指示区 (106、506), 所述检测区包含用于选择性地保持一种或多种测试分析物的一种或多种亲和分子, 所述指示区包含用于选择性地保持一种或多种指示剂亲和分子的一种或多种亲和分子。

9. 根据权利要求1所述的诊断套件, 其中, 所述一种或多种测试分析物选自包括下列物质的清单: 趋化因子、白细胞介素、生长因子、激素、酶和存在于哺乳动物的皮肤上的其他分子。

10. 根据权利要求1所述的诊断套件, 其中, 所述一种或多种测试分析物选自包括下列物质的清单: IL-1a、IL-1b、IL-1RA、IL-8、CCL-2、CCL-5、CCL-27、CXCL-1、CXCL-2、CXCL-9、Trappin2/Elafin、hBD-1、hBD-2、VEGF和TSLP。

11. 一种用于侧流测定装置的插入物, 所述插入物包括固定至刚性支撑框架 (202) 的隔膜 (201), 独立的所述插入物被配置成从哺乳动物 (213) 的皮肤表面中获取测试样本, 其中, 所述隔膜是从背对所述皮肤表面的附装所述隔膜的一侧能渗透水的, 并且其中所述插入物

包括固定元件(210),所述固定元件配置成将所述插入物能解除地附装(211)至哺乳动物(213)的皮肤表面,其中,所述固定元件(210)包括能膨胀层(212),所述能膨胀层被配置成向独立的所述插入物(200、411)施加压力,从而将独立的所述插入物(200、411)压紧抵靠所述哺乳动物(213)的所述皮肤表面,并且其中,所述能膨胀层不与独立的所述插入物(200、411)流体连通。

12.根据权利要求11所述的插入物,其中,所述隔膜的厚度等于或小于4mm,并且所述隔膜的宽度和长度均大于所述厚度。

13.根据权利要求11所述的插入物,其中,所述刚性支撑框架覆盖所述隔膜的周缘。

14.根据权利要求11所述的插入物,所述插入物还包括固定元件(210),所述固定元件被配置成将所述插入物能解除地附装(211)至所述哺乳动物(213)的皮肤表面。

15.根据权利要求11所述的插入物,其中,所述插入物是所述侧流测定装置的包括检测区(105、505)的检测区域(DA),所述检测区包含用于选择性地保持一种或多种测试分析物的一种或多种亲和分子。

16.根据权利要求11所述的插入物,其中,所述一种或多种测试分析物选自包括下列物质的清单:趋化因子、白细胞介素、生长因子、激素、酶和存在于哺乳动物的皮肤上的其他分子。

17.根据权利要求11所述的插入物,其中,所述一种或多种测试分析物选自包括下列物质的清单:IL-1a、IL-1b、IL-1RA、IL-8、CCL-2、CCL-5、CCL-27、CXCL-1、CXCL-2、CXCL-9、Trappin2/Elafin、hBD-1、hBD-2、VEGF和TSLP。

18.用于检测一种或多种测试分析物的存在或者量的方法,所述方法包括下列步骤:

a)将用于侧流测定装置的独立插入物能解除地附装至哺乳动物的皮肤表面,所述独立插入物包括固定至刚性支撑框架(202)的隔膜(201),并且所述独立插入物被配置成获取测试样本;其中,所述独立插入物(200、411)通过固定元件(210)能解除地附装至所述皮肤表面,所述固定元件被配置成将所述独立插入物能解除地附装(211)至所述哺乳动物(213)的皮肤表面,并且其中,所述固定元件包括能膨胀层(212),所述能膨胀层在步骤a)和b)之间被激活,从而产生将所述独立插入物压紧抵靠所述皮肤表面的力,其中所述能膨胀层不与所述独立插入物(200、411)流体连通;

b)将所述独立插入物保持在所述哺乳动物(213)的所述皮肤表面上至少5分钟;

c)将包含所述测试样本的所述独立插入物固定在适于接收所述独立插入物的侧流测定装置中;

d)使所述侧流测定装置显色。

19.根据权利要求18所述的方法,其中,所述侧流测定装置包括洗脱区和检测区域(DA),并且其中所述独立插入物是所述洗脱区。

20.根据权利要求18所述的方法,其中,所述侧流测定装置包括洗脱区和检测区域(DA),并且其中,所述独立插入物是所述检测区域(DA)。

21.根据权利要求18所述的方法,其中,所述哺乳动物的所述皮肤表面是人类的皮肤。

22.根据权利要求18所述的方法,其中,所述侧流测定装置构造成在所述侧流测定装置与所述独立插入物配合时形成毛细管床,其中,与所述独立插入物配合的所述侧流测定装置包括洗脱区(101、501)和检测区域(DA)以及下列中的一个或多个:结合垫(102、502)和渗

吸垫(104、504)。

23.根据权利要求18所述的方法,其中,所述隔膜的厚度等于或小于4mm的厚度,并且所述隔膜的宽度和长度均大于所述厚度,其中,所述侧流测定装置被配置成具有大体上在由所述隔膜的所述宽度和所述长度形成的平面的方向上的侧流方向(L)。

## 诊断套件、用于侧流测定装置的插入物及检测方法

[0001] 本申请是申请日为2014年5月12日、申请号为201480039974.9、名称为“侧流测定装置”的中国发明专利申请(该申请对应的PCT国际申请的申请号是PCT/EP2014/059676)的分案申请。

### 技术领域

[0002] 本发明涉及基于用来检测一种或多种测试分析物在从哺乳动物的体表获得的测试样本内的存在或者数量的侧流测定装置(lateral flow assay device,侧向层析检测装置)的诊断套件和方法;以及涉及用于侧流测定装置的插入物。

### 背景技术

[0003] 基因组学(genomics)、转录组学(transcriptomics)、蛋白质组学(proteomics)和调节组学(regulomics)的快速发展已经使得大规模分析分子和细胞机制成为可能。这些研究的重要结果之一是使功能基因组学和对来自于不同个体的细胞在基因组结构、基因和蛋白质表达谱、以及控制特定细胞功能的调控机制方面的理解得到发展。这已经引起在检测和/或定量生物标记物以通过一种或者多种生物标记物的存在、缺失和/或浓度来评估哺乳动物的当前状态方面的兴趣。

[0004] 也存在对于在个人层面上(比如在个性化医疗和个性化皮肤护理的领域中)评估治疗的效果如何的需求。

[0005] 关于个性化医疗,存在对于点护理(point-of-care)装置的需求,该点护理装置在下述方面是有用的:在疾病(比如皮肤疾病)的诊断或者预测方面、或者在预测疾病(比如个体中的皮肤疾病)的易感性、发作或者可能的严重程度方面;或者在预测个体对治疗的响应性方面;或者在特定疾病(比如皮肤疾病)的治疗之后预测和/或监测复发方面。

[0006] 关于个性化皮肤护理,化妆品所宣称的防皱效果和防老化效果通常基于这些产品在所有个体上具有类似的效果的假设。但是,实际情况不是这样。不同的人 and 不同的皮肤类型对化妆品起不同的反应,因此需要可以确定个体对特定类型的护肤品的效果或者响应性的点护理装置。

[0007] 一种已经被用于点护理诊断测试(比如家庭妊娠测试)的快速测定方法是侧流测定方法。

[0008] 侧流测定方法面临的挑战之一是为测试提供样本、特别是提供形成在皮肤上的样本、以及特别是以可重复的和/或一致的方式提供形成在皮肤上样本。

[0009] 在家庭妊娠测试的情况下,大部分情况下样本是尿。

[0010] 阿贝尔(Aberl)等人的美国专利申请2005/0175992描述了一种用于人体体液中的目标的快速诊断方法。特别是采用一种侧流测定方法,其中使用拭子元件从眼液中非侵入地采集样本。

[0011] US 2005/0175992中拭子元件并不是特别良好地适合于从皮肤上获得分析物,特别是当期望以可重复的和/或一致的方式提供样本时,或者当存在使从皮肤上的不同位置

获得的对照样本与样本内的一种或者多种测试分析物的水平进行比较的需求时。

[0012] 因此,在本领域中存在对于用来从皮肤上获得和分析分析物的套件和方法、特别是允许快速检测的点护理装置的需求。本领域中也存在对于与现有技术相比能以可重复的和/或一致的方式提供样本的点护理装置的采样方法的需求。

## 发明内容

[0013] 本发明考虑到上文中描述的现有技术而做出,并且本发明的目的是提供与现有技术相比特别适合于从例如人体皮肤表面中以可重复的和/或一致的方式获取分析物的点护理装置,或者至少提供具有从皮肤上获得分析物的可替换方法的点护理装置。

[0014] 为了解决该问题,本发明提供了一种用于检测一种或多种测试分析物在从哺乳动物的体表(比如哺乳动物的皮肤表面)获取的测试样本中的存在或者量的诊断套件,该诊断套件包括:用于侧流装置的独立插入物,该独立插入物包括选择性地固定至刚性支撑物上的隔膜,该独立插入物被配置成获取测试样本;侧流测定装置,该侧流测定装置被配置成接收该独立插入物;以及固定元件,该固定元件被配置成将独立插入物可解除地附装至哺乳动物的体表上。在一些实施方式中,隔膜具有厚度、宽度和长度。在本发明的一些实施方式中,侧流装置构造成在所述侧流装置与独立插入物配合时形成毛细管床,其中与独立插入物配合的侧流装置包括洗脱区和检测区域以及下列中的一个或多个:结合垫和渗吸垫。

[0015] 在本发明的一些实施方式中,隔膜的厚度等于或者小于4mm,并且隔膜的宽度和长度均大于该厚度,其中侧流装置被配置成具有大体上在由隔膜的宽度和长度形成的平面的方向上的侧流方向。

[0016] 在本发明的一些实施方式中,固定元件包括能膨胀层,该能膨胀层被配置成向独立插入物施加压力从而将该独立插入物压紧抵靠在哺乳动物的体表上。

[0017] 也就是说,本发明的发明人在本发明的第一方面中发现将传统的侧流测定装置分成配置为从例如人类皮肤表面获取测试样本的独立插入物和配置为接收该独立插入物的侧流测定装置在从哺乳动物的体表(比如人类的皮肤表面)上获取样本方面是有帮助的,特别是在与将该独立插入物可解除地固定至例如皮肤的表面上的固定元件组合时。

[0018] 在优选的实施方式中,固定元件可以通过能膨胀层(该能膨胀层将独立插入物更稳固地压紧到皮肤上)的作用而向独立插入物施加额外的压力。虽然上文中描述的现有技术(US 2005/0175992)建议擦拭元件的旋转运动对于获取样本而言是足够的,但是本发明人已经认识到获取样本的替换方案、并且在许多情况下是用于从皮肤上获取样本的更优的采样方法是通过将独立插入物可解除地固定到皮肤上并且从能膨胀层中施加额外的压力。

[0019] 在本发明的一些实施方式中,侧流测定装置包括洗脱区和检测区域,并且其中该独立插入物是洗脱区。也就是说,该独立插入物适应于安装到洗脱区或者样本区域中。因此,该独立插入物不是检测区域。

[0020] 在本发明的一些实施方式中,侧流测定装置包括洗脱区和检测区域,并且其中独立插入物是检测区域。也就是说,独立插入物适应于安装到检测区域中,其可以包括具有固定的一种或多种亲和分子的检测区。因此,独立插入物不是洗脱区或者样本区域。这是一种提供侧流测定的变型方法,因为一旦独立插入物被放入侧流测定装置中,该一种或多种测试分析物就将与固定的亲和分子相结合。

[0021] 在本发明的一些实施方式中,独立插入物包括固定至刚性支撑框架的隔膜。

[0022] 在本发明的一些实施方式中,刚性支撑框架覆盖隔膜的周缘。

[0023] 在本发明的一些实施方式中,固定元件的能膨胀层包含压缩的纤维素,并且其中能膨胀层不与独立插入物流体连通。

[0024] 在本发明的一些实施方式中,检测区域包括检测区和选择性地指示区,检测区包含用于选择性地保持一种或多种测试分析物的一种或多种亲和分子,指示区包含用于选择性地保持一种或多种指示剂亲和分子的一种或多种亲和分子。

[0025] 在本发明的一些实施方式中,其中一种或多种测试分析物选自包括下列物质的清单:趋化因子、白细胞介素、生长因子、激素、酶和存在于哺乳动物的皮肤上的其他分子,比如被从包括下列物质的清单中选择:IL-1a、IL-1b、IL-1RA、IL-8、CCL-2、CCL-5、CCL-27、CXCL-1、CXCL-2、CXCL-9、Trappin2/Elafin、hBD-1、hBD-2、VEGF和TSLP。

[0026] 在本发明的另一个方面中,提供了一种用于侧流测定装置的插入物,该插入物包括固定至刚性支撑框架上的隔膜,独立插入物被配置成从哺乳动物的体表获取测试样本。

[0027] 在本发明的一些实施方式中,隔膜的厚度等于或者小于4mm,并且隔膜的宽度和长度均大于该厚度。

[0028] 在本发明的一些实施方式中,刚性支撑框架覆盖隔膜的周缘。

[0029] 在本发明的一些实施方式中,插入物还包括固定元件,该固定元件被配置成将插入物可解除地附装到哺乳动物的体表上。

[0030] 在本发明的一些实施方式中,插入物是侧流测定装置的包括检测区检测区域,该检测区包含用于选择性地保持一种或多种测试分析物的一种或多种亲和分子。

[0031] 在本发明的一些实施方式中,隔膜可从背对皮肤表面的附装隔膜的一侧(即,相反的侧)可渗透水的。

[0032] 在本发明的一些实施方式中,其中一种或多种测试分析物选自包括下列物质的清单:趋化因子、白细胞介素、生长因子、激素、酶和存在于哺乳动物的皮肤上的其他分子,比如选自包括下列物质的清单:IL-1a、IL-1b、IL-1RA、IL-8、CCL-2、CCL-5、CCL-27、CXCL-1、CXCL-2、CXCL-9、Trappin2/Elafin、hBD-1、hBD-2、VEGF和TSLP。

[0033] 在本发明的另一个方面中,提供了一种检测一种或多种测试分析物的存在或者量的方法,该方法包括下列步骤:

[0034] 将用于侧流装置的独立插入物可解除地附装至哺乳动物的体表,该独立插入物包括固定至刚性支撑物的隔膜,并且该独立插入物被配置成获取测试样本;

[0035] 将独立插入物保持在哺乳动物的体表上至少5分钟;

[0036] 将包含测试样本的独立插入物固定在适于接收该独立插入物的侧流测定装置中;

[0037] 使该侧流测定装置显色。

[0038] 在本发明的一些实施方式中,独立插入物通过固定元件可解除地附装到体表,该固定元件被配置成将独立插入物可解除地附装至哺乳动物的体表,并且其中固定元件包括能膨胀层,该能膨胀层在步骤a)和b)之间被激活从而产生使独立插入物压紧抵靠体表的力。

[0039] 在本发明的一些实施方式中,侧流测定装置包括洗脱区和检测区域,并且其中独立插入物是洗脱区。

[0040] 在本发明的一些实施方式中,侧流测定装置包括洗脱区和检测区域,并且其中独立插入物是检测区域。

[0041] 在本发明的一些实施方式中,哺乳动物的体表是人类的皮肤。

[0042] 在本发明的一些实施方式中,侧流测定装置构造成在该侧流测定装置与独立插入物配合时形成毛细管床,其中与独立插入物配合的侧流装置包括洗脱区和检测区域以及下列中的一个或多个:结合垫和渗吸垫。

[0043] 在本发明的一些实施方式中,薄膜的厚度等于或者小于4mm,并且薄膜的宽度和长度大于厚度,其中侧流装置被配置成具有大体上在由薄膜的宽度和长度形成的平面的方向上的侧流方向。

## 附图说明

[0044] 下文将参考附图更详细的说明多个示例性的实施方式,附图中:

[0045] 图1示出了本发明的侧流测定带100的不同的实施方式的立体图。在图1a中,侧流带100示出为具有样本垫101、结合垫102、检测区105和指示区106(这两个区都固定多孔支撑物107上)、渗吸垫104和背衬材料108。“L”示出了侧流的方向并且区域“DA”限定检测区域。图1b示出了侧流带,其中样本垫101与剩余的侧流带分开。图1c示出了图1a的一个可替换的实施方式,其中样本垫101、结合垫102、多孔支撑物107上的检测区105和指示区106、以及渗吸垫104是相邻的或重叠的,并且被置于背衬材料108上。图1d示出了图1c的侧流带,其中样本垫101与剩余的侧流带分开。

[0046] 图2示出了在本发明的一个实施方式中独立插入物200、固定元件210以及固定元件将独立插入物保持在哺乳动物的皮肤上的不同的视图。在图2a中,示出了用于侧流测定装置的独立插入物200,在该独立插入物200中,隔膜201固定到刚性支撑物202上。图2b示出了同一独立插入物200的一个实施方式,其中示出了与哺乳动物的体表接触的隔膜201的底部。图2c示出了配置成可解除地附装211到哺乳动物的体表的固定元件210,该固定元件具有能膨胀层212。图2d示出了独立插入物通过固定元件210可解除地附装到哺乳动物213的体表上并且能膨胀层212的顶部一侧被的实施方式。

[0047] 图3示出了根据本发明的一个实施方式。在图3a中,具有壳体310的侧流测定装置300示出为具有独立插入物200和样本垫盖体312以及反应窗311,样本垫盖体处于示出了允许添加用于侧流装置显色的液体的样本口313,反应窗允许视觉检测检测区和指示区中的反应。图3b示出了本发明的一个实施方式的截面图,其中侧流测定壳体310容纳处于适当位置的独立插入物200,其中,在样本垫101的位置中,示出了样本口313的样本垫盖体312处于闭合位置。独立插入物与多孔支撑物309流体连通,该多孔支撑物又与结合垫302流体连通,结合垫则又与多孔隔膜307和渗吸垫304流体连通,多孔隔膜具有固定的检测区和指示区(105、106,未示出)。最后,反应窗311允许检测区域“DA”的视觉检查。

[0048] 图4示出了根据本发明的一个实施方式。在图4a中,具有壳体410的侧流测定装置400示出为具有独立插入物411和允许添加用于侧流装置显色的液体的样本口413。图4b示出了根据本发明的一个实施方式的侧流测定装置400的截面图,其中侧流测定壳体410容纳独立插入物411,该独立插入物在检测区域“DA”的位置处插入。样本垫401、样本口413和渗吸垫404被示出,并且一旦独立插入物411被完全插入,就将使样本垫与渗吸垫404通过独立

插入物411流体连通。图4c示出了独立插入物被完全插入的侧流测定装置400。检测区405和指示区406被示出。图4d示出了根据本发明的一个实施方式的侧流测定装置400的截面图，其中独立插入物411被完全插入，并且样本垫401、具有检测区405和指示区406的独立插入物411与渗吸垫404流体连通。

[0049] 图5示出了本发明的侧流测定带500的不同实施方式的立体图。在图5a中，侧流带500示出为具有样本垫501、结合垫502、检测区505和指示区506(两个区域都固定多孔支撑物507上)、渗吸垫504和可选的背衬材料508。“L”示出了侧流的方向并且区域“DA”限定了检测区域。图5b示出了侧流带，其中固定多孔支撑物507上的检测区505和指示区506与其余的侧流带分开。

[0050] 图6示出了根据实例1的侧流测定装置的灵敏度，在图6a中，分析了直接添加到样本垫上的不同浓度的分析物。对照线(左侧)和分析物(右侧)示出了IL-8检测的视觉检测的水平为大约1ng/ml以及hBD-1的视觉检测的水平为大约0.25ng/ml。图6b示出了使用放置于皮肤上的样本垫，IL-8和hBD-1可以从皮肤表面中检测到。

[0051] 图7示出了根据实例2的侧流测定装置的灵敏度，在图7a中，分析了直接添加到检测区域DA上的不同浓度的分析物。对照线(右侧)和分析物(左侧)显示IL-8检测的视觉检测的水平为大约1ng/ml并且hBD-1的视觉检测的水平为大约0.25ng/ml。图7b示出了使用检测区域DA作为“采样区域”，分析物hBD-1和IL-8可以从皮肤表面检测到。

[0052] 本领域普通技术人员将认识到的是，鉴于本文的益处，图1-5中显示的特定特征并不必然是按比例绘制的。图中的一些特征的尺寸和特性可能已经相对于图中的其他特征放大、变形或者改变以促进本文中披露的示例性实例更好的理解。

[0053] 本领域普通技术人员还将认识到的是，图中的个体特征可以互换以获得另外的实施方式。

## 具体实施方式

[0054] 在描述本发明的实施方式的过程中，为了清楚将使用特定术语。然而，本发明并不旨在限制为如此选择的特定词语上，并且理解的是每个特定词语包括以类似的方式工作以实现类似的目的的所有技术等同物。

[0055] 侧流测定可以被用在点护理装置中以检测一种或者多种测试分析物在测试样本内的存在或者不存在。能以视觉的方式完成读数，即通过一条或者多条有色的测试线(也被称为测试带)在检测区105中的存在或者不存在完成，并且可以通过一条或者多条有色的指示线/带在指示区106中的存在和/或不存在而完成测试的确认/验证。测试可以是定性的(存在或者不存在)和定量的，并且读取设备可以辅助检测/定量，或者可以仅由侧流测定的用户的眼睛进行的视觉检测。

[0056] 如果期望的话，在一些实施方式中可以使用读取设备(比如光学读取器)来测量探针的强度。光学读取器的实际配置和结构通常可根据待测量的探针而变化。例如，可使用的光学检测技术包括但不限于发光(luminescence)(例如，荧光(fluorescence)、磷光(phosphorescence)等等)、吸光(absorbance)(例如，荧光或者非荧光)、衍射等等。可以根据本发明来实现分析物的存在或者浓度的定性、定量或者半定量的确定。例如，可以通过使用由粘合在检测区105和指示区106处的检测探针产生的信号的强度而定量地或者半定量

地确定分析物的量。

[0057] 侧流测定可以基于毛细管床(比如多孔纸或者热压结聚合物(sintered polymer)),或者在大部分情况下侧流测定可以基于一系列彼此流体连通的毛细管床。毛细管床具有通过毛细力的作用而传输流体的能力。在本发明的一些实施方式中,侧流测定装置构造成以便形成毛细管床。

[0058] 第一元件,样本垫101用作海绵并保持测试样本。一旦样本垫被浸透,包含一种或者多种测试分析物的测试样本就将移动到结合垫102,该结合垫包含一种或者多种指示剂亲和分子,比如标记有检测探针(设计成结合到测试样本内的一种或者多种测试分析物上)的亲和分子。测试样本与一种或者多种亲和分子混合,并且当进一步移动到检测区域DA(该检测区域可以包含检测区105并且可以包含指示区106,这两个区都具有一个或者多个带,另一组一种或者多种亲和分子已经固定在该一个或者多个带中)上时,具有针对测试样本内的一种或者多种测试分析物的亲和力的一种或者多种亲和分子将结合到彼此上。到与来自于结合垫的亲和分子混合的测试样本到达检测区域DA的时候,测试样本中的一种或者多种分析物将已经结合到来自于结合垫的亲和分子上。这种复合物则将与检测区105中的带上的亲和分子结合。经过一段时间,当越来越多的流体经过检测区时,检测探针累积,并且该带改变颜色。检测探针例如可以是结合到亲和分子上以制备标记有检测探针的亲和分子的金粒子或者乳胶粒子。检测区域DA也可以包括指示区106,该指示区可以用作对照以验证侧流测定已经正确地进行。这种指示区106还可以包括具有被固定了的亲和分子的一个或者多个带,该亲和分子只会与来自于结合垫的标记有检测探针的亲和分子结合,而检测区105中的亲和分子结合到分析物与指示剂亲和分子(比如来自于结合垫的标记有检测探针的亲和分子)之间的复合物上。在经过了检测区域DA之后,流体进入渗吸垫104,该渗吸垫通常接收已经移动穿过整个毛细管床(101、102、DA、104—也被用107表示)的流体。渗吸垫可以参与促进毛细作用并且流体从样本垫101、结合垫102穿过检测区域DA流动。

[0059] 侧流测定带可选地包括背衬层108和/或壳体310、410,背衬层和/或壳体是不能渗透流体的以使得流过侧流测定带的流体不会通过背衬层108而泄漏。用于支撑的适合的材料的实例包括但不限于玻璃;聚合材料:比如聚苯乙烯、聚丙烯、聚酯、聚丁二烯(polybutadiene)、聚氯乙烯(polyvinylchloride)、聚酰胺、聚碳酸酯、环氧衍生物(epoxides)、甲基丙烯酸酯(methacrylates)和聚三聚氰胺(polymelamine)。

[0060] 检测区105可以位于指示区106的上游或者下游。在检测区或者指示区中的线或者带可以设置在与测试样本的流动大体上垂直的方向上。在一些实施方式中,该线可以在大体上平行于测试样本的流动的方向上。在检测区105或者指示区106中的线或者带不必须是线或者带,而是也可以是其他形状,比如,例如点或者图案。

[0061] 在本发明的一个方面中,提供了一种用于检测从哺乳动物的体表获得的测试样本内一种或者多种测试分析物的存在或者量的诊断套件,该诊断套件包括:用于侧流装置的独立插入物200、411,该独立插入物包括可固定到刚性支撑物202的隔膜201,该独立插入物配置成获得测试样本;侧流测定装置300、400,该侧流测定装置被配置成接收该独立插入物200、411;以及固定元件210,该固定元件被配置成将独立插入物可解除地附装到哺乳动物213的体表上。

[0062] 一般地,本发明涉及一种诊断套件,该诊断套件提供了用于在一种或者多种测试

分析物的宽的可能浓度范围内检测该一种或者多种测试分析物在测试样本内的存在或者不存在的集成系统。在一些实施方式中,该一种或者多种测试分析物的量也能在定量测定中检测出。该诊断套件使用侧流测定装置300、400和独立插入物200、411和用于检测测试样本内的该一种或者多种测试分析物的一种或者多种测定试剂。该测定试剂包括标记有检测探针的亲分子,其中该检测探针能够产生表示该一种或者多种测试分析物在测试样本中的存在或者量的检测信号。对测试分析物中的一种或者多种进行定量的一种方法是通过使用已知浓度的该一种或者多种测试分析物来制备适合的标准曲线。

[0063] 在本发明的一些实施方式中,一种或者多种测试分析物选自包括下列物质的清单:趋化因子、白细胞介素、生长因子、激素、酶和存在于哺乳动物的体表(比如哺乳动物的皮肤)上的其他分子。具体的测试分析物可以包括选自包括下列物质的清单中的一种或多种:IL-1a、IL-1b、IL-1RA、IL-8、CCL-2、CCL-5、CCL-27、CXCL-1、CXCL-2、CXCL-9、Trappin2/Elafin、hBD-1、hBD-2、VEGF和TSLP。

[0064] 本发明适合于任何存在于哺乳动物的皮肤上的分子的检测,其可以是趋化因子、白细胞介素、生长因子、激素或者酶。同样地,本发明也适合于药物及其代谢物的检测,只要它们被在哺乳动物的皮肤上分泌。这种药物的检测覆盖为了医疗和/或化妆目的而服用的药物和为了消遣目的而服用的药物。

[0065] 使用侧流装置的独立插入物从哺乳动物的体表获得测试样本。该独立插入物包括可固定到刚性支撑物202上的隔膜201。

[0066] 刚性支撑物202可用于使隔膜201稳固,以使得隔膜不会弯曲或者折叠,并且可通过允许刚性支撑物配合或者扣合在侧流测定装置300中的适当位置(例如螺接在适当位置)而使独立插入物的操作更加容易。在一些实施方式中,刚性支撑物覆盖隔膜的周缘,如图2中描述的一样。

[0067] 隔膜被配置成获取测试样本,这意味着隔膜应当能够吸收测试样本,并且任何能够这样做的材料都可以是适合的。被用于隔膜的材料可以包括但不限于天然材料、合成材料或者被合成改性的天然存在的材料,比如多糖(例如,纤维素材料(比如纸)和纤维素衍生物(比如醋酸纤维素和硝化纤维素))、聚醚砜、聚乙烯、尼龙、聚偏氟乙烯(PVDF)、聚酯、聚丙烯、棉织物或者布。在一些实施方式中,隔膜是非粘性的,其将使转移到隔膜上的皮肤细胞的数量最小化。被用于刚性支撑物的材料可以包括但不限于塑料材料、复合材料、金属或者金属合金。

[0068] 隔膜可以是薄板状的。隔膜可以具有等于或者小于4mm(比如小于4、3、2、1mm)的厚度,以及两者都大于厚度的宽度和长度。在一些实施方式中,隔膜的宽度和长度都大于厚度(例如,比厚度大3、4、5、6、7、8、9、10、50倍,或者比厚度大高达4、5、6、7、8、9、10、50倍)。在一些实施方式中,隔膜是方形的,比如是矩形的,并且在一些实施方式中,隔膜是圆形的。如果隔膜是不规则的形状,即与方形或者矩形不同的形状,则宽度、长度和厚度是指这种不规则形状的最大值。例如,圆的宽度将是直径。宽度和长度的实例可以是4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40mm,例如在5-30mm的宽度和长度的范围内。

[0069] 从哺乳动物的体表获取测试样本,并且测试样本包含一种或者多种测试分析物。该测试样本通过样本从哺乳动物的体表扩散到隔膜而获得。在隔膜附装在体表上的采样位

置处时或者在隔膜附装到体表上的采样位置上之前,可以通过用固定体积的流体来浸湿隔膜而辅助采样。

[0070] 在一些实施方式中,隔膜是水可从背向皮肤表面(隔膜配置成所附装于其上的皮肤表面)的一侧渗透的。这可以允许在附装隔膜时隔膜被固定体积的液体浸湿,并且这可以允许例如在隔膜用作洗脱区(elution zone)的一部分时用于添加侧流装置的显色的液体,如图3中所示,即,允许隔膜从背向皮肤表面(隔膜配置成所附装于其上的皮肤表面)的一侧上浸湿。

[0071] 在优选的实施方式中,体表是皮肤,比如人体的皮肤,并且在优选的实施方式中,哺乳动物是人。

[0072] 在测试样本被转移到隔膜上之后,独立插入物则被插入侧流测定装置300、400中,侧流测定装置构造成接收该独立插入物200、411。

[0073] 在本发明的一些实施方式中,侧流装置构造成当与独立插入物配合时形成毛细管床,其中与独立插入物配合的侧流装置100、500包括洗脱区101、501和检测区域DA以及下列中的一个或者多个:结合垫102、502和渗吸垫104、504。

[0074] 在本发明的一些实施方式中,侧流装置配置成具有大体上在由隔膜的宽度和长度形成的平面的方向上的侧流方向L。大体上在平面的方向上既包含相邻也包含重叠,比如隔膜与侧流装置的其他元件的部分重叠,例如见图1,其中侧流装置的元件101、102、107、104被描述为是相邻的。例如见图3b,其中独立插入物200与多孔支撑物309、结合垫302、多孔隔膜307和渗吸垫304部分地重叠。如果多孔支撑物309与独立插入物200完全重叠的话,从样本垫到检测区域DA的侧流方向L将仍然大体上处于由隔膜的宽度和长度形成的平面的方向上,与垂直于那个平面相反。

[0075] 存在用于使独立插入物与侧流装置配合的许多可能性,并且在优选的实施方式中,插入物的隔膜部分制备成使得隔膜部分将安装在侧流测定装置的相同位置处从而提高可重复性。以可重复的方式将插入物的隔膜部分放置于相同位置的一个方法是将隔膜固定到刚性支撑物上。

[0076] 当期望以可重复的和一致的方式从体表的特定位置获得测试样本时,优选地使用固定元件210来使插入物可解除地附装211到体表上。通过以可解除的方式将插入物附装到体表上,对由插入物的隔膜的尺寸限定的特定区域进行特定持续时间的采样将变成可能。当想要对从例如皮肤的皮损区域(lesional area)获取的测试样本中的特定测试分析物与从例如皮肤的健康的或者非皮损的区域中以可重复的方式获取(其中相同大小的皮肤区域被采样相同的持续时间)的测试样本中的特定测试分析物的水平进行比较时,这是有益的。可解除地附装插入物提供了优于用擦拭元件擦拭一区域的优点,因为当涉及样本和样本间的变化时,将以可重复的方式在非精确限定的区域中完成擦拭,这意味着从例如非损伤的皮肤中使用擦拭方法制备与通过擦拭皮肤的皮损区域而获得的测试样本相同的样本大小的测试样本将变得困难。因此,可解除地附装排除了擦拭。

[0077] 损伤的皮肤的一个实例可以是发炎的皮肤,并且非损伤的皮肤的一个实例可以是非发炎的皮肤,例如皮损牛皮癣皮肤(lesional psoriatic skin)和非皮损牛皮癣皮肤。

[0078] 在一些实施方式中,固定元件是粘合材料带。

[0079] 当期望提高获得测试样本时的可重复性和一致性时,固定元件210可以包括能膨

胀层212,该能膨胀层配置成向独立插入物200、411施加压力到从而将该独立插入物200、411压紧抵靠在哺乳动物213的体表上。配置能膨胀层以向独立插入物施加压力的一个方法是通过将能膨胀层放置于独立插入物和固定元件之间。能膨胀层212是可以膨胀以便向独立插入物200、411的隔膜201施加压力的层。能膨胀层的实例是可膨胀材料,比如可膨胀袋、弹簧操作装置或者可膨起材料。在一些实施方式中,该材料是在与液体(比如水溶液)接触时膨起以向隔膜201施加压力的压缩的纤维素,该隔膜将被紧密地压紧抵靠哺乳动物的皮肤。从实例3中的表中可以看出,使用具有能膨胀层的独立插入物从皮肤上获得样本的标准偏差与不使用能膨胀层相比被改善了。在本发明的一些实施方式中,能膨胀层不与独立插入物200、411流体连通,因为如果能膨胀层例如由与隔膜流体连通的压缩的纤维素制成的话,则可能存在将测试样本的部分传递到能膨胀层的一些风险。在一些实施方式中,在能膨胀层和隔膜之间具有惰性背衬层,这将不允许测试样本扩散进能膨胀层中。

[0080] 因此,在本发明的一些实施方式中,提供了一种用于包括固定到刚性支撑框架202的隔膜201的侧流测定装置200、411的插入物,独立插入物配置成从哺乳动物213的体表获得测试样本,并且在本发明的一些实施方式中,插入物还包括固定元件210,该固定元件配置成将插入物可解除地附装211到哺乳动物213的体表上。

[0081] 到目前为止被描述的实施方式已经参考包括洗脱区101和检测区域DA的侧流测定装置的本发明的一个实施方式进行描述,并且其中独立插入物是洗脱区101。也就是说,独立插入物适合于安装到洗脱区或者样本区域中。

[0082] 但是,本发明也覆盖包括洗脱区501和检测区域DA的侧流测定装置的实施方式,并且其中独立插入物是检测区域DA。也就是说,独立插入物适合于安装到检测区域中,检测区域可以包括具有固定的一种或多种亲和分子的检测区505。这是提供侧流测定的一个变型方法,因为一旦独立插入物被放入侧流测定装置中,一种或多种测试分析物就将与固定的亲和分子结合。

[0083] 在独立插入物是检测区域DA的这个实施方式中,侧流测定装置将稍微不同地起作用,因为在从哺乳动物的体表获得测试样本时一种或多种测试分析物将与固定在检测区405中的亲和分子相结合。通过将流体加入到样本垫401上而进行的侧流测定的显色则将从结合垫中标记有检测探针的亲和分子在检测区域DA上传输并且它们将与已经粘合固定在检测区中的亲和分子上的一种或者多种测试分析物相结合,从而监测一种或多种测试分析物在测试样本中的存在或者量。

[0084] 在本发明的一些实施方式中,检测区域DA包括容纳用于选择性地保持一种或多种测试分析物的一种或多种亲和分子的检测区105、505并且可选地包括容纳用于选择性地保持一种或多种指示剂亲和分子(比如,来自于结合垫的标记有检测探针的亲和分子)的一种或多种亲和分子的指示区106、506。

[0085] 亲和分子是主要与一种或多种分析物结合从而选择性地保持这种感兴趣的分析物的分子。亲和分子通常是对于特定分析物或者特定种类的分析物具有比其他分析物更大的亲和性的分子。这种分子的大部分值得注意的实例是抗体(多克隆的和/或单克隆的,以及其片段)、适配体(apptamer)和受体,以及其他工程蛋白支架(engineered protein scaffold),比如通常所说的AdNectin、Affibody、Anticalin、Knottin、DARPin和Kunitz,以及有机和/或聚合物支架(scaffold)。

[0086] 在本发明的另一个方面中,提供了一种检测一种或多种测试分析物的存在或者量的方法,该方法包括下列步骤:

[0087] 将用于侧流装置200、411的独立插入物可解除地附装到哺乳动物的体表上,该独立插入物包括固定到刚性支撑物202上的隔膜201,并且该独立插入物配置成获取测试样本;

[0088] 将独立插入物200的隔膜保持在哺乳动物213的体表至少5分钟或者当已经获取足够量的测试样本时结束的持续时间;

[0089] 将包含测试样本的独立插入物固定在适于接收独立插入物300、400的侧流测定装置中;

[0090] 使该侧流测定装置显色。

[0091] 在本发明的一些实施方式中,独立插入物200、411通过固定元件210可解除地附装到体表上,该固定元件配置成将独立插入物可解除地附装211到哺乳动物213的体表上,并且其中,固定元件包括能膨胀层212,该能膨胀层在步骤a) 和b) 之间被激活从而产生将独立插入物压靠在体表上的力。

[0092] 独立插入物的隔膜层将附装到皮肤上采样周期的持续时间,该持续时间在获取了足够量的测试样本时结束。在一些情况下,使隔膜层附装到皮肤上至少1分钟将是足够的,比如至少5分钟、至少10分钟、至少15分钟、至少20分钟、至少30分钟、至少40分钟、至少50分钟、至少60分钟,比如直至5分钟、直至10分钟、直至15分钟、直至20分钟、直至30分钟、直至40分钟、直至50分钟、直至60分钟,比如直至24小时。使采样时间尽可能短是期望的,因为这将允许更快的检测。可以设想的是本采样方法应该是足够灵敏的以允许采样时间(其中隔膜被附装到皮肤上或者与皮肤流体连通)在1和30分钟之间,特别地在15和30分钟之间。

[0093] 在描述本发明的实施方式时,没有明确地描述所有可能的实施方式的组合和变化。然而,在相互不同的从属权利要求中陈述或在不同的实施方式中描述某些方法并不表示这些方法的组合不是有利的。本发明设想了所描述的实施方式的所有可能的组合和变化。

[0094] 发明人在本文中使用的术语“包括”、“包含”的意图是在任何情况下可分别与术语“构成”、“组成”进行替换。

[0095] 实例

[0096] 实例1-用根据图3的装置检测IL-8和hBD-1

[0097] 该实例示出了与侧流测定装置300分离的样本垫200的独立插入物可在侧流测定中使用(图3)以从人体皮肤检测IL-8和hBD-1。

[0098] 材料

[0099]

|                         |                                                                                                                         |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 撮取抗体(Capture antibody): | 在 1×PBS 中 100μg/ml:<br>兔抗人 BD-1, 和<br>山羊抗人 CXCL8/IL-8                                                                   |
| 检测抗体:                   | 结合 10μg/ml 的 40nm 胶体金 ( <i>Colloidal Gold</i> ):<br>兔抗人 BD-1 和<br>鼠抗人 CXCL8/IL-8                                        |
| 抗原                      | 运行缓冲液 (running buffer) 中 0-50ng/ml 的各种水平<br>重组人 BD-1, 以及<br>重组人 CXCL8/IL-8                                              |
| 运行缓冲液:                  | 25mM 缓血酸铵 (Tris), 1%三聚磷酸五钠 (Pentasodium Tripolyphosphate), 0.1%叠氮化钠, 0.1%去利通 (Triton) X-405, 2mM EDTA, 0.5%酪蛋白钠, pH 8.0 |
| 分析隔膜 307:               | 赛多利斯 (Sartorius) CN140, 具有撮取抗体, 用封闭缓冲液封闭: 10mM 磷酸钠, 0.1%蔗糖, 0.1%BSA, 0.2%PVP-40, pH 7.2                                 |
| 渗吸垫 304、104:            | 密理博 (Millipore) CO95                                                                                                    |
| 结合垫 302、102:            | 密理博 (Millipore) G041, 封闭缓冲液: 10mM 硼酸盐, 3%BSA, 1%PVP-40, 0.25%去利通-100 (Tritonx-100), pH 8.0                              |
| 样本垫 (采集垫) 200:          | 密理博 (Millipore) G041                                                                                                    |

[0100] 测试灵敏度的校准

[0101] 分析物IL-8和hBD1在运行缓冲液中被稀释到0.25、1和25ng/ml的浓度并且用于确定对于这个特定配置的灵敏度(图6a)。为了测试,分析物在分析盒的组装之后加入样本垫中(50μl)并且加入100μl运行缓冲液。

[0102] 图6a的侧流带显示IL-8的视觉检测的水平为大约1ng/ml并且hBD-1的视觉检测的水平为大约0.25ng/ml。

[0103] 为了分析来自皮肤的IL-8和hBD-1,用25μl毫Q水(milliQ water)来浸湿样本垫200并且使样本垫与接触性皮炎皮肤的皮损区域接触放置15分钟,将样本垫插入侧流测定盒310中并通过加入100μl运行缓冲液而显色。

[0104] 在图6b中示出了侧流带,其中可以看到可从由皮肤表面获取的样本中检测到IL-8和hBD-1(右侧)。还示出了对照线(左侧)。

[0105] 实例2-用根据图4的装置检测IL-8和hBD-1

[0106] 该实例示出了与侧流测定装置400分离的检测区域411、507的独立插入物可以在侧流测定中使用以从人体皮肤检测IL-8和hBD-1。

[0107] 材料

|        |                |                                                                                            |
|--------|----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| [0108] | 擷取抗体:          | 在 1×PBS 中 100μg/ml:<br>兔抗人 BD-1 和<br>山羊抗人 CXCL8/IL-8                                       |
|        | 检测抗体:          | 结合 10μg/ml 的 40nm 胶体金:<br>兔抗人 BD-1, 以及<br>鼠抗人 CXCL8/IL-8                                   |
|        | 抗原             | 运行冲液中 0-50ng/ml 的各种水平<br>重组人 BD-1, 以及<br>重组人 CXCL8/IL-8                                    |
|        | 运行缓冲液:         | 25mM 缓血酸铵 (Tris), 1%三聚磷酸五钠, 0.1%叠氮化钠, 0.1%去利通 (Triton) X-405, 2mM EDTA, 0.5%酪蛋白钠, pH 8.0   |
|        | 分析隔膜 307:      | 赛多利斯 (Sartorius) CN140, 具有擷取抗体, 用封闭缓冲液封闭: 10mM 磷酸钠, 0.1%蔗糖, 0.1%BSA, 0.2%PVP-40, pH 7.2    |
|        | 渗吸垫 304、104:   | 密理博 (Millipore) CO95                                                                       |
|        | 结合垫 302、102:   | 密理博 (Millipore) G041, 封闭缓冲液: 10mM 硼酸盐, 3%BSA, 1%PVP-40, 0.25%去利通-100 (Tritonx-100), pH 8.0 |
|        | 样本垫 (采集垫) 200: | 密理博 (Millipore) G041                                                                       |

[0109] 测试灵敏度的校准

[0110] 分析物IL-8和hBD1在运行缓冲液中被稀释到0.25、1和25ng/ml的浓度并且用于确定对于这个特定配置的灵敏度(图7a)。为了测试,分析物在分析盒的组装之后被加入样检测区域隔膜中(50μl)并且加入100μl运行缓冲液中。

[0111] 图7a的侧流带显示IL-8的视觉检测的水平为大约1ng/ml并且hBD-1的视觉检测的水平为大约0.25ng/ml。

[0112] 为了分析来自于皮肤的IL-8和hBD-1,用25μl毫Q水(milliQ water)来浸湿检测区域411、507并且检测区域与接触性皮炎皮肤的皮损区域接触放置15分钟,检测区域插入侧流测定盒410中并通过加入100μl运行缓冲液而显色。

[0113] 在图7b中示出了侧流带,其中可以看到可以从由皮肤表面获得的样本中检测到IL-8和hBD-1(左侧)。还示出了对照线(右侧)。

[0114] 实例3-显示能膨胀层(212)的效果的实例

[0115] 能膨胀层在采样步骤中的效果被测试。可以看到使用侧流装置的样本垫结构(图1、图2和图3)获取了皮肤分析的稳定的和可靠的结果以从人体皮肤中检测IL-8和hBD-1。

[0116] 材料

[0117]

|                |                                                                                                             |
|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 擷取抗体:          | 在 1×PBS 中 100μg/ml:<br>兔抗人 BD-1 和<br>山羊抗人 CXCL8/IL-8                                                        |
| 检测抗体:          | 结合 10μg/ml 的 40nm 胶体金:<br>兔抗人 BD-1, 以及<br>鼠抗人 CXCL8/IL-8                                                    |
| 抗原             | 运行缓冲液中 0-50ng/ml 的各种水平<br>重组人 BD-1, 以及<br>重组人类 CXCL8/IL-8                                                   |
| 运行缓冲液:         | 25mM 缓血酸铵 (Tris), 1%三聚磷酸五钠, 0.1%叠氮化钠, 0.1%去利通-405 (TritonX-405), 2mM EDTA, 0.5%酪蛋白钠 (Sodium Casein), pH 8.0 |
| 分析隔膜 307:      | 赛多利斯 (Sartorius) CN140, 具有擷取抗体, 用封闭缓冲液封闭: 10mM 磷酸钠, 0.1%蔗糖, 0.1%BSA, 0.2%PVP-40, pH 7.2                     |
| 渗吸垫 304、104:   | 密理博 (Millipore) CO95                                                                                        |
| 结合垫 302、102:   | 密理博 (Millipore) G041, 封闭缓冲液: 10mM 硼酸盐, 3%BSA, 1%PVP-40, 0.25%去利通 (Triton)x-100, pH 8.0                      |
| 样本垫 (采集垫) 200: | 密理博 (Millipore) G041                                                                                        |
| 侧流带读取器:        | ESE 读取器, ID: ESLF34-MB-4501, SN: P0082 (凯杰 (Qiagen))                                                        |
| 能膨胀层/隔膜 212    | 1/4”压缩的纤维海绵, 工业商业供应公司 (Industrial Commercial Supply)                                                        |

[0118] 使用具有和不具有能膨胀层的样本垫获取的分析结果的比较显示能膨胀层改善了分析结果的可重复性和质量,如从下文中的表1显而易见的。

[0119] 该表示出了能膨胀层在检测水平和皮肤分析结果的偏差上的效果。具有和不具有可膨胀材料的样本垫(在不具有可膨胀材料的样本垫中,可膨胀材料被用非可膨胀材料代替)具有两种不同的擷取抗体,在可解除地固定到4个个体上(用3个点来分析每个个体)之

后,IL-8和hBD-1中的每个均被mQ水(150 $\mu$ l)浸湿。样本垫在相同的处理之后在接触性皮炎的皮肤区域上被暴露15分钟。使用标准曲线和侧流带读取器来量化分析物的水平。计算出了平均浓度、标准偏差和标准偏差百分比。

[0120]

| 具有可膨胀材料<br>的样本垫 | 来自 3 个样本垫的 IL-8 浓度<br>(ng/ml) 的平均值   | 标准偏差的百分比 |
|-----------------|--------------------------------------|----------|
| 人员 1            | 3.5 $\pm$ 0.2                        | 5.7%     |
| 人员 2            | 8.6 $\pm$ 0.5                        | 5.8%     |
| 人员 3            | 13.0 $\pm$ 0.8                       | 6.1%     |
| 人员 4            | 7.7 $\pm$ 0.5                        | 6.4%     |
|                 | 来自 3 个样本垫的 hBD-1 浓<br>度 (ng/ml) 的平均值 |          |
| 人员 1            | 12.5 $\pm$ 0.3                       | 2.4%     |
| 人员 2            | 15.0 $\pm$ 0.5                       | 3.3%     |
| 人员 3            | 9.8 $\pm$ 0.4                        | 4.1%     |
| 人员 4            | 17.5 $\pm$ 0.6                       | 3.4%     |

[0121]

| 不具有可膨胀材料的样本垫 | 来自 3 个样本垫的 IL-8 浓度 (ng/ml) 的平均值  | 标准偏差的百分比 |
|--------------|----------------------------------|----------|
| 人员 1         | $2.4 \pm 0.9$                    | 37.5%    |
| 人员 2         | $3.6 \pm 1.4$                    | 38.9%    |
| 人员 3         | $9.6 \pm 5.1$                    | 53.1%    |
| 人员 4         | $3.1 \pm 1.8$                    | 58.1%    |
|              | 来自 3 个样本垫的 hBD-1 浓度 (ng/ml) 的平均值 |          |
| 人员 1         | $6.9 \pm 0.9$                    | 13.0%    |
| 人员 2         | $3.7 \pm 1.9$                    | 51.4%    |
| 人员 3         | $4.1 \pm 1.6$                    | 39.0%    |
| 人员 4         | $11.3 \pm 5.8$                   | 51.3%    |

[0122] 从读数中可以看出,在样本垫中具有能膨胀层的装置与不具有可膨胀材料的样本垫相比产生了高得多的分析物的值,并且导致了低得多的标准偏差和标准偏差百分比。

[0123] 来自具有能膨胀层的装置的分析的该更高的灵敏度和更低的偏差与由能膨胀层产生的恒定压力所导致的样本垫材料与皮肤的稳固的和同质的接触有关。

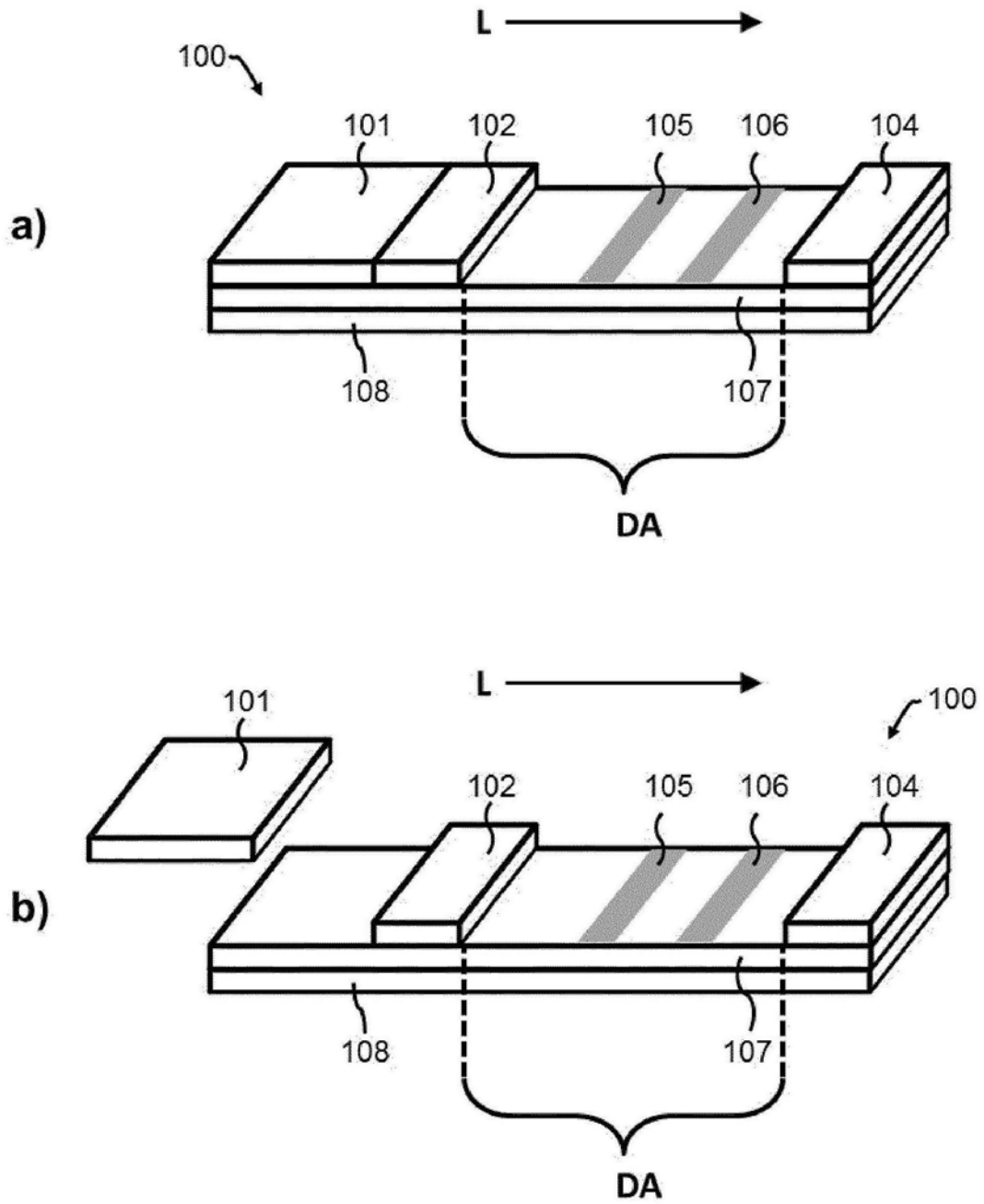


图1

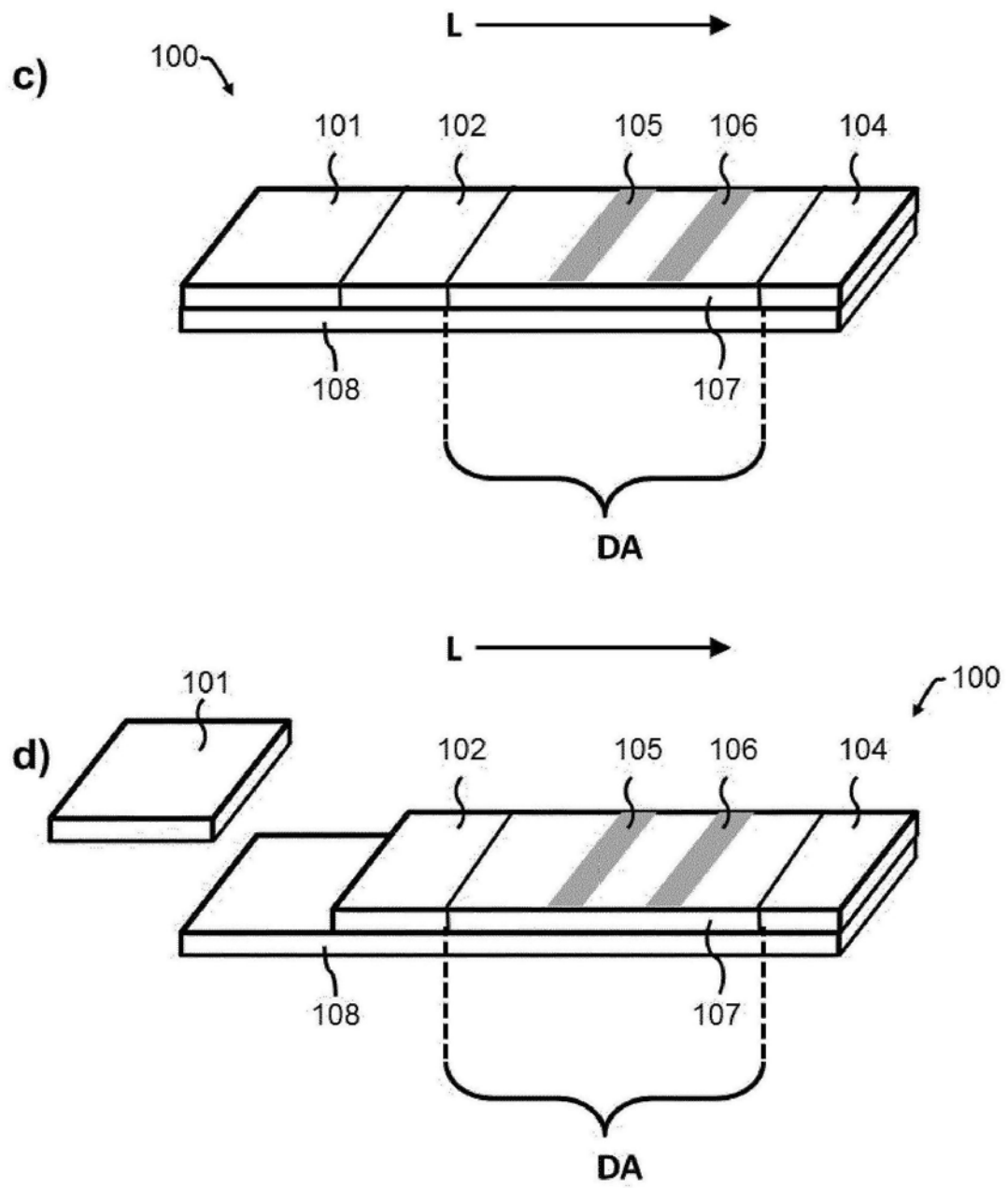


图1-续

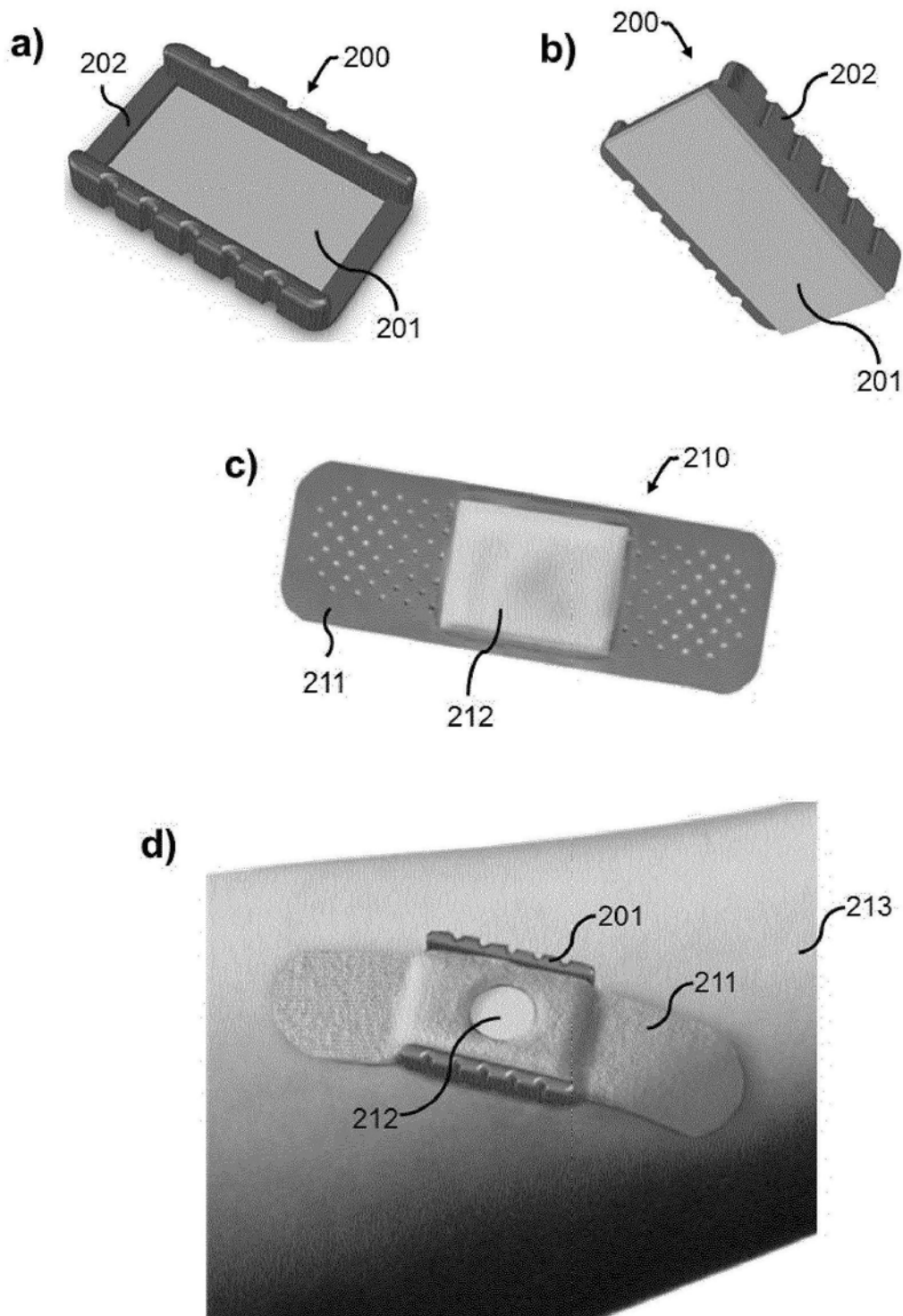


图2

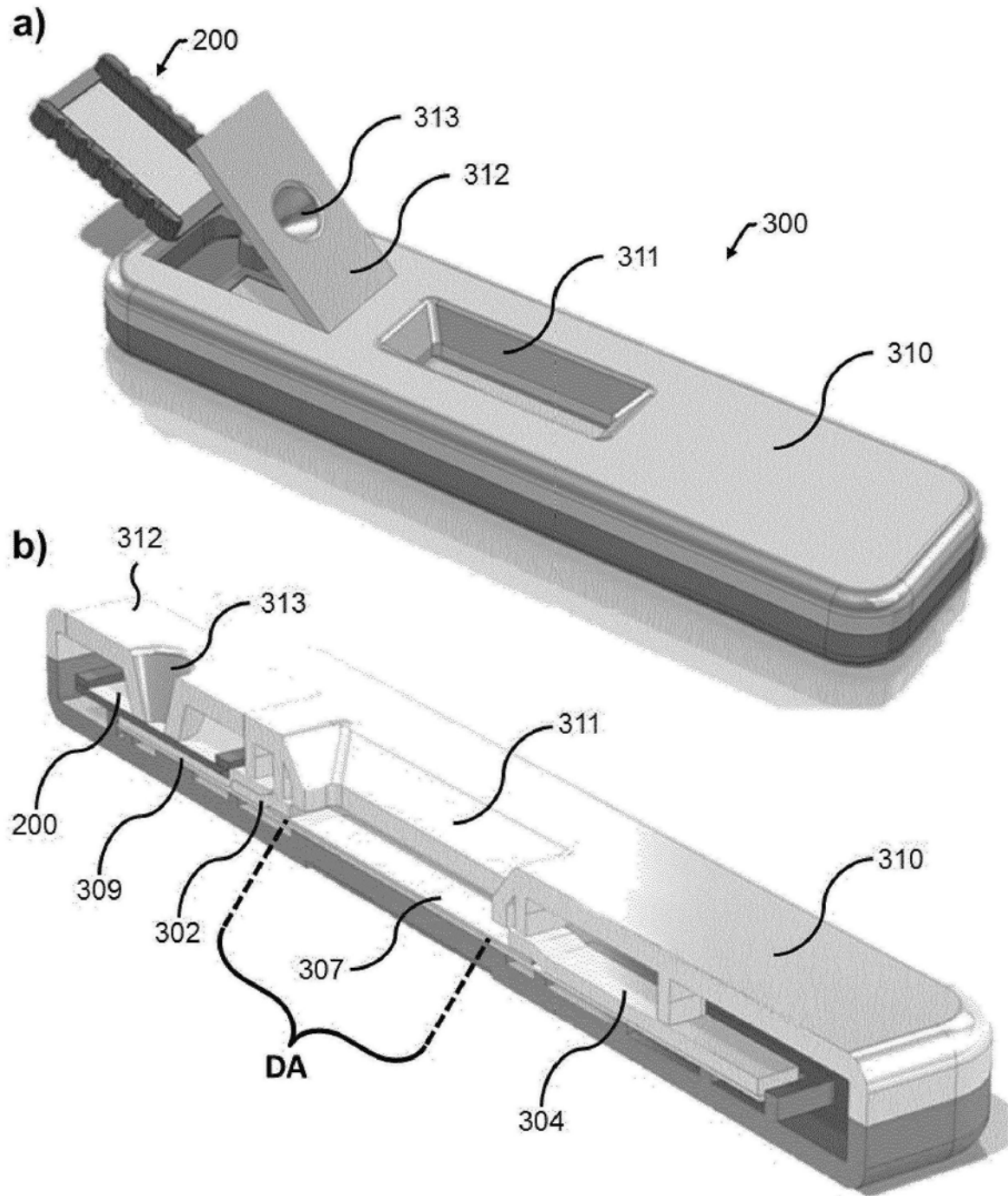


图3

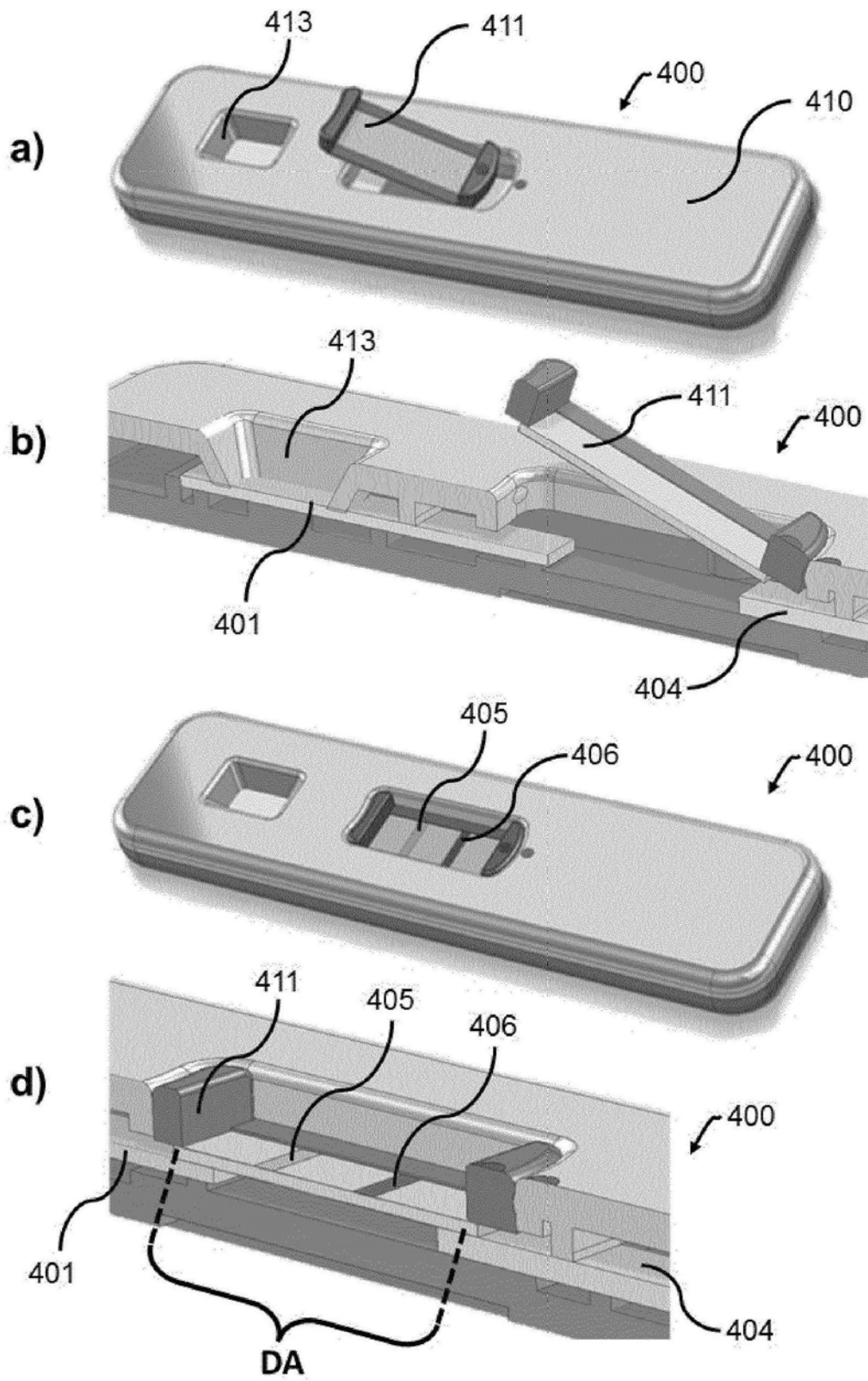


图4

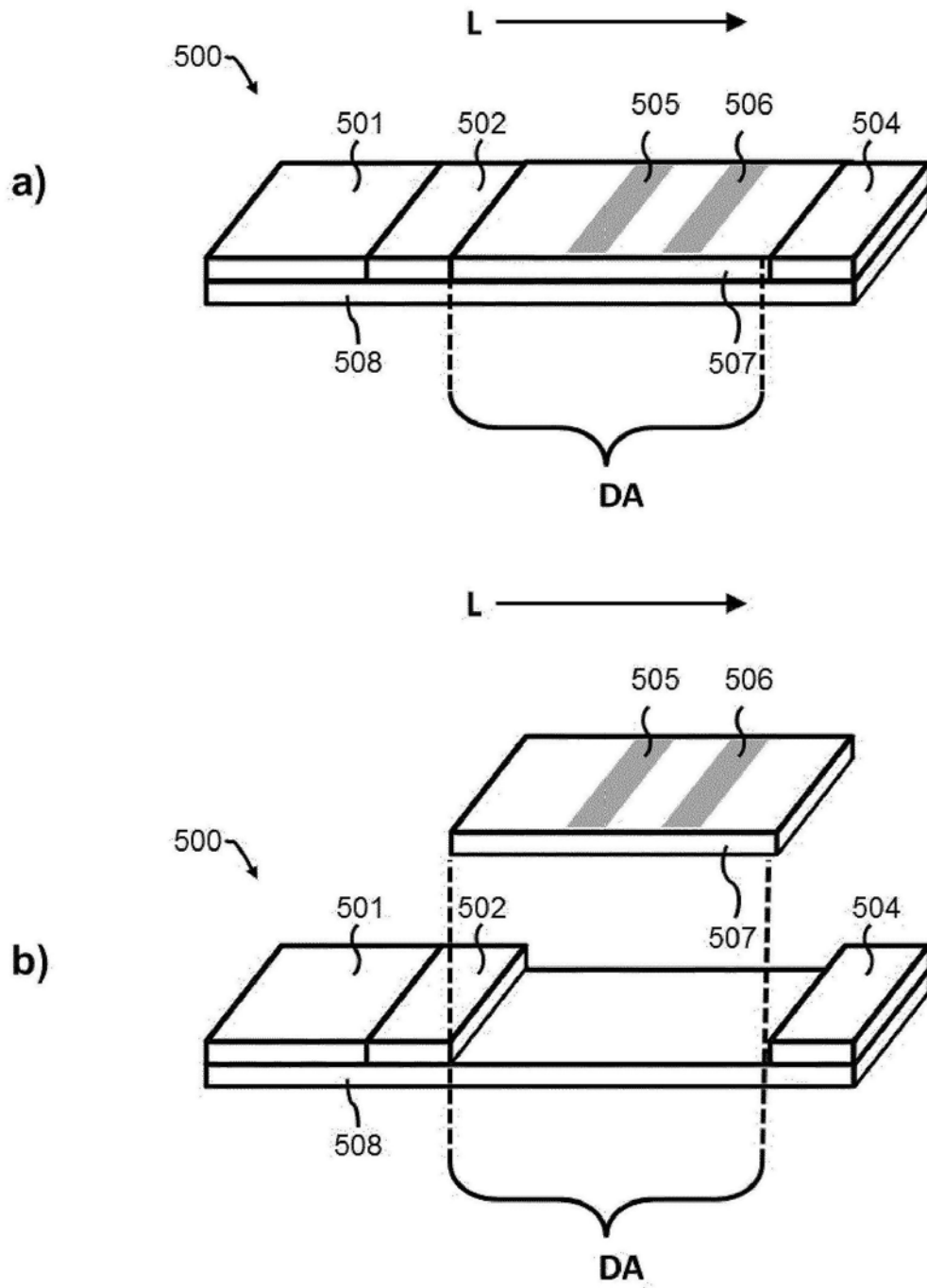


图5

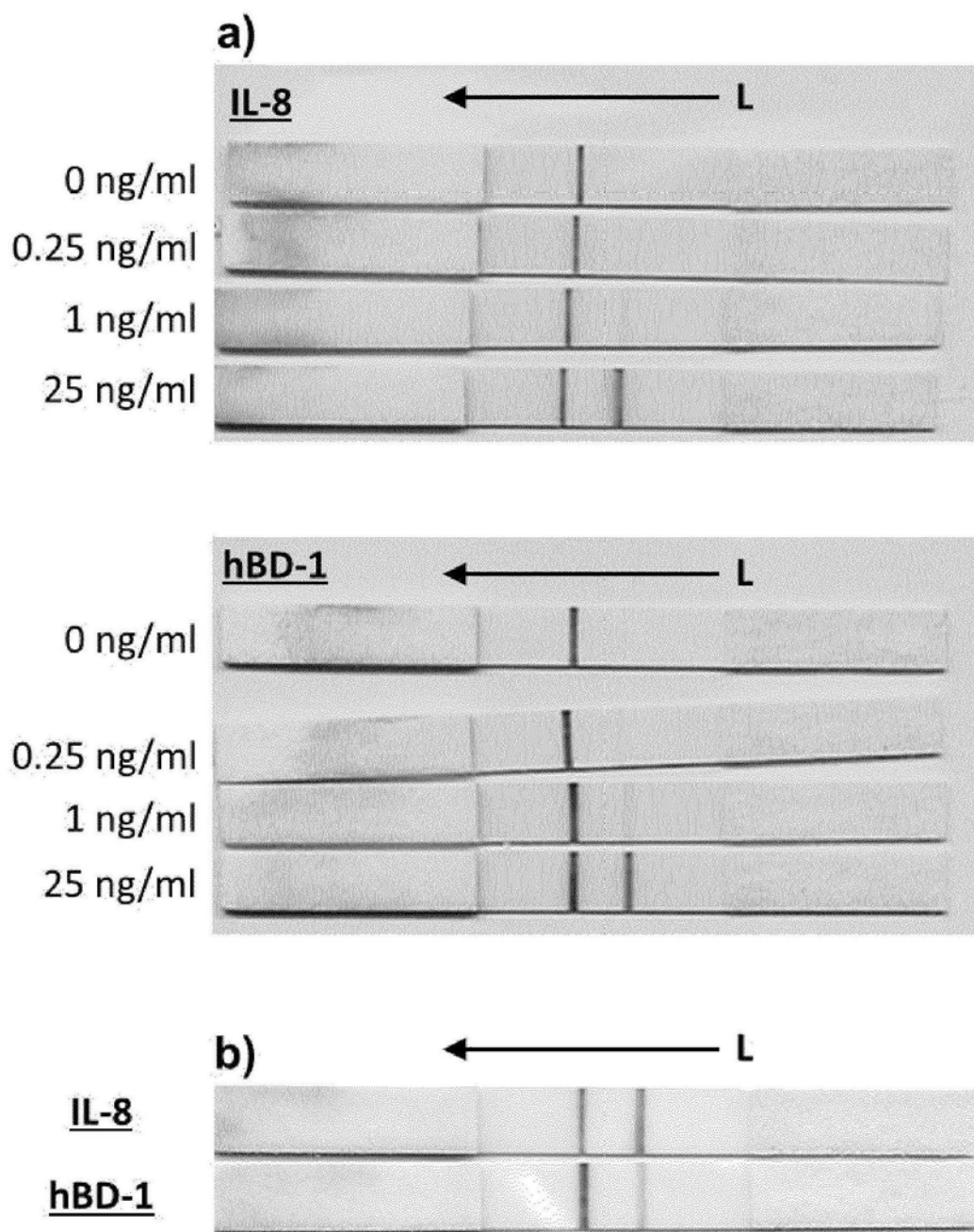


图6

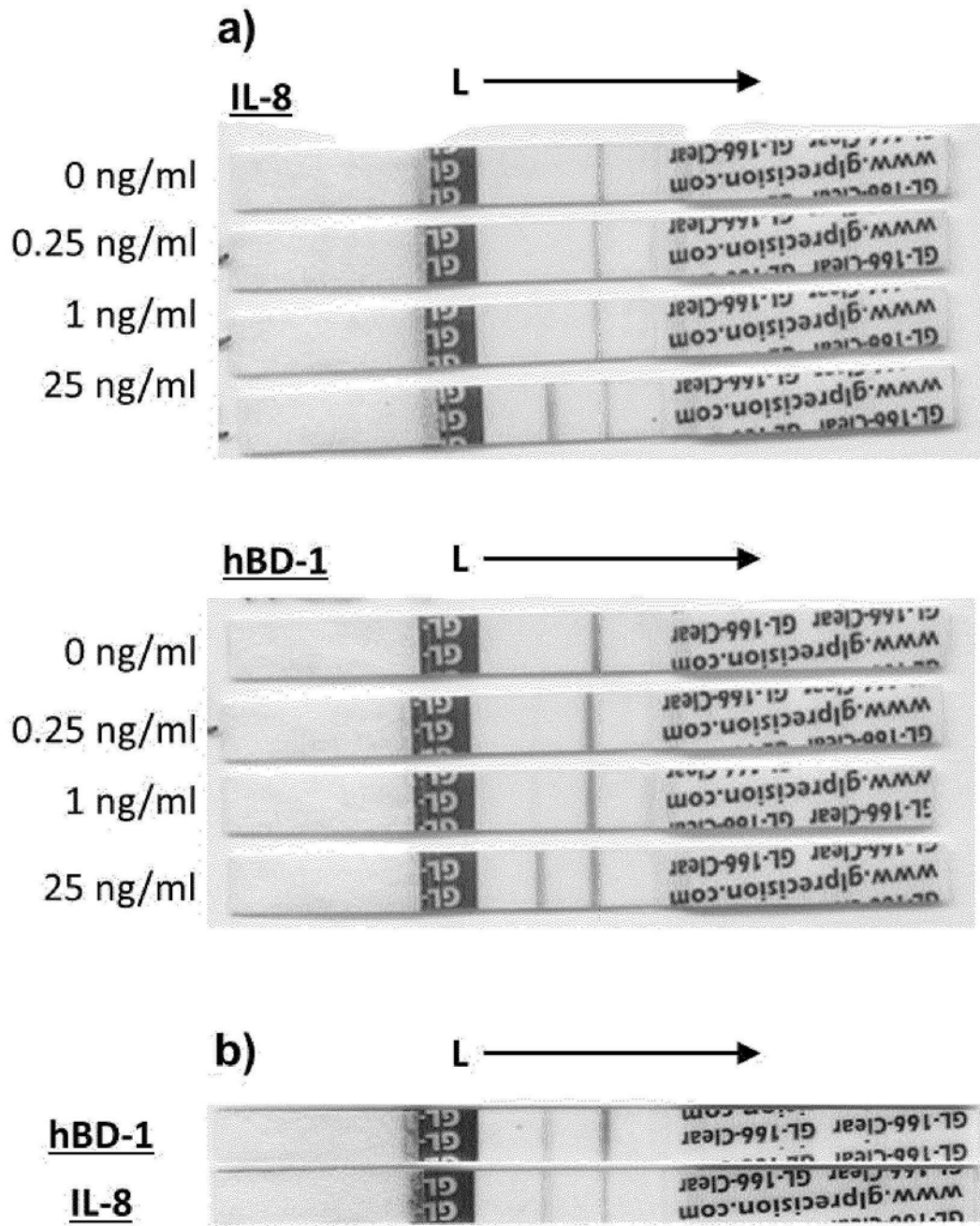


图7