



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104838268 B

(45)授权公告日 2017.10.24

(21)申请号 201380064063.7

V.森达雷桑 S.邓 H.徐 R.李

(22)申请日 2013.10.07

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104838268 A

代理人 严志军 肖日松

(43)申请公布日 2015.08.12

(51)Int.Cl.

G01N 33/579(2006.01)

B01L 3/00(2006.01)

(30)优先权数据

61/710990 2012.10.08 US

61/710908 2012.10.08 US

61/710898 2012.10.08 US

61/710903 2012.10.08 US

(56)对比文件

US 2011/0201049 A1,2011.08.18,

US 2004/0121450 A1,2004.06.24,

Chang Woo Suh et al.Feasibility of
On-chip detection of endotoxin by LAL
test.《Biotechnology and Bioprocess
Engineering》.2004,第9卷(第2期),

James F. Cooper et al.Automated
endotoxin testing program for high-risk-
level compounded sterile preparations at
an institutional compounding pharmacy.《Am
J Health-Syst Pharm.》.2010,第67卷

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2015.06.08

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2013/063625 2013.10.07

(87)PCT国际申请的公布数据

W02014/058750 EN 2014.04.17

(73)专利权人 通用电气公司

地址 美国纽约州

审查员 王在竹

(72)发明人 R.D.戈德克 P.C.梅兰森

M.K.斯通史密斯 黄岩

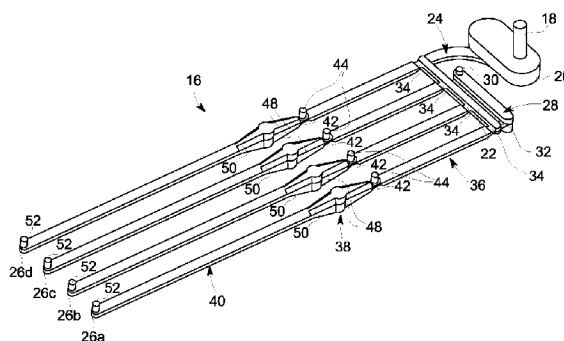
权利要求书2页 说明书20页 附图9页

(54)发明名称

微流体LAL反应物质测试方法和设备

(57)摘要

提供了一种用于测试流体样本中的LAL反应物质的微流体测试筒。筒可包括至少两(2)个测试模块,其中各测试模块包括用于接收流体样本中的一个的至少一个入口端口,和与入口端口流体地连通的至少四(4)个测试通道。测试通道中的各个可包括用于计量流体样本的分份的计量部分、分析部分和混合部分,其中,阀定位在计量部分与分析部分之间,以选择性地计量部分与分析部分流体地分开。筒能够插入光学读取器中,光学读取器在测试过程期间执行各测试通道内的流体样本的光学测量。



1. 一种用于测试流体样本的微流体筒,其包括至少两个测试模块,其中:

各测试模块包括用于接收所述流体样本中的一个的至少一个入口端口,和与所述入口端口流体地连通的至少四个测试通道;

所述测试通道中的各个包括用于计量所述流体样本的分份的计量部分、分析部分和混合部分,所述计量部分与所述分析部分流体连接,所述分析部分与所述混合部分流体连接,其中,阀定位在所述计量部分与所述分析部分之间,以选择性地使所述计量部分与所述分析部分流体地分开;并且其中:

各测试模块具有至少一个测试通道,所述至少一个测试通道具有隔离在其中的至少一种试剂,所述试剂包括LAL反应物质。

2. 根据权利要求1所述的微流体筒,其特征在于,至少一个测试模块为校准模块,所述校准模块包括至少八个测试通道,且其中:

所述测试通道中的至少两个在其中没有LAL反应物质;

所述测试通道中的至少两个具有隔离在其中的第一量的LAL反应物质;

所述测试通道中的至少两个具有隔离在其中的第二量的LAL反应物质;并且

所述测试通道中的至少两个具有隔离在其中的第三量的LAL反应物质。

3. 根据权利要求2所述的微流体筒,其特征在于,至少一个测试模块为样本测量模块,所述样本测量模块包括至少四个测试通道,且其中:

所述测试通道中的至少两个在其中没有LAL反应物质;并且

所述测试通道中的至少两个具有隔离在其中的具有第四量的LAL反应物质的掺杂物。

4. 根据权利要求1所述的微流体筒,其特征在于,所述测试通道中的全部具有隔离在其中的至少一种附加试剂,所述附加试剂包括检测试剂。

5. 根据权利要求1所述的微流体筒,其特征在于,还包括出口端口,所述出口端口与所述入口端口流体地连通,以用于移除过量的所述流体样本。

6. 根据权利要求1所述的微流体筒,其特征在于,所述阀构造成允许真空、离心力或气压推动所述分份流动跨过所述阀从所述计量部分到所述分析部分。

7. 根据权利要求1所述的微流体筒,其特征在于,还包括第一压力端口,所述第一压力端口定位在所述计量部分内且邻近所述分析部分的端部,以用于在所述测试通道内形成压差。

8. 根据权利要求7所述的微流体筒,其特征在于,还包括第二压力端口,所述第二压力端口定位在所述混合部分内,以用于在所述测试通道内形成压差。

9. 根据权利要求1所述的微流体筒,其特征在于,所述分析部分包括光学室,以接收所述分份的至少一部分,以用于所述流体样本的光学测量。

10. 根据权利要求1所述的微流体筒,其特征在于,所述混合部分构造成允许所述分份在所述混合部分内与所述试剂混合。

11. 根据权利要求1所述的微流体筒,其特征在于,所述试剂固定在所述混合部分内。

12. 一种用于对至少一个流体样本测试LAL反应物质的方法,所述方法包括:

使用微流体筒,所述微流体筒包括至少两个测试模块,其中:

各测试模块包括用于接收所述流体样本中的一个的至少一个入口端口,和与所述入口端口流体地连通的至少四个测试通道;且

所述测试通道中的各个包括用于计量所述流体样本的分份的计量部分、分析部分和混合部分,所述计量部分与所述分析部分流体连接,所述分析部分与所述混合部分流体连接,其中,阀定位在所述计量部分与所述分析部分之间,以选择性地使所述计量部分与所述分析部分流体地分开;

将所述至少一个流体样本引入所述入口端口中的至少一个中;

在所述微流体筒中的所述至少一个流体样本中的各个上执行测试过程;和

记录来自所述测试过程的测量数据;

其中,预载或被引入至所述混合部分的用于检测LAL反应物质的试剂至少在所述混合部分与所述流体样本的分份混合。

13. 根据权利要求12所述的方法,其特征在于,还包括推动所述分份中的各个从所述计量部分流至所述分析部分,以用于各测试通道的所述分析部分中的光学测量。

14. 根据权利要求13所述的方法,其特征在于,真空、离心力或气压推动所述分份流动跨过所述阀从所述计量部分到所述分析部分。

15. 根据权利要求14所述的方法,其特征在于,所述测试模块中的各个包括至少一个压力端口,所述真空或气压施加到所述至少一个压力端口,以在所述测试模块内形成压差来推动所述分份的流动。

16. 根据权利要求12所述的方法,其特征在于,将所述至少一个流体样本引入所述入口端口中的至少一个中包括人工地引入所述至少一个流体样本或以自动的方式引入所述至少一个流体样本。

17. 根据权利要求12所述的方法,其特征在于,还包括在将所述至少一个样本流体引入所述入口端口中的一个中之前将所述微流体筒引入光学读取器中的步骤。

18. 根据权利要求12所述的方法,其特征在于,所述流体样本在所述测试过程期间与所述试剂混合。

19. 根据权利要求12所述的方法,其特征在于,试剂固定在所述混合部分内。

20. 根据权利要求12所述的方法,其特征在于,所述测量数据包括分份体积、反应动力、流体运动、透射、吸收、光密度、颜色、色值、色调、光谱、浊度、漫射光、化学发光、荧光和磁共振。

21. 根据权利要求20所述的方法,其特征在于,使用历史测量数据和/或来自已知反应动力的数据来验证所述测试过程和测量数据。

22. 根据权利要求21所述的方法,其特征在于,示踪物固定在所述混合部分和/或所述分析部分内,以有助于测量和验证所述流体运动和/或所述分份体积。

微流体LAL反应物质测试方法和设备

技术领域

[0001] 本发明涉及确定流体样本中的LAL反应物质的浓度的领域,且更具体而言,本发明涉及用于测量流体样本中的LAL反应物质的半自动化方法和设备。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请有权享有2012年10月8日提交且题为MICROFLUIDIC BACTERIA ENDOTOXIN TESTING METHOD AND APPARATUS的临时专利申请序列号No. 61/ 710,908;2012年10月8日提交且题为CENTRIPETAL MICROFLUIDIC PLATFORM FOR BACTERIAL ENDOTOXIN TESTING的临时专利申请序列号No. 61/710,990;2012年10月8日提交且题为SENSITIVE AND RAPID METHOD FOR DETECTION OF LOW LEVELS OF ENDOTOXINS USING LAL REAGENTS的临时专利申请序列号No. 61/710,898;和2012年10月8日提交且题为MICROPLATES PRELOADED WITH ENDOTOXIN DETECTION REAGENTS WITH CALIBRATION MEANS的临时专利申请序列号No. 61/710,903的权益。所有以上列出的申请在此通过引用而并入。

背景技术

[0004] 微生物污染,如革兰氏阳性细菌、革兰氏阴性细菌、酵母和真菌可引起人的严重疾病和甚至是死亡。当人感染上革兰氏阴性细菌时,细菌可产生引起发烧的细菌内毒素。内毒素可对于人而言很危险且甚至是致命的。为革兰氏阴性细菌的细胞壁的脂多糖成分的内毒素分子可与微生物污染独立地存在于药物配方和医疗装置的表面中。内毒素污染甚至可在系统通过无菌测试的情况下发生,这是需要独立的内毒素测试的原因。

[0005] 目前,已经开发了多种测试来在使用来自鲎的血细胞溶菌产物测试的样本中或上检测内毒素的存在。当血细胞溶菌产物暴露于内毒素时,将发生凝结。血细胞溶菌产物为由包括鲎、亚洲鲎和蝎鲎类的各种鲎类的血淋巴产生的阿米巴状细胞溶菌产物。常用的阿米巴状细胞溶菌产物由鲎或亚洲鲎类的血淋巴产生,其称为鲎阿米巴状细胞溶菌产物(“LAL”)。使用LAL的常规测试包括凝胶凝结试验、端点浊度分析试验、运动浊度分析试验、端点显色试验和运动显色试验。使用LAL的测试还可用于测试某些类型的真菌污染的葡聚糖标记。

[0006] 关于LAL试验和使用标准的更多信息可在美国药典(“USP”)85章“细菌内毒素测试”(“BET”)、日本药典4.01“细菌内毒素测试”、欧洲药典2.6.14“细菌内毒素”和其他等同的国家药典中找到。附加的国际性协商的药典信息可在ICH Q4B附录14“细菌内毒素测试总体章程”中找到。对于在医疗装置中测试内毒素,信息可在USP161章“Transfusion and Infusion Assemblies and Similar Medical Devices”和ANSI/AAMI ST72“Bacterial endotoxins Test methods, routine monitoring, and alternatives to batch testing”中找到。这些标准和程序可大体上称为纲要。

[0007] 药品、医疗装置和食品行业中的制造者必须满足某些标准来确保它们的产品不含有微生物或内毒素污染。这些行业需要针对内毒素存在的频繁、准确和敏感的测试来满足各种安全标准,如由美国食品和药品管理局或环境保护局提出的那些。这些机构接受许多

纲要程序标准。因此,如果制造者想要获得政府批准来向市场发布新产品,则如果产品遵循上文列出的纲要中的方法和标准,那么可满足许多FDA要求。这可显著地降低制造者获得新产品的FDA批准的成本。

[0008] 当测试结果显示出不好的结果或内毒素浓度在预计范围外,则这些机构还具有严格的报告要求。这种非符合的结果必须被彻底调查来找出根源,且向监管机构解释。这是耗时且昂贵的。如果制造者可示出由于测试自身中的异常而发生非符合结果,而不是由于样本中或上实际上存在内毒素,则可满足机构的许多报告要求。这可减少履行此报告义务引起的时间和成本。迄今为止,没有已知方法或设备能够在测试自身中的异常或误差与样本中的异常之间区分。

[0009] 各种纲要中的这些试验需要水溶液,包括用作标准的已知浓度的内毒素。这些水溶液通常不稳定;因此它们通常刚好在测试之前在测试位置处由粉末毒素制成。LAL试剂通常也为粉末形式,且必须在使用之前在水溶液中重新构成。

[0010] 内毒素和LAL粉末的制备由于关键生物分子的缓慢溶解和其在混合期间粘到表面上且随后在表面上冷凝的趋势而很困难。LAL试剂还在重新构成后开始缓慢反应,且具有很短的保质期。尽管最佳实施将是在使用之前立即混合这些,但工艺流程通常指出了在过程开始时混合它们。另外,制备的过程易受来自内毒素的污染,内毒素在该环境中普遍存在。

[0011] 试剂还需要一系列校准测试来确保使用的设备和试剂正确地起作用。校准测试和样本测量也必须产生不止一次。符合BET和其他纲要的当前实验方法很详细,且需要重复且很精确地测量分送到没有污染的微板的多个入口等中的流体体积。

[0012] 执行LAL分析的最常见方法是利用微孔板和读取器。在顶部处开启且在底部上具有透明窗口的反应井的矩阵置于用于多个同时试验的加热光谱光度测量读取器中。存在许多缺陷,包括其花费较长时间来制备板、其高成本、错误和污染的机会,以及该工作需要由特殊训练且专门针对该任务的技术人员完成。

[0013] 连续地监测高度熟练的操作者,来确保适合的技术和测量和测试准确性,且按需要再训练操作者以便确保重复动作的准确性。典型的方法可具有多达248次缓慢且耗时的移液管步骤,由于其复杂性而使其为容易错误的方法,且由于其长度和操作数量而易于污染。

[0014] 已经开发出了方法和装置来减少内毒素测试中的步骤量或使一些或所有步骤自动化。一些方法包括使一个或更多个移液或分份步骤自动化、使样本混合自动化,或将试剂预载在测试物质中,这仅允许很有限数目的测试。然而,所有开发的方法或装置都遗漏了一个或更多个以下方面:设计到基底中的低成本自动化、一次性清洁基底来确保清洁、各个基底上的符合药典的测试、植入的独立测试测量验证和测量操作的简单性。

[0015] 存在其他微流体方法来使试验过程部分自动化,但这些由于其有限尺寸和其依靠储存校准而非依靠使用相同试剂和标准在相同设备中同时运行的校准而并未完全符合纲要方法。其还需要精确的样本测量;没有由器具或设备自身生成的分份。

[0016] 其他自动方法依靠机器人来测量和分配微板中的样本和试剂。一旦制备,则板被人工地或使用另一个机器人载入读取器中。机器人通常为基于移液管的分配系统,其将样本和试剂准确地从小瓶架转移至板,替换液压管末梢来防止交叉污染。这是昂贵的系统,其需要对于各次运行频繁验证其机器人操作和多个一次性物件(移液管末梢、多壁板、稀释

管、移液管填充托盘、采样小瓶等)。其还可顺序地制备井,且类似于人工制备,不可同时开始所有反应。污染仍是问题,且因此该过程通常未受监测,故没有合理方式拒绝此原因引起的污染样本。

[0017] 还开发出了基于流动注射或连续注射的自动系统。其使用一次性微流体,其不需要清洁且不易于污染。这是显著的改善,因为其同时分析且因此更迅速,且由纲要指出。

[0018] 然而,迄今为止,没有已知的方法或设备能够减少使用者在符合纲要的同时在制备和测量校准标准和测量样本中必须执行的步骤数目。因此,存在的需要在于一种更半自动的测试方法或程序来测试和分析流体样本中的内毒素浓度,其减少或消除潜在操作者误差量且还符合纲要。

发明内容

[0019] 本发明包括一种微流体筒、系统和方法,其能够执行LAL分析,包括来自单个源的单个样本的多次分析,来自已经“掺杂(spike)”有附加内毒素或葡聚糖、标准浓度的内毒素或葡聚糖和空白(blank)水(“空白”或“LAL试剂水”)的该相同源的分析。这些分析可在相同微流体筒或一次性装置中同时地执行。

[0020] 本发明可用于检测任何LAL反应物质。如本文使用的LAL反应物质意思是与LAL试剂反应的物质,包括内毒素或1,3- β -D-葡聚糖,如,昆布多糖和凝胶多糖。本发明还可结合LAL试剂或适用于试验LAL反应物质的其他试剂的任何商业源使用。

[0021] 本发明可减少使用者在制备和测量校准标准和样本两者中必须执行的步骤数目。这可降低对高水平技能、经验和训练的需要,且减少成本、时间和人为错误的机会。本发明还可用于在测试自身中的异常或误差与样本中的异常之间区分。此外,本发明可以以符合纲要要求和FDA法规的方式构造或使用。

[0022] 本发明还适用于结合使反应过程关联内毒素水平的所有定量纲要光度测定方法,包括1) 运动显色,其中,直到光学吸收变化指定量的时间与浓度相关,2) 端点显色,其中,在固定时间内的光学吸收变化与浓度相关,3) 运动浊度计,其中,直到混浊(通常由光学吸收测量)改变指定量的时间与浓度相关,以及4) 端点浊度计,其中,在固定时间内变化的混浊与浓度相关。筒允许使用者在各个测量样本上执行至少两个简单或纯粹的分析,以及至少两个掺杂的分析,以及标准物和空白(校准样本)的至少两次分析。这可通过具有在用于各个流体样本的筒中的样本引入端口、在处理之前保持样本的储槽,以及在其中样本可精确地计量成准确体积的至少四个区域的分配器件。

[0023] 如说明书中使用的用语“流体样本”可不但包括待分析的样本(“测量样本”),而且包括显示出不与在测量极限下使用的内毒素检测试剂或溶菌产物反应的水。非反应水的样本还可称为“空白”、“LAL试剂水”、“用于BET的水”或“用于注射的水”。用语“流体样本”还可包括溶液,其包括制备溶液,该溶液包括试剂、标准物、掺杂物或制备的检测试剂。如本文使用的试剂广泛使用,且包括任何化学物质或溶液,其在实验室中用于检测、测量、以其他方式检查物质、化学制品或溶液,或协助此检查。试剂包括标准物和检测试剂。LAL反应物质的适合的检测试剂包括LAL试剂、重组因子C试剂、重组因子C和LAL试剂的混合物,以及包括寿司缩氨酸、寿司肽片段、寿司缩氨酸二聚物和其他特定结合蛋白质如源于噬菌体的抗体和受体结合蛋白的制备物。用语“流体样本”还可包括内毒素或葡聚糖标准物(“LAL反应物质”

或“标准物”)的制备溶液。上文列出的各个流体样本类型可具有其自身的引入端口,或两种或更多种流体样本类型可共用至少一个引入端口。

[0024] 筒允许使用者组合和混合可出现的计量样本和任何试剂或标准物。筒还可具有一个或更多个光学室,且可插入光学读取器中来测量流体样本中的光学变化。

[0025] 筒还可包含类似的结构来用于分析空白和标准物,其并未包含样本的流体网络流体,以便标准物或空白和试剂为混合和分析的流体。可分析在不同水平下的至少三种标准物,其中,各个标准物和空白具有将从单个样本在至少三次重复(replicate)中分析出的手段。因此,筒支持三个不同水平下的校准标准物和空白的一式三份的分析。如上文所述的筒允许使用相同样本在一个筒中执行纲要所需的所有测试。

[0026] 在一个实施例中,测量样本、试剂和标准物均引入作为制备液体以备使用。各个类型的单个流体样本可引入一次性设备中且然后分配。

[0027] 在另一个实施例中,空白水可用于空白分析,且在最高水平分配和稀释单个标准物。因此,标准物按需要通过分配、精确计量和混合来稀释,以产生其他标准物或掺杂物。

[0028] 在另一个实施例中,筒可预载标准物、试剂或其混合物。标准物可在筒的部分中隔离来作为可稀释或重新构成的液体或干制备物。这消除了标准物引入端口的需要。隔离的标准物可在设备的混合或分析部分中分布或直接使用。对于标准物分析,标准物与空白水混合,且然后分配或直接使用。对于掺杂物,标准物可用样本、试剂或两者的混合物重新构成。

[0029] 试剂还可在筒中隔离作为液体或干制备物,使得其可利用空白水稀释或重新构成,且然后分配和使用。该空白水可源于与分析空白相同的储槽。试剂可在各个混合区域或对于各次分析独有的其他区域中隔离,以与空白水、样本或两者重新构成。

[0030] 作为备选,试剂和标准物两者可在筒中隔离。因此,仅样本和空白水需要加至设备来进行分析。还应当注意的是,当检测或LAL试剂以干形式隔离时,其可用替代空白水的样本或标准物重新构成,增大了待分析的材料相对浓度且增大了试验的速度和灵敏度。

[0031] 引入端口、储槽、分配器件、分析区域、计量器件和用于所有分析的混合器件都可相同地构造,使得分析(除任何测量样本外)其中的试剂或标准物为彼此的准确重复。筒可插入读取设备中。读取设备可具有操作筒的所有所需器件。操作器件可包括但不限于泵、光学器件、温度控制器、与环境的隔离物,以及它们的组合。作为备选,操作器件可在筒或一次性筒内。读取设备还可包括计算机,其具有存储器、处理器、用户界面和显示或报告数据的器件。在一个实施例中,读取设备可为光学读取器。

[0032] 读取设备还可包括监测流体的过程的器件,尤其是流体计量和混合。读取设备还可具有通过检测计量、混合或反应过程中的异常来验证数据的器件,以便可拒绝异常分析。

[0033] 筒的一个或更多个部分可具有改变的表面。具有改变的表面的部分可包括而限于通道、储槽和光学室。表面可通过本领域技术人员已知的任何手段改变,包括但不限于施加涂层、辐射或溶解试剂,其可动态地覆盖表面,以便表面和试剂或样本的相互作用模拟标准微板分析的相互作用,以便满足针对分析的制造者的规格或纲要标准。

[0034] 在本发明的一个方面中,提供了一种用于测试流体样本的微流体筒。筒包括至少两个测试模块,其中,各个测试模块均包括用于接收一种流体样本的入口端口,以及与入口通道流体地连通的至少四个测试通道。测试通道中的各个可包括用于计量流体样本的分份

的计量部分、分析部分,以及混合部分。阀可定位在计量部分与分析部分之间,以选择性地将计量部分与分析部分流体地分开来允许精确和可重复的计量。各个测试模块均可具有带隔离在其中的至少一种试剂的至少一个测试通道。

[0035] 在另一个实施例中,至少一个测试模块为包括至少八(8)个测试通道的校准模块。至少两个通道可没有其中的LAL反应物质,至少2个通道可具有隔离在其中的第一量的LAL反应物质,至少2个通道可具有隔离在其中的第二量的LAL反应物质,且至少2个通道可具有隔离在其中的第三量的LAL反应物质。

[0036] 在又一个实施例中,至少一个测试模块为样本测量模块,其包括至少四(4)个测试通道。至少两个通道可没有其中的LAL反应物质,且至少两个通道可具有隔离在其中的具有第四量的LAL反应物质的掺杂物。

[0037] 在另一个实施例中,所有测试通道可具有隔离在其中的至少一种附加试剂。附加试剂可包括检测试剂。在另一个实施例中,微流体筒还可包括与入口端口流体地连通来除去过多流体样本的出口端口。该出口端口可在筒或开口端口内部或内,以用于流体或空气与外界的连接。

[0038] 在又一个实施例中,阀构造成允许真空、离心力或气压刺激穿过阀的分份以从计量部分流至分析部分。在另一个实施例中,微流体筒还可包括定位在计量部分内且邻近分析部分的端部的第一压力端口,以用于在测试通道内产生压差。在又一个实施例中,微流体筒还可包括定位在混合部分内来在测试通道内产生压差的第二压力阀。

[0039] 在另一个实施例中,分析部分可包括光学室来接收分份的至少一部分以用于流体样本的光学测量。在另一个实施例中,混合部分可构造成允许分份在混合部分与试剂混合。在又一个实施例中,试剂可在混合部分内固定。

[0040] 在预先设定的本发明的另一个方面中,提供了一种用于测试LAL反应物质的至少一个流体样本的方法。该方法包括提供微流体筒,其中,筒包括至少两个测试模块,其中,各个测试模块均包括用于接收一种流体样本的入口端口,以及与入口端口流体地连通的至少四个测试通道。测试通道中的各个可包括用于计量流体样本的分份的计量部分、分析部分,以及混合部分。阀可定位在计量部分与分析部分之间,以选择性地将计量部分与分析部分流体地分开。该方法还可包括将至少一个流体样本引入至少一个入口端口中。该方法还包括将微流体筒引入光学读取器中来光学地测量微流体筒中的至少一个流体样本。该方法还包括在微流体筒中在样本中的各个上执行测试过程,以及记录来自测试过程的测量数据。

[0041] 在另一个实施例中,该方法还可包括推动分份中的各个从计量部分到分析部分来用于各个测试通道的分析部分中的光学测量。在又一个实施例中,真空、离心力或气压可刺激分份流穿过所述阀从计量部分到分析部分。在另一个实施例中,各个测试模块均可包括至少一个压力端口,真空或气压可施加到端口上来在测试模块内产生压差,以刺激分份的流动。

[0042] 在又一个方法实施例中,流体样本可人工地或以自动方式引入入口端口中。

[0043] 在本发明的另一个方面中,提供了一种用于测试LAL反应物质的至少一个流体样本的方法。该方法包括提供微流体筒,其中,筒包括至少两个测试模块,其中,各个测试模块均包括用于接收一种流体样本的入口端口,以及与入口端口流体地连通的至少四个测试通道。测试通道中的各个可包括用于计量流体样本的分份的计量部分、分析部分,以及混合部

分。阀可定位在计量部分与分析部分之间,以选择性地将计量部分与分析部分流体地分开。该方法还可包括将至少一个流体样本引入至少一个入口端口中。该方法还包括在微流体筒中在样本中的各个上执行测试过程,以及记录来自测试过程的测量数据。在另一种方法中,微流体筒可在将流体样本引入入口端口中之前引入光学读取器中。在另一方法中,流体样本可在测试过程期间与试剂混合。在又一个实施例中,试剂可在混合部分内固定。

[0044] 在本发明的另一个方面中,测量数据可包括分份体积、反应动力、流体运动、传输、吸收、光密度、颜色、色值、色调、光谱、浊度、漫射光、化学发光、荧光和磁共振。测试过程和测量数据可使用历史测量数据和/或来自已知反应动力的数据验证。在又一个实施例中,示踪物可在混合部分和/或分析部分内固定,以有助于测量分份体积。

[0045] 通过已经借助于图示出和描述的本发明的实施例的以下描述,本发明的优点将对于本领域的技术人员变得清楚。如将实现的那样,本发明能够有其他和不同实施例,且其细节能够在各种方面改动。

附图说明

[0046] 在现在将作为实例通过参照所附示意图描述的本发明的实施例中具体地示出本发明的这些和其他特征和优点,在附图中:

[0047] 图1为用于测试多个流体样本的筒的示范实施例;

[0048] 图2为测试模块的示范实施例;

[0049] 图3为用于筒中的测试模块的测试过程的示意图;

[0050] 图4A为用于筒中的测试模块的测试过程的示范图表;

[0051] 图4B为用于筒中的测试模块的测试过程的另一示范图表;

[0052] 图5A为筒的各测试通道内的试剂/反应物的图表;

[0053] 图5B为筒的各测试通道内的试剂/反应物的备选图表;

[0054] 图5C为用于在筒中使用的试剂的范围的图表;

[0055] 图6为测试模块的另一示范实施例;并且

[0056] 图7为微流体盘的示范实施例。

[0057] 应当注意的是,所有附图都是示意性的且未按比例绘制。这些图的部分的相对大小和比例出于附图的明晰性和方便性而尺寸扩大或减小。相同的参考标号大体上用于表示不同实施例中的对应或相似特征。因此,附图和描述被认作在性质上为示范性的而非限制性的。

具体实施方式

[0058] 参看图1,示出了用于测试样本流体的基于膜片的微流体LAL反应物质测试筒10的示范实施例。筒10通过改善测试准确性、减小测量误差(时间、热变化、反应开始、试剂混合和光学测量)、减小样本污染、增大样本通过量、减少总测试时间、使用植入测试验证来提高可靠性,和满足所有全球管理机构和药典要求,从而改善流体样本内的LAL反应物质的测量。用于LAL反应物质的测试使用筒10来自动化,筒10包含微流体和光学方法,该光学方法允许以最少量的使用者输入来完成高密度测试。

[0059] 在实施例中,筒10由上板12和下板14形成,其中,上板12和下板14连结在一起,且

通过粘合剂、超声波焊接而密封或以其他方式熔合在一起,以形成整体筒10。多个测试模块16的至少一部分形成到各个板12、14中,使得当上板和下板12、14连结在一起时,密封且限定测试模块16。在另一个实施例中,将筒10注射模制为单个部件,使得测试模块16整体地形成在其中。筒10由模制塑料形成,但还可由足以提供多个测试通路且相对于在下文所述的测试程序期间使用的试剂和样本为化学不活泼的任何其他材料形成。在实施例中,筒10由聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)、聚苯乙烯、环烯烃共聚物(COC)和乙二醇改性聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET-G)或任何其他可模制和基本上透明的聚合物形成。在实施例中,筒10由压印、热滚花、微铸造、注射模制等形成。

[0060] 在图1-2中所示的示范实施例中,各筒10构造成除空白测试以及形成校准曲线之外接收待测试的流体的二十一(21)个样本,如在美国药典(“USP”) <85>章细菌内毒素测试(下文称为“BET”)中规定的,其标准在此通过引用并入。本领域技术人员将理解的是,尽管本文所示和所述的示范筒10包括形成在其中的二十四(24)个测试模块16,但筒10的其他实施例可形成具有更多或更少的测试模块16。本领域技术人员还应当理解的是,尽管以下论述将参照筒的用于执行在BET中提供的测试阵列的用途,但筒10还可构造成用于任何其他测试方法,以用于测试流体样本和提供校准测试和基线空白测试。

[0061] 在实施例中,如在图1-2中所示,各筒10包括形成在其中的多个测试模块16。各测试模块16为微流体装置或元件,其构造成准确地测量和测试注射在其中的流体。测试模块16包括入口端口18,流体被注射或以其他方式引入入口端口18中并进入测试模块16中。待测试的流体可被人工地或以自动的方式引入入口端口18中。入口端口18流体地连接到储槽20上,流体存在于储槽20中,直到测试序列开始。待在各模块16内测试的流体可穿过入口端口18经由移液管或可准确地测量和输送测得的流体体积的任何其他注射设备来注射。通过以下描述应当理解的是,假定将比测试所需的更多的流体(而不是更少的流体)加至储槽20,则引入各测试模块16中的流体的精确测量不是必需的。一旦流体已经由入口端口18输送,则流体存在于储槽20中。在实施例中,将预先确定体积的流体引入储槽20中来用于测试。在另一个实施例中,储槽20完全填充有待测试的流体,而没有精确地测量引入入口端口18中的流体体积。

[0062] 如在图2中所示,储槽20经由转移通道24流体地连接到第一流体歧管22。第一流体歧管22为长形中空管,其构造成将流体分配至测试通道26中的各个,以及将从出口端口30取得的过多流体转移至出口通道28。当流体进入储槽20中时,流体通过由其物理位置 and 高度引起的储槽20内流体的任何流体静压和由样本润湿通道24的壁而引起的任何毛细管压力来从储槽20行进且行进穿过转移通道24,这导致流体容易经由转移通道24流至第一流体歧管22。第一流体歧管22定位成相对于测试通道26中的各个大致横穿,其中,各测试通道26的端部与沿第一流体歧管22的长度的不同位置流体地连通。转移通道24流体地连接到或邻近第一流体歧管22的第一远端,且出口通道28流体地连接到或邻近第一流体歧管22的第二远端。转移通道24直接地连接到第一流体歧管22,且出口通道28经由第一阀32连接到第一流体歧管22。第一阀32可为选择性地允许流体从第一流体歧管22转移至出口通道28的任何阀。阀的目的在于使一种或更多种流体的精确部分分份以用于分析。

[0063] 在实施例中,第一阀32为爆破阀。爆破阀改变测试通道26的毛细管压力。这通过控制流体表面能和通道尺寸来进行。爆破阀可用于防止流体过早地进入分析部分38。在另一

个实施例中,第一阀32可形成为被动阀,该被动阀是由使用等离子蚀刻的疏水表面处理而生成的,其利用适用于微流体系统的可湿性梯度来操纵表面,如在Katerina Tsougeni等人(2009年11月30日)的“Smart” Polymeric Microfluidics Fabricated by Plasma Processing: Controlled Wetting, Capillary Filling and Hydrophobic Valving中描述的。本领域技术人员应理解的是,第一阀32可通过对出口通道28与第一流体歧管22之间的通路进行表面处理或通过定位在通路内的物理屏障或膜片而形成。在又一个实施例中,第一阀32为机械阀,其可选择性地人工、电气地或通过跨过该处的压差而被促动,以允许流体在第一流体歧管22与出口通道28之间流动。在一个实施例中,可通过将离心力施加到微流体筒来产生压差。在另一个实施例中,阀可为虹吸阀,其设计成用于在向心系统中使用,其中,转速变化触动阀。在又一个实施例中,第一阀32为定位在第一流体歧管22与出口通道28之间的通路内的膜片。

[0064] 第一阀32构造为疏水多孔屏障,以选择性地防止流体从第一流体歧管22自由地流至出口通道28。流体能够选择性地跨过第一阀32从第一流体歧管22转移至出口通道28。在实施例中,流体通过将压差施加到出口端口30来从第一流体歧管22转移至出口通道28,从而在出口通道28内产生负压,这导致第一流体歧管22内的流体跨过或以其他方式流过第一阀32而进入出口通道28中。可使用真空或气压来产生压差,但为了使本文中的阐释容易,压差将称为真空施加。一旦流体在出口通道28内,则流体被隔离在出口通道28内,且将不稀释或干扰之前已分配给测试通道26a、26b、26c、26d的流体。

[0065] 在图2中所示的测试模块16的例示出的示范实施例中,四(4)个测试通道26a、26b、26c、26d中的各个的第一远端流体地连接到第一流体歧管22,其中,测试通道26a-d中的各个与相邻的(多个)测试通道26a-d间隔开。本领域技术人员应当理解的是,尽管示范实施例示出了流体地连接到第一流体歧管22的四个测试通道26,但测试模块16可形成为包括流体地连接到第一流体歧管22的任何数目的测试通道26,以用于接收待由测试通道26测试的流体的一部分。各测试通道26a-d通过第二阀34与第一流体歧管22分开,第二阀34构造成选择性地防止流体在第一流体歧管22与测试通道26之间流动。在实施例中,第二阀34中的各个为与上述第一阀32相同的类型。在另一个实施例中,第二阀34中的至少一个为与第一阀32相同的类型。在另一个实施例中,第二阀34形成为不同于第一阀32的类型。第二阀34可为定位在通路内或由在第一流体歧管22与测试通道26a-d之间的通路的表面处理形成的机械阀、膜片、插入件或膜。各第二阀34可人工地或电气地被促动,或可由于跨过该处的压差而被促动。第二阀34的示范实施例可为爆破阀、通过使用等离子蚀刻的疏水表面处理而生成的被动阀、疏水多孔膜片、机械阀或足以提供在第一流体歧管22与测试通道26a-d中的各个之间的选择性流体流的任何其他类型的阀。

[0066] 在所例示的示范实施例中,如图2中所示,各测试通道26a-d由流体地连接在一起的计量部分36、分析部分38和混合部分40形成。这些部分中的各个可选地由阀或其他疏水屏障和与其相邻的部分分开,阀或其他疏水屏障允许流体在测试通道26的相邻部分之间跨过疏水屏障或阀的选择性移动。计量部分36定位在第一流体歧管22附近,其中,第二阀34定位在计量部分36的一端处。计量部分36位于第一流体歧管22与测试通道26的分析部分38之间。计量部分36为管状通路,其使流体容易地与通过其流动而不会在流体内形成可感知的气泡。

[0067] 第三阀42定位在计量部分36的相对端附近,其中,如图2中所示,第三阀42位于测试通道26的计量部分36与分析部分38之间。第三阀42构造成选择性地防止流体在计量部分36与分析部分38之间的自由流动。第三阀42可为定位在通路内或由在计量部分36与分析部分38之间的通路的表面处理而形成的机械阀、膜片、插入件或膜。第三阀42可人工地或电气地被促动,或可由于跨过该处的压差而被促动。第三阀42中的任一个的示范实施例可为爆破阀、通过使用等离子蚀刻的疏水表面处理而生成的被动阀、机械阀等。

[0068] 在实施例中,如图2中所示的,第一压力端口44定位在第三阀42附近,且与测试模块16的对应测试通道26a-d流体地连通。第一压力端口44以相对于计量部分36大致垂直的方式延伸。第一压力端口44构造成允许在测试通道26内形成真空或压差,以有助于跨过分开测试模块16的部分的疏水表面或疏水多孔膜片移动或拉动流体。疏水多孔膜片(未示出)或其他阀定位在第一压力端口44内,以防止流体通过第一压力端口44从计量部分36取出。如图2中所示,用于各测试模块16的各测试通道26的第一压力端口44流体地且操作地连接到第二歧管46(图1),这允许筒10内的各测试模块16的第一压力端口44中的各个同时操作。通过通过各第一压力端口44形成真空或压差,减小测试通道26的紧邻部分内的压力,从而朝第一压力端口44拉动流体。例如,一旦流体已注射入储槽20中且随后填充第一流体歧管22,则在第一压力端口44处形成真空或压差将流体拉动跨过第二阀34且进入计量部分36中。真空或压差形成足够的压差,以将流体拉入计量部分36中,而不会将流体进一步拉动通过第一压力端口44。

[0069] 各计量部分36的第二和第三阀34、42间隔开预定距离,来将特定体积的流体准确地保持在其间。通过将真空或压差施加到第一压力端口44,精确体积的流体或分份被拉入各测试通道26的计量部分36中。随后剩余在第一流体歧管22中的剩余体积的流体如上文所述那样被穿过出口端口30取出。一旦流体的分份已在第二和第三阀34、42之间的计量部分36内测量和保持,则第二和第三阀34、42可在其间保持流体,而不在第一压力端口44处施加真空或压差。

[0070] 如图2中所示,测试通道26的分析部分38定位在第三阀42和计量部分36的端部附近。分析部分38包括光学室48,其定位在第三阀42与可选的第四阀50之间。光学室48构造成当流体的至少一部分定位在光学室40内时允许使用分光光度测定法来光学地分析和监测流体。光学室48构造成允许准确的光密度测量,且还可用于流体的固定或混合室。光学室48提供在分析的所有阶段监测流体的光密度的能力,分析的所有阶段包括:(1)在(多种)试剂的加入或混合,以便得到材料和读取器基线数据之前;(2)在试剂/反应物的加入或混合之后,但在试剂溶解来得到流体基线数据之前;和(3)在分析和测试过程期间的流体的连续监测。在试剂/反应物的添加或混合之后但在试剂溶解之前,由于来自光学室48表面的光学反射的变化,故光学室48可用于分析存在于其内的流体。可进行其来提供开始点,以改善随后的光学测量的计时的准确性。光学室48可用于通过使用正常光学监测波长下的自然吸收、在正常光学监测波长下使用示踪物、在代替的光学监测波长下使用自然吸收、和/或在代替的光学监测波长下使用示踪物,来验证或检测试剂的正确量。示踪物为不活泼化合物,其被加到流体中来辅助确定体积、流体位置和移动(流体运动)。示踪物还可用于辅助验证测量数据。适合的示踪物包括但不限于染料。光学室48内的流体的连续监测可以以比标准多用途板读取器更频繁的基准来进行,以提供改善的时间分辨率、更好的噪音抑制、更能够

准确地推断到数据的端点。光学室48内的流体的连续监测还可利用专用读取器中的固定光学器件来进行。

[0071] 筒的一个或多个部分可具有改性的表面。具有改性的表面的部分可包括但不限于通道、储槽和光学室。表面可通过本领域技术人员已知的任何手段来改性,包括但不限于应用涂层、辐射、等离子蚀刻或溶解的试剂,其可动态地覆盖表面,以便表面和试剂或样本的相互作用模拟标准微板分析的相互作用,以便满足针对分析的制造商规格或纲要标准。

[0072] 在一个实施例中,微流体通道的表面可被改性来控制生物化学LAL和LAL反应物质相互作用或者控制表面能。利用反应化学制品控制表面化学相互作用的水平可改善生物化学性能的可重复性和准确性。例如,适用于制造筒的材料还可生物化学地抑制或加强LAL或LAL反应物质反应化学性质。材料表面与反应化学制品之间的该生物化学相互作用可通过施加涂层或通过表面的化学改性来控制或减小。此外,筒的未改性表面可具有用于存在于筒中的微流体的非期望的表面能。表面能还可通过化学改性或添加涂层来改变成期望值,以使表面能更亲水或更疏水,或实现这些状态之间的任何其他表面能。通过优化表面能,存在于筒中的微流体也可被优化。

[0073] 修改筒表面的另一个手段包括等离子蚀刻,其中,表面通过使其暴露于等离子来改变,以影响特定的最终表面化学结构。不同的元素可加至等离子,来改变表面的化学性质,例如,氧或氮。附加的手段包括使用永久静态或动态表面涂层。静态表面涂层可加入,以在筒表面上形成层,以改变表面特性。静态表面涂层可作为具有溶剂的溶液施加,且通过表面接枝来干燥或施加,其中,涂层化学地结合到表面。可接枝或作为涂层施加的静态涂层的实例包括但不限于聚乙二醇(PEG)和胶原。动态表面涂层可加至试剂、样本或标准物,且在流体在筒内移动时在现场对表面进行涂布。当涂层材料添加至储存在筒内的标准物时,它们也可储存,而在不需要标准物的测试通道中没有这些标准物。动态涂层的实例包括但不限于PEG和表面活性剂类脱氧胆酸钠。

[0074] 在一个实施例中,光学读取器(未示出)包括固定光学构件。固定光学构件可包括低成本LED和光电二极管。读取器可包括带通滤波器以提高光学测量的准确性。读取器还可被调制或电子地斩波来提供光噪音的降低、拒斥环境光和拒斥漫射光。读取器还可包括多路复用光学构件,使得监测点的矩阵对于各行或各列可具有单个构件,且使用时间多路复用读取方案来降低构件成本。光学构件如窗口、暗视野、孔口、透镜、反射镜或扩散体还可并入微流体筒自身中,以提供光径的一部分或提高系统的稳定性或灵敏度。

[0075] 适合的读取器可使用或执行多种光学感测方法和测量,包括但不限于透射、吸收、光密度、颜色、色值、色调、光谱、浊度、漫射光、化学发光和荧光。

[0076] 感测到的光可为单波长或光谱带,或多波长或带。多光带可用于增大信号或减小干扰和噪音。例如,在多个频率下监测光密度的变化可减小非稳定样本颜色的干扰。

[0077] 使用的感测方法能够远程地感测流体的变化,包括更复杂的光学方法,如,拉曼光谱法、磁共振和表面等离子共振,以及非光学方法,如,电容、粘性、磁性、声阻力和声折射。

[0078] 如图2中所示,第四阀50为可选的阀,其定位在各测试通道26的分析部分38与混合部分40之间。类似于第一、第二和第三阀32、34、42,第四阀50构造成在测试通道26的两个相邻部分之间提供选择性屏障,由此选择性地防止流体在第四阀50上流动或流过第四阀50。第四阀50构造成选择性地防止分析部分38与混合部分40之间的流体流。第四阀50可为定位

在通路内或由分析部分38与混合部分40之间的通路的表面处理形成的机械阀、膜片、插入件或膜。第四阀50可人工地或电气地被促动,或可由于跨过该处的压差而被促动。第四阀50中的任一个的示范实施例可为爆破阀,通过使用等离子蚀刻的疏水表面处理而生成的被动阀、机械阀等。

[0079] 如图2中所示,第四阀50定位在各混合部分40的一个远端处,且第二压力端口52定位在混合部分40的相对的远端处。第二压力端口52与测试模块16的对应测试通道26a-d流体地连通。第二压力端口52以相对于混合部分40基本上垂直的方式延伸。第二压力端口52构造成允许真空或压差在测试通道26内形成,以辅助跨过分开测试模块16疏水表面或的部分的阀移动或拉动流体。疏水多孔膜片(未示出)或其他阀定位在第二压力端口52内,以防止通过第二压力端口52从混合部分40取出流体。如图2所示,各测试模块16的各测试通道26的第二压力端口52流体地且操作地连接到第三歧管46(图1),这允许筒10内的各测试模块16的第二压力端口52中的各个同时地操作。通过穿过各第二压力端口52形成真空或压差,测试通道26的紧邻部分内的压力减小,从而朝第二压力端口52拉流体。例如,一旦流体已转移到计量部分36中,则在第二压力端口52处形成真空或压差将跨过第三和第四阀42、52拉动流体且将其拉入混合部分40中。真空或压差形成足够的压差,以将流体拉入混合部分40中,而不进一步拉动流体穿过第二压力端口52。

[0080] 混合部分40为长形管状结构,如图2所示,其形成测试通道26的与第一流体歧管22相对的端部。测试通道26的混合部分40构造成允许正被测试的流体在混合部分40内与试剂或其他物质混合。试剂或待与流体样本混合的其他反应物可预载到混合部分40中,或试剂或其他反应物可在测试过程期间引入混合部分40中。在实施例中,混合部分40的体积大于计量部分36的体积,以允许流体在混合部分40内适当地混合。混合部分40构造成允许流体交替地被朝第二压力端口52和朝第一压力端口44吸入,从而使其沿包括混合部分40的通道26来回移动,从而动作流体与其内的任何试剂或反应物混合。

[0081] 储槽20、转移通道24、第一流体歧管22和测试通道26的表面构造成允许流体在其内流动。这些表面还允许流体在测试模块16的各部分内的毛细管移动,其中,流体的移动由第一、第二、第三和/或第四阀32、34、42、50选择性地阻止。测试模块16构造成通过形成压差来使流体从测试模块16的一个位置或部分移动到另一个,该压差导致流体跨过测试模块16的部分之间的阀和其他屏障。

[0082] 如图3中的步骤100所示,筒10的测试模块16内的示范测试过程或方法包括借助于入口端口18将流体沉积到储槽20中。流体然后借助于转移通道24从储槽20转移到第一流体歧管22。下个步骤102包括在计量部分36内形成精确地测量的流体分份。这可通过借助于第二流体歧管46(图1)将真空施加到第一压力端口44中的各个而在测试通道26内产生压差从而进行,其中,该真空导致计量部分36(流体的下游侧)内的压力小于储槽20内(流体的上游侧)的压力。计量部分36内的压差导致流体流动跨过第二阀34且流入各计量部分36中。真空可同时在测量模块16的所有第一压力端口44处形成。在另一个实施例中,真空顺序地或不同时地形成,以将流体吸入计量部分36中。真空施加到各第一压力端口44上,直到计量部分36中的各个被完全填充,其中,精确量的流体容纳在第二和第三阀34、42之间。一旦流体的分份定位在计量部分36中,则第一压力端口44处的真空停止。

[0083] 在流体分份容纳在测试通道26的计量部分36中的各个中之后,剩余在第一流体歧

管22、转移通道24和储槽20内的过量流体转移入出口通道28中,如在图3中的随后步骤104中指出的。通过将真空施加到出口端口30来取出流体,这导致出口通道28(流体下游侧)内的压力小于第一流体歧管22(流体的上游侧)内的压力。出口通道内的压差导致流体流动跨过第一阀32且流入在出口端口30处停止的出口通道28。流体被隔离在出口通道28中,且不会稀释或干扰之前已分配到测试通道26a、26b、26c、26d的流体。一旦所有过量流体储存在出口通道28中,则施加到出口端口30的真空可停止,但出口端口30应关闭排放,以便防止储存在出口通道28内的流体不被吸回第一流体歧管22中。

[0084] 在流体分份处于计量部分36中的各个中之后,用于测试模块16的测试过程接下来包括将流体分份从各计量部分36转移到分析部分38中,或转移到分析部分38和混合部分40中(当没有第四阀50时),如由图3中的步骤106指出的。一旦流体的至少一部分在分析部分38内,则在流体接触混合部分40内的任何试剂或反应物之前使用光谱测定法或任何其他光学测量过程来分析流体,如由图3中的下个步骤108指出的。通过借助于第三流体歧管54(图1)将真空施加到第二压力端口52中的各个而在混合部分40内形成压差,从而将流体拉入分析部分38中,或拉入各测试通道26的光学室48和混合部分40中,其中,该真空导致混合部分40内(流体的下游侧)的压力小于第一流体通道22内(流体的上游侧)的压力。混合部分40内的压差导致流体的分份流动跨过第三阀42且流入各分析部分38中。真空可在测试模块16的所有第二压力端口52处同时形成。在另一个实施例中,真空顺序地或非同时地产生,以将流体吸入分析部分38中。真空施加到各第二压力端口52,直到流体的整个分份流动跨过第三阀42且可测量的量的流体包含在分析部分38中。一旦流体的整个分份位于分析部分38内或进入光学室48和混合部分40中,则第二压力端口52处的真空停止,且在光学室48中分析未反应的流体。

[0085] 为了用于测试模块16的测试过程(其中,测试模块26包括定位在分析部分38与混合部分40之间的第四阀50),将真空施加到第二压力端口52,直到流体的整个分份转移到光学室48中的各个中,且容纳在第三和第四阀42、50之间,如由图3中的步骤106指出的。一旦流体的整个分份定位在各测试通道26的分析部分38内,则第二压力端口52处的真空停止,从而允许了分析光学室48内的未反应流体,这由图3中的步骤108示出。一旦已经分析流体,则流体的整个分份通过施加真空到第二压力端口52上而转移至混合部分40,以产生穿过流体的压差来将流体吸过第四阀50,如由步骤110示出的。在流体分份转移至混合部分40之后,第二压力端口52处的真空停止。

[0086] 一旦流体分份位于各测试通道26的混合部分40内,或位于分析部分38和混合部分40内,则流体在混合部分40内与试剂/(多种)反应物混合,如由图3中的步骤112示出的。在实施例中,混合部分40内的试剂/反应物预载或预先沉积在混合部分40内,使得试剂/反应物在开始测试模块16的测试过程之前位于混合部分40内。

[0087] 在另一个实施例中,混合部分40内的试剂/反应物在开始测试模块16的测试过程之后被引入混合部分40中。使流体与试剂/反应物在混合部分40内混合涉及交替地施加真空至第一和第二压力端口44、52,同时确保没有真空施加到相对的压力端口,因而导致流体朝各相应压力端口移动,以导致流体在混合部分40内移动,以允许流体和试剂/反应物混合。在实施例中,施加连续的真空,其中,真空施加到第一或第二压力端口44、52,同时相对的压力端口没有施加到其的真空,且真空在第一与第二压力端口44、52之间交替。在另一个

实施例,真空施加到第一或第二压力端口44、52中的一者,以导致流体朝其移动,且然后在将真空施加到第一或第二压力端口44、52中的另一者来导致流体在混合通道40内沿相反方向移动之前停止真空以预定时间量。本领域技术人员应当理解的是,还可存在预定的停留时间,其中,没有真空施加到第一或第二压力端口44、52。真空施加到第一和第二压力端口44、52中的各个的次数可取决于混合部分40内的测试或试剂/反应物的特定类型来变化,但本领域技术人员应当理解的是,流体可朝压力端口中的各个移动任意次,以充分地混合流体和试剂/反应物。

[0088] 筒10的微流体性质提供了其内的流体的段塞流(团块混合)。微流体涉及进入和离开室和通道的流,其中,流动通路取决于方向而变化。

[0089] 在另一个实施例中,一旦流体分份与混合室40中的试剂/反应物彻底地混合,则整个流体分份转移至分析部分38来与试剂/反应物继续反应,且在光学室48内的时间段内分析和监测混合流体。

[0090] 如图3中的步骤114所示的,用于测试模块16的测试过程中的随后步骤包括将反应流体转移至各测试通道26的分析部分38。该转移步骤通过将真空施加至第一压力端口44,同时第二压力端口52处的真空停止来实现,以导致流体的至少可测量的部分移动或流动到分析部分38的光学室48中。一旦至少可测量的量的反应流体转移到光学室48,则如图3中的步骤116所示,下个步骤包括执行反应流体的光学分析。在实施例中,测试模块16内的各反应流体的该光学分析为测试模块16的测试过程的结尾。在另一实施例中,在完成第一光学分析之后,反应流体可转移到混合部分40中,以用于进一步混合或允许用于进一步反应的反应流体附加时间,其中,反应流体可返回到光学室48以用于随后的光学分析。如果需要,则这些步骤可重复,以获得一定时间内的反应流体的附加数据。

[0091] 图4A例示出了用于测试模块的测试过程的示范概述。压力以厘米静压头示出,其中负压指示真空,且阀压力示为正压。第一阀34由膨胀聚合物阀或限制物形成,以允许在步骤5、6和7期间来自第一压力端口42的真空。

[0092] 图4B示出了用于测试模块的测试过程的另一示范概述。压力以厘米静压头示出,其中,负压指示真空,且阀压力示为正压。第一阀34由膨胀聚合物阀或限制物形成,以允许在步骤5期间来自第一压力端口42的真空。

[0093] 如上所述,筒10的示范实施例包括形成在其中的二十四(24)个测试模块16,其中,各测试模块16构造成测试单独的流体。图5A示出了具有二十四(24)个测试模块的筒10的各混合部分40内的试剂/反应物,其中,各测试模块16包括四(4)个测试通道26。图5B例示出了具有二十四(24)个测试模块的筒10的各混合部分40内的试剂/反应物的另一实施例,其中,各测试模块16包括四(4)个测试通道26。图5B的表格指出了,如图5C所示,最低、中间范围和最高内毒素水平取决于特定筒10的范围,其中,单个筒10内的范围水平对于各测试模块16而言是相同的。图5C中的不同范围的单位为EU/mL(每毫升内毒素单位)。使校准重复平均,以生成校准曲线。负控制必须在统计上不同于最低校准水平。对于各报告值,使样本分析重复平均。使正控制掺杂物平均,且掺杂分析与基本分析之间的差异必须在有效分析的中间范围值的50%到200%内。图5A-5B中所示的各示范筒10的校准分析基于三重重复控制。图5A-5B中所示的表中的点指出了过渡值的存在。过渡值可由本领域技术人员容易地确定。

[0094] 在另一个实施例中,在可接受非纲要方法或已经验证为对于管理机构而言等同和

可接受的情况下,可使用基于历史测量数据的储存校准来替代来自独立标准的结果。

[0095] 图6示出了筒10及其构件的另一示范实施例。在操作中,第一步骤包括将液体LAL加到A以及将流体样本加到B,其中,体积略微超过执行用于测试模块的测试过程所需的体积。接下来,在F和G处施加真空来填充分配通道R和S。处于比将克服爆破阀L低的压力下的真空然后施加到M处,因而以计量的样本或LAL分份来填充通向各光学通道N的分支。接下来,真空施加在J和K处,其中,F和G未排放,以用过量的试剂和LAL填充H和I,清空R和S。真空然后在F排放(且G未排放)的情况下施加到P,这将把流体样本拉入混合通道Q中。在M与P之间交替施加真空使流体样本在Q内来回穿梭,以导致与LAL反应物质(如果存在)的混合。接下来,在M处施加真空使流体样本移动入光学室中。一旦流体样本处于光学室中,则下个步骤包括关闭去往F的排放且使G排放,其中,真空施加到P来将流体样本拉来,流体样本后面跟着LAL试剂。随后的步骤包括在M和P处使真空交替,以使这两种流体在Q内来回穿梭,从而使它们混合在一起。真空然后施加到M处,以使样本移动入光学室N,在该处监测反应。

[0096] 筒的形式和形状不限于以上几何形状。筒还可为芯片或盘形。备选的适合几何形状还可由本领域技术人员想到,且在本发明的范围内。

[0097] 图7示出了筒10的另一示范实施例,其中,筒为微流体盘的形式。该微流体盘可具有上述筒10的所有构件和元件,包括但不限于多个测试模块、入口端口、测试通道、计量部分、分析部分、混合部分、阀等。图7示出了微流体盘56的实施例的布局,其在盘56中心中具有用于毂58的孔,以可移除地安装到读取器(未示出)的心轴上来使盘自旋。

[0098] 心轴可连接到马达(未示出),从而允许由马达使盘56自旋。将预计到的是,马达可为能够旋转盘56的任何类型的机械促动器。盘可在足以将离心力施加到其中的流体样本的速度下旋转,且推动测试通道内的分份移动跨过阀。通过在变化的速度下旋转,此种系统还可通过由之前的流体运动形成的力、流体压力或气压的变化来执行整个网络的所有所需的流体运动。

[0099] 独立的样本、样本部分、基准或对照物、或基准或对照物的部分可通过分成测试区域60的成组光学室48来分析。在盘56的典型实施例中,径向测试区域60以径向样式布局。然而,应预计到的是,本领域技术人员可选择另一样式。

[0100] 各测试区域60可包括流体网络64。各流体网络64可包括储槽20。样本或基准、试剂或标准物可置于储槽20中,较接近盘56的毂58。当盘56旋转时,流体将朝盘56的外缘52移动穿过打开的测试通道26。在一些实施例中,测试通道26还可包括计量部分36和混合部分40,以在它们朝光学室48移动时对样本进行分份和混合。如上所述,混合部分40可预载试剂、标准物或其他反应物。

[0101] 在盘56的大多数实施例中,加入储槽20中的样本通常将分成四个分份,其中,各分份输送至单独的光学室48。这是因为当前的纲要要求是对各样本是分析四次,两次不进行添加,且两次具有添加正控制。这还便于校准和负控制分析,因为这些的“通用”实施可要求将LAL试剂水用作样本的十二(12)次分析,这可容易地通过使用相同布局的3组4次分析来实现,其中,三个储槽20将设有样本,且各储槽20中的样本将分成四个分份,且提供至独立的光学室48,从而形成所需的十二(12)次分析。构想盘56的一些实施例可使用来自单个较大储槽20的12宽布局,其中,单个储槽20将设有样本,且样本将分成十二个分份且提供至独立的光学室20,从而形成所需的十二(12)次分析。将构想出的是,提供样本至12次分析的实

施例中的储槽20将大于提供样本至四次分析的实施例中的储槽20。

[0102] 在盘56的一些实施例中, 阀控制流体网络64中的流体流。上述阀可实施为执行此种动作, 以便临时地或永久地停止流体流, 以调节穿过盘的流体流, 且调节在盘56中发生的反应过程。一种类型的阀为爆破阀。爆破阀使用通道表面能和毛细管力来控制流体流。已知毛细作用通过芯吸或以其他方式沿小通道向上吸流体来传送流体。流体的表面张力提供驱动力, 因为流体欲润湿通道壁, 从而使流体沿通道向上吸其自身, 直到通道中的压力等于表面张力驱动力。相同的表面张力还可用于通过由疏水材料构成壁, 或替代亲水材料利用疏水材料涂布通道的壁, 来阻止流体流过通道。疏水材料排斥水, 而亲水材料吸引水(润湿)。一种示范疏水材料为疏水微多孔膜片, 其由于材料孔径大小而允许空气但不允许水穿过。疏水微多孔膜片孔的小尺寸需要为毛细管压力形式的较大压力来迫使水穿过孔。该毛细管压力取决于通道中的流体的表面能、通道材料或内部通道涂层的表面能, 以及通道的尺寸和几何形状。盘56可由多种材料制成, 包括但不限于聚苯乙烯、环烯烃共聚物和乙二醇改性聚对苯二甲酸乙二醇酯。在盘56的一些实施例中, 可加入碳来使聚苯乙烯为黑色, 以有助于光学吸收方法。

[0103] 各筒10包含: 至少一种样本流体, 其自身由标准分析和两种正控制的至少两次重复构成, 即, 掺杂有LAL反应物质; 和以至少3个点和负控制(空白)形成的校准曲线, 各自具有至少2(或3)次重复。

[0104] 当掺杂物由干的标准物制成时, 样本和试剂的体积等同于其他分析和校准测试。当掺杂物为液体时, 其可作为“热掺杂物”加入, 其为行业中可接受的方法、由制造者推荐的方法, 和由管理者接受的方法。在该方法中, 将期望的掺杂物浓度的10倍的标准物溶液加到样本。添加的标准物的体积为样本体积的10%。加入标准量的LAL试剂, 且在具有比标准非掺杂室的长度长5%的通路长度的室中监测所得的混合物。这模仿在微板中使用的热掺杂方法, 其中, 组合的样本和试剂的体积, 且因此光学柱和通路长度比热掺杂样本大5%。

[0105] 在另一个实施例中, 空白水可用作用于空白分析的样本的源, 且在最高水平处分配和稀释单个标准物。因此, 标准物按需要通过分配、精确计量和混合来稀释, 以产生其他标准物或掺杂物。例如, 空白水和最高水平的标准物可加入筒中。加入的空白水然后可如用于具有3次重复的空白分析那样地使用。加入的最高水平的标准物也如用于具有3次重复的最高水平的标准物分析。微流体网络然后可用于计量空白水和最高水平的标准物的量, 且使它们混合来形成一个或更多种中间水平标准物。计量和混合步骤可针对各次重复单独完成。类似地, 最高水平标准物或中等水平标准物(其需要从使用其的分析中“留下”)中的一些和附加的空白水可用于产生最低水平标准物。如果标准水平在各个步骤处降低90%, 则第一稀释将为1:9(1份标准物对9份空白水)。最低水平可由中等水平的标准物的另一1:9稀释或最高水平标准物的1:99稀释来产生。

[0106] 各筒10在开始筒的测试过程之前填充有流体样本。流体输入到入口端口18中, 其中, 流体可人工地或自动地输入。一旦流体输入到相应入口端口18中, 则筒10插入读取器(未示出)中, 该读取器构造成流体地连接到筒10的上表面上的第二和第三流体歧管46、54(图1)。在将筒10插入读取器中之后, 开始如上所述的模块的测试过程。在模块的测试过程期间, 当流体位于光学室48内以用于光学分析时, 读取器构造成进行光学测试, 如光谱测定法、记录分析的数据, 和编辑记录的数据。

[0107] 筒10相比于用于测试LAL反应物质以及任何其他流体测试的标准微板方法提供更快的分析时间。筒10与典型的微板相比需要少得多的制备时间,从而导致更少的污染机会,更容易整体结合到其他实验室任务中,和更低的成本。微流体测试筒10满足用于浊度计或显色技术的USP<85>细菌内毒素测试的所有有效测试要求,包括准备测试,其包括确保干扰因素的校准曲线和测试的标准,这包括测试程序、计算,且解释(在用于注射的水的情况下)为结果小于0.25EU/mL,且在产品的情况下,内毒素小于产品的限制。没有试剂与连接入口端口18和光学室48的测量通道36的衔接,以允许在试剂与流体的添加或混合之前的流体样本的初始关键光学性能测量。此外,各流体样本、空白和校准LAL反应物质测试可在内部验证。

[0108] 筒10还可包括验证测试或分析的手段。如在本文中使用的,“验证”意思是证实、确认分析或分析的过程的质量或确定其确实性。当验证分析的适合性时,可使用纲要方法,其中,至少两个正控制(在校准范围中间处的掺杂有LAL反应物质的样本)、三个负控制(空白)和由制造者或纲要指定的任何其他参数。正产品控制掺杂物必须满足纲要要求(50%到200%掺杂物产量之间)、负控制(最低水平与空白之间的差异,其中,空白具有较低的响应水平),和制造者规格(例如,0.005EU/mL样本与空白之间的差异,或某些标准物的起效时间极限)。如果这些分析成功,则它们验证系统和试剂是按规格操作的。为了验证,数据流意思是数据流的行为在统计上对应于基于历史测量数据或检测试剂与LAL反应物质之间的反应的已知反应动力的预期行为。这示出了数据流由基于LAL反应的分析室中的变化生成,而不是基于一些异常如气泡的室或光径中的变化生成。最终,这种差异自身将由在不同试剂和大量且引起的异常上的多次测试以确认其操作,包括但不限于样本关键光学性能空白读取、混合样本/试剂/可选LAL反应物质、初始光学读取、关键光学质量的变化和变化率的流畅性、与理论预计变化的紧密拟合性、数据噪音水平的预期,等。如果测试结果显示为不正确的,则将停止模块的测试过程,且将发送错误消息,而不产生LAL反应物质测量结果。

[0109] 筒10构造成防止由流体样本引入误差。在实施例中,筒10包括流体样本的放置的视觉反馈,其可包括彩色或标记区域或其他主动光学反馈。筒10还构造成使移液误差最小化。各个流体样本均针对多个测试自动被分份。各个流体样本注射到一个储槽20(优选大约100 μ l的流体),且分成4等分的流体分份以满足USP<85>细菌内毒素测试标准的要求。在实施例中,在测试模块16的计量部分36中测得的各个分份体积比25 μ l(引入储槽的流体体积的四分之一)小10%,以使使用者的样本引入误差最小化。使用者仅将流体样本和LAL反应物质自由水(空白水)注射入筒10中。由于将减少量的流体样本用于测试,故测试过程需要类似的较少量的试剂,且减少量的所需试剂导致LAL反应物质的较廉价的测试。

[0110] 筒10还构造成预测BET的测量结果。筒10包括通过监测作为时间的函数的关键光学性能(透射、吸收、浊度、化学发光或荧光)和应用各种预测算法来准确地预计或预测样本中的内毒素或其他LAL反应物质的浓度。预测用于加速至最终结果的测量时间。筒10还允许在光学分析期间从噪音的信号提取。筒10还提供了使用动力反应模型或其他反应模型。如本文使用的“预计”或“预测”意思是评估在将来的指定时间将具有的量的大小。预测可通过本领域技术人员已知的任何方法来实现,包括但不限于任何线性或非线性方法,其以如下这种方式处理数据:使得信息保持适合且可关于将来时间的数据行为来进行预测。预测方法包括但不限于曲线拟合和外推。

[0111] 筒还包括使用疏水膜片和穿过膜片的多个样本移动的可选的主动流体样本脱气。可选的是,脱气可在样本并未移动时实现,且通过减小一侧上的压力来与膜片静态接触,以从液体除去气体或直接从气泡除去气体。其他除气泡或脱气的方法包括a)通过加压流体的一部分、所有流体或整个流体结构来消除气泡,以便气体不会转移出液体,或b)通过将它们捕集在制作成防止气泡传播的装置(如,膜片或限制物矩阵)中来消除气泡。活性剂也可使用,其减少气泡形成,如,表面活性剂和防沫剂,且这些可在筒中固定或由使用者引入。

[0112] 筒10包括指出哪个入口端口将由使用者填充的方式,其中,选择在于使进入数据收集界面的样本的输入标签或标识、包括计算的结构的自动分析、使用者所需的所有结果的自动报告关联,以满足法规要求。筒读取器或制备装置还可包括限制样本进入入口端口来确保正确样本引入的手段。筒10还允许界面生成报告以包括筒上的相关信息和试剂批号、年份和保质期极限。例如,筒的信息或标记可人工地或自动地转移至读取器且记录。

[0113] 疏水膜片利用施加适合的压力或真空到膜片的外侧上来在筒10中用于刺激样本流体分份。该刺激手段用于精确地测量流体样本的分份,通过流体分份的移动来将试剂混合到流体样本中,以及将分份精确地定位在光学室48中来测量和分析。疏水片或膜片可用于有助于将流体分份定位在筒中,且可用于产生爆破阀来进一步改善测试模块16内的样本流体分份的定位。

[0114] 试剂(包括LAL、LAL反应物质和可选的显色试剂等)可通过任何实用手段来预载在筒中的正确水平下,包括将试剂固定在测试通道26的壁上,加入各种形式(球、粉末或珠)的可溶解试剂,或附接到插入筒10中的可溶解和非可溶解的膜上或形成物上。

[0115] 筒10构造成减少或消除污染。器件可用于密封入口端口、出口端口和第一压力端口和第二压力端口,以阻挡水、氧气、环境内毒素和细菌及其他LAL反应物质的传输。筒10还可包括在筒制造和储存期间将干燥试剂保持在小于4%的相对湿度下的器件。

[0116] 光学读取器(未示出)可包括加热器或其他设备来将筒加热至受控温度,优选在引入流体样本之前。光学读取器可构造成在反应之前、期间和结束时测量光密度。筒10的其他实施例可构造成测量结合第二单独加热器或加热设备来预热使用的标准市售微板读取器中的关键光学质量,且刺激样本定位至流体分份,使试剂与流体样本混合且将流体样本置于光学室48中。筒10然后可置于标准微板读取器中进行反应分析和LAL反应物质测量。

[0117] 如上文所述的筒10可包括试剂/反应物,例如,如,LAL、LAL反应物质和/或显色试剂。试剂/反应物通过使用缓慢或快速干燥方法添加添加剂来在很长保质期内稳定。试剂/反应物可构造成在与流体样本重新构成时控制溶解速率。缓慢干燥和快速冻干两者都可基于证实能够再溶解而不失去对LAL反应物质测量的灵敏度来使用。从细菌提取高热自然材料可用于产生很快可溶的材料,防止生物分子聚集,且具有良好的稳定性。试剂/反应物沉积在测试模块16中来控制沉积的准确性、隔离不同试剂成分来防止过早相互作用,且从最佳物理布置优化混合。试剂设计成快速溶解来提高光学测量的准确性。溶解速率应当受控以便与流体样本的混合具有最高效率。试剂的溶解可受控,以便光学分析可在已知或预定时间开始,这提高了光学测量的准确性。

[0118] 气泡可干扰流体的运动和流体的光学性质,且其控制对于稳健的分析系统很重要。流体样本内的气泡可通过以下避免:(1)干燥试剂/反应物以便气泡不会在利用流体溶解期间生成;(2)流体通道设计成避免生成气泡;(3)流体运动设计成避免生成气泡;(4)测

试通道26的表面形成为以便不产生气泡核；(5) 筒10组装成以便不产生气泡核；以及(6) 使试剂稳定以便不产生气泡核。此外，如果任何气泡保持在样本中，则气泡将示为验证过程中的异常，且可拒绝分析。

[0119] 基于膜片的微流体筒10使用真空或压力来刺激通道和其部分内的流体移动。作为备选，流体可通过筒的旋转来刺激。在实施例中，筒10使用(多个)疏水微多孔膜片和通道几何形状的组合来准确地控制流体样本的分份。在另一个实施例中，筒10使用(多个)疏水微多孔膜片和表面能的组合来准确地控制流体样本的分份。在另一个实施例中，筒10使用(多个)疏水微多孔膜片和几何形状的组合来准确地定位流体样本，特别是用于光学测量。在又一个实施例中，筒10使用疏水微多孔膜片和表面能的组合来准确地定位流体样本。筒10可使用由穿过膜片的二次流生成的部分真空。在另一个实施例中，筒10为微流体系统，其中，流体由毛细管力刺激和控制。

[0120] 在另一个实施例中，容积泵如注射器泵在图2中所示的四个压力端口52处附接到测试模块16上。容积泵用于通过使相应四个分份移动至第三阀42处的位置来使容纳在储槽20、第一流体歧管22和转移通道24中的液体样本分份。在此时间点处，储槽20、第一流体歧管22和转移通道24中的过量样本移动入出口通道28中，且作为废物从系统除去或吸取，仅留下空气在第一流体歧管22中。容积泵然后施加真空至压力端口52来使样本移动入光学室48来进行可选的初始空白光学测量。初始空白测量可用于确定样本是否完全填充光学室48或是否系统中存在气泡。这是可能的，因为在光学室48中存在气泡时和在仅有水样本完全填充光学室48时光信号很不同。然后，样本移动到混合部分40中，可选的试剂和可选的LAL反应物质位于该处。容积泵然后用于使移动方向反向，且使样本从混合部分40移回光学室48来完全填充其。可选的是，样本移入计量部分36更远，直到光学室48的光学质量示出气泡的存在且流动停止。组合样本和试剂材料朝第二压力端口52移回，完成一次混合循环。该过程可重复多次，直到混合完成。混合试剂和样本水所需的来回移动的数目可由之前的实验确定为固定的。作为备选，混合过程可被监测且在混合样本和试剂的光学性质停止变化时停止。这通过检测各个混合循环期间来自混合的样本和试剂的光反应的变化来测量。应当注意的是，光学性质仅在光室完全充满且没有气泡存在时测量。

[0121] 在另一个实施例中，可选的疏水膜片可用于阀42。真空可施加到膜片的非液体侧上。真空可用于在混合物来回移动穿过测量部分40使样本和试剂混合物脱气。一旦样本和试剂混合，则它们移动到光学室48，且光学性质或其他性质作为时间的函数被测量，以确定存在于所选反应温度下的LAL反应物质的量。该实施例如先前实施例中描述的那样简单，因为其可在没有阀32、34和42的情况下使用。流体定位通过泵的体积移动的精确控制或来自测量光学室48中液体或液体的缺乏的光学传感器的光学反馈来实现。该实施例可具有与各个压力端口52相关联的单独的容积泵，或一个泵可经由歧管54连接到多个压力端口52上。此外，该实施例可用于联机LAL反应物质检测模式，其中，各个流体段34、36、40和48可在位置34处单独地与环境密封。当端口附接到其上，其包括从水系统联机收集的新鲜样本，则可破坏密封。流体段34、36、40和48的数目可从一个变到四个或更多。以此方式，具有许多此类流体段的筒被制造出且载入样本收集装置中，该装置具有端口，端口将新鲜样本输送至各个流体段上的相应密封端口34。筒或样本收集装置可移动至与密封端口34的各个新连接。该途径可以以满足法规要求的方式或以仅适用于没有规定方法的所有测量和验证元件的

过程控制的方式来操作。

[0122] 在本发明的另一个方面中,单个样本分成单独的部分,分配到独立的微流体网络中,且对于各个独立测试分份。在所有情况下,样本体积不需要精确,而是仅足够覆盖所有分份且不使其在设备上溢流的程度。

[0123] 另外,段可布置在单个或多个筒上,使得段可正常地储存在环境中,其中,试剂具有长期稳定性,如,低温,且段或成组的段可移出该储存区域且移入调节状态来分析的区域,如,加热至37℃,以执行实际的试验。

[0124] 在本发明的一方面中,提供了用于测试流体样本的微流体筒。筒包括至少两个测试模块,其中,各个测试模块包括用于接收一种流体样本的入口端口,以及与入口端口流体地连通的至少四个测试通道。测试通道中的各个可包括用于计量流体样本的分份的计量部分、分析部分,以及混合部分。阀可定位在计量部分与分析部分之间,以选择性地计量部分与分析部分流体地分开。各个测试模块均可具有带在隔离在其中的至少一种试剂的至少一个测试通道。

[0125] 在另一个实施例中,至少一个测试模块为包括至少八(8)个测试通道的校准模块。至少两个通道可没有其中的LAL反应物质,至少2个通道可具有隔离在其中的第一量的LAL反应物质,至少2个通道可具有隔离在其中的第二量的LAL反应物质,且至少2个通道可具有隔离在其中的第三量的LAL反应物质。在另一个实施例中,第一、第二和第三量可相同或不同。如果使用内毒素,则第一量可选择成使得当内毒素在溶液中时,浓度范围从0.005到0.5EU/mL。类似地,第二量可范围从0.05到5.0EU/mL,且第三量可范围从0.5到50EU/mL。

[0126] 在又一个实施例中,至少一个测试模块为样本测量模块,其包括至少四(4)个测试通道。至少两个通道可没有其中的LAL反应物质,且至少两个通道可具有隔离在其中的具有第四量的LAL反应物质的掺杂物。如果使用内毒素,则第四量可选择成使得当内速度在溶液中时,“掺杂物”具有说明书之前描述的特征。

[0127] 在另一个实施例中,所有测试通道可具有隔离在其中的至少一种附加试剂。附加试剂可包括检测试剂。在另一个实施例中,微流体筒还可包括与入口端口流体地连通来除去过多的流体样本的出口端口。

[0128] 在又一个实施例中,阀构造成允许真空、离心力或气压刺激分份穿过阀以从计量部分流至分析部分。在另一个实施例中,微流体筒还可包括定位在计量部分内且邻近分析部分的端部的第一压力端口,以用于在测试通道内产生压差。在又一个实施例中,微流体筒还可包括定位在混合部分内来在测试通道内产生压差的第二压力阀。

[0129] 在另一个实施例中,分析部分可包括光学室来接收分份的至少一部分以用于流体样本的光学测量。在另一个实施例中,混合部分可构造成允许分份在混合部分内与试剂混合。在又一个实施例中,试剂可在混合部分内固定。

[0130] 在本发明的另一个方面中,提供了一种用于测试LAL反应物质的至少一个流体样本的方法。该方法包括提供微流体筒,其中,筒包括至少两个测试模块,其中,各个测试模块均包括用于接收一种流体样本的入口端口,以及与入口端口流体地连通的至少四个测试通道。测试通道中的各个可包括用于计量流体样本的分份的计量部分、分析部分,以及混合部分。阀可定位在计量部分与分析部分之间,以选择性地计量部分与分析部分流体地分开。该方法还可包括将至少一个流体样本引入至少一个入口端口中。该方法还包括将微流体筒

引入光学读取器中来光学地测量微流体筒中的至少一个流体样本。该方法还包括在微流体筒中在样本中的各个上执行测试过程,以及记录来自测试过程的测量数据。

[0131] 在另一个实施例中,该方法还可包括推动分份中的各个从计量部分到分析部分,以用于各测试通道的分析部分中的光学测量。在又一个实施例中,真空、离心力或气压可刺激分份流穿过所述阀从计量部分到分析部分。在另一个实施例中,各个测试模块均可包括至少一个压力端口,真空或气压可施加到端口上来在测试模块内产生压差,以刺激分份的流动。

[0132] 在又一个方法实施例中,流体样本可人工地或以自动方式引入入口端口中。

[0133] 在本发明的另一个方面中,提供了一种用于测试LAL反应物质的至少一个流体样本的方法。该方法包括提供微流体筒,其中筒包括至少两个测试模块,其中,各个测试模块均包括用于接收一种流体样本的入口端口,以及与入口端口流体地连通的至少四个测试通道。测试通道中的各个可包括用于计量流体样本的分份的计量部分、分析部分、以及混合部分。阀可定位在计量部分与分析部分之间,以选择性地将计量部分与分析部分流体地分开。该方法还可包括将至少一个流体样本引入至少一个入口端口中。该方法还包括在微流体筒中在样本中的各个上执行测试过程,以及记录来自测试过程的测量数据。在另一种方法中,微流体筒可在将流体样本引入入口端口中之前引入光学读取器中。在另一方法中,流体样本可在测试过程期间与试剂混合。在又一个实施例中,试剂可在混合部分内固定。

[0134] 在本发明的另一个方面中,测量数据可包括分份体积、反应动力、流体运动、传输、吸收、光密度、颜色、色值、色调、光谱、浊度、漫射光、化学发光、荧光和磁共振。测试过程和测量数据可使用历史资料和/或来自已知反应动力的数据验证。在又一个实施例中,示踪物可在混合部分和/或分析部分内固定,以有助于测量分份体积。

[0135] 尽管已经描述了本发明的优选实施例,但应当理解的是,本发明并未如此受限,且改型可在不脱离本发明的情况下制作出。本发明的范围由所附权利要求限定,且书面上或等同地在权利要求意义范围内的所有装置、过程和方法旨在包含在其中。

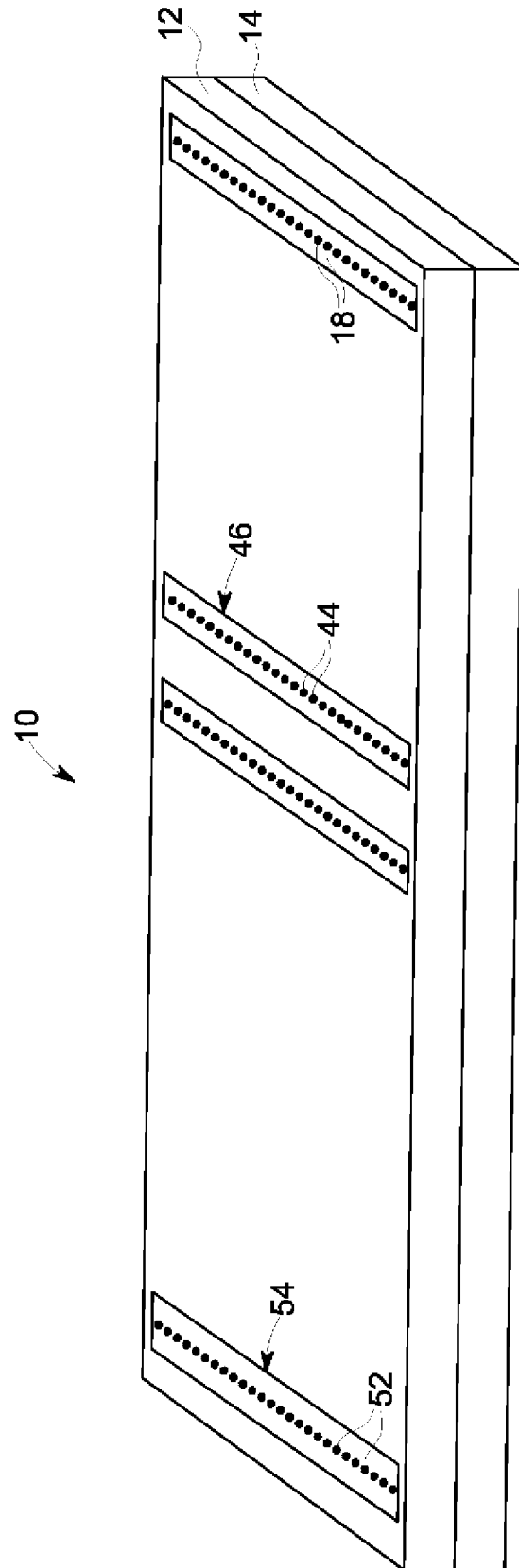


图 1

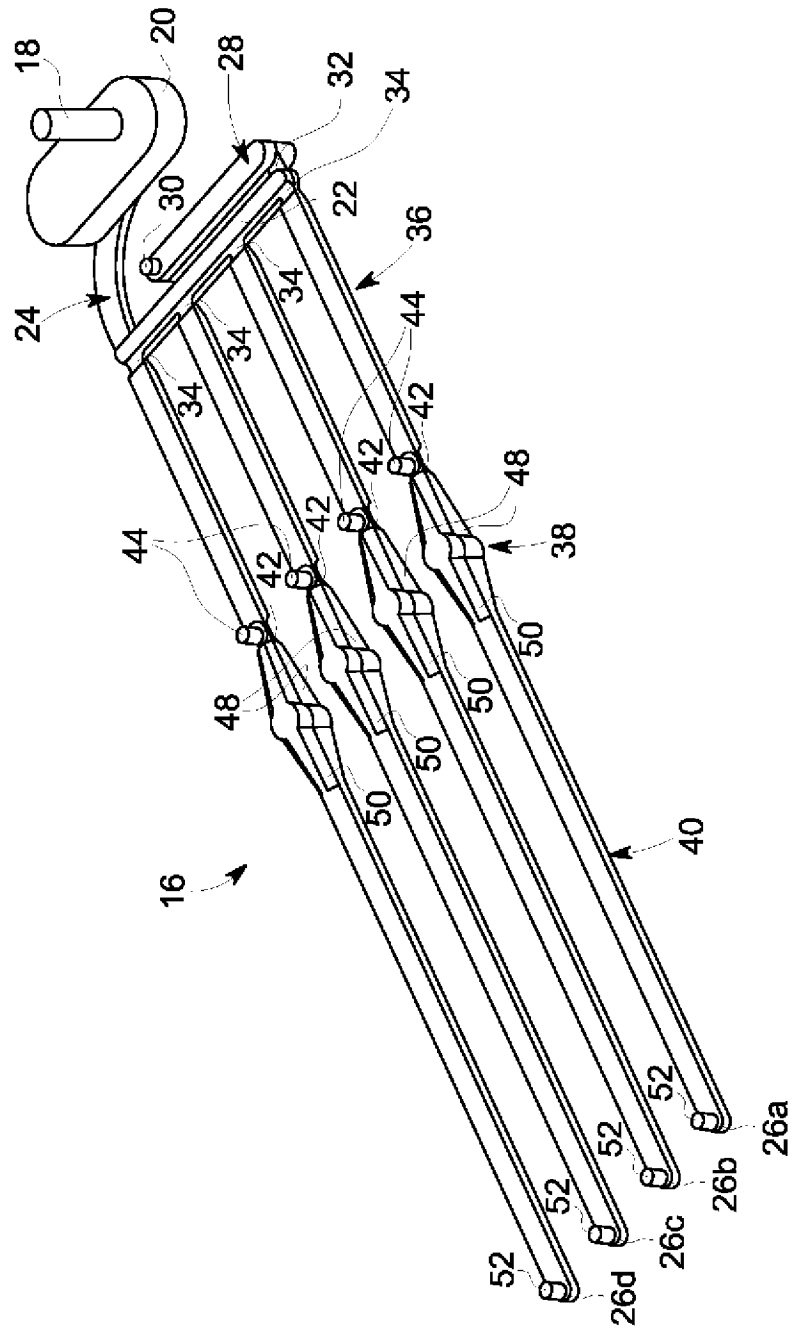


图 2

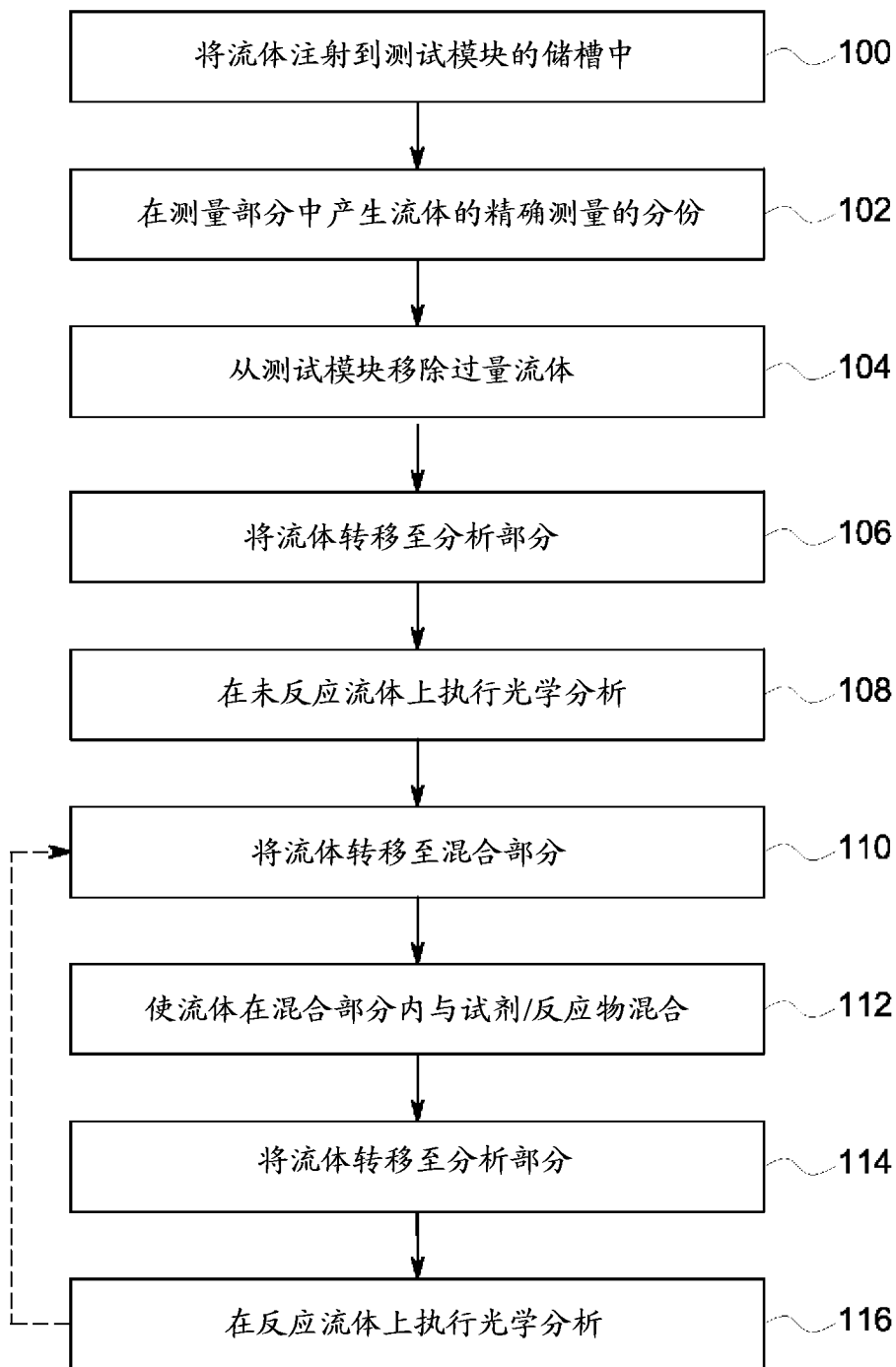


图 3

步骤	端口状态			爆破阀					通道压力			备注
	A	B	C	D	E	F	G	H	J	K		
1	排放	排放	排放	0.5	1.5	0.5	1.5	0	0	0	负载样本	
2	-1	-1	-1	0.5	1.5	0.5	1.5	-1→0	-1→0	-1	加载以用于计量	
3	-2	关闭	关闭	0.5	1.5	0.5	1.5	0	0	-1	吸去过量	
4	关闭	排放	-2	0.5	1.5	0.5	1.5	0	0	-2→0	穿梭至端部	
5	关闭	-2	排放	关闭	1.5	0.5	1.5	-2	-2	0	混合	
6	关闭	排放	-2	关闭	1.5	0.5	1.5	0	0	-2→0	混合	
7	关闭	关闭	关闭	关闭	1.5	0.5	1.5	0	0	0	测量	

图 4A

步骤	端口状态			爆破阀					通道压力			备注
	A	B	C	D	E	F	G	H	J	K		
1	排放	排放	排放	0.5	0.5	0.5	0.5	0	0	0	负载样本	
2	-1	-1	关闭	0.5	0.5	0.5	0.5	-1→0	-1→0	-0.1	加载以用于计量	
3	-1	关闭	关闭	0.5	0.5	0.5	0.5	0	0	-0.1	吸去过量	
4	关闭	排放	-1	0.5	0.5	0.5	0.5	0	0	-1→0	穿梭至端部	
5	关闭	-1	排放	关闭	0.5	0.5	0.5	-1	-1	0	混合	
6	关闭	排放	-1	关闭	0.5	0.5	0.5	0	0	-1→0	混合	
7	关闭	关闭	关闭	关闭	0.5	0.5	0.5	0	0	0	测量	

图 4B

样本井	样本	光井	内毒素	描述
1	Lal 试剂水	1	0	负控制(空白)代表 1
		2	0	负控制(空白)代表 2
		3	0	负控制(空白)代表 3
		4	最低	最低检测范围校准标准代表 1
2	Lal 试剂水	5	最低	最低检测范围校准标准代表 2
		6	最低	最低检测范围校准标准代表 3
		7	中间范围	中间范围校准标准代表 1
		8	中间范围	中间范围校准标准代表 2
3	Lal 试剂水	9	中间范围	中间范围校准标准代表 3
		10	最高	最高检测范围校准标准代表 1
		11	最高	最高检测范围校准标准代表 2
		12	最高	最高检测范围校准标准代表 3
4	样本 A	13	0	样本 A 分析代表 1
		14	0	样本 A 分析代表 2
		15	中间范围	样本 A 的正控制掺杂物代表 1
		16	中间范围	样本 A 的正控制掺杂物代表 2
● ● ●				
24	样本 U	93	0	样本 U 分析代表 1
		94	0	样本 U 分析代表 2
		95	中间范围	样本 U 的正控制掺杂物代表 1
		96	中间范围	样本 U 的正控制掺杂物代表 2

图 5A

样本井	样本	光井	内毒素	描述
1	LAL 试剂水	1	0	负控制(空白)代表 1
		2	0	负控制(空白)代表 2
		3	0	负控制(空白)代表 3
		4	最低	最低检测范围校准标准代表 1
		5	最低	最低检测范围校准标准代表 2
		6	最低	最低检测范围校准标准代表 3
		7	中间范围	中间范围校准标准代表 1
		8	中间范围	中间范围校准标准代表 2
		9	中间范围	中间范围校准标准代表 3
		10	最高	最高检测范围校准标准代表 1
		11	最高	最高检测范围校准标准代表 2
		12	最高	最高检测范围校准标准代表 3
2	样本 A	13	0	样本 A 分析代表 1
		14	0	样本 A 分析代表 2
		15	中间范围	样本 A 的正控制掺杂物代表 1
		16	中间范围	样本 A 的正控制掺杂物代表 2
● ● ●				
22	样本 U	93	0	样本 U 分析代表 1
		94	0	样本 U 分析代表 2
		95	中间范围	样本 U 的正控制掺杂物代表 1
		96	中间范围	样本 U 的正控制掺杂物代表 2

图 5B

范围	最低	中间范围	最高
0.005 - 0.5	0.005	0.05	0.5
0.01 - 1	0.01	0.1	1
0.05 - 5	0.05	0.5	5
0.1 - 10	0.1	1	10
0.5 - 50	0.5	5	50

图 5C

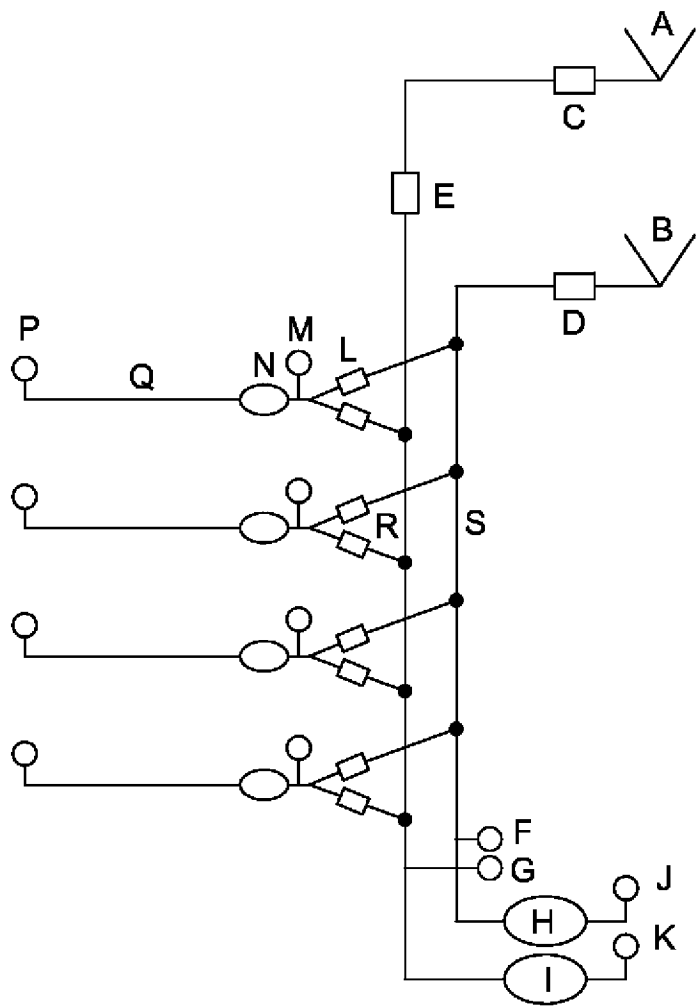


图 6

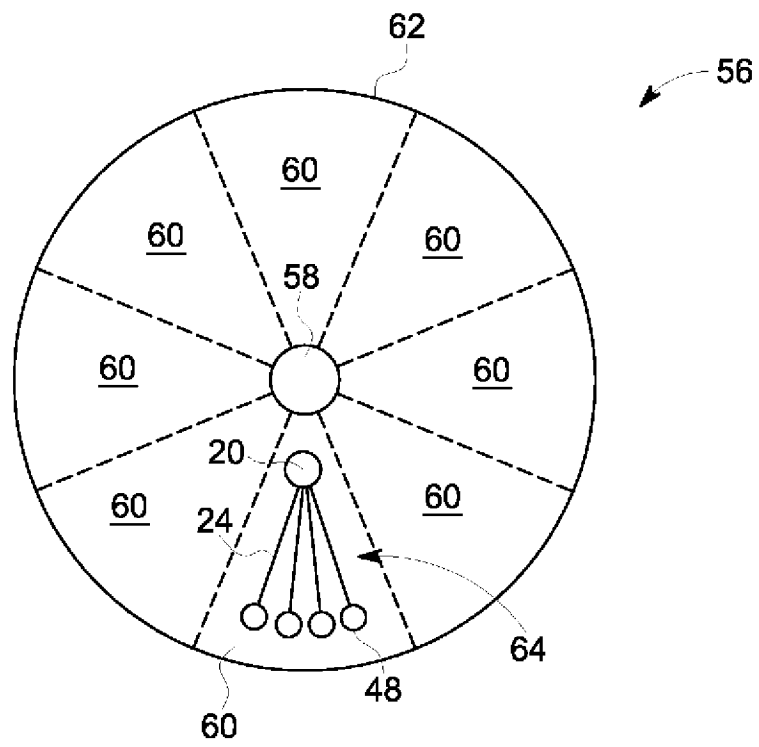


图 7