

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



# [12] 发明专利说明书

专利号 ZL 01819381.1

[51] Int. Cl.

G01N 21/00 (2006.01)  
G01N 1/18 (2006.01)  
G01N 1/10 (2006.01)  
G01N 33/48 (2006.01)  
G01N 33/53 (2006.01)  
G01N 33/558 (2006.01)

[45] 授权公告日 2007年5月9日

[11] 授权公告号 CN 1314956C

[51] Int. Cl. (续)

G01N 31/22 (2006.01)

B01L 3/02 (2006.01)

B01L 11/00 (2006.01)

[22] 申请日 2001.10.18 [21] 申请号 01819381.1

[30] 优先权

[32] 2000.10.18 [33] US [31] 60/241,409

[86] 国际申请 PCT/US2001/032456 2001.10.18

[87] 国际公布 WO2002/033380 英 2002.4.25

[85] 进入国家阶段日期 2003.5.22

[73] 专利权人 克拉里蒂技术公司

地址 美国华盛顿

[72] 发明人 托马斯·M·布坎南

马克·C·布坎南

[56] 参考文献

US5698395A 1997.12.16

US6683760A 2000.7.4

US5882940A 1999.3.16

CN1008403B 1990.6.13

US6010911A 2000.1.4

US5599715A 1997.2.4

CN1030894C 1996.2.7

US5792425A 1998.8.11

US6013460A 2000.1.11

US6057165A 2000.5.2

US4868131A 1989.9.19

审查员 汪妍瑜

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利  
商标事务所

权利要求书 3 页 说明书 29 页 附图 16 页

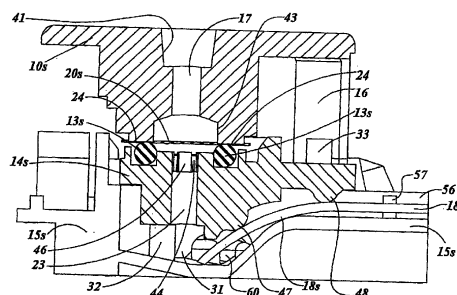
代理人 寇英杰

[54] 发明名称

用于稀释流体和检测在稀释流体中的分析物的方法和装置

[57] 摘要

本发明提供了一种用于处理、取样和稀释流体的方法和装置以及一种用于检测在处理、取样和稀释后的流体中的分析物的方法和装置。在用于处理、取样和稀释流体的方法中,要进行处理、取样和稀释的一定量的流体通过多孔膜(20s)获得;浸透有流体的膜的一部分被隔离,从而确定了预定体积的流体试样;然后,用特定量的流体稀释剂来从该隔离的膜中释放该预定体积的液体试样,从而提供稀释的流体试样。在稀释流体试样中的分析物通过与该稀释流体试样流体接触的检测条(18s)来检测。



1. 一种用于检测液体试样中的分析物的方法，包括：
  - (a) 用含有分析物的液体浸透可压缩多孔膜的至少一部分；
  - (b) 将浸透有液体的膜的一部分隔离，在该部分膜中隔离了液体试样；
  - (c) 将稀释剂用于该膜的隔离部分；
  - (d) 用稀释剂从该膜的隔离部分中释放液体试样，以便提供稀释的液体试样；以及
  - (e) 将稀释的液体试样引向测试条，在该测试条中检测该分析物的存在。
2. 根据权利要求1所述的方法，其中：该膜的隔离部分确定了预定体积的液体试样。
3. 根据权利要求1所述的方法，其中：该液体试样包括生物流体。
4. 根据权利要求1所述的方法，其中：该液体试样包括全血。
5. 根据权利要求1所述的方法，其中：该液体试样施加在膜的除了该膜的隔离部分的其它位置处，并移动到该膜的隔离部分。
6. 根据权利要求1所述的方法，其中：该稀释剂以特定量施加。
7. 根据权利要求1所述的方法，其中：该稀释的液体试样引向与测试条流体连通的容器。
8. 根据权利要求1所述的方法，其中：该稀释的液体试样引向与控制条流体连通的容器。
9. 根据权利要求1所述的方法，其中：该分析物包括 HIV 抗体。
10. 根据权利要求1所述的方法，其中：该分析物包括 H.pylori 抗原的抗体。
11. 根据权利要求1所述的方法，其中：该分析物包括 HCG 抗原。
12. 一种处理和对流体取样的装置，包括：
  - (a) 用于接收第一流体的可压缩膜；

(b) 第一和第二部件，该第一和第二部件与该膜的相对主表面邻接，其中，该第一和第二部件可与该膜啮合，以便隔离该膜的一部分，该膜的隔离部分保持一与未啮合的膜的空隙容积相同的空隙容积；以及

(c) 容器，该容器与该隔离的膜流体连通，用于接收来自该膜的隔离部分的流体。

13. 根据权利要求 12 所述的装置，还包括：控制条，该控制条与该容器流体连通。

14. 根据权利要求 12 所述的装置，还包括：腔，该腔与该膜流体连通，用于接收液体试样。

15. 根据权利要求 12 所述的装置，还包括：测试条，该测试条与该容器流体连通，其中，该测试条检测液体试样中分析物的存在。

16. 根据权利要求 15 所述的装置，其中：该测试条检测液体试样中 HIV 抗体的存在。

17. 根据权利要求 15 所述的装置，其中：该测试条检测液体试样中 H. Pylori 抗原的抗体的存在。

18. 根据权利要求 15 所述的装置，其中：该测试条检测液体试样中 HCG 抗原的存在。

19. 根据权利要求 12 所述的装置，其中：所述膜允许第一流体移动到该膜的隔离部分。

20. 根据权利要求 12 所述的装置，其中：容纳有足够量的第一流体以浸透该膜的隔离部分。

21. 根据权利要求 12 所述的装置，还包括：口，该口用于接收第二流体。

22. 根据权利要求 21 所述的装置，其中：第二流体被供给到浸透有第一流体的所述膜，以迫使第一流体离开该膜的隔离部分。

23. 一种用于检测液体试样中的分析物的试剂盒，包括：

(a) 一用于检测液体试样中的分析物的装置，包括：

(i) 用于接收第一流体的可压缩膜；

(ii) 第一和第二部件，该第一和第二部件与该膜的相对主表面邻接，其中，该第一和第二部件可与该膜啮合，以便隔离该膜的一部分，该膜的隔离部分保持一与未啮合的膜的空隙容积相同的空隙容积；以及

(iii) 容器，该容器与该隔离的膜流体连通，用于接收来自该膜的隔离部分的流体。

(iv) 测试条，该测试条与该容器流体连通，其中，该测试条检测液体试样中分析物的存在；以及

(b) 具有合适稀释剂的容器。

24. 根据权利要求 23 所述的试剂盒，其中：该分析物是 HIV 抗体。

25. 根据权利要求 23 所述的试剂盒，其中：该分析物是 H.pylori 抗原的抗体。

26. 根据权利要求 23 所述的试剂盒，其中：该分析物是 HCG 抗原。

## 用于稀释流体和检测在稀释流体中 的分析物的方法和装置

### 技术领域

本发明涉及一种用于处理、取样和稀释流体的方法和装置以及一种用于检测在处理、取样和稀释后的流体中的分析物的方法和装置

### 发明背景

在具有先进和发达医疗系统和设备的世界各国中，仍然有很大部分的人口不能获得医疗系统。不能获得医疗诊断的人可以认为对于某些疾病情况有 50% 的危险。不能获得医疗诊断和治疗可能由于害怕、不信任、可获得性限制，或者缺乏信息或资金。未诊断和未治疗的人成为扩大传染病传播的可能传染源。在过去的一年中，在 San Francisco 的新 AIDS 病例倍增至 900 (Investors Business Daily, A2 页, 2000 年 7 月 3 日)，这使得很多医生害怕当前控制传染病的方法已经被破坏。

在缺少发达医疗系统和先进诊断测试试验室的国家中，大部分人口不能接受潜在可治疗状态的即时诊断。疾病例如 AIDS、肺结核、疟疾和其它传染病可能在很大程度上消耗国家的人才和经济资源，同时总体减小标准寿命和国民总产值 (Confronting AIDS, Public Priorities in a Global Epidemic, World Bank Research Report, 1997)。在非洲的撒哈拉以南，15 - 49 岁的人口中超过 10% 带有 HIV。在十六个国家的七个中，20% 的人感染，而在博茨瓦纳，每三个成年人中就有一个带有 HIV (Investors Business Daily, A1 页, 2000 年 6 月 28 日, Global View of HIV infection)。治疗疾病的负担将在教育、通讯、信息交换等方面阻碍它成为二十一世纪地球成员的一部分。在没有更发达国家的帮助以及诊断、治疗和预防疾病的新方法的情况下，这些国家有不可救药地陷入疾病、死亡和经济不稳定中的危险。

便宜、可广泛使用和容易进行诊断的测试将有助于更早地对该测

试能够获得的疾病情况进行诊断,该测试将可以由个人随时随地使用,而不需要指导或前期培训。考虑到这些疾病情况可以由个人进行检测,以便能早期检测和治疗,因此,这些测试也将有助于提高教育。早期检测和提供教育将导致减小这些传染病的传播,因为这些传染病的测试可以由个人进行,因此,在减少传染病以及增进健康和增加劳动生产率方面都对整个社会有利。在 Atlanta,GA 的疾病控制中心的研究人员利用数学模型预言,可以快速测试 HIV 将导致对至少另外 700000 人的测试,并检测到超过 8000 的另外感染人员 (Los Angeles Times, 第 A10 页,2000 年 6 月 14 日, FDA Blamed for Holding Up Rapid AIDS Tests)。

发展适于个人使用的诊断测试的主要技术障碍是还没有既准确又便于个人使用的装置类型。准确的测试方法已经使用了多年,但是大部分需要有仪器。需要仪器的测试并不能满足那些不能选择医疗系统或不能使用医疗系统的个人的需求,因此这些人没有进行测试。对用户友好的测试必须能够由没有经过前期培训的个人快速进行,它将需要较少步骤,并能够由用户随时随地进行测试。

近年来,已经开发了对用户友好的诊断测试,以便检测在未稀释流体试样中的分析物。其中的实例有怀孕测试装置,个人可以在任何较大超市中购买,并可以选择随时随地通过未稀释的尿液来进行。公开于 1989 年 8 月 15 日并授予 Ullman 等的美国专利 No.4857453; 公开于 1998 年 4 月 14 日并授予 Nazareth 等的美国专利 No.5739041; 以及公开于 1998 年 6 月 23 日并授予 Pawlak 等的美国专利 No.5770460 是用于怀孕测试的尿液 HCG 测试装置的实例。广泛使用的、用于检测血清葡萄糖的测试也可以很容易地由个人进行,但是这些测试还需要一些仪器。需要仪器的测试更昂贵,并不适合我们对于用户友好的严格定义。

某些分析物可以在未稀释的全血、血清或血浆中进行检测。公开于 1998 年 3 月 10 日并授予 Neyer 的美国专利 No.5762871 和公开于 2000 年 2 月 22 日并授予 Galen 等的美国专利 No.6027692 介绍了对未

稀释的血液血清或血浆进行葡萄糖和果糖胺的测试。公开于 1992 年 11 月 24 日并授予 Killeen 等的美国专利 No.5166051 介绍了对全血进行分析血清胆固醇的测试。

对于其它的组分测试和化验，只有在对测试液体进行稀释后才能更准确地进行检测。一个实例是对 HIV 抗体的测试。普通可用的免疫测定以及对于 HIV 抗体的快速条带形式测试通常在测试之前将试样稀释成大约 1:100，如美国专利 No.5922533 所述，该美国专利 No.5922533 公开于 1999 年 7 月 13 日，并授予 Vallari 等。在这些测试中，对血清的均匀稀释在一个单独的地方进行，然后通过该均匀稀释的血清进行测试。

在测试装置中对血浆或血清的稀释可以采用从血浆分离器/收集器衬垫上洗涤血浆或血清。在授予 Bernstein 等的美国专利 No.5753497 中介绍了一个实例。所进行的稀释将根据添加的洗涤流体的容积而变化。另外，稀释并不均匀，并导致浸没在测试条上的血清组分由浓度梯度。首先来自收集器衬垫的洗提剂含有相对于稀释剂具有较高浓度的血浆或血清，以后的洗提剂含有的量较小，因为大部分血浆或血清以及从收集器衬垫上洗走。这可能对测试结果产生不希望的影响，例如沿测试条的转移速度不一致，或者在测试标记试剂和较高浓度处的血浆或血清组分之间的作用不充分。这导致结果随完成测试所需的时间而变化，并对灵敏性或特性有一定程度的不利影响。

在家中进行测试的个人或者在医院或治疗点中的工作人员都不能很容易地将血浆或血清从全血中分离。他们还不能安全使用吸液管来进行可靠稀释以便进行测试。进行测试的人通常还不能使用用于评价测试条结果的仪器。

因此，有利的是能够有一种方法和装置，该方法和装置使得个人能够将血浆和血清从通过刺手指获得的全血中分离，并能够进行可靠和相对均匀的血清或血浆稀释，以便进行测试。而且，有利的是，该装置设计成能够使稀释的液体试样沿包含在该装置内的测试条移动，这样，诊断测试结果可以快速产生。优选是，测试装置必须提供清楚

的结果，该结果能够在没有仪器的情况下通过视觉而很容易地进行认识。最后，为了能够随时随地广泛进行测试，该装置和方法必须通过最小数目的、容易进行的步骤来提供结果，并在大约 10 分钟内提供诊断测试结果。

能够可靠稀释试样液体和快速判断在该稀释试样中是否存在特定分析物，同时不需要前期培训或仪器的方法和装置将能够非常有利。本发明的方法和装置是为了满足这些要求。

### 发明内容

本发明涉及一种用于处理、取样和稀释流体的方法和装置以及一种用于检测在处理、取样和稀释后的流体中的分析物的方法和装置。

一方面，本发明提供了一种处理和取样流体的方法。在该方法中，用第一流体浸透多孔膜的至少一部分。然后将浸透有第一流体的膜的一部分隔离，并将第二流体用于该膜的隔离部分，从而从该膜的隔离部分中释放第一流体。该第一流体可以是生物流体，例如全血或尿液。在一个实施例中，第一流体施加在膜的、不同于该膜的隔离部分的其它位置处，并移动到该膜的隔离部分。根据用途，第二流体可以是气体或液体。

在本发明的另一方面，提供了一种用于稀释液体试样的方法。在该方法中，用处理液体浸透多孔膜的至少一部分。将浸透有处理液体的膜部分隔离，并将稀释剂用于该隔离部分，从而从该膜的隔离部分释放液体试样，以便提供稀释的液体试样。该液体试样可以是生物流体，例如全血或尿液。在一个实施例中，第一流体施加在膜的、不同于该膜的隔离部分的其它位置处，并移动到该膜的隔离部分。

在又一方面，本发明提供了一种用于检测液体试样中的分析物的方法。在该方法中，用含有分析物的液体试样浸透多孔膜的至少一部分。然后将浸透有液体试样的膜的一部分隔离，并将稀释剂用于该隔离部分，从而从该膜的隔离部分中释放液体试样。再将释放和稀释的液体引向与测试条流体连通的容器，在该测试条中检测该分析物的存在。在一个实施例中，该容器可以与第二条例如控制条流体连通。在

一个实施例中，该方法检测 HIV 抗体，在另一实施例中，该方法检测 H.pylori 抗原的抗体。在又一实施例中，该方法检测 HCG 抗原。

在本发明的另一方面，提供了一种处理和取样流体的装置。在一个实施例中，该装置包括：用于接收第一流体的膜；第一和第二部件，该第一和第二部件与该膜的相对主表面邻接，以便隔离该膜的一部分；以及容器，该容器与该隔离的膜流体连通，以便接收来自该隔离的膜的流体。第一和第二部件可以与该膜啮合，以便隔离该膜的一部分。该膜的隔离部分保持使空隙容积基本与未啮合的膜的空隙容积相同。

在另一方面，本发明提供了一种用于稀释液体试样的装置。在一个实施例中，该装置包括：用于接收液体的膜；第一和第二部件，该第一和第二部件与该膜的相对主表面邻接，以便隔离该膜的一部分；以及容器，该容器与该隔离的膜流体连通，以便接收来自该隔离的膜的液体试样。第一和第二部件可以与该膜啮合，以便隔离该膜的一部分。该膜的隔离部分保持使空隙容积基本与未啮合的膜的空隙容积相同。

在本发明的另一方面，提供了一种用于检测液体试样中的分析物的装置。在一个实施例中，该装置包括：用于接收液体的膜；第一和第二部件，该第一和第二部件与该膜的相对主表面邻接，以便隔离该膜的一部分；容器，该容器与该隔离的膜流体连通，以便接收来自该隔离的膜的液体试样；以及测试条，该测试条与该容器流体连通。第一和第二部件可以与该膜啮合，以便隔离该膜的一部分。该膜的隔离部分保持使空隙容积基本与未啮合的膜的空隙容积相同。该测试条检测分析物在液体试样中的存在。在一个实施例中，该装置还包括控制条，该控制条与该容器流体连通。该装置可以用于检测 HIV 抗体、H.pylori 抗原的抗体或 HCG 抗原在液体试样中的存在。

在装置的一个实施例中，多孔膜用于处理液体，并使液体移动到稀释口区域。在稀释口区域，液体稀释膜周边压缩，从而隔离在隔离膜内的确定容积的试样。再迫使特定量的稀释剂沿垂直于膜的横向流方向的方向通过该膜的隔离容积。从而从该膜中除去该确定容积的液

体试样，同时稀释该处理液体试样。在另一实施例中，引导析出的液体试样通过狭窄孔，该狭窄孔使得稀释剂混合，并产生稀释的试样。稀释的试样收集在装置内的储存容器中，该储存容器与一个或多个膜流体连通。这些膜包括诊断和控制测试条，该诊断和控制测试条布置成从容器腔芯吸稀释的试样，并使该稀释的试样沿各条移动。使用该方法，本发明提供了快速诊断测试，它能够在不需要仪器的情况下很容易地进行视觉说明。

在另一方面，提供了用于检测 HIV 抗体、H.pylori 抗原的抗体或 HCG 抗原的试剂盒。各试剂盒包括上述装置以及有合适稀释剂的容器。

本发明提供了一种方法和装置，该方法和装置能够处理、取样和可重复地稀释该处理和取样流体，并随后检测在该稀释的流体试样中的分析物。在一个实施例中，处理、取样、稀释和检测通过最少的、对用户友好的步骤来实现，并能在十分钟内进行。在一个实施例中，诊断结果是线，该线可以在白色背景上清楚看见，并不会褪色，且能够在没有仪器的情况下很容易地识别。

#### 附图的简要说明

通过下面的详细说明并结合附图，可以更清楚本发明的前述方面和很多优点，附图中：

图 1 是本发明的典型装置的分解透视图，该装置包括稀释口(10)、轭架(11)、盖体(12)、O 形环(13)、中间件(14)以及基座(15)；

图 2A 是稀释口(10)的俯视平面图，而图 2B 是稀释口(10)的仰视平面图；

图 3 是稀释口(10)通过其纵向轴线的剖视图，其中有挂钩臂(16)和槽道(17)(该剖面 and 观看方向如图 2A 所示)；

图 4A 是轭架(11)的俯视平面图，图 4B 是轭架(11)的正视图；

图 5A 是盖体(12)的俯视平面图，图 5B 是盖体(12)的正视图；

图 6A 是中间件(14)的俯视平面图，图 6B 是中间件(14)的仰视平面图，而图 6C 是中间件(14)的正视图(图 6C 的观看方向由图

6A 中的箭头标记 6C 表示);

图 7A 是基座 (15) 的俯视平面图, 而图 7B 是基座 (15) 的正视图;

图 8A、8B 和 8C 是本发明的典型装置的基座 (15) 的俯视平面图, 图 8A 是典型基座 (15), 图 8B 表示了具有中间件 (14) 的典型基座 (15), 而图 8C 表示了具有中间件 (14) 和试样膜 (20) 的典型基座 (15);

图 9A 是当稀释口压入锁定位置, 并将试样膜压入本发明的典型装置中时, 稀释口、试样膜、O 形环、中间件、基座和诊断测试条的俯视剖视图;

图 9B 是图 9A 中所示的稀释口、试样膜、O 形环、中间件、基座和诊断测试条的剖视图(图 9B 的剖面位置和观看方向如图 9A 所示);

图 10A、10B、10C 和 10D 是本发明的典型装置的俯视图, 表示了通过本发明的方法和装置检测 HIV 抗体而获得的视觉结果, 图 10A 表示了有效阴性结果, 图 10B 表示了对于 HIV-1 抗体的有效阳性结果, 图 10C 表示了由于测试血液量不充分而产生的无效阴性结果, 图 10D 表示了由于 HIV-抗原的问题而产生的无效阴性结果;

图 11 是表示在采用本发明的典型方法和装置的测试中获得稀释的可再现性的曲线图;

图 12A 和 12B 是表示试样膜的膜厚度和试样保持能力对所获得的试样量的影响的曲线图, 该试样用于本发明的典型方法和装置的分析;

图 13 是表示添加到接收腔中的试样容积对所获得的试样量的影响的曲线图, 该试样用于本发明的典型方法和装置的分析; 以及

图 14 是表示在添加试样和添加稀释剂之间的时间延迟对所获得的试样的最终量的影响的曲线图, 该试样用于本发明的典型方法和装置的分析。

#### 优选实施例的详细说明

本发明涉及一种用于处理、取样和稀释流体的方法和装置, 还涉及一种用于检测在处理、取样和稀释后的流体中的分析物的方法和装

## 置

在用于处理、取样和稀释流体的方法中，通过具有基本均匀多孔结构的多孔膜而获得一定量的流体，并将浸透该流体的膜的一部分进行隔离，从而确定预定容积的流体。然后，再利用特定量的稀释剂将该预定容积的流体从隔离的膜中释放，以便提供稀释的流体试样。用于稀释流体的装置包括用于接收流体的膜以及用于隔离浸透有流体的膜部分的机构。当稀释流体包括分析物时，本发明提供了用于检测在流体中的一种或多种分析物的方法和装置。

一方面，本发明提供了一种用于处理、取样和稀释流体试样的方法和装置。该方法可以利用图 1 中所示的装置而实现。参考图 1，典型装置 1 包括稀释口 10、轭架 11、盖体 12、O 形环 13、中间件 14 和基座 15。图 2A 和 2B 表示了稀释口 10。图 3 是稀释口 10 的、通过它的长轴的剖视图，其中有挂钩臂 16 和槽道 17（剖面和观看方向如图 2A 所示）。图 4A 和 4B 表示了轭架 11。图 5A 和 5B 表示了盖体 12。图 6A、6B 和 6C 表示了中间件 14（图 6C 的观看方向由图 6A 中的箭头 6C 表示）。图 7A 和 7B 表示了基座 15。

参考所示装置，在一个实施例中，该方法包括：（a）将液体试样添加到装置的试样收集腔中，其中，该腔与多孔膜流体连通；（b）通过等候两到三分钟，使该液体浸透膜的至少一部分，以便使液体试样沿在装置内的膜移动，这时，全血在膜的前缘使血清或血浆分离，并留在蜂窝状部件的后面；（c）通过压低装置的稀释口直到它锁定就位，使得浸透有液体的膜部分隔离，从而隔离了包含预定容积的液体的膜；（d）通过将准备的小瓶的顶端插入到压低和锁定的稀释口内以形成防泄漏的密封，并挤压该小瓶以便通过稀释口供给液体，从而利用稀释剂从膜中释放该隔离的液体容积，使得隔离的液体容积离开确定隔离容积的膜，并迫使液体进入位于装置基座中的腔内，同时混合该稀释的试样；（e）使稀释的试样沿一个或多个膜（例如一个或多个诊断测试条和控制条）移动（移动时间从大约 5 分钟到大约 7 分钟），并能够发展成可视觉读出的结果；以及（f）在测试装置的观察窗口中显示测

试和控制结果。

本发明的方法和装置能够检测在稀释流体试样中的任何分析物，该试样是特定的粘接对 (binding pair)。粘接对包括两种不同分子，这两种分子通过物理、化学或其它方式而彼此特别粘接。

在实例 7 和 8 中介绍了通过本发明的典型方法和装置对 HIV 抗体的检测。在实例 9 中介绍了通过本发明的典型方法和装置对 H.pylori 抗原的抗体的检测。在实例 10 中介绍了通过本发明的典型方法和装置对 HCG 抗原的检测。

本发明的方法还将参考图 1-10 所示装置进行介绍。参考图 5A，将稀释和分析的液体试样放置在接收腔 27 中。该腔包括倾斜侧面 26，且它的容积为足够能收集超过足以完成测试的液体试样。液体可以通过一次性吸液管而布置到接收腔中，这使得确定量的液体试样添加到装置中。也可选择，液体试样的添加量可以超过完成测试所需的最小量。例如，可以指导用户添加的容积量应当足以完全覆盖在接收腔底部的膜和足以覆盖接收腔的、靠近膜的底边缘。

膜 (见图 8C 中的膜 20) 与接收腔 (见图 5A 中的 27) 所接收的液体试样流体连通并将至少一部分液体试样从接收腔直接传送到稀释口下面 (见图 5A 中的 30)。

要稀释和测试的至少一部分液体由膜从位于接收腔 27 下面的、该膜的第一端传送给位于稀释口下面 (见图 5A 中的 30 和图 3 中的 24) 和 O 形环 13 上面的、该膜的第二端，该 O 形环装在中间件 14 (见图 1 和 6A) 的上表面内。

膜能够传送所关心的分析物。理想的是，该分析物并不会粘在膜上，这样，分析物的量不会减小。而且，该膜应当不会干涉对分析物的精确检测。

该膜有特定的长度、宽度和厚度，并且有基本均匀的厚度、多孔结构和空隙容积。该膜可以切成精确尺寸的条，以便用于化验。通过它的基本均匀的厚度和空隙容积，该膜提供了包含在给定表面积 (容积) 内的、基本恒定量的液体。

在实际的发明中，该膜是可压缩的。膜的可压缩性使得该膜的一部分能够隔离，并能够使得膜在稀释口 10 的匹配边缘（见图 3 和 9B 中的 24）和 O 形环 13 的匹配边缘（见图 9B 和图 6A 和 6C）之间进行压缩的部分的空隙容积皱缩。因此，在膜的压缩环的圆周内的、膜 20（见图 9B）的未压缩区域将隔离和确定了特定容积的液体试样。

膜使得稀释剂能够沿厚度方向流过在上述装置的匹配和压缩表面之间隔离的膜 20 部分（见图 9B），从而能够将试样从膜中释放并稀释，以便进行分析。

在本领域中已知用于该方法和装置的合适膜。对于特定测试，某些膜可能比其它膜更优选。例如，为了从全血试样中分离红血球以便产生血清或血浆的稀释试样，合适的血浆分离膜包括由 Baumgardner 等在美国专利 No.5186843 中所述的膜。也可选择，具有合适物理特性的膜可以通过外源凝集素或化学药剂进行处理，以便在由稀释口和中间件的 O 形环的匹配脊隔离的膜区域产生富含血浆的试样。Bernstein 等在美国专利 No.5753497 中介绍了这种方法。在其它用途中，液体取样膜可以包含缓冲剂、试剂以及用于保护所关心的分析物以防止它在膜中损失的分子，或者可以进行提高膜的性能并优化所关心的分析物的最终检测的任何其它改进。

试样接收或收集衬垫可以与试样传送膜匹配。试样接收和收集衬垫如 Pawlak 等在美国专利 No.5770460 中所述。试样接收或收集衬垫可以包括试剂，以便优化测试性能。

图 1-10 表示了本发明的典型装置，该装置便于压缩膜的限定区域，从而使装置的匹配压缩边缘中间的膜容积隔离开。参考图 1、7A 和 8B，典型装置 1 包括槽道 28（图 8B），用于接收试样膜 20（图 8C），该试样膜 20 与在稀释口 10 和中间件 14 的相对表面之间的膜对齐。稀释口 10（图 1）通过挂钩臂 16（见图 3）而保持在盖体 12 内对齐，该挂钩臂 16 装入挂钩臂槽道 29（图 5A）中。稀释口（图 1）的矩形凸起只能沿一个方向装入，以便与盖体（见图 5A 中的 30）的相应部分匹配。这样的配合也有助于保持装置对齐和稳定。中间件 14（图 1、

图 6A、图 6B 和图 8B) 通过引导栓和匹配表面保持与基座 15 对齐。在接收腔 31 中的引导栓 32 (图 7A) 以及引导栓 33 (图 7A) 从基座中的槽道接头处向上凸出, 该槽道保持诊断膜 18 (图 8A) 和控制膜 19 (图 8A)。引导栓 32 与在中间件 14 底表面上的插孔 34 (图 6B) 配合。引导栓 33 (图 7A) 穿过中间件 14 中的孔 35 (图 6A 和 6B), 并插入在盖体 12 底表面上的匹配插孔 (未示出)。O 形环 13 (图 1) 装于中间件 14 的槽道 36 (图 6A 和 6C) 中, 该中间件 14 将 O 形环的大约 70% 容积保持在槽道内。槽道 36 提供摩擦配合, 这防止 O 形环在装配过程中从中间件上脱出, 且槽道 36 使 O 形环的 30% 凸出到该槽道的上唇缘上面 (见图 6C)。如上所述, O 形环可压缩, 并用于在它和稀释口 10 的表面 24 之间的试样膜上保持压力 (见图 3 和 9B)。稀释口和中间件的对齐和稳定性有助于将压力传递给试样膜的圆周上, 该中间件在它上表面中有 O 形环。

轭架 11 (图 1) 防止稀释口 10 无意中被压低和锁定在底部件中, 从而防止试样沿用于测试的试样膜流动。轭架臂 37 (图 4A) 装入稀释口 10 的匹配狭槽 70 (图 3) 中。装在稀释口的长臂下面的轭架臂 37 和轭架侧臂 38 (图 4A 和 4B) 防止该稀释口压低到装置内, 直到取出该轭架。

本发明提供了一种装置, 该装置提供了对用户友好的装置, 用于有效引起和保持作用在膜的限定区域上的压力。图 1 表示了一种典型装置。为了操作该装置, 通过手柄 39 (图 4A 和 4B) 抓住轭架 11 (图 1), 并拉动该轭架 11, 以便使滑动臂 37 离开稀释口 10 的匹配狭槽 70。通过处于该位置的轭架, 稀释口 10 可以压低到装置内。该向下的力压缩在稀释口 10 的底表面脊 24 和 O 形环 13 (见图 9B) 之间的膜 20。通过进一步施加向下的力, O 形环 13 压缩, 从而使在挂钩臂 16 (图 3) 端头处的挂钩 21 (图 3) 能够通过插孔 22 (图 7A) 而与基座 15 锁定就位。靠近锁定臂插孔 22 的脊 40 (图 7A) 将稀释口挂钩臂的挂钩锁定就位。该挂钩臂保持稀释口 10 的对齐和稳定, 且中间件 14 的对齐通过使引导栓和插孔匹配以及通过使中间件和基座之间的表面匹配而

保持。作用在膜上的压力通过压低和锁定就位的稀释口以及通过 O 形环的压缩阻力而保持。这使用户能够通过最小的力来有效隔离在该匹配表面中间的膜部分。添加到该隔离区域内的膜中的流体将通过膜的厚度方向垂直运动，且不容易穿过该压缩区域而横向沿膜溢出。引入和保持压力以隔离膜的限定容积的其它方法也在本发明的范围内。有效匹配并压缩膜的圆周区域以隔离该圆周内的膜部分的任意两个表面都包含在本发明的范围内。压缩表面并不局限于在图中所示的典型装置中的 O 形环和塑性表面。

本发明提供了便于将限定量的稀释剂引入膜的隔离区域以便进行取样的装置。这可以使用户在使用图 3 和 9B 所示装置时的力和复杂性最小。稀释口 10 包括槽道 17，该槽道 17 垂直横穿过该口（见图 2A、2B 和 9B）。槽道进口 42 能够用于与稀释剂容器匹配。进口 42 可以与具有拧断顶部的普通小瓶的颈部配合。该小瓶可以经济地批量生产，并预先充装有预定量的消毒缓冲稀释剂。这些小瓶能够压缩，且他们的颈部设计成当拧断帽体和将该小瓶翻转时液体不会从该小瓶中溢出。翻转小瓶的颈部可以与进口的倾斜侧面 41 形成防泄漏的密封。上述装置能够以如下方式在压力下供给预定量的液体稀释剂：（1）如上所述，将稀释口压低至它的锁定位置，以便使包含要稀释的试样的膜区域隔离；（2）取下可压缩小瓶的帽体，将该小瓶翻转，并将它的颈部置于稀释口的匹配进口槽道内，从而形成防泄漏的密封；（3）压缩该小瓶，从而在压力下通过稀释口 10 中的槽道 17 而将确定量的稀释剂供给试样膜 20s 的隔离区域（图 9B）。

本发明提供了一种装置，该装置用于使稀释剂流过要取样的膜的隔离区域，同时从膜中除去试样和稀释该试样，并引导稀释的试样离开该膜。中间件 14 包括槽道 23（图 6A、6B 和 9B），该槽道 23 垂直穿过该中间件，并有进口 44（图 6A）。槽道 23 引导经过隔离膜的稀释流体。当如上所述稀释流体在压力下供给隔离的膜时，稀释剂经过膜的隔离区域，并通过中间件中的垂直槽道离开该膜。这导致同时除去和稀释包含在试样膜的隔离容积内的试样，并使该稀释的试样从中

间件的底表面离开。

本发明的装置用于混合试样和稀释剂，以便使收集在装置的腔内的试样相对均匀地稀释。诊断和控制测试条的芯吸端终止于该腔内，该测试条能够用于评价在稀释的试样中是否有分析物。参考图 1、7A 和 9A，当稀释剂供给隔离的膜时，在该隔离膜内的试样被洗出，并经过中间件的槽道 23 到达基座 15 中的储存腔 31。储存腔 31 装有引入该装置内的全部稀释剂。引入的稀释剂的量足以有效地芯吸到装置内的两个条（诊断条和控制条）的端头。供给的稀释剂经过隔离的膜，它经过中间件的狭窄槽道，并快速流向储存腔，这导致产生混合作用，它使得试样相对均匀的稀释，以便进行分析。稀释剂可以在压力下压缩和供给。

如上所述，本发明的装置包括储存腔，该储存腔收集稀释试样，并便于通过毛细作用将该稀释的试样芯吸到诊断和控制测试条内。稀释的试样沿诊断和控制条的推移可以判断是否有分析物。参考图 1、6C、7A、8A、8B 和 9B，槽道 56 和 58（图 7A）和引导栓 57 和 59（图 7A）保持诊断条 18 和控制条 19（图 8A）。用于中间件的引导栓 32 从储存腔 31 向上凸出，并用于定位测试条的芯吸端。在装置的装配过程中，诊断和控制测试条的芯吸端通过在中间件的底表面上的凸起 47 和 48（图 6B 和 6C）压低到基座中的储存腔底部。某些凸起使诊断和控制条的芯吸部分保持在储存腔的最深部分，以保证使用全部稀释试样。在中间件的底表面以及在顶部件（未示出）的底表面上的其它引导件使该条在槽道内保持就位。

装配的装置的横剖图如图 9B 所示。横剖面 and 观看方向如图 9A 所示。各部件的横剖表面由它们的部件号后面加字母“s”来表示。特别是，稀释口的横截面为 10s，而试样膜、O 形环、中间件、基座和诊断测试条的横截面分别表示为 20s、13s、14s、15s 和 18s。通过将稀释口压低和锁定就位，试样膜在该稀释口的底表面 24 和装于中间件内的 O 形环 13 的上表面之间进行压缩。这使得装于 O 形环的圆周内的试样膜被隔离。通过稀释口槽道 17 添加的液体到达直径与稀释口出口

43 的直径相同的膜部分上。该液体不能沿试样膜 20 离开，而是由于更低阻力而垂直通过试样膜（即沿它的厚度方向）。液体流过试样膜的隔离部分将除去包含在试样膜的空隙容积内的试样。除去的试样和相应的稀释剂流体经过槽道 23。试样和稀释剂也进入中间件 44 的四个收集区域。这些收集区域排空到中心通过槽道内。这些收集区域位于在四个膜支承柱 46 之间，这四个膜支承柱 46 在中间件的顶部并直接在膜的取样区域的下面。除去的试样和稀释剂在经过该收集区域进入槽道 23 时进行混合，并收集在基座的接收腔 31 内。然后，该稀释的试样从该接收腔沿诊断条 18 和控制条 19（未示出）进行芯吸，以便评价分析物的存在。

本发明的装置可以通过自动装配而制造。装配可以以如下方式进行：基座 15 平放在平板架上，并准备装诊断和控制条，也可选择还装有干燥剂片。这些条通过槽道引导件 56 和 58 以及栓 57、59 和 32 而保持就位（图 7A）。布置有 O 形环 13 的中间件 14 由从基座 15 向上凸出的栓 32 和 33 而添加到组件上。通过将中间件添加到组件上，诊断和控制测试条在基座内保持就位，并通过基座和相邻的中间件而形成由于接收试样膜 20（图 8C）的槽道 28（图 8B）。然后将试样膜 20 添加到组件上，并通过槽道引导件 49 和 51（图 7A）以及止动栓 52（图 8C）而保持就位。盖体 12 再通过匹配的栓和锥形插孔 50（图 7A）而添加并保持的底部件上，该栓和锥形插孔 50 能够使两个部件牢固的压配合。通过使轭架臂 37（图 4A）滑入稀释口 10 的匹配狭槽 70 中而使轭架 11 与稀释口 10 连接。然后通过使稀释口的挂钩臂 16 布置在挂钩臂插孔 29（图 5A）中而将组合的稀释口和轭架装在组件上。该稀释口保持就位，并通过挂钩臂上的挂钩 21（图 3）而防止从顶部部件上脱开，该挂钩 21 抵靠脊 40 的底表面（图 5A）。稀释口将防止压低至底部件中的锁定位置，直到用户在进行测试之前取出轭架。

本发明的方法和装置可以用于测试多种分析物，并能够对用于各个测试的试剂进行内部质量控制。如图 8A 所示，进入储存腔的两个条能够使稀释的试样流到诊断和控制测试条上。在其它实施例中，该

装置所具有的条可以超过两个，这些条与同一储存腔接触。

图 10A、10B、10C 和 10D 表示了本发明的方法和装置在 HIV 抗体的快速测试中的使用。内部控制用于判断是否将足量的血清型免疫球蛋白添加到测试装置中 (C3)。另外，控制器 C1 和 C2 检测两个分开的合成缩氨酸-蛋白质结合体 (conjugate) 的完整性，它们将用于检测 HIV-1 (C1) 和 HIV-2 (C2) 的抗体。如果没有所有这些控制，人们将不能肯定 HIV-1 和 HIV-2 的抗体的阴性结果表示真正的阴性。人们不能确定阴性结果是由于在测试试样中没有 HIV 抗体，而不是 HIV 抗原完全损失。除非包括对 HIV-1 抗原 (C1) 和 HIV-2 抗原 (C2) 的内部控制，并确定这些抗原完好。在不知道对足量的免疫球蛋白进行了测试的情况下，也不能肯定阴性结果。当人们过早向稀释口添加稀释剂，并在所有试样到达稀释口下面区域之前就开始通过诊断测试条进行芯吸时，在没有控制 (C3) 的情况下，将不能检测出潜在的假阴性结果，该控制 (C3) 确认已经对足量的免疫球蛋白进行了评价。在本实例中使用的诊断测试条也能够同时检测对于 HIV 抗体成阳性的试样是否含有 HIV-1、HIV-2 抗体或两种抗体。目前可用的、利用横向流技术的诊断测试包括用于确认已经对足量免疫球蛋白进行了测试的控制，但是目前可用的测试不包括抗原完整性的内部控制。

总的来说，在一个实施例中，本发明提供了一种方法和装置，如图 1-10 示例所示，该方法和装置用于检测在收集和稀释试样中的特定分析物，且并不需要仪器或正规培训。

本发明的典型装置包括五个部件：(1) 稀释口；轭架；盖体；中间件和基座。

装置的盖体包括试样接收腔，用于收集要进行测试的试样液体，并能够使该试样接触和充满试样膜的空隙 (试样膜)。装置的基座包括槽道，以便装入试样膜，且它还使接收腔和稀释口之间流体连通。试样膜将来自接收腔的液体传送到稀释口。根据用途，试样膜可以包括用于制备或改变试样的部件，以便随后进行测试。试样膜为多孔，并将试样容纳于在它的空隙中，且允许试样随后从由装置隔离的膜的确

定容积中除去。

装配在盖体和基座的预定部分内的稀释口通过轭架而保持在顶部件上的无效位置，其中，该轭架滑入稀释口的槽内，从而防止该稀释口被向下压低到装置内，这样将允许试样膜内的测试液体无阻碍地从稀释口的任何表面自由通过。当除去轭架时，稀释口可以压低到有效位置，并使稀释口的拉伸臂上的卡住挂钩锁定成抵靠卡住插孔，从而使得稀释口的扁平圆形底表面压缩在该稀释口和装于中间件中的O形环的匹配圆形上表面之间的试样膜区域。该压缩的膜部分基本有效防止液体沿该膜从由中间件O形环和稀释口的相应匹配表面限定的区域的外部或内部进行流动。

中间件包括顶表面，该顶表面形成确定试样膜的槽道，并包括用于保持O形环的槽，该O形环形成一个与稀释口匹配的表面，以便确定用于测试的试样膜的容积。中间件包括通过槽道，以便允许稀释剂和试样离开试样膜和向下进入位于底部件中的储器中。中间件的底表面包括凸起，该凸起将诊断和控制膜导入该储器中，以便能进行稀释试样分析。

装置的基座包括用于与中间件和盖体对齐的部件以及用于稀释口的锁定臂的卡住插孔，以便将该稀释口和基座锁定在有效位置。该基座包括装有测试和/或控制条的一个或多个槽道以及用于试样膜的槽道。该测试和控制条槽道允许测试和控制条与在储存腔中的稀释测试试样接触，还使该条布置成经过用于测试结果分析的观察窗口。

测试和控制条与在储存腔中的稀释试样接触。试样沿该条从储器中移出，并遇到含有可视微粒的微粒衬垫，该可视微粒粘在微粒衬垫上，并标记所关心的分析物。稀释试样的、移动并进行标记的分析物再粘在该条的确定区域，该区域位于观察窗口的下面（见图10的圆形和矩形观察窗口）。然后，没有粘接在测试或控制条的一个膜上的任何移动流体都将由进行测试反应的吸纸吸收，以便完成测试和制备用于读出（见图10的实例）；

控制条或试剂线确认在测试中所用的试剂的反应效力（例如见图

10, C1 和 C2), 并确认稀释试样足够用于测试(例如见图 10, C3)。

另一方面, 发明提供了一种系统, 该系统除了包括该装置为还包括小瓶, 该小瓶装准确容积的稀释剂, 该稀释剂为给定测试所需。在一个实施例中, 该小瓶可压缩, 并还包括一定容量的气体, 该气体量等于或大于装入的液体。该小瓶包括颈部, 该颈部有足够小的直径, 以便在将该瓶翻转时防止溶液泄漏, 且该颈部有合适尺寸的柔韧顶端, 以便在将该顶端布置于稀释口的小瓶顶端插孔内形成紧密密封。通过除去帽体和将该小瓶的颈部牢固布置在稀释口的小瓶顶端插孔内, 挤压该小瓶将迫使所有的液体从该小瓶中流出, 并向下通过该稀释口。在稀释口内的槽道使稀释口的小瓶顶端插孔与稀释口的底表面以及隔离的试样膜区域相连。该稀释口和中间件的匹配表面确定了试样膜的限定容积。当已知容积的稀释剂通过该膜容积时, 将在该膜内的试样液体除去, 并以可重复的方式进行稀释。

在另一实施例中, 本发明提供了一种用于容易可靠地对测试液体进行取样的方法, 有时还同时对该测试液体进行稀释。该方法包括使液体试样充满多孔膜的空隙; 将确定量的液体试样隔离在试样膜的空隙内; 以及从该膜中释放该确定量的试样液体。

液体试样通过在试样膜的相对主表面(即在两侧)上的两个相对的互补表面而进行隔离。这些互补表面形成环绕确定容积的膜的周边。隔离的液体试样能够通过向包含隔离液体试样的膜部分供给第二液体或气体而从该膜中除去。当使用第二液体时, 同时使该液体试样稀释。

从膜中释放(和稀释)的液体试样收集在储器中, 它能够在该储器中进行进一步的分析, 以便确定特定成分或分析物。

如图 1-10 所示的本发明典型装置利用计算机辅助设计建模而进行设计。3-D 建模和计算机辅助设计程序 Rhinoceros (copyright 1993-1998, Robert McNeel and Associate, Seattle, Washington, USA) 首先用作  $\beta$  型, 然后作为可出售的专用软件。一旦完成设计, 将产生 STL 文件, 并利用立体技术产生几个不同的快速模型。在某些情况下, 部件的关键部分进行机械加工, 以便获得合适的公差。测试结果在下

面的实例中表示。

下面的实例用于举例说明，而不是对本发明范围的限定。

### 实例 1

#### 测试试样的稀释的可重复性

CytoSep 1661 膜可由 Ahlstrom Filtration Inc., chattanooga, TN 获得 (见 Baumgardner 等的美国专利 No.5186843, Blood Separation Media and Method for Separating Plasma From Whole Blood)。在确定要与图 7A 所示的医用装置的槽道 51 配合的条的尺寸之前, 将由 Adhesives Research Inc., Glen Rock, PA 获得的单面粘接剂涂覆聚酯层叠在 CytoSep 1661 膜的两面部分上。该不可渗透聚酯板用于限定膜内的液体流, 并使该液体流不会在涂覆有该聚酯的区域中溢出到装置表面上。在层叠聚酯后, 切成尺寸适于与图 7A 所示槽道 51 配合的条 20 (图 8C)。各个设定尺寸的 CytoSep 1661 条在其底表面包含层叠的聚酯。该聚酯从置于在完全装配好的装置中的试样接收腔下面的条端头沿底表面一直延伸到离装于中间件内的 O 形环的外边缘大约两毫米处 (见图 8B)。各个设定尺寸的 CytoSep 1661 条的上表面包含层叠的聚酯, 该聚酯从超过装置的试样接收腔 27 (图 5A) 的底表面的下游边缘大约 2mm 开始, 一直到离装于中间件 14 内的 O 形环 13 的外边缘大约 2mm 处 (见图 8B)。为此, 本实例采用了 008 规格的 O 形环以及设计成紧密保持该 008 规格 O 形环的中间件。设定尺寸且进行层叠的 CytoSep 膜条布置在装置中, 且装置的全部五个塑料部件在使用前装配好。

从当地超市中获得 Schilling<sup>TM</sup> 红食物色素 (由 McCormick & Co, Inc., Hunt Valley, MD, 制造, 并包含 FD & C Reds 40 和 3)。在 PBSAA 缓冲剂中制备食物色素的 1:10 稀释原料, 该 PBSAA 缓冲剂包括 50mM 磷酸盐、10mM NaCl, pH 值为 7.4, 并有在去离子水中的 0.05% 叠氮化钠和 0.1% 牛血清蛋白。该原料溶液的稀释液用 Gilford 分光光度计 (Gilford Systems, Ciba Corning, Oberlin, OH) 进行扫描。在 495 纳米的波长处看到峰值吸收。

对产生红食物色素的原料溶液的相同稀释液的装置的可靠性测试的试验将以如下方式进行。大约两滴（100 至 120 微升）的原料溶液添加到完全装配好的装置中，该装置装有设定尺寸和进行层叠的 CytoSep 1661 膜。在等候两分钟后，将扼架从稀释口中取出，并将该稀释口压低到锁定位置。使拧断帽的 0.8ml 塑料小瓶（由 Automatic Liquid Packaging, Woodstock IL 获得，并预装有 450 微升的 PBSAA 缓冲稀释剂）翻转，并将它的颈部压入稀释口中的槽道进口内，以便形成防泄漏的密封。挤压该小瓶，以便将它的所有内容物压出，保持 3 秒，然后取出小瓶，同时保持挤压该小瓶。

缓冲稀释剂经过由装置隔离的 CytoSep 1661 膜部分，以便进行测试。该隔离的膜包括位于膜的、由装置压缩的圆周环内的膜的未压缩圆形区域。膜环通过处于锁定和有效位置的稀释口的底表面以及装在中间件的上表面中的 O 形环而进行压缩。在压力下引入稀释口槽道的缓冲稀释剂经过该槽道，并经过膜的隔离环，以便除去红食物色素。析出的红食物色素和稀释剂向下经过中间件的槽道，从而形成收集在底部件中的储器内的混合稀释试样。

由装置获得的红食物色素稀释液以如下方式进行评估。

在将稀释剂从拧断帽的小瓶中压出并将它从装置中除去之后，立即松开稀释口，并将 300 微升的稀释试样从储器中取出，并置于试管内。对于每 300 毫升稀释试样另外添加 300 毫升 PBSAA 稀释剂，以便读出分光光度计比色杯的结果。这使得装置产生的稀释液再进行 1:2 的稀释。重复使用该装置，以便判断它在不同条件下产生的红食物色素原料溶液的稀释液。所获得的稀释液通过在 495 纳米波长下对 1:2 稀释的试样进行读取而进行评价。

图 11 表示了两组十份稀释液在 495nm 波长下的平均吸收率，每份稀释液利用具有 CytoSep 1661 膜和在中间件中的 008 规格 O 形环的医疗装置在不同天形成。平均吸收率是 0.515，中间吸收率是 0.514。离平均值的两个标准偏离范围是 0.425-0.605。当与在相同条件下读取的、原料溶液的已知稀释液的标准发展曲线比较时，由该装置产生的

稀释液的两个标准偏离范围是 1/75 至 1/105。

## 实例 2

### 试样膜厚度对稀释的作用

图 12A 表示了两组十份稀释液在 495nm 波长下的平均吸收率，每份稀释液利用具有 CytoSep 1661 膜和在中间件中的 008 规格 O 形环的医疗装置在不同天形成。对于一组十份稀释液采用 0.18mm 厚的 CytoSep 1661，而对于另一组十份稀释液采用 0.33mm 厚的 CytoSep 1660。三滴原料溶液（大约 165 微升）用于 CytoSep 1660 膜，因为它能够保持更大容积的试样。而对于采用 CytoSep 1661 的系列，将两滴（100 至 120 微升）原料溶液添加到试样接收腔中。在两个系列中，添加的容积都充分浸透所采用的膜的空隙容积。由 CytoSep 1661 膜产生的平均稀释为 1/90，两个标准偏差范围为 1/75-1/105。由 CytoSep 1660 膜产生的平均稀释为 1/50，两个标准偏差范围为 1/44 到 1/65（图 12B）。这表明可以利用本发明的方法通过选择不同厚度的膜而获得一定范围的稀释。这些膜越厚就越能在每单位面积中容纳越多试样，从而使得给定量的稀释剂产生较低的稀释结果。

## 实例 3

### 取样的膜表面积对稀释的影响

测试如实例 1 采用 CytoSep 1661 膜进行。一百微升的红色素溶液添加到接收腔内。在将红色素原料溶液添加到接收腔和通过稀释口添加稀释剂之间延迟两分钟之后，加入四百五十微升的 PBSAA 稀释剂，以便从限定的隔离 CytoSep 1661 膜中除去试样。通过具有 4.55mm 内径的 008 规格 O 形环进行三次稀释，并与通过使用设计成采用内径为 2.55mm 的 007 规格 O 形环的稀释口和中间件而进行的三次稀释进行比较。利用公式  $\pi r^2$  可以看到，通过两个 O 形环进行取样的表面积比为：008 表面积/007 表面积 =  $(2.275)^2 / (1.275)^2 = 5.18 / 1.63 = 3.18$ 。因此，可以认为采用 008 规格 O 形环的装置和方法将除去 3.18 倍的更多试样。使用 008 膜的三个测试产生的 A495 读数为 0.447、0.423 和 0.445，A495 的平均值为 0.438。使用 007 膜的三个测试产生的 A495 读数为

0.226、0.184 和 0.212，A495 的平均值为 0.207。当采用已知红色素原料溶液的已知稀释液获得的标准稀释曲线（图 12B）时，A495 平均读数 0.438 对应于 1/120 稀释，而 A495 平均读数 0.207 对应于 1:380 稀释。这两种稀释之比为  $380/120=3.17$ ，接近根据取样表面积的预计结果。

#### 实例 4

##### 置于接收腔内的试样容积对稀释的影响

图 13 表示了对添加到装置的接收腔中的试样容积的影响进行检验的试验结果。与实例 2 相同，采用 CytoSep 1661 膜，并用 450 微升 PBSAA 稀释剂进行稀释。每次稀释在将试验添加到接收腔之后 2 分钟进行。对每次容积进行重复测试，测试的容积为 25、50、75、100、150、200 和 250 微升，对应于 1/2、1、3/2、2、3、4 和 5 滴。

结果显示，需要有足量的容积来浸透膜的空隙容积。25 和 50 微升的量（相当于 1/2 和 1 滴）不能充分浸透 CytoSep 1661 试样膜，从而导致 A495 读数为 0.168 和更低（图 13）。不过，75 微升和更大容积（相当于 3/2 至 5 滴）都能浸透取样膜。根据它们的 A495 吸收率，通过具有这些浸透容积的装置获得的试样基本相同。

#### 实例 5

##### 在添加试样和添加稀释剂之间的时间延迟对稀释的影响

图 14 表示了在添加试样和稀释剂之间的时间对本发明的方法和装置所生成的最终稀释液的影响进行检验的试验结果。与实例 1 相同，试验通过 CytoSep 1661 膜进行，并使用 100 微升红色素原料溶液。时间间隔测试重复进行，并为 5 秒、10 秒、15 秒、30 秒和 1 分钟。此外，在两分钟（120 秒）、五分钟（300 秒）和十五分钟（900 秒）之后进行单次稀释。在图中表示了直到 5 分钟的结果。试样从接收腔端部移动到在稀释口下面的区域，并达到充满该膜在使用点的相对端处的空隙容积的稳定状态，这需要至少一分钟。不过，在将试样添加到接收腔之后 2 分钟到 15 分钟时，在 495 纳米下的吸收率（A495）保持基本不变。

## 实例 6

用于检测在稀释血清试样中的 HIV 抗体的测试条的制备

各测试条制成为四个单独的部件，这些部件包括芯、微粒衬垫、白硝化纤维膜和吸纸。该芯用于将稀释的试样从基座中的储器向上吸入测试条中。用于这些试验的微粒衬垫涂覆有以胶态金标记的重组蛋白质 A (rPA)，该胶态金是可视觉观察的微粒试剂。当稀释血清试剂通过测试条移动时，在试样内的大部分抗体都由微粒试剂标记，并可以追踪它们随后在测试条上的移动。微粒标记的抗体沿测试条移动。这通过粘在白硝化纤维上的 HIV 抗原来表示，剩余的标记抗体继续离开硝化纤维到达吸纸。在与硝化纤维上粘接的 HIV 抗原相同的位置处存在紫线峰值表明在稀释的血清试样中存在由该 HIV 抗原指明的抗体。吸纸用于吸收沿测试条移动的大部分液体和试剂，从而提供白色硝化纤维背景，并有助于分辨粘在白硝化纤维的 HIV 抗原上的任何标记抗体。

PALL Corporation, Port Washington, NY 的 LoProSorb™ 用于芯和微粒衬垫。Costar Scientific Corporation, Cambridge, MA 的 Immunopore™ 硝化纤维纸用于测试的读出区域，Ahlstrom Filtration Inc., Chattanooga, TN 的纸 939 用作吸纸。

测试条的微粒衬垫部件在装配到最终测试条之前单独制备。该微粒衬垫涂覆有胶态金标记的重组蛋白质 A 溶液。重组蛋白质 A (rPA) (lot RC1041) 由 Repligen Corporation, Cambridge, MA 获得。胶态金-rPA 结合体如 Lea 等的 J. Histochemistry & cytochemistry, 40(6):757-758 (1992) 中所述通过以下改变而进行制备。氯化金 (tetrachlorauric 酸的三水化合物, ACS, Sigma Chemical Company, St, Louis, MO) 溶解在 HPLC 纯水中，且 100mg 金溶液每升 HPLC 纯水。一百 ml 的 0.1mg/ml 金溶液在耐火玻璃瓶中煮沸，同时搅动和注意防止蒸发。3.2ml 容积的 1% 柠檬酸钠添加到煮沸的金溶液中，并继续搅动。溶液开始转变成蓝灰色，然后继续搅动，并在两分钟后将溶液加热成为桔红色。加热和搅动再继续进行 6 分钟，然后冷却该溶

液。

最后的胶体在 520nm 波长下的吸收率为 1.072。对 Lot RC1041 rPA 进行防 NaCl 的最小防护测试，并形成 5 微克 rPA 每 ml 金胶体。利用  $K_2CO_3$  和  $H_3PO_4$  将 40ml 容积的金胶体调节成 pH 值为 6.0。加入浓度为 1mg/ml 的两百微升 rPA，与调节 pH 值的金胶体溶液进行混合。该溶液混合两分钟，然后放置四分钟。再加入 2ml 的 1%PEG（聚乙烯二醇）和 4.6ml 的 10%牛血清蛋白（BSA），并进行混合。在 Microfuge™（Beckman Instruments, Fullerton, CA）中离心分离成十二等份，每份 1.4ml，溶液以最大速度离心分离 45 分钟。将各个金胶体-rPA 小球上面的上层清液抽出，且各小球在 50 微升缓冲剂中重新悬浮，该缓冲剂为 50mM Tris pH 值 8.0、100mM 的 NaCl、0.02%的叠氮化钠、0.02% PEG 和 1% BSA。所有悬浮的小球都进行组合，并在 520 纳米下的吸收率为 3.15。该制备物用于在横向流分析中进行人体免疫球蛋白 G 检验测试，该人体免疫球蛋白 G 中涂覆在硝化纤维膜上，并显示在 1mg/ml 和 10mg/ml 浓度下，可以很容易地看到在涂覆在硝化纤维上的免疫球蛋白 G 有很强的污点。

对吸收率为 3.15 的原料胶态金 rPA 结合体进行粘附抗体能力测试，该抗体由 HIV 抗原指明，同时使这些抗体能够分辨 HIV 抗原。表示 HIV-1 的 gp41 的显性免疫区域的合成缩氨酸通过它的 C-端与在 Formoso 等所述的牛血清蛋白（美国专利 No.5260189）结合。该缩氨酸-蛋白质结合体沿垂直于条的长度方向的线而涂覆在硝化纤维膜条上，并近似在离该条的下游端四分之一距离处，浓度为 1mg/ml，然后阻挡该条的过度粘接位置，如后面所述。含有 HIV 抗体的血清在缓冲剂中稀释为 1:100，该缓冲剂包括 50mM Tris HCl、pH 值 8、100mM 的 NaCl、0.025%的叠氮化钠和 1% BSA。十微升的 HIV 阳性稀释血清与十微升的胶态金 rPA 结合体原料混合，该胶态金 rPA 结合体粘在测试血清的抗体上。这 20 微升的组合物再添加到硝化纤维条的上游端，并能够沿硝化纤维条经过粘接的 HIV 缩氨酸-蛋白质结合体，并离开该条的下游端到达吸纸。大部分可视胶态金 rPA 结合体经过硝化

纤维纸并到达吸纸，但是在硝化纤维的、预先粘接了 HIV 缩氨酸-蛋白质结合体的位置处留有粉红色线，与白色背景相对。重复用 1:100 稀释的、已知不含 HIV 抗体的血清重复进行试验，在硝化纤维膜的预先粘接了 HIV 缩氨酸-蛋白质结合体的位置处没有留下可视线。因此，这些试验表明该胶态金 rPA 结合体原料能够标记 HIV 抗体，这又使它们能够分辨粘接在硝化纤维膜上的 HIV 缩氨酸-蛋白质结合体。

胶态金 rPA 原料溶液用于以如下方式制备测试条的微粒衬垫。PALL Corporation, Port Washington, NY 的、背面已经有聚酯 (ARCARE 7815, Adhesives Research Inc., Glen Rock, PA) 的 LoProSorb™ 膜预先涂覆有脱脂奶溶液。该脱脂奶溶液阻挡缓冲剂包括在去离子水中的 0.5% 脱脂奶 (淡红色)，并有 50mM Tris、pH 值为 7.7、0.03% 的叠氮化钠和 0.45% 的已过滤消毒 PVP-40。在以该阻挡溶液浸透 LoProSorb™ 膜后，使它们完全干燥，然后涂覆有在去离子水中进行 1:6 稀释的胶态金 rPA 原料溶液，它包含 1% PVP-40, 0.02% 的叠氮化钠，0.1% 的 PEG、1% 的 BSA、2.5% 的蔗糖。

在装配到最终的测试条中之前，含有胶态金微粒的这些衬垫能够进行风干。

测试条的、涂覆有 HIV 抗原的硝化纤维膜部件在装配到最终测试条中之前单独制备。采用的 HIV 抗原是 Formoso 等在美国专利 No.5260189 中所述的缩氨酸 5S76。该缩氨酸通过它的 C-端与牛血清蛋白结合，且该缩氨酸-蛋白质结合体涂覆在硝化纤维上。所采用的硝化纤维膜是 Corning Costar, Cambridge, MA. 的 Immunopore™ 或 Schleicher & Schuell (Keene, NH) 的 5 微米硝化纤维。所用的 HIV 合成缩氨酸-蛋白质结合体为在涂层缓冲剂中的浓度范围为 2.5 至 12.5mg/ml，该涂层缓冲剂包括 50mM 磷酸盐，100mM 的 NaCl, 0.02% 的叠氮化钠和 0.05% 的 PVP-40。HIV 缩氨酸-蛋白质结合体溶液用于沿垂直于测试条的移动流方向的线而涂覆在硝化纤维上，并在室温下粘接十分钟。作为控制，在相同涂层缓冲剂中浓度为 0.2mg/ml 至 5mg/ml 的重组蛋白质 A 沿平行于 HIV 缩氨酸-蛋白质结合体抗原的线

涂覆在相同硝化纤维上，该线分开 1cm 距离。这能够在与 HIV 抗原粘接相同的条件下粘接到硝化纤维上。在硝化纤维上的其余有效位置再通过将硝化纤维浸没在阻挡缓冲剂的过滤消毒溶液中轻微摇动而进行阻挡，该缓冲剂包括在 50mM 的 Tris 中的 0.5% 的脱脂奶、0.45% 的 PVP-40、0.03% 的叠氮化钠，pH 值为 7.7，在室温下一个小时，随后风干。

最终的合成测试条通过利用 Adhesives Research Inc., Glen Rock, PA 的单面粘接剂涂覆聚酯 (ARCARE 7815 或 ARCARE 8160) 层叠在一起而形成。首先层叠在聚酯上的两个部件是可以涂覆和阻挡的硝化纤维膜和芯。对芯和硝化纤维之间的空间进行调节，这样，涂覆有胶态金标记 rPA 的微粒衬垫随后进行层叠，并产生在芯的上游侧和在硝化纤维膜的下游侧的 2mm 交叠区域。该交叠区域允许液体在沿测试条移动的过程中通过毛细作用从一个膜到另一个膜。随后，吸纸层叠在该合成物上，并在硝化纤维的下游侧，在该吸纸和硝化纤维之间交叠有 2mm 区域。层叠的四部分合成物的宽度切成适于医疗装置的测试条槽道的长度尺寸 (图 6、6-5)。在使用前，单个测试条从该合成物上切下，同时宽度适于医疗装置的测试条槽道的宽度。

#### 实例 7

##### 利用测试条检测 HIV 抗体

已知含有 HIV 抗体的血清与不含有 HIV 抗体的血清比较，其中稀释范围为从 1:10 到 1:4000，使用实例 6 的测试条。血清试样在实例 1 中所述的 PBSAA 缓冲剂中稀释。对于已知含有 HIV 抗体的试样，在血清稀释为 1:10 至 1:2000 时，在测试条上粘有 HIV 抗原的位置处显示出彩色微粒的可视线。这表明在已知阳性试样中灵敏地检测到 HIV 抗体。对于不含 HIV 抗体的试样，则没有出现该微粒可视线。这表明了实例 6 中构成的测试条的特性。在血清稀释为 1:10 至 1:300 时，不管是否有 HIV 抗原，粘有 rPA 的硝化纤维控制线都产生了微粒可视线。这表明在实例 6 的情况下，涂覆在硝化纤维膜上的 rPA 能够用作确认对足够量的血清免疫球蛋白进行了评价，以便证明阴性测试

结果有效。不管测试结果如何，都使用 rPA 作为确认添加足量血清的控制，在图 10 中表示为腔 C3。

### 实例 8

使用装置和方法来检测对于涂覆在测试条上的 Free gp41 HIV-1 缩氨酸的 HIV 抗体

HIV-1 的 gp41 的抗原缩氨酸 - 缩氨酸 PVIR 126 由 Bachem California (Torrance, CA) 获得。缩氨酸 PVIR 的氨基酸顺序是 H<sub>2</sub>N-Arg-Ile-Leu-Ala-Val-Glu-Arg-Tyr-Leu-Lys-Asp-Gln-Gln-Leu-Leu-Gly-Ile-Trp-Gly-Cys-Ser-Gly-Lys-Leu-Ile-Cys-Thr-Thr-Ala-Val-Pro-Trp-Asn-Ala-Ser-OH (SEQ ID NO:1)，同时缩氨酸通过在下划线部分产生 S-S 抗原环而具有一定环化作用。该缩氨酸以 2mg/ml 溶解在 1% 的醋酸中，然后用硝化纤维涂层缓冲剂稀释成 0.5mg/ml，该缓冲剂包括 50mM 磷酸盐、pH 值为 7.4、150mM 的 NaCl、0.05% 的 PVP-40 和 0.025% 的叠氮化钠。在硝化纤维涂层缓冲剂中的缩氨酸涂在硝化纤维条上，该硝化纤维条由包含在 Schleicher & Schuell (Keene, NH) AccuSep™ 膜中的硝化纤维形成，该缩氨酸为每线 3 滴 1.5 微升，并能够风干。在各条上的硝化纤维的上游首先是微粒衬垫，该微粒衬垫通过至少 3mm 与该硝化纤维相连，再上游是芯，该芯通过至少 3mm 与该微粒衬垫相连。硝化纤维的下游是吸纸，该吸纸通过至少 3mm 交叠而与该硝化纤维相连。芯包括 Pall-Gelman (Port Washington, NY) 的 LoProSorb 膜。通过以无 BSA 的 0.1% 免疫球蛋白 G(IgG) 对 LoProSorb 膜进行预处理，随后施加由 British Biocell International, Cardiff, UK 获得的蛋白质 A 胶态金 (20nm 尺寸, 8 O.D, 在 5% 海藻糖中)，从而制成微粒衬垫。胶态金浸透到衬垫中，并能够干燥，用于各条的衬垫为大约 5mm 宽 × 10mm 长。吸纸包括 S&S 纸 300，并用于芯吸沿测试条运动的所有流体，该流体从芯开始，通过微粒/胶态金衬垫到达涂覆有 PVIR gp41 缩氨酸的硝化纤维条上，并从测试条的下游端流出到 S&S300 吸纸上。

测试条首先用 1:100 稀释的 9 个 HIV 阳性血清进行测试，并与

1:100 稀释的 HIV 阴性血清进行比较。对于 HIV 阳性血清试样，附着有 HIV 抗体的胶态金微粒粘在测试条上并在涂有缩氨酸的区域中，而对于 HIV 阴性血清试样则没有。

然后将测试条置于本发明专利的测试装置中。对于 HIV 抗体阴性的全血用作阴性控制，与混合两部分全血的相同血液进行比较，其中 1 部分为 HIV 阳性血清。以正常方式使用测试装置，同时在 CyroSep 1661 (Pall-Gelman) 上使红血球与血清分离，随后通过添加稀释缓冲剂而通过取样口以大约 1:90 稀释，该缓冲剂包括 50mM 磷酸盐、150mM 的 NaCl、0.1% 的 BSA (无免疫球蛋白 G) 和 0.025% 的叠氮化钠。制备和稀释的全血试样从取样腔向上芯吸到测试条上，并沿测试条通过具有胶态金蛋白质 A 的微粒衬垫，并沿硝化纤维膜移动，经过粘接的 PVIR gp41 缩氨酸，并进入吸纸。HIV 阳性的全血-血清混合物使得胶态金粘在硝化纤维膜条的缩氨酸区域，对于 HIV 阴性的全血，该粘附不会发生。

#### 实例 9

使用装置和方法来检测对于测试条涂覆的 H.pylori 抗原的抗体  
测试条的制备与实例 8 中相同，除了所用的硝化纤维膜是来自 Beckman-Coulter (Palo Alto, CA) FlexSure HP™ 的测试条，它含有 H.pylori 抗原线。这些测试条布置在本专利的测试装置中，并与来自具有 H.pylori 抗体的人的血液以及没有 H.pylori 抗体的人的血液进行反应，与实例 9 相同。制备和稀释的全血试样芯吸到装置内的测试条上，具有 H.pylori 抗体的试样使得胶态金微粒集中在 H.pylori 抗原线，而没有 H.pylori 抗体的试样不能使胶态金集中在测试条的 H.pylori 线上。

#### 实例 10

使用装置和方法来检测全血中的 HCG 抗原

用于检测在尿液或血清中的人绒毛膜促性腺激素 (HCG) 的量具由 Vancouver Biotech Ltd., Vancouver, British Columbia, Canada 获得。这些条布置在本专利的测试装置中，并对三份全血试样进行测试。

一个试样来自孕妇，两个试样来自血液中不含 HCG 的男人。66 微升的全血布置在装置的血液收集腔内，并能够沿 CytoSep 1661 膜移动，在该膜内，通过三分钟，红血球与血清分离。在三分钟后，将取样口压低并锁定就位，并通过该口添加 250 微升的血清稀释缓冲剂，以便收集和稀释各人的血清试样，该缓冲剂包括 50mM 磷酸盐、pH 值为 7.4、150mM 的 NaCl、0.025% 的叠氮化钠以及 0.1% 的 BSA（无免疫球蛋白 G）。然后，这些制备和稀释的试样芯吸到来自 Vancouver Biotech Ltd 的量具测试条上。全部三个条都显示了控制线，但是只有孕妇显示了在涂覆了 HCG 单细胞抗体的区域内的线。

尽管已经介绍了本发明的优选实施例，但是应当知道，在不脱离本发明的精神和范围的情况下，可以进行各种变化。

---

 序列表

- <110> Clarty Technologies Incorporated  
 Buchanan, Thomas  
 Buchanan, Mark
- <120> 用于稀释流体和检测在稀释流体中的分析物的方法和装置
- <130> IMMI-1-18120
- <140> PCT/US01/  
 <141> 2001-10-17
- <150> US 60/241,409  
 <151> 2000-10-18
- <160> 1
- <170> PatentIn version 3.1
- <210> 1  
 <211> 35  
 <212> PRT  
 <213> 人(Homo sapien)
- <400> 1  
 Arg Ile Leu Ala Val Glu Arg Tyr Leu Lys Asp Gln Gln Leu Leu Gly  
 1                   5                   10                   15  
 Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys Thr Thr Ala Val Pro Trp  
                   20                   25                   30  
 Asn Ala Ser  
           35

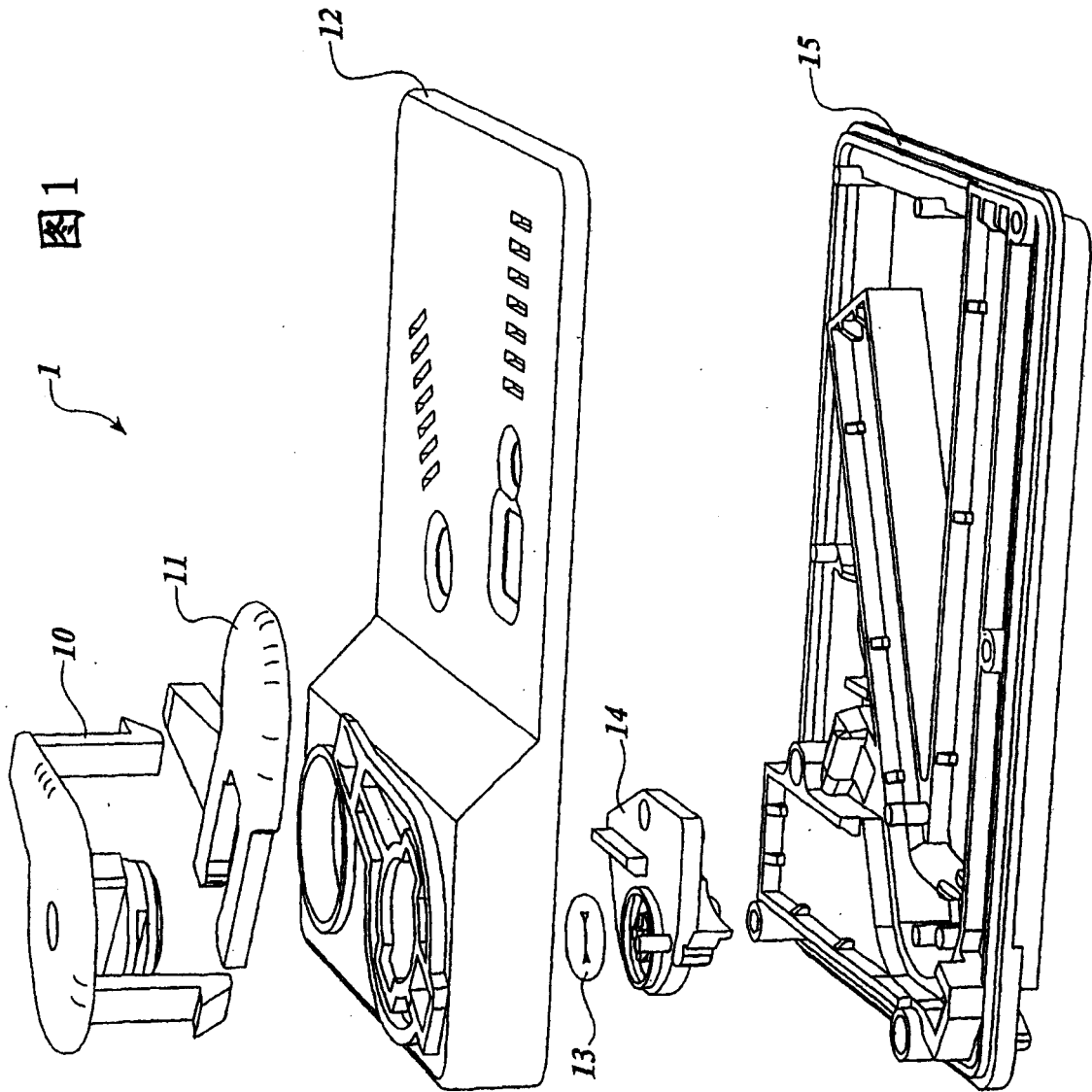


图2A

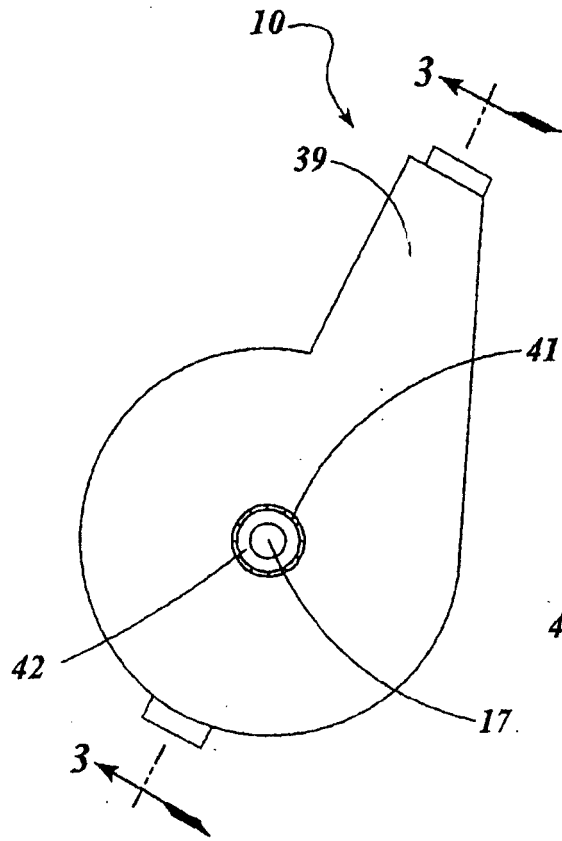


图2B

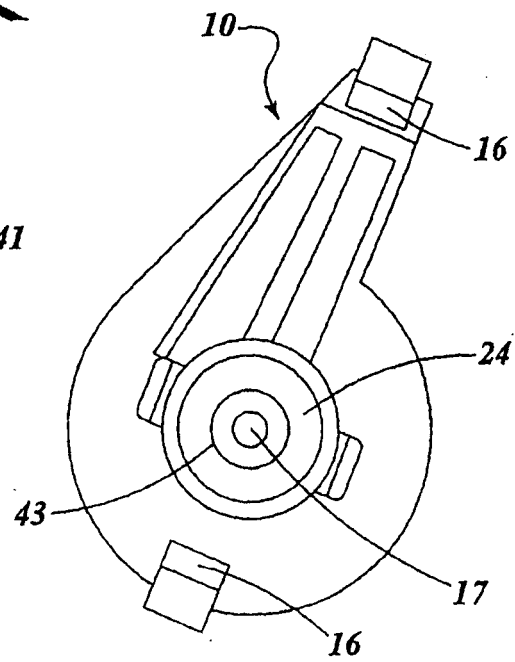
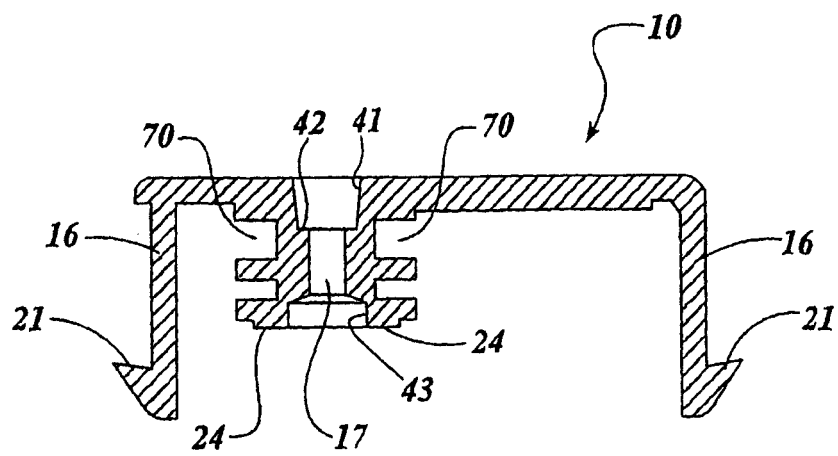


图3



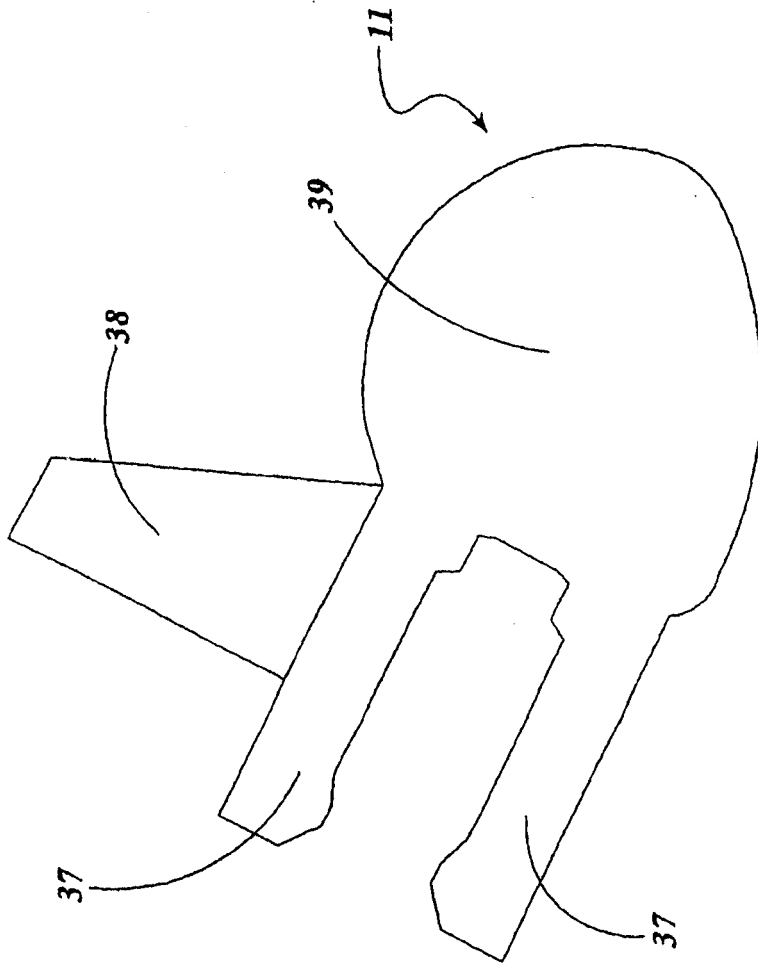


图 4A

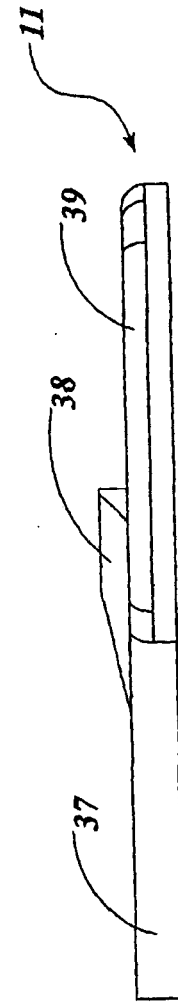


图 4B

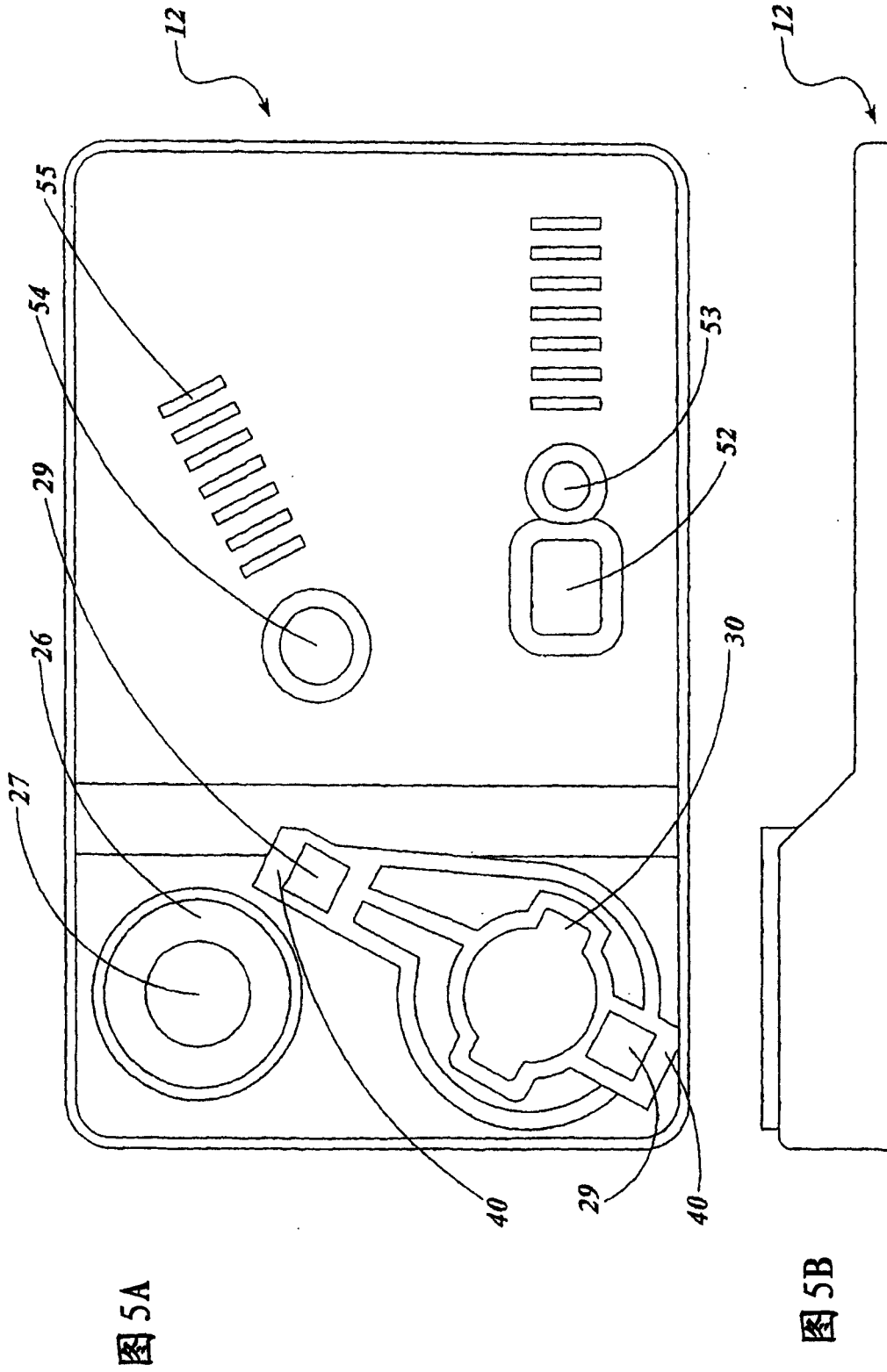


图 5A

图 5B

图6A

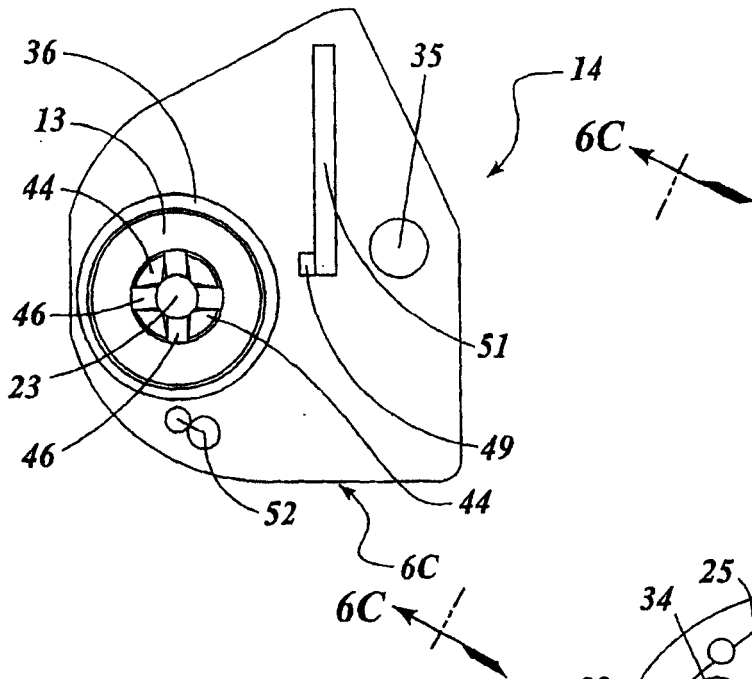


图6B

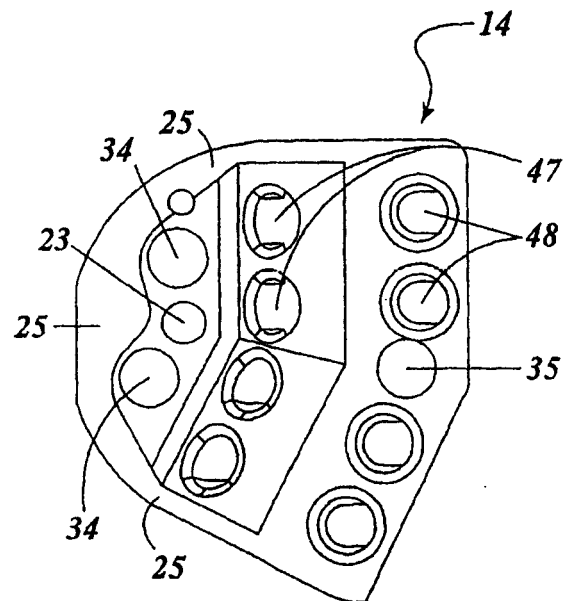
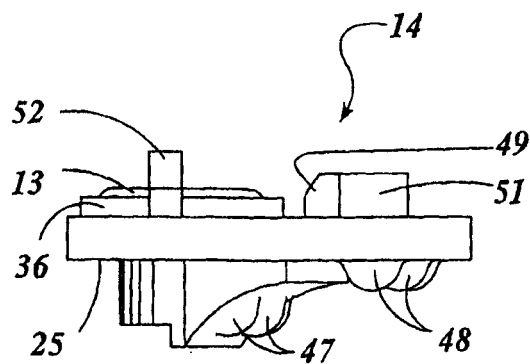


图6C



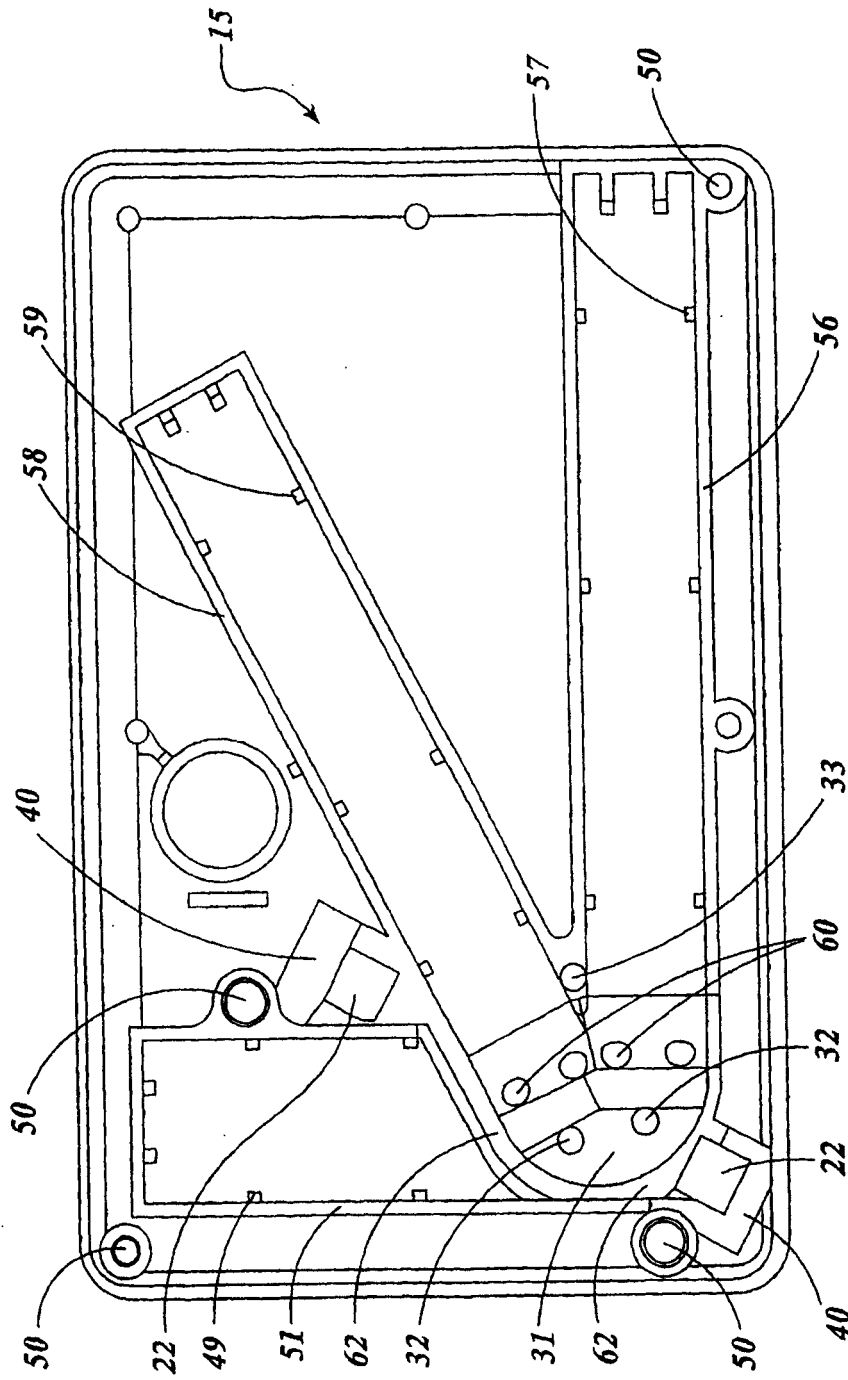


图 7A

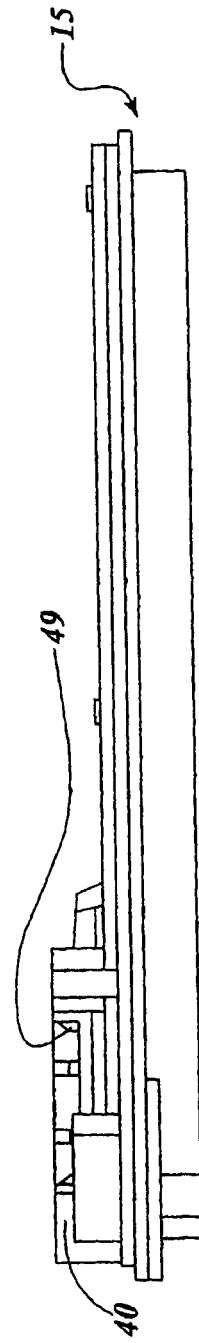


图 7B

图 8A

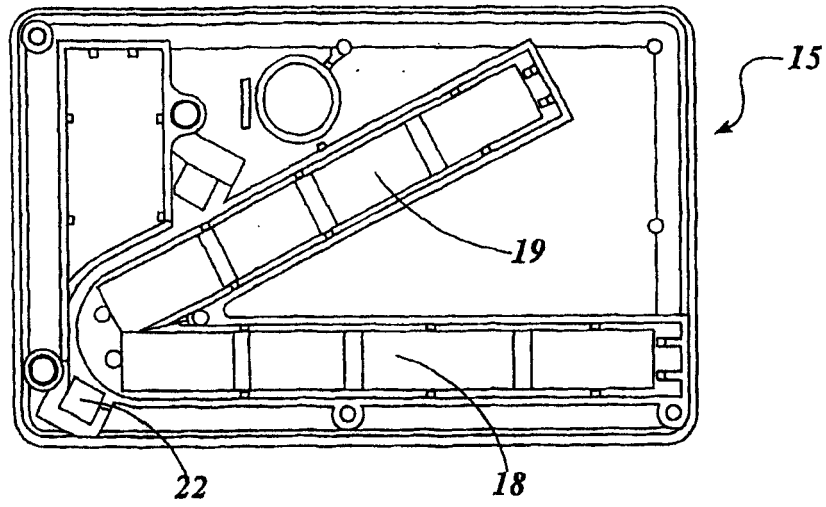


图 8B

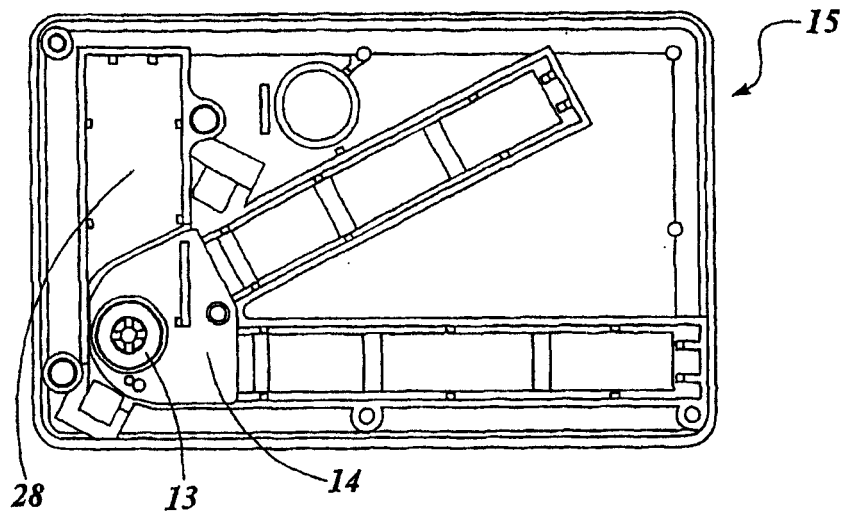


图 8C

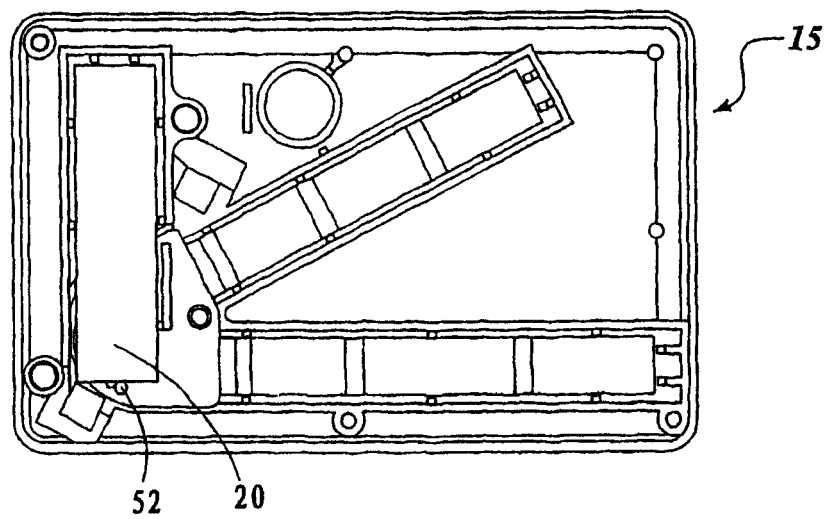


图9A

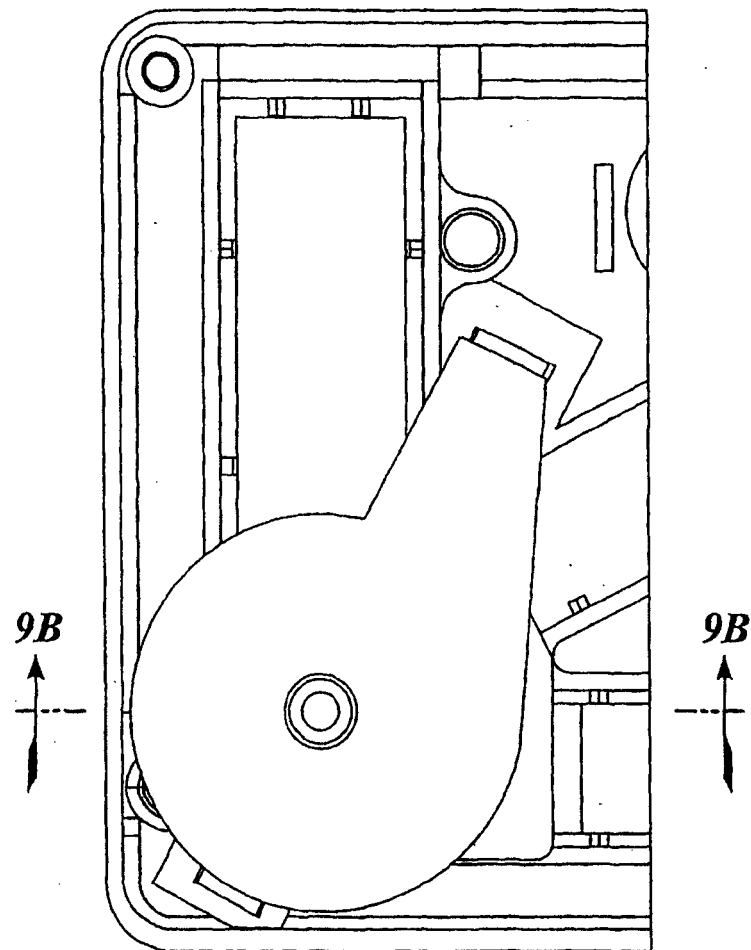


图 9B

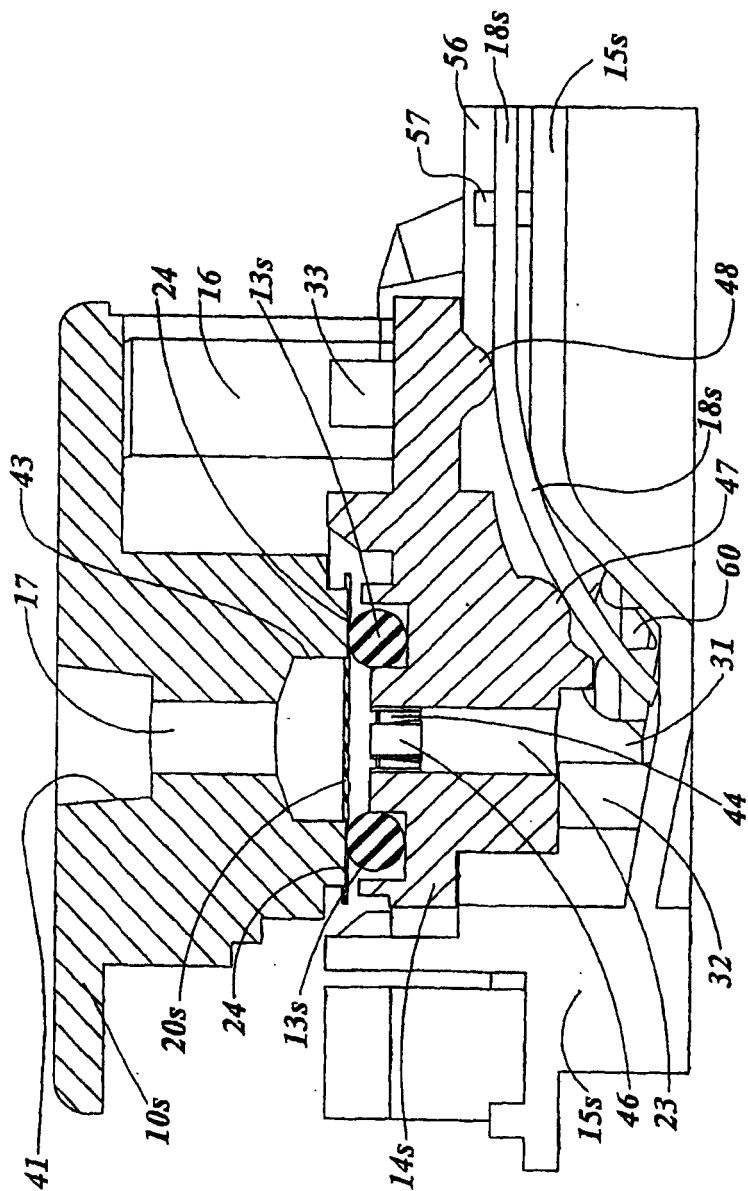


图10A

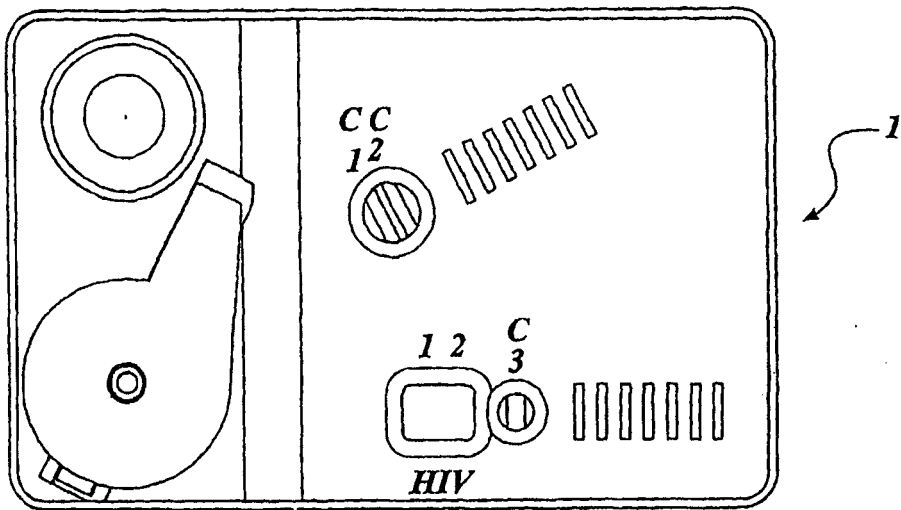


图10B

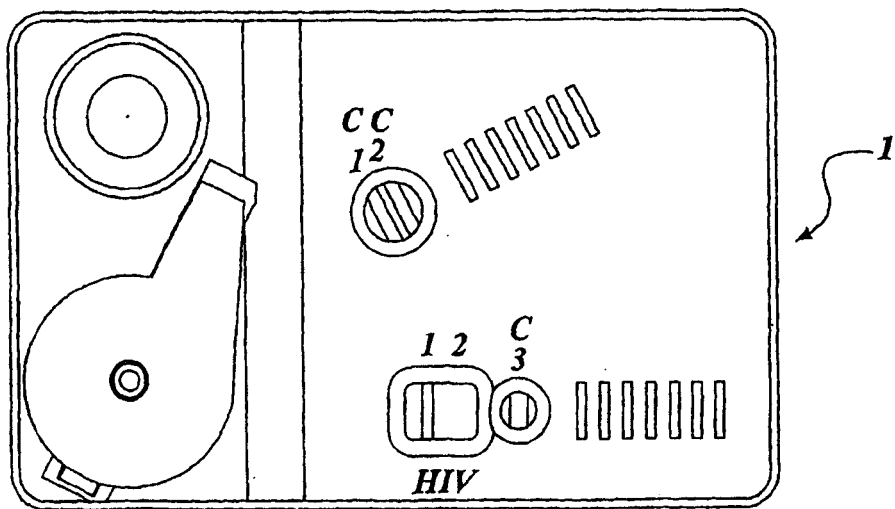


图10C

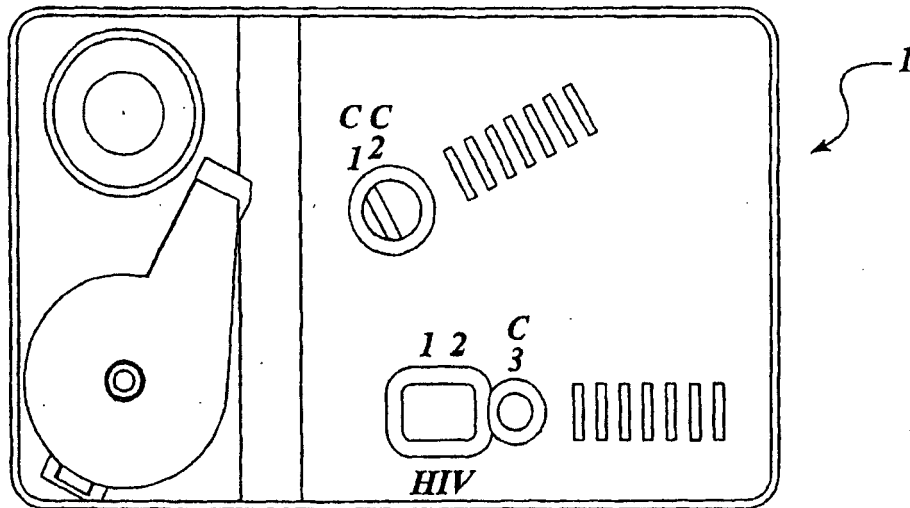


图10D

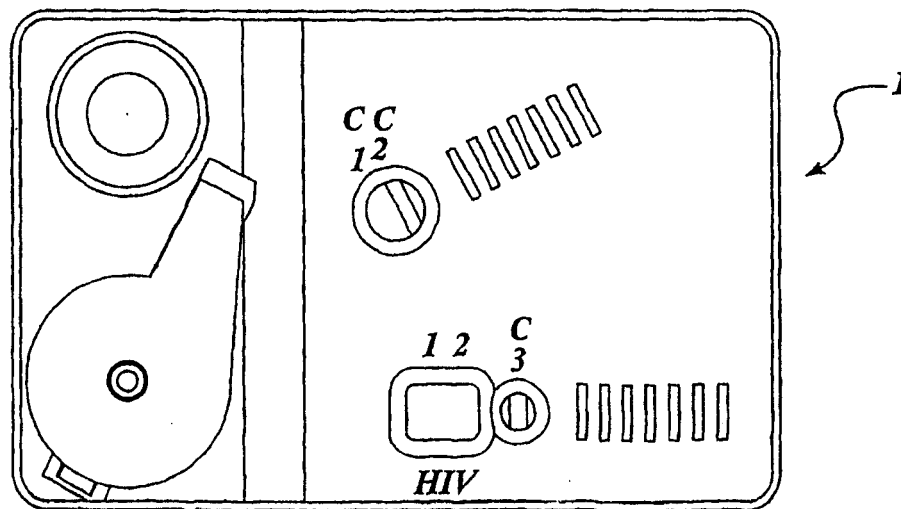


图11

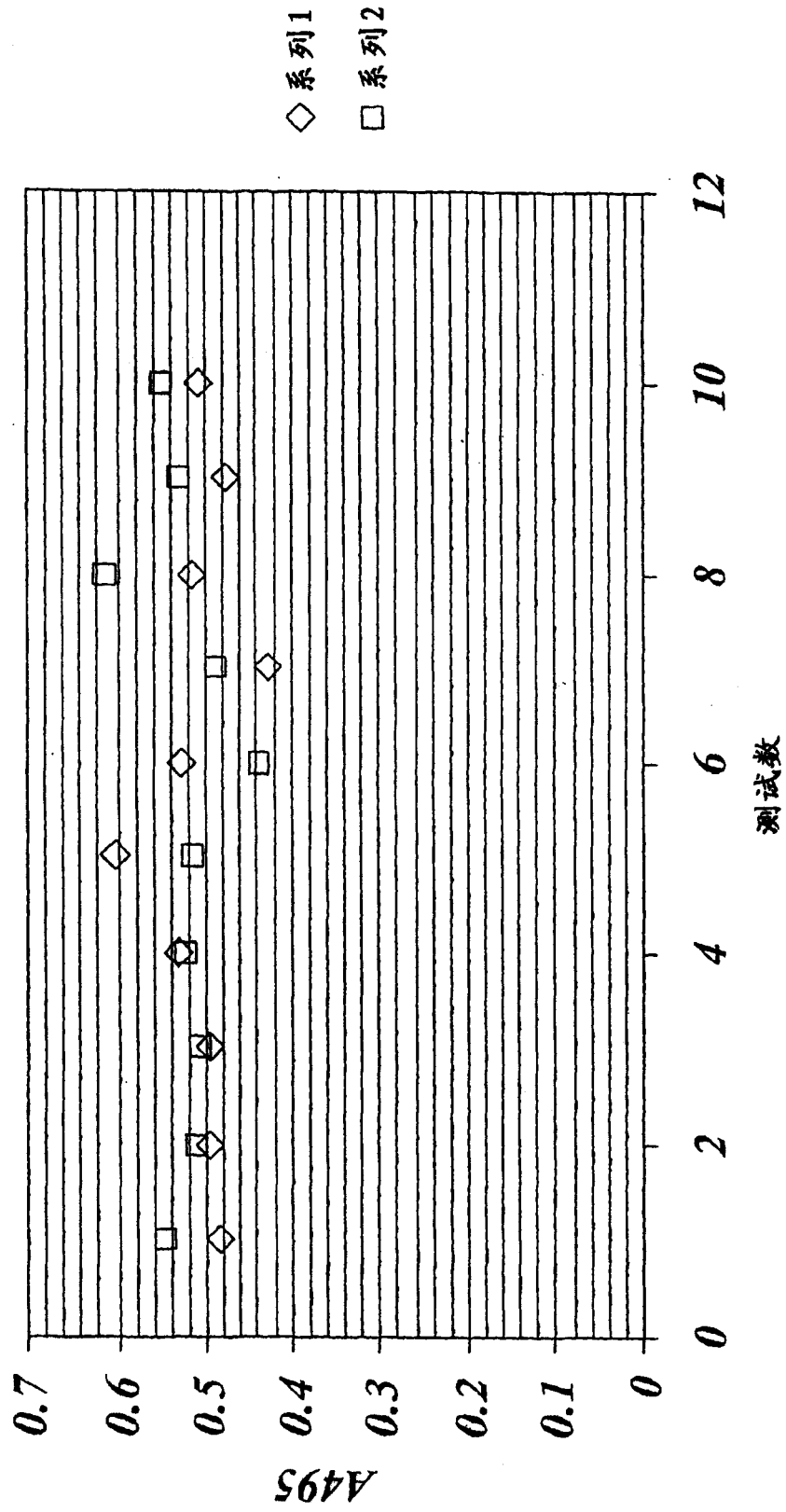


图12A

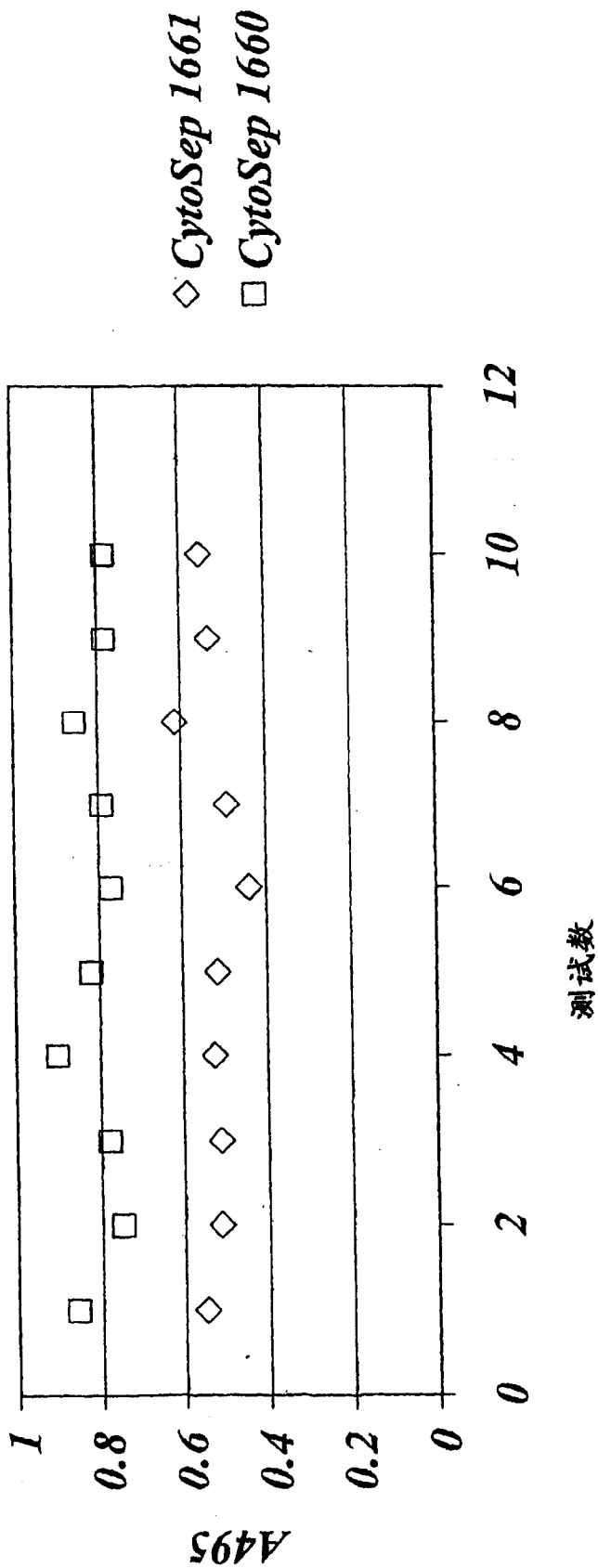


图12B

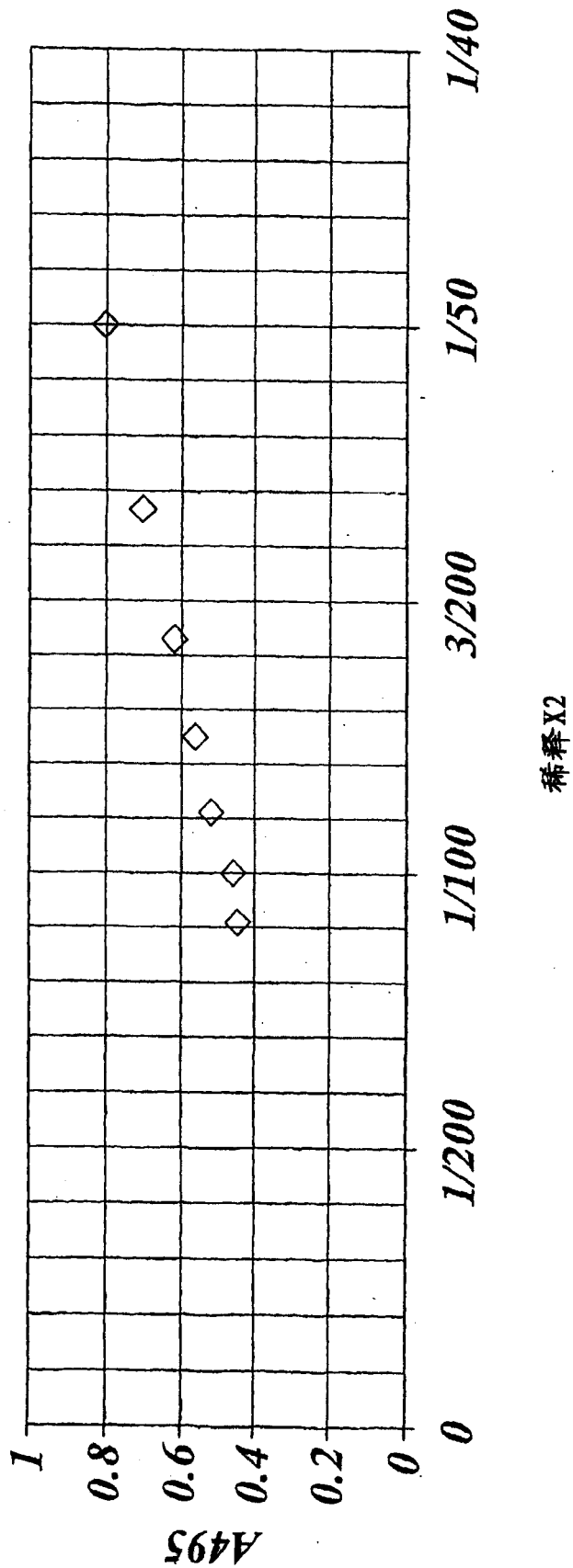


图13

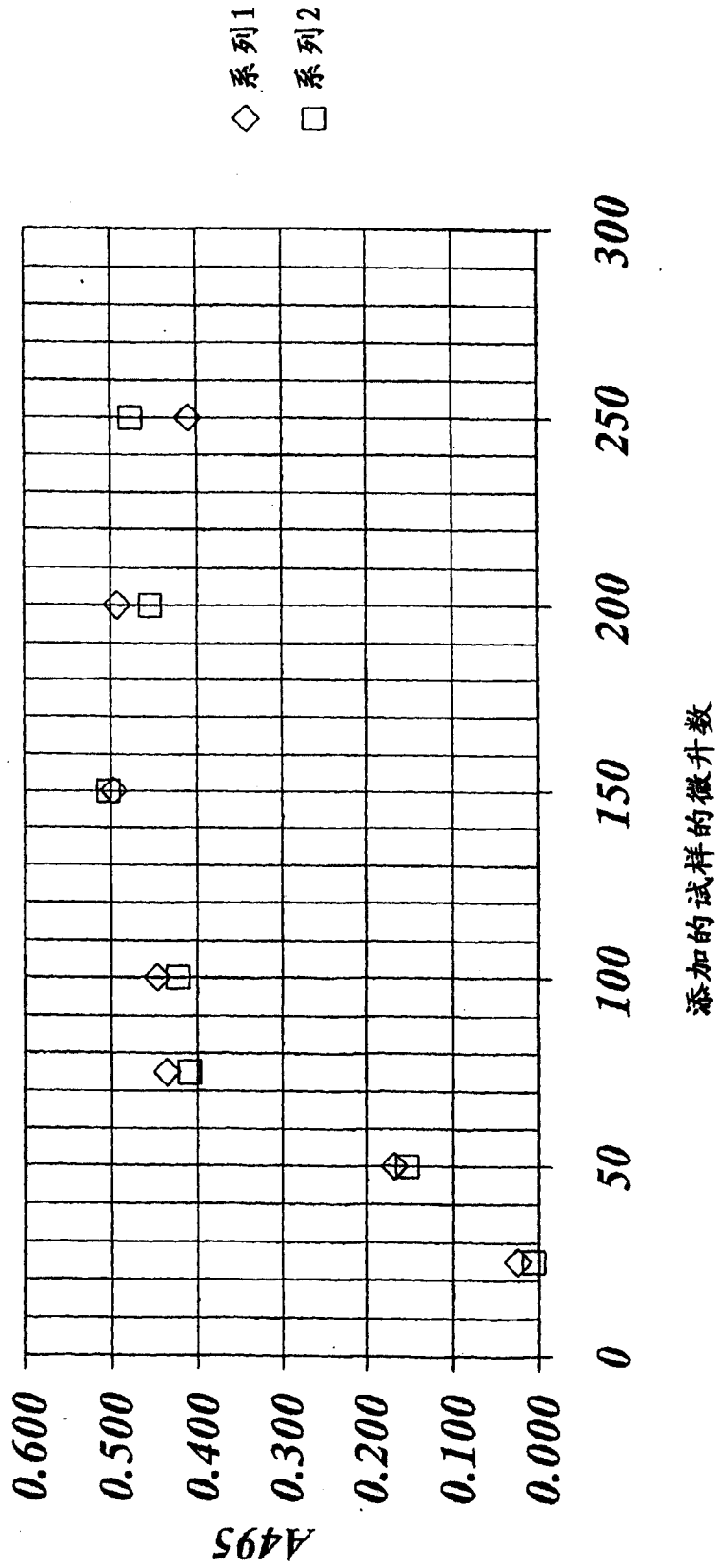
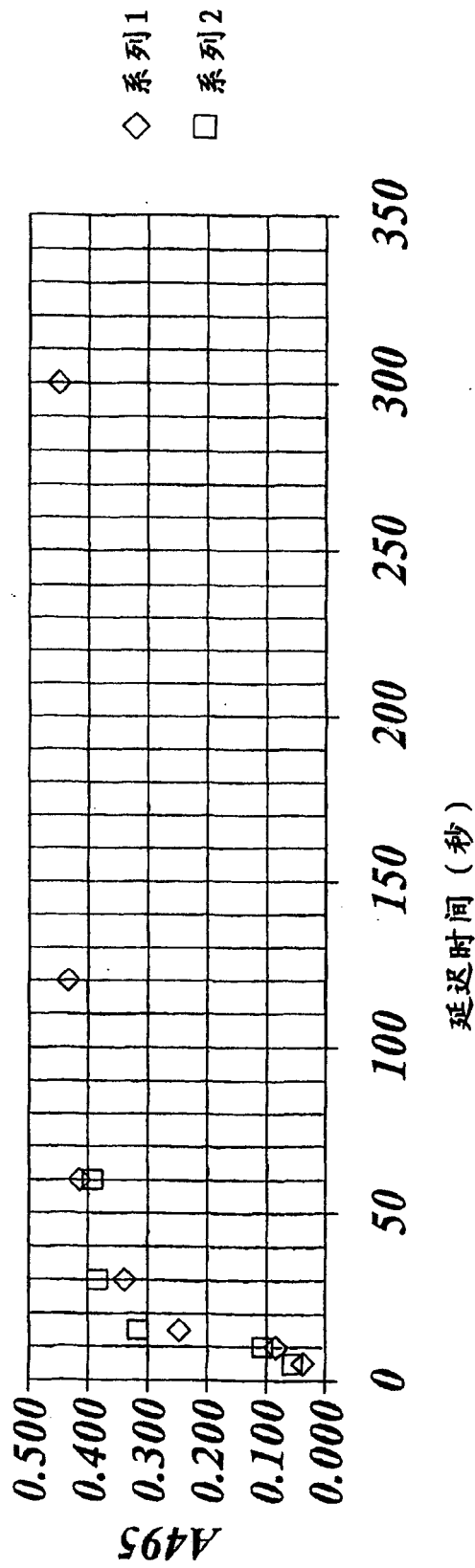


图14



专利名称(译)	用于稀释流体和检测在稀释流体中的分析物的方法和装置		
公开(公告)号	<a href="#">CN1314956C</a>	公开(公告)日	2007-05-09
申请号	CN01819381.1	申请日	2001-10-18
[标]申请(专利权)人(译)	克拉里蒂技术公司		
申请(专利权)人(译)	克拉里蒂技术公司		
当前申请(专利权)人(译)	克拉里蒂技术公司		
[标]发明人	托马斯M布坎南 马克 C 布坎南		
发明人	托马斯·M·布坎南 马克·C·布坎南		
IPC分类号	G01N21/00 G01N1/18 G01N1/10 G01N33/48 G01N33/53 G01N33/558 G01N31/22 B01L3/02 B01L11/00 B01L3/00 B01L99/00 G01N1/34 G01N1/38		
CPC分类号	Y10T436/2575 B01L2300/0867 B01L3/5023 G01N2001/4016 B01L2200/027 G01N2001/385 Y10T436/255 B01L2200/10 B01L2200/0605 B01L2300/069 B01L2300/0816 Y10T436/25625 G01N1/38 B33Y80/00		
优先权	60/241409 2000-10-18 US		
其他公开文献	CN1492996A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明提供了一种用于处理、取样和稀释流体的方法和装置以及一种用于检测在处理、取样和稀释后的流体中的分析物的方法和装置。在用于处理、取样和稀释流体的方法中，要进行处理、取样和稀释的一定量的流体通过多孔膜(20s)获得；浸透有流体的膜的一部分被隔离，从而确定了预定体积的流体试样；然后，用特定量的流体稀释剂来从该隔离的膜中释放该预定体积的液体试样，从而提供稀释的流体试样。在稀释流体试样中的分析物通过与该稀释流体试样流体接触的测试条(18s)来检测。

