



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106370840 A

(43)申请公布日 2017.02.01

(21)申请号 201610794315.7

(22)申请日 2016.08.31

(71)申请人 中山市创艺生化工程有限公司

地址 528400 广东省中山市火炬开发区国家健康基地康泰路8号

(72)发明人 何林辉 李瑞机 何平

(74)专利代理机构 广州嘉权专利商标事务有限公司 44205

代理人 胡辉

(51) Int. Cl.

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

权利要求书1页 说明书7页 附图3页

(54)发明名称

一种降钙素原免疫荧光定量试纸条及其制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种降钙素原免疫荧光定量试纸条及其制备方法。相对于普通储存液制备的试纸条,本发明所制备的降钙素原免疫荧光定量试纸条存储稳定性更佳,精密度更好,检测样品的出峰具有更高的信号和较平整的基线,准确度较高。

1. 一种降钙素原免疫荧光定量试纸条,包括吸水垫、硝酸纤维素膜、质控线、检测线、结合垫、样品垫、PVC底板;其中,结合垫上喷有降钙素原一抗-荧光微球偶联物;检测线为降钙素原一抗,质控线为降钙素原二抗,且检测线和质控线依次固定于硝酸纤维素膜上;样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫依次搭接并承载于PVC底板;其特征在于:降钙素原一抗-荧光微球偶联物使用储存液进行浸渍处理、保存和稀释;所述的储存液配方为:PB的质量浓度为15~25mM、BSA的百分浓度为1.6%~2%、Tween-80的百分浓度为0.4%~0.6%、葡萄糖的百分浓度为0.4%~0.6%、甘氨酸的百分浓度为1.5%~2.5%、PEG4000的百分浓度为0.8%~1.2%、PEG20000的百分浓度为1%~2%、Proclin300或叠氮钠的百分浓度为0.01%~0.1%。

2. 根据权利要求1所述的试纸条,其特征在于:所述的储存液配方为PB的质量浓度为20mM、BSA的百分浓度为1.8%、Tween-80的百分浓度为0.5%、葡萄糖的百分浓度为0.5%、甘氨酸的百分浓度为2%、PEG4000的百分浓度为1%、PEG20000的百分浓度为1.5%、Proclin300或叠氮钠的百分浓度为0.03%。

3. 根据权利要求1所述的试纸条,其特征在于:试纸条加样层析后,检测质控线和检测线的荧光信号强度,并以质控线荧光信号强度校正检测线的荧光信号强度,实现降钙素原的定量检测。

4. 一种降钙素原免疫荧光定量试纸条的制备方法,包括如下步骤:

(1) 将荧光微球活化后与降钙素原一抗偶联,偶联完毕后加入封闭剂,保存于储存液中;

(2) 将降钙素原一抗-荧光微球偶联物用储存液稀释后,喷于结合垫上,干燥保存;

(3) 将降钙素原一抗固定于硝酸纤维素膜上作为检测线,将降钙素原二抗固定于硝酸纤维素膜上作为质控线;

(4) 在PVC底板上依次搭接地粘贴:样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫,并剪切成适当宽度即成为降钙素原免疫荧光定量试纸条,其中,样品垫材质为玻璃纤维素膜或滤血膜,结合垫材质为玻璃纤维素膜;

其特征在于:所述的储存液配方为:PB的质量浓度为15~25mM、BSA的百分浓度为1.6%~2%、Tween-80的百分浓度为0.4%~0.6%、葡萄糖的百分浓度为0.4%~0.6%、甘氨酸的百分浓度为1.5%~2.5%、PEG4000的百分浓度为0.8%~1.2%、PEG20000的百分浓度为1%~2%、Proclin300或叠氮钠的百分浓度为0.01%~0.1%。

5. 根据权利要求4所述的制备方法,其特征在于:所述的储存液配方为PB的质量浓度为20mM、BSA的百分浓度为1.8%、Tween-80的百分浓度为0.5%、葡萄糖的百分浓度为0.5%、甘氨酸的百分浓度为2%、PEG4000的百分浓度为1%、PEG20000的百分浓度为1.5%、Proclin300或叠氮钠的百分浓度为0.03%。

6. 根据权利要求4所述的制备方法,其特征在于:降钙素原一抗-荧光微球偶联物在储存液中的保存浓度为0.1~10mg/mL。

一种降钙素原免疫荧光定量试纸条及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及免疫学检测领域,更具体地涉及一种降钙素原免疫荧光定量试纸条及其制备方法。

背景技术

[0002] 降钙素原(procalcitonin,PCT)是无激素活性的降钙素前肽物质,由神经内细胞分泌表达,经酶切分解为降钙素(CT)、羧基端肽和氨基端肽。PCT在正常人血清中含量极低,当机体发生全身炎症反应综合征时,如细菌性感染、胰腺炎、烧伤,血中CT前肽物质的所有剪接产物异常升高,其中PCT是最主要的产物。因此,血PCT水平与感染及损伤的严重程度呈正相关,已成为用于脓毒症、严重脓毒症、脓毒性休克的诊断和疗效监测的有效指标。

[0003] 目前,定量检测PCT的方法主要有酶联荧光法、电化学发光法,然而这些方法都需要大型仪器,对场地、设备和人员的专业化要求高。利用荧光免疫层析技术定量检测PCT,有检测仪器精巧轻便、操作简单迅速、结果准确等优点。因此,制备和生产降钙素原免疫荧光定量试纸条非常有市场价值。然而,要实现降钙素原免疫荧光定量试纸条的制备和长期保存,储存液是关键之一,储存液的好坏关乎试纸条的准确度和保存期。因此,通过改进储存液,开发高准确度的降钙素原免疫荧光定量试纸条非常有现实意义。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于提供一种降钙素原免疫荧光定量试纸条及其制备方法。

[0005] 本发明所采取的技术方案是:

[0006] 一种降钙素原免疫荧光定量试纸条,包括吸水垫、硝酸纤维素膜、质控线、检测线、结合垫、样品垫、PVC底板;其中,结合垫上喷有降钙素原一抗-荧光微球偶联物;检测线为降钙素原一抗,质控线为降钙素原二抗,且检测线和质控线依次固定于硝酸纤维素膜上;样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫依次搭接并承载于PVC底板;其特征在于:降钙素原一抗-荧光微球偶联物使用储存液进行浸渍处理、保存和稀释;所述的储存液配方为:PB的质量浓度为15~25mM、BSA的百分浓度为1.6%~2%、Tween-80的百分浓度为0.4%~0.6%、葡萄糖的百分浓度为0.4%~0.6%、甘氨酸的百分浓度为1.5%~2.5%、PEG4000的百分浓度为0.8%~1.2%、PEG20000的百分浓度为1%~2%、Proclin300或叠氮钠的百分浓度为0.01%~0.1%。

[0007] 作为优选的储存液配方,PB的质量浓度为20mM、BSA的百分浓度为1.8%、Tween-80的百分浓度为0.5%、葡萄糖的百分浓度为0.5%、甘氨酸的百分浓度为2%、PEG4000的百分浓度为1%、PEG20000的百分浓度为1.5%、Proclin300或叠氮钠的百分浓度为0.03%。

[0008] 试纸条加样层析后,检测质控线和检测线的荧光信号强度,并以质控线荧光信号强度校正检测线的荧光信号强度,实现降钙素原的定量检测。

[0009] 一种降钙素原免疫荧光定量试纸条的制备方法,包括如下步骤:

[0010] (1) 将荧光微球活化后与降钙素原一抗偶联,偶联完毕后加入封闭剂,保存于储存

液中；

[0011] (2) 将降钙素原一抗-荧光微球偶联物用储存液稀释后,喷于结合垫上,干燥保存；

[0012] (3) 将降钙素原一抗固定于硝酸纤维素膜上作为检测线,将降钙素原二抗固定于硝酸纤维素膜上作为质控线；

[0013] (4) 在PVC底板上依次搭接地粘贴:样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫,并剪切成适当宽度即成为降钙素原免疫荧光定量试纸条,其中,样品垫材质为玻璃纤维素膜或滤血膜,结合垫材质为玻璃纤维素膜；

[0014] 上述的储存液配方为:PB的质量浓度为15~25mM、BSA的百分浓度为1.6%~2%、Tween-80的百分浓度为0.4%~0.6%、葡萄糖的百分浓度为0.4%~0.6%、甘氨酸的百分浓度为1.5%~2.5%、PEG4000的百分浓度为0.8%~1.2%、PEG20000的百分浓度为1%~2%、Proclin300或叠氮钠的百分浓度为0.01%~0.1%。

[0015] 作为优选的储存液配方,PB的质量浓度为20mM、BSA的百分浓度为1.8%、Tween-80的百分浓度为0.5%、葡萄糖的百分浓度为0.5%、甘氨酸的百分浓度为2%、PEG4000的百分浓度为1%、PEG20000的百分浓度为1.5%、Proclin300或叠氮钠的百分浓度为0.03%。

[0016] 降钙素原一抗-荧光微球偶联物在储存液中的保存浓度为0.1~10mg/mL。

[0017] 本发明的有益效果是:

[0018] 相对于普通储存液制备的试纸条,本发明所制备的降钙素原免疫荧光定量试纸条存储稳定性更佳,精密度更好,检测样品的出峰具有更高的信号和较平整的基线,准确度较高。

附图说明

[0019] 图1:优选的储存液制备的降钙素原免疫荧光定量试纸条检测罗氏降钙素原标准曲线；

[0020] 图2:优选的储存液制备的降钙素原免疫荧光定量试纸条检测降钙素原重组抗原的检测值与理论值散点图。

[0021] 图3:不同储存液制备的试纸条检测含不同浓度降钙素原的病人血清样本的荧光检测折线图；

[0022] 图4:不同储存液制备的试纸条检测含降钙素原的病人血清样本检测值与罗氏-E601检测值的相关图。

具体实施方式

[0023] 实施例1

[0024] 降钙素原免疫荧光定量试纸条的制备过程如下:

[0025] (1) 优选储存液的制备:PB的质量浓度为20mM、BSA的百分浓度为1.8%、Tween-80的百分浓度为0.5%、葡萄糖的百分浓度为0.5%、甘氨酸的百分浓度为2%、PEG4000的百分浓度为1%、PEG20000的百分浓度为1.5%、Proclin300百分浓度为0.03%,按上述配方配制混匀后过滤除菌,制得储存液；

[0026] (2) 样品垫的制备:用样品垫处理液浸泡玻璃纤维膜10min,置于干燥间37℃湿度30%,烘干3h,制得样品垫,备用；

[0027] (3) 结合垫的制备:用结合垫处理液浸泡玻璃纤维素膜10min,浸泡处理后,置于干燥间37℃湿度30%,烘干3h,制得结合垫,备用;

[0028] (4) 将1mg的200nm聚苯乙烯荧光微球先后加入20μL的0.5mg/mL的EDC和0.5mg/mL的NHS,在活化缓冲液37℃活化1h;

[0029] (5) 加入0.1mg降钙素原一抗(鼠源降钙素原单克隆抗体),在200μL偶联缓冲液中与荧光微球偶联,完毕后加入封闭液20μL,制得降钙素原一抗-荧光微球偶联物,18000rpm离心15min后,加入200μL储存液,制得降钙素原一抗-荧光微球偶联物浓度为5mg/mL,2~8℃保存;

[0030] (6) 用储存液将降钙素原一抗-荧光微球偶联物稀释到0.5mg/mL,用喷金划膜仪喷于经结合垫处理液处理后的结合垫上,用鼓风干燥箱干燥7h。铝箔袋密封置于20-25℃、湿度约30%的条件下存放备用;

[0031] (7) 将1mg/mL降钙素原二抗(羊抗鼠IgG多克隆抗体)和1mg/mL降钙素原一抗分别用包被液包被,以条带状1.0mm用喷金划膜仪分别固定于硝酸纤维素膜上分别作为质控线和检测线;

[0032] (8) 在PVC底板上依次搭接地粘贴:样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸水滤纸,并剪切成宽度4.1mm即成为降钙素原免疫荧光定量试纸条;

[0033] (9) 将切好的试纸条装卡,过压壳机,准备检测;

[0034] (10) 样品垫处理液:100mMPBS、1% Triton、0.75% BSA、0.5% PVA、0.9% NaCl、0.3% 葡聚糖、0.05% Proclin300, pH7.8;

[0035] (11) 结合垫处理液:2% Tween-80、1.5% PVA、0.5% BSA、1% 海藻糖, PH7.05-7.10;

[0036] (12) 活化缓冲液为75mM MES, pH5.5;

[0037] (13) 偶联缓冲液:20mM PB, pH7.5;

[0038] (14) 封闭液:20% BSA;

[0039] (15) 包被液:20mMPBS, 1.2% 异丙醇、0.4% 葡聚糖20000、1.5% BSA、0.5% Tween-80、0.03% Proclin300, pH7.0。

[0040] 实施例2

[0041] 将实施例1制备的降钙素原免疫荧光定量试纸条建立标准曲线并进行检测,实施方法如下:

[0042] (1) 建立标准曲线:用罗氏降钙素原浓度为54ng/mL和0.1ng/mL标准品混合稀释至0.1ng/mL、0.25ng/mL、0.5ng/mL、2ng/mL、10ng/mL、20ng/mL、40ng/mL、50ng/mL八个浓度。用制备好的试纸条加样80μL上免疫荧光分析以检测,每个浓度重复3次取平均值。以检测线所出的T峰面积和质控线所出的C峰面积的比值为纵坐标,标准品理论值为横坐标,求出线性回归方程;

[0043] 标准曲线如图1所示,得线性关系 $y = 0.699x + 0.0459$, $R^2 = 0.9904$,用该方程可计算样品中的降钙素原含量,实现定量,且相关性好。

[0044] (2) 样品检测:用抗原稀释液对降钙素原重组抗原倍比稀释至0.1ng/mL、0.2ng/mL、0.4ng/mL、0.8ng/mL、1.6ng/mL、3.2ng/mL、6.4ng/mL、12.8ng/mL、25.6ng/mL、51.2ng/mL十个浓度(作为理论值)。抗原稀释液:20mMPBS, 0.5% BSA, 0.5% Tween-20, PH7.2;将求得T/C峰面代入 $y = 0.699x + 0.0459$ 中的Y,求得X为所测抗原值(作为测量值)。

[0045] 结果如图2所示,可以看出实施例1制备的试纸条检测值与理论值偏差小($R^2=0.9978$),检测的准确率高。

[0046] 实施例3

[0047] 配制对照储存液,具体配方为:PB的质量浓度为50mM、BSA的百分浓度为1%、Tween-80的百分浓度为1%、葡萄糖的百分浓度为1%、甘氨酸的百分浓度为0.5%、PEG4000的百分浓度为2%、Proclin300百分浓度为0.3%。

[0048] 采用实施例1制备的优选储存液(以下简称储存液2)与对照储存液(以下简称储存液1)进行助稳性能和精密度对比,实施方法和结果如下:

[0049] 用储存液1和储存液2,对相同工艺标记的降钙素原(PCT)一抗-荧光微球进行喷膜干燥,分别组装成40个试纸条,放铝箔袋、干燥剂封口。一袋放置冰箱4℃保存7天(对照组),另外一袋放置温箱37℃加速7天。完整7天后,取出卡条,分别加入浓度为50ng/mL和500ng/mL的PCT重组抗原检测。根据理论37℃加速7天相当于4℃保存1年,模拟1年后的抗原检测情况,结果如下表1、表2所示。

[0050] 从表1、2得出,优选的储存液2制备的试纸条在37℃加速七天后,测试值下降比率小于1%,且精密度较好;而对照储存液1制备的试纸条在37℃加速七天后,测试值下降16%左右,精密度相对较差。

[0051] 表1、2种储存液制得的试纸条测试2ng/mL PCT重组抗原的效果对比

[0052]

储存液 1			储存液 2		
测试浓度	2ng/mL		测试浓度	2ng/mL	
测试样	测试值 ng/mL		测试样	测试值 ng/mL	
	4°C	37°C		4°C	37°C
测试 1	2.086814	1.820558	测试 1	2.086814	2.023239
测试 2	2.064282	1.738962	测试 2	2.064282	2.003309
测试 3	2.052821	1.588903	测试 3	2.052821	2.016318
测试 4	2.049619	1.523219	测试 4	2.049619	2.021537
测试 5	2.051247	1.560231	测试 5	2.051247	2.036529
测试 6	2.020577	1.332226	测试 6	2.020577	2.005196
测试 7	2.030385	1.454875	测试 7	2.030385	1.96176
测试 8	2.017447	1.736889	测试 8	2.017447	2.018878
测试 9	2.033336	1.81187	测试 9	2.033336	2.09074
测试 10	2.026206	1.528773	测试 10	2.026206	2.015344
测试 11	1.983001	1.646626	测试 11	1.983001	2.064183
测试 12	2.055386	1.325085	测试 12	2.055386	1.944579
测试 13	2.006329	1.827018	测试 13	2.006329	2.024148
测试 14	2.009052	1.642922	测试 14	2.009052	2.027965
测试 15	2.028708	1.857147	测试 15	2.028708	2.005288
测试 16	1.979504	1.7913366	测试 16	1.979504	2.011896
测试 17	2.03702	1.889956	测试 17	2.03702	2.026179
测试 18	2.040617	2.010103	测试 18	2.040617	2.018059
测试 19	2.063587	1.835034	测试 19	2.063587	2.053415
测试 20	2.043792	1.937632	测试 20	2.043792	2.009582
AVE	2.0339865	1.6929683	AVE	2.0339865	2.0189072
SD	0.026752998	0.1946009	SD	0.026753	0.0311725
CV	1.32%	11.49%	CV	1.32%	1.54%
下降比例	16.77%		下降比例	0.74%	

[0053] 表2、2种储存液制得的试纸条测试10ng/mL PCT重组抗原的效果对比

[0054]

储存液 1			储存液 2		
测试浓度	10ng/mL		测试浓度	10ng/mL	
测试样	测试值 ng/mL		测试样	测试值 ng/mL	
	4°C	37°C		4°C	37°C
测试 1	10.043281	9.759119	测试 1	10.043281	10.079311
测试 2	9.986655	8.996423	测试 2	9.986655	9.991787
测试 3	10.054092	9.035307	测试 3	10.054092	10.042729
测试 4	9.952425	9.101639	测试 4	9.952425	9.956182
测试 5	10.037585	8.861722	测试 5	10.037585	9.927236
测试 6	9.858538	7.807311	测试 6	9.858538	9.932262
测试 7	10.336427	8.807311	测试 7	10.336427	9.972034
测试 8	10.097002	7.929542	测试 8	10.097002	10.088512
测试 9	9.957936	9.186483	测试 9	9.957936	9.925234
测试 10	10.022817	7.927399	测试 10	10.022817	9.929334
测试 11	9.775249	9.019268	测试 11	9.775249	9.946645
测试 12	10.033648	7.752516	测试 12	10.033648	9.986679
测试 13	9.943807	9.184798	测试 13	9.943807	9.904229
测试 14	10.10495	9.914363	测试 14	10.10495	10.063916
测试 15	10.174412	8.998327	测试 15	10.174412	9.968464
测试 16	10.140412	7.91449	测试 16	10.140412	9.976102
测试 17	10.233801	7.227955	测试 17	10.233801	9.963202
测试 18	9.736289	8.963487	测试 18	9.736289	9.947086
测试 19	9.819885	7.983566	测试 19	9.819885	9.970208
测试 20	9.916185	8.914922	测试 20	9.916185	9.9819
AVE	10.01127	8.6642974	AVE	10.01127	9.9776526
SD	0.1505485	0.7229617	SD	0.1505485	0.0525231
CV	1.50%	8.34%	CV	1.50%	0.53%
下降比例	13.45%		下降比例	0.34%	

[0055] 实施例4

[0056] 用储存液1和储存液2(同实施例3),对相同工艺标记的降钙素原一抗-荧光微球进行喷膜干燥,组装好试纸条,分别用浓度为0.178ng/mL、0.278ng/mL、0.487ng/mL、0.574ng/mL、1.36ng/mL、8.35ng/mL的含降钙素原的罗氏E601赋值的病人血清样本对两种试纸条加样检测,随后用配套检测仪器对试纸条窗口信息进行读取。通过仪器激光对窗口的荧光微球进行激发,再采集窗口300个位置(作横坐标)的发射荧光强度(作纵坐标),利用荧光分析软件将300个点按顺序连在一起形成折线图。

[0057] 如图3所示,折线图可反映荧光微球在NC膜上的跑膜情况,图中有两个峰,左边为T峰(对应肉眼视卡条为检测线),右边为C峰(对应肉眼视卡条为质控线)。使用储存液2的整体出峰效果较好,说明储存液2对抗体-荧光微球偶联物从结合垫释放到NC膜效果较好。使用储存液1的则出峰信号不高,基线不平整,前段抬起较明显,影响软件对峰面积的计算,进

而影响读值的准确度。

[0058] 实施例5

[0059] 用储存液1和储存液2(同实施例3),对相同工艺标记的降钙素原一抗-荧光微球进行喷膜干燥,分别组装15个试纸条,用15个不同浓度的含降钙素原抗原的病人血清样本同时对两种试纸条加样检测。用配套检测仪器对试纸条窗口信息进行读取,用荧光分析软件计算T峰面积与C峰面积,同时用1VD行业权威公司罗氏旗下的E601全自动血化学发光仪检测的结果值。

[0060] 以罗氏E601评价2种储存液制备的试纸条检测结果的临床诊断准确性。如图4所示,纵坐标为T峰面积/C峰面积,横坐标罗氏E601结果值,储存液2制备的试纸条检测结果与罗氏的E601仪器检测结果较吻合($R^2=0.995$),而储存液1的血清线性相关较差($R^2=0.929$),重复性也不好。这与前述储存液2让抗体-荧光微球偶联物释放效果更好,软件计算面积更加准确有关。

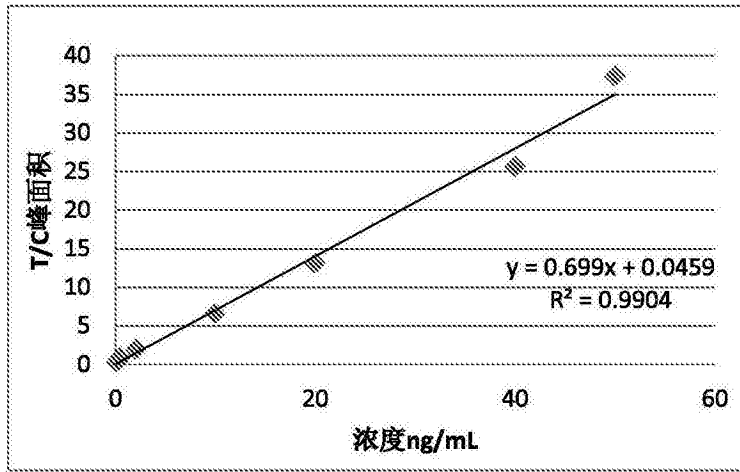


图1

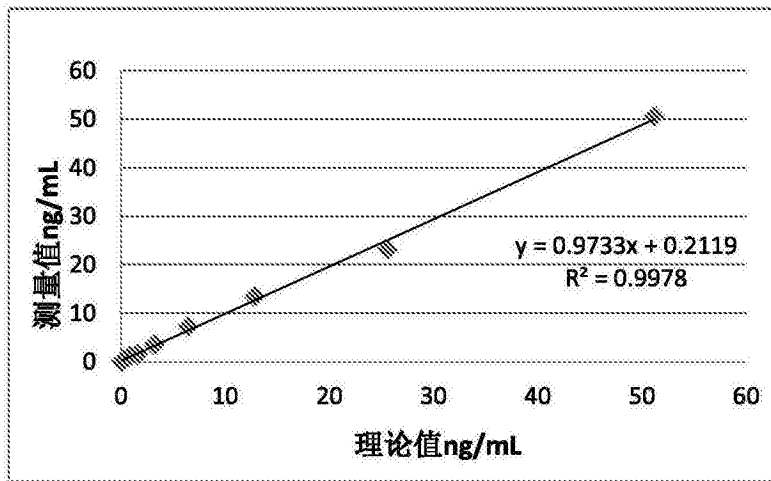
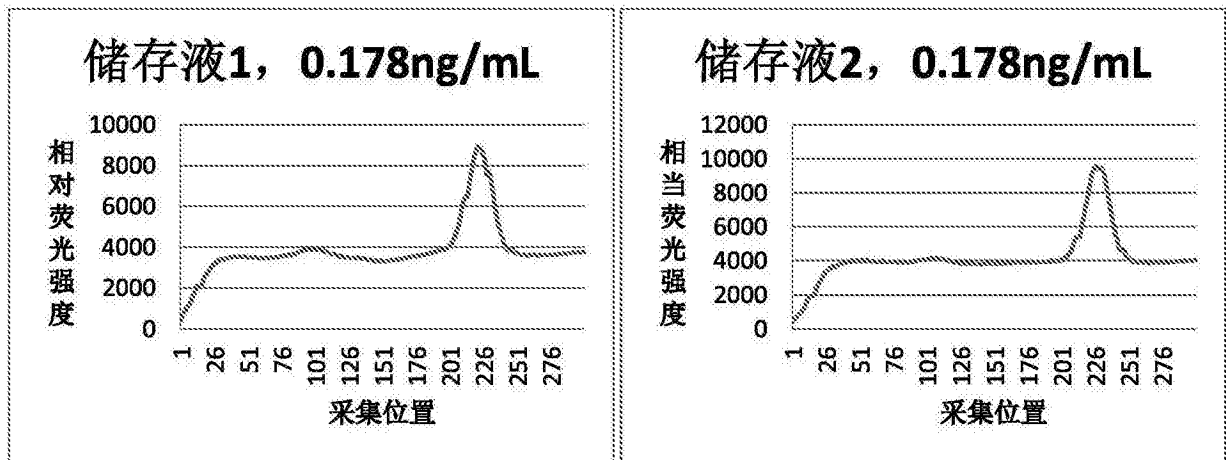
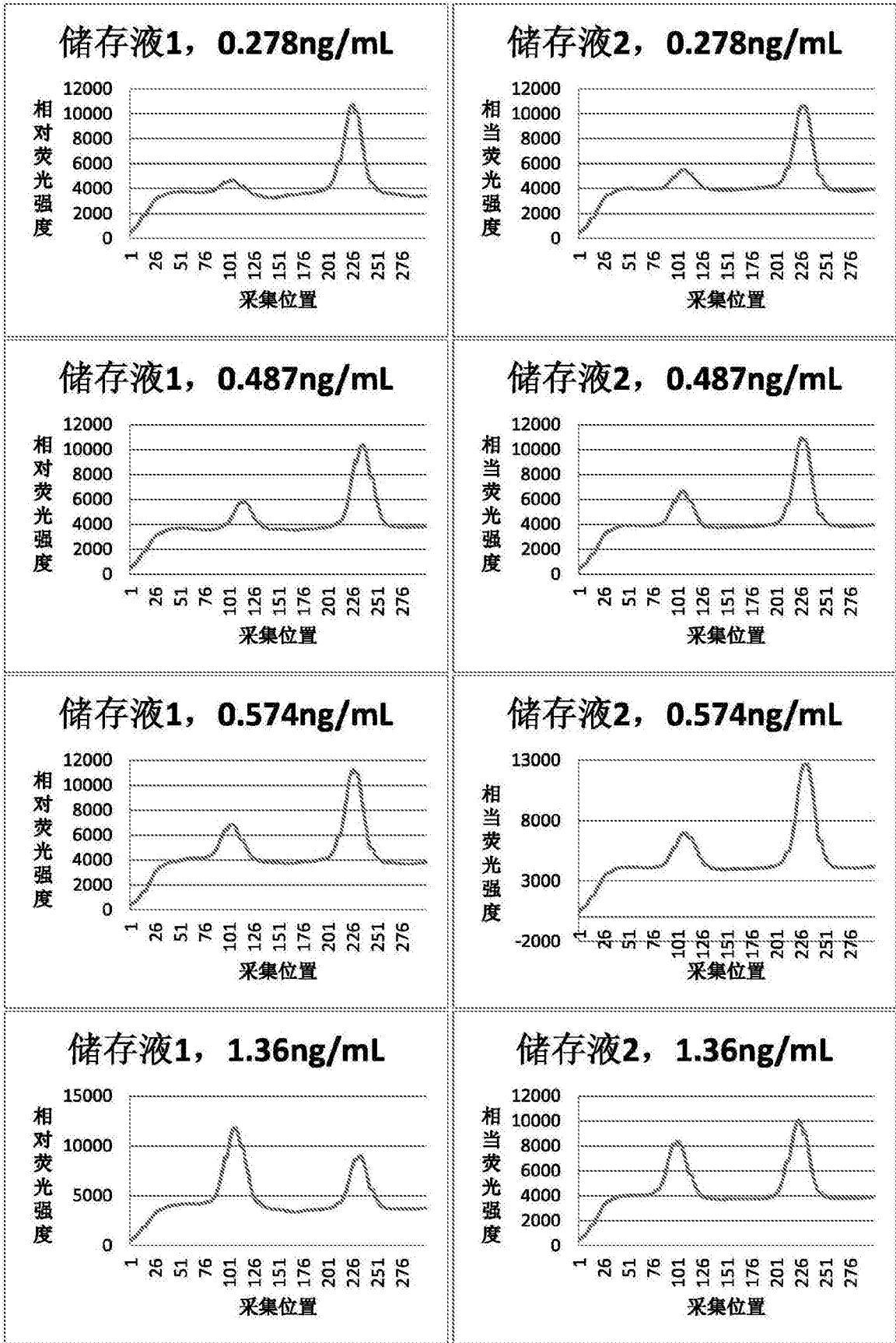


图2





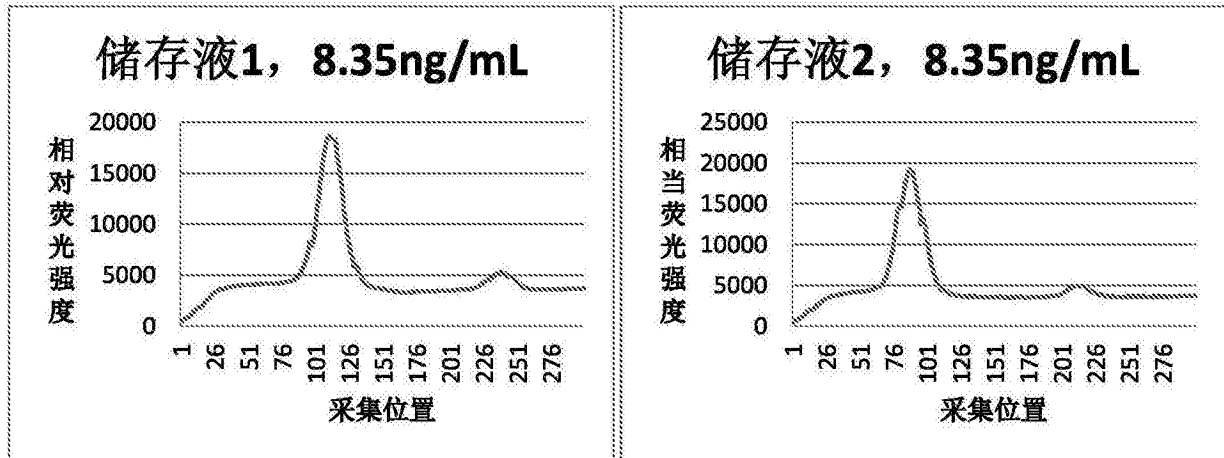


图3

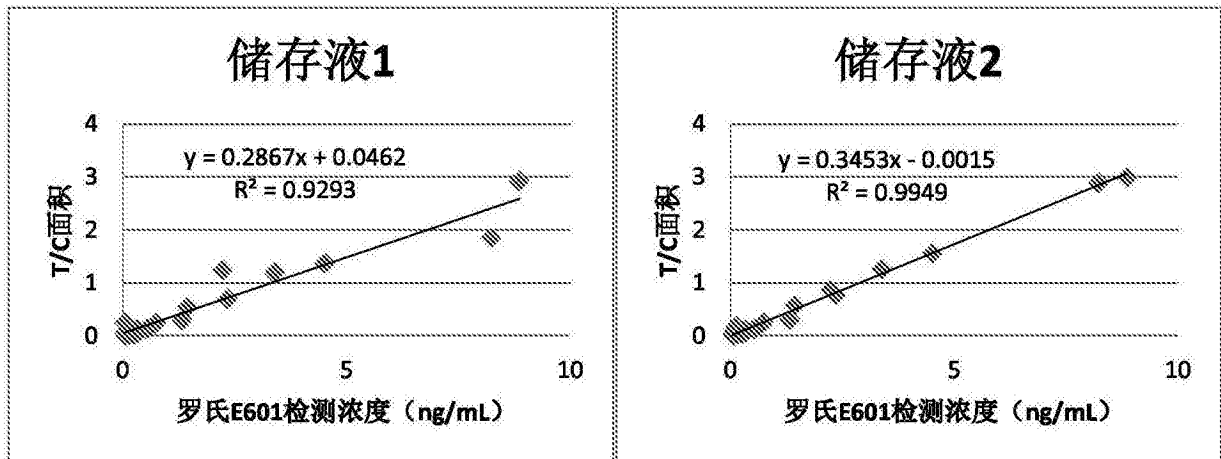


图4

专利名称(译)	一种降钙素原免疫荧光定量试纸条及其制备方法		
公开(公告)号	CN106370840A	公开(公告)日	2017-02-01
申请号	CN201610794315.7	申请日	2016-08-31
[标]申请(专利权)人(译)	中山市创艺生化工程有限公司		
申请(专利权)人(译)	中山市创艺生化工程有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	中山市创艺生化工程有限公司		
[标]发明人	何林辉 李瑞机 何平		
发明人	何林辉 李瑞机 何平		
IPC分类号	G01N33/533 G01N33/543 G01N33/577 G01N33/68		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/543 G01N33/577 G01N33/68 G01N2333/585 G01N2800/26		
代理人(译)	胡辉		
其他公开文献	CN106370840B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种降钙素原免疫荧光定量试纸条及其制备方法。相对于普通储存液制备的试纸条，本发明所制备的降钙素原免疫荧光定量试纸条存储稳定性更佳，精密度更好，检测样品的出峰具有更高的信号和较平整的基线，准确度较高。

测试浓度	储存液 1		测试浓度	储存液 2	
	2ng/mL			2ng/mL	
	测试值 ng/mL			测试值 ng/mL	
测试样	4°C	37°C	测试样	4°C	37°C
测试 1	2.086814	1.820558	测试 1	2.086814	2.023239
测试 2	2.064282	1.738962	测试 2	2.064282	2.003309
测试 3	2.052821	1.588903	测试 3	2.052821	2.016318
测试 4	2.049619	1.523219	测试 4	2.049619	2.021537
测试 5	2.051247	1.560231	测试 5	2.051247	2.036529
测试 6	2.020577	1.332226	测试 6	2.020577	2.005196
测试 7	2.030385	1.454875	测试 7	2.030385	1.961176
测试 8	2.017447	1.736889	测试 8	2.017447	2.018878
测试 9	2.033336	1.81187	测试 9	2.033336	2.09074
测试 10	2.026206	1.528773	测试 10	2.026206	2.015344
测试 11	1.983001	1.646626	测试 11	1.983001	2.064183
测试 12	2.055386	1.325085	测试 12	2.055386	1.944579
测试 13	2.006329	1.827018	测试 13	2.006329	2.024148
测试 14	2.009052	1.642922	测试 14	2.009052	2.027965
测试 15	2.028708	1.857147	测试 15	2.028708	2.005288
测试 16	1.979504	1.7913366	测试 16	1.979504	2.011896
测试 17	2.03702	1.889956	测试 17	2.03702	2.026179
测试 18	2.040617	2.010103	测试 18	2.040617	2.018059
测试 19	2.063587	1.835034	测试 19	2.063587	2.053415
测试 20	2.043792	1.937632	测试 20	2.043792	2.009582
AVE	2.0339865	1.6929683	AVE	2.0339865	2.0189072
SD	0.026752998	0.1946009	SD	0.026753	0.0311725
CV	1.32%	11.49%	CV	1.32%	1.54%
下降比例	16.77%		下降比例	0.74%	