



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106442966 A

(43)申请公布日 2017.02.22

(21)申请号 201610795985.0

(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 何平 周琼华 肖丝尹

(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 33/68(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C反应蛋白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C反应蛋白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C反应蛋白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C反应蛋白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,所述的结合垫上喷有C反应蛋白一抗-荧光微球偶联物;所述的检测线为C反应蛋白一抗,所述的质控线为C反应蛋白二抗,且检测线和质控线依次固定于硝酸纤维素膜上;所述的样品垫、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:C反应蛋白一抗-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C反应蛋白的定量检测。

4. 一种C反应蛋白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C反应蛋白一抗偶联,偶联完毕后加入封闭剂,保存于储存液中;

(2) 将C反应蛋白一抗-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C反应蛋白一抗固定于硝酸纤维素膜上作为检测线,将C反应蛋白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C反应蛋白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:C反应蛋白一抗-荧光微球偶联物在储存液中的保存浓度为0.1~10mg/mL。

一种C反应蛋白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C反应蛋白免疫荧光定量试纸条及其制备方法。

背景技术

[0002] C反应蛋白(C-reaction,CRP)是由肝脏合成的一种急性时相蛋白,痕量存在于健康人血清中,当机体受到感染或组织损伤时含量迅速升高,随着病情改善或组织结构功能的恢复其含量恢复到正常水平。根据血清、血浆或全血中CRP的浓度水平,可以有效的判断有无感染、疾病的危险程度及疾病是否处于活动期。因此,CRP作为全身性炎症反应早期检测的灵敏指标,已在临床许多疾病的诊断、治疗和预后中广泛应用。

[0003] 目前CRP的检测方法有免疫扩散法、乳胶凝集法、免疫标记法、速率散射比浊法及免疫透射比浊法。其中,免疫扩散法特异性高、重复性好、操作简单、价格低廉、不需要特殊仪器,但是敏感性较差;乳胶凝集法操作简单、快速、特异性较高,但易受补体、类风湿因子等干扰,产生假阳性结果;速率散射比浊法和免疫透射比浊法的检测时间、操作方法、结果精确度、重复性、灵敏度方面均较优,但需要配备大型的全自动蛋白分析仪。

[0004] 免疫荧光标记是免疫层析技术和荧光标记技术的结合,被广泛应用于多类抗原物质的检测,具有检测仪器精巧轻便、操作简单迅速、结果精准等优点。因此,制备和生产C反应蛋白免疫荧光定量试纸条非常有市场价值。然而,要实现C反应蛋白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C反应蛋白免疫荧光定量试纸条非常有现实意义。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种C反应蛋白免疫荧光定量试纸条及其制备方法。

[0006] 本发明所采取的技术方案是:

[0007] 一种C反应蛋白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C反应蛋白一抗-荧光微球偶联物;检测线为C反应蛋白一抗,质控线为C反应蛋白二抗,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;C反应蛋白一抗-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%。

[0008] 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%。

[0009] 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C反应蛋白的定量检测。

[0010] 一种C反应蛋白免疫荧光定量试纸条的制备方法,包括如下步骤:

[0011] (1) 将荧光微球活化后与C反应蛋白一抗偶联,偶联完毕后加入封闭剂,保存于储存液中;

[0012] (2) 将C反应蛋白一抗-荧光微球偶联物用储存液稀释后,喷于结合垫上,干燥保存;

[0013] (3) 将C反应蛋白一抗固定于硝酸纤维素膜上作为检测线,将C反应蛋白二抗固定于硝酸纤维素膜上作为质控线;

[0014] (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C反应蛋白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;

[0015] 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%。

[0016] 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%。

[0017] C反应蛋白一抗-荧光微球偶联物在储存液中的保存浓度为0.1~10mg/mL。

[0018] 本发明的有益效果是:

[0019] 相对于普通储存液制备的试纸条,本发明所制备的C反应蛋白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

[0020] 图1:优选的储存液制备的C反应蛋白免疫荧光定量试纸条检测芬兰ORION DIAGNOSTICA的C反应蛋白标准曲线;

[0021] 图2:优选的储存液制备的C反应蛋白免疫荧光定量试纸条检测C反应蛋白重组抗原的检测值与理论值散点图;

[0022] 图3:不同储存液制备的试纸条检测含不同浓度C反应蛋白的病人血清样本的荧光检测折线图;

[0023] 图4:不同储存液制备的试纸条检测含C反应蛋白的病人血清样本检测值与芬兰ORION DIAGNOSTICA QuikRead CRP检测值的相关图。

具体实施方式

[0024] 实施例1

[0025] C反应蛋白免疫荧光定量试纸条的制备过程如下:

[0026] (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；

[0027] (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；

[0028] (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；

[0029] (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；

[0030] (5) 加入0.1mgC反应蛋白一抗(鼠源C反应蛋白单克隆抗体)，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C反应蛋白一抗-荧光微球偶联物，18000rpm离心15min后，加入200μL储存液，制得C反应蛋白一抗-荧光微球偶联物浓度为5mg/mL，2~8℃保存；

[0031] (6) 用储存液将C反应蛋白一抗-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；

[0032] (7) 将1mg/mL C反应蛋白二抗(羊抗鼠IgG多克隆抗体)和1mg/mL C反应蛋白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；

[0033] (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C反应蛋白免疫荧光定量试纸条；

[0034] (9) 将切好的试纸条装卡，过压壳机，准备检测；

[0035] (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；

[0036] (11) 结合垫处理液：2% Tween-80、1.5% PVA、0.5% BSA、1% 海藻糖，PH7.05-7.10；

[0037] (12) 活化缓冲液为75mM MES，pH5.5；

[0038] (13) 偶联缓冲液：20mM PB，pH7.5；

[0039] (14) 封闭液：20% BSA；

[0040] (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。

[0041] 实施例2

[0042] 将实施例1制备的C反应蛋白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：

[0043] (1) 建立标准曲线：用国际临床化学联合会(IFCC) C反应蛋白标准品浓度为41.2mg/L稀释至5ng/mL、25ng/mL、50ng/mL、100ng/mL、200ng/mL、400ng/mL、800ng/mL、1000ng/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。

[0044] 标准曲线如图1所示： $y=0.0174x+0.0785$ ， $R^2=0.9933$ ，用该方程可计算样品中的

C反应蛋白含量,实现定量,且相关性好。

[0045] (2) 样品检测:用抗原稀释液对C反应蛋白重组抗原倍比稀释至5ng/mL、10ng/mL、20ng/mL、40ng/mL、80ng/mL、160ng/mL、320ng/mL、640ng/mL八个浓度。抗原稀释液:20mMPBS,0.5%BSA,0.5%Tween-20,PH7.2;将求得T/C峰面代入 $y=0.0174x+0.0785$ 中Y,求得X为所测抗原值,

[0046] 如图2所示,可以看出实施例2制备的试纸条检测值与理论值偏差小($R^2=0.996$),检测的准确率高。

[0047] 实施例3

[0048] 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%。

[0049] 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:

[0050] 用储存液1和储存液2,对相同工艺标记的C反应蛋白(CRP)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5ng/mL和50ng/mL的CRP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。

[0051] 表1、2种储存液制得的试纸条测试5ng/mL CRP重组抗原的效果对比

[0052]

储存液 1			储存液 2		
测试浓度	5ng/mL		测试浓度	5ng/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	3.271517	2.765403	测试 1	4.90316	5.290489
测试 2	3.866641	2.496959	测试 2	4.895037	5.8766
测试 3	4.592715	2.729134	测试 3	4.906261	4.628582
测试 4	3.983965	3.103756	测试 4	4.458871	5.200913
测试 5	3.79369	2.587016	测试 5	5.008958	5.110608
测试 6	3.601053	2.420719	测试 6	5.191282	4.261562
测试 7	4.062956	2.109248	测试 7	5.718045	5.468666
测试 8	4.492701	2.094819	测试 8	4.845405	5.363433
测试 9	4.056306	3.429774	测试 9	5.115859	4.571481
测试 10	4.067416	2.728954	测试 10	4.682031	5.174926
测试 11	3.518213	3.504148	测试 11	5.078939	4.271115
测试 12	4.692783	2.430035	测试 12	5.196161	4.78161
测试 13	4.532325	3.589531	测试 13	4.823681	4.95237
测试 14	4.325889	3.052324	测试 14	4.923628	5.183616
测试 15	4.161283	3.289123	测试 15	5.105408	4.726857
测试 16	3.922874	2.058238	测试 16	5.065763	4.835127
测试 17	4.32856	2.126586	测试 17	4.793218	4.656894
测试 18	4.498212	3.269556	测试 18	5.135689	4.865268
测试 19	4.192381	3.423683	测试 19	4.823949	5.007483
测试 20	4.526879	2.841531	测试 20	4.992538	4.826384
AVE	4.124418	2.802527	AVE	4.983194	4.952699
SD	0.387365	0.509352	SD	0.250927	0.396875
CV	9.39%	18.17%	CV	5.04%	8.01%
下降比例	32.05%		下降比例	0.61%	

[0053] 表2、2种储存液制得的试纸条测试50ng/mL CRP重组抗原的效果对比

储存液 1			储存液 2		
测试浓度	50ng/mL		测试浓度	50ng/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	34.28492	28.01303	测试 1	51.39159	45.20342
测试 2	34.52994	20.72146	测试 2	48.90551	45.70134
测试 3	41.67671	37.11736	测试 3	53.75876	45.69849
测试 4	35.56066	27.92758	测试 4	44.63905	42.10578
测试 5	40.85776	22.69218	测试 5	48.85912	46.86916
测试 6	38.45775	22.91622	测试 6	50.51389	42.3905
测试 7	42.86749	22.37707	测试 7	45.97145	50.16639
测试 8	39.20249	21.12886	测试 8	51.03891	49.38207
测试 9	40.99246	21.8664	测试 9	44.83495	44.34261
测试 10	32.15321	20.9728	测试 10	52.76013	45.79836
测试 11	35.82017	26.24306	测试 11	51.47519	54.49849
测试 12	33.59641	28.024	测试 12	55.85138	45.84331
测试 13	32.69582	22.56274	测试 13	50.95327	44.62682
测试 14	39.26351	23.74316	测试 14	49.63657	48.42328
测试 15	35.41351	25.95632	测试 15	48.32968	43.79417
测试 16	35.95362	21.76461	测试 16	45.12318	44.42628
测试 17	34.95232	23.95324	测试 17	52.44521	45.26284
测试 18	40.59234	18.29682	测试 18	52.27613	45.08953
测试 19	33.81431	22.84317	测试 19	50.93287	50.29821
测试 20	34.28491	23.17927	测试 20	49.78132	43.87132
AVE	36.84852	24.11497	AVE	49.97391	46.18962
SD	3.304941	4.028049	SD	3.037192	3.011876
CV	8.97%	16.70%	CV	6.08%	6.52%
下降比例	34.56%		下降比例	7.57%	

[0054] 从表1、2得出,优选的储存液2制备的试纸条在37°C加速七天后,检测值下降比例小于8%,且精密度较好;而对照储存液1制备的试纸条在37°C加速七天后,检测值下降30%以上,精密度相对较差。

[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C反应蛋白一抗-荧光微球进行喷膜干燥,组装好试纸条,分别用浓度为2mg/mL、5mg/mL、16mg/mL、34mg/mL、184mg/mL的含C反应蛋白的芬兰ORION DIAGNOSTICA QuikRead CRP赋值的病人全血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。

[0059] 实施例6

[0060] 用储存液1和储存液2(同实施例3),对相同工艺标记的C反应蛋白一抗-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C反应蛋白抗原的病人全血样本同时对两种试纸条加样检测。由于C反应蛋白在病人样本浓度较大,本实施例稀释200倍检测。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,同时用该项目准确度较高的芬兰ORION DIAGNOSTICA的QuikRead CRP (POCT免疫比浊仪)检测的结果值。

[0061] 以QuikRead CRP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QuikRead CRP结果值,储存液2制备的试纸条检测结果与芬兰ORION DIAGNOSTICA的QuikRead CRP仪器检测结果较吻合($R^2=0.981$),而储存液1的全血线性相关较差($R^2=0.873$),重复性也不好。这与前述储存液2让抗体-荧光微球释放效果更好,软件计算面积更加准确有关。

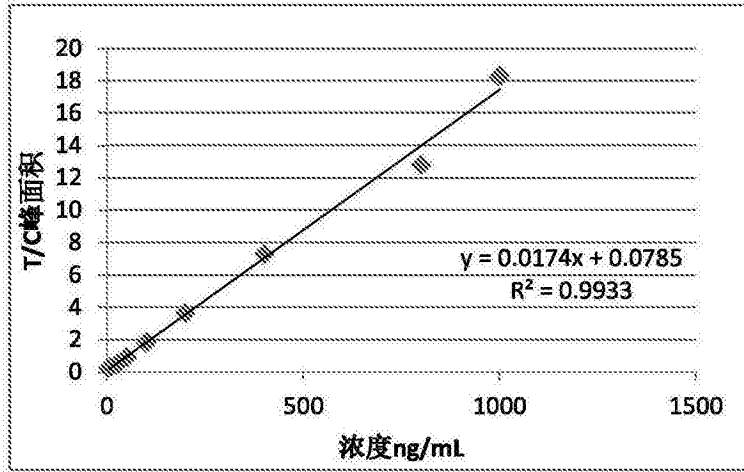


图1

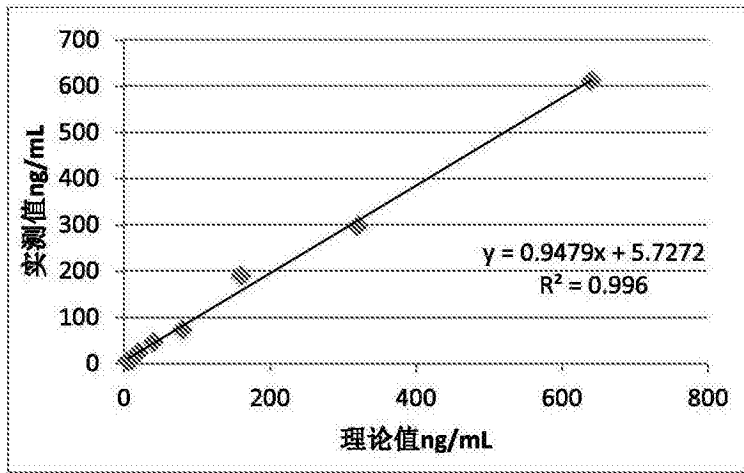
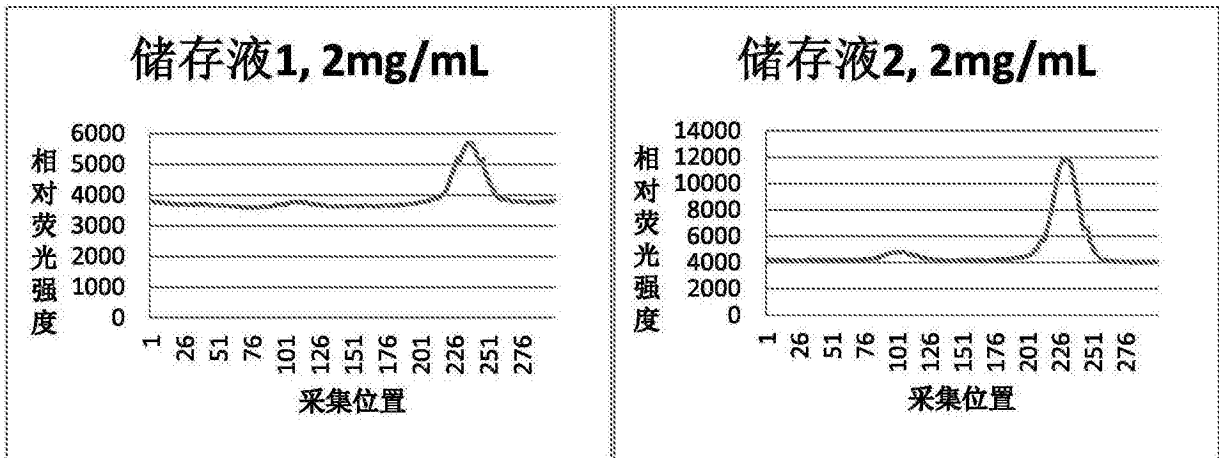


图2



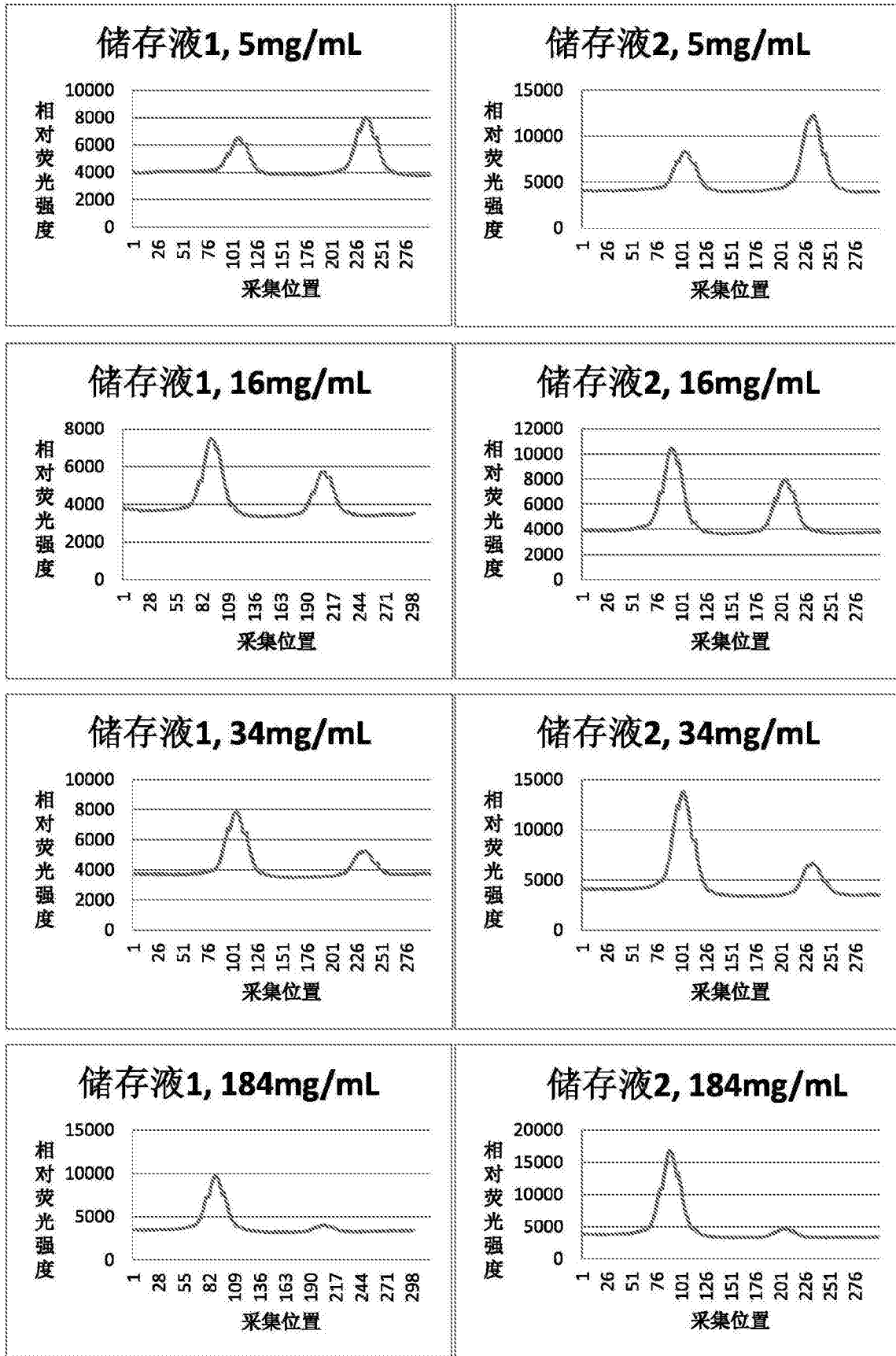


图3

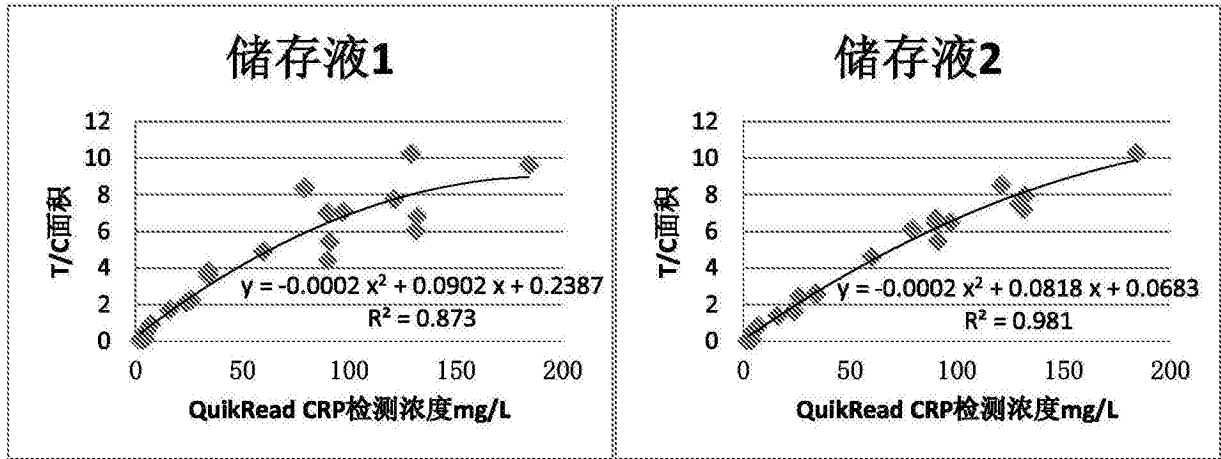


图4

专利名称(译)	一种C反应蛋白免疫荧光定量试纸条及其制备方法		
公开(公告)号	CN106442966A	公开(公告)日	2017-02-22
申请号	CN201610795985.0	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	何平 周琼华 肖丝尹		
发明人	何平 周琼华 肖丝尹		
IPC分类号	G01N33/533 G01N33/68		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/68		
代理人(译)	胡辉		
其他公开文献	CN106442966B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种C反应蛋白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C反应蛋白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	
	5ng/mL			5ng/mL	
	测试值 ng/mL			测试值 ng/mL	
测试样	4℃	37℃	测试样	4℃	37℃
测试 1	3.271517	2.765403	测试 1	4.90316	5.290489
测试 2	3.866641	2.496959	测试 2	4.895037	5.8766
测试 3	4.592715	2.729134	测试 3	4.906261	4.628582
测试 4	3.983965	3.103756	测试 4	4.458871	5.200913
测试 5	3.79369	2.587016	测试 5	5.008958	5.110608
测试 6	3.601053	2.420719	测试 6	5.191282	4.261562
测试 7	4.062956	2.109248	测试 7	5.718045	5.468666
测试 8	4.492701	2.094819	测试 8	4.845405	5.363433
测试 9	4.056306	3.429774	测试 9	5.115859	4.571481
测试 10	4.067416	2.728954	测试 10	4.682031	5.174926
测试 11	3.518213	3.504148	测试 11	5.078939	4.271115
测试 12	4.692783	2.430035	测试 12	5.196161	4.78161
测试 13	4.532325	3.589531	测试 13	4.823681	4.95237
测试 14	4.325889	3.052324	测试 14	4.923628	5.183616
测试 15	4.161283	3.289123	测试 15	5.105408	4.726857
测试 16	3.922874	2.058238	测试 16	5.065763	4.835127
测试 17	4.32856	2.126586	测试 17	4.793218	4.656894
测试 18	4.498212	3.269556	测试 18	5.135689	4.865268
测试 19	4.192381	3.423683	测试 19	4.823949	5.007483
测试 20	4.526879	2.841531	测试 20	4.992538	4.826384
AVE	4.124418	2.802527	AVE	4.983194	4.952699
SD	0.387365	0.509352	SD	0.250927	0.396875
CV	9.39%	18.17%	CV	5.04%	8.01%
下降比例	32.05%		下降比例	0.61%	