



天津科技大学学报

Journal of Tianjin University of Science & Technology

ISSN 1672-6510, CN 12-1355/N

《天津科技大学学报》网络首发论文

题目：人 ABO 血型正定型及 Rh(D)血型检测试纸条模型建立
作者：庞伟，康青，杜欣军
DOI：10.13364/j.issn.1672-6510.20240235
收稿日期：2024-11-15
网络首发日期：2025-06-19
引用格式：庞伟，康青，杜欣军. 人 ABO 血型正定型及 Rh(D)血型检测试纸条模型建立 [J/OL]. 天津科技大学学报. <https://doi.org/10.13364/j.issn.1672-6510.20240235>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。



人 ABO 血型正定型及 Rh(D)血型检测试纸条模型建立

庞 伟, 康 青, 杜欣军

(天津科技大学食品科学与工程学院, 天津 300457)

摘 要: 准确的血型鉴定在输血安全、胎儿和新生儿溶血性疾病、器官移植等方面具有重要意义。针对现有的血型检测试纸条进行优化改进, 建立人 ABO 血型正定型及 Rh(D)血型检测试纸条模型。结果表明: 在包被量 $0.8 \mu\text{L}/\text{cm}$, T 线包被浓度为抗体稀释 100 倍、包被间距 4 mm, 上样量 $20 \mu\text{L}$ 、红细胞上样浓度为 1.5% 时, 该正定试纸条模型特异性良好, 无非特异反应出现, 具有较好的重复性和稳定性, 可以同时检测待测样品中 ABO 抗原和 Rh(D)抗原, 节约了血液样品和试纸条的用量, 并且该试纸条仅需等待 3~5 min 即可得到检测结果, 满足即时检验的需求。

关键词: ABO 血型; Rh(D)血型; ABO 正定型; 试纸条

中图分类号: R457.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510 (0000)00-0000-00

Establishment of Test Strip Model for Human ABO Blood Group Positive Typing and Rh (D) Blood Group Detection

PANG Wei, KANG Qing, DU Xinjun

(College of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: Accurate blood group identification is of great significance in blood transfusion safety, fetal and neonatal hemolytic diseases, organ transplantation and so on. The existing blood group test strips were optimized and improved, and the human ABO blood group positive stereotypes and Rh (D) blood group test strips were established. The results showed that when the coating amount was $0.8 \mu\text{L}/\text{cm}$, the T-line coating concentration was 100 times diluted with the antibody, the coating spacing was 4 mm, the sample loading amount was $20 \mu\text{L}$, and the red blood cell loading concentration was 1.5%, the positive test strip model show good specificity, no non-specific reaction, and had better repeatability and stability. It can simultaneously detect ABO antigen and Rh (D) antigen in the sample to be tested, saving the amount of blood samples and test strips. And the test strip only needs to wait for 3-5 minutes to obtain the test results, which can meet the needs of immediate testing.

Key words: ABO blood group; Rh(D) blood group; ABO positive type; test strip

血型作为人类红细胞表面的特异性抗原类型, 主要由具有重要功能的蛋白质或糖蛋白构成^[1-2]。自 Karl Landsteiner 于 1900 年发现 ABO 血型系统以来, 随着

科学技术的进步, 如 1927 年 MNS 和 P 血型系统的发现以及 1945 年间接抗球蛋白技术的应用, 更多的红细胞血型系统被相继揭示。国际输血协会负责命名和

收稿日期: 2024-11-15; 修回日期: 2025-04-11

基金项目: 中国博士后科学基金面上项目(2023M742612)

作者简介: 庞 伟(1988—), 男, 河北唐山人, 副高级; 通信作者: 杜欣军, 教授, xjdu@tust.edu.cn

规范这些血型系统及其抗原和基因。目前该组织已确认的人类红细胞血型系统多达 45 个(由 50 个基因编码), 包含 362 个抗原, 另有 3 个血型集合含 9 个抗原, 以及低频率(700 系列, 含 16 个抗原)和高频率(901 系列, 含 3 个抗原)血型系列。然而, 在日常生活中, 人们最为熟悉的主要血型仍然是 A、B、AB 和 O 这 4 种, 它们由遗传因素决定, 并可进一步根据 Rhesus (Rh) D 抗原的存在与否细分为 8 种血型。这些血型抗原均能被红细胞表面的人类天然抗体和血液抗原分子所识别^[3], 其中与人类临床输血和器官移植等医疗安全最为密切相关的是 ABO 血型和 Rh 血型系统。因此, 准确的血型鉴定在保障输血安全、预防胎儿和新生儿溶血性疾病以及器官移植等领域具有极其重要的意义^[4]。

目前, 血型鉴定的方法主要包括凝集法和基因法两大类。凝集法是基于红细胞表面抗原与试剂中抗体的相互结合, 通过肉眼观察是否发生凝集反应鉴定血型, 包括传统的玻片法、试管法、微板法以及后来的微柱法和流式细胞技术等^[5-11]。此过程分为正向定型和反向定型两种。正向定型是利用已知血型的标准血清检测红细胞上的未知抗原, 而反向定型则是利用已知血型的标准红细胞检测血清中的未知抗体^[12]。这种方法操作简便且迅速, 非常适合作为初步的血型筛查手段, 但是在实际应用中可能受到标本处理、试剂质量等多种因素的影响, 导致结果不准确。基因法通过检测特定核酸序列的存在与否进行红细胞基因分型, 具有更高的准确性和稳定性, 尤其适用于输血和新生儿溶血病的预防^[13-16]。常见的基因型检测方法包括序列特异性聚合酶链反应(PCR-SSP)技术、限制性片段长度多态性聚合酶链反应(PCR-RFLP)技术、单链构象多态性聚合酶链反应(PCR-SSCP)技术等^[17-18]。然而, 基因法通常需要专业的设备和技术人员, 成本较高, 不适合所有医疗机构。在紧急情况下, 如急救、野战等, 凝集法和基因法的局限性凸显, 迫切需要快速、准确、低成本的 POCT 血型检测技术。试纸诊断技术因其价格低廉、操作简便、快速、结果稳定且可利用肉眼直接判读等优点, 为构建血型 POCT 技术带来了希望^[19-20]。然而, 目前市场上的试纸检测条仍存在检测效率低、样本用量大、检查时间长以及试纸条稳定性差和操作差异而影响检测精度等问题^[21]。特别是, 尚未有已注册的商品化血型检测试纸条产品能够同时检测人 ABO 血型正定型及 Rh(D)血型。因此,

本研究对现有的血型检测试纸条进行优化改进, 建立人 ABO 血型正定型及 Rh(D)血型检测试纸条模型, 对于满足紧急环境下的血型检测需求具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

A 抗体和 B 抗体, 实验室自制; D 抗体、Millipore、RBC 单抗, 宁波迈跃生物科技有限公司; 吐温-80, 生工生物工程(上海)股份有限公司; A 血型红细胞、B 血型红细胞、AB 血型红细胞、O 血型红细胞、A2B 血型红细胞、A2 血型红细胞、B-血型红细胞, 上海血液生物医药有限责任公司; 70CNPH 硝酸纤维素膜, MDI 公司; ABP-S370 吸水纸、W55 和 W100 滤血膜, 怀远县通成纸制品有限公司。

XYZ 型三维划膜喷金仪、微电脑自动斩切机, 上海金标生物科技公司; 医用离心机(血型卡离心机), 杭州奥盛仪器有限公司; 混匀仪, 赛默飞世尔科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 试纸条模型的建立

此试纸条模型依据免疫层析技术原理设计, 旨在检测人 ABO 血型(正定型)及 Rh(D)血型。其核心构成部件为 NC 膜, 该膜上包被有 4 条关键线条: 3 条测试线(T 线), 分别为 A 线、B 线、D 线, 以及 1 条质控线(C 线)。T 线区域分别包被有针对 A 抗原、B 抗原、D 抗原的特异性抗体, 而 C 线则包被有针对红细胞的单克隆抗体。

1.2.2 试纸条制备

按照柱凝集法筛选出的最佳抗体比例进行抗体混合, 用包被液分别将不同比例的抗体 A、B、D 稀释 100 倍(A 线包被液、B 线包被液、D 线包被液)、RBC 单抗稀释为 0.1 mg/mL(C 线包被液), 调节三维划膜喷金仪参数, 将稀释好的包被液均匀包被于 NC 膜上, 包被量为 0.8 $\mu\text{L}/\text{cm}$, 包被速度为 50 mm/s。将包被好的 NC 膜放入干燥箱中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 烘干过夜, 加干燥剂, 用铝箔袋封存待用。将吸水垫、样品垫、NC 膜分别按照相应的位置组合于 PVC 底板上, 其中吸水垫压 NC 膜 1~2 mm, 样品垫压 NC 膜 1~2 mm, 组装后用微电脑自动斩切机切成 4.0 mm 宽的试纸条, 组装卡壳进行封装后加干燥剂, 用铝箔袋封存待用。

1.2.3 血型检测

将红细胞悬液滴加到 NC 膜表面, 使其与检测区 (包括检测线和质控线) 充分作用。随后, 向缓冲液孔中加入冲洗液, 并根据指示判读结果。若样本中存在 A 抗原, 它会与 NC 膜上预先包被的 A 抗体发生结合, 经过冲洗步骤后, 这一免疫复合物将在 A 线位置呈现红色条带, 表明 A 抗原检测结果为阳性; 若样本中缺乏 A 抗原, 则 A 线将无颜色变化, 显示为阴性结果。同理, 可以对 B 抗原或 D 抗原进行检测。另外, 该检测试纸条还设有质控线 C, 无论检测结果如何, 质控线 C 均应显示红色条带作为检测有效的标志; 若质控线 C 未显色, 则意味着本次检测无效, 需对该样本进行重新测试。结果判定标准如图 1 所示。

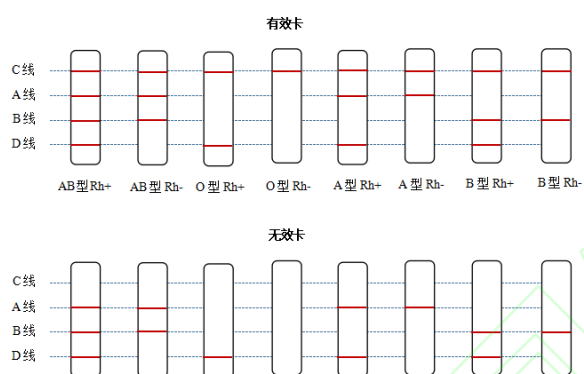


图 1 结果判定标准

Fig. 1 Result judgment criteria

1.2.4 条件优化

包被量优化: 设置 6 个参数 0.4、0.6、0.8、1.0、1.5、2.0 $\mu\text{L}/\text{cm}$, 验证包被效果。

T 线包被浓度优化: 用包被液将 A、B、D 抗体

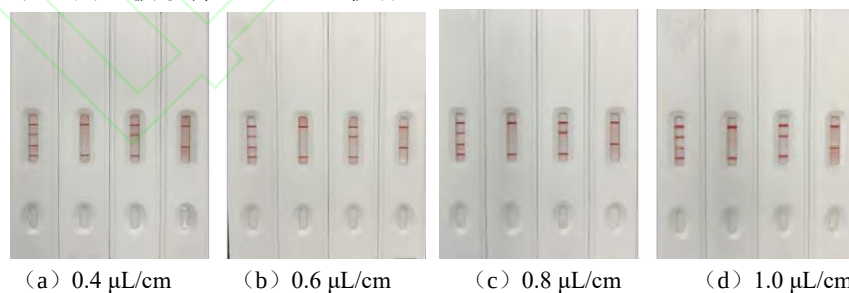


图 2 包被量优化结果 (从左往右依次是 AB、O、A、B 血型检测)

Fig. 2 Optimization results of coating quantity (AB, O, A, B blood group detection from left to right)

2.1.2 T 线包被浓度优化

包被浓度优化结果如图 3 所示。当抗体以 10 倍、25 倍、50 倍的稀释倍数进行包被时, 线条会出现聚集现象; 而在 100 倍、150 倍、200 倍的稀释倍数下, 线条表现正常。然而, 相较于 100 倍稀释, 150 倍和 200 倍的稀释倍数下显色明显较弱。因此, 本实验选

稀释 10 倍、25 倍、50 倍、100 倍、150 倍、200 倍后, 按照试纸条制备工艺制备试纸条, 验证经柱凝集法确认分型的红细胞, 考察线条显色情况, 选择合适的包被浓度。

包被间距及上样量优化: NC 膜宽度为 25 mm, 设置包被间距为 3、4、5 mm, 每种间距对应验证不同的上样量 10、20、30、40、50 μL , 观察结果。

上样浓度优化: 用含 0.5% 吐温-80 的生理盐水稀释红细胞, 设置 0.5%、1%、1.5%、2%、3%、5% 的红细胞悬液, 考察显色情况。

反应时间优化: 制备试纸条, 用经柱凝集法确认分型的样本按照最佳上样量进行点样, 分别在点样后 1、3、5、10、20 min 检测试纸条的显色情况及微球释放情况, 选择最佳检测反应时间。

2 结果与分析

2.1 条件优化

2.1.1 包被量优化

包被量对线条的粗细、显色也有一定的影响, 包被量优化结果如图 2 所示。由图 2 可知, 0.4、0.6 $\mu\text{L}/\text{cm}$ 包被量时线条太细, 1.0 $\mu\text{L}/\text{cm}$ 线条偏粗, 0.8 $\mu\text{L}/\text{cm}$ 线条粗细适中, 因此本实验包被量优选 0.8 $\mu\text{L}/\text{cm}$ 。

择抗体稀释 100 倍作为最佳包被浓度。

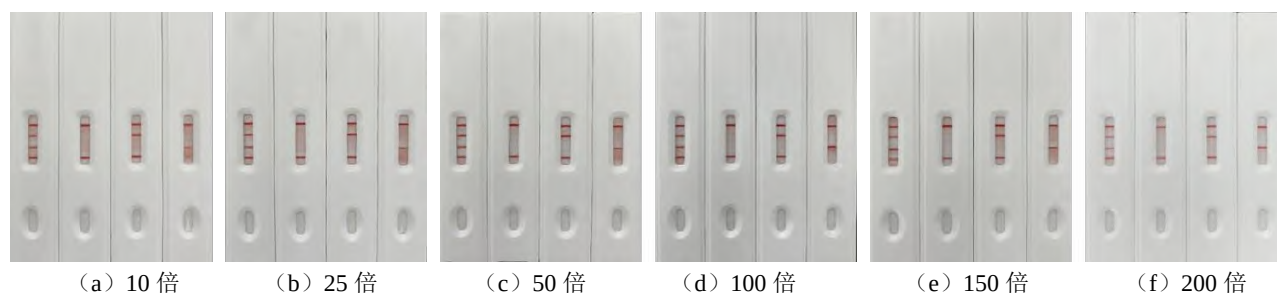
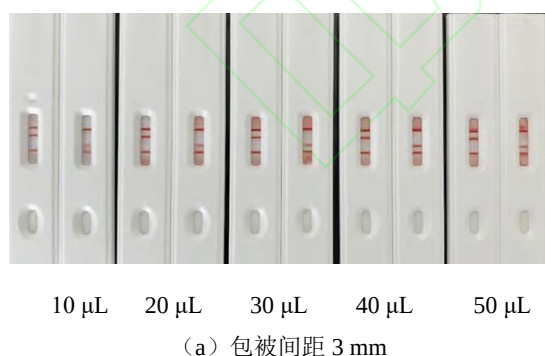


图3 包被浓度优化结果 (从左往右依次是 AB, O, A, B 血型检测)

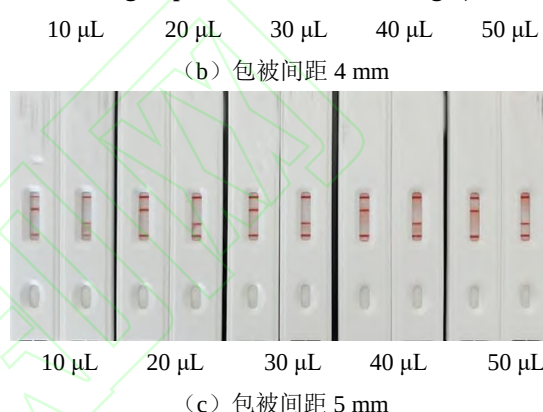
Fig. 3 Coating concentration optimization results (AB, O, A, B blood group detection from left to right)

2.1.3 样本上样量与包被间距优化

当红细胞悬液滴至 NC 膜上时, 会迅速被膜吸附并与膜上预先包被的抗体发生反应。样本中红细胞的加入量对于确保完全覆盖检测线条至关重要, 如果上样量不足, 可能就会产生假阴性结果。因此, 样本的上样量与包被间距相关。包被间距及上样量优化结果如图 4 所示。当包被间距为 3 mm 时, 最佳的上样量为 20 μL 。若间距增大至 4 mm, 20 μL 与 30 μL 的上样量在效果上差异不大; 然而, 30 μL 的上样量可能导致样本在膜上无法迅速被完全吸附, 从而在加入冲洗液时影响结果。因此, 在 4 mm 间距下, 选择 20 μL 的上样量。当间距进一步增加到 5 mm 时, 最佳的上样量则为 30 μL 。3 mm 的包被间距要求比较高, 并可能增加交叉污染的风险。5 mm 的间距则需要相应地扩大卡壳的视窗, 这会增加卡壳模具开发的成本。综合考虑实际操作需求和成本, 4 mm 间距为最优选择。



(a) 包被间距 3 mm



(c) 包被间距 5 mm

图4 包被间距及上样量优化结果 (左: A, 右: B)

Fig. 4 Optimization results of coating spacing and sample loading amount (left: A, right: B)

2.1.4 上样浓度优化

上样浓度对试纸条显色强弱、跑样背景关系较大。不同上样浓度优化结果如图 5 所示。上样浓度对显色深浅、跑样背景影响较大。0.5%~1%红细胞上样, 检测线条偏弱, 但跑样背景很干净; 2%~3%红细胞上样, 检测线条深但跑样背景较红, 综合显色强弱及背景值考虑, 优选红细胞上样浓度为 1.5%。

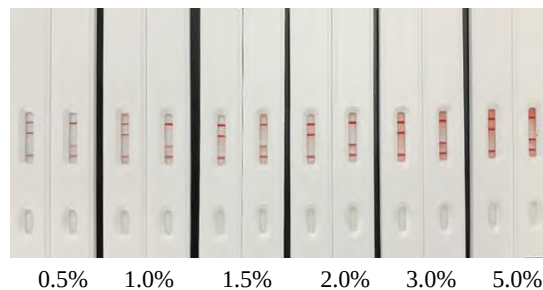


图5 不同上样浓度优化结果 (左: A, 右: B)

Fig. 5 Optimization results of different sample concentration (left: A, right: B)

2.1.5 反应时间优化

在点样后 0、1、3、5、10、20 min 分别进行试

纸条的检测, 反应时间优化结果如图 6 所示。0~1 min 时跑样背景较差, 3~20 min 时显色差异不大, 且跑样背景能够符合需求, 考虑检测效率, 优选 3~5 min 作为最适反应时间。

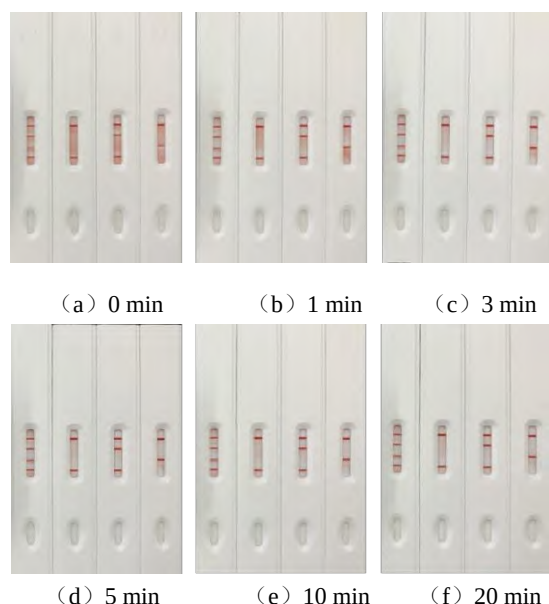


图 6 反应时间优化结果

Fig.6 Reaction time optimization results

2.2 正定试纸条性能分析

2.2.1 灵敏度分析

按照上述条件优化的试纸条制备工艺进行正定试纸条的制备, 然后利用该试纸条验证 A1 型、A2 型、AB 型、Rh(D)阳性试剂红细胞。通过观察各检测线的显色情况来评估其灵敏度, 结果如图 7 所示, 当 A 线与 A1 型试剂红细胞反应时, 反应强度超过 4+; 与 A2 型及 AB 型试剂红细胞反应时, 同样展现出超过 4+ 的反应强度。B 线与 B 型试剂红细胞反应时, 反应强度超过 4+; 与 AB 型试剂红细胞反应时, 也呈现出超过 4+ 的反应强度。D 线与正常的 Rh(D)阳性试剂红细胞反应时, 反应强度同样超过 4+。

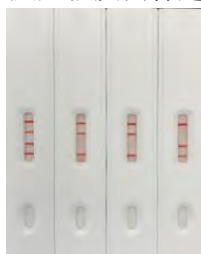


图 7 灵敏度分析结果 (从左往右依次是 AB、A1、A2、B 血型检测)

Fig. 7 Results of sensitivity analysis (AB, A1, A2, B blood group detection from left to right)

正定试纸条灵敏度不低于柱凝集法。试纸条法显色强弱对比如图 8 所示。



图 8 试纸条法显色强弱对比

Fig. 8 Comparison of color development strength using the test strip method

2.2.2 特异性分析

正定试纸条的特异性检测结果如图 9 所示。A 线与 A1 型、A2 型、A2B 型试剂红细胞发生阳性反应, 与 B 型、O 型试剂红细胞为阴性反应。B 线与 B 型、A2B 型试剂红细胞发生阳性反应, 与 A1 型、O 型试剂红细胞为阴性反应。D 线与 Rh(D) 阳性试剂红细胞发生阳性反应, 与 Rh(D) 阴性试剂红细胞为阴性反应。此正定试纸条特异性较好, 无非特异反应出现。



图 9 特异性分析结果 (从左往右依次是 A2B、O、A1、A2、B 血型检测)

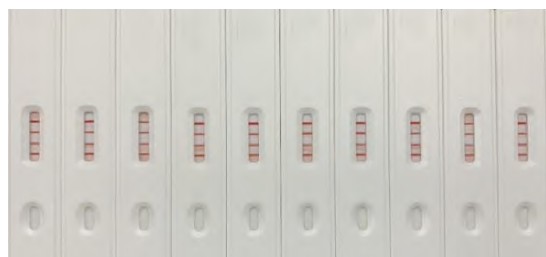
Fig. 9 Specificity verification results (A2B, O, A1, A2, B blood group detection from left to right)

2.2.3 重复性分析

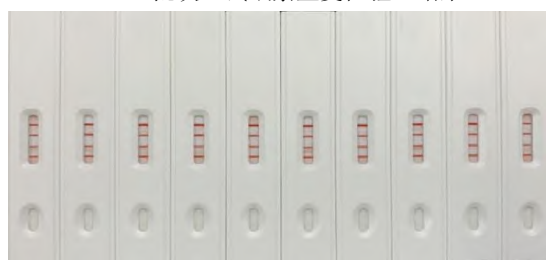
利用 3 批次的试纸条对红细胞质控品分别重复检测 10 次, 结果如图 10 所示, 线条无明显差异, 证明该试纸条具有较好的重复性。



(a) 批次 1 试纸条重复性验证结果



(b) 批次 2 试纸条重复性验证结果



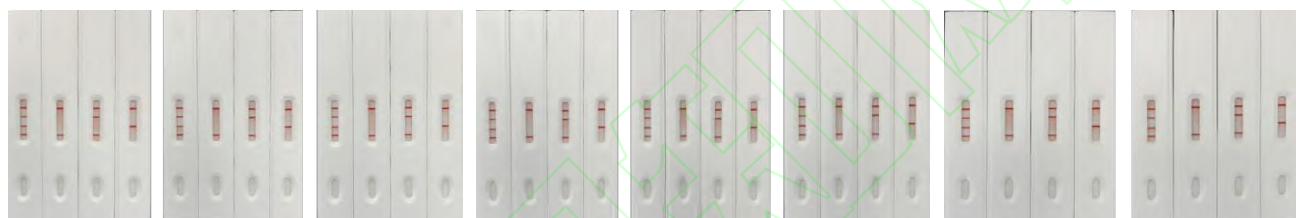
(c) 批次 3 试纸条重复性验证结果

图 10 重复性分析结果

Fig. 10 Repeatability analysis results

2.2.4 稳定性分析

取在室温、4℃、37℃保存 1 个月、3 个月、6 个月、9 个月、15 个月、24 个月、27 个月的试纸条各 4 条，对红细胞质控品进行检测。结果如图 11—图 13 所示。室温、4℃、37℃保存的试纸条 1、3、6、9、15、24、27 个月的检测结果与保存前一致，试纸条在室温、37℃、4℃保存有效期至少为 27 个月。



(a) 第 0 天 (b) 第 1 个月 (c) 第 3 个月 (d) 第 6 个月 (e) 第 9 个月 (f) 第 15 个月 (g) 第 24 个月 (h) 第 27 个月

图 11 室温稳定性分析结果 (从左往右依次是 AB, O, A, B 血型检测)

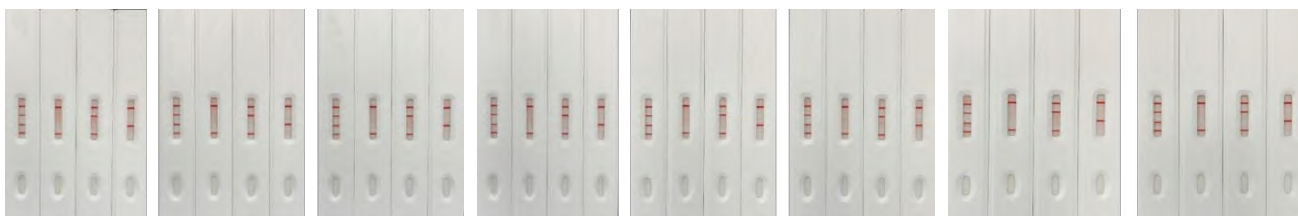
Fig. 11 Results of room temperature stability analysis (AB, O, A, B blood group detection from left to right)



(a) 第 0 天 (b) 第 1 个月 (c) 第 3 个月 (d) 第 6 个月 (e) 第 9 个月 (f) 第 15 个月 (g) 第 24 个月 (h) 第 27 个月

图 12 37℃稳定性分析结果 (从左往右依次是 AB, O, A, B 血型检测)

Fig. 12 Results of 37°C stability analysis (AB, O, A, B blood group detection from left to right)



(a) 第 0 天 (b) 第 1 个月 (c) 第 3 个月 (d) 第 6 个月 (e) 第 9 个月 (f) 第 15 个月 (g) 第 24 个月 (h) 第 27 个月

图 13 4℃稳定性分析结果 (从左往右依次是 AB, O, A, B 血型检测)

Fig. 13 Results of 4°C stability analysis (AB, O, A, B blood group detection from left to right)

3 结 语

本文基于自有抗体建立了人 ABO 血型正定型及

Rh (D)血型检测试纸条模型, 通过对红细胞抗原检测试纸条的包被量、T 线包被浓度、样本上样量与包被间距、上样浓度、反应时间进行优化, 使得正定试纸条特异性较好, 无非特异反应出现, 具有较好的重复性和稳定性。本文所述方法还能做到仅需检测一次, 并能在 3~5 min 内对未知血液样品里的 ABO 抗原和 Rh(D)抗原进行同时检测, 节约了血液样品和试纸条的用量, 符合临床实验室的使用需求。

参考文献:

- [1] STORRY J R, JÖUD M, CHRISTOPHERSEN M K, et al. Homozygosity for a null allele of SMIM1 defines the Vel-negative blood group phenotype[J]. *Nature genetics* 2013, 45(5): 537-541.
- [2] STORRY J R, CLAUSEN F B, CASTILHO L, et al. International society of blood transfusion working party on red cell immunogenetics and blood group terminology: report of the Dubai, Copenhagen and Toronto meetings[J]. *Vox sanguinis*, 2019, 114(1): 95-102.
- [3] KIM C H. Human red blood cell (RBC) blood groups system[M]. Berlin: Springer, 2024: 35-45.
- [4] DANIELS G, BALLIF B A, HELIAS V, et al. Lack of the nucleoside transporter ENT1 results in the Augustine-null blood type and ectopic mineralization[J]. *Blood*, 2015, 125(23): 3651-3654.
- [5] NOH S J, LEE Y T, BYRNES C, et al. A transcriptome-based examination of blood group expression[J]. *Transfusion clinique et biologique*, 2010, 17(3): 120-125.
- [6] 李霞, 陈玲. 卡式微柱凝胶法在血型鉴定中的应用[J]. *中国社区医师(医学专业)*, 2013, 15(8): 250.
- [7] 彭道波, 兰炯采, 王梁平, 等. 用微柱凝胶试验进行交叉配血[J]. *中国输血杂志*, 2001 (4): 232.
- [8] BUATHONG W, YEELA T. Comparison of ABO system and Rh(D) antigen between the manual microplate and automatic microplate[J]. *Songklanagarind medical journal*, 2004, 22 (2): 83-87.
- [9] MALOMGRÉ W, NEUMEISTER B. Recent and future trends in blood group typing[J]. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2009, 393(5): 1443-1451.
- [10] 望喆, 储玉霜, 肖彦琳, 等. 微流控凝胶法与柱凝集法在血型检测中的比较[J]. *临床输血与检验*, 2023, 25(6): 778-782.
- [11] 骆宏, 邵媛, 王嘉励, 等. IgG 型意外抗体鉴定用试剂盒(固相凝集法)的研发[J]. *中国输血杂志*, 2024, 37(10): 1158-1163.
- [12] 喻斌, 伍庆辉. 凝集法在血型正反定型不符鉴定中的价值及不规则抗体阳性特异性结果分析[J]. *中国当代医药*, 2022, 29(29): 145-148.
- [13] ANSTEE D J. Red cell genotyping and the future of pretransfusion testing[J]. *Blood*, 2009, 114(2): 248-256.
- [14] EL-ZAWAHRI M M, LUQMANI Y A. Molecular genotyping and frequencies of A1, A2, B, O1 and O2 alleles of the ABO blood group system in a Kuwaiti population[J]. *International journal of hematology*, 2008, 87(3): 303-309.
- [15] 井忠翠, 孙波, 孟子凡, 等. 血型基因检测在 ABO 和 RhD 血型鉴定困难患者输血中的应用价值[J]. *精准医学杂志*, 2019, 34 (4): 337-340.
- [16] 邹陆辰, 吴雪纯, 周笑妍, 等. 血型 B(A)亚型的鉴定及家系分析[J]. *山西医科大学学报*, 2024, 55(11): 1474-1479.
- [17] 陈鲁燕, 吕定丰, 刘丽平, 等. 基于 PCR-SSP 技术的 RhCE 血型基因型检测方法[J]. *浙江医学*, 2024, 46(19): 2021-2026.
- [18] 杨波. PCR-RFLP 技术在 ABO 血型鉴定中的应用[J]. *中国输血杂志*, 2012, 25(S1): 118.
- [19] PAROLO C, MERKOÇI A. Paper-based nanobiosensors for diagnostics[J]. *Chemical society reviews*, 2013, 42(2): 450-457.
- [20] ASGHAR W, YUKSEKKAYA M, SHAFIEE H, et al. Engineering long shelf life multi-layer biologically active surfaces on microfluidic devices for point of care applications[J]. *Scientific reports*, 2016, 6:21163.
- [21] 刘福昌. 固相层析法血型检测卡初筛 ABO 血型错误原因分析[J]. *实验与检验医学*, 2021, 39 (1): 245-247.