



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102445446 B

(45) 授权公告日 2015. 09. 02

(21) 申请号 201110294981. 1

(22) 申请日 2011. 09. 28

(73) 专利权人 沈阳美加生物医药有限公司

地址 110000 辽宁省沈阳市和平区同泽北街
9号A座806房间

(72) 发明人 程澎 钟卓理 贾世哲 孙琦

(74) 专利代理机构 沈阳智龙专利事务所(普通
合伙) 21115

代理人 宋铁军 周智博

(51) Int. Cl.

G01N 21/76(2006. 01)

G01N 33/53(2006. 01)

审查员 徐恩波

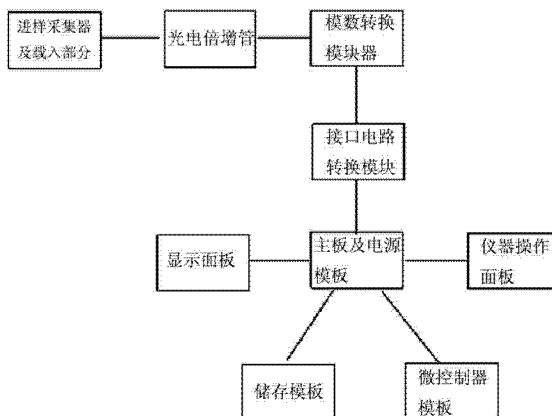
权利要求书1页 说明书5页 附图1页

(54) 发明名称

一种化学发光免疫检测方法及免疫检测装置

(57) 摘要

本发明提供一种化学发光免疫检测方法及免疫检测装置,其目的是解决以往的化学发光免疫检测效果不理想的问题,本发明实施过程合理,效果明显,很好的解决了以往化学发光免疫检测方法所存在的问题。



1. 一种化学发光免疫检测方法,其特征在于:该方法的具体步骤如下:

(1)、将检测器的进样采集器及载入部分放置在样品的底部,从样品的底部进行检测;

(2)、进样采集器及载入部分将光子传输至光电倍增管,光电倍增管采集 150 纳米到 1500 纳米波长的光子;

(3) 使用光电倍增管和模拟数字转换器将重叠光子的电脉冲转换成数字信号后,引入多层次阈值,计算出单个强度水平的基础上重叠的光子数;

(4)、对于采集的不同的光子脉冲叠加值,设定不同的量级,以符号 S_x 表示振幅,具体如下:

① S_0 为无脉冲输出;

② 检测初始化阶段需要对单个短脉冲规范化,每个单个短脉冲振幅对应一个计数 S_1 ;

③ 对于 2 个到 9 个叠加脉冲,其脉冲振幅分别对应于 S_2, S_2, \dots, S_9 ;

④ 对于 10 个叠加脉冲,其脉冲振幅对应于 S_{01} ;

⑤ 对于 100 个叠加脉冲,其脉冲振幅对应于 S_{02} ;

⑥ 对于 1,000 个叠加脉冲,其脉冲振幅对应于 S_{03} ;

⑦ 对于 10,000 个叠加脉冲,其脉冲振幅对应于 S_{04} ;

⑧ 对于 100,000 个叠加脉冲,其脉冲振幅对应于 S_{05} ;

⑨ 对于 1,000,000 个叠加脉冲,其脉冲振幅对应于 S_{06} ;

其中,叠加脉冲振幅对应于单个短脉冲的振幅比例通过理论计算和实际测量获得,全部数据经校准后,存入模数转换数据库;采样区域内的每个数据点,不论为长脉冲、短脉冲或无脉冲,其转换都需要光电倍增管模拟数字转换器电路与上述量级做比对,从而得到与之对应的脉冲计数,其计算和转换顺序可根据初始值做正序顺排或反序倒排,累积全部脉冲数后,即获得最终结果。

2. 根据权利要求 1 所述的一种化学发光免疫检测方法,其特征在于:“(1)”步骤中检测器放置在样品的底部,样品和检测器之间的距离不大于 5 毫米,读取系统中出现的波动小于 5%。

3. 根据权利要求 1 所述的一种化学发光免疫检测方法,其特征在于:光电倍增管采集 500 纳米到 1000 纳米波长的光子。

4. 根据权利要求 1 所述的一种化学发光免疫检测方法,其特征在于:“(4)”步骤中对 2 个到 9 个叠加脉冲可放在比对的最后进行,以提高转换效率。

5. 实施权利要求 1 所述的一种化学发光免疫检测方法的免疫检测装置,其特征在于:该装置包括进样采集器及载入部分、光电倍增管、模数转换模块器、接口电路转换模块、主板及电源模板、显示面板、仪器操作面板、储存模板和微控制器模板;采集器及载入部分连接光电倍增管,光电倍增管连接模数转换模块器,模数转换模块器连接接口电路转换模块,接口电路转换模块连接主板及电源模板,主板及电源模板上连接显示面板、仪器操作面板、储存模板和微控制器模板。

6. 根据权利要求 5 所述的化学发光免疫检测方法的免疫检测装置,其特征在于:光电倍增管为检测 150 纳米到 1500 纳米波长的光子的设备。

7. 根据权利要求 5 所述的化学发光免疫检测方法的免疫检测装置,其特征在于:进样采集器及载入部分为可以在样品底部读取数据的微孔板。

一种化学发光免疫检测方法及其免疫检测装置

技术领域

[0001] 本涉及一种化学发光免疫检测方法及其免疫检测装置,属于医学检验领域。

背景技术

[0002] 1、化学发光免疫检测

[0003] 化学发光免疫分析方法因其具有简便易行、标记物制备非常容易、稳定性高、便于实现完全自动化和不污染环境等优点,特别是能在较短的时间内得到实验结果,因此深受检验医学工作者和临床医师的好评。

[0004] 化学发光免疫诊断仪作为化学发光诊断试剂的应用载体和辅助手段,以化学发光免疫检测技术为基础,理论上所有免疫反应均可以制备为化学发光诊断试剂盒。对各种可以应用化学发光免疫技术进行诊断的疾病和相关因子研究均可使用,准确度高,灵敏度好,有针对性进行个性化诊断,能够实现减少临床诊断周期,提高疾病临床治愈率。

[0005] 2、化学发光免疫方法的特点

[0006] 作为近十年来在世界范围内发展非常迅速的非放射性免疫分析方法。基于此构建的化学发光免疫诊断试剂具有以下突出的技术特点:

[0007] ①灵敏度高。以发光底物可检测出的碱性磷酸酶的浓度比显色底物要灵敏 5000 倍。这对浓度极稀的临床标志物的检测尤为有效。以当前广为关注的 HIV 诊断为例。Handa 等医用化学发光免疫分析法检测处于窗口期的 HIV-1 P24 抗原。发现化学发光法的最小检测极限在 3.1-6.3pg/ml 之间,而酶免疫法的最小检测极限在 12.5-25.0 pg/mL 之间。与酶免疫法相比,化学发光法可把 HIV 的窗口期缩短 7d。Sakai 等医用化学发光免疫技术检测 p24 抗原。其最小检测浓度达到 4.3 pg/mL,小于 Abbot 和 Coulter 酶免疫试剂盒的相应浓度。缩短了 HIV 感染的窗口期。

[0008] ②宽的线性动力学范围,发光强度在 4-6 个数量级之间与测定物质浓度间呈线性关系,这有助于检测浓度较高的临床样本。并避免弯钩效应,便如化学发光免疫分析检测癌胚抗原(CEA)时的线性范围为 0.01-1000 ng/mL,达到约 6 个数量级,不受血清非特异因素的干扰,使检测的特异性和敏感性明显提高。

[0009] ③光信号持续时间长,辉光型化学发光产生的光信号持续时间可达数小时甚至 1 天。从而简化了实验操作及测量。

[0010] ④结果稳定、误差小、样品系直接发光。不需要任何光源照射。免除了各种可能因素(光源稳定性、光散射、光波选择器等)给分析带来的影响。

[0011] ⑤环境友好。免除了使用放射性物质。到目前为止,还未发现化学发光免疫分析的危害性,试剂有效期可长达 1 年以上,放射免疫分析由于放射性同位素的衰变,一般有效期只有 1-2 个月。而酶联的底物储存性差,都无法与化学发光相比,从而有利于推广应用。

[0012] 但是,免疫市场仪器有全自动化学发光仪、半自动化学发光分析仪、酶标分析仪、时间分辨荧光分析仪等类型。集中在国内三级医院市场,以雅培、罗氏,西门子等国际知名公司的产品为主,主要用于测定甲功、性激素、肿瘤、传染、心肌标志物等。国产免疫仪器方

面主要是酶标分析仪、时间分辨荧光分析仪、半自动化学发光分析仪。

[0013] 综上所述,目前的化学发光免疫检测效果不够理想。

发明内容

[0014] 目的:本提供一种化学发光免疫检测方法及免疫检测装置,其目的是解决以往的化学发光免疫检测效果不理想的问题。

[0015] 技术方案:本是通过以下技术方案实现的:

[0016] 一种化学发光免疫检测方法,其特征在于:该方法的具体步骤如下:

[0017] (1)、将检测器的进样采集器及载入部分放置在样品的底部,从样品的底部进行检测;

[0018] (2)、进样采集器及载入部分将光子传输至光电倍增管,光电倍增管采集 150 纳米到 1500 纳米波长的光子;

[0019] (3) 使用光电倍增管和模拟数字转换器将重叠光子的电脉冲转换成数字信号后,引入多层次阈值,计算出单个强度水平的基础上重叠的光子数;

[0020] (4)、对于采集的不同的光子脉冲叠加值,设定不同的量级,以符号 S_x 表示如下:

[0021] ① S_0 为无脉冲输出;

[0022] ② 检测初始化阶段需要对单个短脉冲规范化;每个单个短脉冲对应一个计数 S_1 ;

[0023] ③ 对于 2 个到 9 个叠加脉冲,其长脉冲的不同振幅分别对应于 S_2, S_2, \dots, S_9 ;

[0024] ④ 对于 10 个叠加脉冲,其脉冲振幅对应于 S_{01} ;

[0025] ⑤ 对于 100 个叠加脉冲,其脉冲振幅对应于 S_{02} ;

[0026] ⑥ 对于 1,000 个叠加脉冲,其脉冲振幅对应于 S_{03} ;

[0027] ⑦ 对于 10,000 个叠加脉冲,其脉冲振幅对应于 S_{04} ;

[0028] ⑧ 对于 100,000 个叠加脉冲,其脉冲振幅对应于 S_{05} ;

[0029] ⑨ 对于 1,000,000 个叠加脉冲,其脉冲振幅对应于 S_{06} ;

[0030] 其中,叠加脉冲振幅对应于单个短脉冲的振幅比例通过理论计算和实际测量获得,全部数据经校准后,存入模数转换数据库;采样区域内的每个数据点,不论为长脉冲、短脉冲或无脉冲,其转换都需要光电倍增管模拟数字转换器电路与上述量级做比对,从而得到与之对应的脉冲计数,其计算和转换顺序可根据初始值做正序顺排或反序倒排,累积全部脉冲数后,即获得最终结果。

[0031] “(1)”步骤中检测器放置在样品的底部,样品和检测器之间的距离不大于 5 毫米,读取系统中出现的波动小于 5%。

[0032] 光电倍增管采集 500 纳米到 1000 纳米波长的光子。

[0033] “(4)”步骤中对 2 个到 9 个叠加脉冲可放在比对的最后进行,以提高转换效率。

[0034] 实施如上所述的一种化学发光免疫检测方法的免疫检测装置,其特征在于:该装置包括进样采集器及载入部分、光电倍增管、模数转换模块器、接口电路转换模块、主板及电源模板、显示面板、仪器操作面板、储存模板和微控制器模板;采集器及载入部分连接光电倍增管,光电倍增管连接模数转换模块器,模数转换模块器连接接口电路转换模块,接口电路转换模块连接主板及电源模板,主板及电源模板上连接显示面板、仪器操作面板、储存模板和微控制器模板。

[0035] 光电倍增管为检测 150 纳米到 1500 纳米波长的光子的设备。

[0036] 进样采集器及载入部分为可以在样品底部读取数据的微孔板。

[0037] 优点及效果：

[0038] 本提供一种化学发光免疫检测方法及免疫检测装置，其很好的解决了以往化学发光分析仪应用范围不广和检测方法效果不理想的问题。

[0039] 通过光电倍增管，可以测量脉冲宽度和光电子振幅，计算在样品中分散和重叠的光电子的数量。为了避免错误和获得准确采样数量，需要通过信号处理标准化，增加信号调节，消除噪音，消除在模拟数字转换中的非预期数字处理。光子计数光电倍增管信号处理可通过硬件电路与数学模型库光子检测算法结合完成。本发明阐述光子计数数学模型库和光子检测方法。

[0040] 为了相对准确地用光子计数光电倍增管完成光子检测，计数不仅需要统计所有单个短脉冲(可称之为基准脉冲)，而且还需要针对包括各种不同振幅的长脉冲做转换，统计转换后等值对应的众多个基准脉冲，这样检测结果才能反映真实情况。为此，本发明提出通过实验的手段建立起不同叠加脉冲，即单个长脉冲幅值与多个短脉冲幅值对应转换的数学模型库，从而准确地表示和统计实际光子数量。

[0041] 不同波长的光子检测将对应于不同的数学模型库，因为光子计数光电倍增管对不同波长的光子检测效率及精度是不同的。本发明提出光子计数光电倍增管波长为：150-1500 纳米。

[0042] 本发明的推出将大大降低化学发光免疫诊断仪器的成本，本发明将逐步取代酶联免疫、时间分辨荧光、半自动化学发光产品。

[0043] 附图说明：

[0044] 图 1 为免疫检测装置的结构框图。

[0045] 具体实施方式：

[0046] 本发明提供一种化学发光免疫检测方法，该方法的具体步骤如下：

[0047] (1)、将检测器的进样采集器及载入部分放置在样品的底部，从样品的底部进行检测；

[0048] (2)、进样采集器及载入部分将光子传输至光电倍增管，光电倍增管采集 150 纳米到 1500 纳米波长的光子；

[0049] (3) 使用光电倍增管和模拟数字转换器将重叠光子的电脉冲转换成数字信号后，引入多层次阈值，计算出单个强度水平的基础上重叠的光子数；

[0050] (4)、对于采集的不同的光子脉冲叠加值，设定不同的量级，以符号 S_x 表示如下：

[0051] ⑩ S_0 为无脉冲输出。

[0052] ⑪ 检测初始化阶段需要对单个短脉冲规范化。每个单个短脉冲对应一个计数 S_1 ；

[0053] ⑫ 对于 2 个到 9 个叠加脉冲，其长脉冲的不同振幅分别对应于 S_2, S_2, \dots, S_9 ；

[0054] ⑬ 对于 10 个叠加脉冲，其脉冲振幅对应于 S_{01} ；

[0055] ⑭ 对于 100 个叠加脉冲，其脉冲振幅对应于 S_{02} ；

[0056] ⑮ 对于 1,000 个叠加脉冲，其脉冲振幅对应于 S_{03} ；

[0057] ⑯ 对于 10,000 个叠加脉冲，其脉冲振幅对应于 S_{04} ；

[0058] ⑰ 对于 100,000 个叠加脉冲，其脉冲振幅对应于 S_{05} ；

[0059] ⑩ 对于 1,000,000 个叠加脉冲,其脉冲振幅对应于 S06 ;

[0060] “(1)”步骤中检测器放置在样品的底部,样品和检测器之间的距离不大于 5 毫米,读取系统中出现的波动小于 5%。

[0061] 光电倍增管采集 500 纳米到 1000 纳米波长的光子。

[0062] “(3)”步骤中对 2 个到 9 个叠加脉冲可放在比对的最后进行,以提高转换效率。

[0063] 另外本发明还提供一种免疫检测装置,该装置包括进样采集器及载入部分、光电倍增管、模数转换模块器、接口电路转换模块、主板及电源模板、显示面板、仪器操作面板、储存模板和微控制器模板;采集器及载入部分连接光电倍增管,光电倍增管连接模数转换模块器,模数转换模块器连接接口电路转换模块,接口电路转换模块连接主板及电源模板,主板及电源模板上连接显示面板、仪器操作面板、储存模板和微控制器模板。

[0064] 光电倍增管为检测 150 纳米到 1500 纳米波长的光子的设备。进样采集器及载入部分为可以在样品底部读取数据的微孔板。

[0065] 下面对本发明的原理及过程做详细阐述:

[0066] 光电倍增管检测从 150 纳米到 1500 纳米波长的光子。

[0067] 光电倍增管提供极高的灵敏度和超快速响应。光电倍增管具有高带宽,无噪声。这使得他们成为在弱光或极短脉冲光检测的理想选择。光电倍增管可以用来检测从 150 纳米到 1500 纳米波长的光子。一个典型的光电倍增管组成的光电发射阴极(光阴)由电子倍增器和电子收集器(阳极)构成;其次,为光子计算使用光电倍增管是非常低的暗电流预选管。当光子计数光电倍增管与单光子探测电路集成,它成为一个非常敏感的光学装置。本发明的光电倍增管检测到光子的波长从 150 纳米到 1500 纳米,最好是 500 到 1000 nm 的波长。

[0068] 光子计数光电倍增管灵敏度和最小事件的分辨精度。

[0069] 光子计数光电倍增管灵敏度和最小事件的分辨精度是通过模拟数字转换器电路完成,进行逻辑识别和算术累计。

[0070] 具体的说就是:由于光信号的增加,一些光子可以同时进入探测器。上述定时时钟仍不能达成解决两个在同一时间探测器的光子情况。两个光子在同一时间进入探测器,产生强大的电脉冲,并作为单光子计数。这是因为所有的常规电路只有一个强度歧视的水平。本发明是使用光电倍增管和模拟数字转换器将重叠光子的电脉冲转换成数字信号后,引入了多层次阈值,因此,可以计算出单个强度水平的基础上重叠的光子数,也可用于有多个强度鉴别,准确测量多个强度重叠的光子数。这些新的计数电路将显着提高单光子探测灵敏度和可靠性。

[0071] 光子计数数学模型库和光子检测方法

[0072] 本发明强调两个基本要素,其一为光子计数光电倍增管的灵敏度和最小事件的分辨精度,其二为数学模型的准确性。本专利发明着重在其二。数学模型的准确性取决于量级的合理选取以及模数转换的精度选取。对于不同的脉冲叠加值,设定不同的量级,如上面所述,以符号 S_x 表示如下:

[0073] ① S0 为无脉冲输出。

[0074] ② 检测初始化阶段需要对单个短脉冲规范化。每个单个短脉冲对应一个计数 S1 ;

[0075] ③ 对于 2 个到 9 个叠加脉冲,其长脉冲的不同振幅分别对应于 S2, S2, ... S9 ;

[0076] ④ 对于 10 个叠加脉冲,其脉冲振幅对应于 S01 ;

[0077] ⑤对于 100 个叠加脉冲,其脉冲振幅对应于 S02 ;

[0078] ⑥对于 1,000 个叠加脉冲,其脉冲振幅对应于 S03 ;

[0079] ⑦对于 10,000 个叠加脉冲,其脉冲振幅对应于 S04 ;

[0080] ⑧对于 100,000 个叠加脉冲,其脉冲振幅对应于 S05 ;

[0081] ⑨对于 1,000,000 个叠加脉冲,其脉冲振幅对应于 S06 ;

[0082] 其中,叠加脉冲振幅对应于单个短脉冲的振幅比例可通过理论计算和实际测量获得,全部数据经校准后,存入模数转换数据库。在实际的检测中,采样区域内的每个数据点,不论为长脉冲、短脉冲或无脉冲,其转换都需要光电倍增管模拟数字转换器电路与上述量级做比对,从而得到与之对应的脉冲计数。其计算和转换顺序可根据初始值做正序顺排或反序倒排,累积全部脉冲数后,即获得最终结果。显而易见,对 2 个到 9 个叠加脉冲可放在比对的最后进行,以提高转换效率。

[0083] 本发明实施过程合理,效果明显,很好的解决了以往化学发光免疫检测方法所存在的问题。

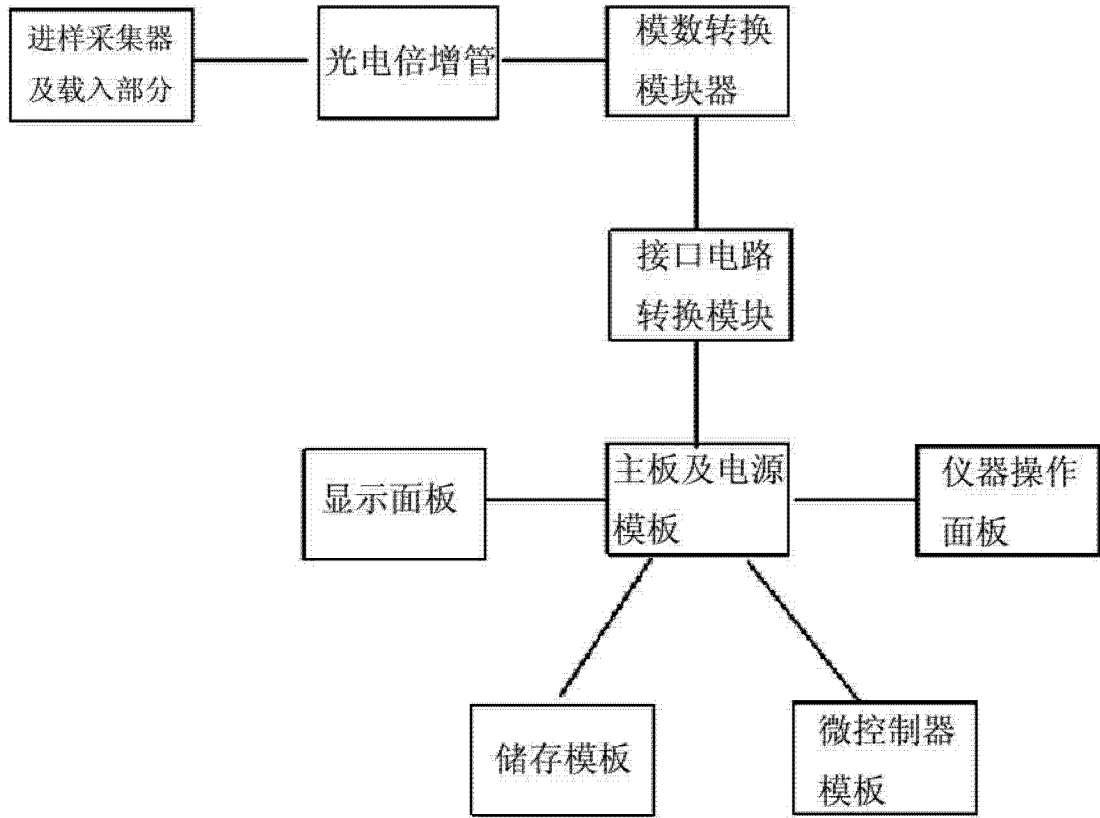


图 1

专利名称(译)	一种化学发光免疫检测方法及其检测装置		
公开(公告)号	CN102445446B	公开(公告)日	2015-09-02
申请号	CN201110294981.1	申请日	2011-09-28
[标]申请(专利权)人(译)	程澎 孙琦		
申请(专利权)人(译)	程澎 孙琦		
当前申请(专利权)人(译)	沈阳美加生物医药有限公司		
[标]发明人	程澎 钟卓理 贾世哲 孙琦		
发明人	程澎 钟卓理 贾世哲 孙琦		
IPC分类号	G01N21/76 G01N33/53		
代理人(译)	宋铁军 周智博		
审查员(译)	徐恩波		
其他公开文献	CN102445446A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供一种化学发光免疫检测方法及其检测装置，其目的是解决以往的化学发光免疫检测效果不理想的问题，本发明实施过程合理，效果明显，很好的解决了以往化学发光免疫检测方法所存在的问题。

