



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109060783 A

(43)申请公布日 2018.12.21

(21)申请号 201811246644.3

(22)申请日 2018.10.25

(71)申请人 成都博奥新景医学科技有限公司

地址 610000 四川省成都市温江区永宁镇
八一路北段88号

(72)发明人 潘琴 张冠斌 田进 周晶
杨芳艳 高云

(74)专利代理机构 成都九鼎天元知识产权代理
有限公司 51214

代理人 陶海燕 钱成岑

(51)Int.Cl.

G01N 21/76(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

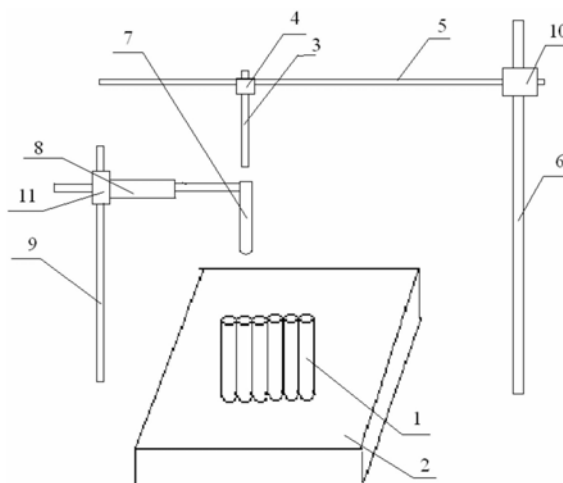
权利要求书2页 说明书11页 附图2页

(54)发明名称

一种基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法及系统

(57)摘要

本发明公开了一种基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法及其系统,该方法利用磁棒吸取磁珠加入到试剂内进行反应或清洗,传统的化学发光免疫检测方法则利用磁吸试剂管侧壁,再用取液针自底部吸走液体,与后者相比,本发明的方法携带污染少,清洗彻底,清洗次数少。本发明的方法还采用一定频率持续震荡混合的方式进行反应,有利于磁微粒一直处于均匀悬浮状态,使抗原、抗体分子之间的反应自由、畅通,结合充分,缩短样本检测时间,提高检测灵敏度。本发明的方法和检测系统适用于单人份化学发光免疫检测,避免了目前100人份检测存在的试剂变质、灵敏度降低、资源浪费和不适用于基层医疗机构的问题。



1. 一种基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法,所用试剂包括:分析缓冲液、磁珠工作液、酶工作液、清洗液1、清洗液2、底物液,其特征在于,该方法包括以下步骤:

- 1) 将待测样本加入分析缓冲液,得到混合液A;
- 2) 通过磁吸的方式从磁珠工作液中取出磁珠,加入混合液A中,然后以上下混匀的方式以某种频率震荡,反应一定时间,得到混合液B;
- 3) 通过磁吸的方式从混合液B中移出磁珠,加入清洗液1中,得到混合液C,然后又以某种频率上下震荡混匀清洗;
- 4) 通过磁吸的方式从混合液C中取出磁珠,并加入酶工作液中,然后又以上下混匀的方式以某种频率震荡,反应一定时间,得到混合液D;
- 5) 通过磁吸的方式从混合液D中移出磁珠,加入清洗液2中,得到混合液E,然后又以某种频率上下震荡混匀清洗;
- 6) 通过磁吸的方式从混合液E中取出磁珠,加入底物液中,以某种频率上下混匀,得到混合液F;
- 7) 将混合液F进行发光信号检测。

2. 根据权利要求1所述的基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法,其特征在于,所述某种频率为1次/分钟~360次/分钟;分析缓冲液、磁珠工作液、酶工作液、清洗液1、清洗液2和底物液的加入体积为1~1000 μ l。

3. 根据权利要求1所述的基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法,其特征在于,步骤2)和4)的反应时间为30秒~60分钟;所述磁珠的粒径为0.01 μ m~50 μ m。

4. 根据权利要求1所述的基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法,其特征在于,步骤7)所述发光信号检测的原理为碱性磷酸酶促发光、辣根过氧化物酶促发光或吖啶酯直接发光;所述酶工作液是通过碱性磷酸酶标记、辣根过氧化物酶标记或吖啶酯标记的产物或者其他标记产物。

5. 根据权利要求1所述的基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法,其特征在于,所述底物液为AMPPD、APS-5、CDP-Star、鲁米诺及其衍生物或过氧化氢稀碱溶液。

6. 根据权利要求4所述的基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法,其特征在于,所述碱性磷酸酶为小牛肠碱性磷酸酶、细菌碱性磷酸酶或胎盘碱性磷酸酶。

7. 一种利用权利要求1~6任意一项所述的方法进行化学发光免疫检测的系统,其特征在于,该系统包括试剂模块、磁吸模块、隔离和混匀模块、以及控制模块;所述试剂模块、磁吸模块、隔离和混匀模块均与控制模块相连,所述试剂模块包括试剂管组件(1)和固定试剂管组件(1)的工作平台(2),所述磁吸模块包括能够沿水平方向和竖直方向移动的磁棒(3)、以及驱动磁棒(3)移动的电机,所述隔离和混匀模块包括能够沿水平方向和竖直方向移动的隔离套(7)、以及驱动隔离套(7)移动的电机。

8. 根据权利要求7所述的进行化学发光免疫检测的系统,其特征在于,所述磁吸模块还包括磁棒固定块(4)、磁棒水平臂(5)、磁棒竖向臂(6)和水平臂固定块(10),所述磁棒固定块(4)夹持固定磁棒(3),且在电机的驱动下能够沿磁棒水平臂(5)进行水平移动,所述磁棒水平臂(5)由水平臂固定块(10)固定在磁棒竖向臂(6)上,水平臂固定块(10)在另一电机的驱动下能够沿磁棒竖向臂(6)在竖直方向上移动。

9. 根据权利要求7所述的进行化学发光免疫检测的系统,其特征在于,所述隔离和混匀

模块还包括水平伸缩杆(8)、隔离套竖向臂(9)和伸缩杆固定块(11),所述水平伸缩杆(8)的一端活动连接隔离套(7),另一端通过伸缩杆固定块(11)固定在隔离套竖向臂(9)上,水平伸缩杆(8)在电机驱动下进行水平伸缩使隔离套(7)在水平方向上移动,伸缩杆固定块(11)在另一电机驱动下沿隔离套竖向臂(9)在竖直方向上移动。

10.根据权利要求7~9任意一项所述的进行化学发光免疫检测的系统,其特征在于,该系统还包括与控制模块相连的检测模块,所述检测模块包括检测抓手、检测抓手机、具有孔位的检测盘和PMT分析仪。

一种基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法及系统

技术领域

[0001] 本发明属于生物检测技术领域,具体涉及一种基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法及系统。

背景技术

[0002] 化学发光免疫分析技术以其检测灵敏度高、分析范围宽、检测指标覆盖面广等特点而成为临床检验分析的主流技术。但根据我们的观察研究和临床使用情况的反馈,传统化学发光免疫分析技术仍然存在多个缺陷。

[0003] 首先,传统化学发光免疫试剂盒包装量过大,不能满足基层医院的使用需求。大三甲医院在所有医院中只占很小部分,绝大多数医院群体是样本量偏小的社区、乡镇、县级等基层医院。传统发光试剂盒通常采用以100测试/盒进行包装,即一盒试剂含100人份的量,这就会导致100测试/盒的试剂在开瓶有效期(1个月)内无法用完。而试剂在长时间存放过程中,由于需反复开瓶使用,且辗转于2℃~8℃冰箱和仪器试剂仓,会引起试剂各组份液体的严重挥发。另,由于试剂盒重复使用次数过多,由不同人甚至是同一人操作,都可能会出现封口或盖盖儿顺序颠倒、混乱的情况,这样会使试剂各组份之间产生交叉污染,导致组份变质失效,无法使用。以上种种情况均会导致医院和厂家资源的浪费,以及由于成分挥发和试剂污染增大检测背景噪声对检测灵敏度的干扰。

[0004] 其次,传统化学发光免疫分析系统庞大,结构复杂,操作繁琐。传统化学发光免疫分析仪如专利CN107831322A(图1)和专利CN108226549A(图2)中所述,具有试剂盘、取样针、针头、清洗机构及其配套装置、多个移动臂及其电机、抽液泵及其电机等结构,导致系统体积庞大,占地面积大,对医院检验科的规模和场地都提出较高要求,而且增加了厂家生产难度。传统化学发光免疫分析仪的操作模块必须考虑非常复杂的时序逻辑如专利CN108226549A所述,导致操作系统使用复杂,每次装机验收时,都需要企业技术支持人员对医院专业人员进行详细的书面授课和实操培训。

[0005] 此外,传统化学发光免疫分析方法还存在携带污染多和反应液混匀不充分的问题。

[0006] 传统化学发光免疫分析方法每个测试的反应、清洗、检测等步骤均在一支反应管中完成,清洗时用磁铁在外壁吸附磁珠,向管内注入洗液和吸走(或倾倒)废液交替进行,但由于始终在一个管内,管壁的吸附作用会导致管壁残留各种液体,如样本、磁珠工作液、酶工作液等等,清洗步骤必须进行3~6遍,繁琐、复杂,而且无法做到彻底洗净,不可避免地始终携带污染:而携带污染这一考核化学发光系统最关键、最核心的指标,一直是传统化学发光免疫研究人员无法攻克的难题。另由于清洗不够彻底,高值样本、酶结合物、洗液等在管壁会产生吸附和残留,进而产生检测背景值高,信噪比不理想,灵敏度不佳的结果。

[0007] 传统化学发光免疫分析方法,无论是磁微粒上的抗体与样本中的抗原反应,还是磁微粒上的抗原抗体复合物与酶结合物中的抗体反应形成双抗体夹心“三明治”结构的免疫复合物,反应过程均处于37℃(或其它设定温度)静置状态,此时磁微粒会因为重力影响

逐渐下沉,无法一直处于均匀悬浮状态,这就导致抗原、抗体分子之间的反应空间受阻,抗原、抗体分子之间结合不充分,不能在短时间内达到反应平台期,这既会影响样本检测时间,还会影响检测灵敏度。

[0008] 虽然在CN106546732A、CN104090101A、CN106290864A等专利申请中公开了一些灵敏度高、准确性好的化学发光免疫试剂盒及其检测方法,但是都未能解决上述的问题。

发明内容

[0009] 针对现有技术存在的不足,本发明的目的之一在于提供一种基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法,该方法磁珠清洗彻底、携带污染少,混匀充分,适用于单人份化学发光免疫试剂盒,使用灵活、背景噪声低。

[0010] 本发明的目的之二在于提供一种能实现上述方法的化学发光免疫检测系统。该系统所需仪器体积小巧,可随身携带进入诊疗现场,对实验室样本规模无特殊要求,价格低廉,基本无维护成本,适合基层医疗机构推广化学发光免疫分析技术的使用。

[0011] 本发明的上述目的采用如下的技术方案实现:

[0012] 一种基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法,所用试剂包括:分析缓冲液、磁珠工作液、酶工作液、清洗液1、清洗液2、底物液,该方法包括以下具体步骤:

[0013] 1) 将待测样本加入分析缓冲液,得到混合液A;

[0014] 2) 通过磁吸的方式从磁珠工作液中取出磁珠,加入混合液A中,然后以上下混匀的方式以某种频率震荡,反应一定时间,得到混合液B;

[0015] 3) 通过磁吸的方式从混合液B中移出磁珠,加入清洗液1中,得到混合液C,然后又以某种频率上下震荡混匀清洗;

[0016] 4) 通过磁吸的方式从混合液C中取出磁珠,并加入酶工作液中,然后又以上下混匀的方式以某种频率震荡,反应一定时间,得到混合液D;

[0017] 5) 通过磁吸的方式从混合液D中移出磁珠,加入清洗液2中,得到混合液E,然后又以某种频率上下震荡混匀清洗;

[0018] 6) 通过磁吸的方式从混合液E中取出磁珠,加入底物液中,以某种频率上下混匀,得到混合液F;

[0019] 7) 将混合液进行发光信号检测。

[0020] 进一步地,前述的基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法,所述某种频率选自1次/分钟~360次/分钟。

[0021] 本发明采用1次/分钟~360次/分钟的上下混匀法,克服了传统仪器偏心力旋涡混匀法存在的以下缺陷:混匀频率不稳定,反应液易飞溅,导致清洗液无法洗涤而出现严重跳点,出现假阳性检测结果;另清洗液的盐成分易渗出腐蚀控制电机,导致电机极易损坏,这会导致电机频繁更换,增加使用成本。

[0022] 进一步地,前述的基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法,分析缓冲液、磁珠工作液、酶工作液、清洗液1、清洗液2和底物液的加入体积为1~1000 μ l。

[0023] 进一步地,前述的基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法,步骤2) 和4) 的反应时间为30秒~60分钟。

[0024] 进一步地,前述的基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法,所述磁珠的粒径

为 $0.01\mu\text{m}\sim 50\mu\text{m}$ 。在一次测试中的磁珠可以是同一粒径的磁珠,也可以是不同粒径的混合磁珠。

[0025] 进一步地,前述的基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法,步骤7)所述发光信号检测的原理包括但不限于碱性磷酸酶促发光、辣根过氧化物酶促发光、吖啶酯直接发光。

[0026] 进一步地,前述的基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法,所述底物液包括但不限于AMPPD、APS-5、CDP-Star、鲁米诺及其衍生物、过氧化氢稀碱溶液。

[0027] 进一步地,前述的基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法,所述酶工作液是通过碱性磷酸酶标记、辣根过氧化物酶标记或吖啶酯标记的产物或者其他标记产物。

[0028] 进一步地,前述的基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法,所述碱性磷酸酶包括但不限于小牛肠碱性磷酸酶、细菌碱性磷酸酶或胎盘碱性磷酸酶。

[0029] 本发明的检测方法,最后通过PMT或者包含PMT的分析仪进行发光结果检测。

[0030] 本发明上述的检测方法可以人工操作也可以通过仪器系统完成。人工操作时,只需要将固定包装的单人份试剂盒按以上步骤进行,不需要从100人份的传统试剂盒中精密吸取1人份剂量进行试验,因此不再依赖传统的大型设备,可以在基层医疗机构灵活实现。当采用仪器检测系统完成上述检测方法时,得益于本发明巧妙的磁珠和液体分离方式,检测系统不再需要各种繁琐的混匀机构和液体吸取机构,只需要一根磁棒即可完成多个步骤结束后的磁珠和液体分离。而且这种分离方式使得清洗更为彻底,有效地减少清洗次数,节约试剂。其混匀方式使混合液一直处于均匀悬浮状态,磁珠不会下沉,抗原、抗体分子之间的反应自由、畅通,结合充分,短时间内就能达到反应平台期,既可以缩短样本检测时间,还可以提高检测灵敏度。

[0031] 根据上述,本发明还提供了一种利用上述方法进行单人份化学发光免疫检测的系统,该系统包括试剂模块、磁吸模块、隔离和混匀模块、以及控制模块;所述试剂模块、磁吸模块和混匀模块均与控制模块相连,所述试剂模块包括试剂管组件1和固定试剂管组件的工作平台2,所述磁吸模块包括能够沿水平方向和竖直方向移动的磁棒3、以及驱动磁棒3移动的电机,所述隔离和混匀模块包括能够沿水平方向和竖直方向移动的隔离套7、以及驱动隔离套7移动的电机。

[0032] 进一步地,上述进行单人份化学发光免疫检测的系统,所述磁吸模块还包括磁棒固定块4、磁棒水平臂5、磁棒竖向臂6和水平臂固定块10,所述磁棒固定块4夹持固定磁棒3,且在电机的驱动下能够沿磁棒水平臂5进行水平移动,所述磁棒水平臂5由水平臂固定块10固定在磁棒竖向臂6上,水平臂固定块10在另一电机的驱动下能够沿磁棒竖向臂6在竖直方向上移动。实现磁棒3沿水平方向和竖直方向移动的方式不限于此,这只是本发明实施例提供的一种方式。

[0033] 进一步地,上述进行单人份化学发光免疫检测的系统,所述隔离和混匀模块还包括水平伸缩杆8、隔离套竖向臂9和伸缩杆固定块11,所述水平伸缩杆8的一端活动连接隔离套7,另一端通过伸缩杆固定块11固定在隔离套竖向臂9上,水平伸缩杆8在电机驱动下进行水平伸缩使隔离套7在水平方向上移动,伸缩杆固定块11在另一电机驱动下沿隔离套竖向臂9在竖直方向上移动。实现隔离套7沿水平方向和竖直方向移动的方式不限于此,这只是本发明实施例提供的一种方式。

[0034] 进一步地,上述进行单人份化学发光免疫检测的系统,还包括与控制模块相连的检测模块,所述检测模块包括检测抓手、检测抓手机、具有孔位的检测盘和PMT分析仪。

[0035] 本发明的技术方案具有以下优点:

[0036] 1.基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法彻底解决了传统检测方法携带污染的问题。由于检测背景值低,仅需较低的信号值,即能实现较高信噪比,提高检测灵敏度:每个测试的反应、清洗、检测等步骤均在不同反应管里进行,清洗步骤只需要1~2遍,清洗方式为通过磁棒把磁珠往分别装有样本、洗液、酶工作液等溶液的不同反应管里移动、放入和吸出,这样就完全不存在管壁吸附和液体残留的问题,磁珠清洗效果更彻底,且均采用一次性耗材,这就完全避免了携带污染的存在。正是由于清洗彻底、干净,检测背景值低,仅需较低的信号值,即能实现较高信噪比,提高检测灵敏度。

[0037] 2.基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法实现了对反应液的持续混匀。无论是磁微粒上的抗体与样本中的抗原反应,还是磁微粒上的抗原抗体复合物与酶结合物中的抗体反应形成双抗体夹心“三明治”结构的免疫复合物,整个反应过程均处于37℃(或其它设定温度)持续混匀状态,此时磁微粒一直处于均匀悬浮状态,不会下沉,使抗原、抗体分子之间的反应自由、畅通,抗原、抗体分子之间结合充分,在短时间内就能达到反应平台期,既可以缩短样本检测时间,还可以提高检测灵敏度。

[0038] 3.基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法采用单人份、独立包装、随拆随用的方式,为社区、乡镇等基层医院量身定做:试剂盒采用单人份、独立包装的方式,对医院日均样本量无任何要求,病人随到随测,检测一位病人就开封1人份试剂,完全不存在一盒试剂反复使用造成的试剂组份挥发、试剂各组份之间交叉污染的问题,更不会造成医院和厂家的资源浪费。

[0039] 4.基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测系统省略了传统系统的多个转移装置、清洗装置、旋转装置和它们对应的电机,体积小,操作简单,对时序性的要求降低,普通人员即可操作和使用。且仪器为台式机,对存放地点和场地根本没有任何要求。

附图说明

[0040] 图1是现有技术CN107831322A公开的全自动化学发光免疫分析仪器结构示意图;

[0041] 图2是现有技术CN108226549A公开的用于化学发光免疫分析仪的时序控制系统结构示意图;

[0042] 图3是本发明的实施例的一种基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测系统主要结构示意图;

[0043] 1-试剂管组件,2-工作平台,3-磁棒,4-磁棒固定块,5-磁棒水平臂,6-磁棒竖向臂,7-隔离套,8-水平伸缩杆,9-隔离套竖向臂,10-水平臂固定块,11-伸缩杆固定块。

具体实施方式

[0044] 以下通过具体实施例对本发明的发明内容做进一步的阐释,本领域技术人员应当知晓,本发明基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法可用于多种化学发光检测中,而限于下述试验例的HIV、HCV和TP;实现本发明化学发光免疫检测方法的系统可以根据实际需要将有的一些功能模块组合到下述实施例中,这些都是基本发明容易获得的,仍属

于本发明保护的范畴。

[0045] 实施例1

[0046] 一种基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测系统,包括试剂模块、磁吸模块、隔离和混匀模块、以及控制模块;所述试剂模块、磁吸模块、隔离和混匀模块均与控制模块相连。所述试剂模块包括试剂管组件1和固定试剂管组件的工作平台2,所述磁吸模块包括能够沿水平方向和竖直方向移动的磁棒3、以及驱动磁棒3移动的电机,所述隔离和混匀模块包括能够沿水平方向和竖直方向移动的隔离套7、以及驱动隔离套7移动的电机。

[0047] 参考图3,在控制系统的控制下,磁棒3和隔离套7在对应电机的驱动下进行移位,首先到磁珠工作液试剂管的正上方,经过竖直移动,磁棒3伸入隔离套7内,再进一步伸入磁珠工作液试剂管内,吸取磁珠。然后磁棒3和隔离套7同时竖直向上抬起并移动到加了样本的分析缓冲液试剂管内,磁棒3抬起,磁珠留在管内,隔离套7在电机驱动下做一定幅度和频率的上下震荡,混匀。然后磁棒3伸入管内,吸附磁珠,再与隔离套7一起向上,将磁珠转移到下一个试剂管内,直至反应和清洗结束。

[0048] 作为实现磁棒3实现沿水平方向和竖直方向移动的一种方式,所述磁吸模块还包括磁棒固定块4、磁棒水平臂5、磁棒竖向臂6和水平臂固定块10,所述磁棒固定块4夹持固定磁棒3,且在电机的驱动下能够沿磁棒水平臂5进行水平移动,所述磁棒水平臂5由水平臂固定块10固定在磁棒竖向臂6上,水平臂固定块10在另一电机的驱动下能够沿磁棒竖向臂6在竖直方向上移动。

[0049] 作为实现隔离套7实现沿水平方向和竖直方向移动的一种方式,所述隔离和混匀模块还包括水平伸缩杆8、隔离套竖向臂9和伸缩杆固定块11,所述水平伸缩杆8的一端活动连接隔离套7,另一端通过伸缩杆固定块11固定在隔离套竖向臂9上,水平伸缩杆8在电机驱动下进行水平伸缩使隔离套7在水平方向上移动,伸缩杆固定块11在另一电机驱动下沿隔离套竖向臂9在竖直方向上移动。活动连接的隔离套7在每次测试后取下更换,为一次性耗材。

[0050] 作为优选的实施例方式,上述进行单人份化学发光免疫检测的系统还包括与控制模块相连的检测模块,所述检测模块包括检测抓手、检测抓手机、具有孔位的检测盘和PMT分析仪。

[0051] 试验例1

[0052] 基于磁棒法的HIV 1+2型抗体单人份化学发光检测方法(碱性磷酸酶法)

[0053] HIV 1+2型抗体单人份试剂由成都博奥新景医学科技有限公司提供。试剂组份包含:分析缓冲液、磁珠工作液、酶工作液、清洗液1、清洗液2、底物液,检测方法可以通过实施例1的检测系统实现,也可以人工操作实现。用检测系统时,分析缓冲液、酶工作液、清洗液1、清洗液2、底物液事先放置在试剂管组件中。该方法具体包括以下步骤:

[0054] 第一步:将待测样本加入分析缓冲液里,得到混合液A。(吸取样本放入试剂管组件的分析缓冲液管内,然后将试剂管组件固定在工作平台2上。)

[0055] 第二步:通过磁吸的方式从HIV 1+2型抗体试剂的磁珠工作液中取出磁珠,并加入混合液A中,然后以上下混匀的方式,以120次/分钟的频率震荡,反应5分钟,得到混合液B。(磁棒3和隔离套7在电机驱动下移动到磁珠工作液管上方,向下伸入管内,然后磁棒3吸取磁珠,再转移到分析缓冲液管内,磁棒3竖直向上抬起,磁珠落下,隔离套7在电机驱动下以

120次/分钟的频率上小震荡反应5分钟。)

[0056] 第三步:再从反应混合液B中通过磁吸的方式移出磁珠,加入清洗液1中,得到混合液C,然后又以180次/分钟的频率进行上下震荡混匀清洗。(磁棒向下伸入隔离套7,吸取管内磁珠,与隔离套7一起转移磁珠到清洗液1管内,磁棒3竖直向上抬起,磁珠落下,隔离套7在电机驱动下以180次/分钟的频率进行上下震荡清洗。)

[0057] 第四步:通过磁吸的方式从混合液C中取出磁珠,并加入HIV 1+2型抗体试剂酶工作液中,然后又以上下混匀的方式,以120次/分钟的频率震荡混匀,反应15分钟,得到混合液D。(磁棒向下伸入隔离套7,吸取管内磁珠,与隔离套7一起转移磁珠到酶工作液管内,磁棒3竖直向上抬起,磁珠落下,隔离套7在电机驱动下以120次/分钟的频率上下震荡混匀反应15分钟。)

[0058] 第五步:再从反应混合液D中通过磁吸的方式移出磁珠,加入清洗液2中,得到混合液E,然后又以180次/分钟的频率进行上下震荡混匀清洗。(磁棒向下伸入隔离套7,吸取管内磁珠,与隔离套7一起转移磁珠到清洗液2管内,磁棒3竖直向上抬起,磁珠落下,隔离套7在电机驱动下以180次/分钟上下震荡混匀清洗。)

[0059] 第六步:通过磁吸的方式从混合液E中取出磁珠,移到底物液中,以上下混匀的方式,以120次/分钟的频率震荡混匀,得到混合液F,然后进行发光信号检测。(磁棒向下伸入隔离套7,吸取管内磁珠,与隔离套7一起转移磁珠到底物液管内,磁棒3竖直向上抬起,磁珠落下,隔离套7在电机驱动下以120次/分钟的频率震荡混匀。)

[0060] 第七步:将混合液进行发光信号检测。(检测抓手抓取底物液管放到检测盘的孔内,用PMT分析仪进行信号检测。)

[0061] 用北京科美生物技术有限公司的人类免疫缺陷病毒抗体诊断试剂盒(化学发光法)和CHEMCLIN 1500全自动化学发光免疫分析仪检测的结果作为参照,以考察本发明检测方法的准确性。

[0062] 检测结果如下:

[0063]

HIV 1+2 型抗体项目样本测试结果					
样本编号	检测信号值	检测 S/CO	检测结果 (-/+)	参考结果 (来源: 科美生物)	结果是否 一致
1	1134	0.15	-	-	是
2	1677	0.23	-	-	是
3	839	0.11	-	-	是
4	1351	0.18	-	-	是
5	900	0.12	-	-	是
6	1449	0.20	-	-	是
7	1353	0.18	-	-	是
8	2720	0.37	-	-	是
9	1097	0.15	-	-	是
10	1105	0.15	-	-	是
11	292195	39.57	+	+	是
12	541341	73.30	+	+	是
13	595170	80.59	+	+	是
14	532607	72.12	+	+	是
15	845280	114.46	+	+	是
16	652477	88.35	+	+	是
17	568064	76.92	+	+	是
18	659146	89.25	+	+	是

[0064] 结论:经磁棒法HIV 1+2型抗体单人份化学发光法检测,样本阴阳性检测结果与参照厂家检测结果完全一致。

[0065] 试验例2

[0066] 基于磁棒法的HIV-1p24抗原单人份化学发光检测方法(碱性磷酸酶法)

[0067] HIV-1p24抗原试剂由成都博奥新景医学科技有限公司提供。试剂组份包含:分析缓冲液、磁珠工作液、酶工作液、清洗液1、清洗液2、底物液,具体步骤如下,当采用系统完成时,与试验例1类似:

[0068] 第一步:将待测样本加入分析缓冲液里,得到混合液A。

[0069] 第二步:通过磁吸的方式从HIV-1p24抗原试剂的磁珠工作液中取出磁珠,并加入混合液A中,然后以上下混匀的方式,以120次/分钟的频率震荡,反应5分钟,得到混合液B。

[0070] 第三步:再从反应混合液B中通过磁吸的方式移出磁珠,加入清洗液1中,得到混合液C,然后又以180次/分钟的频率进行上下震荡混匀清洗。

[0071] 第四步:通过磁吸的方式从混合液C中取出磁珠,并加入HIV-1p24抗原试剂酶工作液中,然后又以上下混匀的方式,以120次/分钟的频率震荡混匀,反应15分钟,得到混合液D。

[0072] 第五步:再从反应混合液D中通过磁吸的方式移出磁珠,加入清洗液2中,得到混合液E,然后又以180次/分钟的频率进行上下震荡混匀清洗。

[0073] 第六步:通过磁吸的方式从混合液E中取出磁珠,移到底物液中,以上下混匀的方式,以120次/分钟的频率震荡混匀,得到混合液F,然后进行发光信号检测。

[0074] 第七步:将混合液进行发光信号检测。

[0075] 用HIV-1p24抗原国家参考品(购自中国食品药品检定研究院、货号:22015-20150505)的检测结果作为参照,以考察本发明检测方法的准确性。

[0076] 检测结果如下:

HIV-1 p24 抗原项目样本测试结果					
样本编号	检测信号值	检测 S/CO	检测结果 (-/+)	参考结果 (来源: HIV-1 p24 抗原国家参考品)	结果是否一致
1	516	0.18	-	-	是
2	468	0.16	-	-	是
3	631	0.22	-	-	是
4	661	0.23	-	-	是
5	713	0.25	-	-	是
6	747	0.26	-	-	是
7	463	0.16	-	-	是
8	775	0.27	-	-	是
9	513	0.18	-	-	是
10	591	0.20	-	-	是
11	10522	3.65	+	+	是
12	27138	9.41	+	+	是
13	25418	8.81	+	+	是
14	26462	9.18	+	+	是
15	23812	8.26	+	+	是
16	73022	25.32	+	+	是
17	33097	11.48	+	+	是
18	28743	9.97	+	+	是
19	22042	7.64	+	+	是
20	27966	9.70	+	+	是

[0079] 结论:经磁棒法HIV-1p24抗原单人份化学发光法检测,样本阴阳性结果与HIV-1p24抗原国家参考品的要求完全一致。

[0080] 试验例3

[0081] 基于磁棒法的anti-HCV单人份化学发光检测方法(碱性磷酸酶法)

[0082] anti-HCV试剂由成都博奥新景医学科技有限公司提供。试剂组份包含:分析缓冲液、磁珠工作液、酶工作液、清洗液1、清洗液2、底物液,操作与试验例1类似,具体步骤如下,当采用系统完成时,与试验例1类似:

[0083] 第一步:将待测样本加入分析缓冲液里,得到混合液A。

[0084] 第二步:通过磁吸的方式从anti-HCV试剂的磁珠工作液中取出磁珠,并加入混合液A中,然后以上下混匀的方式,以120次/分钟的频率震荡,反应5分钟,得到混合液B。

[0085] 第三步:再从反应混合液B中通过磁吸的方式移出磁珠,加入清洗液1中,得到混合

液C,然后又以180次/分钟的频率进行上下震荡混匀清洗。

[0086] 第四步:通过磁吸的方式从混合液C中取出磁珠,并加入anti-HCV试剂酶工作液中,然后又以上下混匀的方式,以120次/分钟的频率震荡混匀,反应15分钟,得到混合液D。

[0087] 第五步:再从反应混合液D中通过磁吸的方式移出磁珠,加入清洗液2中,得到混合液E,然后又以180次/分钟的频率进行上下震荡混匀清洗。

[0088] 第六步:通过磁吸的方式从混合液E中取出磁珠,移到底物液中,以上下混匀的方式,以120次/分钟的频率震荡混匀,得到混合液F,然后进行发光信号检测。

[0089] 第七步:结果检测。通过半自动化学发光免疫分析仪进行结果检测。

[0090] 用雅培的丙型肝炎病毒抗体测定试剂盒(化学发光微粒子免疫检测法)、雅培ARCHITECT i2000_{SR}检测的结果作为参照,以考察本发明检测方法的准确性。

[0091] 检测结果如下:

anti-HCV 项目样本测试结果					
样本编号	检测信号值	检测 S/CO	检测结果 (-/+)	参考结果 (来源: 雅培)	结果是否一致
[0092]	1	429	0.16	-	是
	2	293	0.11	-	是
	3	315	0.12	-	是
[0093]	4	335	0.12	-	是
	5	417	0.15	-	是
	6	428	0.16	-	是
	7	493	0.18	-	是
	8	409	0.15	-	是
	9	447	0.16	-	是
	10	475	0.17	-	是
	11	296993	97.05	+	是
	12	719251	235.04	+	是
	13	1568451	512.54	+	是
	14	1006997	329.07	+	是
	15	1050422	343.26	+	是
	16	459264	150.08	+	是
	17	1759389	574.93	+	是
	18	237801	77.71	+	是
	19	1562230	510.51	+	是
	20	1428277	466.73	+	是

[0094] 结论:经磁棒法anti-HCV单人份化学发光法检测,样本阴阳性结果与比对厂家检测结果完全一致。

[0095] 试验例4

[0096] 基于磁棒法的anti-TP单人份化学发光检测方法(碱性磷酸酶法)

[0097] anti-TP试剂来自成都博奥新景医学科技有限公司。试剂组份包含:酶工作液1、磁珠工作液、酶工作液2、清洗液1、清洗液2、底物液,操作与试验例1类似,具体步骤如下,当采

用系统完成时,与试验例1类似:

[0098] 第一步:将待测样本加入酶工作液1里,得到混合液A。

[0099] 第二步:通过磁吸的方式从anti-TP试剂的磁珠工作液中取出磁珠,并加入混合液A中,然后以上下混匀的方式,以120次/分钟的频率震荡,反应5分钟,得到混合液B。

[0100] 第三步:再从反应混合液B中通过磁吸的方式移出磁珠,加入清洗液1中,得到混合液C,然后又以180次/分钟的频率进行上下震荡混匀清洗。

[0101] 第四步:通过磁吸的方式从混合液C中取出磁珠,并加入anti-TP试剂酶工作液中,然后又以上下混匀的方式,以120次/分钟的频率震荡混匀,反应15分钟,得到混合液D。

[0102] 第五步:再从反应混合液D中通过磁吸的方式移出磁珠,加入清洗液2中,得到混合液E,然后又以180次/分钟的频率进行上下震荡混匀清洗。

[0103] 第六步:通过磁吸的方式从混合液E中取出磁珠,移到底物液中,以上下混匀的方式,以120次/分钟的频率震荡混匀,得到混合液F,然后进行发光信号检测。

[0104] 第七步:结果检测。通过半自动化学发光免疫分析仪进行结果检测。

[0105] 用北京科美生物技术有限公司的梅毒螺旋体抗体诊断试剂盒(化学发光法)、CHEMCLIN 1500全自动化学发光免疫分析仪检测的结果作为参照,以考察本发明检测方法的准确性。

[0106] 检测结果如下:

[0107]

anti-TP 项目样本测试结果					
样本编号	检测信号值	检测 S/CO	检测结果 (-/+)	参考结果 (来源: 科美生物)	结果是否一致
1	1399	0.06	-	-	是
2	1946	0.09	-	-	是
3	1730	0.08	-	-	是
4	1407	0.06	-	-	是
5	2702	0.12	-	-	是
6	3146	0.14	-	-	是
7	1616	0.07	-	-	是
8	1871	0.09	-	-	是
9	1704	0.08	-	-	是
10	2807	0.13	-	-	是
11	328258	15.09	+	+	是
12	2727913	125.40	+	+	是
13	2092891	96.21	+	+	是
14	197940	9.10	+	+	是
15	99177	4.56	+	+	是
16	1802265	82.85	+	+	是
17	2899411	133.28	+	+	是

[0108] 结论:经磁棒法anti-TP单人份化学发光法检测,样本阴阳性结果与比对厂家检测结果完全一致。

[0109] 当用其他厂家方法检测样本时,因为厂家的试剂是100人份,多次使用均未用完,用开封后20+天的试剂进行检测,其检测结果表现出比本发明检测结果更高的噪声背景。其原因包括磁珠吸取转移方式不同以及试剂受时间影响发生变化。本发明方法具有更高的灵敏性。

[0110] 以上试验例表明本发明的检测方法获得的检测结果是准确的,能够与多个厂家的检测结果保持高度一致。而且,本发明的检测方法携带污染低,清洗次数少,简化了程序,降低了软件控制和工作人员操作的难度。由于本发明方法的清洗方式和单人份检测的特点,有效降低了污染物携带和试剂变化产生的噪声信号,更有助于灵敏度的提高。此外,采用本发明检测方法的检测系统,节约了多个转移机构、混匀机构和对应的电机,缩小了仪器的体积,使庞然大物般的传统检测仪器小型化,可以应用到面积有限的更多基层医疗机构中,而且检测时间更短。

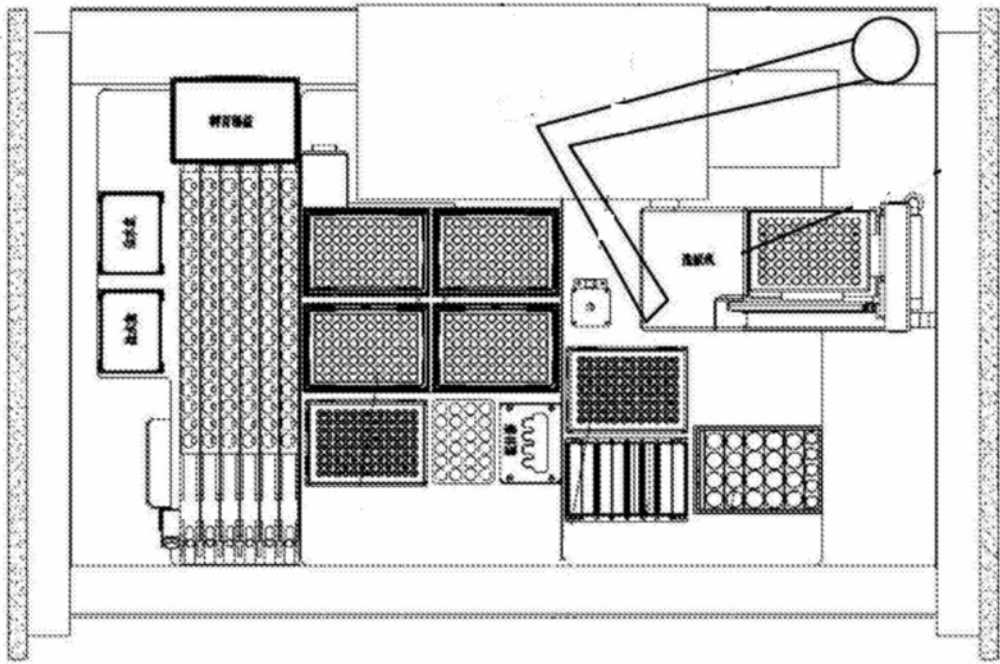


图1

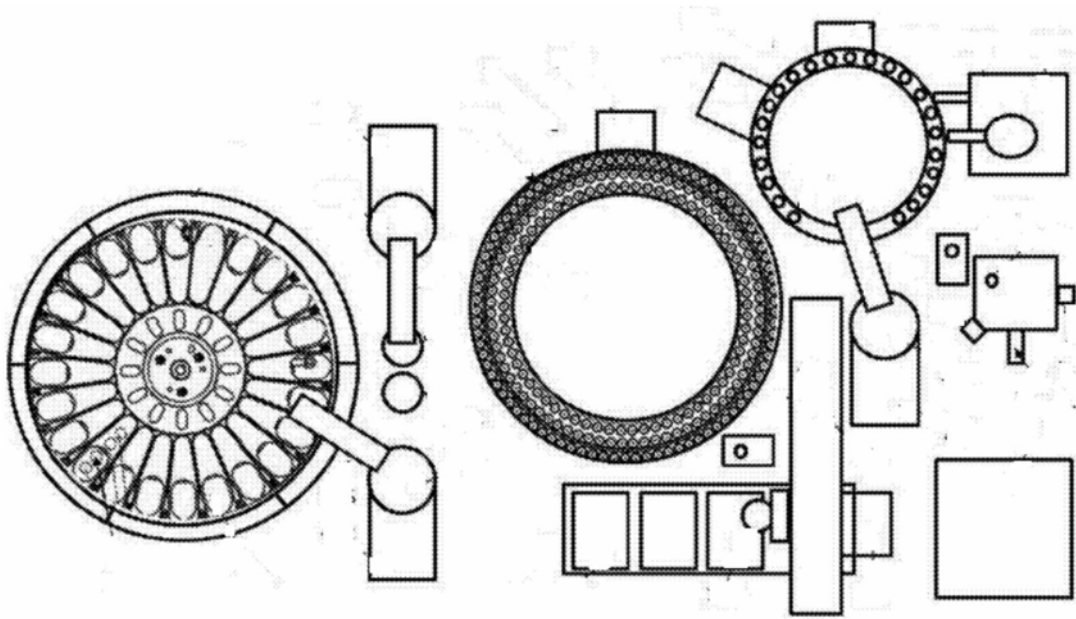


图2

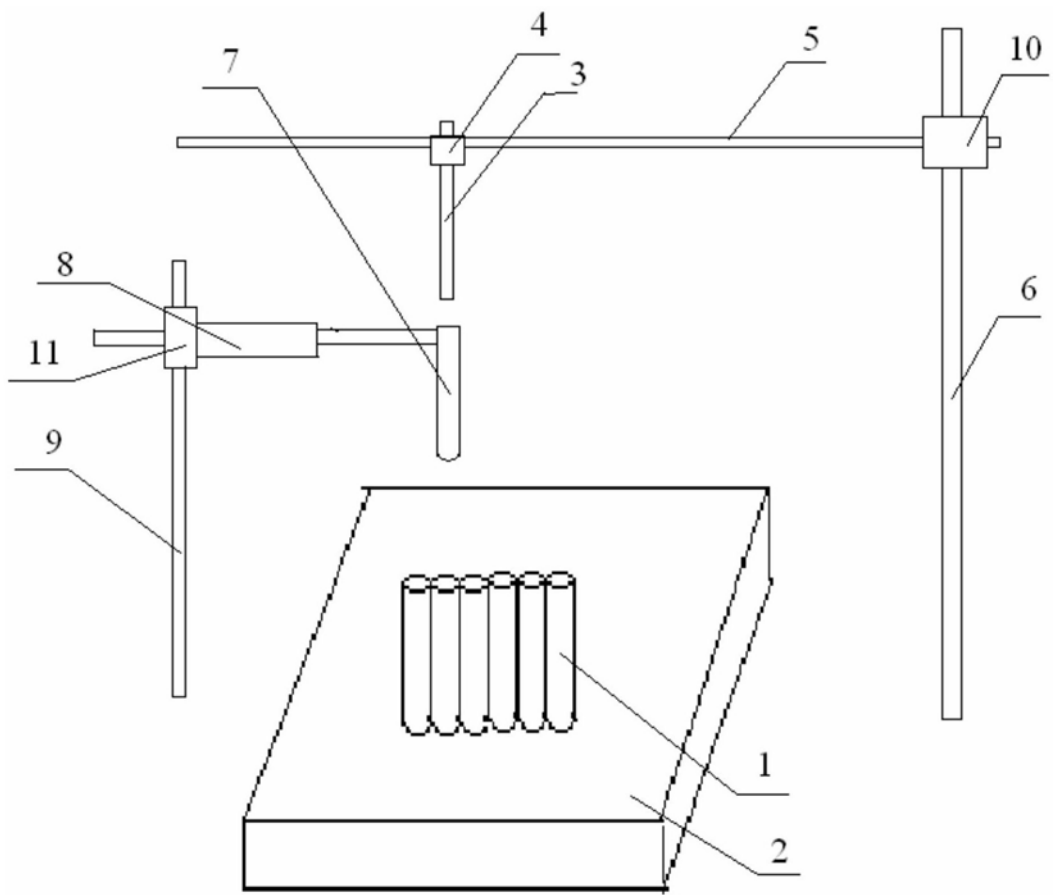


图3

专利名称(译)	一种基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法及系统		
公开(公告)号	CN109060783A	公开(公告)日	2018-12-21
申请号	CN201811246644.3	申请日	2018-10-25
[标]申请(专利权)人(译)	成都博奥新景医学科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	成都博奥新景医学科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	成都博奥新景医学科技有限公司		
[标]发明人	潘琴 张冠斌 田进 周晶 杨芳艳 高云		
发明人	潘琴 张冠斌 田进 周晶 杨芳艳 高云		
IPC分类号	G01N21/76 G01N33/53		
CPC分类号	G01N21/76 G01N33/53		
代理人(译)	陶海燕		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种基于磁棒法的单人份化学发光免疫检测方法及系统，该方法利用磁棒吸取磁珠加入到试剂内进行反应或清洗，传统的化学发光免疫检测方法则利用磁吸试剂管侧壁，再用取液针自底部吸走液体，与后者相比，本发明的方法携带污染少，清洗彻底，清洗次数少。本发明的方法还采用一定频率持续震荡混合的方式进行反应，有利于磁微粒一直处于均匀悬浮状态，使抗原、抗体分子之间的反应自由、畅通，结合充分，缩短样本检测时间，提高检测灵敏度。本发明的方法和检测系统适用于单人份化学发光免疫检测，避免了目前100人份检测存在的试剂变质、灵敏度降低、资源浪费和不适用于基层医疗机构的问题。

