



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105242036 B

(45)授权公告日 2016.08.17

(21)申请号 201510643471.9

(22)申请日 2015.10.08

(73)专利权人 徐恩良

地址 361003 福建省厦门市思明区育青路
33号B幢1302室

(72)发明人 徐恩良

(74)专利代理机构 厦门原创专利事务所(普通
合伙) 35101

代理人 徐东峰

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

审查员 毕秀华

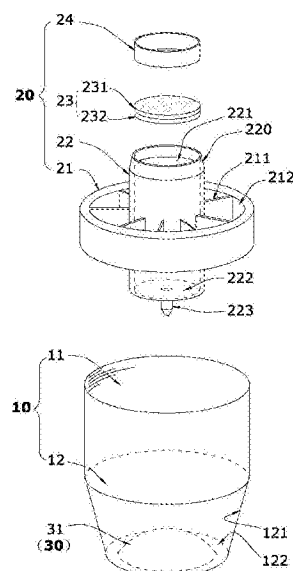
权利要求书2页 说明书5页 附图8页

(54)发明名称

一种发光免疫检测用集成试剂管及其使用方法

(57)摘要

本发明公开一种发光免疫检测用集成试剂管及其使用方法,包括一微孔杯和一装接在微孔杯杯口的样品过滤装置,样品过滤装置包括一与微孔杯杯口拆装配合的套接件,一固定在套接件上的塑料制样品滤杯悬置在微孔杯内的上半部,样品滤杯的杯腔底面上固定有自上而下由样品滤膜和标记物膜层叠构成的一结合膜;待测物通过样品过滤装置初始反应后滴入预先固相的微孔杯再反应得到发光免疫检测用目标物反应链;在集成试剂管内可完成全血处理、进样、免疫反应、洗涤、发光反应与测定相对发光单位等检测过程,免去检测时添加试剂标记物、固相物的过程,检测时间缩短;适合对全血、血清、血浆及其他体液中目标免疫分子定性、定量的即时检测。



1. 一种发光免疫检测用集成试剂管, 包括一可固相化有固相物的微孔杯(10), 其特征在于还包括:

一样品过滤装置(20), 样品过滤装置(20)包括一与微孔杯(10)杯口拆装配合的套接件(21), 一固定在套接件(21)上的塑料制样品滤杯(22)悬置在微孔杯(10)内的上半部, 样品滤杯(22)的杯腔(221)底面(222)上固定有自上而下由样品滤膜(231)和标记物膜(232)层叠构成的一结合膜(23);

待测物通过样品过滤装置(20)初始反应后滴入预先固相有固相物的微孔杯(10)再反应得到发光免疫检测用目标物反应链。

2. 如权利要求1所述的一种发光免疫检测用集成试剂管, 其特征在于: 所述的套接件(21)的形状为与微孔杯(10)杯口外壁套合的环状, 样品滤杯(22)设置在套接件(21)环心部, 样品滤杯(22)外壁与套接件(21)之间通过相间隔的若干隔梁(211)连接固定, 相邻隔梁(211)的间隔空间(212)连通微孔杯(10)杯口内外。

3. 如权利要求1所述的一种发光免疫检测用集成试剂管, 其特征在于: 所述的样品过滤装置(20)中还包括一顶压固定结合膜(23)边沿的卡环(24), 套入样品滤杯(22)杯腔(221)内的卡环(24)把结合膜(23)压紧在杯腔(221)的底面(222)上; 样品滤杯(22)底面(222)下设有连通样品滤杯(22)杯腔(221)内外的滴液管(223)。

4. 如权利要求1所述的一种发光免疫检测用集成试剂管, 其特征在于: 所述的微孔杯(10)的微孔孔腔由上部一圆通孔(11)和下部一具有增加向上投照和反射聚光面积的侧环壁(121)的杯孔(12)连接构成, 所述杯孔(12)的底面(122)和/或侧环壁(121)上凸出地设置有增加向上投照和反射聚光面积的反光体(30)。

5. 如权利要求4所述的一种发光免疫检测用集成试剂管, 其特征在于: 所述的杯孔(12)为倒圆台孔、喇叭形孔、倒球带孔或倒圆梯台孔。

6. 如权利要求4所述的一种发光免疫检测用集成试剂管, 其特征在于: 所述的反光体(30)一体成型固定在杯孔(12)的底面(122)上, 该反光体(30)可把光线反射到杯孔(12)的侧环面(121)上, 所述的反光体(30)为一球缺(31)、圆锥(32)、圆台(33)、棱锥(34)或棱台(35)。

7. 如权利要求4所述的一种发光免疫检测用集成试剂管, 其特征在于: 所述的杯孔(12)侧环壁(121)上一体成型有若干所述的反光体(30), 所述的反光体(30)为底面与杯孔(12)底面(122)连接的四面体(36)。

8. 如权利要求1所述的一种发光免疫检测用集成试剂管, 其特征在于: 所述的微孔杯(10)的微孔孔腔为一圆孔的通用微孔管(13)。

9. 一种使用权利要求1至8任意一项所述的发光免疫检测用集成试剂管的方法, 其步骤为:

第一步: 使微孔杯(10)的内壁固相化有固相物, 使其与样品滤杯(22)中的标记物膜(232)匹配;

第二步: 把样品过滤装置(20)固定在微孔杯(10)杯口; 往样品滤杯(22)内加入指定体积的待测物样品, 待测物中的细胞颗粒被样品滤膜(231)阻隔于膜上层, 水相自样品滤膜(231)孔隙向下渗至标记物膜(232), 标记物膜(232)中的标记物被水相溶解并与水相中的待测物在标记物膜(232)内初始结合反应, 得到初始反应物;

第三步:通过气体正压或负压使样品滤杯(22)中的初始反应物流入微孔杯(10)内壁上的固相物结合反应,即使初始反应物中的非细胞成份及标记物进入微孔杯(10)内的固相区域参与反应后;形成固相-待测分子-标记物反应链,即得到发光免疫检测用目标物;

第四步:把样品过滤装置(20)从微孔杯(10)上拔出、抛弃;

第五步:洗涤微孔杯(10)的微孔孔腔,自微孔孔腔开口向内持续不断注入洗液,并用负压装置连续抽吸,充分洗涤,使未反应成分被抽吸出微孔杯(10);

第六步:微孔杯(10)洗涤完成后,向微孔杯(10)内加入一定体积的发光底物液,形成发光反应,在一定时间内测定发光强度,并由储存的校准品曲线计算对应待测物浓度和报告检测结果。

一种发光免疫检测用集成试剂管及其使用方法

技术领域

[0001] 本发明涉及全血化学发光免疫检测,特别是用于体外诊断即时检测用的一种发光免疫检测用集成试剂管及其使用方法。

背景技术

[0002] 发光免疫分析技术因其高灵敏度、良好的稳定性以及在自动化设备上多样性柔性操作,在现代临床免疫学检测方法中居于核心地位,迅速替代了放射免疫分析技术;与人体生理、病理相关的生物活性物质或疾病标志物,以及外来抗原均可藉此实现微量定量检测,用于疾病诊断、疗效评价及预后判断。

[0003] 由于试剂结构的多组份特性,现今发展的全自动检测系统涉及多环节液体转移,并因多样品上机运行,相应进样、出样装置需要反复不断清洗,使得仪器变得庞大、复杂,制作困难,故障率较高;而且不能检测全血样品,仅能检测血清、血浆等样品,只限于中心实验室用,因而检测周转期(turnaround time,TAT)较长,不适合病人所在现场检测,难于满足即时检测需求。

[0004] 法国梅里埃的BioMerieux Vidas、日本三菱化学PATHFAST以磁微粒为固相的全血样品快速定量检测装置;这类装置将其它液体组份预先分装成单人份的集成结构;此类产品存在液体易挥发、保存期短,以及分、封装繁琐和易于交叉污染等问题;且仪器与检测品种高度专一,其他项目上机兼容性差,检测指标有限,检测通量小,扩展能力差,不利于资源利用。

[0005] 以胶体金和荧光物质为标记物的硝酸纤维素膜固相侧向免疫层析技术产品,是目前一大类即时检测(Point of Care Test,POCT)产品。简便是其突出的特点,然而,由于材料变异大、工艺与检测过程有缺陷,产品质量可控性差,使得此类产品灵敏度低,不精密度高,重复性差,定量准确性不足;只能用于对高危人群的初筛,不能用作疾病诊断的常规工具。

[0006] 以醋酸纤维素膜为固相、胶体金为标记物的斑点免疫渗滤法也是一种快速检测方法。其结构是在醋酸纤维素膜上特定位置点样固定有特定抗体(抗原),将此固相膜与其下的吸水材料纤维固定在一塑料盒中。检测时,先点上样品,反应一定时间后,再滴入胶体金标记物,形成固相-样品待测定物-胶体金复合物,呈现有色反应物,从而实现对目标物的定性检测。未反应的成分通过醋酸纤维素间隙在吸水材料的毛细管力作用下吸至吸水材料中。此方法分析能力与侧向免疫层析分析相当。其固相过程是粗放型被动吸附作用,固相的量不确定,未被吸附的固相成分在后续检测时会带走待测物,影响检测灵敏度。膜只能结合固相成分而不能作为胶体金标记物吸附载体而形成一体结构。由于膜致密透光性差,发光分析时会阻碍光线传播,吸光分析难于比色,只能用扫描或目测法进行定性或半定量检测。由于未反应物是有限分离的,效率不高,亦不彻底,故灵敏度低。不能滤过分离红细胞等成分,因而不能用于测定全血样品。

发明内容

[0007] 本发明的第一个目的是提供体外诊断即时检测用的一种发光免疫检测用集成试剂管,以克服现有即时检测(以胶体金和荧光标记的侧向免疫层析技术为代表)灵敏度低、准确性和重复性差等问题,使本集成试剂管结构可检测全血等样品而用于即时检测,并具备常规诊断工具一样的灵敏度、准确性。

[0008] 本发明的第二个目的是提供上述集成试剂管的使用方法,以实现在上述集成试剂管中完成全血处理、进样、免疫反应、洗涤、发光反应与测定相对发光单位(RLU)等检测过程,省去了检测时添加试剂标记物、固相物的过程,大大缩短检测时间,并具有高灵敏度和良好的重复性;满足对全血、血清、血浆及其他体液中目标免疫分子进行定性、定量的即时检测需求。

[0009] 本发明提供的一种发光免疫检测用集成试剂管,包括一可预先固相化的微孔杯,其特征在于还包括:一样品过滤装置,样品过滤装置包括一与微孔杯杯口拆装配合的套接件,一固定在套接件上的塑料制样品滤杯悬置在微孔杯内的上半部,样品滤杯的杯腔底面上固定有自上而下由样品滤膜和标记物膜层叠构成的一结合膜;待测物通过样品过滤装置初始反应后滴入预先固相的微孔杯再反应得到发光免疫检测用目标物反应链。

[0010] 所述的套接件的形状为与微孔杯杯口外壁套合的环状,样品滤杯设置在套接件环心部,样品滤杯外壁与套接件之间通过相间隔的若干隔梁连接固定,相邻隔梁的间隔空间连通微孔杯杯口内外。

[0011] 所述的样品过滤装置中还包括一顶压固定结合膜边沿的卡环,套入样品滤杯杯腔内的卡环把结合膜压紧在杯腔的底面上;样品滤杯底面下设有连通样品滤杯杯腔内外的滴液管。

[0012] 所述的微孔杯的微孔孔腔由上部一圆通孔和下部一具有增加向上投照和反射聚光面积的侧环壁的杯孔连接构成,所述杯孔的底面和/或侧环壁上凸出地设置有增加向上投照和反射聚光面积的反光。

[0013] 所述的杯孔为倒圆台孔、喇叭形孔、倒球带孔或倒圆梯台孔。

[0014] 所述的反光体一体成型固定在杯孔的底面上,该反光体可把光线反射到杯孔的侧环面上,所述的反光体为一球缺、圆锥、圆台、棱锥或棱。

[0015] 所述的杯孔侧环壁上一体成型有若干所述的反光体,所述的反光体为底面与杯孔底面连接的四面。

[0016] 所述的微孔杯的微孔孔腔为一圆孔的通用微孔。

[0017] 一种发光免疫检测用集成试剂管的使用方法,其步骤为:

[0018] 第一步:把微孔杯的微孔孔腔固相化,使其与样品滤杯中的标记物膜匹配;

[0019] 第二步:把样品过滤装置固定在微孔杯杯口;往样品滤杯内加入指定体积的待测物样品,待测物中的细胞颗粒被样品滤膜阻隔于膜上层,水相自样品滤膜孔隙向下渗至标记物膜,标记物膜中的标记物被水相溶解并与水相中的待测物在标记物膜内初始结合反应,得到初始反应物;

[0020] 第三步:通过气体正压或负压使样品滤杯中的初始反应物流入微孔杯内壁上的固相物结合反应,即使初始反应物中的非细胞成份及标记物进入微孔杯内的固相区域参与反

应后;形成固相-待测分子-标记物反应链,即得到发光免疫检测用目标物;

[0021] 第四步:把样品过滤装置从微孔杯上拔出、抛弃;

[0022] 第五步:洗涤微孔杯的微孔孔腔,自微孔孔腔开口向内持续不断注入洗液,并用负压装置连续抽吸,充分洗涤,使未反应成分被抽吸出微孔杯;

[0023] 第六步:微孔杯洗涤完成后,向微孔杯内加入一定体积的发光底物液,形成发光反应,在一定时间内测定发光强度,并由储存的校准品曲线计算对应待测物浓度和报告检测结果。

[0024] 本发明的显著效果是:在本发明的集成试剂管内可完成全血处理、进样、免疫反应、洗涤、发光反应与测定相对发光单位(RLU)等检测过程,省去了检测时添加试剂标记物、固相物的过程,大大缩短检测时间,并有高灵敏度和良好的重复性;适合对全血、血清、血浆及其他体液中目标免疫分子定性、定量检测,满足即时检测需求。

附图说明

[0025] 图1为本发明集成试剂管的整体装配结构立体分解示意图。

[0026] 图2为本发明集成试剂管的样品过滤装置与微孔杯装配的立体分解示意图。

[0027] 图3为本发明集成试剂管的样品过滤装置与微孔杯装配完毕的立体图。

[0028] 图4为本发明集成试剂管的结构透视图。

[0029] 图5为本发明集成试剂管的结构剖视图。

[0030] 图6为本发明集成试剂管的微孔杯底部反光体的多种等同替代方式。

[0031] 图7为本发明集成试剂管的微孔杯侧面设置其后连接到杯底的四面体。

[0032] 图8为本发明集成试剂管采用的微孔杯为通用微孔孔腔为一通用圆孔。

[0033] 图中附图标识为:10.微孔杯;11.圆通孔;12.杯孔;121.杯孔侧面;122.杯孔底面;13.标准微孔杯;20.样品过滤装置;21.套接件;211.隔梁;212.间隔空间;22.样品滤杯;220.斜环面;221.杯腔;222.底面;223.滴液管;23.结合膜;231.样品滤膜;232.标记物膜;24.卡环;30.反光体;31.球缺;32.圆锥;33.圆台;34.棱锥;35.棱台;36.四面体。

具体实施方式

[0034] 下面结合附图和实施例对本发明进一步说明。

[0035] 实施例一(微孔杯底面一体成型一球缺作为反光体)。

[0036] 如图1~图5所示的一种发光免疫检测用集成试剂管,包括一可预先固相化的微孔杯10和一用于过滤待测物液体的样品过滤装置20。

[0037] 如图1所示,本发明的微孔杯10的微孔孔腔由上部一圆通孔11和下部一具有增加向上投照和反射聚光面积的侧环壁121的杯孔12连接构成,本发明的杯孔为倒圆台孔杯孔12,杯孔12的底面122上凸出地设置有增加向上投照和反射聚光面积的反光体30,一球缺31作为反光体(30一体成型固定在杯孔12的底面122上,该球缺31可把光线反射到杯孔12的侧环壁121上;本发明的杯孔12侧环壁121与待测物检测液的固液反应界面增大,以利于免疫反应、发光反应或酶催化反应充分进行,反应达到平衡的时间大大缩短,从而提高检测灵敏度,提高检测效率;杯孔12侧环壁121与检测液的固液反应界面的斜面结构可使产生的发光光线有效汇聚,使检测仪器光电倍增管(PMT)探头接收到更多的固液界面的光信号,以提

高检测灵敏度。

[0038] 如图1、图2、图4和图5所示,本发明的样品过滤装置20包括一与微孔杯10杯口拆装配合的套接件21,一固定在套接件21上的塑料制样品滤杯22悬置在微孔杯10内的上半部,套接件21的形状为与微孔杯10杯口即圆通孔11的外壁套合的环状,样品滤杯22设置在套接件21环心部,样品滤杯22外壁与套接件21之间通过相间隔的若干隔梁211连接固定,相邻隔梁211的间隔空间212连通微孔杯10杯口内外;本发明的样品滤杯22的杯腔221底面222上固定有自上而下由样品滤膜231和标记物膜232层叠构成的一结合膜23,样品过滤装置20中还包括一顶压固定结合膜23边沿的卡环24,套入样品滤杯22杯腔221内的卡环24把结合膜23压紧在杯腔221的底面222上;样品滤杯22底面222下设有连通样品滤杯22杯腔221内外的滴液管223。

[0039] 如图3~图5所示,把样品过滤装置20套接在微孔杯10杯口构成本发明的发光免疫检测用集成试剂管。

[0040] 下面详细说明本发明发光免疫检测用集成试剂管的使用方法。

[0041] 第一步:如图2所示,把微孔杯10的微孔孔腔固相化,使其与样品滤杯22中的标记物膜232匹配;

[0042] 第二步:如图3~图5所示,把样品过滤装置20固定在微孔杯10杯口;往样品滤杯22内加入指定液体体积的待测物样品,待测物中的细胞颗粒被样品滤膜231阻隔于膜上层,水相自样品滤膜231孔隙向下渗至标记物膜232,标记物膜232中的标记物被水相溶解并与水相中的待测物在标记物膜232内初始结合反应,得到初始反应物;

[0043] 第三步:如图4、图5所示,把气压泵的管接头通过斜环面套在样品滤杯22顶端外壁,通过气体正压使样品滤杯22中的初始反应物经滴液管223流入微孔杯10内壁(杯孔12侧壁121、底壁122和球缺31表面)上的固相物结合反应,即使初始反应物中的非细胞成份及标记物进入微孔杯10内的固相区域参与反应后;形成固相-待测分子-标记物反应链,即得到发光免疫检测用目标物;

[0044] 第四步:如图2所示,把样品过滤装置20从微孔杯10上拔出、抛弃;

[0045] 第五步:洗涤微孔杯10的微孔孔腔,自微孔孔腔开口向内持续不断注入洗液,并用负压装置连续抽吸,充分洗涤,使未反应成分被抽吸出微孔杯10;

[0046] 第六步:微孔杯10洗涤完成后,向微孔杯10内加入一定体积的发光底物液,形成发光反应,在一定时间内测定发光强度,并由储存的校准品曲线计算对应待测物浓度和报告检测结果。

[0047] 在上述使用方法第三步骤中,也可采用负压使样品滤杯22内的液体通过滴液管223注入微孔杯10;在第六步骤中,因微孔孔腔下部的杯孔侧环壁与检测液的固液反应界面的斜面结构可使产生的发光光线有效汇聚,使检测仪器光电倍增管(PMT)探头接收到更多的固液界面的光信号,可实现检测灵敏度的提高。

[0048] 实施例二(微孔杯底面一体成型的反光体可采用其它结构替换)。

[0049] 如图6所示的一种发光免疫检测用集成试剂管,其与实施例一的区别在于:将实施例一中的球缺31替换成圆锥32、圆台33、棱锥34或棱台35之一;圆锥32、圆台33、棱锥34或棱台35在微孔杯10中均能增加固液界面,并且光检测时可把其上的光反射到微孔杯10杯孔12的侧壁上后汇聚,使检测仪器光电倍增管(PMT)探头接收到更多的固液界面的光信号;本

实施例中发光免疫检测用集成试剂管的样品过滤装置20同实施例一,本实施例的发光免疫检测用集成试剂管的使用方法同实施例一。

[0050] 实施例三(微孔杯的杯孔12侧环壁121上一体成型有若干四面体)。

[0051] 如图7所示,本实施例的样品过滤装置20同实施例一,本实施例的微孔杯的杯孔12侧环壁121上一体成型有若干四面体36,这些四面体36增大了固液反应界面,且固液反应界面可被投射的光有效照射到并反射汇聚,使检测仪器光电倍增管(PMT)探头探测到的光信号增加,大大提高检测的灵敏度;本实施例的集成试剂管的使用方法同实施例一。

[0052] 实施例四(微孔杯采用通用标准的圆孔的微孔管)。

[0053] 如图8所示,本实施例的样品过滤装置20同实施例一,而微孔杯10的微孔孔腔为一圆孔的通用微孔管13;本实施例的集成试剂管的使用方法同实施例一。

[0054] 以上各实施例仅供说明本发明之用,而非对本发明的限制,本技术领域的普通技术人员,在不脱离本发明的精神和范围的情况下,还可以作出各种变换或变化,因此,所有等同的技术方案也应该属于本发明的范畴,由各权利要求限定。

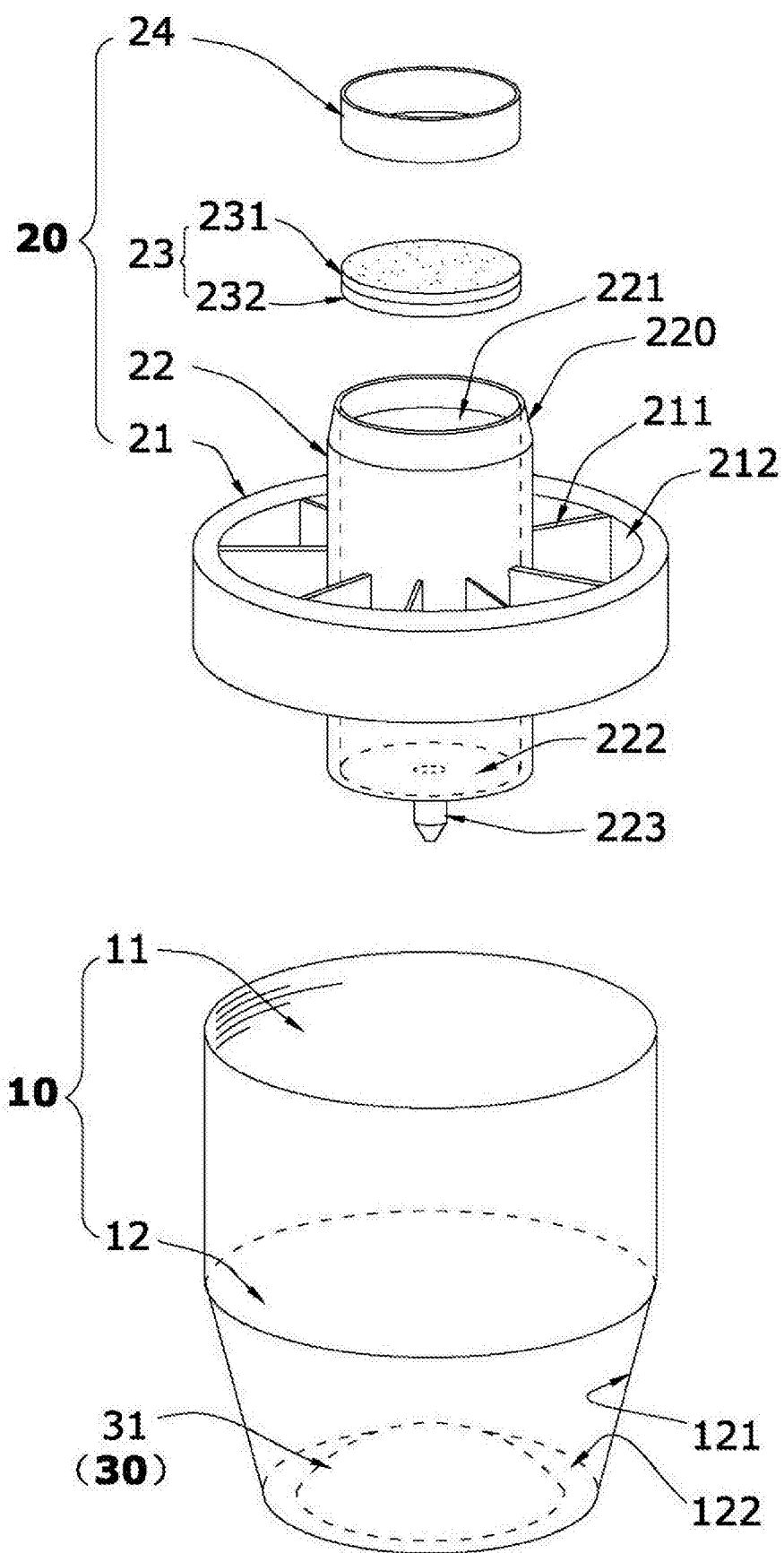


图 1

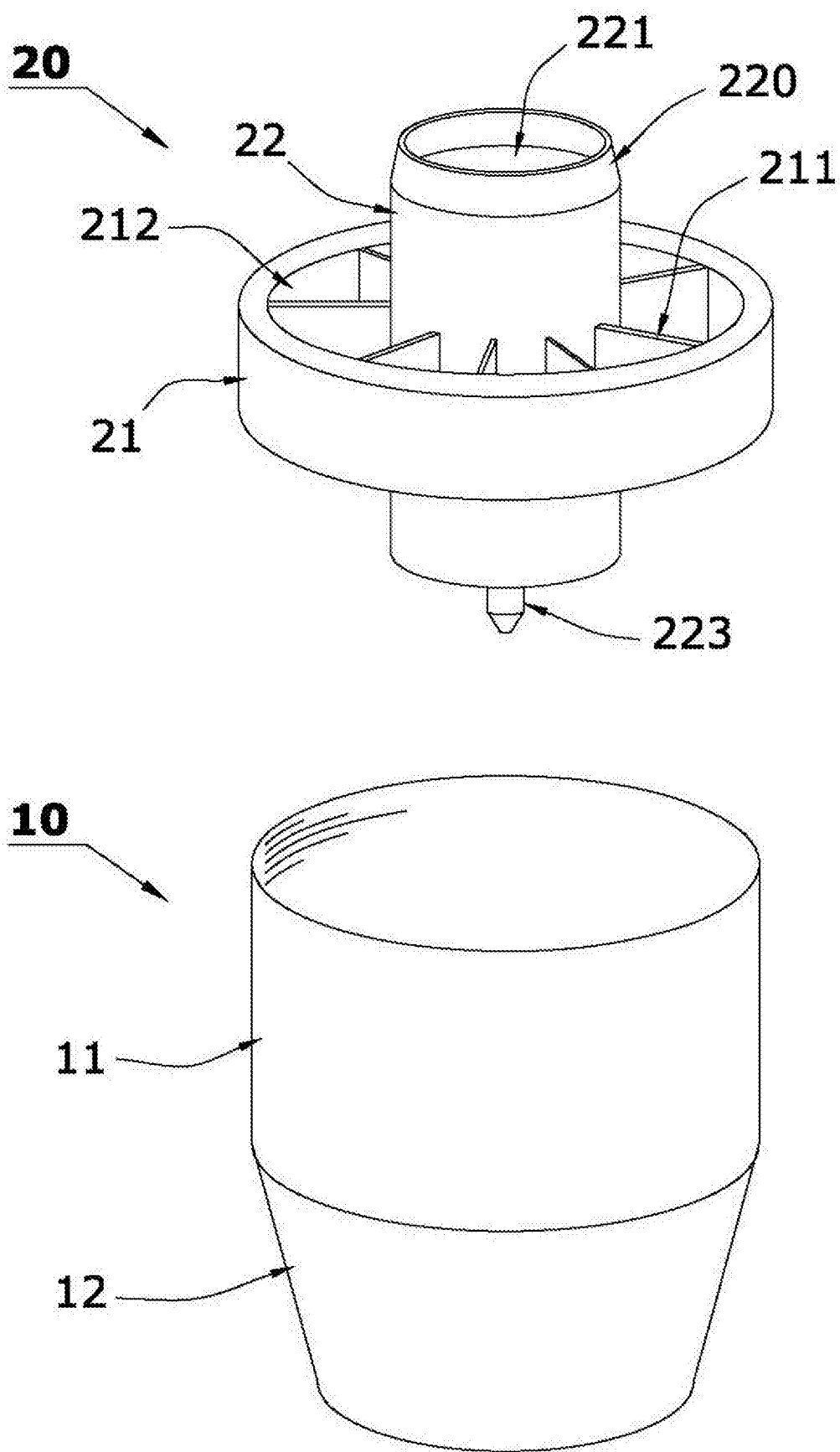


图2

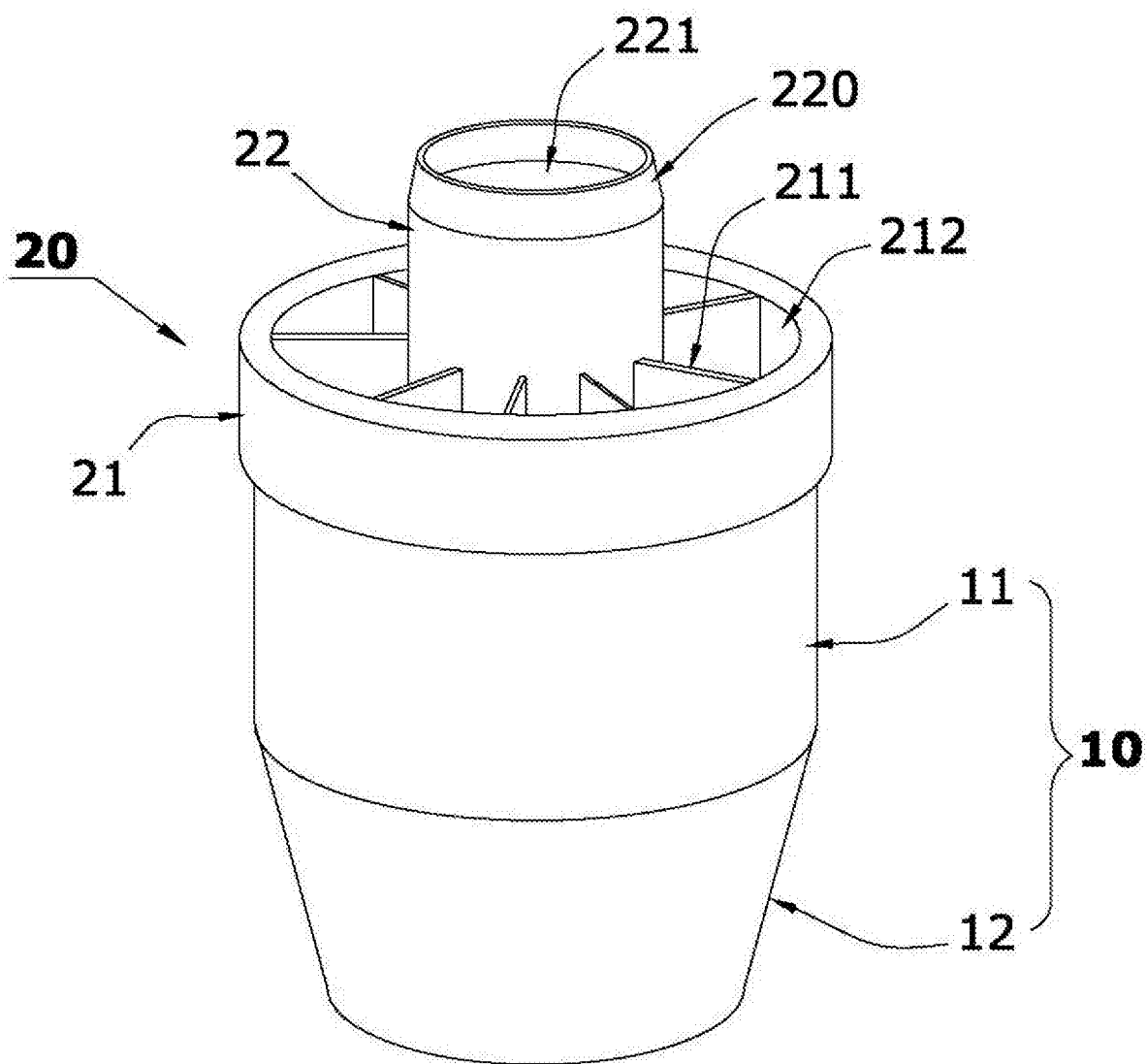


图3

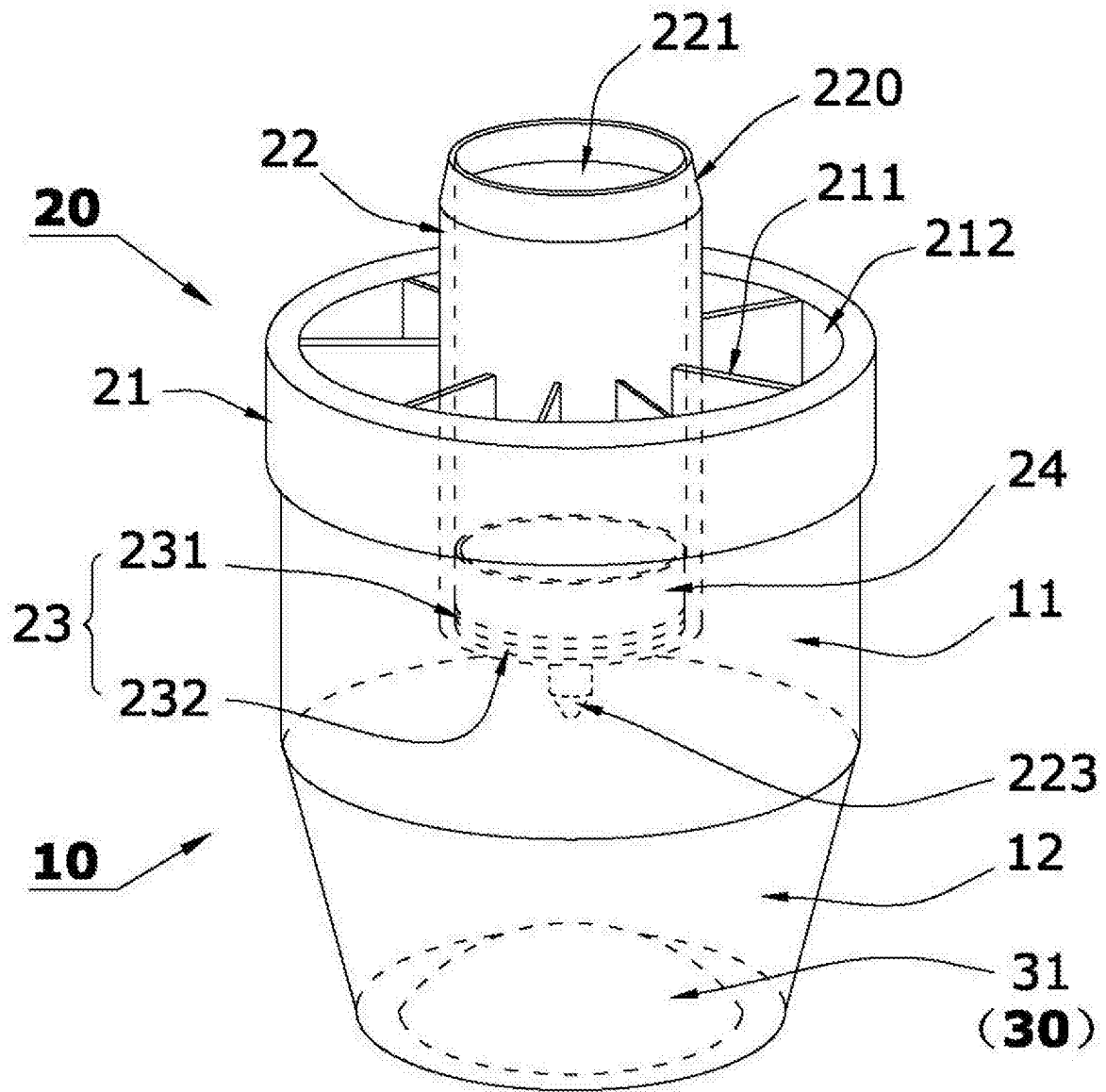


图4

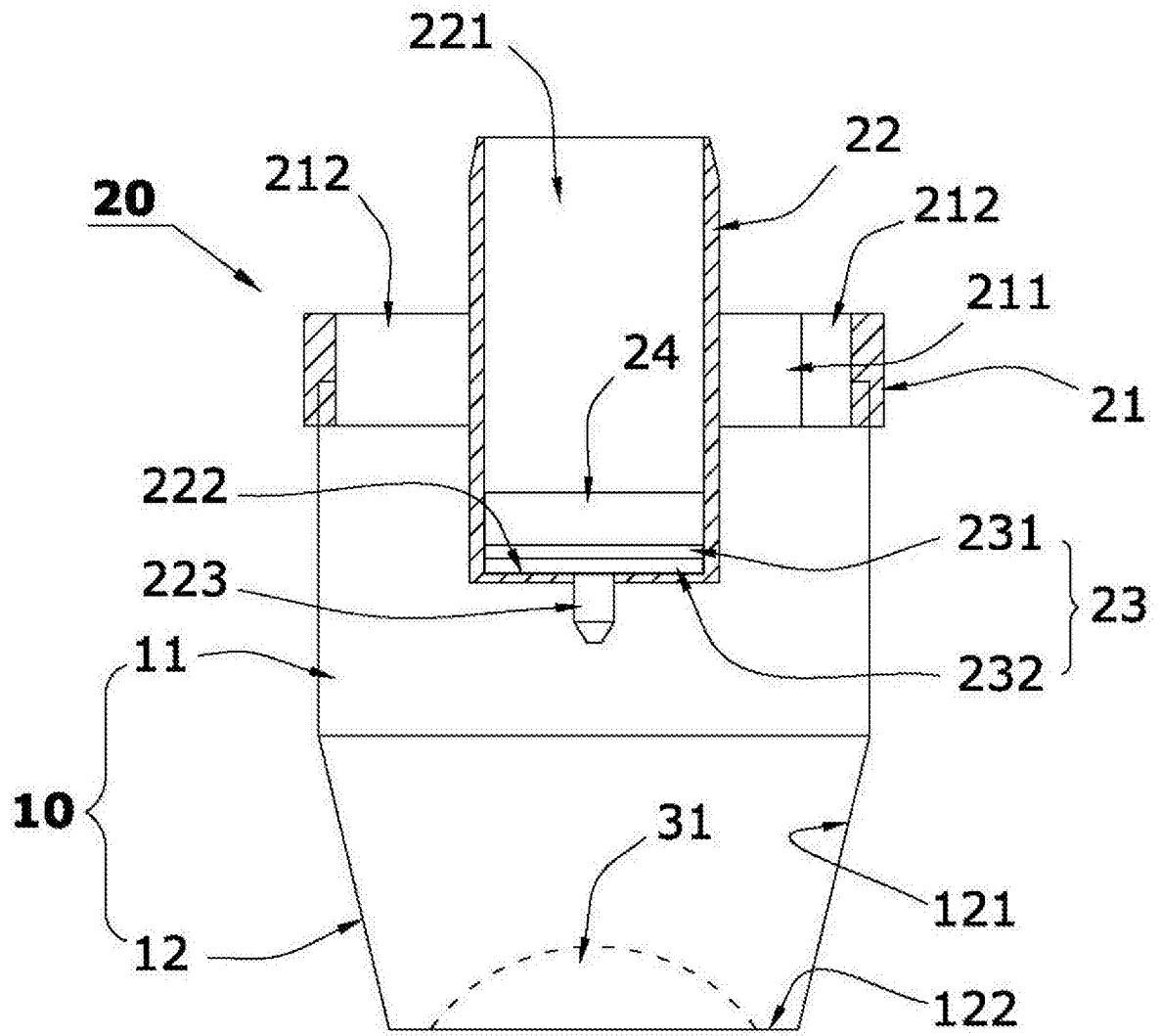


图5

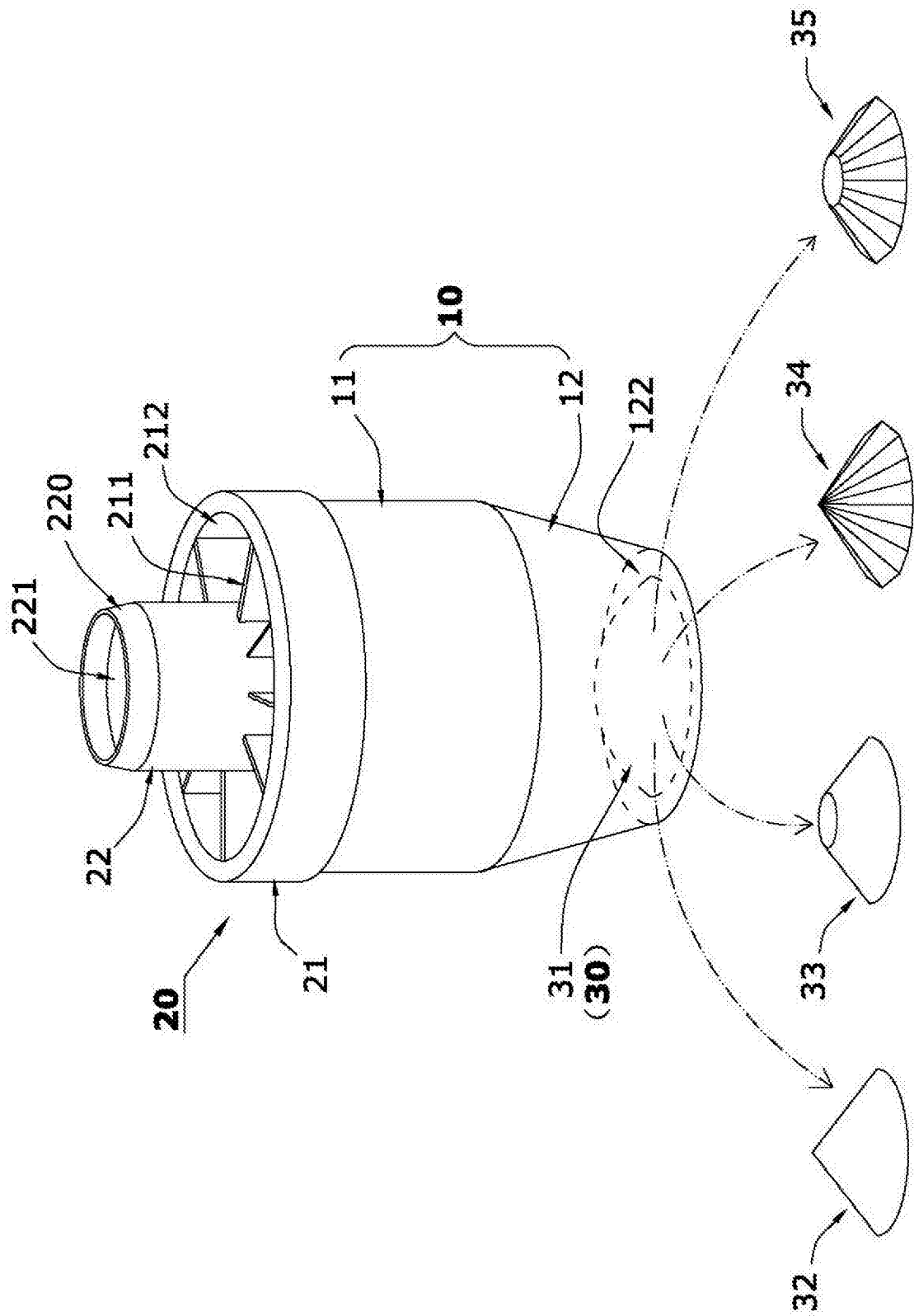


图6

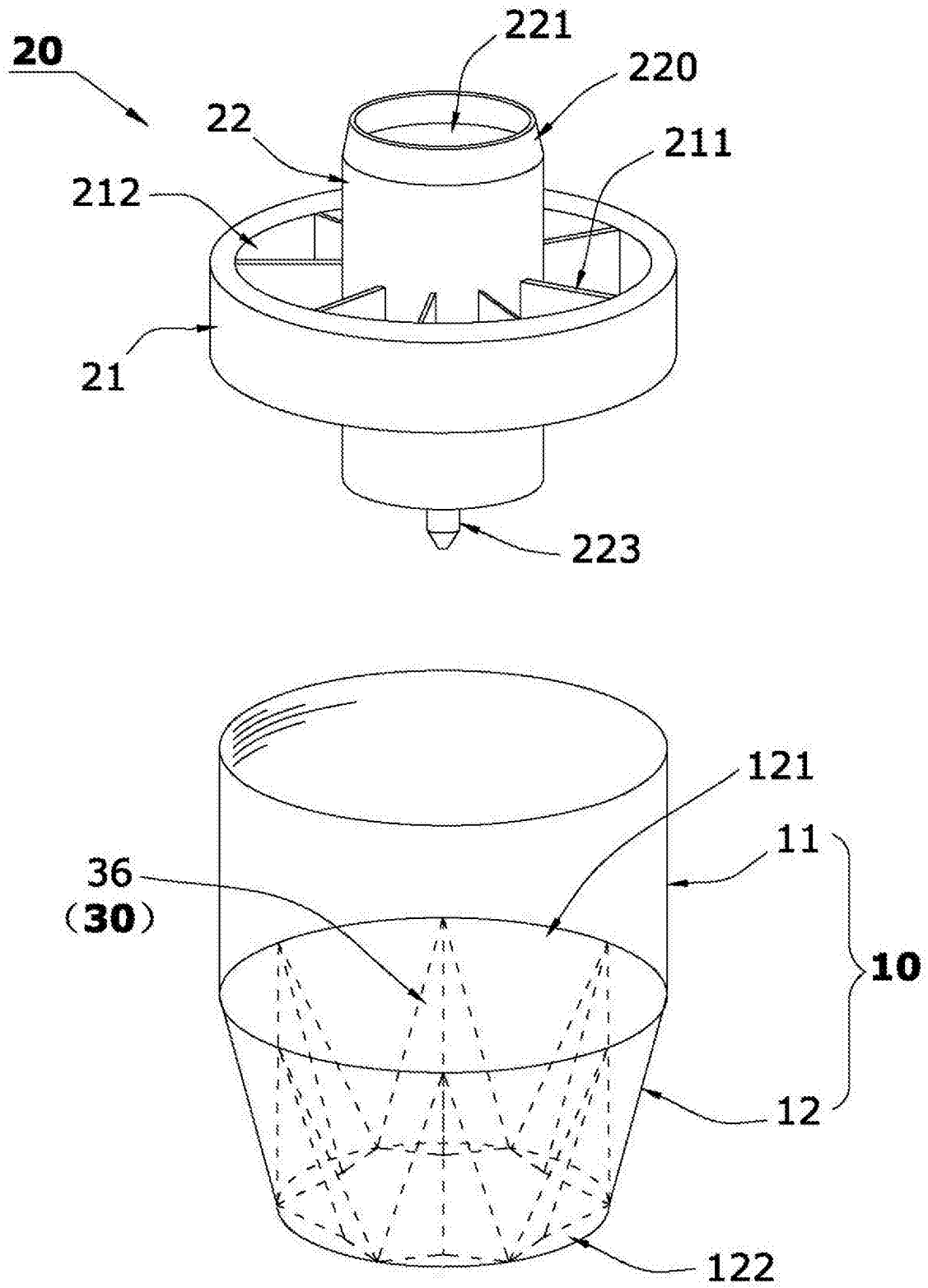


图7

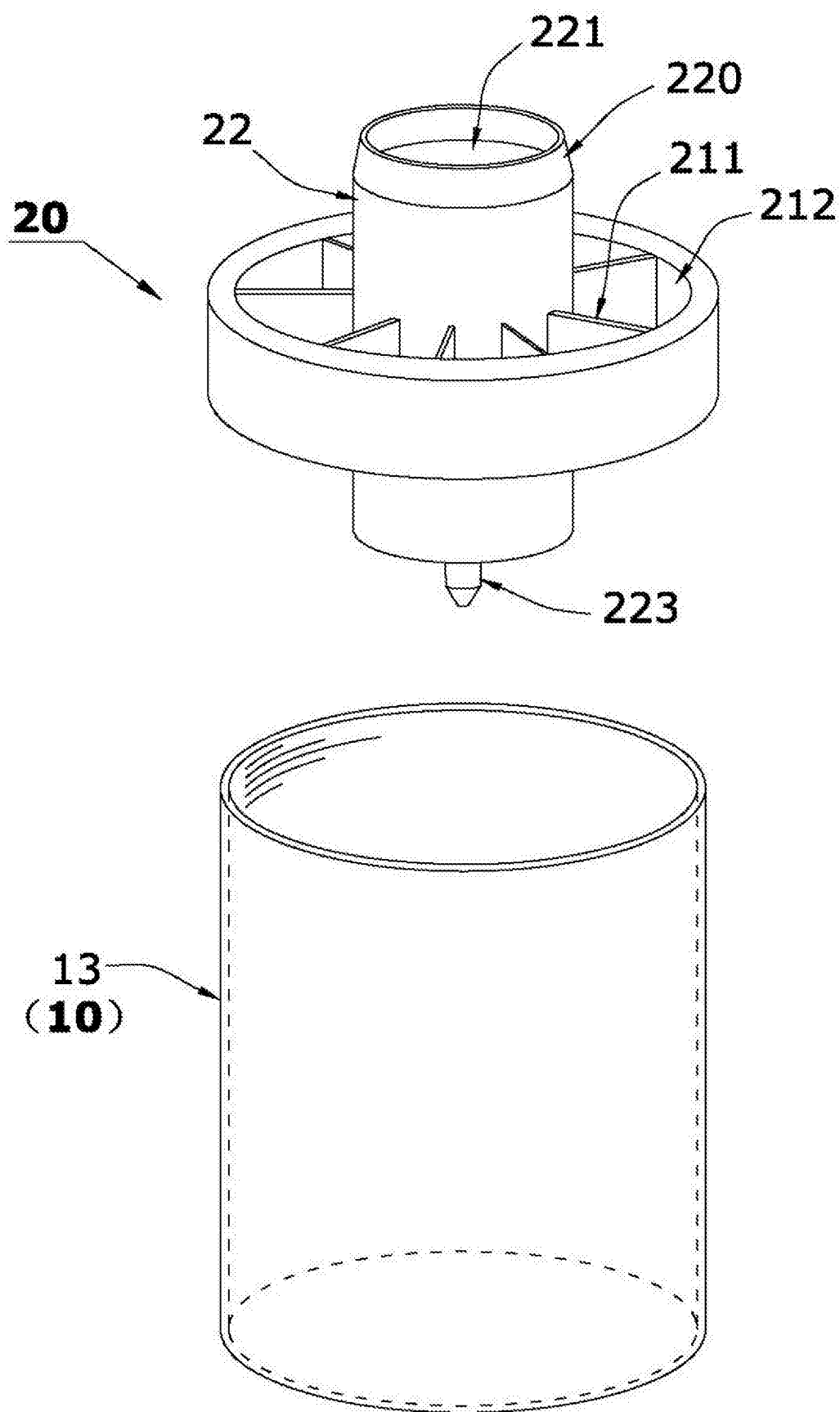


图8

专利名称(译)	一种发光免疫检测用集成试剂管及其使用方法		
公开(公告)号	CN105242036B	公开(公告)日	2016-08-17
申请号	CN201510643471.9	申请日	2015-10-08
[标]申请(专利权)人(译)	徐恩良		
申请(专利权)人(译)	徐恩良		
当前申请(专利权)人(译)	徐恩良		
[标]发明人	徐恩良		
发明人	徐恩良		
IPC分类号	G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/53		
代理人(译)	徐东峰		
其他公开文献	CN105242036A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开一种发光免疫检测用集成试剂管及其使用方法，包括一微孔杯和一装接在微孔杯杯口的样品过滤装置，样品过滤装置包括一与微孔杯杯口拆装配合的套接件，一固定在套接件上的塑料制样品滤杯悬置在微孔杯内的上半部，样品滤杯的杯腔底面上固定有自上而下由样品滤膜和标记物膜层叠构成的一结合膜；待测物通过样品过滤装置初始反应后滴入预先固相的微孔杯再反应得到发光免疫检测用目标物反应链；在集成试剂管内可完成全血处理、进样、免疫反应、洗涤、发光反应与测定相对发光单位等检测过程，免去检测时添加试剂标记物、固相物的过程，检测时间缩短；适合对全血、血清、血浆及其他体液中目标免疫分子定性、定量的即时检测。

