



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105717294 A

(43) 申请公布日 2016.06.29

(21) 申请号 201510946924.5

G01N 33/532(2006.01)

(22) 申请日 2015.12.16

(30) 优先权数据

1462481 2014.12.16 FR

(71) 申请人 生物梅里埃公司

地址 法国迈合西-兰托阿喇

(72) 发明人 H·布赖恩德 A·杜拉福格·科隆博

(74) 专利代理机构 隆天知识产权代理有限公司

72003

代理人 付文川 王芝艳

(51) Int. Cl.

G01N 33/577(2006.01)

G01N 30/02(2006.01)

G01N 33/569(2006.01)

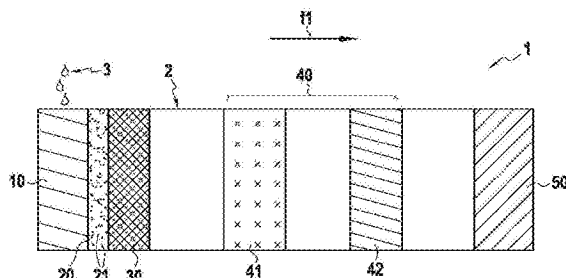
权利要求书2页 说明书14页 附图1页

(54) 发明名称

使用粪便或来自粪便的液体样品采用活性炭预处理而确定微生物存在的方法及相关装置

(57) 摘要

本发明涉及一种使用粪便或来自粪便的液体样品采用活性炭预处理而确定微生物存在的方法及相关装置,其特征在于该方法包括以下操作: - 提供一种来自患者的液体粪便样品或获得自所述患者的粪便的液体样品,称为液体样品, - 用活性炭预处理该液体样品, - 通过免疫色谱法,在获得的该经预处理的液体样品中检测靶微生物的至少一种抗原的可能存在,从而得出关于在所述患者中该靶微生物的存在或不存在的结论,并且本发明还涉及一种装置(1),该装置用于通过免疫色谱法检测液体样品(3)中靶微生物的抗原,包括用于用活性炭(21)进行纯化的区(20)。



1. 用于使用来自患者的粪便样品确定在所述患者中靶微生物的存在的方法,其特征在于该方法包括以下操作:

-提供一种来自所述患者的液体粪便样品或获得自所述患者的粪便的液体样品,称为液体样品,

-用活性炭预处理该液体样品,

-通过免疫色谱法,也称为侧流免疫测定,使用包括样品施加区、标记区和反应区的免疫色谱装置,使用获得的该经预处理的液体样品,来检测该靶微生物的至少一种抗原的可能存在,从而得出关于在所述患者中该靶微生物的存在或不存在的结论。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于这种用活性炭进行的预处理包括使该液体样品与活性炭接触并且分离由此获得的液体样品和活性炭。

3. 根据权利要求1或2所述的方法,其特征在于它包括制备来自所述患者的所述粪便的粪便的液体样品,并且其特征在于这种用活性炭进行的预处理是在该液体样品的该制备过程中通过以下方式进行的:将这些粪便、液体稀释剂和该活性炭混合,随后分离,从而使得回收不含粪便或活性炭的该液体样品成为可能。

4. 根据权利要求1或2所述的方法,其特征在于该预处理是通过以下方式进行的:将该液体样品与活性炭进行混合,随后分离,从而使得回收不含活性炭的该液体样品成为可能。

5. 根据权利要求1至4中任一项所述的方法,其特征在于该分离是通过过滤进行的。

6. 根据权利要求1至5中任一项所述的方法,其特征在于该预处理是通过以下方式进行的:使该液体样品经过放置于样品取样装置中或该免疫色谱装置中的活性炭。

7. 根据权利要求1至6中任一项所述的方法,其特征在于该液体样品包含一种稀释剂,该稀释剂包含缓冲液、变性填料蛋白以及洗涤剂。

8. 根据权利要求1至7中任一项所述的方法,其特征在于该微生物选自病毒、细菌和寄生生物,并且优选是轮状病毒、腺病毒,或优先是诺如病毒。

9. 根据权利要求1至8中任一项所述的方法,其特征在于该检测是由检测该感兴趣微生物的至少一种抗原与用于结合至所述至少一种抗原的至少一种配偶体之间的相互作用组成,所述结合配偶体优选是抗体或抗体片段。

10. 用于检测液体样品(3)中靶微生物的至少一种抗原的装置(I,1),该装置包括:

a)支持物(100),

b) 附接至该支持物(100)的多孔扩散介质(2,200),该多孔扩散介质允许该液体样品(3)的迁移,所述扩散介质(2,200)包括:

(i)液体样品(3)施加区(10,300),

(ii)纯化区(20,300),该纯化区包括活性炭(21,301),

(iii)标记区(30,500),该标记区包括至少一种标记的第一结合配偶体,所述第一结合配偶体能够结合至有待检测的微生物的所述至少一种抗原,如果所述至少一种抗原存在于该液体样品中,则形成第一结合配偶体/抗原复合物,以及

(iv)至少一个反应区(40,800),该至少一个反应区包括:

可视化区(41,600),用于可视化检测结果,该可视化区包括固定在该扩散介质上的至少一种第二结合配偶体,该至少一种第二结合配偶体能够结合至所述第一结合配偶体/抗原复合物,

迁移控制区(42,700),该迁移控制区使得控制该装置的正确运行成为可能,位于该可视化区(41,600)的下游,

所述施加区(10,300)、纯化区(20,300)、标记区(30,500)和反应(40,800)区处于连通从而允许该液体的扩散。

11.根据权利要求10所述的装置(I,1),其特征在于该第一结合配偶体和第二结合配偶体是抗体或抗体片段,和/或该扩散介质是纤维材料,特别是由基于纤维素的纤维或由玻璃纤维制成。

12.根据权利要求1至9中任一项所述的方法,其特征在于它使用根据权利要求10或11所述的装置(I)。

## 使用粪便或来自粪便的液体样品采用活性炭预处理而确定微生物存在的方法及相关装置

### 技术领域

[0001] 本发明涉及免疫测定的技术领域,并且特别是用于检测存在于患者中的病原体的免疫测定,所述病原体的存在可以使用所述患者的粪便来证实。更确切地,本发明涉及一种用于在患者粪便的或获得自患者粪便的液体样品中检测微生物的至少一种抗原的方法,并且还涉及一种用于免疫色谱法检测的、适合于执行这种方法的装置。

### 背景技术

[0002] 腹泻代表了全世界范围内的一个主要健康问题。在发达国家,肠胃炎的经济影响是显著的,并且用于对其治疗所产生的医疗费用代表了非常高的财政支出。这些感染是显著发病率的致因,并且代表了医疗咨询的主要原因之一。在贫困国家,非常频繁的肠胃炎一整年都持续存在,引起非常高的死亡率。不具有获得饮用水途径的人群是最严重地受到这种疾病的感染的。

[0003] 造成肠胃炎的因子可以是细菌、病毒或寄生性病原体。通过对此类病原体举例的方式,可以提及以下微生物:艰难梭菌、沙门氏菌属、志贺菌属、轮状病毒、诺如病毒、腺病毒、痢疾阿米巴(*Entamoeba histolytica*)。

[0004] 诺如病毒,特别对环境因子有抗性,日益频繁地牵涉在腹泻的发作中。该病毒刚好在工业化国家中如在发展中国家中存在地一样多,并且涉及影响所有人群部分的肠胃炎流行病。根据由M.M.帕特尔(Patel)进行的文献研究(Patel Mm.,等人,诺如病毒在散发性肠胃炎中的作用的系统文献综述(Systematic literature review of role of norovirus in sporadic gastroenteritis).新兴传染病(Emerg Infect Dis.)2008年8月;14(8):1224-31),对于900000个医学问诊,诺如病毒显现在生活于工业化国家中的五岁之下的儿童中是致因,并且不少于64000个病例显现需要住院治疗。在发展中国家,一百万个儿童显现受到影响,并且死亡数目是在每年200000例死亡左右。在住院治疗的五岁之下的儿童中,它是涉及肠胃病的居于轮状病毒之后的第二大常见致病因子(洛罗(Lorrot)M.,等人,住院治疗儿童中肠胃病的流行病学和临床特征:在法国巴黎医院中2年期间的前瞻调查(Epidemiology and clinical features of gastroenteritis in hospitalised children:prospective survey during 2-years period in a Parisian hospital, France).欧洲临床微生物感染疾病杂志(Eur J Clin Microbiol Infect Dis.)2011年3月;30(3):361-8.)。

[0005] 因此,如果存在肠胃病的体征,有必要进行使得有可能鉴别一种或多种致病因子的测试,从而快速提供适当的医疗响应。造成肠胃病的因子常常是经由粪便传播的。

[0006] 由于症状仅持续几天,没有兴趣去寻找抗体,因为免疫应答太晚。为了进行常规诊断,提出了基于寻找粪便样本中的病毒和/或至少一种代表病毒存在的分析物的免疫色谱技术(也称为侧流免疫测定技术)。这些技术易于执行,同时给出了快速回答:结果可以在执行测定方案15分钟后知道。由K.安贝特(Ambert)-巴莱(Balay)和P.波蒂埃(Pothier)在

2012年11月进行的研究呈现了在诺和病毒的情况下,关于可在市场获得的免疫色谱测试的现有技术:“对用于快速检测粪便样品中诺和病毒的4个免疫色谱测试的评价(Evaluation of 4immunochromatographic tests for rapid detection of norovirus in faecal samples)”.临床病毒学(Clin.ViroI)2013年3月;56(3):194-8。对于在此公开物中报道的各种商业测试的灵敏度结果在下文重现:

[0007]

	里达 (RIDA) © QUICK	免疫卡 (Immunocard) STAT©	诺如托普 (NOROTOP) ©	比奥立 (SD BIOLINE)
灵敏度 研究结果, 基 因群I + 基因群 II响应	52%	35%	51%	41%

[0008] 这些结果显示,可商购的免疫色谱测试在寻找诺和病毒方面的灵敏度是低的。

[0009] 粪便是非常复杂的介质,其包括肠道菌群的共生菌、上皮细胞、来自消化的残渣等的存在。为了尝试改进检测灵敏度,这需要在测试之前处理粪便样品,目的在于检测与腹泻相关的一种或多种病原体,这是为了保持存在于粪便中的可能会干扰其检测的化合物。

[0010] 迄今使用的方法在于在检测步骤之前进行离心,任选地与采用碳对粪便样品进行预处理相组合,如丹尼希(Dennehy),P.H.等人,1994在临床微生物学杂志(Journal of Clinical Microbiology),32(3):825-827中描述的,采用了VIDAS®轮状病毒测定,其中该离心步骤是必须的。由于使用了离心和受训实验人员,该方法因此不适用于由医学检验实验室之外的人员如医师、护士、儿科医师或在养老院或老年人中心的职员处理,特别是使用免疫色谱装置的那些。另外,即使具有有资质的人员,离心仍是一个花费金钱和耗时的步骤。当发生时,由于肠胃炎是短持续时长的现象,重要的是能够尽可能快地采取行动以便检测造成病理状况的一种或多种病原体,一方面是为了尽可能快地提供适当的治疗反应,并且另一方面是为了避免人类之间的污染。事实上,这些病原体是很容易传播的,由此在高度密集居住地例如养老院、老年人中心、苗圃等中引发污染问题。

## 发明内容

[0011] 在此背景下,出乎意料地,本发明提供了使得简化对微生物的至少一种抗原的检测、并且因此适用于检测患者粪便中所述抗原的存在成为可能的一种方法和一种装置,从而使得有可能快速地且不需要昂贵和限制性的离心设备而得出关于所述患者是否感染了造成肠胃炎的病原体的结论,同时保证了令人满意的灵敏度。

[0012] 本发明涉及一种用于使用来自患者的粪便样品确定在所述患者中靶微生物的存在的方法,其特征在于该方法包括以下操作:

[0013] -提供一种来自所述患者的液体粪便样品或获得自所述患者的粪便的液体样品,

称为液体样品，

[0014] 用活性炭预处理该液体样品，

[0015] 通过免疫色谱法，也称为侧流免疫测定，使用包括样品施加区、标记区和反应区的免疫色谱装置，使用获得的该经预处理的液体样品，来检测该靶微生物的至少一种抗原的可能存在，从而得出关于在所述患者中该靶微生物的存在或不存在的结论。

### 附图说明

[0016] 图1是根据本发明的检测装置的实例的俯视图示。

[0017] 图2A是根据现有技术的检测装置的透视图示，并且图2B是根据本发明的检测装置的实例的透视图示。

### 具体实施方式

[0018] 在本发明的背景下，已经无意间证实，使活性炭直接接触患者粪便的液体样品或接触获得自患者粪便的液体样品，使得有可能化解天然存在于样品中的化合物的干扰，出乎意料地不需要限制性的离心步骤，由此有利于随后经由对靶微生物的一种或多种抗原的检测而进行的免疫色谱法分析。这是非常重要的，以便能够受益于免疫色谱法分析(描述为快速测试)的所有优点，同时因此需要最少的人和技术限制并且使得分析物适用于所有实际条件。本发明因此使得在患者中检测靶微生物的感染成为可能，所述靶微生物的抗原在感染的情况下是在所述患者的粪便中。

[0019] 术语“液体粪便样品”指在当所述粪便是充分地液体状时直接表示患者的粪便。

[0020] 术语“获得自粪便的液体样品”旨在表示包含患者粪便和液体稀释剂(特别是稀释缓冲液)的液体样品，或从患者粪便和液体稀释剂(并且特别是稀释缓冲液)获得的去除粪便后的液体样品。在这种情况下，粪便是放置于液体稀释剂(特别是稀释缓冲液)中，由此使得有可能从粪便中提取可能存在的微生物、有待检测的靶微生物的抗原以及随后使得有可能表征获得的液体样品中靶微生物的一种或多种抗原的存在或不存在的其他组分，并且因此从而得出关于作为粪便来源的患者中所述微生物的存在或不存在的结论。粪便量/体积稀释缓冲液优选是从5至50mg/mL稀释缓冲液，更优选是从10至30mg/mL，更优选是从14至17mg/mL，15和16mg/mL是优选的。

[0021] 存在于液体样品中的稀释缓冲液大体上包含缓冲碱、变性填料蛋白和洗涤剂。通过对缓冲碱举例的方式，可以提及的是磷酸盐缓冲液以及tris-HCl缓冲液。通过对变性填料蛋白举例的方式，可以提及的是酪蛋白、卵白蛋白和牛血清白蛋白。通过对洗涤剂举例的方式，可以提及的是离子型洗涤剂，例如曲通(Triton)<sup>™</sup> X100和吐温(Tween)<sup>®</sup> 20。

[0022] 因此根据本发明的方法将包括通过将粪便掺入液体稀释剂中而从粪便制备液体样品，该液体稀释剂特别是稀释缓冲液、并且优选是如上所述的稀释缓冲液，并且该样品优先具有前述的粪便量/体积稀释缓冲液。根据使用的预处理方法在用活性炭预处理液体样品之后、之前或过程中，通常会将粪便从液体样品中去除。

[0023] 在以下文本中，术语“液体样品”将指代液体粪便样品和获得自所述患者粪便的液体样品两者。液体样品包含待检测的靶微生物的至少一种抗原。

[0024] 使得有可能得出关于靶微生物是否存在于所述液体样品中的结论的液体样品表

征是通过检测所述微生物的一种或多种抗原的存在进行的,并且因而使得有可能得出关于该靶微生物的所述抗原是否存在于所述粪便中的结论,并且因此得出关于作为所述粪便来源的患者是否被靶微生物污染的结论。该靶微生物本身可以存在或可以不存在于粪便中,并因此可以存在或可以不存在于液体样品中。这是不太重要的,因为搜寻的信息是该微生物是否存在于患者中,并且为此搜寻该靶微生物的至少一种抗原的存在。

[0025] 在本发明的背景中,检测涉及该靶微生物的至少一种抗原。所述至少一种抗原可以是分泌进入粪便中的蛋白质(“游离”抗原)或可以是存在于微生物结构中的抗原,特别是微生物的表面抗原。所述抗原可以是蛋白质、糖(多糖)或脂多糖。是否检测到处于靶微生物的结构中的游离抗原或抗原,如果是阳性检测,结论将是该患者感染了靶微生物,并且反之,如果是阴性检测,结论将是该患者未感染靶微生物。

[0026] 靶微生物的抗原可以直接可用于检测:特别而言,这是当它们由微生物分泌时或如果它们在所述微生物的表面的情况。如果一种或多种靶抗原不是直接可用于检测(胞内抗原,特别是在细菌的情况下),用于使得靶微生物的抗原可用于检测的预备步骤可以根据本领域技术人员熟知的技术应用于液体样品或在其制备期间应用,并且常常对于每个靶抗原是特异性的。这一预备步骤将通常在用活性炭预处理之前进行,但也有可能与采用活性炭预处理同时进行该步骤。例如,艰难梭菌毒素A和B的提取几乎仅需要在PBS型缓冲液中进行稀释,而烟曲霉半乳糖甘露聚糖的提取则需要EDTA的存在下进行螯合的步骤,随后通过在95°C加热5min进行变性。取决于靶抗原和产生该抗原的微生物的结构复杂性,本领域技术人员将会组合洗涤剂、变性剂、离液剂以及任选地物理手段(加热、机械作用,例如研磨),以便破坏微生物的结构并且使得靶抗原可用于检测,照顾好以保持其免疫反应性。在检测病毒的情况下,表面抗原将是直接可获得的,并且因此这种预备步骤将不是通常必需的。

[0027] 活性炭,也称为活化炭,是多孔的无定形碳,主要由碳原子组成,并且具有非常大的比表面积,赋予其强的吸附能力。此类碳通常是在高温碳化步骤之后获得的。

[0028] 在本发明的背景下,采用活性炭预处理使得有可能吸收液体样品中包含的干扰因子,目的在于随后对粪便样品的分析,特别是通过免疫色谱法。采用活性炭预处理使得有可能使得有待检测的抗原的表位更易于由检测过程中使用的结合配偶体获得。在根据本发明的方法中检测所述至少一种抗原的步骤是通过免疫色谱法(也称为侧流免疫测定)进行的。侧流免疫测定类型的测试也称为快速测试,并且常常使用放置于盒中的条带形式的装置。这些装置包括样品施加区、标记区和反应区,如下所述。关于对可以用于本发明背景中的这些类型的方法和装置的进一步细节,可以特别参考申请WO 2004/003559、WO 2006/092103、WO 2007/081330、US 2004/0161859、WO 2012/172232和WO 2008/018073。这些快速测试最常见地是在没有洗涤步骤的情况下进行的,与在微板上进行免疫测定或使用由申请人销售的VIDAS®装置进行免疫测定的情况下所做的相反。因此在本发明的背景中提出的采用活性炭预处理对此类侧流免疫测定方法和装置的诊断性能水平具有更大的影响。

[0029] 通常,采用活性炭预处理包括使液体样品与活性炭接触,并且将活性炭和液体样品分离。使液体样品与活性炭接触可以简单地执行,例如通过将液体样品与活性炭混合或通过使液体样品经过活性炭。该接触将必须足以允许活性炭发挥其作用并且去除能够干扰后续检测的因子。

[0030] 在本发明的背景下,液体样品的预处理优选是以从3至30g活性炭/l液体样品的量进行,该量优选是从6至18g/l,更优选从8.4至10.2g/ml,从9至9.6g/ml的范围是优选的。

[0031] 在预处理后,有利地,将活性炭与液体样品分离。这种分离可以特别是通过过滤进行,不需要任何离心步骤。该分离可以与接触同时进行,特别是当将活性炭直接放置于液体样品将经过的过滤系统上时。

[0032] 预处理可以在获得液体样品的过程中进行。在此情况下,根据本发明的方法还包括制备液体样品,并且采用活性炭预处理是直接在液体样品上在其制备期间通过以下方式进行:将粪便、液体稀释剂(特别是对应于上述说明的稀释缓冲液)以及活性炭混合,随后进行分离以使得回收液体样品成为可能。使用的活性炭可以处于在液体稀释剂(特别对应于稀释缓冲液的上述说明)中的悬浮液形式,并且然后将直接与如从患者获得的粪便混合。因此在分离后获得的液体样品不再包含任何粪便,也不再包含任何活性炭。该分离可以通过过滤进行,特别是通过放置于取样装置中的过滤器。

[0033] 预处理也可以通过以下方式进行:将液体样品与活性炭混合,随后分离,从而使得回收液体样品成为可能。再次,掺入液体样品中的活性炭可以处于在液体稀释剂(特别对应于稀释缓冲液的上述说明)中的悬浮液的形式。因此在分离之后获得的液体样品不再包含任何活性炭。该分离可以通过过滤进行,特别是通过放置于取样装置中的或直接在免疫测定装置(并且特别是侧流免疫测定装置)的施加区水平处的过滤器进行。

[0034] 该预处理还可以通过使液体样品经过活性炭来进行。在这种情况下,有可能设想使液体样品经过放置于取样装置中的活性炭或直接经过放置于免疫测定装置(例如侧流免疫测定装置)上的活性炭,如下文详细描述。在两种情况中,活性炭将被保持和/或固定在装置(取样或免疫测定装置)中,从而预防其被液体样品夹带,被夹带的话可妨碍后续的检测/可视化以及结果的读取。特别而言,有可能将活性炭的沉积物制作在过滤器上或免疫测定装置例如侧流免疫测定装置中使用的扩散介质的一部分上。这种沉积物可以通过将用包含悬浮活性炭的液体(例如上述稀释缓冲液)浸渍过滤器或扩散介质的一部分、随后进行干燥而获得。

[0035] 通常,不论液体样品与活性炭接触是在液体样品安置于免疫测定装置(例如侧流免疫测定装置)上之前发生还是直接在这种免疫测定装置上发生,安置在免疫测定装置中的液体样品将优选已经在其安置之前经历去除粪便的步骤。该步骤可以伴随活性炭的去除,如果使液体样品与活性炭接触是在安置液体样品于免疫测定装置上之前进行的话。

[0036] 活性炭可以处于活性炭颗粒或活性炭纤维的形式,并且特别是处于仅由活性炭组成的颗粒或纤维(无任何涂层)的形式。取决于进行的预处理的性质和进行此事项时的时间,活性炭颗粒或纤维可以处于溶液中的悬浮液,例如处于液体缓冲液或稀释剂中,或可以掺入天然的或合成的基于纤维素纤维或基于玻璃纤维的多孔材料例如非纺织型材料中。在活性炭颗粒插入免疫色谱法检测装置的扩散介质的一部分中时,该材料的组织将被调整为使得有可能保持活性炭,并且该碳将吸附干扰因子以及其他杂质,而同时允许有待检测的一种或多种抗原通过。

[0037] 通过举例,采用活性炭预处理是用粉末活性炭进行的。根据ASTM(美国材料试验协会)分类,粉末活性炭由其95%-100%均能够通过具有筛孔尺寸为80US筛目(即,大约177 $\mu$ m)(对应于80US筛目的粒度)的筛子的颗粒组成。使用的活性炭将优选具有从100至400US筛

目的粒度,更优选从140至270US筛目,并且更优选200US筛目。通过举例方式,可以提及的是诺芮特(Norit)® CN1活性炭,其粒度属于140至270US筛目的范围。

[0038] 活性炭颗粒的尺寸是通过根据本领域技术人员已知的技术进行筛分确定的。一种方案的实例描述于标准ASTM D2862-10“颗粒活性炭的粒度分布的标准测试方法”中。

[0039] 活性炭还可以处于具有从2至50微米直径的纤维的形式。

[0040] 使用的活性炭将优选具有大于 $500\text{m}^2/\text{g}$ ,优选大于 $1000\text{m}^2/\text{g}$ ,更优选大于 $1300\text{m}^2/\text{g}$ 的比表面积。通过举例方式,诺芮特® CN1活性炭具有 $1400\text{m}^2/\text{g}$ 的比表面积。

[0041] 活性炭还将能够吸附优选至少10g亚甲蓝(CAS No.61-73-4)(对于100g碳而言),优选至少20g/100g,更优选至少25g/100g。通过举例方式,诺芮特® Cn1活性炭能够吸附29g/100g。

[0042] 相比于现有技术,在根据本发明的方法中,采用活性炭预处理之后没有离心步骤,其中也不包括离心步骤。

[0043] 根据本发明的方法可以用于确定微生物是否存在于患者中,对于这种微生物它有可能是选自病毒、细菌和寄生生物,特别是艰难梭菌、沙门氏菌属、志贺菌属、轮状病毒、诺如病毒、腺病毒、或痢疾阿米巴类型,并且该方法特别适用于确定为非常小尺寸的病毒例如轮状病毒、腺病毒或诺如病毒的存在。

[0044] 杯状病毒科的诺和病毒属是无包膜病毒,其大小是在27和35纳米之间,具有二十面体衣壳和RNA基因组。由于其遗传多样性,诺如病毒分为多个基因群,并且然后分为多个基因型。蛋白质的测序已经使得有可能定义五个基因群(I至V),其中基因群I、II和IV感染人类。在对主要衣壳蛋白的氨基酸序列进行分析之后,今天已知基因群GI的8个基因型,以及基因群GII的多于17个基因群(郑(Zheng)D.等人,诺和病毒分类和提出的毒株命名法(Norovirus classification and proposed strain nomenclature).病毒学(Virology)2006年3月15日;346:312-323),并且由王(Wang)等人在中国武汉急性肠胃炎儿童和成人中诺和病毒的分子流行病学2007-2010.病毒学档案(Arch.ViroI.)2012年12月;157:2417-24中延伸到19个。由科学界采用的名称指示基因群GI或GII,随后是基因型GI.1、GII.4等。根据本发明的方法适用于确定所有这些基因型的存在。

[0045] 常规地,对液体样品中该靶微生物的至少一种抗原的检测将由通过免疫测定进行的检测组成,该免疫测定测定的是感兴趣微生物的至少一种抗原与抗原结合配偶体(例如抗体或抗体片段)的相互作用。优选地,该抗体或抗体片段将对待检测的抗原是特异性的。有可能使用一种单克隆或多克隆抗体或若干种单克隆抗体。这些抗体将根据本领域技术人员熟知的技术获得。

[0046] 当然,例如在术语“免疫测定”中的前缀“免疫”在本申请中不应当被认为严格指示该结合配偶体必需是免疫来源的配偶体,如抗体或抗体片段。事实上,如本领域技术人员熟知的,该术语更广泛地用于表示以下测定和方法,在这些测定和方法中结合配偶体不是免疫来源/性质的配偶体,而是例如由希望检测和/或定量的分析物的受体组成。要求是,涉及的结合配偶体能够(优选特异性地)结合至所搜寻的分析物。因此,已知的实践是参考针对使用了结合配偶体的测定的ELISA测定,这些结合配偶体从严格意义上不是免疫性的,该ELISA测定更广泛地称为“配体结合测定”,尽管术语“免疫”完整地包含于与首字母缩略词

ELISA对应的名称中。为了利于清晰和统一，术语“免疫”用于本申请中表示任何使用了至少一种结合配偶体的生物学分析，该至少一种结合配偶体适用于(优选特异性地)结合至搜寻的分析物并且适用于检测和/或定量后者，甚至当所述结合配偶体在严格意义上不具有免疫学性质或来源时。

[0047] 不具有免疫学性质或来源的结合配偶体的实例包括纳米装配体(nanofitin)、感兴趣抗原的受体、适配子、DARPin或任何其他已知与感兴趣抗原具有相互作用的分子。

[0048] 纳米装配体(商品名)是小的蛋白质，类似于抗体，能够结合至生物靶标，由此使得有可能检测、捕获该生物靶标，或非常简单地在有机体内靶向该生物靶标。

[0049] 适配子是寡核苷酸，通常为RNA或DNA，是在包含高达 $10^{15}$ 个不同序列的文库中通过体外选择的组合方法(称为SELEX，指数富集配体系统进化法)鉴别得出(埃林顿(Ellington)AD和绍斯塔克(Szostak)JW.，1990，自然(Nature)，346:818-822)。大多数适配子是由RNA构成，因为RNA具有采用不同且复杂结构的能力，由此使得它有可能在其表面创建不同几何体的腔，而使得它有可能附接不同的配体。它们是感兴趣的可以用于生物技术、诊断或治疗应用中的生物化学工具。它们的选择性和它们的配体-结合特性与抗体的那些是可比的。

[0050] “DARPin”，即设计的锚蛋白重复序列蛋白(布尔斯马(Boersma)YL和普鲁克桑(Piutckthun)A，2011，当前生物技术观点(Curr.Opin.Biotechnol)，22:849-857)，是另一类使得有可能模仿抗体并且能够以高亲和力和高选择性结合靶蛋白的蛋白。它们衍生自锚蛋白家族，所述锚蛋白是可适应的蛋白质，使其有可能与构成细胞质膜“骨架”的血影蛋白/肌动蛋白网络成一体化的膜蛋白进行结合。锚蛋白的结构是基于大约33个氨基酸的基序的重复，然后它才是真的DARPin。每个基序具有螺旋-转角-螺旋类型的二级结构。DARPin包含至少三个、优选四至五个重复基序，并且是通过筛选组合文库获得。

[0051] 通过免疫测定对所述感兴趣的至少一种抗原的检测将优选是通过夹层式检测进行的，该夹层式检测是本领域技术人员广泛已知的技术并且使用两种分析物-结合配偶体。两种配偶体中的一种可以偶联至标签从而形成轭合物或示踪物。另一种结合配偶体可以被捕获在固体支持物上。然后术语“捕获配偶体”用于后者，并且术语“检测配偶体”用于前者。

[0052] 然后，在免疫测定期间测量的发射信号与生物样品的分析物的量成比例。

[0053] 术语“标签”旨在特别表示任何包含与结合配偶体的基团具有反应性的基团的分子，该反应性直接地在没有化学修饰的情况下，或在用以包括这种基团的化学修饰后；所述分子能够直接或间接地产生可检测信号。这些直接检测标签的非限制性清单由以下项组成：

[0054] • 产生可检测信号的酶，例如通过比色法、荧光、或冷光法检测，例如辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 $\beta$ -半乳糖苷酶或葡萄糖-6-磷酸脱氢酶，

[0055] • 发色团，例如荧光、冷光或染料化合物，

[0056] • 放射性分子，例如 $^{32}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$ 或 $^{125}\text{I}$ ，

[0057] • 荧光分子，例如亚历克萨(Alexa)或藻青蛋白，以及

[0058] • 电化学发光盐，例如基于吖啶鎓(acridinium)的或基于钌的有机金属衍生物。

[0059] 也可以使用间接检测系统，例如，像能够与抗-配体反应的配体。然后配体与标签相对应，从而与结合配偶体形成轭合物。

[0060] 配体/抗配体对对于本领域技术人员是熟知的,例如是以下对的情况:生物素/链霉亲和素,半抗原/抗体,抗原/抗体,肽/抗体,糖/凝集素,多核苷酸/与该多核苷酸互补的序列。

[0061] 然后该抗-配体可以经由上述的直接检测标签直接检测到,或本身可以是经由另一个配体/抗-配体对可检测的,等等。

[0062] 这些间接检测系统在某些条件下可以导致信号的放大。这种信号放大技术对于本领域技术人员是熟知的,并且可以参考申请人的先前专利申请FR 2781802或WO 95/08000。

[0063] 根据使用的标签的类型,本领域技术人员将会添加用于可视化标签或发射信号的试剂,该标签或信号是可通过任何类型的适当测量器具例如像分光光度计、分光荧光计、光密度计、发光计或高分辨摄像机检测到的。

[0064] 至少一种抗原的检测是通过免疫色谱法(也称为侧流免疫测定)进行的。在此类测定中通常使用的装置包括通常固定于支持物上的扩散介质,该扩散介质允许液体样品的迁移。常规地,一些区是在扩散介质的水平上区分的,这些区是液体-样品施加区、标记区和反应区,后者反应区包括可视化区(也称为捕获区)和控制区。这些不同的区是处于流体连通。因此,如果有待检测的抗原存在于安置在施加区上的样品中,则所述抗原结合至在标记区水平处的标记的第一结合配偶体,然后由此形成的复合物迁移至反应区,其中该复合物在捕获区水平处通过与结合至扩散介质的第二结合配偶体反应而被固定,并且使用者可以通过证实可检测信号确定抗原是否确实存在,该可检测信号是通过连接至第一结合配偶体的标签的类型确定的。通常,在样品中抗原的存在是以可检测线的形式(通常称为测试线)实体化。通常,反应区还包括用于控制样品迁移的区,该控制区将指示使用者样品已经正确迁移通过扩散介质,该扩散介质在可视化区的上游。这可以例如是通过预定颜色的控制线的可视化。通过举例方式,可以提及的是描述了此类装置的专利申请WO 2004/003559、WO 2006/092103、WO 2007/081330、US 2004/0161859和WO 2012/172232。这种装置具体是由公司生物梅里埃(bioMérieux)在参考号 VIKIA<sup>®</sup>轮状病毒-腺病毒(Rota-Adeno)-参考号31111下销售的,用于同时检测轮状病毒和腺病毒。

[0065] 根据本发明的方法和装置将使得有可能得出关于感兴趣微生物的至少一种抗原是否存在于液体样品中、并且因此因而存在于涉及患者的粪便中的结论,并且因此得出关于该患者是否被该微生物污染的结论,并且这当然是在该方法和该装置的检测阈值极限内。然而,对于根据本发明的方法,不是毫无可能的是允许根据使用的检测技术对搜寻的所述至少一种抗原并且由此对靶微生物进行定量测定。

[0066] 本发明的主题还是一种用于检测液体样品中微生物的至少一种抗原的装置,该装置包括:

[0067] a)支持物,

[0068] b)衔接至该支持物的扩散介质,该扩散介质允许该液体样品的迁移,所述扩散介质包括:

[0069] (i)液体-样品施加区,

[0070] (ii)纯化区,该纯化区包括活性炭,

[0071] (iii)标记区,该标记区包括至少一种标记的第一结合配偶体,所述第一结合配偶体能够结合至有待检测的微生物的所述至少一种抗原,如果所述至少一种抗原存在于该

液体样品中,则形成第一结合配偶体/抗原复合物,以及

[0072] (iv)至少一个反应区,该至少一个反应区包括:

[0073] -可视化区,用于可视化检测结果,该可视化区包括固定在该扩散介质上的至少一种第二结合配偶体,该至少一种第二结合配偶体能够结合至所述第一结合配偶体/抗原复合物,

[0074] -迁移控制区,该迁移控制区使得控制该装置的正确运行成为可能,位于该可视化区的下游,

[0075] 所述施加区、纯化区、标记区和反应区处于流体连通,从而允许该液体的扩散。

[0076] 此类装置展示于图1和2B中。

[0077] 在图1中呈现的装置1允许液体样品以方向 $f_1$ 迁移,并且包括附接至支持物(未呈现)的扩散介质2。该支持物以本领域技术人员已知的方式是本质上防水的,例如处于由塑料制成的薄层形式。该支持物的功能是加硬、协助操作并且保护扩散介质2。该支持物还使得有可能使得扩散介质2的内部面是不可渗透的,并且因而引导该扩散介质2中的样品流动。

[0078] 扩散介质2在方向 $f_1$ (对应于将要安置的液体样品3的迁移方向)上包括不同的连续区:液体-样品3施加区10,包括活性炭21的纯化区20,包括至少一种标记的第一结合配偶体的标记区30,可视化区41,以及迁移控制区42,后两者形成反应区40。通常,在与施加区10相对的末端,装置1将包括吸收区50,使得有可能促进液体样品3的扩散。施加区10和纯化区20可以合并。扩散介质2可以由单层多孔基质组成,或通常由若干层多孔基质组成,这些层的每一个包括一个或多个区。可以使用任何类型的能够确保液体的流动和转移的材料作为多孔基质。液体的转移可以通过毛细作用力确保。可以使用吸水材料,例如膜或滤纸类型,该吸水材料易于吸收液体,并且液体经毛细作用运输通过该吸水材料。通常,这种装置放置于盒夹或盒(未呈现)中,该盒夹或盒包括用于在施加区水平处安置样品的孔以及用于可视化反应区的窗口。

[0079] 施加(和纯化)区和/或标记区和/或吸收区具体可以由多孔层组成,这些多孔层加在安置于该支持物的整个表面上的第一层上面、或部分地叠盖安置于该支持物的整个表面上的第一层,或通常加在安置于该支持物的仅一部分表面上的第一层上。该安置在支持物上的第一层充当分析膜,并且结合了反应区(可视化区和迁移控制区)。

[0080] 因此,以此方式为了促进该装置的制造,并且为了促进所安置液体样品的扩散(图2中以方向 $f_2$ ),扩散介质的不同区将由若干层多孔基质组成,这些层重叠并且处于流体连通,如图2B中展示,详情在实例中涉及。具体而言有可能使用不同层的膜或滤纸。具体而言,如在图2B中所展示,对应于纯化区300并且还对应于包括活性炭301的施加区的层可以部分地与一个对应于标记区500的层重叠。对应于标记区500的层可以以其部分与结合了可视化区600和迁移控制区700的分析膜400重叠。分析膜400可以延伸过支持物100的整个表面,如图2B中所展示,或仅延伸过该支持物的一部分。此类重叠常规地用于现有技术(特别参见W0 2012/172232和W0 2008/018073)中,并且使得特别有可能确保液体样品的流动的连续性。

[0081] 在图2B中展示的本发明的装置与图2A中展示的现有技术支持物之间的区别是区300中的活性炭301的存在。

[0082] 常规地,在根据本发明的装置中,该第一和第二结合配偶体可以是如上所述的并

且特别是抗体或抗体片段,和/或扩散介质可以是特别是由基于纤维素的纤维或由玻璃纤维制成的多孔材料。通常,该多孔材料是由硝酸纤维素制成。例如,对于分析膜,有可能使用由硝酸纤维素制成的纤维膜,该纤维膜是直接紧密地与特别是聚酯类型的支持物互连。

[0083] 免疫学反应(即抗原/结合配偶体结合的免疫学反应)的可视化可以通过任何检测手段通过用标签标记第一结合配偶体进行。因此,该第一结合配偶体可以结合到能够产生可检测信号的标记颗粒上,即这些标记颗粒包括标签,该标签处于可以通过可视化荧光或仪器方式检测的化合物或物质的形式中。这些标签的非限制性清单是金属颗粒或合金颗粒,例如胶体金颗粒、聚合物颗粒(例如有色乳胶颗粒)、磁性粒子、荧光分子、化学发光分子等。对应于阳性结果的在结果可视化区的水平处产生的信号以及在迁移控制区的水平处产生的信号可以具有相同的或不同的性质。例如,在使用有色乳胶的背景中,它们可以具有相同的颜色或不同的颜色。

[0084] 根据一个优选实施例,根据本发明的检测方法使用在本专利申请中描述的装置。

[0085] 根据本发明的用于确定患者中微生物的存在的方法和装置是与紧急情况相容的。因为病毒来源的肠胃炎的症状仅持续几天,用作第一线的根据本发明的方法和装置将使得有可能快速进行对于迅速地保护患者和患者环境所必需的测量。有可能在安置样品于施加区10分钟后说明结果。在保健机构中,通过免疫色谱测定使用根据本发明的方法或装置证实诺和病毒将导致卫生措施得以加强,即,患者被隔离并且表面消毒被加强从而预防流行病。并且,在病毒检测的背景下的阳性结果将使得有可能排除可导致老年个体住院治疗的细菌感染,并且使得有可能在病毒感染的情况下限制抗生素的不必要的使用。

[0086] 下文的实例使得有可能说明本发明,但不在本质上进行限制。

[0087] 实例1.用于检测诺和病毒的包括基于活性炭的纯化区的免疫色谱装置的制备

[0088] 装置的制备

[0089] 样品垫的制备

[0090] 样品垫是玻璃纤维带,尺寸为8cm×1.7cm,从获得自公司奥斯龙(AhIstrom)的膜(目录号级别8975,赫尔辛基(HeIsinki),芬兰)剪切。在组装免疫色谱条带之前,常规地将样品垫浸渍在饱和缓冲液浴中。

[0091] 在对照免疫色谱装置(REF装置)中,将样品垫在包含糖和酪蛋白的缓冲液浴中浸渍4h。然后将它在37°C干燥12至18小时。

[0092] 在本发明的免疫色谱装置(碳装置)中,在第一步骤中样品垫经历了与该对照免疫色谱装置相同的处理。然后将它浸渍在基于活性炭的试剂浴中。这种基于炭的试剂包含0.65g/l Tris碱、6.83g/l Tris-HCl、8.55g/l NaCl、0.05%吐温<sup>®</sup>20、1%的牛血清白蛋白以及10g/l活性炭(诺芮特CN1,诺芮特尼德兰(Norit Nederland)BV,阿默斯突特(Amerstoort),荷兰)。将pH调节至7.2,之后添加活性炭。1小时之后,将样品垫从浴移除,安置在栅格上,并且在37°C烘箱干燥1h。

[0093] 轭合物垫标记区的制备

[0094] 将由公司安捷伦科技销售的PL-Latex Carbonyl HiDyeRed 400nm红色乳胶颗粒(目录号PL6104-614#)通过用两种针对诺和病毒的兔IgG多克隆抗体(抗体542和544)(生物梅里埃)的混合物进行吸附来包覆。在环境温度下孵育12至18小时之后,将颗粒用基于酪蛋白的缓冲液进行饱和,以防止非特异性吸附。然后这些颗粒分配于玻璃纤维支持物上(目录

号级别8975, 奥斯龙, 赫尔辛基, 芬兰), 将其在37℃干燥过夜。

[0095] 分析膜反应区的制备

[0096] 将三种针对诺和病毒抗原的小鼠单克隆抗体, 克隆1H3C3、11H12和2A7(生物梅里埃)进行混合, 并且稀释于磷酸盐缓冲盐水(PBS)中。将由此制备的溶液使用BIODOT器具(商品名)分配于由聚酯加固物支持的硝酸纤维素膜(Unisart® CN 140支持的, 赛多利斯(Sartorius), 目录号1UN14ER050020)上, 由此形成可视化区, 称为测试线(T)。将针对兔免疫球蛋白G的多克隆抗体稀释于PBS缓冲液中。将此溶液分配于位于可视化区下游的迁移控制区中, 称为控制线(C)。然后将膜在37℃烘箱干燥12/18小时, 并且然后储存在具有脱水小袋的密封铝袋中, 以便对抗湿气保存它。

[0097] 盒的制备

[0098] 将条带通过将以下项安置在由此形成的受支持的硝酸纤维素分析膜上来产生: 充当样品施加区和纯化区的样品垫(玻璃纤维膜, 在与颗粒接触之前充当用于样品的过滤器), 辘合垫(标记区)和吸收垫(吸收剂, 在沿着不同类型的垫迁移后具有吸附剩余样品的能力, 充当吸收区)。后者是从来自公司杭州新华造纸业有限公司(杭州桐庐, 中国)的用于油的滤纸(汽车滤纸范围)产生。然后将此组装件切成4mm宽的条带。

[0099] 本发明的免疫色谱装置(碳装置(CARBON device))呈现于图2B中, 并且与图2A中呈现的装置(REF装置)的不同之处仅在于以下事实: 充当样品施加区和纯化区两者的第一区300包括活性炭301。这些装置允许液体样品以方向 $f_2$ 迁移, 并且包括多层扩散介质200。该多层扩散介质200包括分析膜400连同整合的支持物100, 该支持物100形成第一层, 并且该多层扩散介质以方向 $f_2$ 包括不同的连续区: 包括活性炭301的第一样品施加和纯化区300、包括至少一种标记的第一结合配偶体的标记区500、可视化区600和迁移控制区700, 后两者形成反应区800。在多处, 该扩散介质是多层。将注意到, 对应于安置样品的施加区300的层与包括标记区500的层重叠。包括标记区500的层然后与称为分析膜400的层重叠, 该分析膜包括可视化区600和迁移控制区700, 从而确保流动的连续性并促进液体通过毛细作用的扩散。在与区300相对的末端, 该装置包括置于层400上的吸收区900, 并且该吸收区使得有可能促进样品的扩散。

[0100] 然后将这些条带单独密封于包含样品孔和可视化窗口的即用型塑料盒中。

[0101] 免疫色谱测定程序

[0102] 将盒从其包移除, 并且将其置于干净的平面上,

[0103] 将75 $\mu$ l的测试样品安置于样品孔中,

[0104] 启动计时器, 并且然后在安置10分钟后读取测试。

[0105] 将样品的状态根据具有可变强度的有色线在硝酸纤维素膜上的存在或不存在来确定。有色线的强度范围为L1(红色线不存在)至L10(暗红色线存在)。与读取卡进行比较, 使得有可能具体化对有色线的颜色强度评价。

[0106] 结果根据表1解读如下:

[0107] 表1

[0108]

读取	结果	解释
强度线 < L4	阴性	不存在搜寻的分析物
强度线 = L4或L5	阳性, 但接近于试剂盒的检测限	推理存在搜寻的分析物
强度线 > L5	阳性	存在搜寻的分析物

[0109] 通过免疫色谱法检测诺和病毒

[0110] 将粪便以25mg粪便针对1500 $\mu$ I稀释剂的比例单独地稀释于VIKIA<sup>®</sup> 轮状病毒/腺病毒(Rota/Adeno)(目录号31111,生物梅里埃)稀释剂中,然后涡旋15秒,并且将75 $\mu$ I的部分安置于盒的孔中。结果给出在下表2中。

[0111] 表2

		对于诺和病毒呈阳性的粪便*	
[0112]	样品码	87	437
	REF装置	L3	L5
	碳 (CARBON) 装置	L4	L6

[0113] \*:粪便来自感染诺和病毒的患者

[0114] 使用本发明的包括整合了活性炭的纯化区的免疫色谱装置使得有可能改进在以上选择的两种样品中抗体的检测。

[0115] 实例2. 在粪便样品预处理期间使用具有过滤器的取样装置,然后通过免疫色谱法检测诺和病毒

[0116] 用于对粪便取样的、具有过滤器的装置的准备

[0117] 使用VIKIA<sup>®</sup>轮状病毒/腺病毒(Rota/Adeno)试剂盒(目录号31111,生物梅里埃)的取样管(绿帽管)制备该原型。将包含于绿帽中的白色取样杆移除,将直径为6mm的沃特曼GF/B盘(1 $\mu$ m过滤器)(目录号1821110)放置在该帽底部,并且然后将该杆的末端(与样品相对)重新放置于帽中以便将过滤器保持在合适位置。该过滤器的目的在于保持碳颗粒,并且获得可以直接安置于该盒的孔中的样品。

[0118] 粪便预处理和免疫色谱法

[0119] 将用于预处理粪便的三种方法进行比较:

[0120] 案例1:REF

[0121] 将粪便单独稀释于VIKIA<sup>®</sup>轮状病毒/腺病毒稀释剂(目录号31111,生物梅里埃)中,比例为50mg粪便用于3000 $\mu$ I稀释剂。将粪便涡旋15秒。将由此获得的样品以75 $\mu$ I的部分安置于免疫色谱盒的孔中。

[0122] 案例2:离心(用碳+离心处理),和案例3:本发明

[0123] 使用了与实例1相同的基于活性炭的试剂。将粪便单独稀释于碳试剂中,比例为50mg粪便用于3000 $\mu$ I稀释剂,然后:

- [0124] -案例2:涡旋15秒,并且然后在12000g离心5min。
- [0125] -案例3:分配于先前准备好的具有过滤器的取样装置中。
- [0126] 在每个案例中,在已经将存在于帽末端的嘴破开后,将75 $\mu$ l的滤液安置在该盒的孔中。
- [0127] 下表3重现这些条件。
- [0128] 表3
- [0129]

案例1		案例2		案例3	
粪便稀释于VIKIA <sup>®</sup> 轮状病毒/腺病毒稀释剂(REF)		粪便稀释于碳试剂			
VIKIA <sup>®</sup> 轮状病毒/腺病毒稀释剂	3000 $\mu$ l	碳试剂	3000 $\mu$ l		
粪便	50 mg	粪便	50 mg		
涡旋	15秒	涡旋	15秒	-	-
-	-	离心	5 min 12000 G	过滤	制品分配于原型中
安置	75 $\mu$ l	安置	75 $\mu$ l	安置	75 $\mu$ l

- [0130] 对于每个案例,安置体积是75 $\mu$ l,并且读取是在安置样品10分钟后进行。将测定采用如实例1中所述的REF装置进行,并且如实例1中相同的方式读取和解释。结果给出在下表4中。

- [0131] 表4

[0132]

	案例1 REF 粪便稀释于 VIKIA <sup>®</sup> 轮 状病毒/腺 病毒稀释剂	案例2 离心 粪便稀释于碳 试剂 + 离心	案例3 本发明 粪便稀释于碳 试剂 + 过滤
	帽	参考	参考
对照样品	VIKIA <sup>®</sup> 轮 状病毒/腺 病毒稀释剂	L1	L1
对诺和病 毒呈阳性 的样品*	E8909 GII.3	L5	L8
	E9982 GII.4	L4	L9
	E9918 GI.4	L4	L7
	E8624 GI	L8	L9

[0133] \*:粪便来自感染诺和病毒的患者

[0134] -碳的使用不会降低特异性。

[0135] -采用参考条件(案例1)接近于检测限(L4/L5)的样品对碳处理呈高阳性(案例2和3)。

[0136] -对于用碳处理的样品,读取带的强度更大。

[0137] -对于用碳处理的阳性样品,测试线显现更迅速,并且膜更干净(粪便不再将膜染色)。

[0138] -通过用基于碳的稀释剂处理样品而获得的结果确认了灵敏度上的提升。

[0139] -出乎意料地,没有离心步骤的情况下使用活性炭使得有可能获得与采用离心步骤获得的结果相同的临床干预结果。在两种案例中,结果是呈阳性(L ≥ 6),而对于参考情况,结果先验地为阳性。通过过滤而非离心的分离使得有可能保持令人满意的灵敏度。

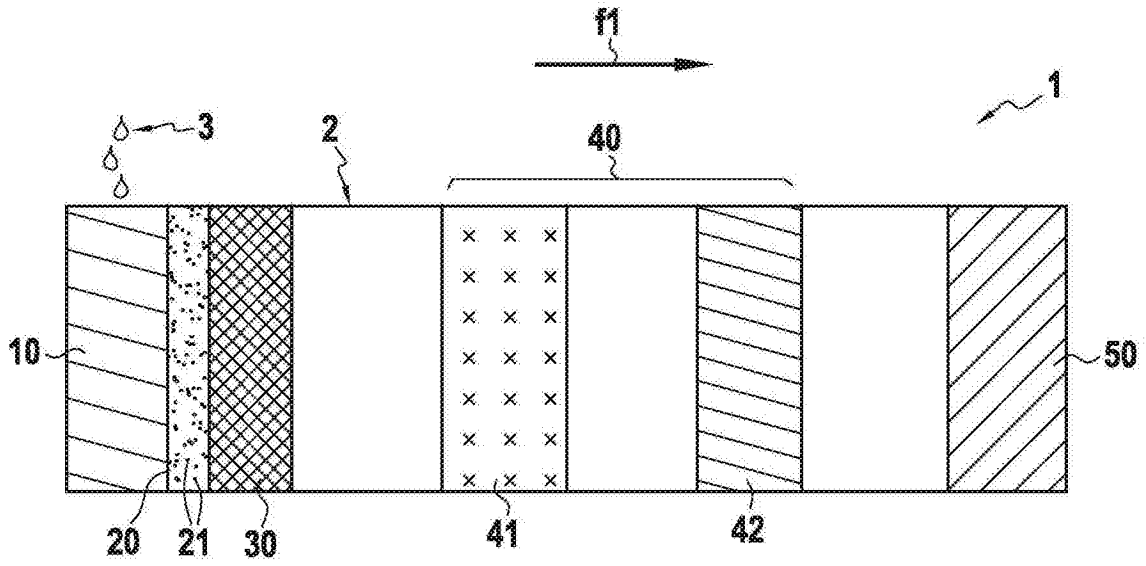


图1

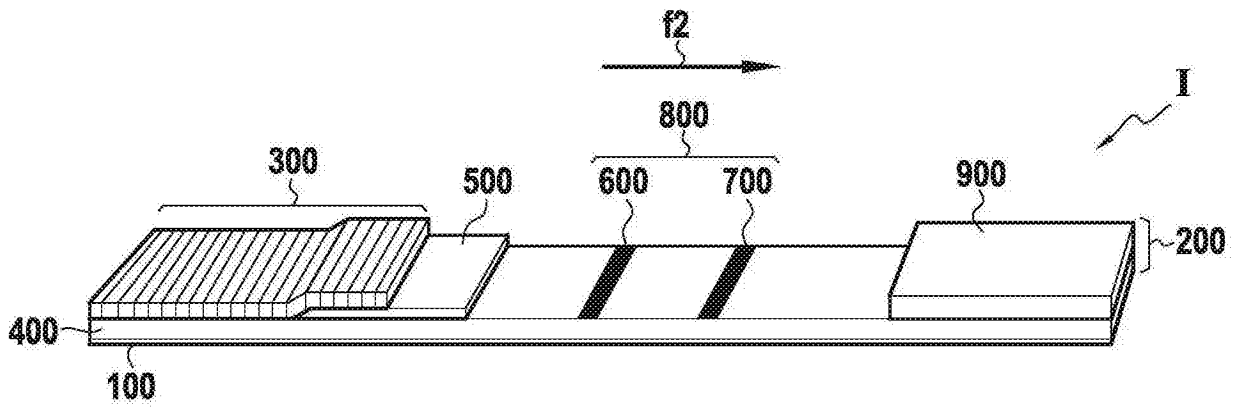


图2A

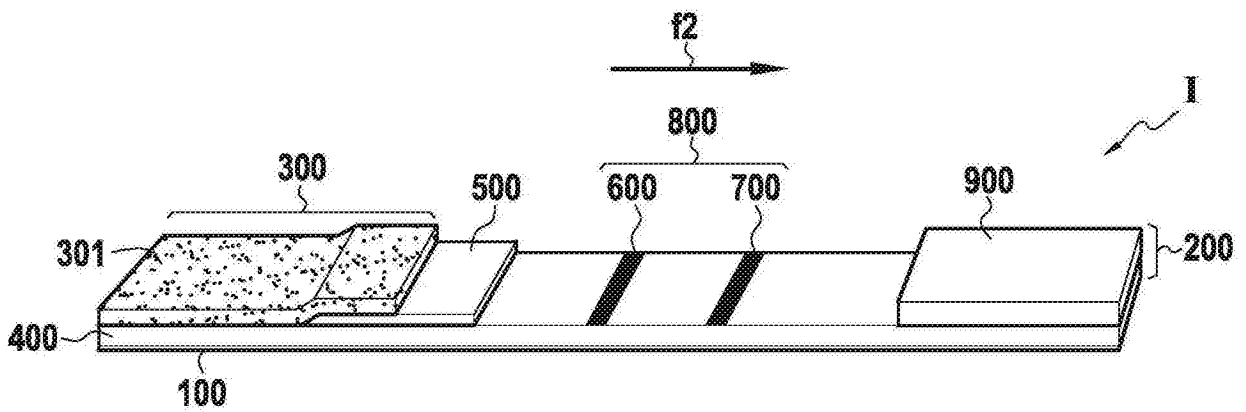


图2B

专利名称(译)	使用粪便或来自粪便的液体样品采用活性炭预处理而确定微生物存在的方法及相关装置		
公开(公告)号	<a href="#">CN105717294A</a>	公开(公告)日	2016-06-29
申请号	CN201510946924.5	申请日	2015-12-16
[标]申请(专利权)人(译)	生物梅里埃公司		
申请(专利权)人(译)	生物梅里埃公司		
当前申请(专利权)人(译)	生物梅里埃公司		
[标]发明人	H布赖恩德 A杜拉福格科隆博		
发明人	H·布赖恩德 A·杜拉福格·科隆博		
IPC分类号	G01N33/577 G01N30/02 G01N33/569 G01N33/532		
CPC分类号	G01N30/02 G01N33/532 G01N33/56911 G01N33/56983 G01N33/577 B01L3/5023 B01L2200/16 B01L2400/0406 C12Q1/04 G01N33/54366 G01N33/54386		
优先权	2014062481 2014-12-16 FR		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及一种使用粪便或来自粪便的液体样品采用活性炭预处理而确定微生物存在的方法及相关装置，其特征在于该方法包括以下操作：-提供一种来自患者的液体粪便样品或获得自所述患者的粪便的液体样品，称为液体样品，-用活性炭预处理该液体样品，-通过免疫色谱法，在获得的该经预处理的液体样品中检测靶微生物的至少一种抗原的可能存在，从而得出关于在所述患者中该靶微生物的存在或不存在的结论，并且本发明还涉及一种装置(1)，该装置用于通过免疫色谱法检测液体样品(3)中靶微生物的抗原，包括用于用活性炭(21)进行纯化的区(20)。

