

(19) 中华人民共和国国家知识产权局



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 106932565 A

(43) 申请公布日 2017.07.07

(21) 申请号 201511031492.1

(22) 申请日 2015.12.31

(71) 申请人 江苏博铼生技医疗科技有限公司

地址 213164 江苏省常州市武进区西太湖医疗科技产业园长扬路 9 号 C2 栋

(72) 发明人 曹汀 郑雅文 李佩珊 雷志贤
胡瑞宇

(74) 专利代理机构 广州华进联合专利商标代理有限公司 44224

代理人 黎艳 万志香

(51) Int. Cl.

G01N 33/533(2006. 01)

G01N 33/569(2006. 01)

权利要求书2页 说明书10页 附图1页

(54) 发明名称

TORCH 检测试剂盒及检测方法

(57) 摘要

本发明涉及一种 TORCH 检测试剂盒及检测方法。该检测试剂盒包括微载体、免疫反应抗体及检测试剂。微载体具有编码信息，且针对不同的 TORCH 病原体的所述微载体的编码信息不同，微载体表面包被有 TORCH 病原体。免疫反应抗体包括抗人 IgG 抗体及抗人 IgM 抗体，且抗人 IgG 抗体及抗人 IgM 抗体均连接有检测标记物。检测试剂含有能够与检测标记物反应结合的荧光蛋白。该检测试剂盒可用于检测多达六种 TORCH 病原体的 IgG 抗体或 IgM 抗体，从而可以丰富检测结果，可更为有效的辅助临床诊断。

浪漫的爱恋著易被谈恋爱在30-50岁之间，平均18.8岁。第一次做爱的年龄与首次性交的年龄之差，约10.6岁(范围5.5岁)。在性经验方面，有55%的女性表示她们第一次性经验是在16岁以前，半数的女性在16岁以后。而在男性方面则是82.7%的女性在16岁以前，半数的男性在16岁以后。年龄在30-50岁之间的女性，平均性经验是15.6岁；而男性则是18.5岁。

1. 一种TORCH检测试剂盒，其特征在于，包括微载体试剂、免疫反应抗体及检测试剂；

所述微载体试剂中含有包被有TORCH病原体的微载体，且针对不同的TORCH病原体的所述微载体的编码信息不同；所述微载体试剂含有包被有弓浆虫的微载体、包被有风疹病毒的微载体、包被有巨细胞病毒的微载体、包被有单纯疱疹病毒第一型的微载体、包被有单纯疱疹病毒第二型的微载体以及包被有B19微小病毒的微载体中的至少一种；

所述免疫反应抗体包括抗人IgG抗体及抗人IgM抗体，且所述抗人IgG抗体及抗人IgM抗体均连接有检测标记物；

所述检测试剂含有能够与所述检测标记物反应结合的荧光蛋白。

2. 如权利要求1所述的TORCH检测试剂盒，其特征在于，所述微载体试剂含有包被有弓浆虫的微载体、包被有风疹病毒的微载体、包被有巨细胞病毒的微载体、包被有单纯疱疹病毒第一型的微载体、包被有单纯疱疹病毒第二型的微载体以及包被有B19微小病毒的微载体。

3. 如权利要求1所述的TORCH检测试剂盒，其特征在于，所述微载体表面的抗原包被物通过其带有的氨基与对应的所述微载体表面的活化羧基反应后包被在所述微载体表面。

4. 如权利要求1所述的TORCH检测试剂盒，其特征在于，所述抗人IgG抗体为羊抗人IgG抗体，所述抗人IgM抗体为羊抗人IgM抗体。

5. 如权利要求1或4所述的TORCH检测试剂盒，其特征在于，所述检测标记物为生物素，所述荧光蛋白为链霉亲和素标记的藻红荧光蛋白。

6. 如权利要求1所述的TORCH检测试剂盒，其特征在于，还包括前处理试剂，所述前处理试剂有两组，其中一组用于IgG抗体检测，另一组用于IgM抗体检测；

用于IgG抗体检测的前处理试剂含有10mg/mL的BSA、1×PBS缓冲液、0.05wt%的NaN₃、1wt%的PVA以及去离子水；

用于IgM抗体检测的前处理试剂含有体积浓度为50%的羊抗人IgG抗体Fc、0.025wt% NaN₃、0.5×PBS缓冲液、1wt% PVA以及去离子水。

7. 如权利要求1所述的TORCH检测试剂盒，其特征在于，还包括阳性质控品、阴性质控品及六种阈值质控品。

8. 一种TORCH检测方法，其特征在于，使用如权利要求1-7中任一项所述的TORCH检测试剂盒，所述TORCH检测方法包括如下步骤：

将所述待测样本分为两组，一组用于IgG抗体检测，另一组用于IgM抗体检测，于相应的所述微孔中加入待测样本；

于所述微孔中加入微载体试剂，于30-50℃、500-2000rpm震荡反应；

清洗所述多孔板后，于所述微孔中加入含有所述免疫反应抗体的试剂，于30-50℃、500-200rpm震荡反应，其中，用于IgG抗体检测的组加入抗人IgG抗体，用于IgM抗体检测的组加入抗人IgM抗体；

于所述微孔中加入所述检测试剂，于30-50℃、500-2000rpm震荡反应；

清洗所述多孔板后，使用影像识别系统辨识所述微载体的编码信息，并检测对应的标记信号，经分析处理得到检测结果。

9. 如权利要求8所述的TORCH检测方法，其特征在于，还包括在加入待测样本之前，于相应的所述微孔中加入前处理试剂，并在加入所述待测样本后，将所述前处理试剂与所述待

测样本于30-50℃、500-2000rpm震荡反应的步骤。

10. 如权利要求8所述的TORCH检测方法，其特征在于，还包括向不同的所述微孔中加入阳性质控品、阴性质控品及六种阈值质控品的步骤，对所述阳性质控品、阴性质控品及六种阈值质控品的处理同所述待测样本。

11. 如权利要求8-10中任一项所述的TORCH检测方法，其特征在于，所述检测标记物为生物素，所述荧光标记物为链霉亲和素标记的藻红荧光蛋白；所述检测对应的标记信号是使用荧光亮度检测组件检测并量化所述微载体上的荧光信号。

12. 如权利要求8-10中任一项所述的TORCH检测方法，其特征在于，所述影像识别系统为DigiPIex Analyzer；所述分析处理是使用DigiPIex Analyzer的软件系统DeXipher进行分析处理。

TORCH检测试剂盒及检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及病原体检测领域,尤其是涉及一种TORCH检测试剂盒及检测方法。

背景技术

[0002] TORCH指可导致先天性宫内感染及围产期感染而引起围产儿畸形的病原体,其是一组病原微生物的英文名称缩写。其中T(Toxoplasmosis gondii)即弓浆虫;O(Others)代表其他,包括梅毒(Syphilis)、水痘-带状疱疹病毒(Varicella-zoster)、微小病毒B19(Parvovirus B19)等;R(Rubella virus)代表风疹病毒;C(Cytomegalovirus,CMV)代表巨细胞病毒;H(Herpes simplex virus,HSV)代表单纯疱疹病毒,分为第一型(Herpes simplex virus type 1,HSV1)与第二型(Herpes simplex virus type 2,HSV2)。TORCH可造成母婴感染,孕妇由于内分泌改变和免疫力下降易发生原发性感染,感染时病毒可通过胎盘或产道传染给胎儿,引起早产、流产、死胎或畸形胎,也可能造成新生儿多系统损害,特别在怀孕初期的器官形成期,若受病毒感染则有可能破坏细胞或抑制细胞的分裂和增殖,若于器官形成期后感染,则可能破坏组织和器官,且若孕妇曾经感染过,潜伏于体内的病毒也容易被活化而产生复发性感染。

[0003] 弓浆虫(Toxoplasmosis gondii)广泛分布于自然界中,主要宿主为温血的脊椎动物,但弓浆虫寄生的专一性不高,因此人、猪、牛皆可能成为中间宿主,而猫为弓浆虫的最终宿主,因此其主要感染途径通常是由食入受猫粪便污染的食物或受弓浆虫寄生的未煮熟肉类或土壤。人类感染弓浆虫通常不会出现明显症状且会终身免疫。但孕妇若于妊娠期间初次感染,则可能垂直感染胎儿,造成先天性弓浆虫症,常见症状为脉络膜视网膜炎、颅内钙化及水脑症,导致胎儿畸形、造成流产及新生儿异常等后遗症。

[0004] 风疹病毒(Rubella virus,又名德国麻疹病毒)是一种高传染性的急性病毒,临床症状通常为轻度发烧、疲倦、轻度鼻炎及伴随全身性不规则丘疹,一般于耳后淋巴结、枕骨下淋巴结以及颈后淋巴结肿大是常见的症状,但发病期不长且病征温和。怀孕期间若感染德国麻疹病毒,则可透过胎盘垂直传染给胎儿造成死亡、流产或主要器官受损,于妊娠前期12周内感染者,胎儿有25%以上机率产生先天性德国麻疹症候群,于16周内感染者,胎儿则有10%机率产生单一先天性缺陷,若于20周后才感染,生下畸形儿机率则很小。

[0005] 巨细胞病毒(Cytomegalovirus,CMV)是一种常见的病毒,属于人类疱疹病毒,能潜伏且终身带原,感染初期没有明显症状,因此大多数人不会发觉自己感染巨细胞病毒。而巨细胞病毒感染是先天性感染疾病的最常见的病因,能引起胎儿、婴儿严重损害或死亡,其中最为严重的是导致中枢神经系统后遗症。]感染巨细胞病毒的临床表现有:

[0006] (1)先天性感染,孕妇于妊娠期12周内感染会造成胎儿的先天性感染,可能为隐性感染或导致死胎、流产、早产及先天性畸形;

[0007] (2)新生儿感染,出生12周内感染会出现肺炎、肝炎、淋巴结肿大和皮疹等;

[0008] (3)儿童和成人感染,多数为隐性感染,少数会出现单核细胞增多症、肺炎、肝炎及心肌炎;

- [0009] (4)免疫缺陷及器官移植病人感染,可能导致表现全身各器官感染致死率高。
- [0010] 单纯疱疹病毒(Herpes simplex virus,HSV)是一种病毒传染的疾病,感染后会有局部的原发性病灶,但痊愈后仍有复发的可能,并分为第一型与第二型。
- [0011] 单纯疱疹病毒第一型(HSV1),多发生于幼儿,但大部分原发性感染症状温和不明显,若感染到新生儿,则可能会产生致死的先天性单纯疱疹。而此型的原发及再发性感染都可能影响到中枢神经系统,由于抗病毒治疗可降低死亡率,故可做脑组织的活体检验用以早期诊断疑似病例。
- [0012] 单纯疱疹病毒第二型(HSV2),此型病毒通常引起生殖器疱疹,若怀孕妇女的阴道感染此病毒,则有很高的危险性会传染给新生儿,造成新生儿内脏弥漫性的感染、脑炎、甚至死亡,同时HSV2也是妇女子宫颈癌的危险因子。
- [0013] B19微小病毒是幼儿常见的出疹性疾病,为传染性红斑病因,若是成人感染,症状一般轻微只会感到关节疼痛或肿胀,但若为孕妇感染则可能会造成胎儿死亡,此外,该病毒还可能引起免疫力低的病患出现严重贫血。B19微小病毒不仅是儿科常见的出疹性疾病病因,还会造成慢性溶血病患发生急性多关节病,以及造成免疫缺损病患持续性的感染。如果于妊娠早期感染者,可能造成胎儿宫内贫血、胎儿水肿、心脏畸形等伤害,但若于20周后才感染对胎儿就无影响。
- [0014] 目前检测TORCH主要是利用免疫学方法,藉由感染人体后产生的IgG或IgM进行判断,检验出特异性IgG表示感染过,且已感染一段时期,若检验出特异性IgM则表示为近期感染,或潜伏于体内的病毒被活化而产生复发性感染的可能,但现有试剂组仍多为单一检测或可同时检验项目有限,无法即时提供完整检验结果有效协助临床诊断。
- [0015] 现有技术普遍存在于以下问题待改良:
- [0016] (1)单一检测试剂组的待测样本需求量大,采集待测样本造成病患负担;
- [0017] (2)市售多元检测试剂组与方法,可提供一次性检测项目有限,能降低样本需求但无法有效提升检验效率;
- [0018] (3)检测结果报告仅能提供病患检验数据与分析,无法同时提供检测试剂组完整信息以作为参考。

发明内容

- [0019] 基于此,有必要提供一种对样品需求量低且检测效率高的TORCH检测试剂盒及检测方法。
- [0020] 一种TORCH检测试剂盒,包括微载体试剂、免疫反应抗体及检测试剂;
- [0021] 所述微载体试剂中含有包被有TORCH病原体的微载体,且针对不同的TORCH病原体的所述微载体的编码信息不同;所述微载体试剂含有包被有弓浆虫的微载体、包被有风疹病毒的微载体、包被有巨细胞病毒的微载体、包被有单纯疱疹病毒第一型的微载体、包被有单纯疱疹病毒第二型的微载体以及包被有B19微小病毒的微载体中的至少一种;
- [0022] 所述免疫反应抗体包括抗人IgG抗体及抗人IgM抗体,且所述抗人IgG抗体及抗人IgM抗体均连接有检测标记物;
- [0023] 所述检测试剂含有能够与所述检测标记物反应结合的荧光蛋白。
- [0024] 在其中一个实施例中,所述微载体试剂含有包被有弓浆虫的微载体、包被有风疹

病毒的微载体、包被有巨细胞病毒的微载体、包被有单纯疱疹病毒第一型的微载体、包被有单纯疱疹病毒第二型的微载体以及包被有B19微小病毒的微载体。

[0025] 在其中一个实施例中，所述微载体表面的抗原包被物通过其带有的氨基与对应的所述微载体表面的活化羧基反应后包被在所述微载体表面。

[0026] 在其中一个实施例中，所述抗人IgG抗体为羊抗人IgG抗体，所述抗人IgM抗体为羊抗人IgM抗体。

[0027] 在其中一个实施例中，所述检测标记物为生物素，所述荧光蛋白为链霉亲和素标记的藻红荧光蛋白。

[0028] 在其中一个实施例中，还包括前处理试剂，所述前处理试剂有两组，其中一组用于IgG抗体检测，另一组用于IgM抗体检测；

[0029] 用于IgG抗体检测的前处理试剂含有10mg/mL的BSA、1×PBS缓冲液、0.05wt%的NaN₃、1wt%的PVA以及去离子水；

[0030] 用于IgM抗体检测的前处理试剂含有体积浓度为50%的羊抗人IgG抗体Fc、0.025wt%NaN₃、0.5×PBS缓冲液、1wt%PVA以及去离子水。

[0031] 在其中一个实施例中，还包括阳性质控品、阴性质控品及六种阈值质控品。

[0032] 一种TORCH检测试剂盒，使用上述任一实施例所述的TORCH检测试剂盒，所述TORCH检测方法包括如下步骤：

[0033] 将所述待测样本分为两组，一组用于IgG抗体检测，另一组用于IgM抗体检测，于相应的所述微孔中加入待测样本；

[0034] 于所述微孔中加入微载体试剂，于30-50℃、500-2000rpm震荡反应；

[0035] 清洗所述多孔板后，于所述微孔中加入含有所述免疫反应抗体的试剂，于30-50℃、500-200rpm震荡反应，其中，用于IgG抗体检测的组加入抗人IgG抗体，用于IgM抗体检测的组加入抗人IgM抗体；

[0036] 于所述微孔中加入所述检测试剂，于30-50℃、500-2000rpm震荡反应；

[0037] 清洗所述多孔板后，使用影像识别系统辨识所述微载体的编码信息，并检测对应的标记信号，经分析处理得到检测结果。

[0038] 在其中一个实施例中，还包括在加入待测样本之前，于相应的微孔中加入前处理试剂，并在加入所述待测样本后，将所述前处理试剂与所述待测样本于30-50℃、500-2000rpm震荡反应的步骤。

[0039] 在其中一个实施例中，还包括向不同的所述微孔中加入阳性质控品、阴性质控品及六种阈值质控品的步骤，对所述阳性质控品、阴性质控品及六种阈值质控品的处理同所述待测样本。

[0040] 在其中一个实施例中，所述检测标记物为生物素，所述荧光标记物为链霉亲和素标记的藻红荧光蛋白；所述检测对应的标记信号是使用荧光亮度检测组件检测并量化所述微载体上的荧光信号。

[0041] 在其中一个实施例中，所述影像识别系统为DigiPIlex Analyzer；所述分析处理是使用DigiPIlex Analyzer的软件系统DeXipher进行分析处理。

[0042] 本发明的TORCH检测试剂盒及其检测方法具有如下有益效果：

[0043] (1)该检测试剂盒可同时检测多达六种TORCH病原体对应的IgG抗体或IgM抗体，从

而可以丰富检测结果,可更为有效的辅助临床诊断;

[0044] (2)当检测试剂盒中微载体、包被抗体及检测抗体有多种时,该检测试剂盒可同时检测多种人类TORCH病原体,无需多次检测,可减少所需样本量,并可有效提高检测效率及结果的准确性;

[0045] (3)多元检测以多重筛选技术及结合多元化生物医学检测系统可增加临床精准度与简便性;

[0046] (4)影像辨识系统结合软体分析可取得大量且完整的检测结果与试剂组信息,数据处理方便,结果信息全面。

附图说明

[0047] 图1是实施例1的实验流程图。

具体实施方式

[0048] 为了便于理解本发明,下面将参照相关附图对本发明进行更全面的描述。附图中给出了本发明的较佳实施例。但是,本发明可以以许多不同的形式来实现,并不限于本文所描述的实施例。相反地,提供这些实施例的目的是使对本发明的公开内容的理解更加透彻全面。

[0049] 一实施方式的TORCH检测试剂盒,包括微载体试剂、免疫反应抗体及检测试剂。

[0050] 微载体试剂中含有微载体(Microcarrier)。微载体采用磁性材料制作,具有磁性。微载体上设有用于供影像识别系统辨识的编码信息,并且其表面设有修饰层,如物理修饰层或化学修饰层,优选化学修饰层。其中化学修饰层可以但不限于经由羧化作用处理形成的修饰层。对于经羧化作用处理的微载体可藉NHS(N-Hydroxysuccinimide,N-羟基琥珀酰亚胺)与EDC(1-EthyI-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide,1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺)活化羧基进行反应,将带有氨基的抗原结合于微载体表面,形成抗原包被的微载体。

[0051] 微载体容量高,可作为多元载体。当需要能够检测多种病原体时,微载体可以针对性的设计为多种,以包被不同的抗原包被物。在本实施方式中,微载体至少有一种,针对六种TORCH病原体:弓浆虫、风疹病毒、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒第一型、单纯疱疹病毒第二型以及B19微小病毒中的至少一种设计。包被不同的TORCH病原体的微载体上的编码信息不同。

[0052] 抗原包被在微载体表面。抗原可与微载体通过物理作用或化学作用连接。对于化学作用连接的,可以在抗原上连接捕获基团。捕获基团与微载体表面的化学修饰层对应,可以与微载体表面的化学修饰层共价结合。在一实施方式中,捕获基团可以为氨基等,氨基可以与微载体表面的活化羧基反应结合。

[0053] 抗原包被的微载体可采用但不限于如下方法制备:

[0054] 将微载体以含15%EtOH的100mM MES试剂进行清洗后,依序加入50mg/mL NHS与50mg/mL EDC于15%EtOH的100mM MES中,反应条件为室温旋转震荡二十分钟,此反应为活化微载体表面。清洗后加入欲包被使用的抗原,反应条件为室温旋转震荡二小时,此反应为接合作用,清洗后再加入含1%BSA的TBS,反应条件为室温旋转震荡三十分钟,此反应为亲

合前置反应,待以上反应完成,最后以PBST进行清洗即完成包被过程。

[0055] 在本实施方式中,微载体试剂含有包被有弓浆虫的微载体、包被有风疹病毒的微载体、包被有巨细胞病毒的微载体、包被有单纯疱疹病毒第一型的微载体、包被有单纯疱疹病毒第二型的微载体以及包被有B19微小病毒的微载体中的至少一种。优选的,微载体试剂含有上述六种微载体,也即该六种微载体混合在一起制成混合试剂,该混合试剂可用于同时检测上述六种TORCH病原体。

[0056] 在本实施方式中,微载体试剂有两组,一组用于IgG抗体检测,另一组用于IgM抗体检测。针对同一种TORCH病原体,用于其IgG抗体检测的微载体与用于其IgM抗体检测的微载体上包被的抗原可以相同,也可以不同,如在一实施方式中,用于IgG抗体检测的微载体试剂及用于IgM抗体检测微载体试剂中的微载体包被的抗原可选用如下表1所示:

[0057] 表1

[0058]

	抗原	生产商	产品目录号
用于 IgG 抗体检 测的微载体	Toxo Ag A146	Calbioreagent	A146
	Rubella AgG IV	Meridian	6123
	CMV AgG III	Meridian	7507
	HSV-1 recombinant Ag	Meridian	VT1520
	HSV-2 recombinant Ag	Meridian	VIT1530
	Parvovirus B19 Ag	Diarect	48100
用于 IgM 抗体检 测的微载体	Toxo III Ag	Meridian	EV8131
	Rubella AgG IV	Meridian	6123
	CMV AgG III	Meridian	7507
	HSV-1 recombinant Ag	Meridian	VT1520
	HSV-2 recombinant Ag	Meridian	VIT1530
	Parvovirus B19 Ag	Diarect	48100

[0059] 免疫反应抗体包括抗人IgG抗体及抗人IgM抗体。抗人IgG抗体及抗人IgM抗体均连接有检测标记物。在本实施方式中,抗人IgG抗体为羊抗人IgG抗体(goat anti-human IgG antibody),抗人IgM抗体为羊抗人IgM抗体(goat anti-human IgM antibody)。两种免疫反应抗体分别制备成免疫反应试剂,以分别用于待测血清等样本中IgG抗体及IgM抗体的检测。如在一实施方式中,免疫反应抗体可选用如下表2所示:

[0060] 表2

[0061]

	成分	生产商	产品目录号
抗人 IgG 抗体	Biotin Anti-human IgG (Fcγ), PBS (含 1wt% BSA), 浓度 5 μg/mL	Jackson ImmunoResearch	109-065-098
抗人 IgM 抗体	Biotin Anti-human IgM (Fcμ), PBS (含 1wt% BSA), 浓度 5 μg/mL	Jackson ImmunoResearch	109-065-129

[0062] 检测试剂含有能够与检测标记物反应结合的荧光蛋白。在本实施方式中,检测标记物为生物素,荧光蛋白为链霉亲和素标记的藻红荧光蛋白。可理解,在其他实施例中,检测标记物及荧光蛋白不限于上面所述,如检测标记物可以为链霉亲和素,荧光蛋白可以为

亲和素标记的荧光蛋白等。

[0063] 此外,在本实施方式中,该检测试剂盒还包括前处理试剂、阳性质控品、阴性质控品及六种阈值质控品。

[0064] 前处理试剂可以降低背景值影响。在本实施方式中,前处理试剂有两组,其中一组用于IgG抗体检测,另一组用于IgM抗体检测。用于IgG抗体检测的前处理试剂含有10mg/mL的BSA、1×PBS缓冲液、0.05wt%的NaN₃、1wt%的PVA以及去离子水。用于IgM抗体检测的前处理试剂含有体积浓度为50%的羊抗人IgG抗体Fc、0.025wt%NaN₃、0.5×PBS缓冲液、1wt%PVA以及去离子水,如可以选用EQUITECH-BIO公司的产品目录号为GAHGFC-0500的试剂。具体如下表3所示:

[0065] 表3

成分	
IgG 前处理试剂	BSA (10 mg/mL), PBS Buffer (1×), NaN ₃ (0.05wt%), PVA (1wt%), MQ H ₂ O
IgM 前处理试剂	Goat Anti-human IgG-Fc (v/v 50%), NaN ₃ (0.025wt%), PBS Buffer(0.5×), PVA (1wt%), MQ H ₂ O

[0066] [0067] 阳性质控品、阴性质控品及阈值质控品在进行检测时会有各自所属的微孔,不会与待测样本混合,但须与待测样本一同进行完整的实验流程而得到各自的MFI值,如需要与前处理试剂反应、与微载体试剂反应、与含有免疫反应抗体的试剂反应以及与检测试剂反应等。其中阳性与阴性质控品的MFI值可作为待测样本或实验流程有无问题的判定依据,而阈值质控品的MFI值则可提供软体预设的判断原则进行样本分析,即S/C0值,其中S表示待测样本的Signal值,C0(CutOff)表示阈值,所得S/C0≥1.1表示阳性(Positive),S/C0<0.9表示阴性(Negative),0.9≤S/C0<1.1则表示不确定(Indeterminate)。

[0068] 在本实施方式中,阈值质控品可以选用从Cerba所购买的血清血浆,可根据已知结果,挑选出分别含弓浆虫、风疹病毒、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒第一型、单纯疱疹病毒第二型以及B19微小病毒呈弱阳性的六种血清血浆来作为阈值质控品。使用时则根据同一批实验进行所得的阈值作为当次的标准,如明显大于该阈值(S/C0≥1.1)的检验样本则判断为阳性,反之则判断为阴性(S/C0<0.9),与该阈值相近(0.9≤S/C0<1.1)的表示为不确定样品,需要结合其他试验检测。

[0069] 阳性质控品可以选用从Cerba所购买的血清血浆,可根据已知结果,挑选出含弓浆虫、风疹病毒、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒第一型、单纯疱疹病毒第二型以及B19微小病毒显示阳性的血清血浆来进行混合(其中亦可能同一管血清血浆含一种以上的病原体),其混合比例则根据实验结果,其MFI值必须明显大于同一批次中所选用的阈值质控品为选择标准。

[0070] 阴性质控品可选用100%正常山羊血清(Normal Goat Serum),如Jackson ImmunoResearch生产的产品目录号005-00-121的正常山羊血清。

[0071] 本实施方式还提供了一种TORCH检测方法,其使用上述TORCH检测试剂盒。该TORCH检测方法包括如下步骤:

[0072] 步骤S110,于多孔盘的待进行反应的微孔中加入前处理试剂,用于降低背景值的影响。

[0073] 前处理试剂的加入分成两组加入,用于IgG抗体检测的前处理试剂及用于IgM抗体检测的前处理试剂分别加入至不同的微孔中。

[0074] 步骤S120,将待测样本也分为两组,一组用于IgG抗体检测,另一组用于IgM抗体检测,于相应的微孔中加入待测样本,于30–50°C、500–2000rpm震荡反应。

[0075] 在本实施方式中,还包括向不同的微孔中加入阳性质控品、阴性质控品及六种阈值质控品的步骤,对阳性质控品、阴性质控品及六种阈值质控品的处理同待测样本。

[0076] 步骤S130,于微孔中加入微载体试剂,于30–50°C、500–2000rpm震荡反应。

[0077] 步骤S140,清洗多孔板后,于微孔中加入含有免疫反应抗体的试剂,于30–50°C、500–200rpm震荡反应,其中,用于IgG抗体检测的组加入抗人IgG抗体,用于IgM抗体检测的组加入抗人IgM抗体。

[0078] 在本实施方式中,清洗多孔板时,将多孔板放置在磁性装置上,以吸附具有磁性的微载体,将其吸附在微孔的孔底,以下同理。

[0079] 步骤S150,于微孔中加入检测试剂,于30–50°C、500–2000rpm震荡反应。

[0080] 步骤S160,清洗多孔板后,使用影像识别系统辨识微载体的编码信息,并检测对应的标记信号,经分析处理得到检测结果。

[0081] 本实施方式所用的标记物为链霉亲和素标记的藻红荧光蛋白试剂,检测对应的标记信号是使用荧光亮度检测组件检测并量化微载体上的荧光信号,包括影像辨识系统与荧光亮度检测组件,结合CCD相机与荧光显微镜之产品。本实施方式所用的影像识别系统为DigiPIex Analyzer,包括影像辨识系统与荧光亮度检测元件,反应完成后使用者可将多孔板置于DigiPIex Analyzer中进行读取与分析,该仪器会于所选择区域拍照,并藉影像辨识系统辨识出影像中各微载体上的编码信息。分析处理是使用PIexBio100的软件系统DeXipher进行分析处理,因各抗原于包被时与微载体上的编码信息对应,该条件也预先写入软体系统,所以系统可成功辨识出每个微载体对应的信号。经软件分析计算后输出相关信息,包括:试剂名称、试剂批号、操作者、微载体对应之TORCH病原体等信息及检测结果。

[0082] 本发明的TORCH检测试剂盒及其检测方法具有如下有益效果:

[0083] (1)该检测试剂盒可同时检测多达六种TORCH病原体对应的IgG抗体或IgM抗体,从而可以丰富检测结果,可更为有效的辅助临床诊断;

[0084] (2)当检测试剂盒中微载体、包被抗体及检测抗体有多种时,该检测试剂盒可同时检测多种TORCH病原体,无需多次检测,可减少所需样本量,并可有效提高检测效率及结果的准确性;

[0085] (3)多元检测以多重筛检技术及结合多元化生物医学检测系统可增加临床精准度与简便性;

[0086] (4)影像辨识系统结合软体分析可取得大量且完整的检测结果与试剂组信息,数据处理方便,结果信息全面。

[0087] 以下为具体实施例部分:

[0088] 实施例1

[0089] 实施例1的检测试剂盒可同时检测六种TORCH病原体对应的IgG抗体和IgM抗体。其中,六种TORCH病原体分别为弓浆虫、风疹病毒、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒第一型、单纯疱疹病毒第二型以及B19微小病毒。相应的,每组微载体试剂中含有六种对应的微载体,用于IgG抗体检测的微载体组上包被有对应的IgG抗原,用于IgM抗体检测微载体上包被有对应的IgM抗原,具体的IgG抗原及IgM抗原如上述表1所示。

[0090] 可理解,在其他实施例中,该检测试剂盒可以含有用于检测上述六种TORCH病原体中的一种、两种、三种、四种或五种对应的微载体试剂及质控品。

[0091] 该检测方法包括如下步骤:

[0092] 将温孵震荡器的温度设定在30~50°C之间,进行预热。

[0093] 于一次性96孔板的待进行反应的微孔中加入100μL前处理试剂,用于降低背景值影响。前处理试剂(如上述表3所示)的加入分成两组加入,用于IgG抗体检测的前处理试剂及用于IgM抗体检测的前处理试剂分别加入至不同的微孔中。

[0094] 将采集的人类血清待测样本分为两组,一组用于IgG抗体检测,另一组用于IgM抗体检测,于相应的微孔中加入待测样本,并在其他相应的微孔中加入阳性质控品、阴性质控品及六种阈值质控品,于30~50°C、500~2000rpm震荡反应15min。待测样本与质控品的添加量均为5μL。

[0095] 于微孔中加入20μL微载体试剂,于30~50°C、500~2000rpm震荡反应30min。其中,用于IgG抗体检测的组加入包被有IgG抗原的微载体,用于IgM抗体检测的组加入包被有IgM抗原的微载体。

[0096] 清洗一次性96孔板后,于微孔中加入含有50μL免疫反应抗体的试剂(如上述表2所示),于30~50°C、500~200rpm震荡反应30min,其中,用于IgG抗体检测的组加入抗人IgG抗体,用于IgM抗体检测的组加入抗人IgM抗体。

[0097] 于微孔中加入50μL检测试剂,于30~50°C、500~2000rpm震荡反应10min。

[0098] 清洗一次性96孔板后,将操作完成的一次性96微孔板放入影像辨识系统DigiPIex Analyzer辨识微载体,以及荧光亮度检测元件分析并量化微载体上的荧光讯号,最后经由DigiPIex Analyzer之软体系统DeXipher进行分析计算后,得到检测试剂组信息的报告与检测结果。结果如下表4和表5所示。

[0099] 表4

[0100]

Sample Results of IgG Assay		
Sample	S/CO Ratio*	Method A
Toxo-1G	5.8	P
Toxo-2G	0.4	N
Rubella-1G	6.4	P
Rubella-2G	0.1	N
CMV-1G	6.5	P
CMV-2G	0.1	N
HSV1-1G	3.3	P
HSV1-2G	0.0	N
HSV2-1G	6.6	P
HSV2-2G	0.1	N
B19-1G	3.3	P
B19-2G	0.2	N
* S/CO \geq 1.1	$0.9 \leq S/CO < 1.1$	$S/CO < 0.9$
Positive	Indeterminate	Negative

[0101] 注:实施例1所用的检测样本为已知结果的人类血清,目的在于证明使用本发明的TORCH试剂盒及检测方法的确能检测到TORCH IgG与IgM,如对应每种TORCH病原体,其中第一个人类血清样本中含有相应的抗体,第二个人类血清样本中不含有相应的抗体,以下同理;

[0102] S表示Signal,C0表示CutOff,对于样本结果的判定方法为所测得之样本MFI除以该检测项目之阈值MFI,所得S/C0 \geq 1.1表示Positive,S/C0<0.9表示Negative,0.9 \leq S/C0<1.1则表示Indeterminate,下同。

[0103] 表5

[0104]

Sample Results of IgM Assay		
Sample	S/CO Ratio*	Method A
Toxo-1M	1.1	P
Toxo-2M	0.2	N
Rubella-1M	2.0	P
Rubella-2M	0.2	N
CMV-1M	1.7	P
CMV-2M	0.0	N
HSV1-1M	1.4	P
HSV1-2M	0.2	N
HSV2-1M	8.4	P
HSV2-2M	0.4	N
B19-1M	3.3	P
B19-2M	0.1	N

* S/CO \geq 1.1	0.9 \leq S/CO < 1.1	S/CO < 0.9
Positive	Indeterminate	Negative

[0105] 由上述表4和表5可以看出,该TORCH检测试剂盒可一次性针对含有多种TORCH病原体的待测样本进行检测,从而可以减少所需的样本量,并有效提高检测效率,并且由于是一次性检测,无需多次加样,试验结果更准确。该检测试剂盒及检测方法可结合多元检测以多重筛选技术及结合多元化生医检测系统,从而可以增加临床精准度与简便性。并可结合影像辨识系统及相应的软体分析,可取得大量且完整的检测结果,检测效率进一步提高。

[0106] 以上所述实施例的各技术特征可以进行任意的组合,为使描述简洁,未对上述实施例中的各个技术特征所有可能的组合都进行描述,然而,只要这些技术特征的组合不存在矛盾,都应当认为是本说明书记载的范围。

[0107] 以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式,其描述较为具体和详细,但并不能因此而理解为对发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。因此,本发明专利的保护范围应以所附权利要求为准。

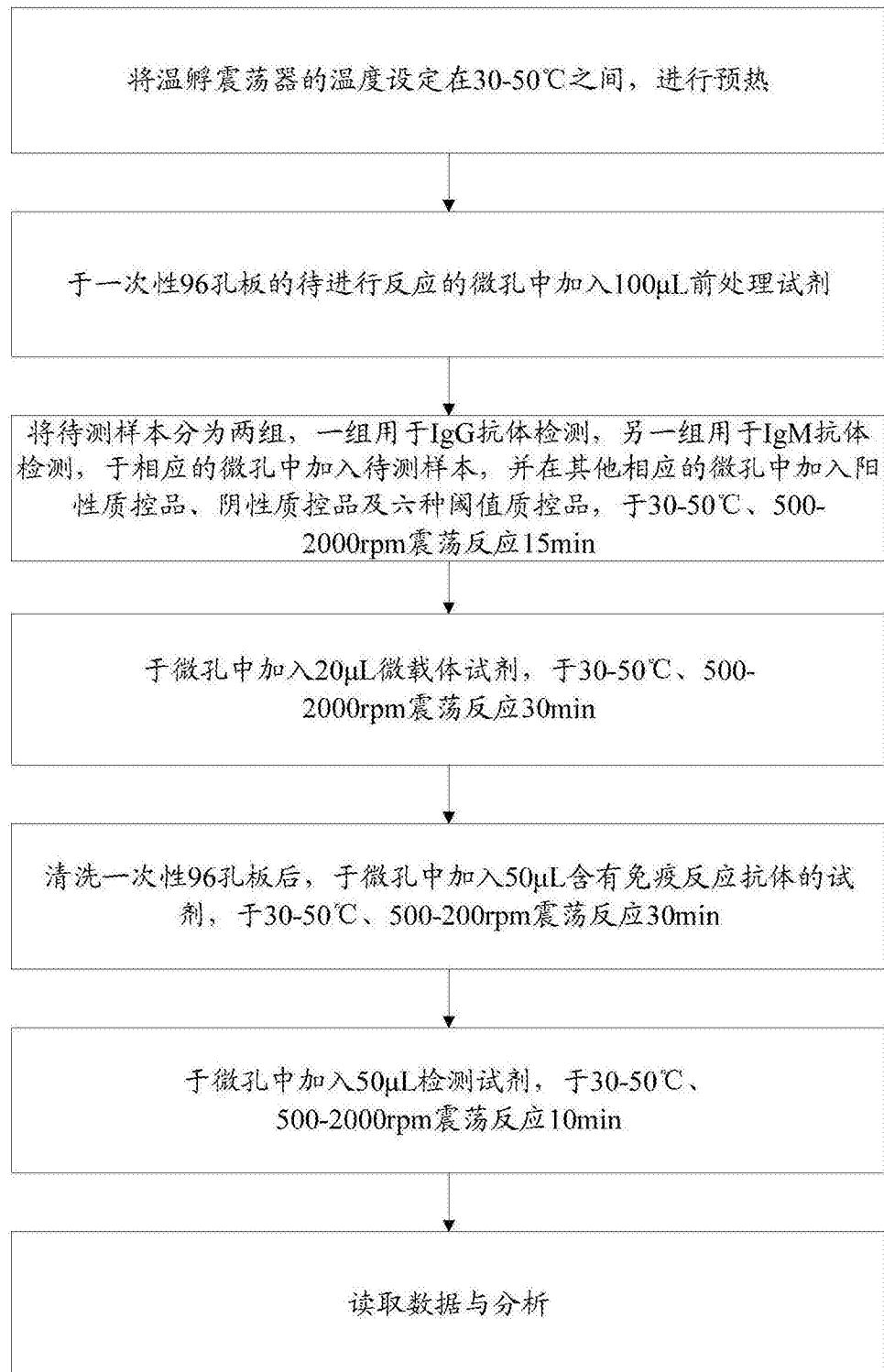


图1

专利名称(译)	TORCH检测试剂盒及检测方法		
公开(公告)号	CN106932565A	公开(公告)日	2017-07-07
申请号	CN201511031492.1	申请日	2015-12-31
[标]发明人	曹汀 郑雅文 李佩珊 雷志贤 胡瑞宇		
发明人	曹汀 郑雅文 李佩珊 雷志贤 胡瑞宇		
IPC分类号	G01N33/533 G01N33/569		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/56905 G01N33/56983		
代理人(译)	黎艳		
外部链接	Espacenet Sipo		

摘要(译)

本发明涉及一种TORCH检测试剂盒及检测方法。该检测试剂盒包括微载体、免疫反应抗体及检测试剂。微载体具有编码信息，且针对不同的TORCH病原体的所述微载体的编码信息不同，微载体表面包被有TORCH病原体。免疫反应抗体包括抗人IgG抗体及抗人IgM抗体，且抗人IgG抗体及抗人IgM抗体均连接有检测标记物。检测试剂含有能够与检测标记物反应结合的荧光蛋白。该检测试剂盒可用于检测多达六种TORCH病原体的IgG抗体或IgM抗体，从而可以丰富检测结果，可更为有效的辅助临床诊断。

