



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0036275

(51)⁷ G01N 33/543; G01N 33/53

(13) B

(21) 1-2019-05620

(22) 14/03/2018

(86) PCT/JP2018/009901 14/03/2018

(87) WO 2018/168907 20/09/2018

(30) 2017-049213 14/03/2017 JP

(45) 25/07/2023 424

(43) 25/12/2019 381A

(73) Denka Company Limited (JP)

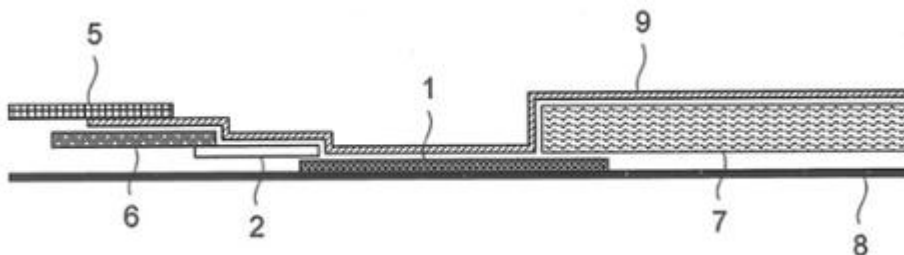
1-1, Nihonbashi-Muromachi 2-chome, Chuo-ku, Tokyo 103-8338, JAPAN

(72) KATO Daisuke (JP); MURAMATSU Shino (JP); HATTORI Tomohiro (JP).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) DỤNG CỤ XÉT NGHIỆM SẮC KÝ MIỄN DỊCH DÙNG ĐỂ CHIẾT VÀ ĐO KHÁNG NGUYÊN CHUỖ ĐƯỜNG CÓ KHẢ NĂNG KIỂM SOÁT SỰ TIẾN TRIỂN CỦA MẪU XÉT NGHIỆM

(57) Mục đích của sáng chế là đề xuất phương pháp hoặc dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch mà kiểm soát tốc độ và chiều tiến triển của mẫu xét nghiệm trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này, sao cho việc xử lý bằng thuốc thử axit, nitrit và thuốc thử trung hòa được kiểm soát một cách thích hợp. Sáng chế đề cập đến dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch dùng để chiết và đo kháng nguyên chuỗi đường trong mẫu xét nghiệm, trong đó dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này bao gồm: miếng đệm chứa mẫu mà mẫu xét nghiệm trộn với nitrit hoặc dung dịch axit được đưa lên đó; vùng đánh dấu chứa kháng thể được đánh dấu thu được bằng cách đánh dấu kháng thể kháng kháng nguyên chuỗi đường; và vùng phát hiện mà kháng thể kháng kháng nguyên chuỗi đường được giữ cố định trên đó, trong đó phức hợp kháng thể-kháng thể được đánh dấu bằng kháng nguyên chuỗi đường được tạo ra ở vùng phát hiện để đo kháng nguyên chuỗi đường, và dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này có vùng tẩm thuốc thử trung hòa nằm ở vị trí trước vùng đánh dấu, và còn có vùng tẩm thuốc thử axit rắn khi mẫu xét nghiệm trộn với nitrit được sử dụng, hoặc vùng tẩm nitrit khi mẫu xét nghiệm trộn với dung dịch axit được sử dụng, nằm ở vị trí trước vùng tẩm thuốc thử trung hòa, trong đó tấm nhựa được kẹp giữa vùng tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit và vùng tẩm thuốc thử trung hòa để ngăn chặn sự di chuyển của thuốc thử hoặc sự di chuyển của dung dịch mẫu xét nghiệm giữa các vùng.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến thiết bị sắc ký miễn dịch dùng để chiết và đo kháng nguyên chuỗi đường, thiết bị này có khả năng chiết kháng nguyên chuỗi đường bằng axit nitơ trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Phần lớn các thử nghiệm chẩn đoán nhanh sử dụng nguyên lý là phương pháp sắc ký miễn dịch đang được sử dụng rộng rãi làm phương pháp đo nhanh chóng và đơn giản sự nhiễm virus hoặc vi khuẩn và xác định kế hoạch điều trị chúng.

Trong trường hợp của chất chẩn đoán nhanh sử dụng nguyên lý là phương pháp sắc ký miễn dịch thông thường, mẫu xét nghiệm được tạo huyền phù trong huyền phù mẫu xét nghiệm, và huyền phù này sau đó được đưa lên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, sao cho có thể thực hiện phép đo nhanh chóng và đơn giản.

Để phát hiện các vi sinh vật thuộc chi *Streptococcus*, như liên cầu khuẩn tan huyết β nhóm A và liên cầu khuẩn trong miệng, cần phải chiết kháng nguyên chuỗi đường và đo kháng nguyên chuỗi đường này.

Ví dụ, phương pháp trong đó natri nitrit và thuốc thử trung hòa được đưa lên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch từ trước, sao cho việc chiết bằng axit nitơ chỉ có thể được thực hiện trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này bằng cách tạo huyền phù mẫu xét nghiệm trong dung dịch axit như axit axetic và đưa huyền phù này lên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, đã được báo cáo (tài liệu patent 1).

Ngoài ra, cũng đã có phương pháp trong đó thuốc thử axit và thuốc thử trung hòa được đưa lên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch từ trước, và mẫu xét nghiệm được tạo huyền phù trong nitrit và được đưa lên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này.

Đối với phương pháp sắc ký miễn dịch, có thể là cần phải kiểm soát tốc độ tiến triển sắc ký trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, và phương pháp sắc ký miễn

dịch để kiểm soát tốc độ tiến triển dựa trên cơ sở hình dạng thiết bị, vị trí bám dính, vật liệu được sử dụng (vật liệu như vải không dệt), thuốc thử, hoặc yếu tố tương tự, đã được báo cáo (các tài liệu patent 2 và 3). Ngoài ra, phương pháp kiểm soát để làm tăng tốc độ dòng chảy bằng tấm PET để sử dụng trong tấm mỏng đã được báo cáo (tài liệu patent 4).

Danh sách tài liệu tham khảo

Tài liệu patent

Tài liệu patent 1: Công bố đơn quốc tế số WO2005/121794

Tài liệu patent 2: Công bố đơn patent Nhật Bản (Kokai) số 2005-331471 A (2005)

Tài liệu patent 3: Công bố đơn patent Nhật Bản (Kokai) số 2005-331463 A (2005)

Tài liệu patent 4: Công bố đơn patent Nhật Bản (Kokai) số 2016-102790 A

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật

Phương pháp phát hiện liên cầu khuẩn tan huyết β nhóm A và vi sinh vật tương tự bằng cách sử dụng dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch bao gồm: phương pháp trong đó nitrit và thuốc thử trung hòa được đưa lên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch từ trước, sao cho việc xử lý chiết bằng axit nitơ chỉ có thể được thực hiện trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này bằng cách tạo huyền phù mẫu xét nghiệm trong dung dịch axit như axit axetic và đưa huyền phù này lên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch; và phương pháp trong đó thuốc thử axit và thuốc thử trung hòa được đưa lên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch từ trước, sao cho việc xử lý chiết bằng axit nitơ chỉ có thể được thực hiện trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này bằng cách tạo huyền phù mẫu xét nghiệm trong nitrit và đưa huyền phù này lên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch. Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch được sử dụng trong các phương pháp này có vấn đề ở chỗ trong quá trình bảo quản lâu dài ở trạng thái trong đó miếng đệm tẩm thuốc thử axit hoặc nitrit ở trạng thái khô và miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa (thuốc thử có tính bazơ) được cho tiếp xúc và được gắn với nhau, cả hai thuốc thử này phản ứng với nhau từng chút một, và khả năng hoạt động tương ứng của chúng bị giảm đi.

Trong việc phát hiện liên cầu khuẩn tan huyết β nhóm A, kháng nguyên của liên cầu khuẩn tan huyết β nhóm A được chiết bằng axit nitơ được tạo ra bằng cách trộn dung dịch nitrit với dung dịch axit. Trong trường hợp sử dụng miếng đệm tẩm thuốc thử axit ở trạng thái khô, mẫu xét nghiệm di chuyển trong thời gian ngắn từ miếng đệm tẩm thuốc thử axit tới miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa tiếp theo. Điều này có vấn đề ở chỗ do thời gian trộn giữa nitrit và thuốc thử axit ngắn, nên không thể thực hiện việc chiết một cách thỏa đáng, và không thể thu được hiệu quả độ nhạy cần thiết.

Trong dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch có dạng trong đó miếng đệm tẩm thuốc thử axit ở trạng thái khô và miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa được gắn vào nhau, phần mẫu xét nghiệm di chuyển sau khi thêm mẫu xét nghiệm từ miếng đệm tẩm thuốc thử axit vào miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa. Khi cả miếng đệm tẩm thuốc thử axit và miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa đều bị ướt, thuốc thử trung hòa chảy ngược trở lại theo hướng tiến tới miếng đệm tẩm thuốc thử axit. Điều này rủi ro vì kháng nguyên không được chiết một cách hiệu quả bằng axit nitơ do khả năng hoạt động của thuốc thử axit bị giảm, dẫn đến làm giảm độ nhạy.

Nếu phần gói giữa miếng đệm tẩm thuốc thử axit và miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa quá nhỏ (1 mm hoặc nhỏ hơn) để ngăn chặn các vấn đề này, thì khó kiểm soát quá trình sản xuất, và phần gói có thể bị mất đi do sự dịch chuyển đôi chút khi hai miếng đệm này được dát phẳng với nhau. Điều này có vấn đề ở chỗ mẫu không chảy nữa hoặc chảy rất chậm.

Có thể đảm bảo độ ổn định bảo quản lâu dài bằng cách sử dụng miếng đệm dài tẩm thuốc thử axit và miếng đệm dài tẩm thuốc thử trung hòa, nhờ đó làm tăng một cách vật lý khoảng cách giữa thuốc thử axit và thuốc thử trung hòa. Tuy nhiên, lượng mẫu xét nghiệm cần để tiến triển trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch cũng tăng lên khi tăng các chiều dài. Lượng mẫu cần xét nghiệm tăng đòi hỏi lượng dung dịch nitrit lớn hơn để trộn với mẫu xét nghiệm được chuẩn bị ở dạng các phần nhỏ trong ống. Trong trường hợp này, mẫu xét nghiệm được thu vào bông gạc dùng để thu mẫu xét nghiệm được pha loãng, do đó làm giảm hiệu quả (độ nhạy).

Cũng có thể cấp thuốc thử axit và thuốc thử trung hòa lên một miếng đệm dài đơn lẻ, sau đó các thuốc thử được làm khô để không lan rộng và trộn lẫn với nhau, và để ngăn chặn sự tiếp xúc giữa các phần đã được làm khô tương ứng của các thuốc thử.

Tuy nhiên, các thuốc thử đã được làm khô bị hòa tan và lan rộng do độ ẩm trong không khí trong quá trình bảo quản lâu dài, khiến cho thuốc thử axit và thuốc thử trung hòa tiếp xúc với nhau để gây ra phản ứng trung hòa. Điều này có vấn đề ở chỗ hiệu quả của việc xử lý bằng axit nitơ bị suy giảm theo đó.

Các vấn đề nêu trên là các vấn đề có thể phát sinh khi nitrit được tẩm, thay vì thuốc thử axit, trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch.

Để giải quyết các vấn đề nêu trên, mục đích của sáng chế là đề xuất phương pháp hoặc dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch mà kiểm soát tốc độ và chiều tiến triển của mẫu xét nghiệm trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này, sao cho việc xử lý bằng thuốc thử axit, nitrit và thuốc thử trung hòa được kiểm soát một cách thích hợp.

Giải pháp cho vấn đề

Các tác giả sáng chế đã thực hiện các nghiên cứu chuyên sâu về phương pháp kiểm soát sự tiến triển của mẫu xét nghiệm trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, sao cho việc xử lý bằng thuốc thử axit, nitrit và thuốc thử trung hòa được kiểm soát một cách thích hợp.

Kết quả là, các tác giả sáng chế phát hiện ra rằng tấm nhựa như tấm PET (polyetylen terephthalat) được kẹp giữa miếng đệm tẩm thuốc thử axit hoặc nitrit và miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa, và nhờ đó, chiều rộng mà miếng đệm tẩm thuốc thử axit hoặc nitrit và miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa tiếp xúc với nhau được giảm thiểu (xuống 2 mm hoặc nhỏ hơn), nhờ đó cải thiện độ ổn định bảo quản lâu dài của các miếng đệm chứa các thuốc thử này.

Các tác giả sáng chế còn phát hiện ra rằng tấm PET được bố trí sao cho tấm PET này được kẹp trong phần gờ giữa miếng đệm tẩm thuốc thử axit hoặc nitrit và miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa để giảm thiểu chiều rộng của bề mặt tiếp xúc giữa các miếng đệm này, và nhờ đó, miếng đệm tẩm nitrit và miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa tiếp xúc một phần với nhau, và nhờ cấu trúc trong đó mẫu không ngay lập tức di chuyển tới miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa, và ngoài ra, mẫu xét nghiệm gần như không chảy ngược lại từ miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa tới miếng đệm tẩm thuốc thử axit hoặc nitrit, có thể đạt được thời gian chiết kháng nguyên từ mẫu xét nghiệm một cách thỏa đáng, và kết quả là, có thể cải thiện độ nhạy phát hiện.

Dựa trên các phát hiện này, các tác giả sáng chế đã tạo ra dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, trong đó tấm nhựa được kẹp giữa miếng đệm tấm thuốc thử axit hoặc nitrit và miếng đệm tấm thuốc thử trung hòa, trong đó các miếng đệm này không hoặc gần như không tiếp xúc, từ đó tạo ra sáng chế.

Cụ thể, sáng chế bao gồm các khía cạnh sau đây.

[1] Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch dùng để chiết và đo kháng nguyên chuỗi đường trong mẫu xét nghiệm, trong đó dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này bao gồm: miếng đệm chứa mẫu mà mẫu xét nghiệm trộn với nitrit hoặc dung dịch axit được đưa lên đó; vùng đánh dấu chứa kháng thể được đánh dấu thu được bằng cách đánh dấu kháng thể kháng kháng nguyên chuỗi đường; và vùng phát hiện mà kháng thể kháng kháng nguyên chuỗi đường được giữ cố định trên đó, trong đó phức hợp kháng thể-kháng thể được đánh dấu bằng kháng nguyên chuỗi đường được tạo ra ở vùng phát hiện để đo kháng nguyên chuỗi đường, và dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này có vùng tấm thuốc thử trung hòa nằm ở vị trí trước vùng đánh dấu, và còn có vùng tấm thuốc thử axit rắn khi mẫu xét nghiệm trộn với nitrit được sử dụng, hoặc vùng tấm nitrit khi mẫu xét nghiệm trộn với dung dịch axit được sử dụng, nằm ở vị trí trước vùng tấm thuốc thử trung hòa, trong đó:

tấm nhựa được kẹp giữa vùng tấm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit và vùng tấm thuốc thử trung hòa để ngăn chặn sự di chuyển của thuốc thử hoặc sự di chuyển của dung dịch mẫu xét nghiệm giữa các vùng.

[2] Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo mục [1] nêu trên, trong đó vùng tấm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit có mặt trên miếng đệm chứa mẫu.

[3] Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo mục [1] hoặc [2] nêu trên, trong đó tấm nhựa được kẹp sao cho vùng tấm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit và vùng tấm thuốc thử trung hòa tiếp xúc một phần với nhau.

[4] Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo mục [1] hoặc [2] nêu trên, trong đó tấm nhựa được kẹp sao cho vùng tấm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit và vùng tấm thuốc thử trung hòa không tiếp xúc với nhau.

[5] Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trong số các mục từ [2] đến [4] nêu trên, trong đó vùng tấm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit có mặt ở miếng đệm chứa

mẫu nằm ở vị trí đầu tiên (đầu nguồn) trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này, các vùng, ngoại trừ miếng đệm chứa mẫu, được phủ bằng tấm nhựa, và miếng đệm chứa mẫu tấm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit được đặt bên trên tấm nhựa nằm bên trên vùng tấm thuốc thử trung hòa.

[6] Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [5] nêu trên, trong đó thuốc thử axit rắn được chọn từ nhóm bao gồm axit malonic, axit malic, axit maleic, axit xitric và axit tartaric.

[7] Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [6] nêu trên, trong đó thuốc thử trung hòa là tris(hydroxymetyl)aminometan hoặc natri hydroxit.

[8] Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [7] nêu trên, trong đó kháng nguyên chuỗi đường là kháng nguyên chuỗi đường của động vật nguyên sinh, vi nấm, vi khuẩn, mycoplasma, rickettsia, chlamydia hoặc virus.

[9] Phương pháp đo kháng nguyên chuỗi đường trong mẫu xét nghiệm theo phương pháp sắc ký miễn dịch sử dụng dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [8] nêu trên, trong đó phương pháp này bao gồm các bước: trộn mẫu xét nghiệm với dung dịch axit nitơ khi dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch có vùng tấm thuốc thử axit rắn, hoặc trộn mẫu xét nghiệm với dung dịch axit khi dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch có vùng tấm nitrit, và đưa hỗn hợp này lên miếng đệm chứa mẫu của dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, trong đó trong phương pháp sắc ký miễn dịch này:

kháng nguyên chuỗi đường được chiết từ mẫu xét nghiệm nhờ hoạt động của axit nitơ được tạo ra thông qua phản ứng của nitrit với thuốc thử axit rắn ở vùng tấm thuốc thử axit rắn hoặc vùng tấm nitrit, dung dịch axit chứa kháng nguyên chuỗi đường được trung hòa ở vùng tấm thuốc thử trung hòa, và

phức hợp kháng thể-kháng thể được đánh dấu bằng kháng nguyên chuỗi đường được tạo ra ở vùng phát hiện, và trong đó:

tốc độ và chiều tiến triển của mẫu xét nghiệm trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này được kiểm soát, sao cho việc xử lý bằng thuốc thử axit, nitrit và thuốc thử trung hòa được kiểm soát.

Bản mô tả sáng chế này bao gồm các nội dung như được bộc lộ trong đơn patent Nhật Bản số 2017-049213, là đơn ưu tiên của đơn này.

Hiệu quả có thể đạt được của sáng chế

Tấm nhựa được kẹp giữa miếng đệm tẩm thuốc thử axit hoặc nitrit và miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa, trong đó các miếng đệm này không hoặc gần như không tiếp xúc, sao cho độ ổn định bảo quản có thể được cải thiện ở trạng thái trong đó miếng đệm tẩm thuốc thử axit hoặc nitrit ở trạng thái khô và miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa được gắn vào nhau. Ngoài ra, thời gian cần để mẫu xét nghiệm di chuyển từ miếng đệm tẩm thuốc thử axit hoặc nitrit tới miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa có thể được kéo dài, hoặc mẫu xét nghiệm có thể được ngăn không cho chảy ngược trở lại từ miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa tới miếng đệm tẩm thuốc thử axit hoặc nitrit. Kết quả là, kháng nguyên được chiết hiệu quả bằng axit nitơ, và nhờ đó thu được tác dụng cải thiện độ nhạy.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là sơ đồ thể hiện cấu trúc của dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch (dụng cụ xét nghiệm loại hai miếng đệm) có vùng chứa thuốc thử axit rắn và vùng chứa thuốc thử trung hòa.

Fig.2 là sơ đồ thể hiện cấu trúc của dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch có vùng chứa thuốc thử axit rắn và vùng chứa thuốc thử trung hòa, trong đó tấm PET được gắn giữa vùng chứa thuốc thử axit rắn và vùng chứa thuốc thử trung hòa.

Fig.3 là sơ đồ thể hiện cấu trúc của dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch có vùng chứa thuốc thử axit rắn và vùng chứa thuốc thử trung hòa, trong đó tấm PET được gắn giữa vùng chứa thuốc thử axit rắn và vùng chứa thuốc thử trung hòa, và là hình vẽ thể hiện khoảng cách tương ứng giữa các phần.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết dưới đây.

Sáng chế đề cập đến dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch giúp đơn giản hóa việc xử lý chiết kháng nguyên chuỗi đường bằng axit nitơ trên dụng cụ xét nghiệm sắc

ký miễn dịch, sao cho kháng nguyên chuỗi đường được sử dụng làm chất cần phát hiện có thể được đo nhanh chóng và chính xác.

Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này bao gồm nền đỡ có vùng phát hiện, mà kháng thể (kháng thể 1) bắt giữ chất cần phát hiện (kháng nguyên, v.v.) được giữ cố định trên đó, vùng đánh dấu có kháng thể được đánh dấu có thể di chuyển được (kháng thể 2), miếng đệm chứa mẫu mà mẫu xét nghiệm được đưa lên đó, dải hấp thụ để hấp thụ dung dịch mẫu xét nghiệm được tiến triển, tấm lưng để gắn kết các bộ phận này với nhau, và bộ phận tương tự.

Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo sáng chế có thể được đựng trong vật chứa lưu trữ. Vật chứa lưu trữ này có thể ngăn chặn sự suy giảm chất lượng của dụng cụ xét nghiệm gây ra bởi, ví dụ, tia cực tím hoặc độ ẩm chứa trong không khí. Ngoài ra, trong trường hợp xử lý mẫu hoặc mẫu xét nghiệm bị ô nhiễm hoặc nhiễm bệnh, vật chứa lưu trữ này có thể ngăn không cho người thực hiện thử nghiệm bị ô nhiễm hoặc lây nhiễm bệnh bởi mẫu hoặc mẫu xét nghiệm này. Ví dụ, vỏ nhựa có kích thước thích hợp có thể được sử dụng làm vật chứa lưu trữ, và thiết bị theo sáng chế có thể được đựng trong vỏ này. Theo cách khác, bề mặt của dụng cụ xét nghiệm, mà kháng nguyên hoặc kháng thể được giữ cố định trên đó, có thể được phủ bằng màng nhựa hoặc tương tự (tấm PET). Có trường hợp trong đó vật chứa lưu trữ và dụng cụ xét nghiệm đựng trong vật chứa lưu trữ này được gọi chung là thiết bị sắc ký miễn dịch.

Cần lưu ý rằng số lượng vùng phát hiện và loại kháng thể được đánh dấu chứa trong vùng đánh dấu không bị giới hạn ở một, và nhờ sử dụng các kháng thể tương ứng với nhiều chất cần phát hiện, có thể đo được hai hoặc nhiều kháng nguyên trên một dụng cụ xét nghiệm đơn lẻ.

Nền đỡ là vật liệu có khả năng giữ cố định kháng thể dùng để bắt giữ chất cần phát hiện (kháng nguyên), và nó cũng không ngăn cản sự di chuyển của chất lỏng theo chiều ngang. Tốt hơn là, nền đỡ là màng xốp mỏng (màng) có tác dụng mao dẫn, và là vật liệu có khả năng vận chuyển chất lỏng và các thành phần phân tán trong chất lỏng này theo sự hấp thụ. Vật liệu được sử dụng cho nền đỡ không bị giới hạn một cách cụ thể, và các ví dụ về vật liệu này bao gồm xenluloza, nitroxenluloza, xenluloza axetat, polyvinyliden diflorua (PVDF), sợi thủy tinh, nylon và polyketon. Trong số các vật liệu

này, màng mỏng hoặc màng nitroxenluloza được ưu tiên hơn. Màng, mà kháng thể được giữ cố định trên đó, được gọi là “màng giữ cố định kháng thể”.

Vùng đánh dấu bao gồm nền đỡ xốp chứa kháng thể được đánh dấu, và trong bản mô tả này, sợi thủy tinh, vải không dệt thường được sử dụng, và vật liệu tương tự, có thể được sử dụng làm vật liệu dùng cho nền đỡ. Tốt hơn là nền đỡ là miếng đệm có độ dày nằm trong khoảng từ khoảng 0,3 mm đến 0,6 mm, để nền đỡ này được tẩm một lượng lớn kháng thể được đánh dấu. Nền đỡ xốp được tẩm kháng thể được đánh dấu và sau đó được làm khô còn được gọi là miếng đệm khô.

Để đánh dấu kháng thể được đánh dấu, enzym như phosphatasa kiềm hoặc peroxidaza cải ngựa, keo kim loại như keo vàng, hạt silic oxit, hạt xenluloza, hạt polystyren mang màu, hạt mủ cao su mang màu, v.v., được sử dụng trong nhiều trường hợp. Khi hạt keo kim loại hoặc hạt mang màu như hạt polystyren mang màu hoặc hạt mủ cao su mang màu được sử dụng, màu được làm hiện bằng cách kết khối thuốc thử đánh dấu này. Nhờ vậy, màu được làm hiện theo cách đó được đo. Các hạt, mà kháng thể được giữ cố định trên đó, được gọi là các hạt giữ cố định kháng thể.

Vùng phát hiện dùng để chỉ vùng của nền đỡ mà giữ cố định kháng thể dùng để bắt giữ chất cần phát hiện (kháng nguyên) trên đó. Ở vùng phát hiện này, ít nhất một vùng giữ cố định kháng thể dùng để bắt giữ kháng nguyên được bố trí. Vùng phát hiện có thể được chứa trong nền đỡ, và kháng thể có thể được giữ cố định trên nền đỡ này.

Miếng đệm chứa mẫu là nơi mà mẫu xét nghiệm được đưa lên đó, và là vật liệu xốp. Miếng đệm chứa mẫu nằm ở vị trí đầu tiên (đầu nguồn) của dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch. Vật liệu có thể được sử dụng cho miếng đệm chứa mẫu là sợi, sợi thủy tinh, vải không dệt thường được sử dụng, v.v.. Để sử dụng một lượng lớn mẫu xét nghiệm trong thử nghiệm miễn dịch, tốt hơn là miếng đệm chứa mẫu là miếng đệm có độ dày nằm trong khoảng từ khoảng 0,3 mm đến 1 mm. Mẫu xét nghiệm cũng bao gồm mẫu được tạo ra bằng cách sử dụng mẫu xét nghiệm, như mẫu thu được bằng cách tạo huyền phù mẫu xét nghiệm trong dung dịch khác.

Dải hấp thụ là bộ phận để hấp thụ các thành phần được cấp lên nền đỡ và không liên quan đến phản ứng ở vùng phát hiện. Vật liệu dùng cho dải hấp thụ có thể được sử dụng là màng lọc, bột xốp có khả năng giữ nước cao hoặc vật liệu tương tự, bao gồm hợp chất tự nhiên thông thường có phân tử lượng cao, hợp chất tổng hợp có phân tử

lượng cao, v.v.. Để đẩy mạnh sự tiến triển của mẫu xét nghiệm, tốt hơn là vật liệu có khả năng hấp thụ nước cao được sử dụng làm dải hấp thụ.

Tấm lưng là bộ phận được sử dụng để gắn kết và/hoặc giữ cố định tất cả các vật liệu nêu trên, nghĩa là, nền đỡ, miếng đệm chứa mẫu, vùng đánh dấu, dải hấp thụ và bộ phận tương tự, trong đó các vật liệu này gói một phần lên nhau. Tấm lưng không nhất thiết phải có, nếu các vật liệu này được sắp đặt và được giữ cố định với khoảng cách tối ưu. Tuy nhiên, nhìn chung, tốt hơn là tấm lưng được sử dụng để thuận tiện hoặc dễ sản xuất hoặc dễ sử dụng.

Trong dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo sáng chế, vùng hiển thị đối chứng (bộ phận) cũng có thể có mặt. Vùng hiển thị đối chứng là nơi thể hiện rằng thử nghiệm được thực hiện chính xác. Ví dụ, vùng hiển thị đối chứng nằm ở vị trí sau vùng phát hiện, và phát ra các tín hiệu như sự tạo màu, khi mẫu xét nghiệm được cho đi qua vùng phát hiện và đi tới vùng hiển thị đối chứng. Trên vùng hiển thị đối chứng này, chất liên kết với kháng thể liên kết chất mang được đánh dấu có thể được tạo pha rắn, hoặc thuốc thử như chất chỉ thị độ pH, mà màu của nó thay đổi khi mẫu xét nghiệm đi tới, cũng có thể được tạo pha rắn. Khi kháng thể liên kết chất mang được đánh dấu này là kháng thể đơn dòng của chuột nhắt, thì kháng thể kháng IgG của chuột nhắt có thể được sử dụng.

Kích thước của dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch không bị giới hạn. Ví dụ, chiều cao của nó nằm trong khoảng từ vài cm đến lớn hơn 10 và nhỏ hơn 20 cm, và chiều rộng của nó nằm trong khoảng từ khoảng vài mm đến vài cm.

Trong dụng cụ xét nghiệm có dạng nêu trên, mẫu xét nghiệm được cho đi qua kênh dòng chảy xấp xỉ được tạo ra bằng cách kết nối một chuỗi các bộ phận, như miếng đệm chứa mẫu, vùng đánh dấu, nền đỡ, vùng phát hiện, dải hấp thụ và bộ phận tương tự, với nhau. Theo đó, theo phương án này, tất cả các bộ phận này cấu thành vùng di chuyển mẫu xét nghiệm. Cũng có thể có phương án trong đó mẫu xét nghiệm không thâm nhập vào các vật liệu cấu thành mà đi qua bề mặt phân cách, tùy thuộc vào các vật liệu hoặc dạng của các vật liệu cấu thành. Tuy nhiên, vì vùng di chuyển mẫu xét nghiệm nêu trong bản mô tả sáng chế này không liên quan đến việc mẫu xét nghiệm đi vào trong vật liệu hay đi qua bề mặt phân cách, nên dụng cụ xét nghiệm có phương án nêu trên cũng được bao hàm trong phạm vi của sáng chế này.

Trong trường hợp đo kháng nguyên chuỗi đường trong mẫu xét nghiệm bằng cách sử dụng dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo sáng chế, trước tiên cần phải chiết kháng nguyên chuỗi đường trong mẫu xét nghiệm. Việc chiết kháng nguyên chuỗi đường được thực hiện bằng cách xử lý mẫu xét nghiệm chứa kháng nguyên chuỗi đường bằng axit nitơ. Axit nitơ có thể được tạo ra bằng cách trộn nitrit như natri nitrit với axit, và mẫu xét nghiệm chứa kháng nguyên chuỗi đường có thể được xử lý bằng axit nitơ được tạo ra theo cách này. Kháng nguyên được chiết liên kết với kháng thể được giữ cố định trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch thông qua phản ứng kháng nguyên-kháng thể. Về vấn đề này, hệ phản ứng sẽ trở nên có tính axit mạnh nếu axit nitơ vẫn còn lại trong hệ phản ứng, khiến cho phản ứng kháng nguyên-kháng thể bị ức chế. Do đó, cần phải trung hòa axit nitơ trong hệ phản ứng này.

Trong phương pháp đo kháng nguyên chuỗi đường bằng cách trộn nitrit với axit để tạo ra axit nitơ, chiết kháng nguyên chuỗi đường từ mẫu xét nghiệm bằng axit nitơ, trung hòa axit nitơ, và sau đó cho kháng nguyên chuỗi đường liên kết với kháng thể được giữ cố định trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo sáng chế, các ví dụ về phương pháp chiết và đo kháng nguyên chuỗi đường bao gồm các phương pháp sau đây. Trong phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp này, bước chiết kháng nguyên chuỗi đường bằng axit nitơ và bước trung hòa được thực hiện trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch. Để thực hiện bước chiết kháng nguyên chuỗi đường bằng axit nitơ trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này có thể được tẩm thuốc thử axit hoặc nitrit. Để thực hiện bước trung hòa trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này có thể được tẩm thuốc thử trung hòa.

(A) Mẫu xét nghiệm được trộn trước với dung dịch axit, và hỗn hợp này được đưa lên miếng đệm chứa mẫu của dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch được tẩm nitrit và thuốc thử trung hòa. Khi dung dịch đã được trộn đi tới vùng tẩm nitrit, nitrit phản ứng với axit để tạo ra axit nitơ, sao cho kháng nguyên chuỗi đường trong mẫu xét nghiệm được chiết. Chiết phẩm của kháng nguyên chuỗi đường được trung hòa ở vùng tẩm thuốc thử trung hòa trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, và kháng nguyên chuỗi đường liên kết với kháng thể được giữ cố định trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này và nhờ đó có thể được phát hiện. Trong phương pháp này, các ví dụ về dung

dịch axit được sử dụng bao gồm axit axetic, axit clohydric, axit malonic, axit malic, axit maleic, axit xitric và axit tartric.

(B) Mẫu xét nghiệm được trộn trước với dung dịch nitrit, và hỗn hợp này được đưa lên miếng đệm chứa mẫu của dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch được tẩm thuốc thử axit và thuốc thử trung hòa. Khi dung dịch đã được trộn đi tới vùng tẩm thuốc thử axit, nitrit phản ứng với axit để tạo ra axit nitơ, sao cho kháng nguyên chuỗi đường trong mẫu xét nghiệm được chiết. Chiết phẩm của kháng nguyên chuỗi đường được trung hòa ở vùng tẩm thuốc thử trung hòa trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch trung hòa, và kháng nguyên chuỗi đường liên kết với kháng thể được giữ cố định trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này và nhờ đó có thể được phát hiện.

Trong dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo sáng chế để thực hiện phương pháp (A) hoặc (B) nêu trên, thuốc thử axit rắn hoặc nitrit được tẩm ở vị trí trước vùng đánh dấu (ở vị trí trước dọc theo dòng chảy của mẫu xét nghiệm, nơi có miếng đệm chứa mẫu), nghĩa là, ở miếng đệm chứa mẫu. Theo cách khác, dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch trong đó nitrit được tẩm ở miếng đệm chứa mẫu có thể được sử dụng trong phương pháp (A) nêu trên. Tương tự, dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch trong đó thuốc thử axit được tẩm ở miếng đệm chứa mẫu có thể được sử dụng trong phương pháp (B) nêu trên. Cần lưu ý rằng thuốc thử axit rắn được sử dụng làm thuốc thử axit. Theo các phương pháp này, chất cần phát hiện trong mẫu xét nghiệm có thể được đo một cách chính xác và đặc hiệu, bất kể lượng mẫu xét nghiệm được xét nghiệm.

Thuốc thử axit rắn hoặc nitrit có thể được tẩm vào miếng đệm chứa mẫu, hoặc có thể được tẩm vào miếng đệm làm bằng vật liệu xốp khác với miếng đệm chứa mẫu, như vải không dệt, và vật liệu xốp tẩm thuốc thử axit rắn hoặc vật liệu xốp tẩm nitrit thu được có thể được đặt giữa miếng đệm chứa mẫu và vùng đánh dấu, nghĩa là, nằm ở vị trí trước vùng đánh dấu. Trong bản mô tả này, vùng tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit có thể được cho tiếp xúc hoặc có thể không được cho tiếp xúc với miếng đệm chứa mẫu hoặc vùng đánh dấu.

Theo sáng chế, vùng tẩm thuốc thử còn được gọi là miếng đệm tẩm thuốc thử.

Thuốc thử trung hòa được đặt ở vị trí sau vùng tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit. Thuốc thử trung hòa có thể được tẩm vào miếng đệm chứa mẫu, hoặc có thể được tẩm vào nền đỡ, hoặc có thể được tẩm vào miếng đệm làm bằng vật liệu xốp khác với nền

đỡ, như vải không dệt, và vật liệu xốp tẩm thuốc thử trung hòa thu được có thể được đặt giữa vùng tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit và vùng đánh dấu. Tức là, dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này có vùng tẩm thuốc thử trung hòa nằm ở vị trí trước vùng đánh dấu, và còn có vùng tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit nằm ở vị trí trước vùng tẩm thuốc thử trung hòa.

Trong bản mô tả này, vùng tẩm thuốc thử trung hòa có thể được cho tiếp xúc hoặc có thể không được cho tiếp xúc với vùng tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit hoặc vùng đánh dấu.

Các ví dụ về vật liệu xốp được sử dụng ở vùng tẩm thuốc thử trung hòa bao gồm vật liệu xốp là vải dệt có khối lượng cơ sở nằm trong khoảng từ 10 đến 400 g/m² và độ dày nằm trong khoảng từ 0,1 đến 2,0 mm, hấp thụ nước với lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 100 µL/cm² trên mỗi cm/m², có tốc độ hấp thụ nước nằm trong khoảng từ 1,0 đến 5,0 µL/giây, giữ nước với lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 100 µL/cm² sau khi cho mảnh 1 cm/m² tiếp xúc ở trạng thái ướt với màng và để yên trong 5 phút, và tốt hơn là có diện tích lan chất lỏng là 20 mm² hoặc nhỏ hơn sau khi cho mảnh 1 cm/m² tiếp xúc ở trạng thái ướt với màng và để yên trong 5 phút, nghĩa là có ba tính chất là có khả năng hấp thụ nước cao, có khả năng giữ nước (khả năng giữ chất lỏng) cao, và có khả năng giải phóng chất lỏng thấp hoặc khả năng giải phóng chất lỏng duy trì liên tục. Các ví dụ cụ thể về chúng bao gồm màng lọc làm bằng sợi bông xenluloza và màng lọc thủy tinh làm bằng sợi thủy tinh. Các ví dụ về màng lọc này bao gồm No. 26-3 của Toyo Roshi Kaisha, Ltd. Ngoài ra, màng lọc được sử dụng có sức chứa lớn và có thể giữ lại đủ dung dịch axit để đi tới màng lọc muộn hơn so với mẫu xét nghiệm từ phần nằm ở vị trí trước. Nhờ sử dụng vật liệu xốp này, thuốc thử trung hòa có thể được tẩm trong đó với lượng có thể trung hòa thỏa đáng mẫu xét nghiệm mà kháng nguyên chuỗi đường được chiết từ đó bằng axit nitơ được tạo ra thông qua phản ứng của nitrit với thuốc thử axit. Ngoài ra, miếng đệm có thể hấp thụ và giữ lại một lượng lớn chất lỏng và duy trì tính chất có khả năng giải phóng. Vì vậy, nếu chất lỏng chứa axit nitơ còn lại ở phần nằm ở vị trí trước của dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch được tiến triển tại hoặc sau thời điểm đánh giá, thì miếng đệm có thể có khả năng trung hòa thỏa đáng và có thể ngăn không cho dung dịch axit này đi tới vùng phát hiện mà kháng thể được giữ cố định trên đó. Kết quả là, phản ứng không đặc hiệu được ngăn chặn, và kháng

nguyên chuỗi đường có thể được phát hiện mà không gây ra phản ứng không đặc hiệu này. Mặt khác, các ví dụ cụ thể về màng lọc thủy tinh có khả năng hấp thụ nước cao, có khả năng giữ nước cao và có khả năng giải phóng thấp bao gồm GS-25 của Toyo Roshi Kaisha, Ltd., màng lọc này có thể được tẩm một lượng lớn thuốc thử trung hòa nhờ tính chất có khả năng hấp thụ nước cao, và ngăn không cho dung dịch axit đi tới vùng phát hiện được giữ cố định nhờ tính chất có khả năng giữ nước cao và tính chất có khả năng giải phóng nước thấp. Kết quả là, phản ứng không đặc hiệu có thể được ngăn chặn trong trường hợp âm tính, và sự hiện màu của vạch có thể được ngăn chặn tại hoặc sau thời điểm đánh giá trong trường hợp dương tính.

"Khối lượng cơ sở" của vật liệu xốp được sử dụng ở vùng tẩm thuốc thử trung hòa nằm trong khoảng từ 10 đến 400 g/m². Trong bản mô tả này, "khối lượng cơ sở" chỉ khối lượng tính trên một đơn vị diện tích (1 m²) của vải hoặc vật liệu tương tự. Khối lượng cơ sở có thể được thay đổi một cách thích hợp bằng cách điều chỉnh lượng hoặc thành phần của thuốc thử trung hòa được tẩm vào miếng đệm. Nếu khối lượng cơ sở là 30 g/m² hoặc nhỏ hơn, thì vật liệu xốp có độ xốp cao và dễ bị rách khi tẩm thuốc thử trung hòa, và do đó khó thao tác trong quá trình sản xuất sắc ký miễn dịch. Vì vậy, tốt hơn là khối lượng cơ sở là 50 g/m² hoặc lớn hơn. Nếu khối lượng cơ sở là 300 g/m² hoặc lớn hơn, thì vật liệu xốp có độ xốp thấp và không cho phép mẫu xét nghiệm thâm nhập dễ dàng vào vật liệu, mặc dù tùy thuộc vào thành phần của thuốc thử trung hòa, khiến cho mẫu xét nghiệm không thể được trộn với thuốc thử trung hòa. Vì vậy, tốt hơn là khối lượng cơ sở là 300 g/m² hoặc nhỏ hơn. Tốt nhất là khối lượng cơ sở nằm trong khoảng từ 250 đến 270 g/m².

"Độ dày" của vật liệu xốp được sử dụng ở vùng tẩm thuốc thử trung hòa tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,1 đến 2,0 mm. Độ dày này có thể được thay đổi một cách thích hợp bằng cách điều chỉnh lượng hoặc thành phần của thuốc thử trung hòa được tẩm vào miếng đệm. Nếu độ dày là 0,4 mm hoặc nhỏ hơn, thì vật liệu xốp dễ bị rách khi tẩm thuốc thử trung hòa, và do đó khó thao tác trong quá trình sản xuất sắc ký miễn dịch. Vì vậy, tốt hơn là độ dày nằm trong khoảng từ 0,4 đến 0,8 mm và tốt hơn nữa là khoảng 0,6 mm khi xem xét đến mức độ dễ dàng điều chỉnh lượng thuốc thử trung hòa được tẩm và mức độ dễ dàng thao tác trong quá trình sản xuất sắc ký miễn dịch.

Tính chất "có khả năng hấp thụ nước" tốt hơn là nằm trong khoảng từ 10 đến 100 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ đối với lượng nước được hấp thụ trên mỗi cm/m^2 , và từ 1,0 đến 5,0 $\mu\text{L}/\text{giây}$ đối với tốc độ hấp thụ nước. Lượng nước được hấp thụ và tốc độ hấp thụ nước được xác định bằng cách chuẩn bị 200 μL dung dịch màu (Tween 20 1% + Red No. 102) trong một ô của đĩa EIA loại 96 lỗ, đặt vào đó dụng cụ xét nghiệm trong đó vật liệu có kích thước nằm trong khoảng từ $5 \times 60 \text{ mm}$ được gắn vào tấm lưng, đo thời gian để dung dịch này đi tới đầu trên của dụng cụ xét nghiệm (đầu của dụng cụ xét nghiệm nhúng trong dung dịch được định nghĩa là đầu dưới), tiếp tục lấy dụng cụ xét nghiệm ra khỏi dung dịch ngay sau khi dung dịch đi tới đầu trên, và đo lượng chất lỏng còn lại trong ô. Lượng nước được hấp thụ là lượng chất lỏng được tính bằng cách trừ lượng chất lỏng còn lại trong ô ra khỏi 200 μL , và chia giá trị thu được cho 1 cm^2 diện tích của vật liệu. Tốc độ hấp thụ nước được xác định theo lượng nước được hấp thụ / thời gian cần để đi tới đầu trên. Tốt hơn là vật liệu xốp được sử dụng ở vùng tấm thuốc thử trung hòa là vật liệu có lượng nước được hấp thụ lớn hơn và tốc độ hấp thụ nước chậm hơn. Nếu lượng nước được hấp thụ là 30 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ hoặc nhỏ hơn, mặc dù tùy thuộc vào nồng độ và hàm lượng nước của thuốc thử axit rắn, nhưng lượng thuốc thử trung hòa được tẩm được cho là có thể không đạt tới lượng cần thiết cho dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch. Cụ thể, tốt hơn là lượng nước được hấp thụ là 30 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ hoặc lớn hơn. Tốc độ hấp thụ nước của vật liệu xốp được sử dụng ở vùng tấm thuốc thử trung hòa ảnh hưởng đến thời gian cần để chiết kháng nguyên chuỗi đường từ mẫu xét nghiệm, và thời gian cần để trung hòa dung dịch xét nghiệm sau khi chiết. Thời gian cần để chiết kháng nguyên chuỗi đường có thể được điều chỉnh đến mức độ nhất định, nhưng không hoàn toàn, bằng cách điều chỉnh vật liệu hoặc thành phần của thuốc thử axit rắn. Vì vậy, tốc độ hấp thụ nước của vật liệu xốp được sử dụng ở vùng tấm thuốc thử trung hòa là yếu tố quan trọng để chiết kháng nguyên chuỗi đường một cách thỏa đáng và trung hòa. Cụ thể, tốt hơn là tốc độ hấp thụ nước nằm trong khoảng từ 1,0 đến 5,0 $\mu\text{L}/\text{giây}$. Tốt hơn nữa là tốc độ hấp thụ nước là 2,0 $\mu\text{L}/\text{giây}$ hoặc nhỏ hơn.

Tính chất "có khả năng giữ nước" được xác định bằng cách đặt, lên màng, mảnh 1 cm/m^2 thu được từ vật liệu xốp được sử dụng ở vùng tấm thuốc thử trung hòa, thêm vào đó 70 μL dung dịch (Tween 20 1% + Red No. 102), và đo khối lượng của màng trước và sau khi màng được để yên trong 5 phút. Lượng chất lỏng đối với tính chất có khả năng giữ nước thay đổi tùy thuộc vào thành phần (chất hoạt động bề mặt hoặc

protein) của dung dịch được thêm vào. Trong trường hợp thử nghiệm sử dụng dung dịch Tween 20 1%, lượng nước được giữ tốt hơn là nằm trong khoảng từ 10 đến 100 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$. Lượng nước được giữ tốt hơn nữa là 15 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ hoặc lớn hơn.

Tính chất "có khả năng giải phóng" được đo bằng cách đặt, lên màng, mảnh 1 cm/m^2 thu được từ vật liệu xốp được sử dụng ở vùng tẩm thuốc thử trung hòa, thêm vào đó 70 μL dung dịch (Tween 20 1% + Red No. 102), và xác định diện tích chất lỏng lan trên màng sau khi màng được để yên trong 5 phút. Diện tích này thay đổi tùy thuộc vào thành phần (chất hoạt động bề mặt hoặc protein) của dung dịch được thêm vào. Trong trường hợp thử nghiệm sử dụng dung dịch Tween 20 1%, diện tích này là 30 mm^2 hoặc nhỏ hơn. Tính chất "có khả năng giải phóng" tốt hơn nữa là 20 mm^2 hoặc nhỏ hơn so với diện tích này.

Cụ thể, sáng chế bao gồm các khía cạnh sau đây.

[1] Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch dùng để chiết và đo kháng nguyên chuỗi đường trong mẫu xét nghiệm, trong đó dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này bao gồm: miếng đệm chứa mẫu mà mẫu xét nghiệm trộn với nitrit hoặc dung dịch axit được đưa lên đó; vùng đánh dấu chứa kháng thể được đánh dấu thu được bằng cách đánh dấu kháng thể kháng kháng nguyên chuỗi đường; và vùng phát hiện mà kháng thể kháng kháng nguyên chuỗi đường được giữ cố định trên đó, trong đó phức hợp kháng thể-kháng thể được đánh dấu bằng kháng nguyên chuỗi đường được tạo ra ở vùng phát hiện để đo kháng nguyên chuỗi đường, và dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này có vùng tẩm thuốc thử trung hòa nằm ở vị trí trước vùng đánh dấu, và còn có vùng tẩm thuốc thử axit rắn khi mẫu xét nghiệm trộn với nitrit được sử dụng, hoặc vùng tẩm nitrit khi mẫu xét nghiệm trộn với dung dịch axit được sử dụng, nằm ở vị trí trước vùng tẩm thuốc thử trung hòa, trong đó:

vật liệu dùng cho vùng tẩm thuốc thử trung hòa là màng lọc hoặc màng lọc thủy tinh có ba tính chất là có khả năng hấp thụ cao, có khả năng giữ nước cao, và có khả năng giải phóng thấp hoặc có khả năng giải phóng duy trì liên tục, và

nhờ tính chất có khả năng hấp thụ nước cao và tính chất có khả năng giữ nước cao của vùng tẩm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit chứa kháng nguyên chuỗi đường được trung hòa một cách thỏa đáng, và nhờ tính chất có khả năng giải phóng thấp hoặc tính chất có khả năng giải phóng duy trì liên tục của vùng tẩm thuốc thử trung hòa, dung

dịch axit còn lại được ngăn không cho đi tới vùng phát hiện, hoặc dung dịch xét nghiệm đã được trung hòa một cách thỏa đáng được tiến triển liên tục tới vùng phát hiện, sao cho phản ứng không đặc hiệu được ngăn chặn.

[2] Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch dùng để chiết và đo kháng nguyên chuỗi đường trong mẫu xét nghiệm, trong đó dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này bao gồm: miếng đệm chứa mẫu mà mẫu xét nghiệm trộn với nitrit hoặc dung dịch axit được đưa lên đó; vùng đánh dấu chứa kháng thể được đánh dấu thu được bằng cách đánh dấu kháng thể kháng kháng nguyên chuỗi đường; và vùng phát hiện mà kháng thể kháng kháng nguyên chuỗi đường được giữ cố định trên đó, trong đó phức hợp kháng thể-kháng thể được đánh dấu bằng kháng nguyên chuỗi đường được tạo ra ở vùng phát hiện để đo kháng nguyên chuỗi đường, và dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này có vùng tấm thuốc thử trung hòa nằm ở vị trí trước vùng đánh dấu, và còn có vùng tấm thuốc thử axit rắn khi mẫu xét nghiệm trộn với nitrit được sử dụng, hoặc vùng tấm nitrit khi mẫu xét nghiệm trộn với dung dịch axit được sử dụng, nằm ở vị trí trước vùng tấm thuốc thử trung hòa, trong đó:

vật liệu dùng cho vùng tấm thuốc thử trung hòa là vải dệt có khối lượng cơ sở nằm trong khoảng từ 10 đến 400 g/m² và độ dày nằm trong khoảng từ 0,1 đến 2,0 mm.

[3] Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo mục [1] hoặc [2] nêu trên, trong đó vải dệt hấp thụ nước với lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 100 µL/cm² trên mỗi cm/m², có tốc độ hấp thụ nước nằm trong khoảng từ 1,0 đến 5,0 µL/giây, giữ nước với lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 100 µL/cm² sau khi cho mảnh 1 cm/m² tiếp xúc ở trạng thái ướt với vùng phát hiện và để yên trong 5 phút, và có diện tích lan chất lỏng là 20 mm² hoặc nhỏ hơn sau khi cho mảnh 1 cm/m² tiếp xúc ở trạng thái ướt với màng và để yên trong 5 phút.

[4] Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [3] nêu trên, trong đó nhờ tính chất có khả năng hấp thụ nước cao và tính chất có khả năng giữ nước cao của vùng tấm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit chứa kháng nguyên chuỗi đường được trung hòa một cách thỏa đáng, và nhờ tính chất có khả năng giải phóng duy trì liên tục của vùng tấm thuốc thử trung hòa, khả năng trung hòa thỏa đáng được duy trì ngay cả khi dung dịch axit còn lại đi tới vùng phát hiện, sao cho phản ứng không đặc hiệu được ngăn chặn.

[5] Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [4] nêu trên, trong đó nhờ tính chất có khả năng hấp thụ nước cao và tính chất có khả năng giữ nước cao của vùng tẩm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit chứa kháng nguyên chuỗi đường được trung hòa một cách thỏa đáng, và nhờ tính chất có khả năng giải phóng thấp của vùng tẩm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit còn lại được ngăn không cho đi tới vùng phát hiện, sao cho phản ứng không đặc hiệu được ngăn chặn trong trường hợp âm tính, và sự hiện màu của vạch được ngăn chặn tại hoặc sau thời điểm đánh giá trong trường hợp dương tính.

[6] Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [5] nêu trên, trong đó vùng tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit có mặt trên miếng đệm chứa mẫu hoặc trên miếng đệm có vùng đánh dấu được đưa lên đó.

[7] Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [6] nêu trên, trong đó thuốc thử axit rắn được chọn từ nhóm bao gồm axit malonic, axit malic, axit maleic, axit xitric và axit tartaric.

[8] Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [7] nêu trên, trong đó thuốc thử trung hòa là tris(hydroxymetyl)aminometan hoặc natri hydroxit.

[9] Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [8] nêu trên, trong đó kháng nguyên chuỗi đường là kháng nguyên chuỗi đường của động vật nguyên sinh, vi nấm, vi khuẩn, mycoplasma, rickettsia, chlamydia hoặc virus.

[10] Phương pháp đo kháng nguyên chuỗi đường trong mẫu xét nghiệm theo phương pháp sắc ký miễn dịch sử dụng dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [9] nêu trên, trong đó phương pháp này bao gồm các bước: trộn mẫu xét nghiệm với dung dịch axit nitơ khi dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch có vùng tẩm thuốc thử axit rắn, hoặc trộn mẫu xét nghiệm với dung dịch axit khi dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch có vùng tẩm nitrit, và đưa hỗn hợp này lên miếng đệm chứa mẫu của dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, trong đó trong phương pháp sắc ký miễn dịch này:

kháng nguyên chuỗi đường được chiết từ mẫu xét nghiệm nhờ hoạt động của axit nitơ được tạo ra thông qua phản ứng của nitrit với thuốc thử axit rắn ở vùng tẩm thuốc thử

axit rắn hoặc vùng tẩm nitrit, dung dịch axit chứa kháng nguyên chuỗi đường được trung hòa ở vùng tẩm thuốc thử trung hòa, và

phức hợp kháng thể-kháng thể được đánh dấu bằng kháng nguyên chuỗi đường được tạo ra ở vùng phát hiện, và trong đó:

nhờ tính chất có khả năng hấp thụ nước cao và tính chất có khả năng giữ nước cao của vùng tẩm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit chứa kháng nguyên chuỗi đường được trung hòa một cách thỏa đáng, và nhờ tính chất có khả năng giải phóng thấp hoặc tính chất có khả năng giải phóng duy trì liên tục của vùng tẩm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit còn lại được ngăn không cho đi tới vùng phát hiện, hoặc dung dịch xét nghiệm đã được trung hòa một cách thỏa đáng được thêm liên tục vào vùng phát hiện, sao cho phản ứng không đặc hiệu được ngăn chặn.

Vùng tẩm thuốc thử axit rắn được gọi là vùng chứa thuốc thử axit rắn, vùng tẩm nitrit được gọi là vùng chứa nitrit, và vùng tẩm thuốc thử trung hòa được gọi là vùng chứa thuốc thử trung hòa hoặc vùng chứa thuốc thử có tính bazơ.

Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch có vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa nitrit và vùng chứa thuốc thử trung hòa có, trên nền đỡ, miếng đệm chứa mẫu, vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa nitrit, vùng chứa thuốc thử trung hòa, vùng đánh dấu, vùng phát hiện và dải hấp thụ, tính từ vị trí đầu tiên (đầu nguồn) của nó, và vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa nitrit có thể nằm trên miếng đệm chứa mẫu. Ngoài ra, miếng đệm chứa mẫu, vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa nitrit, vùng chứa thuốc thử trung hòa, vùng đánh dấu, vùng phát hiện và dải hấp thụ có thể được cho tiếp xúc hoặc có thể không được cho tiếp xúc với vùng liền kề với nó.

Thuốc thử axit rắn được sử dụng theo sáng chế ở trạng thái rắn ở nhiệt độ bình thường và không bay hơi ở nhiệt độ cao.

Các ví dụ về thuốc thử axit rắn được ưu tiên sử dụng theo sáng chế có thể bao gồm axit malonic, axit malic, axit maleic, axit xitric và axit tartric.

Nếu axit có hóa trị cao hơn, ví dụ, axit xitric, được sử dụng làm thuốc thử axit rắn được ưu tiên theo sáng chế, thì việc chiết có thể được thực hiện với lượng axit nhỏ hơn. Mặt khác, nếu hóa trị của axit là như nhau, thì, ví dụ, axit maleic hoặc axit tartric có hằng số phân ly axit nhỏ hơn sẽ có hiệu quả hơn.

Tương tự, tốt hơn là thuốc thử axit rắn được sử dụng theo sáng chế là thuốc thử không bị tạo màu trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, và đặc biệt hơn là thuốc thử có màu trắng ở trạng thái khô hoặc gần như không bị tạo màu bởi nhiệt khô hoặc oxy hóa.

Các ví dụ về nitrit được sử dụng theo sáng chế bao gồm natri nitrit và kali nitrit.

Lượng của thuốc thử axit rắn hoặc nitrit được sử dụng theo sáng chế, nghĩa là, lượng của thuốc thử axit rắn hoặc nitrit được tẩm vào dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch không bị giới hạn một cách cụ thể. Thông thường, lượng của thuốc thử axit rắn hoặc nitrit nằm trong khoảng từ khoảng 0,01 μg đến 1 mg, và tốt hơn là từ khoảng 0,1 μg đến 0,1 mg, đối với một dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch đơn lẻ. Tuy nhiên, tốt hơn nếu chọn lượng tối ưu, trong đó có thể thu được tác dụng tùy thuộc vào loại thuốc thử axit rắn hoặc nitrit được sử dụng, thành phần của huyền phù mẫu xét nghiệm, lượng được thêm vào, v.v..

Để tẩm miếng đệm chứa mẫu hoặc vật liệu xốp bằng thuốc thử axit rắn hoặc nitrit, thuốc thử axit rắn hoặc nitrit được hòa tan một lần trong dung dịch, và dung dịch thu được sau đó được cấp lên miếng đệm chứa mẫu hoặc vật liệu xốp và sau đó được làm khô.

Thuốc thử trung hòa được sử dụng theo sáng chế ở trạng thái rắn ở nhiệt độ bình thường và không bay hơi ở nhiệt độ cao.

Các ví dụ về thuốc thử trung hòa được ưu tiên sử dụng theo sáng chế bao gồm bazơ Tris (tris(hydroxymetyl)aminometan), natri hydroxit, dikali hydro phosphat, trinatri xitrat và chất đệm Good có khả năng đệm trong vùng kiềm.

Lượng của thuốc thử trung hòa được sử dụng theo sáng chế, nghĩa là, lượng của thuốc thử trung hòa được tẩm vào dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch không bị giới hạn một cách cụ thể. Thông thường, thuốc thử trung hòa được sử dụng với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 0,01 μg đến 1 mg, và tốt hơn là từ khoảng 0,1 μg đến 0,1 mg, đối với một dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch đơn lẻ. Tuy nhiên, tốt hơn nếu chọn lượng tối ưu, trong đó có thể thu được tác dụng tùy thuộc vào loại thuốc thử trung hòa được sử dụng, thành phần của huyền phù mẫu xét nghiệm, lượng được thêm vào, v.v..

Để tẩm vật liệu xốp bằng thuốc thử trung hòa, thuốc thử trung hòa có thể được hòa tan một lần trong dung dịch, dung dịch thu được sau đó có thể được cấp lên vật liệu xốp, và sau đó có thể được làm khô.

Fig.1 là hình vẽ thể hiện phương án được ưu tiên của dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch tiêu biểu. Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch được thể hiện trên Fig.1 là dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch được tẩm thuốc thử axit rắn và thuốc thử trung hòa. Tuy nhiên, nitrit có thể được tẩm thay cho thuốc thử axit rắn, và sản phẩm thu được là dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch được tẩm nitrit và thuốc thử trung hòa. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này có thể thiết kế và tạo ra dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch được tẩm nitrit và thuốc thử trung hòa một cách thích hợp. Cần lưu ý rằng dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch không bị giới hạn ở phương án được thể hiện trên Fig.1. Trên Fig.1, số chỉ dẫn 1 chỉ nền đỡ, số chỉ dẫn 2 chỉ vùng đánh dấu, số chỉ dẫn 3 chỉ vùng phát hiện, số chỉ dẫn 7 chỉ dải hấp thụ, và số chỉ dẫn 8 chỉ tấm lưng.

Fig.1A là hình vẽ nhìn từ trên xuống, và Fig.1B là hình vẽ mặt cắt ngang. Trong ví dụ được thể hiện trên Fig.1, vùng chứa thuốc thử axit rắn 5 và/hoặc vùng chứa thuốc thử trung hòa 6 có mặt ở vị trí trước vùng đánh dấu 2, và các vùng này gồ lên nhau, sao cho tạo ra kênh dòng chảy của dòng chảy ngang liên tục. Trong dụng cụ xét nghiệm được thể hiện trên Fig.1, vùng chứa thuốc thử axit rắn 5 cũng đóng vai trò làm miếng đệm chứa mẫu. Tức là, vùng chứa thuốc thử axit rắn có mặt trên miếng đệm chứa mẫu. Dụng cụ xét nghiệm này, trong đó vùng chứa thuốc thử axit rắn và vùng chứa thuốc thử trung hòa được bố trí dưới dạng hai vật liệu xốp (miếng đệm) khác nhau, còn được gọi là dụng cụ xét nghiệm loại hai miếng đệm. Miếng đệm chứa mẫu cũng có thể có mặt ở vị trí trước vùng chứa thuốc thử axit rắn.

Theo sáng chế, khi vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa nitrit và vùng chứa thuốc thử trung hòa gồ lên và tiếp xúc với nhau, thì tấm có thể tẩm chất lỏng được bố trí sao cho tấm này được kẹp giữa vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa nitrit và vùng chứa thuốc thử trung hòa. Việc bố trí tấm như vậy có thể tạo ra ba tác dụng sau.

(A) Sự di chuyển của thuốc thử giữa hai vùng liền kề có thể được ngăn chặn trong quá trình bảo quản dụng cụ xét nghiệm. Kết quả là, có thể ngăn chặn được phản ứng của

thuốc thử axit rắn hoặc nitrit với thuốc thử trung hòa do tiếp xúc. Kết quả là, độ ổn định của thuốc thử có thể được cải thiện.

(B) Khi mẫu xét nghiệm trộn với nitrit hoặc thuốc thử axit được đưa vào, có thể ngăn chặn được việc chiết không thỏa đáng kháng nguyên chuỗi đường do mẫu xét nghiệm đi tới vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa nitrit và ngay sau đó di chuyển tới vùng chứa thuốc thử trung hòa. Tức là, tốc độ di chuyển của chất lỏng chứa mẫu xét nghiệm từ vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa nitrit tới vùng chứa thuốc thử trung hòa được làm giảm, và thời gian mà chất lỏng chứa mẫu xét nghiệm nằm ở vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa nitrit được kéo dài. Kết quả là, kháng nguyên chuỗi đường được chiết một cách thỏa đáng, và độ nhạy phép đo được tăng cường.

(C) Khi mẫu xét nghiệm trộn với nitrit hoặc thuốc thử axit được đưa vào, chất lỏng chứa mẫu xét nghiệm mà đã đi tới vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa nitrit và ngay sau đó di chuyển tới vùng chứa thuốc thử trung hòa có thể được ngăn không cho chảy ngược lại vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa nitrit, làm giảm khả năng hoạt động của thuốc thử axit rắn hoặc nitrit, và làm giảm hiệu quả chiết. Tức là, chất lỏng chứa mẫu xét nghiệm sau khi đã đi tới vùng chứa thuốc thử trung hòa được ngăn không cho chảy ngược trở lại vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa nitrit và được ngăn không cho làm giảm khả năng hoạt động của thuốc thử axit rắn hoặc nitrit. Do đó, việc chiết kháng nguyên chuỗi đường bằng axit nitơ được để cho tiến hành một cách hiệu quả, và độ nhạy phép đo được tăng cường.

Vật liệu dùng cho tấm được bố trí giữa vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa nitrit và vùng chứa thuốc thử trung hòa không bị giới hạn miễn là vật liệu này là không thấm đối với chất lỏng. Ví dụ, tấm nhựa như tấm PET (polyetylen terephthalat) hoặc tấm polyetylen có thể được sử dụng. Tấm nhựa còn được gọi là màng nhựa.

Tấm này có thể được bố trí sao cho vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa nitrit và vùng chứa thuốc thử trung hòa được tiếp xúc một phần và gộp lên nhau. Trong trường hợp này, chiều dài của phần gộp giữa vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa nitrit và vùng chứa thuốc thử trung hòa tốt hơn là được giảm thiểu và bằng, ví dụ, 5 mm hoặc nhỏ hơn, tốt hơn là 3 mm hoặc nhỏ hơn, tốt hơn nữa là 2 mm hoặc nhỏ hơn.

Tấm này có thể được bố trí để không cho phép vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa nitrit và vùng chứa thuốc thử trung hòa tiếp xúc với nhau, và miếng

đệm tấm thuốc thử axit hoặc nitrit có thể có hình dạng nhô ra khỏi tấm PET. Trong trường hợp này, vùng trung hòa có thể được phủ hoàn toàn bằng tấm này, và vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa axit nitơ có thể được bố trí trên tấm này. Trong trường hợp này, chất lỏng ở vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa axit nitơ chảy trên tấm mà không di chuyển trực tiếp tới vùng trung hòa, và sau đó đi tới vùng chứa thuốc thử trung hòa.

Tấm này có thể được bố trí, ví dụ, chỉ giữa vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa nitrit và vùng chứa thuốc thử trung hòa. Mặt khác, khi tấm nhựa được gắn vào, dưới dạng tấm mỏng trên cùng, và bao phủ mặt trên của dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, tấm mỏng trên cùng này gắn vào và bao phủ vùng chứa thuốc thử trung hòa, vùng đánh dấu, nền đỡ, vùng phát hiện và dải hấp thụ, ngoại trừ vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa axit nitơ và cũng ngoại trừ miếng đệm chứa mẫu khi vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa axit nitơ cũng đóng vai trò làm miếng đệm chứa mẫu. Vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa nitrit có thể gắn vào phần trên của tấm mỏng trên cùng mà gắn vào phần trên của phần chứa thuốc thử trung hòa. Fig. 2 và Fig.3 thể hiện cấu trúc của dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này.

Phương pháp sử dụng dụng cụ xét nghiệm theo sáng chế sẽ được mô tả dựa trên cơ sở dạng được thể hiện trên Fig.2 và Fig.3. Phương pháp sử dụng nêu dưới đây là phương pháp trộn mẫu xét nghiệm với dung dịch axit nitơ và thực hiện việc đo bằng cách sử dụng dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch được tấm thuốc thử axit rắn và thuốc thử trung hòa. Phương pháp trộn mẫu xét nghiệm với dung dịch axit và thực hiện việc đo bằng cách sử dụng dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch được tấm nitrit và thuốc thử trung hòa cũng có thể được thực hiện với tham chiếu đến phần mô tả về phương pháp sử dụng nêu dưới đây.

Mẫu xét nghiệm hoặc mẫu được tạo ra bằng cách sử dụng mẫu xét nghiệm được cho tiếp xúc và được trộn với dung dịch nitrit, và mẫu xét nghiệm được tạo huyền phù trong dung dịch nitrit, và huyền phù này sau đó được cho vào vùng chứa thuốc thử axit rắn 5 mà cũng đóng vai trò là miếng đệm chứa mẫu, để bắt đầu đo. Tại thời điểm này, 5 đến 100 μL mẫu xét nghiệm có thể được trộn với 0,01 đến 2 mL nitrit 0,1 M đến 8 M, và sau đó 5 đến 200 μL hỗn hợp này có thể được cho vào vùng chứa thuốc thử axit rắn

5 mà cũng đóng vai trò là miếng đệm chứa mẫu. Các ví dụ về nitrit bao gồm natri nitrit và kali nitrit.

Mẫu xét nghiệm chứa kháng nguyên chuỗi đường là chất cần phát hiện, mà được đưa vào vùng chứa thuốc thử axit rắn 5 mà cũng đóng vai trò là miếng đệm chứa mẫu, được tiến triển tới vùng chứa thuốc thử axit rắn 5 mà cũng đóng vai trò là miếng đệm chứa mẫu, và vùng chứa thuốc thử trung hòa 6 theo tác dụng mao dẫn. Tại thời điểm này, tấm mỏng trên cùng, là tấm PET, có mặt giữa vùng chứa thuốc thử axit rắn 5 và vùng chứa thuốc thử trung hòa 6. Nhờ tấm này, dòng chảy của mẫu xét nghiệm từ vùng chứa thuốc thử axit rắn 5 tới vùng chứa thuốc thử trung hòa 6 được ngăn chặn, và mẫu xét nghiệm mà đã đi tới vùng chứa thuốc thử trung hòa 6 có thể được ngăn không cho chảy ngược trở lại vùng chứa thuốc thử axit rắn 5. Sau đó, mẫu xét nghiệm được tiến triển liên tiếp tới vùng đánh dấu 2, nền đỡ 1 và dải hấp thụ 7 theo chiều ngang. Ở vùng chứa thuốc thử axit rắn 5, nitrit trộn với mẫu xét nghiệm phản ứng với thuốc thử axit rắn trên vùng chứa thuốc thử axit rắn 5 để tạo ra axit nitơ tự do, sao cho kháng nguyên chuỗi đường được chiết từ mẫu xét nghiệm nhờ hoạt động của axit nitơ này. Kháng nguyên chuỗi đường đã chiết được được tiến triển và di chuyển, cùng với dung dịch tiến triển có tính axit, tới vùng chứa thuốc thử trung hòa 6, và độ pH của dung dịch tiến triển có tính axit chứa kháng nguyên chuỗi đường được trung hòa tại vùng chứa thuốc thử trung hòa 6, sao cho nó được điều chỉnh đến khoảng giá trị trung tính. Kết quả là, kháng nguyên chuỗi đường tiếp tục được tiến triển và di chuyển tới vùng nằm ở vị trí sau trong điều kiện trung tính. Ở vùng đánh dấu 2, với sự tiến triển của mẫu xét nghiệm, kháng thể được đánh dấu được giải phóng vào chất lỏng, và sau đó nó được tiến triển tới nền đỡ 1. Khi kháng nguyên chuỗi đường có mặt trong mẫu xét nghiệm, kháng nguyên chuỗi đường này được bắt giữ đặc hiệu bởi kháng thể bắt giữ tại vùng phát hiện 3 trong nền đỡ 1, và kháng nguyên chuỗi đường này cũng phản ứng đặc hiệu với kháng thể được đánh dấu để tạo thành phức hợp. Nhờ đó, tại vùng phát hiện 3, có thể thực hiện được việc kẹp kháng thể thông qua kháng nguyên chuỗi đường, sao cho phức hợp kháng thể được đánh dấu-kháng nguyên chuỗi đường có thể được đo tại vùng phát hiện 3.

Theo phương pháp sử dụng dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo sáng chế, vì việc chiết kháng nguyên chuỗi đường từ mẫu xét nghiệm được thực hiện trên dụng

cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, nên không cần phải chiết trước kháng nguyên chuỗi đường từ mẫu xét nghiệm trước khi đo bằng dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, mà kháng nguyên chuỗi đường trong mẫu xét nghiệm có thể được đo chỉ bằng một bước đơn lẻ.

Trong phương pháp theo sáng chế, mẫu sinh học được sử dụng làm mẫu xét nghiệm không bị giới hạn một cách cụ thể. Các ví dụ về mẫu sinh học này bao gồm dịch cơ thể và mẫu tương tự như huyết thanh, huyết tương, máu, nước tiểu, phân, nước bọt, dịch mô, dịch tủy sống hoặc bông gạc, và sản phẩm pha loãng của chúng.

Trong phương pháp sử dụng thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế, chất cần phát hiện dưới dạng chất phân tích là kháng nguyên chuỗi đường, mà có thể được đo bằng thử nghiệm miễn dịch, nghĩa là, thử nghiệm sử dụng phản ứng kháng nguyên-kháng thể. Ví dụ về kháng nguyên này là polysaccharit mà là kháng nguyên chuỗi đường có mặt trên thành tế bào của vi khuẩn được chiết thông qua bước xử lý chiết bằng axit nitơ. Protozoa, vi nấm, vi khuẩn, mycoplasma, rickettsia, chlamydia, virus và các vi sinh vật khác chứa chất nêu trên cũng có thể được đo. Theo phương pháp sử dụng dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo sáng chế, có thể xác định được rằng kháng nguyên chuỗi đường thu được từ động vật nguyên sinh, vi nấm, vi khuẩn, mycoplasma, rickettsia, chlamydia, virus, v.v., có chứa trong mẫu sinh học của đối tượng hay không. Khi kháng nguyên chuỗi đường này được chứa trong mẫu sinh học, có thể xác định được rằng đối tượng có bị nhiễm động vật nguyên sinh, vi nấm, vi khuẩn, mycoplasma, rickettsia, chlamydia, virus, v.v., hay không. Ví dụ, liên cầu khuẩn tan huyết β nhóm A (*Streptococcus pyogenes*), có thể phát hiện được sự có hoặc không bị nhiễm *Escherichia coli*, *Legionella*, *Campylobacter*, v.v..

Phương pháp theo sáng chế không bị giới hạn ở trường hợp tẩm dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch với thuốc thử axit và thuốc thử có tính bazơ, và cũng có thể được sử dụng khi nhiều, nghĩa là 2 đến n, thuốc thử có các tác dụng khác nhau và cần phải tránh phản ứng trong quá trình bảo quản được tẩm lên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này.

Trong thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế, cửa nạp rộng có thể được bố trí.

Ví dụ, cửa nạp của thiết bị sắc ký miễn dịch thông thường (QuickNavi(TM)-Strep A, Denka Seiken Co., Ltd.), trong đó dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch có

chiều dài nằm trong khoảng từ 5 đến 9 cm, tốt hơn là 7 cm, và chiều rộng nằm trong khoảng từ 0,3 đến 0,7 cm, tốt hơn là 0,5 cm, được lưu trữ, được bố trí dưới dạng cửa nạp về cơ bản là hình chữ nhật có kích thước là khoảng $3,5 \text{ mm} \times$ khoảng $5,5 \text{ mm}$ ($19,25 \text{ mm}^2$). Cửa nạp của thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế, trong đó dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch có cùng kích thước như trên được lưu trữ, được bố trí dưới dạng cửa nạp về cơ bản là hình chữ nhật có kích thước là khoảng $3,5 \text{ mm} \times$ khoảng 11 mm ($38,5 \text{ mm}^2$). Vì thiết bị sắc ký miễn dịch và dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch được lưu trữ trong đó nhìn chung là có kích thước tương tự, nên thiết bị sắc ký miễn dịch rộng 3 cm và dài 9 cm có cửa nạp về cơ bản là hình chữ nhật có kích thước 3 đến $5 \text{ mm} \times 8$ đến 15 mm (24 đến 75 mm^2) là thiết bị sắc ký miễn dịch có cửa nạp rộng và có khả năng tạo ra tác dụng của thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế. Các cạnh dài hơn của cửa nạp là các cạnh song song với các cạnh dài hơn của dụng cụ xét nghiệm sắc ký, nghĩa là, các cạnh dọc theo chiều dòng chảy của dung dịch mẫu xét nghiệm. Chiều dài của cạnh dài hơn của cửa nạp còn được gọi là chiều dài cửa nạp, và chiều dài của cạnh ngắn hơn của nó còn được gọi là chiều rộng cửa nạp. Trong ví dụ nêu trên, cửa nạp về cơ bản là hình chữ nhật được sử dụng. Tuy nhiên, hình dạng của cửa nạp có thể là hình tam giác hoặc hình tròn. Khi kích thước của cửa nạp của thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế được thể hiện dưới dạng diện tích, thì diện tích này nằm trong khoảng từ 24 đến 75 mm^2 , tốt hơn là từ 35 đến 75 mm^2 .

Khi mẫu xét nghiệm được xử lý bằng thuốc thử xử lý mẫu xét nghiệm được bố trí trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo phương pháp sắc ký miễn dịch thông thường, khả năng xử lý mẫu xét nghiệm là kém do diện tích trong đó dung dịch mẫu được cho tiếp xúc với vùng tẩm thuốc thử xử lý mẫu xét nghiệm là nhỏ. Ngoài ra, bước xử lý mẫu xét nghiệm được thực hiện trong khi dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch được tiến triển dần dần. Vì vậy, dung dịch mẫu được tiến triển trước và dung dịch mẫu được tiến triển sau khác nhau về nồng độ của thuốc thử xử lý mẫu xét nghiệm. Do đó, không thể thực hiện được việc xử lý mẫu xét nghiệm một cách đáng tin cậy.

Cửa nạp của thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế được bố trí dưới dạng cửa nạp rộng và nhờ đó có thể cấp một lượng lớn dung dịch mẫu xét nghiệm trong thời gian ngắn cùng một lúc lên vùng tẩm thuốc thử xử lý mẫu xét nghiệm, nghĩa là, vùng tẩm thuốc thử axit rắn hoặc vùng tẩm axit nitơ, khi thực hiện sắc ký miễn dịch. Kết quả là,

việc chiết kháng nguyên chuỗi đường trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này có thể được đẩy mạnh. Lượng dung dịch mẫu xét nghiệm mà có thể được cấp cùng một lúc nằm trong khoảng từ 10 μL đến 200 μL .

Kết quả là không xảy ra sự khác biệt về nồng độ của thuốc thử xử lý mẫu xét nghiệm do sự khác biệt về thời gian. Vì vậy, việc xử lý mẫu xét nghiệm khi thực hiện sắc ký miễn dịch có thể được đẩy mạnh và được thực hiện một cách đáng tin cậy và hiệu quả.

Thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế được tạo kết cấu để có khoảng trống giữa cửa nạp và miếng đệm chứa mẫu được đặt bên dưới nó để ngăn không cho mẫu thoát ra khỏi cửa nạp.

Cửa nạp của thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế được bố trí dưới dạng cửa nạp rộng và cấp một lượng lớn dung dịch mẫu xét nghiệm trong thời gian ngắn cùng một lúc. Phần mép, là đường biên, của cửa nạp có chiều cao xác định (1 đến 5 mm), và dung dịch mẫu xét nghiệm đã được cấp được giữ tạm thời trong cửa nạp.

Kết quả là, phải mất nhiều thời gian để dung dịch mẫu xét nghiệm có thể được hấp thụ hoàn toàn vào dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, khiến cho dung dịch mẫu có thể thoát ra bên ngoài dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch mà không được hấp thụ vào dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch.

Trong thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế, miếng đệm chứa mẫu được đỡ bằng tấm lưng có kích thước đường biên tương đương hoặc lớn hơn kích thước đường biên của cửa nạp, với vai trò là tấm lưng đỡ miếng đệm chứa mẫu, để ngăn không cho mẫu thoát ra khỏi cửa nạp. Do đó, tấm lưng có thể hoạt động để ấn miếng đệm chứa mẫu tỳ vào cửa nạp để xóa bỏ khoảng trống giữa cửa nạp và miếng đệm chứa mẫu. Thiết bị sắc ký miễn dịch được tạo kết cấu như vậy có thể ngăn không cho dung dịch mẫu thoát ra ngoài.

Nếu miếng đệm chứa mẫu có độ dày không đều, thì phần mỏng của miếng đệm chứa mẫu dễ dàng tạo ra khoảng trống từ cửa nạp và dễ dàng làm cho dung dịch mẫu thoát ra ngoài.

Theo sáng chế, đế dùng cho vật chứa của thiết bị này có thể được thiết kế dưới dạng đế cao đối với phần mỏng của miếng đệm chứa mẫu và được thiết kế dưới dạng

để thấp đối với phần dày để xóa bỏ khoảng trống giữa cửa nạp và miếng đệm ngay cả khi có độ dày không đều. Thiết bị sắc ký miễn dịch được tạo kết cấu như vậy có thể ngăn không cho dung dịch mẫu thoát ra ngoài.

Kết quả là, việc chiết kháng nguyên chuỗi đường trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này có thể được thực hiện một cách hiệu quả.

Cụ thể, sáng chế là như sau.

[1] Thiết bị sắc ký miễn dịch bao gồm dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch dùng để chiết và đo kháng nguyên chuỗi đường trong mẫu xét nghiệm, và vật chứa lưu trữ dụng cụ xét nghiệm này, thiết bị sắc ký miễn dịch này có cửa nạp mẫu xét nghiệm ở miếng đệm chứa mẫu của dụng cụ xét nghiệm, trong đó dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này bao gồm: miếng đệm chứa mẫu mà mẫu xét nghiệm trộn với nitrit hoặc dung dịch axit được đưa lên đó; vùng đánh dấu chứa kháng thể được đánh dấu thu được bằng cách đánh dấu kháng thể kháng kháng nguyên chuỗi đường; và vùng phát hiện mà kháng thể kháng kháng nguyên chuỗi đường được giữ cố định trên đó, trong đó phức hợp kháng thể-kháng thể được đánh dấu bằng kháng nguyên chuỗi đường được tạo ra ở vùng phát hiện để đo kháng nguyên chuỗi đường, và dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này có vùng tấm thuốc thử trung hòa nằm ở vị trí trước vùng đánh dấu, và còn có vùng tấm thuốc thử axit rắn khi mẫu xét nghiệm trộn với nitrit được sử dụng, hoặc vùng tấm nitrit khi mẫu xét nghiệm trộn với dung dịch axit được sử dụng, nằm ở vị trí trước vùng tấm thuốc thử trung hòa, trong đó thiết bị sắc ký miễn dịch này:

(i) có cửa nạp mẫu xét nghiệm rộng để đẩy mạnh việc chiết kháng nguyên chuỗi đường bằng nitrit và thuốc thử axit rắn bằng cách giữ dung dịch mẫu xét nghiệm đã được cho vào và cấp dung dịch mẫu xét nghiệm này lên vùng tấm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit trong thời gian ngắn, và

(ii) không có khoảng trống giữa cửa nạp và miếng đệm chứa mẫu để ngăn không cho mẫu thoát ra khỏi cửa nạp.

[2] Thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục [1] nêu trên, trong đó cửa nạp mẫu xét nghiệm của thiết bị sắc ký miễn dịch này có kích thước nằm trong khoảng từ 24 đến 75 mm².

[3] Thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục [1] hoặc [2] nêu trên, trong đó miếng đệm tấm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit hoặc thuốc thử trung hòa trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký

miễn dịch được làm bằng vật liệu có độ kỵ nước cao, và việc chiết kháng nguyên chuỗi đường bằng nitrit và thuốc thử axit rắn được đẩy mạnh bằng cách làm chậm thời gian tiến triển của dung dịch mẫu xét nghiệm.

[4] Thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục [3] nêu trên, trong đó vật liệu có độ kỵ nước cao được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen, polyeste, polystyren, polypropylen, tơ nhân tạo và nylon.

[5] Thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục [1] hoặc [2] nêu trên, trong đó miếng đệm tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit hoặc thuốc thử trung hòa trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch được làm bằng vật liệu có độ ưa nước cao, và việc chiết kháng nguyên chuỗi đường bằng nitrit và thuốc thử axit rắn được đẩy mạnh bằng cách làm chậm thời gian tiến triển của dung dịch mẫu xét nghiệm.

[6] Thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục [5] nêu trên, trong đó vật liệu có độ ưa nước cao là màng lọc dày.

[7] Thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [6] nêu trên, trong đó việc chiết kháng nguyên chuỗi đường bằng nitrit và thuốc thử axit rắn được đẩy mạnh bằng cách thêm chất hoạt động bề mặt lên miếng đệm tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit hoặc thuốc thử trung hòa trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, và điều chỉnh thời gian tiến triển của dung dịch mẫu xét nghiệm.

[8] Thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục [7] nêu trên, trong đó chất hoạt động bề mặt được chọn từ nhóm bao gồm polyoxyetylen octyl phenyl ete, polyoxyetylen sorbitan este axit béo, polyoxyetylen alkyl ete, natri cholat, axit deoxycholic, natri lauryl sulfat và natri dodecylbenzensulfonat.

[9] Thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [8] nêu trên, trong đó việc chiết kháng nguyên chuỗi đường bằng nitrit và thuốc thử axit rắn được đẩy mạnh bằng cách thêm hợp chất có phân tử lượng cao có tác dụng giữ cố định lên miếng đệm tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit hoặc thuốc thử trung hòa trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, và điều chỉnh thời gian tiến triển của dung dịch mẫu xét nghiệm.

[10] Thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục [9] nêu trên, trong đó hợp chất có phân tử lượng cao có tác dụng giữ cố định là PVA hoặc PLL.

[11] Thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [10] nêu trên, trong đó vùng tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit có mặt trên miếng đệm chứa mẫu hoặc trên miếng đệm có vùng đánh dấu được đưa lên đó.

[12] Thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [11] nêu trên, trong đó thuốc thử axit rắn được chọn từ nhóm bao gồm axit malonic, axit malic, axit maleic, axit xitric và axit tartric.

[13] Thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [12] nêu trên, trong đó thuốc thử trung hòa là tris(hydroxymetyl)aminometan hoặc natri hydroxit.

[14] Thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [13] nêu trên, trong đó kháng nguyên chuỗi đường là kháng nguyên chuỗi đường của động vật nguyên sinh, vi nấm, vi khuẩn, mycoplasma, rickettsia, chlamydia hoặc virus.

[15] Phương pháp đo kháng nguyên chuỗi đường trong mẫu xét nghiệm theo phương pháp sắc ký miễn dịch sử dụng thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [14] nêu trên, trong đó phương pháp này đo kháng nguyên chuỗi đường trong mẫu xét nghiệm bằng cách đẩy mạnh việc chiết kháng nguyên chuỗi đường theo phương pháp sắc ký miễn dịch, và phương pháp này bao gồm các bước:

trộn mẫu xét nghiệm với dung dịch axit nitơ khi thiết bị sắc ký miễn dịch có vùng tẩm thuốc thử axit rắn, hoặc trộn mẫu xét nghiệm với dung dịch axit khi thiết bị sắc ký miễn dịch có vùng tẩm nitrit, và đưa hỗn hợp này lên miếng đệm chứa mẫu của thiết bị sắc ký miễn dịch, trong đó trong phương pháp sắc ký miễn dịch này:

kháng nguyên chuỗi đường được chiết từ mẫu xét nghiệm nhờ hoạt động của axit nitơ được tạo ra thông qua phản ứng của nitrit với thuốc thử axit rắn ở vùng tẩm thuốc thử axit rắn hoặc vùng tẩm nitrit, dung dịch axit chứa kháng nguyên chuỗi đường được trung hòa ở vùng tẩm thuốc thử trung hòa, và

phức hợp kháng thể-kháng thể được đánh dấu bằng kháng nguyên chuỗi đường được tạo ra ở vùng phát hiện.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả cụ thể trong ví dụ sau đây. Tuy nhiên, ví dụ này không nhằm làm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Trong ví dụ sau đây, % là % khối lượng/thể tích, trừ khi có quy định khác.

Ví dụ về dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch dùng để đo liên cầu khuẩn tan huyết β nhóm A

Nitrit (thuốc thử dạng lỏng): natri nitrit 2,0 M, Tween 20 1%

Thuốc thử axit rắn (được tẩm vào dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch): axit hữu cơ (axit tartric) 1,0 M, Triton X-100 0,2%

Thuốc thử trung hòa (được tẩm vào dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch): Tris HCl 3,0 M (độ pH=9,0), Triton X-100 1,5%

1. Giữ cố định kháng thể kháng *Streptococcus pyogenes* (liên cầu khuẩn tan huyết β nhóm A) trên màng nitroxenluloza (nền đỡ)

Dung dịch thu được bằng cách pha loãng kháng thể kháng *Streptococcus pyogenes* bằng nước đã được tinh chế đến nồng độ là 1,0 mg/mL và kháng thể kháng IgG của thỏ được tạo ra. Kháng thể kháng *Streptococcus pyogenes* được cấp theo đường thẳng tới phía miếng đệm chứa mẫu của màng nitroxenluloza được đỡ bằng màng PET, và kháng thể kháng IgG của thỏ được cấp theo đường thẳng tới phía dải hấp thụ của nó. Sau đó, màng nitroxenluloza được làm khô ở 45°C trong 30 phút để thu được màng giữ cố định kháng thể kháng *Streptococcus pyogenes*. Màng này được gọi là "màng giữ cố định kháng thể" trong ví dụ này.

2. Giữ cố định kháng thể kháng *Streptococcus pyogenes* trên các hạt polystyren mang màu

Kháng thể kháng *Streptococcus pyogenes* được pha loãng bằng nước đã được tinh chế đến nồng độ là 1,0 mg/mL, và các hạt polystyren mang màu sau đó được cho vào dung dịch thu được đến nồng độ là 0,1%, sau đó khuấy. Sau đó, carbodiimide được thêm vào dung dịch đã được trộn đến nồng độ là 1%, và hỗn hợp thu được được khuấy tiếp. Dịch nổi bề mặt được lấy ra khỏi hỗn hợp phản ứng bằng cách ly tâm, và sau đó được tái tạo huyền phù trong Tris 50 mM (độ pH=9,0) và BSA 3% để thu được huyền phù hạt polystyren mang màu liên kết kháng thể kháng *Streptococcus pyogenes* 0,04%. Các hạt này được gọi là "các hạt giữ cố định kháng thể" trong ví dụ này.

3. Cấp và làm khô các hạt polystyren mang màu liên kết kháng thể kháng *Streptococcus pyogenes*

Huyền phù hạt giữ cố định kháng thể được tạo ra trong mục 2 nêu trên được cấp với lượng xác định lên vải không dệt, và sau đó được làm khô ở 45°C trong 30 phút. Vải không dệt thu được được gọi là "miếng đệm khô" trong ví dụ này.

4. Cấp thuốc thử trung hòa (thuốc thử có tính bazơ)

Thuốc thử trung hòa (thuốc thử có tính bazơ) nêu trên được cấp với nồng độ là 30 µL/cm lên màng lọc (Toyo Roshi Kaisha, Ltd.; No. 26-3).

5. Sản xuất vải không dệt tẩm thuốc thử axit rắn

Thuốc thử axit rắn nêu trên được cấp với nồng độ là 13 µL/cm lên vải không dệt (Unitika, Ltd.; Elves). Ngay sau khi cấp, vải không dệt được làm khô ở 45°C trong 1 giờ để thu được vải không dệt tẩm thuốc thử axit rắn.

6. Tạo dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch dùng để phát hiện *Streptococcus pyogenes*

Trước tiên, màng (nền đỡ) (rộng 30 mm) được gắn vào phần 20 mm tính từ phần nằm ở vị trí sau của tấm lưng của que.

Dải hấp thụ để hấp thụ chất lỏng được gắn ở vị trí sau màng.

Sợi thủy tinh (C. Pad) rộng 10 mm mà mũ cao su liên kết kháng thể được cấp lên đó được gắn ở vị trí trước màng, với phần gồi là 2 mm với màng.

Miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa được gắn vào đó, với phần gồi là 4 mm giữa C. Pad và miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa.

Tấm mỏng trên cùng (60 mm), là tấm PET, được gắn vào đó để căn chỉnh gọn với phần bên trên của dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch.

Cuối cùng, miếng đệm tẩm thuốc thử axit rắn được gắn bên trên miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa để căn chỉnh gọn với phần nằm ở vị trí trước (đầu dưới) của dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch sao cho miếng đệm tẩm thuốc thử axit rắn và miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa tiếp xúc với nhau và có tấm mỏng trên cùng xen giữa chúng.

Cấu trúc của dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch được tạo ra theo cách đó được thể hiện trên Fig.2. Fig.3 cũng là sơ đồ thể hiện khoảng cách tương ứng (mm) giữa các phần. Trên Fig.2 và Fig.3, miếng đệm tẩm thuốc thử axit rắn và miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa được thể hiện như thể các miếng đệm này tách biệt không tiếp xúc ngay cả tại vị trí mà tấm mỏng trên cùng không có mặt giữa các miếng đệm này, nhưng trong thực tế, các miếng đệm này được cho tiếp xúc với nhau tại phần tự do không gắn với tấm mỏng trên cùng.

Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, trong đó tấm PET không được kẹp giữa vùng tẩm thuốc thử axit rắn và vùng tẩm thuốc thử trung hòa, được sử dụng làm dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch thuộc kỹ thuật thông thường.

Các kết quả được thể hiện trong bảng 1. Bảng 1 thể hiện cường độ hiện màu trong khi đánh giá trong 5 phút.

Thuật ngữ "ở trên" được thể hiện trong bảng 1 chỉ các kết quả của thử nghiệm sử dụng dụng cụ xét nghiệm, trong đó tấm mỏng trên cùng được gắn bằng phương pháp thông thường và nằm bên trên miếng đệm tẩm thuốc thử axit rắn. Tuy nhiên, tấm mỏng trên cùng này không bao phủ toàn bộ bề mặt của miếng đệm tẩm thuốc thử axit rắn, và bao phủ một phần khoảng 3 mm trong phần nằm ở vị trí sau của miếng đệm.

Thuật ngữ "ở giữa" được thể hiện trong bảng 1 chỉ các kết quả của dụng cụ xét nghiệm theo sáng chế, trong đó tấm mỏng trên cùng được gắn giữa miếng đệm tẩm thuốc thử axit rắn và miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa. Bề mặt tiếp xúc mà miếng đệm tẩm thuốc thử axit rắn và miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa tiếp xúc với nhau trên đó là 2 mm.

Như được thể hiện trong bảng 1, thử nghiệm sử dụng dụng cụ xét nghiệm theo sáng chế ("ở giữa") nhạy hơn 1 đến 2 đơn vị.

Bảng 1

		Độ pha loãng của mẫu xét nghiệm đương tính yếu						
		Dương tính mạnh	Dương tính yếu	2^1	2^2	2^3	2^4	2^5
Ở trên	n=1	+	+	+	+	-	-	-
	n=2	+	+	+	+	-	-	-

Ở giữa	n=1	++	+	+	+	+	±	-
	n=2	+++	+	+	+	+	±	-

Danh sách các số chỉ dẫn

- 1: nền đỡ (chứa vùng phát hiện)
- 2: vùng đánh dấu
- 3: vùng phát hiện
- 5: vùng chứa thuốc thử axit rắn (miếng đệm chứa mẫu)
- 6: vùng chứa thuốc thử trung hòa
- 7: dải hấp thụ
- 8: tấm lưng
- 9: tấm mỏng trên cùng

Nhờ sử dụng thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế, có thể phát hiện được liên cầu khuẩn tan huyết β nhóm A với độ nhạy cao.

Tất cả các công bố, patent và đơn patent được trích dẫn trong bản mô tả sáng chế này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ nội dung của chúng.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch dùng để chiết và đo kháng nguyên chuỗi đường trong mẫu xét nghiệm, trong đó dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này bao gồm: miếng đệm chứa mẫu mà mẫu xét nghiệm trộn với nitrit hoặc dung dịch axit được đưa lên đó; vùng đánh dấu chứa kháng thể được đánh dấu thu được bằng cách đánh dấu kháng thể kháng kháng nguyên chuỗi đường; và vùng phát hiện mà kháng thể kháng kháng nguyên chuỗi đường được giữ cố định trên đó, trong đó phức hợp kháng thể-kháng thể được đánh dấu bằng kháng nguyên chuỗi đường được tạo ra ở vùng phát hiện để đo kháng nguyên chuỗi đường, và dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này có vùng tấm thuốc thử trung hòa nằm ở vị trí trước vùng đánh dấu, và còn có vùng tấm thuốc thử axit rắn khi mẫu xét nghiệm trộn với nitrit được sử dụng, hoặc vùng tấm nitrit khi mẫu xét nghiệm trộn với dung dịch axit được sử dụng, nằm ở vị trí trước vùng tấm thuốc thử trung hòa, trong đó:

tấm nhựa được kẹp giữa vùng tấm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit và vùng tấm thuốc thử trung hòa để ngăn chặn sự di chuyển của thuốc thử hoặc sự di chuyển của dung dịch mẫu xét nghiệm giữa các vùng.

2. Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo điểm 1, trong đó vùng tấm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit có mặt trên miếng đệm chứa mẫu.

3. Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo điểm 1 hoặc 2, trong đó tấm nhựa được kẹp sao cho vùng tấm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit và vùng tấm thuốc thử trung hòa tiếp xúc một phần với nhau.

4. Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo điểm 1 hoặc 2, trong đó tấm nhựa được kẹp sao cho vùng tấm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit và vùng tấm thuốc thử trung hòa không tiếp xúc với nhau.

5. Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 2 đến 4, trong đó vùng tấm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit có mặt ở miếng đệm chứa mẫu nằm ở vị trí đầu tiên (đầu nguồn) trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này, các vùng, ngoại trừ miếng đệm chứa mẫu, được phủ bằng tấm nhựa, và miếng đệm chứa mẫu tấm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit được đặt bên trên tấm nhựa nằm bên trên vùng tấm thuốc thử trung hòa.

6. Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó thuốc thử axit rắn được chọn từ nhóm bao gồm axit malonic, axit malic, axit maleic, axit xitric và axit tartric.

7. Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó thuốc thử trung hòa là tris(hydroxymetyl)aminometan hoặc natri hydroxit.

8. Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó kháng nguyên chuỗi đường là kháng nguyên chuỗi đường của động vật nguyên sinh, vi nấm, vi khuẩn, mycoplasma, rickettsia, chlamydia hoặc virus.

9. Phương pháp đo kháng nguyên chuỗi đường trong mẫu xét nghiệm theo phương pháp sắc ký miễn dịch sử dụng dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

trộn mẫu xét nghiệm với dung dịch axit nitơ khi dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch có vùng tâm thuốc thử axit rắn, hoặc trộn mẫu xét nghiệm với dung dịch axit khi dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch có vùng tâm nitrit, và đưa hỗn hợp này lên miếng đệm chứa mẫu của dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, trong đó trong phương pháp sắc ký miễn dịch này:

kháng nguyên chuỗi đường được chiết từ mẫu xét nghiệm nhờ hoạt động của axit nitơ được tạo ra thông qua phản ứng của nitrit với thuốc thử axit rắn ở vùng tâm thuốc thử axit rắn hoặc vùng tâm nitrit, dung dịch axit chứa kháng nguyên chuỗi đường được trung hòa ở vùng tâm thuốc thử trung hòa, và

phức hợp kháng thể-kháng thể được đánh dấu bằng kháng nguyên chuỗi đường được tạo ra ở vùng phát hiện, và trong đó:

tốc độ và chiều tiến triển của mẫu xét nghiệm trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này được kiểm soát, sao cho việc xử lý bằng thuốc thử axit, nitrit và thuốc thử trung hòa được kiểm soát.

Fig. 1

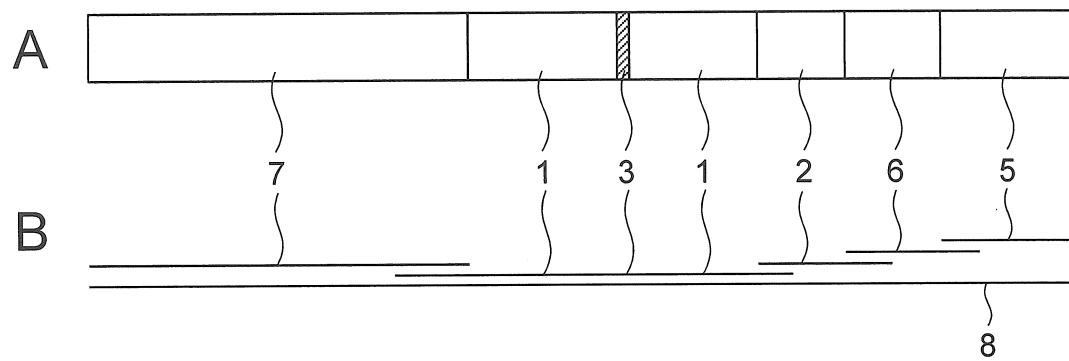


Fig. 2

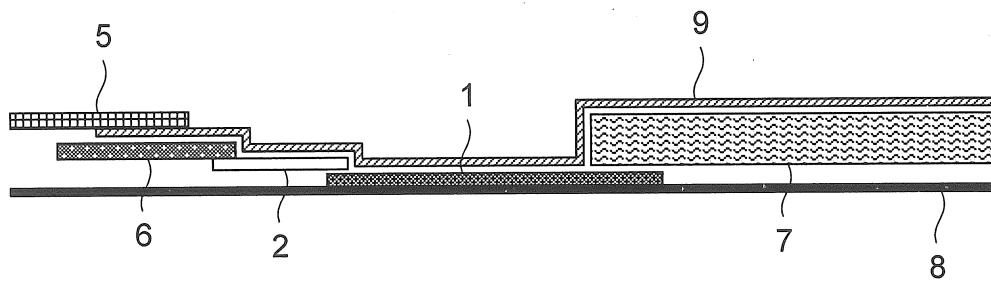


Fig. 3

