



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

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

(11)



1-0037432

(51)⁷ G01N 33/543; G01N 33/53

(13) B

(21) 1-2019-05641

(22) 14/03/2018

(86) PCT/JP2018/009898 14/03/2018

(87) WO 2018/168906 20/09/2018

(30) 2017-049155 14/03/2017 JP

(45) 27/11/2023 428

(43) 30/01/2020 382A

(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) MẪU THỬ SẮC KÝ MIỄN DỊCH DÙNG ĐỂ CHIẾT VÀ ĐO KHÁNG NGUYÊN MẠCH ĐƯỜNG, MÀ CÓ KHẢ NĂNG NGĂN NGỪA PHẢN ỨNG KHÔNG ĐẶC HIỆU

(57) Sáng chế đề cập đến mẫu thử sắc ký miễn dịch mà ngăn ngừa phản ứng không đặc hiệu bằng cách tiếp xúc và trung hòa hiệu quả và liên tục dung dịch phát triển chứa axit nitơ bằng thuốc thử trung hòa trong phương pháp sắc ký miễn dịch chiết và đo kháng nguyên mạch đường bằng cách chiết axit nitơ trên mẫu thử sắc ký miễn dịch này. Sáng chế đề xuất mẫu thử sắc ký miễn dịch dùng để chiết và đo kháng nguyên mạch đường trong vật mẫu, mẫu thử sắc ký miễn dịch này bao gồm: lớp đệm mẫu mà vật mẫu trộn với nitrit hoặc dung dịch axit được bổ sung vào; vùng đánh dấu bao gồm kháng thể đã đánh dấu thu được bằng cách đánh dấu kháng thể kháng kháng nguyên mạch đường; và vùng phát hiện mà trên đó kháng thể kháng kháng nguyên mạch đường được cố định, trong đó phức chất kháng thể-kháng nguyên mạch đường-kháng thể đã đánh dấu được tạo ra trong vùng phát hiện để đo kháng nguyên mạch đường, và mẫu thử sắc ký miễn dịch này có vùng được tẩm thuốc thử trung hòa phía trên vùng đánh dấu, và còn có vùng được tẩm thuốc thử axit rắn khi vật mẫu trộn với nitrit được sử dụng, hoặc vùng được tẩm nitrit khi vật mẫu trộn với dung dịch axit được sử dụng, phía trên vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, trong đó vật liệu đối với vùng được tẩm thuốc thử trung hòa là bộ lọc hoặc bộ lọc thủy tinh có ba đặc tính là khả năng hấp thụ cao, khả năng giữ nước cao, và khả năng giải phóng thấp hoặc khả năng giải phóng liên tục, và do đặc tính hấp thụ nước cao và đặc tính giữ nước cao của vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit chứa kháng nguyên mạch đường được trung hòa thỏa đáng, và do đặc tính giải phóng thấp hoặc đặc tính giải phóng ổn định của vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit còn lại được ngăn không cho đến vùng phát hiện, hoặc dung dịch thử nghiệm được trung hòa thỏa đáng được phát triển liên tục đến vùng phát hiện, để cho phản ứng không đặc hiệu bị ức chế.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến thiết bị sắc ký miễn dịch để chiết và đo kháng nguyên mạch đường, mà có khả năng chiết kháng nguyên mạch đường bằng axit nitơ trên mẫu thử sắc ký miễn dịch.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Đa số thử nghiệm chẩn đoán nhanh bao gồm phương pháp sắc ký miễn dịch làm nguyên tắc đã được sử dụng rộng rãi làm phương pháp đo nhanh chóng và đơn giản bệnh nhiễm virus hoặc vi khuẩn và xác định phác đồ điều trị bệnh này.

Trong trường hợp các tác nhân chẩn đoán nhanh như vậy bao gồm phương pháp sắc ký miễn dịch phổ biến làm nguyên tắc, mẫu vật được tạo huyền phù trong huyền phù mẫu vật, và tiếp theo huyền phù này được cấp cho mẫu thử sắc ký miễn dịch, để cho phép đo có thể được thực hiện nhanh chóng và đơn giản.

Để xác định các vi sinh vật thuộc chi *Streptococcus*, như streptococcus hoại huyết β nhóm A và streptococcus trong miệng, cần chiết kháng nguyên mạch đường và đo kháng nguyên mạch đường này.

Ví dụ, phương pháp, trong đó natri nitrit và thuốc thử trung hòa được bổ sung trước vào mẫu thử sắc ký miễn dịch, để cho việc chiết axit nitơ có thể được thực hiện trên mẫu thử sắc ký miễn dịch này chỉ bằng thao tác tạo huyền phù mẫu vật trong dung dịch axit như axit axetic và cấp huyền phù này cho mẫu thử sắc ký miễn dịch, đã được thông báo (Tài liệu sáng chế 1).

Tương tự, đã có phương pháp, trong đó thuốc thử axit và thuốc thử trung hòa được bổ sung trước vào mẫu thử sắc ký miễn dịch, và mẫu vật được tạo huyền phù trong nitrit và được cấp cho mẫu thử sắc ký miễn dịch này.

Hầu hết thuốc thử phát hiện kháng nguyên streptococcus hoại huyết β nhóm A hiện có bán trên thị trường bằng cách sử dụng phương pháp sắc ký miễn dịch được sử dụng trong thử nghiệm bằng cách trộn hai dung dịch, cụ thể, dung dịch nitrit và dung dịch axit, ngay trước khi thử nghiệm, tạo ra axit nitơ, và chiết kháng nguyên bằng axit nitơ đã tạo ra, hoặc sử dụng phương pháp chiết kháng nguyên bằng cách hợp nhất lớp đệm được tẩm thuốc thử axit vào thiết bị sắc ký miễn dịch (mẫu thử sắc ký miễn dịch) và tạo ra axit nitơ trên mẫu thử sắc ký miễn dịch. Đối với phương pháp này, cần trung hòa axit nitơ có tính axit đã tạo ra, và thuốc thử trung hòa được bổ sung ở trạng thái khô trên mẫu thử sắc ký miễn dịch, để cho axit nitơ được trung hòa bằng thuốc thử trung hòa.

Tài liệu viện dẫn

Tài liệu sáng chế

Tài liệu sáng chế 1: Công bố đơn quốc tế WO2005/121794

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Hầu hết thuốc thử phát hiện kháng nguyên streptococcus hoại huyết β nhóm A hiện có bán trên thị trường bằng cách sử dụng phương pháp sắc ký miễn dịch đều sử dụng, trong việc chiết kháng nguyên, axit nitơ được tạo ra bằng cách trộn dung dịch nitrit và dung dịch axit, và dung dịch phát triển chứa axit nitơ được sử dụng trong việc chiết kháng nguyên được trung hòa bằng thuốc thử trung hòa được bổ sung ở trạng thái khô lên mẫu thử sắc ký miễn dịch, tiếp theo là phản ứng kháng nguyên-kháng thể để đo. Tuy nhiên, phương pháp thông thường này gặp phải vấn đề là phản ứng không đặc hiệu xảy ra.

Mục đích của sáng chế là đề xuất mẫu thử sắc ký miễn dịch mà ngăn ngừa phản ứng không đặc hiệu bằng cách tiếp xúc và trung hòa hiệu quả và liên tục dung dịch phát triển

chứa axit nitơ bằng thuốc thử trung hòa trong phương pháp sắc ký miễn dịch chiết và đo kháng nguyên mạch đường bằng cách chiết axit nitơ trên mẫu thử sắc ký miễn dịch này.

Tác giả sáng chế đã thực hiện các nghiên cứu tích cực nhằm giải quyết vấn đề của phương pháp thông thường ở chỗ phản ứng không đặc hiệu xảy ra sau khoảng thời gian trôi qua nhất định trong phương pháp sắc ký miễn dịch chiết và đo kháng nguyên mạch đường bằng cách chiết axit nitơ trên mẫu thử sắc ký miễn dịch.

Các tác giả sáng chế phát hiện ra rằng trong phương pháp thông thường, thuốc thử trung hòa được tiêu thụ hoàn toàn bởi axit còn lại phía trên mẫu thử sắc ký miễn dịch sau khoảng thời gian trôi qua nhất định, để cho toàn bộ dung dịch phát triển trên mẫu thử sắc ký miễn dịch này được axit hóa, hậu quả là gây ra phản ứng không đặc hiệu.

Do đó, các tác giả sáng chế xét thấy rằng axit được sử dụng trong chiết axit nitơ được trung hòa một cách chắc chắn và liên tục bằng thuốc thử trung hòa trên mẫu thử sắc ký miễn dịch, hoặc axit còn lại phía trên mẫu thử sắc ký miễn dịch được giữ trong phần phía trên và ngăn ngừa khỏi đến vùng phát hiện nơi phản ứng kháng nguyên-kháng thể xảy ra.

Các tác giả sáng chế phát hiện ra rằng vật liệu mà là vải dệt có trọng lượng cơ sở nằm trong khoảng từ 10 đến 400 g/m² và chiều dày nằm trong khoảng từ 0,1 đến 2,0 mm, là có khả năng hấp thụ cao, có khả năng giữ nước cao, và có khả năng giải phóng liên tục chất trung hòa trong khoảng thời gian dài (1 giờ hoặc lâu hơn) được sử dụng dưới dạng vật liệu xấp trong vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, và bằng cách sử dụng vật liệu như vậy, khả năng trung hòa thỏa đáng có thể được duy trì ngay cả khi axit được phát triển với các phần nhỏ đến phần phía dưới của mảnh thử nghiệm sau khoảng thời gian trôi qua nhất định (ví dụ, trong hoặc sau 5 phút là thời gian phán đoán), để cho phản ứng không đặc hiệu được ức chế. Các tác giả sáng chế cũng phát hiện ra rằng trong trường hợp sử dụng bộ lọc tủy tinh hấp thụ cao, giữ nước và giải phóng thấp, axit tẩm vào lớp đệm mẫu chuyển đến lớp đệm trung hòa sau khoảng thời gian trôi qua nhất định, và tiếp theo được giải phóng ra khỏi

vùng và do đó ngăn không cho đến vùng phát hiện nơi phản ứng kháng nguyên-kháng thể xảy ra, để cho phản ứng không đặc hiệu được ức chế trong trường hợp âm tính, và sự phát triển màu của vạch được ngăn ngừa trong hoặc sau thời gian phán đoán trong vật mẫu dương tính ở hoặc quanh độ nhạy phát hiện tối thiểu, nhờ đó hoàn thành sáng chế.

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

[1] Mẫu thử sắc ký miễn dịch dùng để chiết và đo kháng nguyên mạch đường trong vật mẫu, mẫu thử sắc ký miễn dịch này bao gồm: lớp đệm mẫu mà vật mẫu trộn với nitrit hoặc dung dịch axit được bổ sung vào; vùng đánh dấu bao gồm kháng thể đã đánh dấu thu được bằng cách đánh dấu kháng thể kháng kháng nguyên mạch đường; và vùng phát hiện mà trên đó kháng thể kháng kháng nguyên mạch đường được cố định, trong đó phức chất kháng thể-kháng nguyên mạch đường-kháng thể đã đánh dấu được tạo ra trong vùng phát hiện để đo kháng nguyên mạch đường, và mẫu thử sắc ký miễn dịch này có vùng được tẩm thuốc thử trung hòa phía trên vùng đánh dấu, và còn có vùng được tẩm thuốc thử axit rắn khi vật mẫu trộn với nitrit được sử dụng, hoặc vùng được tẩm nitrit khi vật mẫu trộn với dung dịch axit được sử dụng, phía trên vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, trong đó

vật liệu đối với vùng được tẩm thuốc thử trung hòa là bộ lọc hoặc bộ lọc thủy tinh có ba đặc tính là khả năng hấp thụ cao, khả năng giữ nước cao, và khả năng giải phóng thấp hoặc khả năng giải phóng liên tục, và

do đặc tính hấp thụ nước cao và đặc tính giữ nước cao của vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit chứa kháng nguyên mạch đường được trung hòa thỏa đáng, và do đặc tính giải phóng thấp hoặc đặc tính giải phóng ổn định của vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit còn lại được ngăn không cho đến vùng phát hiện, hoặc dung dịch thử nghiệm được trung hòa thỏa đáng được phát triển liên tục đến vùng phát hiện, để cho phản ứng không đặc hiệu được ức chế.

[2] Mẫu thử sắc ký miễn dịch dùng để chiết và đo kháng nguyên mạch đường trong vật mẫu, mẫu thử sắc ký miễn dịch này bao gồm: lớp đệm mẫu mà vật mẫu trộn với nitrit hoặc

dung dịch axit được bổ sung vào; vùng đánh dấu bao gồm kháng thể đã đánh dấu thu được bằng cách đánh dấu kháng thể kháng kháng nguyên mạch đường; và vùng phát hiện mà trên đó kháng thể kháng kháng nguyên mạch đường được cố định, trong đó phức chất kháng thể-kháng nguyên mạch đường-kháng thể đã đánh dấu được tạo ra trong vùng phát hiện để đo kháng nguyên mạch đường, và mẫu thử sắc ký miễn dịch này có vùng được tẩm thuốc thử trung hòa phía trên vùng đánh dấu, và còn có vùng được tẩm thuốc thử axit rắn khi vật mẫu trộn với nitrit được sử dụng, hoặc vùng được tẩm nitrit khi vật mẫu trộn với dung dịch axit được sử dụng, phía trên vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, trong đó

vật liệu đối với vùng được tẩm thuốc thử trung hòa là vải dệt có trọng lượng cơ sở nằm trong khoảng từ 10 đến 400 g/m² và chiều dày nằm trong khoảng từ 0,1 đến 2,0 mm.
 [3] Mẫu thử sắc ký miễn dịch theo mục [1] hoặc [2], trong đó vải dệt hấp thụ nước với lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 100 µl/cm² mỗi cm/m², có tốc độ hấp thụ nước nằm trong khoảng từ 1,0 đến 5,0 µl/sec, giữ nước với lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 100 µl/cm² sau khi một mảnh 1 cm/m² được cho tiếp xúc ở trạng thái ướt với vùng phát hiện và để yên trong 5 phút, và có vùng (diện tích) lan chất lỏng 20 mm² hoặc nhỏ hơn sau khi một mảnh 1 cm/m² được cho tiếp xúc ở trạng thái ướt với màng và để yên trong 5 phút.

[4] Mẫu thử sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trên đây từ [1] đến [3], trong đó do đặc tính hấp thụ nước cao và đặc tính giữ nước cao của vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit chứa kháng nguyên mạch đường được trung hòa thỏa đáng, và do đặc tính giải phóng ổn định của vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, khả năng trung hòa thỏa đáng được duy trì ngay cả khi dung dịch axit còn lại đến vùng phát hiện, để cho phản ứng không đặc hiệu được ức chế.

[5] Mẫu thử sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trên đây từ [1] đến [4], trong đó do đặc tính hấp thụ nước cao và đặc tính giữ nước cao của vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit chứa kháng nguyên mạch đường được trung hòa thỏa đáng, và do đặc tính giải phóng thấp của vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit còn lại được ngăn không

cho đến vùng phát hiện, để cho phản ứng không đặc hiệu được ức chế trong trường hợp âm tính, và sự phát triển màu của vạch được ngăn ngừa trong hoặc sau thời gian phán đoán trong trường hợp dương tính.

[6] Mẫu thử sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trên đây từ [1] đến [5], trong đó vùng được tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit có mặt trên lớp đệm mẫu hoặc trên lớp đệm có vùng đánh dấu được phủ lên đó.

[7] Mẫu thử sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trên đây từ [1] đến [6], trong đó thuốc thử axit rắn được chọn từ nhóm gồm axit malonic, axit malic, axit maleic, axit xitric, và axit tartaric.

[8] Mẫu thử sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trên đây từ [1] đến [7], trong đó thuốc thử trung hòa là tris(hydroxymetyl)aminometan hoặc natri hydroxit.

[9] Mẫu thử sắc ký miễn dịch này theo mục bất kỳ trên đây từ [1] đến [8], trong đó kháng nguyên mạch đường là kháng nguyên mạch đường của protozoa (động vật nguyên sinh), nấm, vi khuẩn, mycoplasma, rickettsia, chlamydia, hoặc virut.

[10] Phương pháp đo kháng nguyên mạch đường trong vật mẫu theo phương pháp sắc ký miễn dịch sử dụng mẫu thử sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trên đây từ [1] đến [9],

phương pháp bao gồm

trộn vật mẫu với dung dịch axit nitơ khi mẫu thử sắc ký miễn dịch có vùng được tẩm thuốc thử axit rắn, hoặc trộn vật mẫu với dung dịch axit khi mẫu thử sắc ký miễn dịch có vùng được tẩm nitrit, và bổ sung hỗn hợp này vào lớp đệm mẫu của mẫu thử sắc ký miễn dịch, trong đó trong phương pháp sắc ký miễn dịch,

kháng nguyên mạch đường được chiết từ vật mẫu nhờ tác dụng của axit nitơ được tạo ra nhờ phản ứng của nitrit với thuốc thử axit rắn trong vùng được tẩm thuốc thử axit rắn hoặc vùng được tẩm nitrit, dung dịch axit chứa kháng nguyên mạch đường được trung hòa trong vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, và

phức chất kháng thể-kháng nguyên mạch đường-kháng thể đã đánh dấu được tạo ra trong vùng phát hiện, và trong đó

do đặc tính hấp thụ nước cao và đặc tính giữ nước cao của vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit chứa kháng nguyên mạch đường được trung hòa thỏa đáng, và do đặc tính giải phóng thấp hoặc đặc tính giải phóng ổn định của vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit còn lại được ngăn không cho đến vùng phát hiện, hoặc dung dịch thử nghiệm được trung hòa thỏa đáng được phát triển liên tục đến vùng phát hiện, để cho phản ứng không đặc hiệu được ức chế.

Bản mô tả này bao gồm các nội dung như được bộ lộ trong đơn yêu cầu cấp patent Nhật số 2017-049155, là tài liệu ưu tiên của đơn này.

Các tác dụng có lợi của sáng chế

Trong mẫu thử sắc ký miễn dịch của sáng chế để đo kháng nguyên của streptococcus huyết β nhóm A, mà có khả năng chiết kháng nguyên mạch đường bằng axit nitơ trên mẫu thử sắc ký miễn dịch này, lớp đệm, trong đó vật liệu có ba đặc tính là khả năng hấp thụ nước cao, khả năng giữ nước (khả năng giữ chất lỏng) cao, và khả năng giải phóng chất lỏng thấp hoặc khả năng giải phóng chất lỏng liên tục được tẩm thuốc thử trung hòa, được bố trí ở vị trí phía dưới vị trí chiết kháng nguyên và phía trên vị trí đánh dấu. Bằng cấu trúc này, phản ứng không đặc hiệu sau khoảng thời gian trôi qua có thể được ức chế.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 là sơ đồ hình vẽ thể hiện cấu trúc của mẫu thử sắc ký miễn dịch (mẫu thử một lớp đệm) có vùng thuốc thử axit rắn và vùng thuốc thử trung hòa.

Fig. 2 là sơ đồ hình vẽ thể hiện cấu trúc của mẫu thử sắc ký miễn dịch (mẫu thử hai lớp đệm) có vùng thuốc thử axit rắn và vùng thuốc thử trung hòa.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề cập đến mẫu thử sắc ký miễn dịch mà đơn giản hóa việc xử lý chiết kháng nguyên mạch đường bằng axit nitơ trên mẫu thử sắc ký miễn dịch, để cho kháng

nguyên mạch đường được sử dụng dưới dạng chất cần phát hiện có thể được đo nhanh chóng và chính xác.

Mẫu thử sắc ký miễn dịch này bao gồm lớp nền có vùng phát hiện, mà trên đó kháng thể (Kháng thể 1) bắt giữ chất cần phát hiện (kháng nguyên, v.v.) được cố định, vùng đánh dấu có kháng thể được đánh dấu di động (Kháng thể 2), lớp đệm mẫu mà mẫu vật được bổ sung vào, dải hấp thụ hấp thụ dung dịch vật mẫu đã phát triển, tấm ốp lưng để dán các phần tử này với nhau, và dạng tương tự.

Mẫu thử sắc ký miễn dịch của sáng chế có thể được trữ trong vật đựng bảo quản. Vật đựng bảo quản như vậy có thể ngăn ngừa sự phân hủy của mẫu thử, điều này là do, ví dụ, tia cực tím hoặc hơi ẩm chứa trong không khí gây ra. Hơn nữa, trong trường hợp xử lý mẫu vật hoặc mẫu có ô nhiễm hoặc khả năng nhiễm trùng, vật đựng bảo quản như vậy có thể ngăn ngừa người thử nghiệm thực hiện thử nghiệm khỏi bị ô nhiễm hoặc nhiễm trùng từ vật mẫu hoặc mẫu. Ví dụ, vỏ làm bằng nhựa có kích thước thích hợp có thể được sử dụng làm vật đựng bảo quản, và thiết bị theo sáng chế có thể được trữ trong vỏ này. Nếu không, bề mặt của mẫu thử, mà trên đó kháng nguyên hoặc kháng thể đã được cố định, có thể được phủ màng làm bằng nhựa hoặc dạng tương tự (lớp ghép mỏng trên cùng). Có loại vỏ trong đó vật đựng bảo quản và mẫu thử được trữ trong vật đựng bảo quản được gọi chung là thiết bị sắc ký miễn dịch.

Lưu ý rằng số lượng vùng phát hiện và loại kháng thể đã đánh dấu được chứa trong vùng đánh dấu không được giới hạn ở một, và rằng, bằng cách sử dụng các kháng thể tương ứng với nhiều chất cần phát hiện, hai kháng nguyên hoặc hơn có thể được đo trên mẫu thử duy nhất.

Lớp nền là vật liệu có đặc tính cố định kháng thể được sử dụng để bắt giữ (bắt giữ) chất cần phát hiện (kháng nguyên), và ngoài ra, nó không ngăn cản sự chuyển động của chất lỏng theo chiều ngang. Tốt hơn nếu lớp nền là màng mỏng xốp (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 theo sự hấp thụ. Vật liệu được sử dụng cho lớp nền không được giới hạn 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 là ưu tiên hơn. Màng, mà trên đó kháng thể được cố định, được gọi là "màng cố định kháng thể."

Vùng đánh dấu gồm chất nền xốp bao gồm kháng thể đã đánh dấu, và sợi thủy tinh được sử dụng phổ biến, vải không dệt, và dạng tương tự có thể được sử dụng trong bản mô tả này làm vật liệu đối với chất nền. Chất nền tốt hơn là lớp đệm có chiều dày xấp xỉ 0,3 mm đến 0,6 mm, sao cho chất nền được tẩm lượng lớn kháng thể đã đánh dấu. Chất nền xốp được tẩm kháng thể đã đánh dấu và tiếp theo được sấy khô còn gọi là lớp đệm khô.

Để đánh dấu kháng thể đã đánh dấu, các enzym như phosphatasa kiềm hoặc peroxidaza cải ngựa, keo kim loại như keo vàng, hạt silica, hạt xenluloza, hạt polystyren màu, hạt nhựa mủ màu, v.v. được sử dụng trong nhiều trường hợp. Khi hạt keo kim loại hoặc hạt màu như hạt polystyren màu hoặc hạt nhựa mủ màu được sử dụng, màu được phát triển bằng cách kết tụ các thuốc thử đánh dấu này. Do đó, màu được phát triển theo cách này được đo. Hạt, mà trên đó kháng thể được cố định, được gọi là hạt cố định kháng thể.

Vùng phát hiện chỉ ra vùng của lớp nền, mà trên đó kháng thể dùng để bắt giữ chất cần phát hiện (kháng nguyên) được cố định. Trong vùng phát hiện, ít nhất một vùng, mà trên đó kháng thể được sử dụng để bắt giữ kháng nguyên được cố định, được thiết lập. Vùng phát hiện có thể được bao gồm trong lớp nền, và kháng thể có thể được cố định trên lớp nền.

Lớp đệm mẫu là vị trí mà mẫu vật được bổ sung vào, và là vật liệu xốp. Lớp đệm mẫu là vị trí nằm hầu như phía trên mẫu thử sắc ký miễn dịch. Về vật liệu đối với lớp đệm mẫu, bộ lọc được sử dụng phổ biến, sợi thủy tinh, vải không dệt, v.v. có thể được sử dụng. Để sử dụng lượng lớn mẫu vật trong thử nghiệm miễn dịch, lớp đệm mẫu tốt hơn là lớp đệm có chiều dày xấp xỉ 0,3 mm đến 1 mm. Vật mẫu còn bao gồm mẫu điều chế được bằng

cách sử dụng vật mẫu, như mẫu thu được bằng cách tạo huyền phù vật mẫu trong dung dịch khác.

Dải hấp thụ là phần tử để hấp thụ các thành phần, mà được cấp cho lớp nền và không gắn liền với phản ứng trong vùng phát hiện. Về vật liệu đối với dải hấp thụ, bộ lọc có khả năng giữ nước cao, bọt biển hoặc dạng tương tự, gồm hợp chất cao phân tử tự nhiên phổ biến, hợp chất cao phân tử tổng hợp, v.v. có thể được sử dụng. Để thúc đẩy phát triển mẫu vật, vật liệu hấp thụ nước cao tốt hơn là được sử dụng làm dải hấp thụ.

Tấm ốp lưng là phần tử được sử dụng để dán và/hoặc cố định tất cả các vật liệu nêu trên, cụ thể, lớp nền, lớp đệm mẫu, vùng đánh dấu, dải hấp thụ và dạng tương tự, trong đó các vật liệu này chồng lấp một phần lên nhau. Tấm ốp lưng không nhất thiết phải có, nếu các vật liệu này được bố trí và được cố định với các khoảng cách tối ưu. Tuy nhiên, nói chung, tấm ốp lưng tốt hơn là được sử dụng cho thuận tiện hoặc dễ sản xuất hoặc sử dụng.

Trong mẫu thử sắc ký miễn dịch của sáng chế, vùng (phần tử) hiển thị kiểm soát cũng có thể có mặt. Vùng hiển thị kiểm soát là vị trí thể hiện rằng thử nghiệm được thực hiện chính xác. Ví dụ, vùng hiển thị kiểm soát nằm phía dưới vùng phát hiện, và phát các tín hiệu như tạo màu, khi vật mẫu được cho qua vùng phát hiện và đến vùng hiển thị kiểm soát. Trên vùng hiển thị kiểm soát, chất liên kết với kháng thể gắn chất mang đã đánh dấu có thể là pha rắn, hoặc thuốc thử như chất chỉ thị pH, màu của nó thay đổi khi đến mẫu vật, cũng có thể là pha rắn. Khi kháng thể gắn chất mang đã đánh dấu như vậy là kháng thể đơn dòng chuột nhất, kháng thể kháng IgG chuột nhất có thể được sử dụng.

Kích thước của mẫu thử sắc ký miễn dịch là không giới hạn. Ví dụ, chiều cao của nó là từ vài cm đến lớn hơn 10 và nhỏ hơn 20 cm, và chiều rộng của nó xấp xỉ vài mm đến vài cm.

Trong mẫu thử có dạng được mô tả trên đây, vật mẫu được cho đi qua kênh chảy xóp được tạo ra bằng cách nối một loạt các phần tử, như lớp đệm mẫu, vùng đánh dấu, lớp nền, vùng phát hiện, dải hấp thụ và dạng tương tự, với nhau. Do đó, theo phương án của

sáng chế, tất cả các thành phần này cấu thành vùng di chuyển mẫu vật. Cũng có một phương án, trong đó vật mẫu không thâm nhập vào các vật liệu cấu thành mà đi qua mặt phân cách, tùy thuộc vào vật liệu hoặc dạng của các vật liệu cấu thành. Tuy nhiên, do vùng di chuyển mẫu vật được xác định theo sáng chế là không liên quan đến việc vật mẫu đi vào vật liệu hay đi qua mặt phân cách, mẫu thử có phương án nêu trên cũng được bao gồm trong phạm vi của sáng chế.

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

Trong phương pháp đo kháng nguyên mạch đường bằng cách trộn nitrit với axit tạo ra axit nitơ, chiết kháng nguyên mạch đường từ mẫu vật bằng axit nitơ, trung hòa axit nitơ, và tiếp theo cho kháng nguyên mạch đường liên kết với kháng thể được cố định trên mẫu thử sắc ký miễn dịch này, theo sáng chế, các ví dụ về phương pháp chiết và đo kháng nguyên mạch đường bao gồm các phương pháp sau. Trong phương pháp bất kỳ của các phương pháp này, việc chiết kháng nguyên mạch đường bằng axit nitơ, và việc trung hòa được thực hiện trên mẫu thử sắc ký miễn dịch này. Để thực hiện việc chiết kháng nguyên mạch đường bằng axit nitơ trên mẫu thử sắc ký miễn dịch, mẫu thử sắc ký miễn dịch này có thể được tẩm thuốc thử axit hoặc nitrit. Để thực hiện việc trung hòa trên mẫu thử sắc ký miễn dịch, mẫu thử sắc ký miễn dịch này có thể được tẩm thuốc thử trung hòa.

(A) Mẫu vật được trộn trước với dung dịch axit, và hỗn hợp thu được được bổ sung vào lớp đệm mẫu chứa mẫu thử sắc ký miễn dịch đã tẩm nitrit và thuốc thử trung hòa. Khi dung dịch trộn đến vùng được tẩm nitrit, nitrit phản ứng với axit tạo ra axit nitơ, để cho kháng nguyên mạch đường trong vật mẫu được chiết. Phần chiết của kháng nguyên mạch đường được trung hòa trong vùng được tẩm thuốc thử trung hòa trên mẫu thử sắc ký miễn dịch, và kháng nguyên mạch đường liên kết với kháng thể được cố định trên mẫu thử sắc ký miễn dịch và do 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 tartaric.

(B) Mẫu vật được trộn trước với dung dịch nitrit, và hỗn hợp thu được được bổ sung vào lớp đệm mẫu chứa mẫu thử sắc ký miễn dịch đã tẩm thuốc thử axit và thuốc thử trung hòa. Khi dung dịch trộn đến vùng được tẩm thuốc thử axit, nitrit phản ứng với axit tạo ra axit nitơ, để cho kháng nguyên mạch đường trong vật mẫu được chiết. Phần chiết của kháng nguyên mạch đường được trung hòa trong vùng được tẩm thuốc thử trung hòa trên mẫu thử sắc ký miễn dịch trung hòa, và kháng nguyên mạch đường liên kết với kháng thể được cố định trên mẫu thử sắc ký miễn dịch này và do đó có thể được phát hiện.

Trong mẫu thử sắc ký miễn dịch của sáng chế để thực hiện phương pháp được mô tả trên đây (A) hoặc (B), thuốc thử axit hoặc nitrat và thuốc thử trung hòa được tẩm phía trên vùng đánh dấu (phía trên xuôi theo dòng chảy của vật mẫu, nơi lớp đệm mẫu có mặt), cụ thể, bên trong lớp đệm mẫu hoặc giữa lớp đệm mẫu và vùng đánh dấu. Mẫu thử sắc ký miễn dịch này, trong đó nitrit và thuốc thử trung hòa được tẩm bên trong lớp đệm mẫu hoặc giữa lớp đệm mẫu và vùng đánh dấu, có thể được sử dụng trong phương pháp được mô tả trên đây (A). Tương tự, mẫu thử sắc ký miễn dịch này, trong đó thuốc thử axit và thuốc thử trung hòa được tẩm bên trong lớp đệm mẫu hoặc giữa lớp đệm mẫu và vùng đánh dấu, có thể được sử dụng trong phương pháp được mô tả trên đây (B). Lưu ý rằng về thuốc thử axit,

thuốc thử axit rắn được sử dụng. Theo các phương pháp này, chất cần phát hiện trong mẫu thử có thể được đo chính xác và đặc hiệu, bất kể lượng mẫu thử dùng để thử.

Thuốc thử axit rắn hoặc nitrit có thể được tẩm vào lớp đệm mẫu, hoặc có thể được tẩm vào lớp đệm làm bằng vật liệu xốp mà khác với lớp đệm 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 bố trí giữa lớp đệm mẫu và vùng đánh dấu, cụ thể, ở phía trên vùng đánh dấu. Ở đây (trong bản mô tả này), vùng được tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit có thể được tiếp xúc hoặc không được tiếp xúc với lớp đệm mẫu hoặc vùng đánh dấu.

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

Thuốc thử trung hòa được bố trí phía dưới vùng được tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit. Thuốc thử trung hòa có thể được tẩm vào lớp đệm mẫu, hoặc có thể được tẩm vào lớp nền, hoặc có thể được tẩm vào lớp đệm làm bằng vật liệu xốp mà khác với lớp nền, như vải không dệt (như nylon) và vải, và vật liệu xốp tẩm thuốc thử trung hòa thu được có thể được bố trí giữa vùng được tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit và vùng đánh dấu. Nghĩa là, mẫu thử sắc ký miễn dịch này có vùng được tẩm thuốc thử trung hòa phía trên vùng đánh dấu, và còn có vùng được tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit phía trên vùng được tẩm thuốc thử trung hòa.

Các ví dụ về vật liệu xốp được sử dụng trong vùng được tẩm thuốc thử trung hòa bao gồm vật liệu xốp là vải dệt có trọng lượng cơ sở nằm trong khoảng từ 10 đến 400 g/m² và chiều 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 mỗi cm/m², có tốc độ hấp thụ nước nằm trong khoảng từ 1,0 đến 5,0 µl/sec, giữ nước với lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 100 µl/cm² sau khi một mảnh 1 cm/m² được cho tiếp xúc ở trạng thái ướt với màng và để yên trong 5 phút, và tốt hơn là có vùng (diện tích) lan chất lỏng 20 mm² hoặc nhỏ hơn sau khi một mảnh 1 cm/m² được cho tiếp xúc ở trạng thái ướt với màng và để yên trong 5 phút, cụ thể có ba đặc tính là khả năng hấp thụ nước cao, khả năng giữ nước (khả năng giữ chất lỏng) cao, và khả năng

giải phóng chất lỏng thấp hoặc khả năng giải phóng chất lỏng liên tục. Các ví dụ cụ thể về chúng bao gồm bộ lọc làm bằng sợi bông xenluloza, và bộ lọc thủy tinh làm bằng sợi thủy tinh. Các ví dụ về bộ lọc như vậy bao gồm No. 26-3 từ Toyo Roshi Kaisha, Ltd. Hơn nữa, bộ lọc được sử dụng có dung tích lớn và giữ lại một cách thỏa đáng dung dịch axit mà đi đến bộ lọc muộn hơn so với mẫu vật từ phần phía trên. Bằng cách sử dụng vật liệu xốp như vậy, thuốc thử trung hòa có thể được tẩm vào đó với lượng mà có thể trung hòa một cách thỏa đáng mẫu vật từ đó kháng nguyên mạch đường đã được chiết bằng axit nitơ được tạo ra nhờ phản ứng của nitrit với thuốc thử axit. Hơn nữa, lớp đệm có thể hấp thụ và giữ lại lượng lớn chất lỏng và duy trì đặc tính giải phóng. Do đó, nếu chất lỏng chứa axit nitơ còn lại phía trên mẫu thử sắc ký miễn dịch này được phát triển trong hoặc sau thời gian phán đoán, lớp đệm có thể có khả năng trung hòa thỏa đáng và có thể ngăn không cho dung dịch axit đi đến vùng phát hiện mà trên đó kháng thể được cố định. Kết quả là, phản ứng không đặc hiệu được ức chế, và kháng nguyên mạch đường có thể được phát hiện mà không gây ra phản ứng không đặc hiệu. Mặt khác, các ví dụ cụ thể về bộ lọc thủy tinh có khả năng hấp thụ nước cao, khả năng giữ nước cao, và khả năng giải phóng thấp bao gồm GS-25 từ Toyo Roshi Kaisha, Ltd. mà có thể được tẩm lượng lớn thuốc thử trung hòa do đặc tính hấp thụ nước cao, và ngăn không cho dung dịch axit đi đến vùng phát hiện được cố định do đặc tính giữ nước cao và đặc tính giải phóng nước thấp. Kết quả là, phản ứng không đặc hiệu có thể được ức chế trong trường hợp âm tính, và sự phát triển màu của vạch có thể được ngăn ngừa trong hoặc sau thời gian phán đoán trong trường hợp dương tính.

"Trọng lượng cơ sở" của vật liệu xốp được sử dụng trong vùng được tẩm thuốc thử trung hòa là 10 đến 400 g/m². Ở đây, "trọng lượng cơ sở" chỉ trọng lượng trên diện tích đơn vị (1 m²) của vải hoặc dạng tương tự. Trọng lượng cơ sở có thể được thay đổi thích hợp bằng cách điều chỉnh lượng hoặc thành phần của thuốc thử trung hòa tẩm vào lớp đệm. Nếu trọng lượng cơ sở là 30 g/m² hoặc nhỏ hơn, vật liệu xốp có độ xốp cao và là dễ rách khi được tẩm thuốc thử trung hòa, và do đó khó thao tác trong quá trình sản xuất sắc ký

miễn dịch. Do đó, trọng lượng cơ sở tốt hơn là 50 g/m^2 hoặc hơn. Nếu trọng lượng cơ sở là 300 g/m^2 hoặc hơn, vật liệu xốp có độ xốp thấp và không cho phép mẫu vật thấm dễ dàng vào vật liệu, mặc dù tùy thuộc vào thành phần của thuốc thử trung hòa, để cho vật mẫu không thể trộn với thuốc thử trung hòa. Do đó, trọng lượng cơ sở tốt hơn là 300 g/m^2 hoặc nhỏ hơn. Trọng lượng cơ sở tốt nhất là nằm trong khoảng từ 250 đến 270 g/m^2 .

"Chiều dày" của vật liệu xốp được sử dụng trong vùng được tẩm thuốc thử trung hòa tốt hơn là nằm trong khoảng từ $0,1$ đến $2,0 \text{ mm}$. Chiều dày có thể được thay đổi thích hợp bằng cách điều chỉnh lượng hoặc thành phần của thuốc thử trung hòa tẩm vào lớp đệm. Nếu chiều dày là $0,4 \text{ mm}$ hoặc nhỏ hơn, vật liệu xốp là dễ rách khi được tẩm thuốc thử trung hòa, và do đó khó thao tác trong quá trình sản xuất sắc ký miễn dịch. Do đó, chiều dày tốt hơn là nằm trong khoảng từ $0,4$ đến $0,8 \text{ mm}$ và tốt hơn nữa là xấp xỉ $0,6 \text{ mm}$ khi xét đến việc dễ dàng điều chỉnh lượng thuốc thử trung hòa được tẩm, và việc dễ dàng thao tác trong quá trình sản xuất sắc ký miễn dịch.

Đặc tính "khả năng hấp thụ nước" tốt hơn là 10 đến $100 \mu\text{l/cm}^2$ về lượng nước được hấp thụ mỗi cm^2 , và $1,0$ đến $5,0 \mu\text{l/sec}$ về tốc độ hấp thụ nước. Lượng nước được hấp thụ và tốc độ hấp thụ nước được xác định bằng cách điều chế $200 \mu\text{l}$ dung dịch màu (1% Tween 20 + Red No. 102) trong một ô của đĩa EIA 96 lỗ, đặt mẫu thử vào đó, trong đó vật liệu có kích thước $5 \times 60 \text{ mm}$ dán vào tấm ốp lưng, đo thời gian cần để dung dịch đi đến đầu trên của mẫu thử (đầu mẫu thử nhúng trong dung dịch được xác định là đầu dưới), tiếp tục lấy mẫu thử ra khỏi dung dịch ngay sau khi dung dịch đến được đầu trên, và đo lượng chất lỏng còn lại trong ô. Lượng nước được hấp thụ là lượng chất lỏng tính được bằng cách lấy $200 \mu\text{l}$ trừ đi lượng chất lỏng còn lại trong ô, 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 đến được đầu trên. Vật liệu xốp được sử dụng trong vùng được tẩm thuốc thử trung hòa tốt hơn là vật liệu có lượng lớn nước được hấp thụ và tốc độ hấp thụ nước chậm hơn. Nếu lượng nước được hấp thụ là $30 \mu\text{l/cm}^2$ hoặc nhỏ hơn, mặc dù tùy thuộc vào nồng

độ và hàm lượng nước của thuốc thử axit rắn, xét thấy rằng lượng thuốc thử trung hòa được tẩm có thể không đạt tới lượng cần cho mẫu thử sắc ký miễn dịch này. Cụ thể, lượng nước được hấp thụ tốt hơn là $30 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ hoặc hơn. Tốc độ hấp thụ nước của vật liệu xốp được sử dụng trong vùng được tẩm thuốc thử trung hòa ảnh hưởng đến thời gian cần để chiết kháng nguyên mạch đường từ mẫu vật, và thời gian cần để trung hòa dung dịch thử sau khi chiết. Thời gian cần để chiết kháng nguyên mạch đường có thể được điều chỉnh đến mức nhất định, mà không đầy đủ, bằng cách điều chỉnh vật liệu hoặc thành phần của thuốc thử axit rắn. Do đó, tốc độ hấp thụ nước của vật liệu xốp được sử dụng trong vùng được tẩm thuốc thử trung hòa là yếu tố quan trọng để chiết thỏa đáng kháng nguyên mạch đường và trung hòa. Cụ thể, tốc độ hấp thụ nước tốt hơn là 1,0 đến 5,0 $\mu\text{l}/\text{sec}$. Tốc độ hấp thụ nước tốt hơn nữa là 2,0 $\mu\text{l}/\text{sec}$ hoặc nhỏ hơn.

Đặc tính "khả năng giữ nước" được xác định bằng cách đặt, lên màng, mảnh $1 \text{ cm}/\text{m}^2$ thu được từ vật liệu xốp được sử dụng trong vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, bổ sung vào đó 70 μl dung dịch (1% Tween 20 + Red No. 102), và đo trọng lượng của màng trước và sau khi màng được để yên trong 5 phút. Lượng chất lỏng cho đặc tính giữ nước thay đổi tùy thuộc vào thành phần (chất hoạt động bề mặt hoặc protein) của dung dịch được bổ sung. Trong trường hợp phép thử sử dụng dung dịch 1% Tween 20, lượng nước giữ lại tốt hơn là nằm trong khoảng từ 10 đến 100 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$. Lượng nước giữ lại tốt hơn nữa là 15 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ hoặc hơn.

Đặc tính "khả năng giải phóng" được đo bằng cách đặt, lên màng, mảnh $1 \text{ cm}/\text{m}^2$ thu được từ vật liệu xốp được sử dụng trong vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, bổ sung vào đó 70 μl dung dịch (1% Tween 20 + Red No. 102), và xác định diện tích lan (trải) chất lỏng lên màng sau khi màng được để yên trong 5 phút. Diện tích thay đổi tùy thuộc vào thành phần (chất hoạt động bề mặt hoặc protein) của dung dịch được bổ sung. Trong trường hợp phép thử sử dụng dung dịch 1% Tween 20, diện tích là 30 mm^2 hoặc nhỏ hơn. Đặc tính khả năng giải phóng tốt hơn nữa là 20 mm^2 hoặc nhỏ hơn dưới dạng diện tích này.

Ở đây, vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, và vùng được tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit hoặc vùng đánh dấu có thể hoặc không tiếp xúc với nhau.

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

Mẫu thử sắc ký miễn dịch có vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng nitrit và vùng thuốc thử trung hòa có, trên lớp nền, lớp đệm mẫu, vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng nitrit, vùng thuốc thử trung hòa, vùng đánh dấu, vùng phát hiện, và dải hấp thụ, từ phía trên chúng, và vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng nitrit có thể nằm trên lớp đệm mẫu. Hơn nữa, lớp đệm mẫu, vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng nitrit, vùng thuốc thử trung hòa, vùng đánh dấu, vùng phát hiện, và dải hấp thụ có thể được tiếp xúc hoặc không được tiếp xúc với vùng liền kề. Hơn thế nữa, vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng nitrit, vùng thuốc thử trung hòa, và vùng đánh dấu không nhất thiết tẩm vào mỗi vật liệu xốp khác, và nhiều hoặc tất cả các vùng có thể được tẩm vào vật liệu xốp duy nhất.

Thuốc thử axit rắn được sử dụng theo sáng chế là ở trạng thái rắn ở nhiệt độ 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 tartaric.

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

Tương tự, thuốc thử axit rắn được sử dụng theo sáng chế tốt hơn là thuốc thử là không màu trên mẫu thử sắc ký miễn dịch, và cụ thể hơn, thuốc thử, mà có màu trắng ở trạng thái khô hoặc là hầu như không 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 thuốc thử axit rắn hoặc nitrit được sử dụng theo sáng chế, cụ thể, lượng thuốc thử axit rắn hoặc nitrit tẩm vào mẫu thử sắc ký miễn dịch này không được giới hạn cụ thể. Nói chung, lượng thuốc thử axit rắn hoặc nitrit là xấp xỉ 0,01 μg đến 1 mg, và tốt hơn là xấp xỉ 0,1 μg đến 0,1 mg, đối với mẫu thử sắc ký miễn dịch duy nhất. Tuy nhiên, tốt hơn nếu chọn lượng tối ưu, trong đó hiệu quả có thể thu được tùy thuộc vào loại thuốc thử axit rắn hoặc nitrit được sử dụng, thành phần của huyền phù mẫu vật, lượng được bổ sung, v.v..

Để tẩm lớp đệm mẫu hoặc vật liệu xếp bằng thuốc thử axit rắn hoặc nitrit, thuốc thử axit rắn hoặc nitrit được hòa một lần vào dung dịch, và tiếp theo dung dịch thu được được phủ lên lớp đệm mẫu hoặc vật liệu xếp và tiếp theo được sấy khô.

Thuốc thử trung hòa được sử dụng theo sáng chế là ở trạng thái rắn ở nhiệt độ 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 dung dịch đệm Good có khả năng đệm trong giới hạn kiềm.

Lượng thuốc thử trung hòa được sử dụng theo sáng chế, cụ thể, lượng thuốc thử trung hòa tẩm vào mẫu thử sắc ký miễn dịch không được giới hạn cụ thể. Nói chung, thuốc thử trung hòa được sử dụng với lượng xấp xỉ 0,01 μg đến 1 mg, và tốt hơn là xấp xỉ 0,1 μg đến 0,1 mg, đối với mẫu thử sắc ký miễn dịch duy nhất. Tuy nhiên, tốt hơn nếu chọn lượng tối ưu, trong đó hiệu quả có thể thu được tùy thuộc vào loại thuốc thử trung hòa được sử dụng, thành phần của huyền phù mẫu vật, lượng được bổ sung, v.v..

Để tẩm lớp đệm mẫu hoặc vật liệu xếp bằng thuốc thử trung hòa, thuốc thử trung hòa có thể được hòa một lần vào dung dịch, tiếp theo dung dịch thu được được phủ lên lớp đệm mẫu hoặc vật liệu xếp, và sau đó, nó có thể được sấy khô.

Fig. 1 và Fig. 2 thể hiện phương án ưu tiên của mẫu thử sắc ký miễn dịch điển hình. Mẫu thử sắc ký miễn dịch được thể hiện trên Fig. 1 hoặc Fig. 2 là mẫu thử sắc ký miễn dịch được tẩm thuốc thử axit rắn và thuốc thử trung hòa. Tuy nhiên, nitrat có thể được tẩm

thay cho thuốc thử axit rắn, và kết quả thu được là mẫu thử sắc ký miễn dịch được tẩm nitrat và thuốc thử trung hòa. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể thiết kế và sản xuất một cách thích hợp mẫu thử sắc ký miễn dịch được tẩm nitrat và thuốc thử trung hòa. Lưu ý rằng mẫu thử sắc ký miễn dịch này là không giới hạn ở các mẫu thử được thể hiện trên Fig. 1 và Fig. 2. Trên Fig. 1 và Fig. 2, số chỉ dẫn 1 biểu thị lớp nền, số chỉ dẫn 2 biểu thị vùng đánh dấu, số chỉ dẫn 3 biểu thị vùng phát hiện, số chỉ dẫn 4 biểu thị lớp đệm mẫu, số chỉ dẫn 7 biểu thị dải hấp thụ, và số chỉ dẫn 8 biểu thị tấm ốp lưng. Hơn nữa, lớp ghép mỏng trên cùng có thể dính bám với toàn bộ mẫu thử.

Fig. 1A và Fig. 2A là các hình chiếu từ trên (hình chiếu bằng), và Fig. 1B và Fig. 2B là các hình vẽ mặt cắt. Trong ví dụ được thể hiện trên Fig. 1, lớp nền 1 mà trên đó một vùng phát hiện 3 được tạo ra, dải hấp thụ 7, vùng đánh dấu 2, lớp đệm mẫu 4, và dạng tương tự, được ghép lớp trên tấm ốp lưng 8 làm bằng nhựa hoặc dạng tương tự. Như được thể hiện trên Fig. 1, một đầu của dải hấp thụ 7 được ghép lớp trên một đầu của lớp nền 1, đầu còn lại của lớp nền 1 được ghép lớp trên một đầu của vùng đánh dấu 2, và đầu còn lại của vùng đánh dấu 2 được ghép lớp trên một đầu của lớp đệm mẫu 4. Phần phía trên lớp đệm mẫu 4 được tẩm thuốc thử axit rắn, và phần phía dưới lớp đệm mẫu được tẩm thuốc thử trung hòa, có khoảng cách nhất định với phần phía trên. Vùng được tẩm thuốc thử axit rắn được gọi là vùng thuốc thử axit rắn 5, và vùng được tẩm thuốc thử trung hòa được gọi là vùng thuốc thử trung hòa 6. Trong mẫu thử này, lớp đệm mẫu còn đóng vai trò vùng thuốc thử axit rắn 5 và vùng thuốc thử trung hòa 6. Nghĩa là, vùng thuốc thử axit rắn và vùng thuốc thử trung hòa có mặt trên lớp đệm mẫu. Mẫu thử này, trong đó vùng thuốc thử axit rắn và vùng thuốc thử trung hòa được thiết lập dưới dạng một (lớp đệm) vật liệu xốp, còn gọi là mẫu thử một lớp đệm. Trong ví dụ được thể hiện trên Fig. 2, vùng thuốc thử axit rắn 5 và/hoặc vùng thuốc thử trung hòa 6 có mặt phía trên vùng đánh dấu 2, và các vùng này chồng lấp lên nhau, để cho kênh chảy của dòng chảy ngang liên tục được tạo ra. Trong mẫu thử được thể hiện trên Fig. 2, vùng thuốc thử axit rắn 5 còn đóng vai trò lớp đệm mẫu.

Nghĩa là, vùng thuốc thử axit rắn có mặt trên lớp đệm mẫu. Trong mẫu thử này, trong đó vùng thuốc thử axit rắn và vùng thuốc thử trung hòa được thiết lập dưới dạng hai (lớp đệm) vật liệu xốp khác nhau, còn gọi là mẫu thử hai lớp đệm. Lớp đệm mẫu có thể còn có mặt phía trên vùng thuốc thử axit rắn. Trong mẫu thử được thể hiện trên Fig. 2, vùng thuốc thử axit rắn 5 và vùng thuốc thử trung hòa 6 được tẩm trong các vật liệu xốp khác nhau. Tuy nhiên, trên (lớp đệm) vật liệu xốp duy nhất, vùng thuốc thử axit rắn 5 được thiết lập ở phần phía trên, và vùng thuốc thử trung hòa 6 được thiết lập ở phần phía dưới, như trong lớp đệm mẫu của mẫu thử được thể hiện trên Fig. 1.

Phương pháp sử dụng mẫu thử theo sáng chế sẽ được mô tả trên cơ sở dạng được thể hiện trên Fig. 1. Phương pháp sử dụng sau là phương pháp trộn mẫu vật với dung dịch axit nitơ và thực hiện phép đo bằng cách sử dụng phương pháp sắc ký miễn dịch, trong đó thuốc thử axit rắn và thuốc thử trung hòa được tẩm. Phương pháp trộn mẫu vật với dung dịch axit và thực hiện phép đo bằng cách sử dụng phương pháp thử sắc ký miễn dịch, trong đó nitrit và thuốc thử trung hòa được tẩm, cũng có thể được thực hiện có tham chiếu đến phần mô tả về phương pháp sử dụng sau.

Mẫu vật hoặc mẫu điều chế được bằng cách sử dụng mẫu vật này được tiếp xúc và trộn với dung dịch nitrit, và mẫu vật được tạo huyền phù trong dung dịch nitrit, và tiếp theo huyền phù được bổ sung vào công bố sung vật mẫu của thiết bị, để cho phép đo được bắt đầu. Lúc này, 5 đến 100 μL mẫu vật có thể được trộn với 0,01 đến 2 mL nitrit 0,1 M đến 8 M, và tiếp theo 5 đến 200 μL hỗn hợp thu được có thể được bổ sung vào công bố sung. Các ví dụ về nitrit bao gồm natri nitrit và kali nitrit.

Mẫu vật chứa kháng nguyên mạch đường dưới dạng chất cần phát hiện, mà được cho qua lớp đệm mẫu 4, được phát triển đến vùng thuốc thử axit rắn 5 và vùng thuốc thử trung hòa 6 trên lớp đệm mẫu 4 nhờ tác dụng mao dẫn, và ngoài ra, được phát triển liên tục đến vùng đánh dấu 2, lớp nền 1, và dải hấp thụ 7 theo chiều ngang. Trong vùng thuốc thử axit rắn 5, nitrit đã trộn với vật mẫu phản ứng với thuốc thử axit rắn trên vùng thuốc thử

axit rắn 5 tạo ra axit nitơ tự do, để cho kháng nguyên mạch đường được chiết từ vật mẫu nhờ tác dụng của axit nitơ. Kháng nguyên mạch đường đã chiết được được phát triển và được chuyển, cùng với dung dịch phát triển có tính axit, đến vùng thuốc thử trung hòa 6, và độ pH của dung dịch phát triển có tính axit chứa kháng nguyên mạch đường được trung hòa ở vùng thuốc thử trung hòa 6, để cho nó được điều chỉnh đến khoảng trung tính. Kết quả là, kháng nguyên mạch đường được tiếp tục phát triển và được chuyển đến vùng phía dưới trong điều kiện trung tính. Trong vùng đánh dấu 2, với sự phát triển của vật mẫu, kháng thể đã đánh dấu được giải phóng vào chất lỏng, và tiếp theo nó được phát triển đến lớp nền 1. Khi kháng nguyên mạch đường có mặt trong vật mẫu, kháng nguyên mạch đường được bắt giữ đặc hiệu bởi kháng thể bắt giữ tại vùng phát hiện 3 trong lớp nền 1, và kháng nguyên mạch đường cũng có phản ứng đặc hiệu với kháng thể đã đánh dấu để tạo ra phức chất. Nhờ đó, ở vùng phát hiện 3, sự kẹp của kháng thể qua kháng nguyên mạch đường là đạt được, để cho phức chất kháng thể đã đánh dấu-kháng nguyên mạch đường có thể được đo ở vùng phát hiện 3.

Theo phương pháp sử dụng mẫu thử sắc ký miễn dịch của sáng chế, do việc chiết kháng nguyên mạch đường từ mẫu vật được thực hiện trên mẫu thử sắc ký miễn dịch này, không cần chiết trước kháng nguyên mạch đường từ vật mẫu trước khi đo bằng cách sử dụng mẫu thử sắc ký miễn dịch này, mà kháng nguyên mạch đường trong vật mẫu có thể được đo bằng một bước duy nhất.

Trong phương pháp theo sáng chế, mẫu sinh học dùng làm mẫu vật không được giới hạn cụ thể. Các ví dụ về mẫu sinh học như vậy bao gồm dịch thể và dạng tương tự như huyết thanh, huyết tương, máu, nước tiểu, phân, nước bọt, dịch mô, dịch tủy hoặc 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 mạch đường, mà có thể được đo bằng thử nghiệm miễn dịch, cụ thể, thử nghiệm sử dụng phản ứng kháng nguyên-kháng thể. Một ví

dự về kháng nguyên này là polysacarit, một loại kháng nguyên mạch đường có mặt trên thành tế bào vi khuẩn chiết được bằng phương pháp chiết axit nitơ. Protozoa (động vật nguyên sinh), nấm, vi khuẩn, mycoplasma, rickettsia, chlamydia, virus, và các vi sinh vật khác bao gồm chất nêu trên cũng có thể được đo. Trong phương pháp sử dụng mẫu thử sắc ký miễn dịch theo sáng chế, bất kể kháng nguyên mạch đường được tạo ra từ protozoa, nấm, vi khuẩn, mycoplasma, rickettsia, chlamydia, virus, v.v., được chứa trong mẫu sinh học của đối tượng có thể được xác nhận. Khi kháng nguyên mạch đường như vậy được chứa trong mẫu sinh học, có thể xác định được rằng đối tượng bị ảnh hưởng bởi bệnh nhiễm trùng do protozoa, nấm, vi khuẩn, mycoplasma, rickettsia, chlamydia, virus, v.v., gây ra. Ví dụ, streptococcus hoại huyết β nhóm A (*Streptococcus pyogenes*), có hoặc không nhiễm *Escherichia coli*, Legionella, Campylobacter, v.v. có thể được phát hiện.

Để cho phép mẫu vật mà từ đó kháng nguyên mạch đường đã được chiết bằng axit nitơ được tạo ra nhờ phản ứng của nitrit với axit, được hấp thụ vào lớp đệm được tẩm thuốc thử trung hòa và ở lại trong lớp đệm đủ dài để trung hòa một cách chắc chắn vật mẫu, phần tử dưới dạng thay thế cho bộ lọc hoặc bộ lọc thủy tinh, mà có đặc trưng vật lý và các đặc tính kiểm soát sự phát triển của dung dịch vật mẫu trên mẫu thử sắc ký miễn dịch này, có thể được thiết lập phía trên vị trí đánh dấu. Nghĩa là, theo sáng chế, vật liệu xốp được sử dụng trong vùng được tẩm thuốc thử trung hòa có thể được xử lý sơ bộ theo yêu cầu. Để kiểm soát mức độ ưa nước hoặc mức độ kỵ nước, vật liệu có đặc trưng vật lý hoặc các đặc tính không phải các đặc tính nêu trên có thể được xử lý trong phạm vi của đặc trưng vật lý hoặc các đặc tính được mô tả theo sáng chế bằng cách cho phép thuốc thử trung hòa chứa các thuốc hoặc bột. Các ví dụ về thuốc được chứa bao gồm chất hoạt động bề mặt, protein, nhựa, và polyme tổng hợp bằng phương pháp hóa học. Các ví dụ về phần tử mà có thể được đề xuất với các dấu hiệu giống như các dấu hiệu của bộ lọc hoặc bộ lọc thủy tinh bao gồm vải không dệt như nylon.

Theo sáng chế, khi vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng nitrit và vùng thuốc thử trung hòa chồng lấp và tiếp xúc với nhau, tấm không thấm chất lỏng được thiết lập sao cho tấm được kẹp giữa vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng nitrit và vùng thuốc thử trung hòa. Việc thiết lập tấm này có thể tạo ra ba tác dụng sau.

(A) Chuyển động của thuốc thử giữa hai vùng liền kề có thể được ức chế trong quá trình bảo quản mẫu thử. Kết quả là, phản ứng của thuốc thử axit rắn hoặc nitrit với thuốc thử trung hòa do tiếp xúc có thể được ngăn ngừa. Kết quả là, độ bền của thuốc thử có thể được cải thiện.

(B) Khi vật mẫu trộn với nitrit hoặc thuốc thử axit được bổ sung, việc chiết không thỏa đáng kháng nguyên mạch đường do vật mẫu đi đến vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng nitrit và ngay sau đó chuyển đến vùng thuốc thử trung hòa có thể được ngăn ngừa. Nghĩa là, tỷ lệ mà tại đó chất lỏng chứa vật mẫu chuyển từ vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng nitrit đến vùng thuốc thử trung hòa là giảm, và thời gian mà trong đó chất lỏng chứa vật mẫu ở lại trong vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng nitrit được kéo dài. Kết quả là, kháng nguyên mạch đường được chiết một cách thỏa đáng, và độ nhạy đo được tăng cường.

(C) Khi vật mẫu trộn với nitrit hoặc thuốc thử axit được bổ sung, chất lỏng chứa vật mẫu đến được vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng nitrit và ngay sau đó được chuyển đến vùng thuốc thử trung hòa có thể được ngăn không cho chảy ngược đến vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng nitrit, làm giảm hoạt tính của thuốc thử axit rắn hoặc nitrit, và giảm hiệu quả chiết. Nghĩa là, chất lỏng chứa vật mẫu một khi đến được vùng thuốc thử trung hòa được ngăn không cho chảy ngược đến vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng nitrit và ngăn giảm hoạt tính của thuốc thử axit rắn hoặc nitrit. Do đó, việc chiết kháng nguyên mạch đường bằng axit nitơ là cho phép tiến hành hiệu quả, và độ nhạy đo được tăng cường.

Vật liệu dùng cho tấm được thiết lập giữa vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng nitrit và vùng thuốc thử trung hòa là không giới hạn miễn là vật liệu không thấm chất lỏng. Ví

dụ, tấm làm bằng nhựa như tấm PET (polyetylen terephthalat) hoặc tấm polyetylen có thể được sử dụng. Tấm làm bằng nhựa còn gọi là màng làm bằng nhựa.

Tấm có thể được thiết lập sao cho vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng nitrit và vùng thuốc thử trung hòa tiếp xúc một phần và chồng lấp lên nhau. Trong trường hợp này, chiều dài của phần chồng lấp giữa vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng nitrit và vùng thuốc thử trung hòa tốt hơn là tối thiểu và là, 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 có thể được thiết lập để không cho vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng nitrit và vùng thuốc thử trung hòa tiếp xúc với nhau, và lớp đệm được tấm thuốc thử axit hoặc nitrit có dạng chia ra khỏi tấm PET. Trong trường hợp này, vùng trung hòa có thể được phủ hoàn toàn bởi tấm, và vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng axit nitơ có thể được thiết lập trên tấm. Trong trường hợp này, chất lỏng trong vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng axit nitơ chảy trên tấm mà không chuyển trực tiếp đến vùng trung hòa, và tiếp theo đến vùng thuốc thử trung hòa.

Tấm có thể được thiết lập, ví dụ, chỉ giữa vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng nitrit và vùng thuốc thử trung hòa. Mặt khác, khi tấm làm bằng nhựa, dưới dạng lớp ghép mỏng trên cùng, dán vào và phủ lên mặt trên của mẫu thử sắc ký miễn dịch, lớp ghép mỏng trên cùng này dán vào và phủ lên vùng thuốc thử trung hòa, vùng đánh dấu, lớp nền, vùng phát hiện, và dải hấp thụ loại trừ vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng axit nitơ và còn loại trừ lớp đệm mẫu khi vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng axit nitơ cũng đóng vai trò lớp đệm mẫu. Vùng thuốc thử axit rắn hoặc vùng nitrit có thể dán vào phần trên của lớp ghép mỏng trên cùng dán vào phần trên của phần thuốc thử trung hòa.

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

[1] Mẫu thử sắc ký miễn dịch dùng để chiết và đo kháng nguyên mạch đường trong vật mẫu, mẫu thử sắc ký miễn dịch này bao gồm: lớp đệm mẫu mà vật mẫu trộn với nitrit hoặc dung dịch axit được bổ sung vào; vùng đánh dấu bao gồm kháng thể đã đánh dấu thu được

bằng cách đánh dấu kháng thể kháng kháng nguyên mạch đường; và vùng phát hiện mà trên đó kháng thể kháng kháng nguyên mạch đường được cố định, trong đó phức chất kháng thể-kháng nguyên mạch đường-kháng thể đã đánh dấu được tạo ra trong vùng phát hiện để đo kháng nguyên mạch đường, và mẫu thử sắc ký miễn dịch này có vùng được tẩm thuốc thử trung hòa phía trên vùng đánh dấu, và còn có vùng được tẩm thuốc thử axit rắn khi vật mẫu trộn với nitrit được sử dụng, hoặc vùng được tẩm nitrit khi vật mẫu trộn với dung dịch axit được sử dụng, phía trên vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, trong đó

tấm làm bằng nhựa được kẹp giữa vùng được tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit và vùng được tẩm thuốc thử trung hòa để ức chế chuyển động của thuốc thử hoặc chuyển động của dung dịch mẫu vật giữa các vùng này.

[2] Mẫu thử sắc ký miễn dịch theo mục [1], trong đó vùng được tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit có mặt trên lớp đệm mẫu.

[3] Mẫu thử sắc ký miễn dịch theo mục [1] hoặc [2], trong đó tấm làm bằng nhựa được kẹp sao cho vùng được tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit và vùng được tẩm thuốc thử trung hòa tiếp xúc một phần với nhau.

[4] Mẫu thử sắc ký miễn dịch theo mục [1] hoặc [2], trong đó tấm làm bằng nhựa được kẹp sao cho vùng được tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit và vùng được tẩm thuốc thử trung hòa không tiếp xúc với nhau.

[5] Mẫu thử sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trên đây từ [2] đến [4], trong đó vùng được tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit là có mặt trong lớp đệm mẫu cao nhất trên mẫu thử sắc ký miễn dịch này, các vùng ngoại lệ đối với lớp đệm mẫu được phủ tấm làm bằng nhựa, và lớp đệm mẫu được tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit là có mặt bên trên tấm làm bằng nhựa nằm bên trên vùng được tẩm thuốc thử trung hòa.

[6] Mẫu thử sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trên đây từ [1] đến [5], trong đó thuốc thử axit rắn được chọn từ nhóm gồm axit malonic, axit malic, axit maleic, axit xitric, và axit tartaric.

[7] Mẫu thử sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trên đây từ [1] đến [6], trong đó thuốc thử trung hòa là tris(hydroxymetyl)aminometan hoặc natri hydroxit.

[8] Mẫu thử sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trên đây từ [1] đến [7], trong đó kháng nguyên mạch đường là kháng nguyên mạch đường của protozoa, nấm, vi khuẩn, mycoplasma, rickettsia, chlamydia, hoặc virut.

[9] Phương pháp đo kháng nguyên mạch đường trong vật mẫu theo phương pháp sắc ký miễn dịch sử dụng mẫu thử sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trên đây từ [1] đến [8],

phương pháp bao gồm

trộn vật mẫu với dung dịch axit nitơ khi mẫu thử sắc ký miễn dịch có vùng được tẩm thuốc thử axit rắn, hoặc trộn vật mẫu với dung dịch axit khi mẫu thử sắc ký miễn dịch có vùng được tẩm nitrit, và bổ sung hỗn hợp này vào lớp đệm mẫu của mẫu thử sắc ký miễn dịch, trong đó trong phương pháp sắc ký miễn dịch,

kháng nguyên mạch đường được chiết từ vật mẫu nhờ tác dụng của axit nitơ được tạo ra nhờ phản ứng của nitrit với thuốc thử axit rắn trong vùng được tẩm thuốc thử axit rắn hoặc vùng được tẩm nitrit, dung dịch axit chứa kháng nguyên mạch đường được trung hòa trong vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, và

phức chất kháng thể-kháng nguyên mạch đường-kháng thể đã đánh dấu được tạo ra trong vùng phát hiện, và trong đó

tốc độ hoặc hướng phát triển của vật mẫu trên mẫu thử sắc ký miễn dịch là được kiểm soát, để cho việc xử lý bằng thuốc thử axit, nitrit, và thuốc thử trung hòa là được kiểm soát.

Trong thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế, cổng bổ sung rộng có thể cũng được thiết lập.

Ví dụ, cổng bổ sung của thiết bị sắc ký miễn dịch thông thường (QuickNavi(TM)-Strep A, Denka Seiken Co., Ltd.), trong đó mẫu thử sắc ký miễn dịch có chiều dài 5 đến 9 cm, tốt hơn là 7 cm, và chiều rộng 0,3 đến 0,7 cm, tốt hơn là 0,5 cm, được bảo quản, được

thiết lập dưới dạng cổng bổ sung về cơ bản có dạng chữ nhật có kích thước xấp xỉ 3,5 mm $\times$ xấp xỉ 5,5 mm (19,25 mm²). Cổng bổ sung của thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế, trong đó mẫu thử sắc ký miễn dịch có kích thước giống như trên đây được bảo quản, được thiết lập dưới dạng cổng bổ sung về cơ bản có dạng chữ nhật có kích thước xấp xỉ 3,5 mm $\times$ xấp xỉ 11 mm (38,5 mm²). Do thiết bị sắc ký miễn dịch và mẫu thử sắc ký miễn dịch được bảo quản trong đó thường có kích thước giống nhau, thiết bị sắc ký miễn dịch có chiều rộng 3 cm và chiều dài 9 cm có cổng bổ sung về cơ bản có dạng chữ nhật 3 đến 5 mm $\times$ 8 đến 15 mm (24 đến 75 mm²) là thiết bị sắc ký miễn dịch có cổng bổ sung rộng và có khả năng tạo ra các tác dụng của thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế. Các cạnh dài của cổng bổ sung là các cạnh song song với các cạnh dài của mẫu thử sắc ký miễn dịch, cụ thể, các cạnh xuôi theo hướng dòng chảy của dung dịch vật mẫu. Chiều dài của cạnh dài của cổng bổ sung còn gọi là chiều dài cổng bổ sung, và chiều dài của cạnh ngắn của nó còn gọi là chiều rộng cổng bổ sung. Trong ví dụ được mô tả trên đây, cổng bổ sung về cơ bản có dạng chữ nhật được sử dụng. Tuy nhiên, hình dạng của cổng bổ sung có thể là hình tam giác hoặc hình tròn. Khi kích thước của cổng bổ sung của thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế được chỉ ra bằng diện tích, diện tích là 24 đến 75 mm², tốt hơn là 35 đến 75 mm².

Khi vật mẫu (mẫu vật) được xử lý bằng thuốc thử xử lý vật mẫu thiết lập trên mẫu thử sắc ký miễn dịch theo phương pháp sắc ký miễn dịch thông thường, khả năng xử lý vật mẫu là yếu do diện tích nhỏ trong đó dung dịch mẫu được tiếp xúc với vùng được tẩm thuốc thử xử lý vật mẫu. Hơn thế nữa, xử lý vật mẫu được thực hiện trong khi mẫu thử sắc ký miễn dịch này được phát triển từ từ. Do đó, dung dịch mẫu phát triển trước và dung dịch mẫu phát triển sau khác nhau về nồng độ thuốc thử xử lý vật mẫu. Do đó, xử lý vật mẫu không thể được thực hiện một cách chắc chắn.

Cổng bổ sung của thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế được thiết lập dưới dạng cổng bổ sung rộng và do đó có thể cấp lượng lớn dung dịch vật mẫu một lần trong thời gian ngắn đến vùng được tẩm thuốc thử xử lý mẫu vật, cụ thể, vùng được tẩm thuốc thử axit rắn

hoặc vùng được tẩm axit nitơ, khi sắc ký miễn dịch. Kết quả là, việc chiết kháng nguyên mạch đường trên mẫu thử sắc ký miễn dịch này có thể được thúc đẩy. Lượng dung dịch vật mẫu mà có thể được cấp một lần là 10 μL đến 200 μL .

Kết quả là, khác biệt về nồng độ thuốc thử xử lý vật mẫu do khác biệt thời gian không xảy ra. Do đó, xử lý vật mẫu khi sắc ký miễn dịch có thể được thúc đẩy và được thực hiện một cách chắc chắn và hiệu quả.

Thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế được cấu hình để không có khoảng trống giữa cổng bổ sung và lớp đệm mẫu nằm dưới đó nhằm ngăn ngừa mẫu thoát khỏi cổng bổ sung.

Cổng bổ sung của thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế được thiết lập dưới dạng cổng bổ sung rộng và cấp lượng lớn dung dịch vật mẫu một lần trong thời gian ngắn. Phần mép, là đường biên, của cổng bổ sung có chiều cao nhất định (1 đến 5 mm), và dung dịch vật mẫu đã cấp được giữ tạm thời bên trong cổng bổ sung.

Kết quả là, dung dịch vật mẫu cần nhiều thời gian để hấp thụ hoàn toàn vào mẫu thử sắc ký miễn dịch, để cho dung dịch mẫu có thể thoát ra ngoài mẫu thử sắc ký miễn dịch mà không hấp thụ vào mẫu thử sắc ký miễn dịch.

Trong thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế, lớp đệm mẫu được đỡ bằng tấm ốp lưng có kích thước biên tương đương với hoặc lớn hơn so với của cổng bổ sung, khi tấm ốp lưng đỡ lớp đệm mẫu, nhằm ngăn ngừa mẫu thoát khỏi cổng bổ sung. Do đó, tấm ốp lưng có thể ép lớp đệm mẫu vào cổng bổ sung loại bỏ khoảng trống giữa cổng bổ sung và lớp đệm mẫu. Thiết bị sắc ký miễn dịch được cấu hình theo cách này có thể ngăn ngừa dung dịch mẫu thoát ra.

Nếu lớp đệm mẫu có độ dày không đều, phần mỏng của lớp đệm mẫu dễ tạo khoảng trống từ cổng bổ sung và dễ làm cho dung dịch mẫu thoát ra.

Theo sáng chế, để cho vật chứa của thiết bị có thể được thiết kế dưới dạng đế cao cho phần mỏng của lớp đệm mẫu và được thiết kế dưới dạng đế thấp cho phần dày để loại

bỏ khoảng trống giữa cổng bổ sung và lớp đệm ngay cả có chiều dày không đều. Thiết bị sắc ký miễn dịch được cấu hình theo cách này có thể ngăn ngừa dung dịch mẫu thoát ra.

Kết quả là, việc chiết kháng nguyên mạch đường trên mẫu thử sắc ký miễn dịch này có thể được thực hiện hiệu quả.

Cụ thể, sáng chế là như sau.

[1] Thiết bị sắc ký miễn dịch bao gồm mẫu thử sắc ký miễn dịch dùng để chiết và đo kháng nguyên mạch đường trong vật mẫu, và vật đựng bảo quản mẫu thử, thiết bị sắc ký miễn dịch có cổng bổ sung mẫu vật trong lớp đệm mẫu của mẫu thử, mẫu thử sắc ký miễn dịch này bao gồm: lớp đệm mẫu mà vật mẫu trộn với nitrit hoặc dung dịch axit được bổ sung vào; vùng đánh dấu bao gồm kháng thể đã đánh dấu thu được bằng cách đánh dấu kháng thể kháng kháng nguyên mạch đường; và vùng phát hiện mà trên đó kháng thể kháng kháng nguyên mạch đường được cố định, trong đó phức chất kháng thể-kháng nguyên mạch đường-kháng thể đã đánh dấu được tạo ra trong vùng phát hiện để đo kháng nguyên mạch đường, và mẫu thử sắc ký miễn dịch này có vùng được tẩm thuốc thử trung hòa phía trên vùng đánh dấu, và còn có vùng được tẩm thuốc thử axit rắn khi vật mẫu trộn với nitrit được sử dụng, hoặc vùng được tẩm nitrit khi vật mẫu trộn với dung dịch axit được sử dụng, phía trên vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, trong đó thiết bị sắc ký miễn dịch

- (i) có cổng bổ sung vật mẫu rộng để thúc đẩy việc chiết kháng nguyên mạch đường bằng nitrit và thuốc thử axit rắn bằng cách giữ lại dung dịch vật mẫu đã bổ sung và cấp dung dịch vật mẫu trong thời gian ngắn vào vùng được tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit, và
- (ii) không có khoảng trống giữa cổng bổ sung và lớp đệm mẫu để ngăn ngừa mẫu thoát ra khỏi cổng bổ sung.

[2] Thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục [1], trong đó cổng bổ sung vật mẫu của thiết bị sắc ký miễn dịch có kích thước 24 đến 75 mm².

[3] Thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục [1] hoặc [2], trong đó lớp đệm được tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit, hoặc thuốc thử trung hòa lên mẫu thử sắc ký miễn dịch này được làm bằng vật liệu kỵ nước cao, và việc chiết kháng nguyên mạch đường bằng nitrit và thuốc thử axit rắn được thúc đẩy bằng cách làm chậm thời gian phát triển của dung dịch vật mẫu.

[4] Thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục [3], trong đó vật liệu kỵ nước cao được chọn từ nhóm gồm polyetylen, polyeste, polystyren, polypropylen, rayon, và nylon.

[5] Thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục [1] hoặc [2], trong đó lớp đệm được tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit, hoặc thuốc thử trung hòa lên mẫu thử sắc ký miễn dịch này được làm bằng vật liệu có độ ưa nước cao, và việc chiết kháng nguyên mạch đường bằng nitrit và thuốc thử axit rắn được thúc đẩy bằng cách làm chậm thời gian phát triển của dung dịch vật mẫu.

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

[7] Thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trên đây từ [1] đến [6], trong đó việc chiết kháng nguyên mạch đường bằng nitrit và thuốc thử axit rắn được thúc đẩy bằng cách bổ sung chất hoạt động bề mặt vào lớp đệm được tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit, hoặc thuốc thử trung hòa lên mẫu thử sắc ký miễn dịch này, và điều chỉnh thời gian phát triển của dung dịch vật mẫu.

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

[9] Thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trên đây từ [1] đến [8], trong đó việc chiết kháng nguyên mạch đường bằng nitrit và thuốc thử axit rắn được thúc đẩy bằng cách bổ sung hợp chất cao phân tử có tác dụng cố định vào lớp đệm được tẩm thuốc thử axit rắn

hoặc nitrit, hoặc thuốc thử trung hòa lên mẫu thử sắc ký miễn dịch này, và điều chỉnh thời gian phát triển của dung dịch vật mẫu.

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

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

[12] Thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trên đây từ [1] đến [11], trong đó thuốc thử axit rắn được chọn từ nhóm gồm axit malonic, axit malic, axit maleic, axit citric, và axit tartaric.

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

[14] Thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trên đây từ [1] đến [13], trong đó kháng nguyên mạch đường là kháng nguyên mạch đường của protozoa, nấm, vi khuẩn, mycoplasma, rickettsia, chlamydia, hoặc virus.

[15] Phương pháp đo kháng nguyên mạch đường trong vật mẫu theo phương pháp sắc ký miễn dịch sử dụng thiết bị sắc ký miễn dịch theo mục bất kỳ trên đây từ [1] đến [14],

phương pháp đo kháng nguyên mạch đường trong vật mẫu bằng cách thúc đẩy việc chiết kháng nguyên mạch đường theo phương pháp sắc ký miễn dịch, và phương pháp bao gồm

trộn vật mẫu với dung dịch axit nitơ khi thiết bị sắc ký miễn dịch có vùng được tẩm thuốc thử axit rắn, hoặc trộn vật mẫu với dung dịch axit khi thiết bị sắc ký miễn dịch có vùng được tẩm nitrit, và bổ sung hỗn hợp này vào lớp đệm mẫu của thiết bị sắc ký miễn dịch, trong đó trong phương pháp sắc ký miễn dịch,

kháng nguyên mạch đường được chiết từ vật mẫu nhờ tác dụng của axit nitơ được tạo ra nhờ phản ứng của nitrit với thuốc thử axit rắn trong vùng được tẩm thuốc thử axit

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

phức chất kháng thể-kháng nguyên mạch đường-kháng thể đã đánh dấu được tạo ra trong vùng phát hiện.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả cụ thể bằng các ví dụ sau. Tuy nhiên, các ví dụ này không được dự tính là làm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Trong các ví dụ sau, % biểu thị w/v% (% trọng lượng/thể tích) trừ khi có quy định khác.

Ví dụ 1

1. Cố định kháng thể kháng *Streptococcus pyogenes* (streptococcus hoại huyết β nhóm A) lên màng nitroxenluloza (lớp nền)

Dung dịch thu được bằng cách pha loãng kháng thể kháng *Streptococcus pyogenes* bằng nước tinh khiết đến nồng độ 1,0 mg/mL và kháng thể kháng IgG thô được điều chế. Kháng thể kháng *Streptococcus pyogenes* được phủ theo đường thẳng lên cạnh lớp đệm mẫu của màng nitroxenluloza được ốp lưng bằng màng PET (polyetylen terephthalat), và kháng thể kháng IgG thô được phủ theo đường thẳng lên cạnh dải hấp thụ của nó. Sau đó, màng nitroxenluloza được sấy khô ở 45°C trong 30 phút thu được màng cố định kháng thể kháng *Streptococcus pyogenes*. Màng này được gọi là "màng cố định kháng thể" trong ví dụ của sáng chế.

2. Cố định kháng thể kháng *Streptococcus pyogenes* lên hạt polystyren màu

Kháng thể kháng *Streptococcus pyogenes* được pha loãng bằng nước tinh khiết đến nồng độ 1,0 mg/mL, và tiếp theo hạt polystyren màu được bổ sung vào dung dịch thu được đến nồng độ 0,1%, tiếp theo là khuấy. Sau đó, carbodiimide được bổ sung vào dung dịch hỗn hợp đến nồng độ 1%, và hỗn hợp thu được được khuấy tiếp. Dịch nổi được loại khỏi hỗn hợp phản ứng bằng cách ly tâm, và tiếp theo được tạo huyền phù lại trong Tris 50 mM (pH

9,0) và BSA 3% thu được 0,04% huyền phù hạt polystyren màu đã gắn kháng thể kháng *Streptococcus pyogenes*. Hạt này được gọi là "hạt cố định kháng thể" trong ví dụ của sáng chế.

3. Phủ và sấy khô hạt polystyren màu đã gắn kháng thể kháng *Streptococcus pyogenes*

Huyền phù hạt cố định kháng thể được tạo ra trong mục 2 trên đây được phủ với lượng định trước lên vải không dệt, và tiếp theo được sấy khô ở 45°C trong 30 phút. Vải không dệt thu được được gọi là "lớp đệm khô" trong ví dụ của sáng chế.

4. Phủ lớp đệm thuốc thử trung hòa (thuốc thử bazơ)

Bazơ Trizma 3 M (tên nhãn) (bazơ Tris) làm thuốc thử trung hòa (thuốc thử bazơ), và Triton X-100 1,5% được phủ với nồng độ 30 µL/cm lên bộ lọc (Toyo Roshi Kaisha, Ltd.; No. 26-3).

5. Sản xuất lớp đệm thuốc thử axit rắn

Axit tartaric 1,0 M làm thuốc thử axit rắn, và Triton X-100 0,5% được phủ với nồng độ 13 µL/cm lên vải không dệt (Unitika, Ltd.; Elves). Ngay sau khi phủ, vải không dệt được sấy khô ở 45°C trong 1 giờ thu được vải không dệt tẩm thuốc thử axit rắn.

6. Sản xuất mẫu thử sắc ký miễn dịch dùng để phát hiện *Streptococcus pyogenes*

Màng cố định kháng thể tạo ra trong phần 1 trên đây, lớp đệm khô tạo ra trong phần 3 trên đây, và lớp đệm thuốc thử trung hòa (thuốc thử bazơ) tạo ra trong phần 4 trên đây được dán vào các phần tử khác (tấm ốp lưng và dải hấp thụ), tiếp theo là cắt sản phẩm thu được thành các mảnh có chiều rộng 5 mm, nhờ đó tạo ra mẫu thử dùng để phát hiện *Streptococcus pyogenes*. Trong ví dụ của sáng chế, mẫu thử, trong đó các bộ lọc tẩm thuốc thử axit rắn và thuốc thử trung hòa (thuốc thử bazơ) được sử dụng làm lớp đệm mẫu, được gọi là "mẫu thử sắc ký miễn dịch theo sáng chế." Lưu ý rằng mẫu thử sắc ký miễn dịch này bao gồm, từ vị trí bên trên nó, vải không dệt tẩm thuốc thử axit rắn, vải không dệt tẩm thuốc thử trung hòa (thuốc thử bazơ), lớp đệm khô (vùng đánh dấu), màng cố định kháng thể (vùng phát hiện), và dải hấp thụ, xuôi theo dòng chảy của mẫu vật.

7. Phép đo

Về vật mẫu âm tính, 75 μL dung dịch natri nitrit 2 M có bổ sung chất chỉ thị pH (đỏ phenol) được bổ sung bằng cách nhỏ giọt vào mẫu thử sắc ký miễn dịch theo sáng chế, và 5 phút đến 60 phút sau đó, phán đoán được thực hiện.

Kết quả được thể hiện trong Bảng 1.

Từ kết quả thể hiện trong Bảng 1, cho thấy rằng phần tử có các đặc tính sau được ưu tiên làm phần tử để thuốc thử trung hòa (thuốc thử bazơ) được áp dụng.

(1) Đặc trưng vật lý (trọng lượng cơ sở và chiều dày)

10 đến 400 g/m^2 và chiều dày nằm trong khoảng từ 0,1 đến 2,0 mm, tốt hơn là có trọng lượng cơ sở 50 đến 300 g/m^2 và chiều dày 0,4 đến 0,8 mm, tốt hơn nữa là có trọng lượng cơ sở xấp xỉ 250 g và chiều dày xấp xỉ 0,6 mm.

(2) Đặc tính hấp thụ nước

Có đặc tính hấp thụ nước với lượng nước được hấp thụ (trên cm^2) nằm trong khoảng từ 10 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ đến 100 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ và tốc độ hấp thụ nước là 1,0 $\mu\text{l}/\text{sec}$ đến 5 $\mu\text{l}/\text{sec}$, tốt hơn là lượng nước được hấp thụ 30 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ hoặc hơn và tốc độ hấp thụ nước là 2 $\mu\text{l}/\text{sec}$ hoặc nhỏ hơn, tốt hơn nữa là lượng nước được hấp thụ 30 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ hoặc hơn và tốc độ hấp thụ nước là 1,5 $\mu\text{l}/\text{sec}$ hoặc nhỏ hơn.

(3) Đặc tính giữ nước

Có đặc tính hấp thụ nước với đặc tính giữ nước (trên cm^2) nằm trong khoảng từ 3 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ đến 100 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$, tốt hơn là 15 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ hoặc hơn, sau 5 phút tiếp xúc với màng ở trạng thái ướt.

Các đặc trưng vật lý và đặc tính hấp thụ nước cần nằm trong các giới hạn nêu trên, và đặc tính giữ nước hoặc khả năng lưu giữ là đặc tính không cơ bản. Tuy nhiên, tốt hơn nếu có cả đặc tính giữ nước và khả năng lưu giữ.

[Bảng 1]

Tên sản phẩm	Hãng sản xuất	Số mục	Vật liệu	Đặc trưng vật lý		Đặc trưng								Tóm tắt			
						Đặc tính hấp thụ nước				Đặc tính giữ nước		Độ lưu lại	Khả năng trung hòa vùng phát hiện khoảng thời gian	Tốc độ hấp thụ nước (độ động)	Lượng nước hấp thụ	Đặc tính giữ nước	Độ lưu lại
				Trọng lượng cơ sở (g/m ²)	Chiều dày (mm)	M.D. (độ bền kéo khô)	C.D. (độ bền kéo ướt)	Thời gian đến đầu xa (sec) 2-1	Lượng nước hấp thụ (μl) 2-2	Tốc độ hấp thụ nước (độ động)(μl/sec) 2-3	Lượng nước hấp thụ (μl/cm ²)	Lượng nước giữ lại (μl/cm ²) 3	Diện tích lan chất lỏng (mm ²) 4				
Bentlise	Asahi Kasei	SE103 Cupra	PET	100	0,54	66	29,3	40	188	4,7	62,7	10	25	Nhanh	○	△	△
		TA30B (cupro)		38	0,35	26,1	21	60	75	1,3	25,0	5	30	Chậm	×	×	×
		SR60 *1		60	0,47	34,4	28,2	60	125	2,1	41,7	2	27	Thường	△	×	△
Elfas Nyrón	Corp.	NO113 0	Nylon	PET	0,61	550	210	120	150	1,3	50,0	3	30	Chậm	○	×	×
Elves	Unitika, Ltd.	S1003/ WDO	PET	100	0,50	400	170	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0	30	?	?	×	×
Bộ lọc dài uớt	Toyo Roshi	No.26-3	Giấy	260	0,58	/	/	185	197	1,1	65,7	18	15	Chậm	○	○	○
Bộ lọc cho dung dịch nhớt	Kaish a, Ltd.	No.46 2	Giấy	168	0,53			125	165	1,3	55,0	3	20	Chậm	○	×	○

Danh mục số chỉ dẫn

- 1 Lớp nền (bao gồm vùng phát hiện)
- 2 Vùng đánh dấu
- 3 Vùng phát hiện
- 4 Lớp đệm mẫu
- 5 Vùng thuốc thử axit rắn
- 6 Vùng thuốc thử trung hòa
- 7 Dải hấp thụ
- 8 Tấm ốp lưng

Bằng cách sử dụng thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế, streptococcus hoại huyết β nhóm A có thể được phát hiện với độ nhạy cao.

Tất cả các công bố, patent, và đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế được trích dẫn trong bản mô tả này đều được đưa vào trong bản mô tả này theo cách viện dẫn.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Mẫu thử sắc ký miễn dịch dùng để chiết và đo kháng nguyên mạch đường trong vật mẫu, mẫu thử sắc ký miễn dịch này bao gồm: lớp đệm mẫu mà vật mẫu trộn với nitrit hoặc dung dịch axit được bổ sung vào; vùng đánh dấu bao gồm kháng thể đã đánh dấu thu được bằng cách đánh dấu kháng thể kháng kháng nguyên mạch đường; và vùng phát hiện mà trên đó kháng thể kháng kháng nguyên mạch đường được cố định, trong đó phức chất kháng thể-kháng nguyên mạch đường-kháng thể đã đánh dấu được tạo ra trong vùng phát hiện để đo kháng nguyên mạch đường, và mẫu thử sắc ký miễn dịch này có vùng được tẩm thuốc thử trung hòa phía trên vùng đánh dấu, và còn có vùng được tẩm thuốc thử axit rắn khi vật mẫu trộn với nitrit được sử dụng, hoặc vùng được tẩm nitrit khi vật mẫu trộn với dung dịch axit được sử dụng, phía trên vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, trong đó

vật liệu đối với vùng được tẩm thuốc thử trung hòa là vải dệt có trọng lượng cơ sở nằm trong khoảng từ 10 đến 400 g/m² và chiều dày nằm trong khoảng từ 0,1 đến 2,0 mm và có ba đặc tính là khả năng hấp thụ cao, khả năng giữ nước cao, và khả năng giải phóng thấp hoặc khả năng giải phóng liên tục, trong đó vải dệt hấp thụ nước với lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 100 µl/cm² mỗi cm/m², có tốc độ hấp thụ nước nằm trong khoảng từ 1,0 đến 5,0 µl/sec, giữ nước với lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 100 µl/cm² sau khi một mảnh 1 cm/m² được cho tiếp xúc ở trạng thái ướt với vùng phát hiện và để yên trong 5 phút, và

do đặc tính hấp thụ nước cao và đặc tính giữ nước cao của vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit chứa kháng nguyên mạch đường được trung hòa thỏa đáng, và do đặc tính giải phóng thấp hoặc đặc tính giải phóng ổn định của vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit còn lại được ngăn không cho đến vùng phát hiện, hoặc dung dịch thử nghiệm được trung hòa thỏa đáng được phát triển liên tục đến vùng phát hiện, để cho phản ứng không đặc hiệu được ức chế.

2. Mẫu thử sắc ký miễn dịch theo điểm 1, trong đó do đặc tính hấp thụ nước cao và đặc tính giữ nước cao của vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit chứa kháng nguyên mạch đường được trung hòa thỏa đáng, và do đặc tính giải phóng ổn định của vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, khả năng trung hòa thỏa đáng được duy trì ngay cả khi dung dịch axit còn lại đến vùng phát hiện, để cho phản ứng không đặc hiệu được ức chế.
3. Mẫu thử sắc ký miễn dịch theo điểm 1 hoặc 2, trong đó do đặc tính hấp thụ nước cao và đặc tính giữ nước cao của vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit chứa kháng nguyên mạch đường được trung hòa thỏa đáng, và do đặc tính giải phóng thấp của vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit còn lại được ngăn không cho đến vùng phát hiện, để cho phản ứng không đặc hiệu được ức chế trong trường hợp âm tính, và sự phát triển màu của vạch được ngăn ngừa trong hoặc sau thời gian phán đoán trong trường hợp dương tính.
4. Mẫu thử sắc ký miễn dịch theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó vùng được tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit có mặt trên lớp đệm mẫu hoặc trên lớp đệm có vùng đánh dấu được phủ lên đó.
5. Mẫu thử sắc ký miễn dịch theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó thuốc thử axit rắn được chọn từ nhóm gồm axit malonic, axit malic, axit maleic, axit citric, và axit tartaric.
6. Mẫu thử sắc ký miễn dịch theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó thuốc thử trung hòa là tris(hydroxymetyl)aminometan hoặc natri hydroxit.
7. Mẫu thử sắc ký miễn dịch theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó kháng nguyên mạch đường là kháng nguyên mạch đường của protozoa, nấm, vi khuẩn, mycoplasma, rickettsia, chlamydia, hoặc virus.
8. Phương pháp đo kháng nguyên mạch đường trong vật mẫu theo phương pháp sắc ký miễn dịch sử dụng mẫu thử sắc ký miễn dịch theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7,

phương pháp bao gồm

trộn vật mẫu với dung dịch axit nitơ khi mẫu thử sắc ký miễn dịch này có vùng được tẩm thuốc thử axit rắn, hoặc trộn vật mẫu với dung dịch axit khi mẫu thử sắc ký miễn dịch này có vùng được tẩm nitrit, và bổ sung hỗn hợp này vào lớp đệm mẫu của mẫu thử sắc ký miễn dịch này, trong đó trong phương pháp sắc ký miễn dịch,

kháng nguyên mạch đường được chiết từ vật mẫu nhờ tác dụng của axit nitơ được tạo ra nhờ phản ứng của nitrit với thuốc thử axit rắn trong vùng được tẩm thuốc thử axit rắn hoặc vùng được tẩm nitrit, dung dịch axit chứa kháng nguyên mạch đường được trung hòa trong vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, và

phức chất kháng thể-kháng nguyên mạch đường-kháng thể đã đánh dấu được tạo ra trong vùng phát hiện, và trong đó

do đặc tính hấp thụ nước cao và đặc tính giữ nước cao của vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit chứa kháng nguyên mạch đường được trung hòa thỏa đáng, và do đặc tính giải phóng thấp hoặc đặc tính giải phóng ổn định của vùng được tẩm thuốc thử trung hòa, dung dịch axit còn lại được ngăn không cho đến vùng phát hiện, hoặc dung dịch thử nghiệm được trung hòa thỏa đáng được bổ sung liên tục vào vùng phát hiện, để cho phản ứng không đặc hiệu được ức chế.

Fig. 1

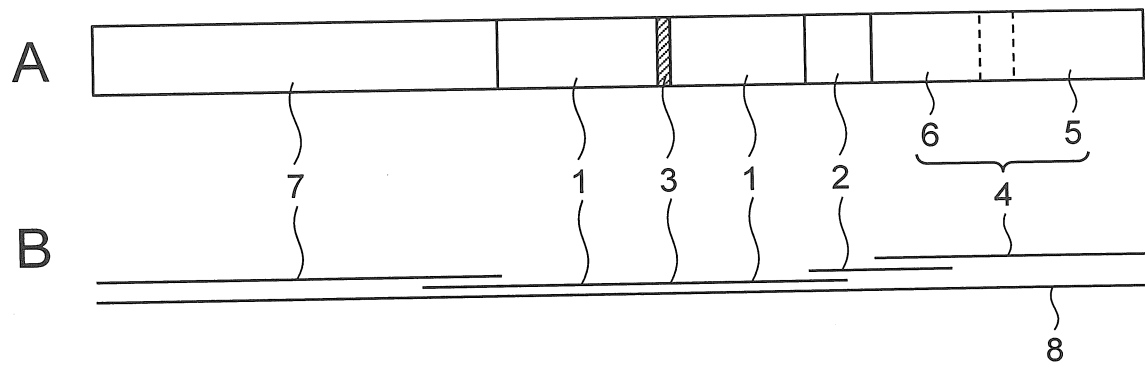


Fig. 2

