



(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)



1-0051485

(51)^{2022.01} G01N 33/543; G01N 33/53

(13) B

(21) 1-2023-01611

(22) 14/03/2018

(62) 1-2019-05618

(86) PCT/JP2018/009897 14/03/2018

(87) WO 2018/168905 20/09/2018

(30) 2017-049163 14/03/2017 JP

(45) 25/09/2025 450

(43) 25/09/2023 426A

(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) THIẾT BỊ SẮC KÝ MIỄN DỊCH DÙNG ĐỂ CHIẾT VÀ ĐO KHÁNG NGUYÊN
CHUỖI ĐƯỜNG VÀ PHƯƠNG PHÁP ĐO KHÁNG NGUYÊN CHUỖI ĐƯỜNG

(21) 1-2023-01611

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp và thiết bị sắc ký miễn dịch có khả năng đo với độ nhạy thỏa đáng bằng cách thực hiện việc xử lý chiết bằng axit nitơ trong khoảng thời gian thỏa đáng trong phương pháp sắc ký miễn dịch để chiết và đo kháng nguyên chuỗi đường bằng cách chiết bằng axit nitơ trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch. Sáng chế đề cập đến 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 được 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.

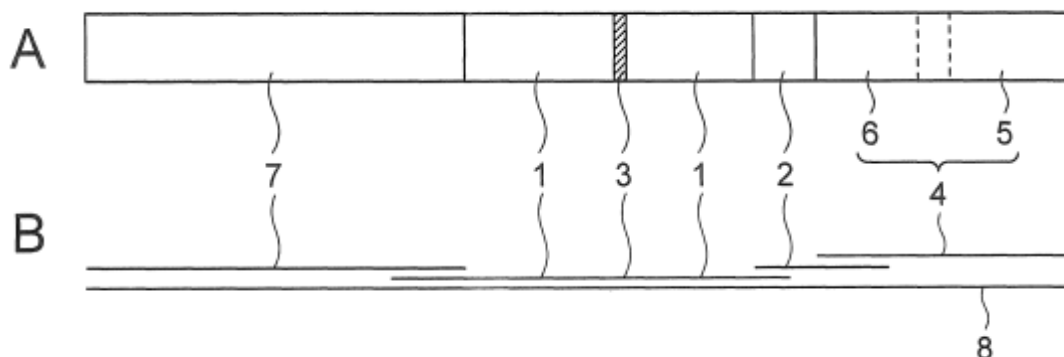


FIG. 1

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 nitro 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 đã được sử dụng rộng rãi làm phương pháp đo nhanh chóng và đơn giản quá trình lây nhiễm virus hoặc vi khuẩn và xác định kế hoạch điều trị chúng.

Trong trường hợp của thử nghiệm chẩn đoán nhanh sử dụng nguyên lý là phương pháp sắc ký miễn dịch thông thường này, 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 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).

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)

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật

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.

Để chiết kháng nguyên chuỗi đường, cần sử dụng axit nitơ. Vì axit nitơ riêng lẻ không ổn định, nên việc chiết kháng nguyên bằng axit nitơ được thực hiện bằng cách trộn dung dịch nitrit và dung dịch axit (axit axetic, axit xitric, axit tartric, hoặc axit tương tự) đang sử dụng để tạo ra axit nitơ.

Trong trường hợp phát hiện bằng phương pháp sắc ký miễn dịch, dung dịch bất kỳ trong số dung dịch axit nitơ và dung dịch axit có thể được sử dụng, được làm khô và được tích hợp vào dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch. Thuốc thử như vậy, so với thuốc thử dạng lỏng, loại bỏ sự cần thiết của công đoạn trộn các thuốc thử và đơn giản hóa các công đoạn, nhưng ngược lại, vấn đề của thuốc thử này là độ nhạy không thỏa đáng do việc xử lý chiết bằng axit nitơ không được thực hiện một cách thỏa đáng khi mẫu được tiến triển trong thời gian ngắn, như trong phương pháp sắc ký miễn dịch thông thường, sau khi trộn thuốc thử.

Trong thuốc thử, trong đó việc chiết bằng axit nitơ được thực hiện bằng cách cho thuốc thử dạng lỏng vào, nhìn chung, mẫu được chiết trong 1 đến 2 phút. Do đó, để

tạo ra độ nhạy tương đương với độ nhạy của dạng lỏng, cần phải giữ mẫu trong 1 đến 2 phút trước công đoạn trung hòa.

Mục đích của sáng chế là đề xuất phương pháp và thiết bị sắc ký miễn dịch có khả năng đo với độ nhạy thỏa đáng bằng cách thực hiện việc xử lý chiết bằng axit nitơ trong khoảng thời gian thỏa đáng trong phương pháp sắc ký miễn dịch để chiết và đo kháng nguyên chuỗi đường bằng cách chiết bằng axit nitơ trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch.

Giải pháp cho vấn đề

Các tác giả sáng chế đã thực hiện các nghiên cứu chuyên sâu về kỹ thuật thực hiện việc xử lý chiết bằng axit nitơ trong khoảng thời gian thỏa đáng trong phương pháp sắc ký miễn dịch để chiết và đo kháng nguyên chuỗi đường mà có khả năng chiết kháng nguyên chuỗi đường bằng axit nitơ trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch.

Theo đó, các tác giả sáng chế phát hiện ra rằng có thể đạt được mục đích nêu trên bằng cách mở rộng cửa nạp của thiết bị sắc ký miễn dịch sao cho có thể đưa vào một lượng lớn mẫu xét nghiệm, và bằng cách tích hợp vào đó cơ cấu ngăn không cho mẫu xét nghiệm chảy ra khỏi cửa nạp và điều chỉnh tốc độ tiến triển, từ đó tạo ra sáng chế. 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 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 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 tẩm 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 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 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 tartaric.

[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.

Bản mô tả sáng chế này bao gồm các nội dung như được bộc lộ trong đơn patent Nhật Bản số 2017-049163, là đơn ưu tiên của đơn này.

Hiệu quả có thể đạt được của sáng chế

Trong trường hợp sử dụng thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế, có thể điều chỉnh thời gian tiến triển của dung dịch mẫu xét nghiệm trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch sau khi cho mẫu vào. Kết quả là, có thể xử lý mẫu xét nghiệm một cách thỏa đáng trên dụng cụ xét nghiệm bằng cách sử dụng thuốc thử xử lý mẫu xét nghiệm được đưa lên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch.

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 một 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 (dụng cụ xét nghiệm loại hai miếng đệm) có vùng chứa thuốc thử axit rắn và vùng chứa thuốc thử trung hòa.

Fig.3 là hình phối cảnh thể hiện hình dáng bên ngoài của thiết bị sắc ký miễn dịch. Fig.3A thể hiện thiết bị theo sáng chế có cửa nạp 9 rộng. Fig.3B thể hiện thiết bị thông thường có cửa nạp 9 hẹp.

Fig.4 là hình chiếu bằng thể hiện hình dáng bên ngoài của thiết bị sắc ký miễn dịch. Fig.4A thể hiện thiết bị theo sáng chế có cửa nạp 9 rộng. Fig.4B thể hiện thiết bị thông thường có cửa nạp 9 hẹp.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết dưới đây.

Sáng chế đề cập đến thiết bị 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. Thiết bị sắc ký miễn dịch này bao gồm dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch và vật chứa lưu trữ dụng cụ xét nghiệm này, và có thể được tạo ra bằng cách tích hợp dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch vào thiết bị sắc ký miễn dịch. 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 mỏng trên cùng).

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.

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 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. Tốt hơn là nền là miếng đệm có độ dày nằm trong khoảng từ khoảng 0,3 mm đến 0,6 mm, để nền này được tẩm một lượng lớn kháng thể được đánh dấu. Nền 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 phosphataza 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 các 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 trên đó 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 làm 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 xoắn 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 hoặc nitrit và thuốc thử trung hòa 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 hoặc giữa miếng đệm chứa

mẫu và vùng đánh dấu. Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, trong đó nitrit và thuốc thử trung hòa được tẩm trong miếng đệm chứa mẫu hoặc giữa miếng đệm chứa mẫu và vùng đánh dấu, 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 và thuốc thử trung hòa được tẩm trong miếng đệm chứa mẫu hoặc giữa miếng đệm chứa mẫu và vùng đánh dấu, có thể được sử dụng trong phương pháp (B) nêu trên. Cần lưu ý rằng có thể sử dụng thuốc thử axit rắn làm thuốc thử axit được tẩm vào dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch. 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 đem 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.

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. Ngoài ra, vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa nitrit, vùng chứa thuốc thử trung hòa và vùng đánh dấu không nhất thiết phải được tẩm vào từng vật liệu xếp khác nhau, và nhiều trong số hoặc tất cả các vùng này có thể được tẩm vào một vật liệu xếp đơn lẻ.

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, trinati 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 miếng đệm chứa mẫu hoặc 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 miếng đệm chứa mẫu hoặc vật liệu xốp, và sau đó có thể được làm khô.

Fig.1 và Fig.2 là các 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 hoặc Fig.2 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 các phương án được thể hiện trên Fig.1 và Fig.2. Trên Fig.1 và Fig.2, 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 4 chỉ miếng đệm chứa mẫu, số chỉ dẫn 7 chỉ dải hấp thụ, và số chỉ dẫn 8 chỉ tấm lưng. Ngoài ra, tấm mỏng trên cùng có thể được gắn lên trên toàn bộ dụng cụ xét nghiệm.

Fig.1A và Fig.2A là các hình vẽ nhìn từ trên xuống, và Fig.1B và Fig.2B là các hình vẽ mặt cắt ngang. Trong ví dụ được thể hiện trên Fig.1, nền đỡ 1 mà một vùng phát hiện 3 được tạo ra trên đó, dải hấp thụ 7, vùng đánh dấu 2, miếng đệm chứa mẫu 4, và bộ phận tương tự, được dát mỏng trên tấm lưng 8 làm bằng nhựa hoặc vật liệu tương tự. Như được thể hiện trên Fig.1, một đầu của dải hấp thụ 7 được dát mỏng trên một đầu của nền đỡ 1, đầu còn lại của nền đỡ 1 được dát mỏng trên một đầu của vùng đánh dấu 2, và đầu còn lại của vùng đánh dấu 2 được dát mỏng trên một đầu của miếng đệm chứa mẫu 4. Phần nằm ở vị trí trước miếng đệm chứa mẫu 4 được tẩm thuốc thử axit rắn, và phần nằm ở vị trí sau miếng đệm chứa mẫu được tẩm thuốc thử trung hòa, phần này nằm tách riêng một chút khỏi phần nằm ở vị trí trước. Vùng tẩm thuốc thử axit rắn được gọi là vùng chứa thuốc thử axit rắn 5, và vùng tẩm thuốc thử trung hòa được gọi là vùng chứa thuốc thử trung hòa 6. Trong dụng cụ xét nghiệm này, miếng đệm chứa mẫu cũng đóng vai trò làm vùng chứa thuốc thử axit rắn 5 và vùng chứa thuốc thử trung hòa 6. Tức là, vùng chứa thuốc thử axit rắn và vùng chứa thuốc thử trung hòa 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 một vật liệu xốp (miếng đệm), còn được gọi là dụng cụ xét nghiệm loại một miếng đệm. Trong ví dụ được thể hiện trên Fig.2, 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 gối 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.2, 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. Trong dụng cụ xét nghiệm được thể hiện trên Fig.2, vùng chứa thuốc thử axit rắn 5 và vùng chứa thuốc thử trung hòa 6 được tẩm vào các vật liệu xốp khác nhau. Tuy nhiên, trên một vật liệu xốp (miếng đệm) đơn lẻ, vùng chứa thuốc thử axit rắn 5 được bố trí ở phần nằm ở vị trí trước, và vùng chứa thuốc thử trung hòa 6 được bố trí ở phần nằm ở vị trí sau, như ở miếng đệm chứa mẫu của dụng cụ xét nghiệm được thể hiện trên Fig.1.

Dụng cụ xét nghiệm sắc ký nêu trên được đựng trong vật chứa lưu trữ được thể hiện trên Fig.3 và Fig.4, và được sử dụng làm thiết bị sắc ký miễn dịch (Fig.3 và Fig.4). Vật chứa lưu trữ được thể hiện trên Fig.3 và Fig.4 bao gồm phần chứa là phần dưới và phần nắp là phần trên. Như được thể hiện trên Fig.3 và Fig.4, vật chứa lưu trữ này có cửa nạp mẫu xét nghiệm (còn được gọi là lỗ nạp) 9 và phần đánh giá 10. Khi dụng cụ xét nghiệm sắc ký nêu trên được đựng trong vật chứa lưu trữ này, cửa nạp mẫu xét nghiệm mà có thể cấp dung dịch mẫu xét nghiệm lên miếng đệm chứa mẫu được bố trí bên trên miếng đệm chứa mẫu. Khi mẫu xét nghiệm được đưa vào cửa nạp mẫu xét nghiệm của vật chứa, mẫu xét nghiệm thấm vào miếng đệm chứa mẫu. Khi dụng cụ xét nghiệm sắc ký được đựng trong vật chứa lưu trữ này, phần đánh giá được bố trí bên trên vùng phát hiện, sao cho có thể quan sát vùng phát hiện qua lỗ của phần đánh giá của vật chứa.

Thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế có thể thực hiện việc xử lý chiết bằng axit nitơ trong khoảng thời gian thỏa đáng trong phương pháp sắc ký miễn dịch 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. Do đó, thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế có các đặc điểm cấu trúc sau đây. Các đặc điểm cấu trúc sau đây là các đặc điểm cấu trúc về cơ chế để điều chỉnh tốc độ tiến triển của mẫu xét nghiệm.

(1) Trong thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế, cửa nạp rộng 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 mm × khoảng 5,5 mm (19,25 mm²). 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 mm × khoảng 11 mm (38,5 mm²). 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 mm × 8 đến 15 mm (24 đến 75 mm²) 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 mm², tốt hơn là từ 35 đến 75 mm².

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 tấm thuốc thử xử lý mẫu xét nghiệm, nghĩa là, vùng tấm thuốc thử axit rắn hoặc vùng tấm 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.

(2) 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 đế 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.

(3) Vật liệu có độ kỵ nước cao được chọn làm vật liệu (vải không dệt) để sử dụng trong sản xuất miếng đệm tẩm thuốc thử xử lý mẫu xét nghiệm, như thuốc thử axit rắn, nitrit hoặc thuốc thử trung hòa, dùng cho dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, và do đó có thể điều chỉnh và làm chậm tốc độ chảy của chất lỏng, nghĩa là, thời gian mà dung dịch mẫu xét nghiệm được tiến triển trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này.

Trong trường hợp này, các ví dụ về vật liệu có độ kỵ nước cao bao gồm polyetylen, polyeste, polystyren, polypropylen, tơ nhân tạo và nylon.

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 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ trên mỗi cm/m², có tốc độ hấp thụ nước nằm trong khoảng từ 1,0 đến 5,0 $\mu\text{L}/\text{giây}$, giữ nước với lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 100 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ 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,

hiển 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/m^2 hoặc nhỏ hơn. Tốt nhất là khối lượng cơ sở nằm trong khoảng từ 250 đến 270 g/m^2 .

"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 $100 \mu\text{L/cm}^2$ đối với lượng nước được hấp thụ trên mỗi cm^2 , và từ 1,0 đến 5,0 $\mu\text{L/giây}$ 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 tẩm 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 $30 \mu\text{L/cm}^2$ 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 $30 \mu\text{L/cm}^2$ hoặc lớn hơn. Tốc độ hấp thụ nước của vật liệu xốp được sử dụng ở vùng tẩm 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 tẩm thuốc thử trung hòa là yếu tố quan trọng để chiết kháng nguyên chuỗi đường và trung hòa một cách thỏa đáng. 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 tẩm 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 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 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 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 duy trì liên tục của vùng tẩm 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.

Kết quả là, việc chiết kháng nguyên chuỗi đường trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này có thể được đẩy mạnh.

Thuốc thử dùng làm thuốc thử xử lý mẫu xét nghiệm, như thuốc thử axit rắn, nitrit hoặc thuốc thử trung hòa, cần thêm vào miếng đệm có độ kỵ nước cao được bổ sung thêm chất hoạt động bề mặt bao gồm: polyoxyetylen octyl phenyl ete như Triton X-100 và Triton X-114; polyoxyetylen sorbitan este của axit béo như Tween 20 và Tween 80; polyoxyetylen alkyl ete như Brij-35 và Brij-58; chất hoạt động bề mặt gốc axit cholic có khung steroid, như natri cholat và axit deoxycholic; và chất hoạt động bề mặt anion như natri lauryl sulfat và natri dodecylbenzensulfonat, sao cho độ kỵ nước của thuốc thử được kiểm soát. Do đó, thời gian xử lý mẫu xét nghiệm trên cửa nạp có thể được thiết đặt đến thời gian bất kỳ. Tốt hơn là, nhờ bổ sung chất hoạt động bề mặt, mẫu xét nghiệm có thể được xử lý trong khoảng thời gian thỏa đáng, và dung dịch mẫu xét nghiệm có thể được tiến triển một cách thích hợp. Tức là, mẫu xét nghiệm có thể được xử lý một cách thỏa đáng bằng thuốc thử axit rắn hoặc nitrit để chiết kháng nguyên chuỗi đường từ mẫu xét nghiệm. Ngoài ra, sản phẩm thu được có thể được tiến triển tới phần nằm ở vị trí sau có miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa.

Vật liệu có độ ưa nước cao được chọn làm vật liệu để sử dụng trong sản xuất miếng đệm tẩm thuốc thử xử lý mẫu xét nghiệm, như thuốc thử axit rắn, nitrit hoặc thuốc thử trung hòa, dùng cho dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, và do đó có thể điều chỉnh và làm chậm tốc độ chảy của chất lỏng, nghĩa là, thời gian mà dung dịch mẫu xét nghiệm được tiến triển trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này, thay vì kiểm soát tốc độ chảy của chất lỏng bằng cách sử dụng miếng đệm có độ kỵ nước cao và chất hoạt động bề mặt. Các ví dụ về vật liệu có độ ưa nước cao bao gồm màng lọc dày, và độ dày của màng lọc này nằm trong khoảng từ 210 đến 580 μm .

Thay vì chất hoạt động bề mặt, hợp chất có phân tử lượng cao khác có tác dụng giữ cố định (ví dụ, PVA (rượu polyvinyl) và PLL (poly-L-lysine)) có thể được sử dụng sao cho dung dịch mẫu được giữ dễ dàng trên miếng đệm. Theo phương pháp này,

việc chiết kháng nguyên chuỗi đường trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này cũng có thể được đẩy mạnh.

Trong thiết bị sắc ký miễn dịch có ít nhất một cấu trúc trong số các cấu trúc được mô tả trong các mục (1), (2) và (3) nêu trên, thời gian mà dung dịch mẫu xét nghiệm đã được cho vào được tiến triển trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch được kéo dài, sao cho sự tiến triển tới miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa nằm ở vị trí sau (vùng chứa thuốc thử trung hòa) có thể được trì hoãn.

Thiết bị sắc ký miễn dịch có ít nhất một cấu trúc bất kỳ trong số các cấu trúc được mô tả trong các mục (1), (2) và (3) nêu trên có thể được sử dụng không chỉ làm thiết bị để chiết kháng nguyên chuỗi đường bằng axit nitơ trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, mà còn làm thiết bị sắc ký miễn dịch để xử lý mẫu xét nghiệm trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch bằng thuốc thử được tẩm trên dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này.

Sáng chế có thể được sử dụng khi chất phân tích cần phát hiện được ủ trong thiết bị xét nghiệm chứa thuốc thử sắc ký miễn dịch, tùy thuộc vào độ pH hoặc hợp chất, ngoài việc chiết bằng axit nitơ.

Phương pháp sử dụng thiết bị theo sáng chế sẽ được mô tả dựa trên cơ sở thiết bị sắc ký miễn dịch trong đó dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch có dạng được thể hiện trên Fig.1 được lưu trữ trong vật chứa lưu trữ được thể hiện trên Fig.4. 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 phương pháp sắc ký miễn dịch, trong đó thuốc thử axit rắn và thuốc thử trung hòa được tẩm vào. Phương pháp trộn mẫu xét nghiệm với dung dịch axit và thực hiện việc đo bằng cách sử dụng phương pháp thử nghiệm sắc ký miễn dịch, trong đó nitrit và thuốc thử trung hòa được tẩm vào, 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 cửa nạp mẫu xét nghiệm của thiết bị, 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 μ L hỗn hợp này có thể được cho vào cửa nạp. Các ví dụ về nitrit bao gồm natri nitrit và kali nitrit.

Mẫu xét nghiệm chứa kháng nguyên chuỗi đường làm chất cần phát hiện, được đưa vào cửa nạp 9, được di chuyển tới miếng đệm chứa mẫu và được tiến triển tới vùng chứa thuốc thử axit rắn 5 và vùng chứa thuốc thử trung hòa 6 trên miếng đệm chứa mẫu 4 theo tác dụng mao dẫn, và hơn nữa, 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 được 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 có 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. Vùng phát hiện này có thể được quan sát qua phần đánh giá của thiết bị sắc ký miễn dịch.

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 dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch có tích hợp miếng đệm khô chứa thuốc thử axit rắn hoặc nitrit theo sáng chế, có thể thực hiện việc chiết hiệu quả trên thuốc thử.

Cửa nạp mẫu xét nghiệm có thể có diện tích gần như tương đương với diện tích của miếng đệm chứa thuốc thử axit rắn (vùng chứa thuốc thử axit rắn). Nhờ đó, một lượng mẫu lớn có thể được cho tiếp xúc ngay lập tức với thuốc thử axit rắn. Ngoài ra, nhờ sử dụng vải không dệt có độ kỵ nước cao làm bộ phận cấp hoặc tẩm, mẫu không thể được tiến triển tới miếng đệm tẩm thuốc thử trung hòa nằm ở vị trí sau (vùng chứa thuốc thử trung hòa) ngay sau khi cho mẫu vào. Nhờ đó, mẫu được giữ trong cửa nạp mẫu xét nghiệm trong 1 đến 2 phút, để có thể chiết kháng nguyên một cách thỏa đáng.

Theo sáng chế, khi vùng chứa thuốc thử axit rắn hoặc vùng chứa nitrit và vùng chứa thuốc thử trung hòa gộp 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.

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.

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. Động vật nguyên sinh, 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..

Ví dụ thực hiện sáng chế

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

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

Ví dụ 1: Các nghiên cứu về kích thước của cửa nạp

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 (polyetylen terephthalat), 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. Tạo miếng đệm chứa thuốc thử trung hòa (thuốc thử có tính bazơ)

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

5. Tạo miếng đệm chứa thuốc thử axit rắn

Axit tartric 1,0 M làm thuốc thử axit rắn và Triton X-100 0,5% được cấp với nồng độ là 13 $\mu\text{L}/\text{cm}$ 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*

Mỗi bộ phận trong số màng giữ cố định kháng thể được tạo ra trong mục 1 nêu trên, miếng đệm khô được tạo ra trong mục 3 nêu trên, và miếng đệm chứa thuốc thử trung hòa (thuốc thử có tính bazơ) được tạo ra trong mục 4 nêu trên được gắn vào các bộ phận khác (tấm lưng và dải hấp thụ), sau đó cắt sản phẩm thu được thành miếng có chiều rộng là 5 mm, từ đó tạo ra dụng cụ xét nghiệm *Streptococcus pyogenes*. Trong ví dụ này, dụng cụ xét nghiệm, trong đó các màng lọc được tẩm thuốc thử axit rắn và thuốc thử trung hòa (thuốc thử có tính bazơ) được sử dụng làm miếng đệm chứa mẫu, được gọi là "dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch theo sáng chế". Cần lưu ý rằng dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch này bao gồm, tính từ vị trí đầu tiên (đầu nguồn) của nó, vải không dệt tẩm thuốc thử axit rắn, vải không dệt tẩm thuốc thử trung hòa (thuốc thử có tính bazơ), miếng đệm khô (vùng đánh dấu), màng giữ cố định kháng thể (vùng phát hiện) và dải hấp thụ, dọc theo dòng chảy của mẫu xét nghiệm.

7. Thiết bị sắc ký miễn dịch

Dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch được tích hợp vào mỗi thiết bị trong số thiết bị sắc ký miễn dịch có chiều dài cửa nạp là 5 mm (thiết bị thông thường) và thiết bị sắc ký miễn dịch có chiều dài cửa nạp là 10 mm (thiết bị theo sáng chế có cửa nạp rộng), và thực hiện thử nghiệm sau.

8. Mẫu xét nghiệm

Streptococcus pyogenes được nuôi cấy, và dung dịch nuôi cấy sau đó được điều chỉnh số lượng tế bào nằm trong khoảng từ $1,0 \times 10^7$ CFU/mL bằng cách sử dụng nước muối thông thường.

Nước muối sinh lý được sử dụng làm mẫu xét nghiệm âm tính.

9. Đo

20 μL mẫu xét nghiệm được tạo huyền phù trong 180 μL dung dịch natri nitrit (NaNO_3 2,0 M, Tween 20 1%), và sau đó 75 μL huyền phù này được cho vào cửa nạp của thiết bị sắc ký miễn dịch theo sáng chế. Mặt khác, theo phương pháp thông thường, mẫu xét nghiệm được tạo huyền phù trong dung dịch chiết bằng axit nitơ trong đó natri nitrit được trộn với axit clohydric, và 50 μL huyền phù mẫu xét nghiệm đã được trung hòa bằng dung dịch Tris sau đó được cho vào cửa nạp của thiết bị sắc ký miễn dịch được sử dụng trong phương pháp thông thường (trong đó cả thuốc thử axit và thuốc thử trung hòa đều không được giữ cố định). 5 phút sau đó, sự có hay không có hiện tượng tích tụ các hạt polystyren mang màu ở vị trí đã định trước mà kháng thể kháng *Streptococcus pyogenes* được giữ cố định trên đó, và mức độ tích tụ, được đánh giá bằng cách quan sát trực quan. Sự tích tụ theo đường thẳng được đánh giá là +++, ++ và +, theo thứ tự cường độ tích tụ. Khi khó đánh giá mức độ tích tụ, thì nó được đánh giá là $\pm$, và khi không quan sát thấy sự tích tụ, thì nó được đánh giá là -.

10. Kết quả

Bảng 1

Chiều dài cửa nạp theo từng giọt	Số lần lặp lại	1 phút	2 phút	3 phút	4 phút	5 phút
5 mm	N=1	-	$\pm$	$\pm$	++	++
	N=2	-	$\pm$	$\pm$	+	++
	N=3	-	$\pm$	$\pm$	++	++
10,5 mm	N=1	$\pm$	+	++	+++	+++
	N=2	+	++	++	+++	+++
	N=3	$\pm$	+	++	++	+++

Như được thể hiện trong bảng 1, thiết bị sắc ký miễn dịch có chiều dài cửa nạp lớn hơn là 10 mm có độ nhạy phép đo cao hơn so với thiết bị sắc ký miễn dịch có chiều dài cửa nạp là 5 mm. Điều này được cho là do hiệu quả chiết kháng nguyên bằng cách xử lý bằng axit nitơ được tăng cường.

Ví dụ 2: Các nghiên cứu về lượng chất hoạt động bề mặt được cấp

Các kết quả thử nghiệm (bảng 2) được phân tích theo cách so sánh trong điều kiện trong đó nồng độ của chất hoạt động bề mặt Triton X-100 đối với thuốc thử axit

rắn được mô tả trong mục 5. Việc tạo vãi không dệt tẩm thuốc thử axit rắn trong ví dụ 1 là 0,5% hoặc 2,0%.

Bảng 2

R2 bổ sung	1 phút	2 phút	3 phút	4 phút	5 phút
Tx100 0,5%	-	-	+	++	++
Tx100 2,0%	-	-	±	+	+

Như được thấy từ các kết quả trong bảng 2, nồng độ chất hoạt động bề mặt thấp hơn tạo ra độ nhạy phép đo cao hơn. Điều này được cho là do hiệu quả chiết kháng nguyên bằng cách xử lý bằng axit nitơ được tăng cường.

Danh sách các số chỉ dẫn

- 1: nền đỡ (chứa vùng phát hiện)
- 2: vùng đánh dấu
- 3: vùng phát hiện
- 4: miếng đệm chứa mẫu
- 5: vùng chứa thuốc thử axit rắn
- 6: vùng chứa thuốc thử trung hòa
- 7: dải hấp thụ
- 8: tấm lưng
- 9: cổng nạp của thiết bị
- 10: phần đánh giá của thiết bị

Khả năng áp dụng công nghiệp

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. 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 được 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 thiết bị sắc ký miễn dịch này:

(i) có cửa nạp mẫu xét nghiệm 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 tẩm thuốc thử axit rắn hoặc nitrit trong thời gian ngắn, trong đó cửa nạp mẫu xét nghiệm của thiết bị sắc ký miễn dịch này có kích thước mà có thể cấp từ 10 μ L đến 200 μ L mẫu xét nghiệm, 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 điểm 1, 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 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.

3. Thiết bị sắc ký miễn dịch theo điểm 2, trong đó vật liệu có độ kỵ nước cao được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen, polyeste, polystyren, polypropylen, tơ nhân tạo, và nylon.
4. Thiết bị sắc ký miễn dịch theo điểm 1, 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.
5. Thiết bị sắc ký miễn dịch theo điểm 4, trong đó vật liệu có độ ưa nước cao là màng lọc dày.
6. Thiết bị sắc ký miễn dịch theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, 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.
7. Thiết bị sắc ký miễn dịch theo điểm 6, trong đó chất hoạt động bề mặt được chọn từ nhóm bao gồm polyoxyetylen octyl phenyl ete, polyoxyetylen sorbitan este của axit béo, polyoxyetylen alkyl ete, natri cholat, axit deoxycholic, natri lauryl sulfat và natri dodecylbenzensulfonat.
8. Thiết bị sắc ký miễn dịch theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, 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.
9. Thiết bị sắc ký miễn dịch theo điểm 8, trong đó hợp chất có phân tử lượng cao có tác dụng giữ cố định là PVA hoặc PLL.
10. Thiết bị sắc ký miễn dịch theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, 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.

11. Thiết bị sắc ký miễn dịch theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10, trong đó thuốc thử axit rắn được chọn từ nhóm bao gồm axit malonic, axit malic, axit maleic, axit xitric và axit tartric.

12. Thiết bị sắc ký miễn dịch theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 11, trong đó thuốc thử trung hòa là tris(hydroxymetyl)aminometan hoặc natri hydroxit.

13. Thiết bị sắc ký miễn dịch theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12, trong đó kháng nguyên chuỗi đường là kháng nguyên chuỗi đường của động vật nguyên sinh, vi nấm, vi khuẩn, mycoplasma, rickettsia, chlamydia hoặc virut.

14. 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 điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 13, 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.

Fig. 1

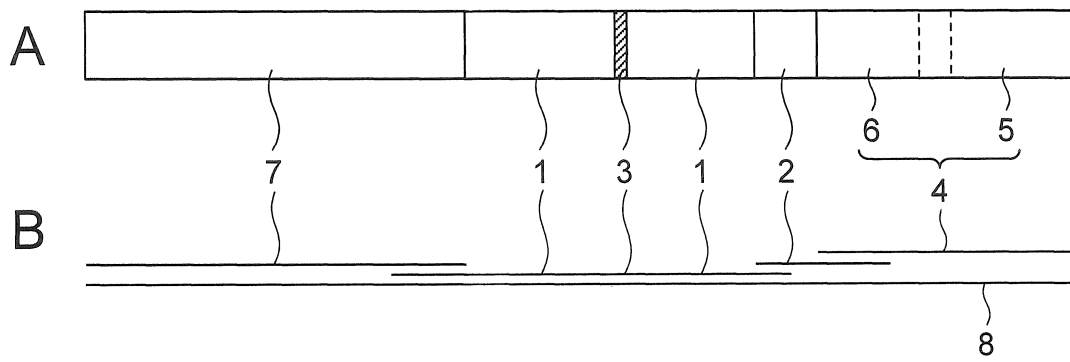


Fig. 2

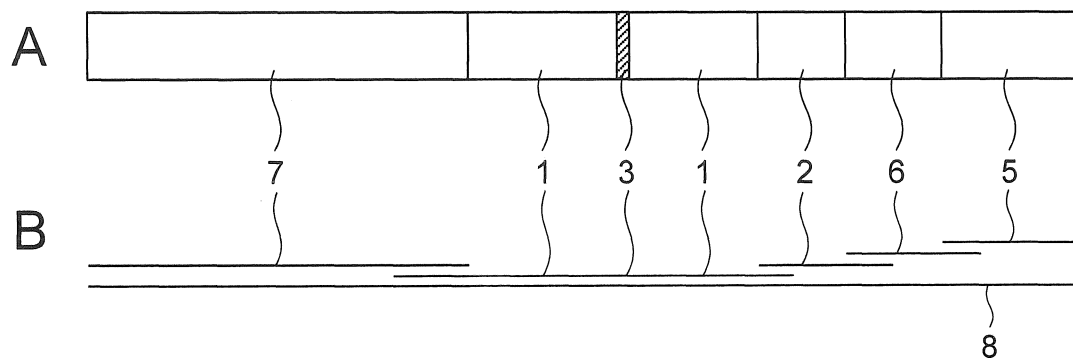
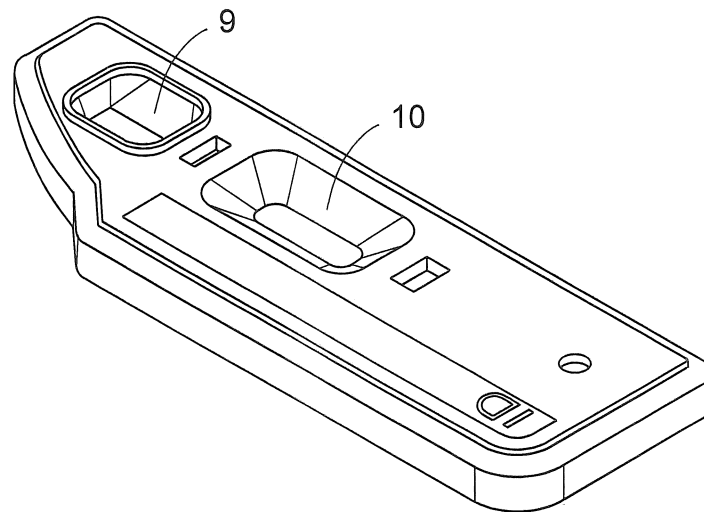


Fig. 3

A



B

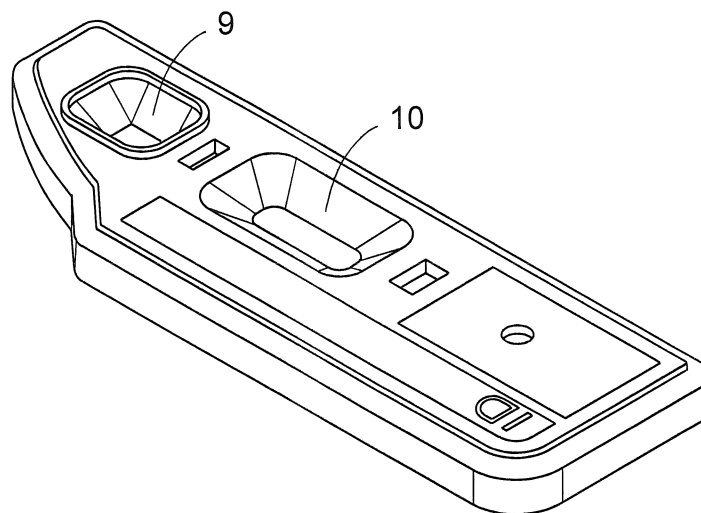
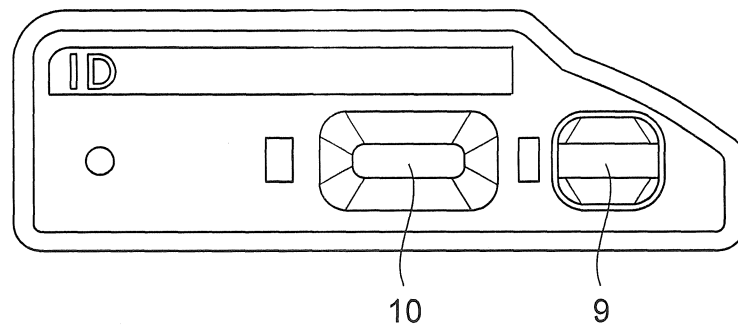


Fig. 4

A



B

