

BROFIX Nanosci™微生物捕获磁珠使用说明书

【产品概述】

微生物捕获磁珠（非免疫法）以高稳定性硅基超顺磁性氧化铁磁珠为基质，在其表面修饰有特殊化学基团，通过静电力、氢键、范德华力、离子键等非共价力与微生物相结合，可高效富集样本中的微生物，包括革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、真菌、病毒、衣原体、支原体等微生物。

【适用场景】

可适用于预处理后的人体/动物样本（全血、血清、各类积液或洗液、脓液、尿液、粪便、痰液及各种拭子）、各类医疗器械与生物医药、环境样本（土壤、污水、气溶胶）、各类食品样本、植物样本中微生物的快速捕获，富集后的微生物/磁珠复合体可直接进行裂解用于后续核酸扩增及检测；亦可直接进行培养增菌。

【产品信息】

产品名称	微生物捕获磁珠（非免疫法）
材质结构	二氧化硅包覆氧化铁颗粒
表面基团	特殊化学基团
颜色与形态	棕黄或黑色悬浊液（可选）
尺寸	2~10 μm 无定型结构，磁珠基质与尺寸可定制
质量浓度	50 mg/mL 或 100 mg/mL
磁珠捕获载量	>1.0×10 ⁷ 个微生物颗粒/mg 磁珠
包装规格	10 mL, 20 mL, 50 mL, 100 mL
保存液成分	去离子水或乙醇溶液（可选）
存储条件	2-8℃ 保存，勿冷冻
保质期	去离子水保存液：4℃ 下6个月（未开封） 乙醇保存液：4℃ 下12个月（未开封） 开封后建议1个月内用完，避免微生物污染。

【Alltrap™微生物捕获磁珠使用方法】

本使用方法以1 mL样本为例，每个反应的最佳磁珠用量需根据实际样本情况进行优化，建议每毫升样本的磁珠使用量在1~5 mg内进行优化。1 mL样本可缩减至0.5 mL以下进行测试。

一、缓冲液及用途

序号	缓冲液	用途
1	红细胞裂解液	全血样本预处理
2	核酸提取裂解液	常规微生物裂解液
3	强效裂解液	G+菌、真菌、结核菌裂解液
4	痰液液化液	痰液液化
5	结合增强液	痰液中TB捕获增强液

二、样本预处理及微生物捕获方法

1. 磁珠前处理：将磁珠溶液自然恢复至室温，然后充分摇匀。勿使磁珠溶液静置超过 2 min，磁珠取用前需要再次摇匀。

2. 为保证本磁珠的使用效果，建议按照本说明书中样本前处理方法与操作流程进行测试。

3. 如将本磁珠方法集成至专用仪器或检测技术平台，需根据实际情况重新优化样本前处理方法与操作流程。

2.1 全血样本中菌类（1 mL为例）

（1）使用孔径为5 μm的一次性过滤器对血液进行过滤；

（2）过滤后血液按照1:1的比例加入红细胞裂解液，旋转混合5~10 min；

（3）8000 rpm离心5 min，弃去上清液；注意不要吸走沉淀以免造成病原微生物丢失；

（4）加入300 μL PBS，重悬溶液，8000 rpm离心5 min，弃去上清；

（5）加入100 μL PBS，重悬溶液，转移至新的EP管中；

（6）加入20 μL磁珠，缓慢吹打混合8~10次后旋转混合5~10 min；

（7）瞬时离心2 s，磁吸2 min后，弃去上清液；

（8-1）如需增菌培养，可用适量PBS进行重悬清洗，然后将磁珠/微生物复合物直接进行液体或者平板培养；

（8-2）如需进行PCR检测，加入20~40 μL核酸提取裂解液或强效裂解液，将磁珠吹打混匀（如遇磁珠结块严重，注意将结块体收集到离心管底部）；

（9）将反应管进行95℃水浴10~15 min；

（10）瞬时离心2 s，回收冷凝液体；磁吸2 min，将液体转移至新的EP管中；

（11）取2 μL核酸体液进行PCR。

2.2 血清样本中病毒类（1 mL为例）

（1）取1 mL血清样本，加入1 mL去离子水，吹打混匀后室温下旋转混合1~2 min；

（2）加入20~40 μL磁珠，缓慢吹打混合8~10次后旋转混合5~10 min；

（3）瞬时离心2 s，然后磁吸2 min，弃去上清液；

（4）加入100~200 μL去离子水清洗，磁吸后吸弃余液；

（5）加入20~40 μL核酸提取裂解液（裂解液可进行1/2或1/3倍稀释），将磁珠吹打混匀（如遇磁珠结块严重，注意将结块体收集到离心管底部）；

（6）将反应管进行50℃水浴5~10 min；

（7）瞬时离心2 s，回收冷凝液体；磁吸2 min，将液体转到新新的EP管中；

（8）取2 μL核酸液进行PCR。

2.3 痰液、咽喉分泌物拭子中TB菌（0.5 mL为例）

（1）取0.5 mL痰液，加入0.5 mL痰液液化液（若样本量

不足, 根据比例适当调整液化液用量), 震荡混合或旋转混合15~20 min; 如痰液太浓, 可适当加热3~5分钟加速液化;

(2) 取1 mL液化痰液, 加入40~60 μ L磁珠与100~250 μ L结合增强液的混合液, 缓慢吹打8~10次后旋转混合10~15 min。

(3) 瞬时离心2 s, 磁吸2 min, 弃去上清液;

(4) 加入1 mL PBS清洗1次, 然后磁吸后弃上清;

(5) 加20~40 μ L强效裂解液, 将磁珠吹打混匀(如遇磁珠结块严重, 注意将结块体收集到离心管底部);

(6) 将反应管进行95 $^{\circ}$ C水浴10~15 min;

(7) 瞬时离心2 s, 回收冷凝液体; 磁吸2 min, 将溶液转移至新的EP管中;

(8) 取2 μ L核酸液进行PCR。

2.4 粪便样本中菌类与病毒(0.2 g为例)

(1) 取0.2 g大小粪便, 加入1~2 mL PBS, 稀释成粪便悬浮液;

(2) 旋涡震荡3次, 每次10 s; 瞬时离心2 s后静置3~5 min, 将上层大部分清液转移至新的EP管中(此步骤主要是去除粪便中残渣物, 可自行优化); 或者, 根据要富集微生物的物理尺寸选用孔径为0.22 μ m、0.45 μ m、1 μ m、2 μ m、5 μ m的一次性过滤器进行过滤去除大尺寸杂质或非相关的大尺寸细胞;

(3) 加入20~40 μ L磁珠, 缓慢吹打混合8~10次后旋转混合5~10 min;

(4) 瞬时离心2 s, 磁吸2 min, 弃去上清液;

(5) 加入1 mL PBS清洗1次, 然后磁吸后弃上清;

(6-1) 如需增菌培养, 可用适量PBS缓冲液进行重悬清洗, 然后将磁珠/微生物复合物直接进行液体或者平板培养;

(6-2) 如需进行PCR检测, 则加入20~40 μ L核酸提取裂解液或强效裂解液, 将磁珠吹打混匀(如遇磁珠结块严重, 注意将结块体收集到离心管底部);

(7) 将反应管进行95 $^{\circ}$ C水浴10~15 min;

(8) 瞬时离心2 s, 回收冷凝液体; 磁吸2 min, 将液体转移至新的EP管中;

(9) 取2 μ L核酸体液进行PCR。

(病毒检测的裂解条件可参考2.2节)

2.5 尿液样本中菌类与病毒(1 mL为例)

(1) 取1 mL新鲜尿液样本, 或将长时存放后的尿液管进行吹打混合后再取1 mL样本;

(2) 瞬时离心2 s后静置3~5 min, 将上层大部分清液转移至新的EP管中(此步骤主要是去除尿液中残渣物, 可自行优化); 或者, 根据要富集微生物的物理尺寸选用孔径为0.22 μ m、0.45 μ m、1 μ m、2 μ m、5 μ m的一次

性过滤器进行过滤去除大尺寸杂质或非相关的大尺寸细胞;

(3) 加入20~40 μ L磁珠, 缓慢吹打混合8~10次后旋转混合5~10 min;

(4) 瞬时离心2 s, 磁吸2 min, 弃去上清液;

(5) 加入1 mL PBS清洗1次, 然后磁吸后弃上清;

(6-1) 如需增菌培养, 可用适量PBS缓冲液进行重悬清洗, 然后将磁珠/微生物复合物直接进行液体或者平板培养;

(6-2) 如需进行PCR检测, 则加入20~40 μ L核酸提取裂解液或强效裂解液, 将磁珠吹打混匀(如遇磁珠结块严重, 注意将结块体收集到离心管底部);

(7) 将反应管进行95 $^{\circ}$ C水浴10~15 min;

(8) 瞬时离心2 s, 回收冷凝液体; 磁吸2 min, 将液体转移至新的EP管中;

(9) 取2 μ L核酸体液进行PCR。

(病毒检测的裂解条件可参考2.2节)

2.6 拭子样本(咽拭子、感染部位拭子、分泌物拭子、医疗器械、环境表面)中菌类与病毒

(1) 将拭子在1~2 mL PBS或不含表面活性剂的专用缓冲液中充分搅拌, 瞬时离心2 s后静置3~5 min, 将上层大部分清液转移至新的EP管中(此步骤主要是去除粪便中残渣物, 可自行优化); 或者, 根据要富集微生物的物理尺寸选用孔径为0.22 μ m、0.45 μ m、1 μ m、2 μ m、5 μ m的一次性过滤器进行过滤去除大尺寸杂质或非相关的大尺寸细胞;

(2) 加入20~40 μ L磁珠, 缓慢吹打混合8~10次后旋转混合5~10 min;

(3) 瞬时离心2 s, 磁吸2 min, 弃去上清液;

(4) 加入1 mL PBS清洗1次, 然后磁吸后弃上清;

(5-1) 如需增菌培养, 可用适量PBS缓冲液进行重悬清洗, 然后将磁珠/微生物复合物直接进行液体或者平板培养;

(5-2) 如需进行PCR检测, 则加入20~40 μ L核酸提取裂解液或强效裂解液, 将磁珠吹打混匀(如遇磁珠结块严重, 注意将结块体收集到离心管底部);

(6) 将反应管进行95 $^{\circ}$ C水浴10~15 min;

(7) 瞬时离心2 s, 回收冷凝液体; 磁吸2 min, 将液体转移至新的EP管中;

(8) 取2 μ L核酸体液进行PCR。

(病毒检测的裂解条件可参考2.2节)

2.7 脑脊液、肺泡灌洗液、胸腔积液、唾液样本中菌类与病毒

(1) 取1 mL样本, 根据要富集微生物的物理尺寸选用孔径为0.22 μ m、0.45 μ m、1 μ m、2 μ m、5 μ m的一次性过滤

器进行过滤去除大尺寸杂质或非相关的大尺寸细胞；

(2) 加入20~40 μL 磁珠，缓慢吹打混合8~10次后旋转混合5~10 min；

(3) 瞬时离心2 s，磁吸2 min，弃去上清液；

(4) 加入1 mL PBS清洗1次，然后磁吸后弃上清；

(5-1) 如需增菌培养，可用适量PBS缓冲液进行重悬清洗，然后将磁珠/微生物复合物直接进行液体或者平板培养；

(5-2) 如需进行PCR检测，则加入20~40 μL 核酸提取裂解液或强效裂解液，将磁珠吹打混匀（如遇磁珠结块严重，注意将结块体收集到离心管底部）；

(6) 将反应管进行95 $^{\circ}\text{C}$ 水浴10~15 min；

(7) 瞬时离心2 s，回收冷凝液体；磁吸2 min，将液体转移至新的EP管中；

(8) 取2 μL 核酸体液进行PCR。

（病毒检测的裂解条件可参考2.2节）

2.8 气溶胶样本中菌类与病毒

(1) 取1~5 mL收集的气溶胶微生物溶液样本，根据要富集微生物的物理尺寸选用孔径为0.22 μm 、0.45 μm 、1 μm 、2 μm 、5 μm 的一次性过滤器进行过滤去除大尺寸杂质；

(2) 加入20~40 μL 磁珠，缓慢吹打混合8~10次后旋转混合5~10 min；

(3) 瞬时离心2 s，磁吸2 min，弃去上清液；

(4) 加入1 mL PBS清洗1次，然后磁吸后弃上清；

(5-1) 如需增菌培养，可用适量PBS缓冲液进行重悬清洗，然后将磁珠/微生物复合物直接进行液体或者平板培养；

(5-2) 如需进行PCR检测，则加入20~40 μL 核酸提取裂解液或强效裂解液，将磁珠吹打混匀（如遇磁珠结块严重，注意将结块体收集到离心管底部）；

(6) 将反应管进行95 $^{\circ}\text{C}$ 水浴10~15 min；

(7) 瞬时离心2 s，回收冷凝液体；磁吸2 min，将液体转移至新的EP管中；

(8) 取2 μL 核酸体液进行PCR。

（病毒检测的裂解条件可参考2.2节）

2.9 食用水、污水样本中菌类与病毒

(1) 对污水样本先进行静置沉淀去除大尺寸杂质颗粒，或者根据要富集微生物的物理尺寸选用孔径为0.22 μm 、0.45 μm 、1 μm 、2 μm 、5 μm 的一次性过滤器进行过滤去除大尺寸杂质或非相关的大尺寸细胞；然后取1 mL样本清液转移到新的离心管中；

(1) 取1~5 mL收集的气溶胶微生物溶液样本，根据要富集微生物的物理尺寸选用孔径为0.22 μm 、0.45 μm 、1 μm 、2 μm 、5 μm 的一次性过滤器进行过滤去除大尺寸杂质；

(2) 加入20~40 μL 磁珠，缓慢吹打混合8~10次后旋转混合5~10 min；

(3) 瞬时离心2 s，磁吸2 min，弃去上清液；

(4) 加入1 mL PBS清洗1次，然后磁吸后弃上清；

(5-1) 如需增菌培养，可用适量PBS缓冲液进行重悬清洗，然后将磁珠/微生物复合物直接进行液体或者平板培养；

(5-2) 如需进行PCR检测，则加入20~40 μL 核酸提取裂解液或强效裂解液，将磁珠吹打混匀（如遇磁珠结块严重，注意将结块体收集到离心管底部）；

(6) 将反应管进行95 $^{\circ}\text{C}$ 水浴10~15 min；

(7) 瞬时离心2 s，回收冷凝液体；磁吸2 min，将液体转移至新的EP管中；

(8) 取2 μL 核酸体液进行PCR。

（病毒检测的裂解条件可参考2.2节）

2.10 食品样本（熟食、冷食、蔬菜、水果、奶制品、豆制品、包装食品）、药品样本、土壤样本中菌类与病毒

(1) 取1 g样本，加入5 mL缓冲液，进行匀浆处理，然后进行低速离心去除杂质颗粒；或者根据要富集微生物的物理尺寸选用孔径为0.22 μm 、0.45 μm 、1 μm 、2 μm 、5 μm 的一次性过滤器进行过滤去除大尺寸杂质或非相关的大尺寸细胞；然后取1 mL样本清液转移到新的离心管中；

(2) 加入20~40 μL 磁珠，缓慢吹打混合8~10次后旋转混合5~10 min；

(3) 瞬时离心2 s，磁吸2 min，弃去上清液；

(4) 加入1 mL PBS清洗1次，然后磁吸后弃上清；

(5-1) 如需增菌培养，可用适量PBS缓冲液进行重悬清洗，然后将磁珠/微生物复合物直接进行液体或者平板培养；

(5-2) 如需进行PCR检测，则加入20~40 μL 核酸提取裂解液或强效裂解液，将磁珠吹打混匀（如遇磁珠结块严重，注意将结块体收集到离心管底部）；

(6) 将反应管进行95 $^{\circ}\text{C}$ 水浴10~15 min；

(7) 瞬时离心2 s，回收冷凝液体；磁吸2 min，将液体转移至新的EP管中；

(8) 取2 μL 核酸体液进行PCR。

（病毒检测的裂解条件可参考2.2节）

三、注意事项

1. 本品磁珠浓度为50 mg/mL，20 μL 磁珠悬液中含有1 mg的磁珠，纯水状态下微生物捕饱和获载量水平在 10^8 CFU/mg beads级别，病毒分子的饱和获载量水平在 10^{10} CFU/mg beads级别。实际样本中可能存在干扰因素导致捕获能力下降，可根据实际情况优化磁珠用量。

2. 在磁珠富集步骤中，如遇磁珠结块严重而难以被吹

打混匀，可以直接95 °C反应5~15 min。

3. 建议使用质量好的移液器吸头和反应管，避免因黏附磁珠及溶液而造成损失。
4. 当捕获效果不佳或PCR检测效率低或存在干扰时，需要进一步优化样本前处理方法、缓冲液、裂解液等参数，建议先按照本说明书操作步骤进行，验证后可自行优化操作参数。
5. 本产品仅用于科学试验研究使用；如作为检测方法学中核心耗材进行医疗检验许可申请，本公司可根据相关政策法规共同合作参与医疗检验许可的申请。

四、推荐的PCR扩增体系参数：

表1.推荐的PCR体系

组分	体系20 μL
预混液	10 μL
Primer F (10 μM)	1 μL
Primer R (10 μM)	1 μL
样本	3 μL
H ₂ O	To 20 μL

表2.推荐的PCR程序

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	2 min	1 cycle
变性	95°C	10s	40 cycles
退火/延伸	60°C	20s	
熔解曲线阶段	仪器默认		1 cycle

【问题反馈及技术支持】

电话：0512-68769279

技术支持：18913689279

邮箱：info@brobio.cn

网址：www.brofix.cn

公众号：



BROFIX版 本 号：V01

修订日期：2025年12月

苏州市布鲁生物有限公司