

微生物捕获磁珠（非免疫法）使用说明书（全样本）

【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	黄色或黑色悬浊液
尺寸	2~10 μm无定型结构，磁珠基质可定制
质量浓度	50 mg/mL
磁珠捕获载量	>1.0×10 ⁸ 个微生物颗粒/mg beads
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
储存条件	2-8°C保存，勿冷冻，有效期>6个月

【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	直扩裂解液1	常规微生物裂解液
3	直扩裂解液2	结核菌专用裂解液
4	缓冲液1	样本pH平衡及清洗
5	缓冲液2	样本pH平衡及清洗
6	缓冲液3	各类拭子保存
7	痰液处理液	痰液液化

二、样本预处理及微生物捕获方法

- 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。
- 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。
- 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 全血样本中菌类的提取

- (1) 取1 mL全血样本，加入3 mL裂解液1，吹打混匀后室温下轻摇5 min；
- (2) 将样本在8000 rpm 下离心5分钟，或者在4000 rpm 下离心20 min；
- (3) 充分弃去上清液，注意不要吸走沉淀以免造成病原微生物丢失；
- (4) 加入100 μL去离子水，将沉淀缓慢吹打混匀；
- (5) 加入20~80 μL磁珠，缓慢吹打混合8~10次后静置1~2 min；
- (6) 磁吸1~2 min，充分吸弃余液（可用适量纯水清洗1~2次）；
 - (7-1) 如需增菌培养，可用适量缓冲液1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；
 - (7-2) 如需进行PCR检测，则加入40 μL直扩裂解液1，将磁珠吹打混匀（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）；
- (8) 将反应管进行95 °C加热5~15 min；
- (9) 瞬时离心5 s，回收冷凝液体；
- (10) 磁吸2 min，将液体（微生物核酸）转到新的1.5 mL 离心管备用。

2.2 血清样本中病毒类的提取

- (1) 取1 mL血清样本，加入1 mL去离子水，吹打混匀后室温下轻摇5 min；
- (2) 加入40~80 μL磁珠，缓慢吹打混合8~10次后旋转混合3~5 min，然后静置1~2 min；
- (3) 磁吸1~2 min，充分吸弃余液；
- (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直扩裂解液1（裂解液可进行1/2或1/3倍稀释），将磁珠吹打混匀；
- (6) 将反应管进行60 °C加热5~15 min；
- (7) 瞬时离心5 s，回收冷凝液体；
- (8) 磁吸2 min，将液体（病毒核酸）转到新的1.5 mL 离心管备用。

2.3 痰液、咽喉分泌物拭子中菌类的提取

- (1) 取0.5 mL痰液，加入1 mL液化液(若样本量不足，根据比例适当调整液化液用量)与20 μ L蛋白酶K溶液；
- (2) 震荡混合5~10 s，室温下静置10~15 min；如痰液太浓，可适当加热2分钟加速液化；然后可选择加入100 μ L缓冲液2来调节液化液的pH值；
- (3) 加入20~80 μ L磁珠，缓慢吹打混合20次，然后温育10~15 min；
- (4) 磁吸1~2 min，吸弃余液；
- (5) 加入0.5 mL缓冲液1，缓慢吹打混合20次，然后静置1 min；
- (6) 继续重复上述(4)、(5)步骤三次；
- (7) 瞬时离心5 s，回收液体；
- (8) 磁吸1~2 min，吸弃余液；
 - (9-1) 如需增菌培养，可用适量缓冲液1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；
 - (9-2) 如需进行PCR检测，则加入30 μ L直扩裂解液1，如果是检测结核杆菌，则加入20 μ L直扩裂解液2，将磁珠吹打混匀(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)；
- (10) 将反应管进行95 °C加热5~15 min；
- (11) 瞬时离心5 s，回收冷凝液体；
- (12) 磁吸2 min，将液体(微生物核酸)转到新的1.5 mL离心管备用。

2.4 粪便样本中菌类与病毒的提取

- (1) 取红豆大小粪便，加入1~2 mL缓冲液2中，稀释成粪便悬浮液；
- (2) 旋涡震荡3次，每次10 s；然后低速离心3 min，或瞬时离心后静置5~10 min，将上清部分转移至新的离心管中(此步骤主要是去除粪便中残渣物，可自行优化)；
- (3) 加入20~80 μ L磁珠，缓慢吹打混合8~10次后旋转混合3~5 min，然后静置1~2 min；
- (4) 磁吸1~2 min，充分吸弃余液；
 - (5-1) 如需增菌培养，可用适量缓冲液1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40 μ L直扩裂解液1，将磁珠吹打混匀(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)；
- (6) 将反应管进行95 °C加热5~15 min；
- (7) 瞬时离心，回收冷凝液体；
- (8) 磁吸2 min，将液体(微生物核酸)转到新的1.5 mL离心管备用。

(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的提取

- (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，瞬时离心后静置2~3

- min(此步骤主要是去除尿液中颗粒物，可自行优化)；
 - (2) 将上层大部分清液转移至新的离心管中；
 - (3) 加入20~60 μ L磁珠，缓慢吹打混合8~10次后旋转混合3~5 min，然后静置1~2 min；
 - (4) 磁吸1~2 min，充分吸弃余液；
 - (5-1) 如需增菌培养，可用适量缓冲液1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40 μ L直扩裂解液1，将磁珠吹打混匀(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)；
 - (6) 将反应管进行95 °C加热5~15 min；
 - (7) 瞬时离心，回收冷凝液体；
 - (8) 磁吸2 min，将液体(微生物核酸)转到新的1.5 mL离心管备用。
- (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)中菌类与病毒的提取

- (1) 将拭子在1~2 mL缓冲液3中充分搅拌溶解，瞬时离心后静置2~3 min；
- (2) 取1 mL拭子样本的上清液，加入20~60 μ L磁珠，缓慢吹打混合8~10次后旋转混合3~5 min，然后静置1~2 min；
- (3) 磁吸1~2 min，充分吸弃余液；
 - (4-1) 如需增菌培养，可用适量缓冲液1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；
 - (4-2) 如需进行PCR检测，则加入40 μ L直扩裂解液1，将磁珠吹打混匀(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)；
- (5) 将反应管进行95 °C加热5~15 min；
- (6) 瞬时离心，回收冷凝液体；
- (7) 磁吸2 min，将液体(微生物核酸)转到新的1.5 mL离心管备用。

(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

- (1) 取1 mL清液样本，加入20~60 μ L磁珠，缓慢吹打混合8~10次后旋转混合3~5 min，然后静置1~2 min；
 - (2) 磁吸1~2 min，充分吸弃余液；
 - (3-1) 如需增菌培养，可用适量缓冲液1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；
 - (3-2) 如需进行PCR检测，则加入40 μ L直扩裂解液1，将磁珠吹打混匀(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)；
 - (4) 将反应管进行95 °C加热5~15 min；
 - (5) 瞬时离心，回收冷凝液体；
 - (6) 磁吸2 min，将液体(微生物核酸)转到新的1.5 mL离心管备用。
- (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的提取

- (1) 取1~5 mL收集的气溶胶微生物溶液样本，加入20~80 μL 磁珠，缓慢吹打混合8~10次后静置1~2 min；或直接将20~80 μL 磁珠加入到气溶胶气旋液中进行气溶胶收集；
 - (2) 磁吸1~2 min，充分吸弃余液；
 - (3-1) 如需增菌培养，可用适量缓冲液1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；
 - (3-2) 如需进行PCR检测，则加入40 μL 直扩裂解液1，将磁珠吹打混匀（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）；
 - (4) 将反应管进行95 °C加热5~15 min；
 - (5) 瞬时离心，回收冷凝液体；
 - (6) 磁吸2 min，将液体（微生物核酸）转到新的1.5 mL离心管备用。
- （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的提取

- (1) 对污水样本先进行静置沉淀去除杂质颗粒，然后取1 mL样本清液转移到新的离心管中；
 - (2) 加入20~60 μL 磁珠，缓慢吹打混合8~10次后静置1~2 min；或直接将20~80 μL 磁珠加入到气溶胶气旋液中进行气溶胶收集；
 - (3) 磁吸1~2 min，充分吸弃余液；
 - (4-1) 如需增菌培养，可用适量缓冲液1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；
 - (4-2) 如需进行PCR检测，则加入40 μL 直扩裂解液1，将磁珠吹打混匀（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）；
 - (5) 将反应管进行95 °C加热5~15 min；
 - (6) 瞬时离心，回收冷凝液体；
 - (7) 磁吸2 min，将液体（微生物核酸）转到新的1.5 mL离心管备用。
- （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的提取

- (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，取1~2 mL样本清液转移到新的离心管中；
- (2) 加入20~60 μL 磁珠，缓慢吹打混合8~10次后旋转混合3~5 min，然后静置1~2 min；
- (3) 磁吸1~2 min，充分吸弃余液；
- (4-1) 如需增菌培养，可用适量缓冲液1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；
- (4-2) 如需进行PCR检测，则加入40 μL 直扩裂解液1，将磁珠吹打混匀（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）；

匀，可以直接95 °C反应5~15 min）；

- (5) 将反应管进行95 °C加热5~15 min；
 - (6) 瞬时离心，回收冷凝液体；
 - (7) 磁吸2 min，将液体（微生物核酸）转到新的1.5 mL离心管备用。
- （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获饱和载量水平在 10^8 CFU/mg beads级别，病毒分子的饱和载量水平在 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。

【问题反馈及技术支持】

电话：0512-68769279

邮箱：info@brobio.cn

网址：www.brofix.cn

公众号：



版 本 号：V01

修 订 期 间：2025年06月