



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106198961 A

(43)申请公布日 2016.12.07

(21)申请号 201610575085.5

(22)申请日 2016.07.21

(71)申请人 上海奥普生物医药有限公司

地址 201201 上海市浦东新区瑞庆路526号

(72)发明人 陈海燕 顾金华 杨晶 李福刚
徐建新

(74)专利代理机构 上海伯瑞杰知识产权代理有限公司 31227

代理人 吴泽群

(51)Int.Cl.

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/539(2006.01)

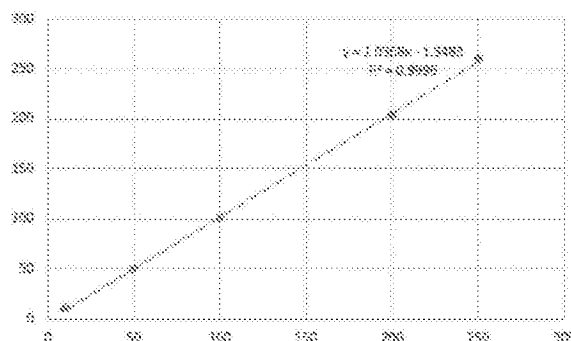
权利要求书2页 说明书9页 附图2页

(54)发明名称

一种定量检测血清淀粉样蛋白A的乳胶增强免疫比浊试剂盒及其制备方法

(57)摘要

本发明属于临床医学诊断领域,特别涉及一种定量检测血清淀粉样蛋白A的乳胶增强免疫比浊试剂盒及其制备方法,该试剂盒包括R1试剂、R2试剂、血清淀粉样蛋白A质控品、血清淀粉样蛋白A校准品。该方法使用的样本量较少。与其他检测方法相比具有简单、准确、快速的特点,并可直接在全自动分析仪上批量分析实现高通量。该试剂盒稳定性好、灵敏度高、线性范围宽、使用样本量少、可检测全血、并可与配套仪器使用实现高通量。且价格低廉,可广泛应用大、中、小医院,用于门诊临床快速诊断感染及其感染预后的评估。



1. 一种定量检测血清淀粉样蛋白A的乳胶增强免疫比浊试剂盒,其特征在于:该试剂盒包括R1试剂、R2试剂、血清淀粉样蛋白A质控品、血清淀粉样蛋白A校准品;

所述的R1试剂包括缓冲液、电解质、稳定剂、表面活性剂、防腐剂;

所述的R2试剂包括偶联有抗SAA抗体的乳胶微球、缓冲液、稳定剂、电解质、防腐剂;

所述的血清淀粉样蛋白A质控品包括血清淀粉样蛋白A质控品蛋白和稀释液;

所述的血清淀粉样蛋白A校准品包括血清淀粉样蛋白A校准品蛋白和稀释液。

2. 根据权利要求1所述的定量检测血清淀粉样蛋白A的乳胶增强免疫比浊试剂盒,其特征在于:所述乳胶微球是含有聚苯乙烯的多聚物,表面含有羧基基团,粒径在70-200nm之间;

所述抗SAA抗体是通过化学交联的方法偶联到乳胶微球表面的,所述化学交联的方法是通过化学交联剂在交联缓冲液中进行的;

所述的血清淀粉样蛋白A质控品用于对所述的血清淀粉样蛋白A校准品曲线的校准。

3. 根据权利要求2所述的定量检测血清淀粉样蛋白A的乳胶增强免疫比浊试剂盒,其特征在于:所述化学交联剂选自1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐、N-羟基琥珀酰亚胺、N-羟基硫代琥珀酰亚胺、碳化亚胺、酰肼、异氰酸钾一种或两种以上的混合物;

所述交联缓冲液选自不含氨基的缓冲液,为2-(N-吗啉代)乙磺酸(MES)、PB、HEPES、MOPSO缓冲液其中的一种,pH在6.0-8.0。

4. 根据权利要求1所述的定量检测血清淀粉样蛋白A的乳胶增强免疫比浊试剂盒,其特征在于:所述稀释液包括缓冲液、稳定剂、电解质、防腐剂。

5. 根据权利要求1所述的定量检测血清淀粉样蛋白A的乳胶增强免疫比浊试剂盒,其特征在于:所述血清淀粉样蛋白A校准品是高浓度单点校准品或使用标稀释液梯度稀释,直接制备出不同浓度的校准品,浓度为0-200mg/L。

6. 根据权利要求1所述的定量检测血清淀粉样蛋白A的乳胶增强免疫比浊试剂盒,其特征在于:所述血清淀粉样蛋白A质控品是高浓度单点质控品或使用稀释液梯度稀释,直接制备出不同浓度的质控品,浓度为10-100mg/L。

7. 根据权利要求1或4所述的定量检测血清淀粉样蛋白A的乳胶增强免疫比浊试剂盒,其特征在于:所述电解质选自氯化钠、氯化钾、氯化镁、硫酸镁中一种或两种以上的混合物,浓度在0.5%-5%之间;

所述稳定剂选自酪蛋白、甘露醇、壳聚糖、牛血清白蛋白中一种或两种以上的混合物,浓度在1‰-5‰;

所述表面活性剂选自吐温、脂肪醇聚乙二醇醚、辛基苯基聚氧乙烯醚中一种或两种以上的混合物,浓度在0.5‰-3‰;

所述防腐剂选自叠氮钠、对羟基苯甲酸、对羟基苯甲酸乙酯、Proclin系列其中的一种,浓度在0.5‰-4‰。

8. 根据权利要求7所述的定量检测血清淀粉样蛋白A的乳胶增强免疫比浊试剂盒,其特征在于:所述电解质为氯化钠,浓度为1%-4%;

所述稳定剂为牛血清白蛋白;

所述表面活性剂为辛基苯基聚氧乙烯醚。

9. 一种制备定量检测血清淀粉样蛋白A的乳胶增强免疫比浊试剂盒的方法,包括如下

步骤:

(1)R1试剂的制备:

R1试剂包括pH为6.4-8.0的100mmol/L PB,1%-4%氯化钠或者氯化钾、0-5%PEG6000、0.5%-3‰表面活性剂、0.5%-2‰防腐剂;

(2)R2试剂的制备:

将100mg含有羧基的乳胶微球放入100-500mmol/L,pH5.0-6.0的MES溶液或者100-500mmol/L,Ph7.2的PBS缓冲液中,乳胶微球的终浓度为0.5%-2%,加入EDC和NHS,EDC的终浓度为0.05%-0.1%,NHS的终浓度为0.1%-0.2%,室温搅拌15min-30min,离心取上清,用50mmol/L的PB溶液复溶,复溶后乳胶微球的终浓度在0.2%-0.4%;

取抗SAA抗体,用50-200mmol/L的PB进行稀释,SAA抗体终浓度在0.5mg/ml-3mg/ml;

将乳胶微球和稀释SAA抗体充分混合,微球和SAA抗体质量比为10mg:0.5mg,室温搅拌2h-4h,离心,获得偶联抗SAA抗体的乳胶微球,取偶联抗SAA抗体的乳胶微球,加入50-100mmol/L的甘氨酸溶液(偶联抗SAA抗体的乳胶微球的终浓度为1%-3.5%)、1%-4%的氯化钠、0.5%-2‰防腐剂充分混合获得R2试剂;

(3)稀释液的制备:取1%-4%电解质、1‰-5‰稳定剂、0.5%-4‰对羟基苯甲酸、剩余为50mmol/L缓冲液充分混合获得稀释液;

(4)校准品的制备

从国内知名生物公司购买血清淀粉样蛋白A校准品抗原,用稀释液配制不同浓度梯度校准品,校准品:0mg/L、10mg/L、50mg/L、100mg/L、200mg/L、250mg/L;

(5)质控品的制备

从国内知名生物公司购买血清淀粉样蛋白A校准品抗原,用稀释液配制10mg/L、50mg/L、100mg/L浓度的样品。

一种定量检测血清淀粉样蛋白A的乳胶增强免疫比浊试剂盒 及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于临床医学诊断领域,特别涉及一种定量检测血清淀粉样蛋白A的乳胶增强免疫比浊试剂盒及其制备方法。

背景技术

[0002] 血清淀粉样蛋白A(serum amyloid A,SAA)是组织淀粉样蛋白A的前体物质,属于急性时相蛋白,在组织损伤和炎症反应时升高,影响细胞的黏附、迁移、增殖和聚集。SAA是淀粉样变中主要组成成分淀粉样A蛋白的血清前体,是由肝细胞产生后被分泌到血清中的一种急性时相蛋白,虽然随处可见,但是在正常情况下,在体中表达依然很低,然而机体一旦发生炎症、感染或组织损伤时,SAA水平可在5~6h内迅速升高约1000倍。CRP是研究较多且临床应用较广泛的急性时相反应蛋白,但CRP对病毒感染不敏感、不升高,除非病毒感染后期并发细菌感染时,CRP才升高。因此SAA用于鉴定细菌感染和病毒感染。

[0003] 近年来认为炎症过程参与动脉粥样硬化的形成,研究发现急性心肌梗死(AMI)后3d SAA显著升高,可达正常值的5000倍,而同时CRP升高为正常值的100倍,认为SAA作为AMI的辅助诊断指标优于CRP。Johnson等人针对705名怀疑有心肌缺血的女性患者进行了多中心研究,发现SAA水平与冠脉造影证实的冠状动脉疾病存在相关性,认为SAA可以作为预测心血管事件的一个独立指标。最近研究发现SAA/LDL复合物作为监测稳定型冠状动脉疾病预后的指标,比CRP或单独的SAA更为敏感。

[0004] Hogarth等人对平均年龄为83岁的66名女性和平均年龄为84岁的33名男性进行了前瞻性调查研究,比较了SAA和CRP在诊断和监测感染性疾病预后中的作用。结果发现CRP和SAA均可预示较差的预后,比如复发或死亡,而监测感染急性期反应,SAA是比CRP更敏感的指标,有7%的CRP正常的感染性疾病患者可通过SAA检测出。CRP和SAA是两种不同的蛋白质,两者联合检测有助于指导急性期反应的临床治疗和监测预后。在小儿感染性疾病早期,很难鉴别是细菌感染还是病毒感染。CRP对病毒感染缺乏敏感性,而SAA在细菌和病毒感染早期均可升高。研究发现SAA和CRP的比值与小儿感染性疾病的严重程度存在相关性,监测SAA/CRP比值比单独检测SAA或CRP更有应用价值。

[0005] 移植排斥反应是器官移植失败的主要原因,如果能及时检测出早期的移植排异反应,立即进行抗排异治疗,有助于逆转移植物的排斥。肾移植后3月内亚临床排斥反应的发生率大概是30%左右,研究认为是否用皮质甾类药物治疗亚临床排斥反应会影响移植术后的结果。早期治疗亚临床排斥反应,有助于减低急性排斥反应的发生率,维持较低的血清肌酐浓度,改善移植后器官功能。Hartmann等研究发现在器官移植排异反应早期SAA即显著升高,而CRP在急性和超急性排异反应前后变化不明显,而且SAA会在最短的时间内对成功的抗排异治疗作出反应,认为在诊断移植排异和评估抗排异疗效时,SAA优于CRP。SAA作为诊断移植排异反应的指标,在肝、肾、骨髓、胰腺等器官移植排异反应中的应用均有报道。

[0006] SAA是判断RA和SLE病情活动度的敏感指标,病情活跃时SAA水平显著、高于稳定

期,监测SAA水平变化有助于指导临床用药。SAA可以作为预测急性胰腺炎严重程度的早期指标,且预测作用优于CRP。SAA还可以作为膀胱炎和肾盂肾炎的血清标志物。

发明内容

[0007] 本发明的目的是提供一种定量检测血清淀粉样蛋白A的乳胶增强免疫比浊试剂盒,该试剂盒能具有检测简单、准确、快速的特点,并可直接在全自动分析仪上批量分析实现高通量。

[0008] 本发明还提供了定量检测血清淀粉样蛋白A的乳胶增强免疫比浊试剂盒的制备方法。

[0009] 本发明还提供了SAA的检测方法。

[0010] 为了实现以上技术效果,本发明是通过如下步骤实现:

[0011] 一种定量检测血清淀粉样蛋白A的乳胶增强免疫比浊试剂盒,其特征在于:该试剂盒包括R1试剂、R2试剂、血清淀粉样蛋白A质控品、血清淀粉样蛋白A校准品。

[0012] 所述R1试剂包括缓冲液、电解质、稳定剂、表面活性剂、防腐剂;

[0013] 所述的R2试剂包括偶联有抗SAA抗体的乳胶微球、缓冲液、稳定剂、电解质、防腐剂;

[0014] 所述的血清淀粉样蛋白A质控品包括血清淀粉样蛋白A质控品蛋白和质控品稀释液。

[0015] 所述的血清淀粉样蛋白A校准品包括血清淀粉样蛋白A校准品蛋白和校准品稀释液。

[0016] 所述微球是含有聚苯乙烯的多聚物,表面含有羧基基团,粒径在70-200nm之间,所述抗SAA抗体是通过化学交联的方法偶联到乳胶微球表面的,所述化学交联的方法是通过化学交联剂在交联缓冲液中进行的;

[0017] 所述的血清淀粉样蛋白A质控品用于对所述的血清淀粉样蛋白A校准品曲线的校准;

[0018] 所述化学交联剂选自1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐、N-羟基琥珀酰亚胺、N-羟基琥珀酰亚胺、碳化亚胺、酰肼、异氰酸钾一种或两种以上的混合物;

[0019] 所述交联缓冲液选自不含氨基的缓冲液,为2-(N-吗啉代)乙磺酸(MES)、PB、HEPES、MOPS0缓冲液其中的一种,pH在6.0-8.0。

[0020] 所述的血清淀粉样蛋白A质控品稀释液包括缓冲液、稳定剂、电解质、防腐剂;

[0021] 所述的血清淀粉样蛋白A校准品稀释液包括缓冲液、稳定剂、电解质、防腐剂。

[0022] 所述血清淀粉样蛋白A校准品可以是高浓度单点校准品,也可以使用用时校准品稀释液梯度稀释,直接制备出不同浓度的校准品,浓度为0-200mg/L。

[0023] 所述血清淀粉样蛋白A质控品可以是高浓度单点质控品,也可以使用用时质控品稀释液梯度稀释,直接制备出不同浓度的质控品,浓度为10-100mg/L。

[0024] 所述电解质选自氯化钠、氯化钾、氯化镁、硫酸镁中一种或两种以上的混合物,浓度在0.5%-5%之间;

[0025] 所述稳定剂选自酪蛋白、甘露醇、壳聚糖、牛血清白蛋白中一种或两种以上的混合物,浓度在1‰-5‰;

[0026] 所述表面活性剂选自吐温、脂肪醇聚乙二醇醚、辛基苯基聚氧乙烯醚中一种或两种以上的混合物,浓度在0.5‰-3‰;

[0027] 所述防腐剂选自叠氮钠、对羟基苯甲酸、对羟基苯甲酸乙酯、Proclin系列其中的一种,浓度在0.5‰-4‰。

[0028] 优选的,所述电解质为氯化钠,浓度为1%-4%;

[0029] 优选的,所述稳定剂为牛血清白蛋白;

[0030] 优选的,所述表面活性剂为辛基苯基聚氧乙烯醚。

[0031] 所述试剂盒的制备:

[0032] (1)R1试剂的制备:R1试剂包括,pH为6.4-8.0的100mmol/L PB、1%-4%氯化钠或者氯化钾、0-5%PEG6000、0.5‰-3‰表面活性剂、0.5‰-2‰防腐剂。

[0033] 优选的,R1试剂包括:pH为7.2的100mmol/L PB、1%-4%氯化钠、0-5%PEG6000、0.5‰-3‰辛基苯基聚氧乙烯醚、0.5‰-2‰对羟基苯甲酸。

[0034] (2)R2试剂的制备:将100mg含有羧基的乳胶微球放入pH5.0-6.0 100mmol/L的MES溶液中,羧基的乳胶微球的终浓度为0.5%-2%。加入EDC和NHS,EDC的终浓度为0.05%-0.1%,NHS的终浓度为0.1%-0.2%。室温搅拌15min-30min,离心取上清,用50mmol/L的PB溶液复溶,复溶后乳胶微球的终浓度在0.2%-0.4%。

[0035] 取10mg抗SAA抗体,用50-100mmol/L的PB进行稀释,SAA抗体终浓度在0.5-2mg/ml。

[0036] 将取100mg复溶的乳胶微球和稀释SAA抗体充分混合,乳胶微球和SAA抗体质量比为10mg:1mg,室温搅拌2h,离心,获得偶联抗SAA抗体的乳胶微球。取偶联抗SAA抗体的乳胶微球,加入50-100mmol/L的甘氨酸溶液(偶联抗SAA抗体的乳胶微球的终浓度为1%-3.5%)、1%-4%的氯化钠、0.5‰-2‰防腐剂充分混合获得R2试剂。

[0037] 优选的,所述防腐剂选为对羟基苯甲酸。

[0038] (3)稀释液的制备:取1%-4%电解质、1‰-5‰稳定剂、0.5‰-4‰对羟基苯甲酸、剩余为50mmol/L缓冲液充分混合获得稀释液。

[0039] (4)校准品的制备:从国内知名生物公司购买血清淀粉样蛋白A校准品抗原,用校准品稀释液配制不同浓度梯度校准品。校准品:0mg/L、10mg/L、50mg/L、100mg/L、200mg/L、250mg/L。

[0040] (5)质控品的制备

[0041] 从国内知名生物公司购买血清淀粉样蛋白A校准品抗原,用稀释液配制10mg/L、50mg/L、100mg/L浓度的样品。

[0042] 本发明的有益效果是:

[0043] (1)本发明公布的专利为乳胶增强免疫比浊法,该方法使用的样本量较少。与其他检测方法相比具有简单、准确、快速的特点,并可直接在全自动分析仪上批量分析实现高通量。

[0044] (2)本发明公布的专利与现有的乳胶增强免疫比浊法试剂盒相比有如下优点:稳定性好、灵敏度高、线性范围宽、使用样本量少、可检测全血、并可与配套仪器使用实现高通量。且价格低廉,可广泛应用大、中、小医院,用于门诊临床快速诊断感染及其感染预后的评估。

附图说明

- [0045] 图1是(实施例4)SAA检测的定标曲线。
[0046] 图2是(实施例5)SAA检测的定标曲线。
[0047] 图3是(实施例6)SAA检测的定标曲线。
[0048] 图4是国外某知名厂家SSA试剂与本发明的相关性测试图。

具体实施方式

[0049] 下面结合实施例,对本发明作进一步说明:

[0050] 使用本发明试剂,采用上海奥普生物医药有限公司的Ottoman全自动特定蛋白即时检测分析仪,考核相关性能指标,并对27份血清(包括正常样本和异常样本)。对照试剂为西门子公司SAA免疫比浊试剂和BN11全自动蛋白分析仪。按照各自的参数进行测试,对测定结果进行相关性分析。

[0051] 实施例1

[0052] (1)R1试剂的制备:称取95ml pH 7.2 100mmol/L PB、1%氯化钠、4%PEG6000、2%辛基苯基聚氧乙烯醚,1%对羟基苯甲酸,充分混合。

[0053] (2)R2试剂的制备:将100mg含有羧基的乳胶微球放入pH5.0 100mmol/L的MES溶液中,羧基的乳胶微球的终浓度为2%。加入EDC和NHS,EDC的终浓度为0.05%,NHS的终浓度为0.1%。室温搅拌15min,离心取上清,用50mmol/L的PB溶液复溶,复溶后乳胶微球的终浓度在0.2%。

[0054] 取10mg抗SAA抗体,用50mmol/L的PB进行稀释,SAA抗体终浓度在0.5mg/ml。

[0055] 将取100mg复溶的乳胶微球和稀释SAA抗体充分混合,乳胶微球和SAA抗体质量比为10mg:1mg,室温搅拌2h,离心,获得偶联抗SAA抗体的乳胶微球。取偶联抗SAA抗体的乳胶微球,加入100mmol/L的甘氨酸溶液(偶联抗SAA抗体的乳胶微球的终浓度为1%)、3%的氯化钠、1%对羟基苯甲酸充分混合获得R2试剂。

[0056] (3)稀释液的制备:取99ml 50mmol/LPB缓冲液加入1%氯化钠、5%牛血清蛋白、4%对羟基苯甲酸、1%对羟基苯甲酸充分混合获得稀释液。

[0057] (4)校准品的制备:从国内知名生物公司购买血清淀粉样蛋白A校准品抗原,用稀释液配制不同浓度梯度校准品10ml。校准品:0mg/L、10mg/L、50mg/L、100mg/L、200mg/L、250mg/L。

[0058] (5)质控品的制备:从国内知名生物公司购买血清淀粉样蛋白A校准品抗原,用稀释液配制10mg/L、50mg/L、100mg/L浓度的样品。

[0059] 实施例2

[0060] (1)R1试剂的制备:称取95ml pH 7.2 100mmol/L PB、3%氯化钠、2%PEG6000、1%辛基苯基聚氧乙烯醚,1%对羟基苯甲酸,充分混合。

[0061] (2)R2试剂的制备:将100mg含有羧基的乳胶微球放入100mmol/L的MES溶液(PH5.0-6.0)中,羧基的乳胶微球的终浓度为1%。加入EDC和NHS,EDC的终浓度为0.1%,NHS的终浓度为0.1%。室温搅拌15min,离心取上清,用50mmol/L的PB溶液复溶,复溶后乳胶微球的终浓度在0.4%。

[0062] 取10mg抗SAA抗体,用50mmol/L的PB进行稀释,SAA抗体终浓度在1mg/ml。

[0063] 将取100mg复溶的乳胶微球和稀释SAA抗体充分混合,乳胶微球和SAA抗体质量比为10mg:1mg,室温搅拌2h,离心,获得偶联抗SAA抗体的乳胶微球。取偶联抗SAA抗体的乳胶微球,加入100mmol/L的甘氨酸溶液(偶联抗SAA抗体的乳胶微球的终浓度为2%)、3%的氯化钠、1‰对羟基苯甲酸充分混合获得R2试剂。

[0064] (3)稀释液的制备:取97ml 50mmol/LPB缓冲液加入3%氯化钠、5‰牛血清蛋白、4‰对羟基苯甲酸、1‰对羟基苯甲酸充分混合获得稀释液。

[0065] (4)校准品的制备:从国内知名生物公司购买血清淀粉样蛋白A校准品抗原,用稀释液配制不同浓度梯度校准品10ml。校准品:0mg/L、10mg/L、50mg/L、100mg/L、200mg/L、250mg/L。

[0066] (5)质控品的制备:从国内知名生物公司购买血清淀粉样蛋白A校准品抗原,用稀释液配制10mg/L、50mg/L、100mg/L浓度的样品。

[0067] 实施例3

[0068] (1)R1试剂的制备:称取95ml pH 7.2 100mmol/L PB、4%氯化钠、1%PEG6000、3‰辛基苯基聚氧乙烯醚,2‰对羟基苯甲酸,充分混合。

[0069] (2)R2试剂的制备:将100mg含有羧基的乳胶微球放入pH6.0 100mmol/L的MES溶液中,羧基的乳胶微球的终浓度为2%。加入EDC和NHS,EDC的终浓度为0.1%,NHS的终浓度为0.2%。室温搅拌15min,离心取上清,用50mmol/L的PB溶液复溶,复溶后乳胶微球的终浓度在0.4%。

[0070] 取10mg抗SAA抗体,用50mmol/L的PB进行稀释,SAA抗体终浓度在2mg/ml。

[0071] 将取100mg复溶的乳胶微球和稀释SAA抗体充分混合,乳胶微球和SAA抗体质量比为10mg:1mg,室温搅拌2h,离心,获得偶联抗SAA抗体的乳胶微球。取偶联抗SAA抗体的乳胶微球,加入100mmol/L的甘氨酸溶液(偶联抗SAA抗体的乳胶微球的终浓度为3.5%)、4%的氯化钠、1‰对羟基苯甲酸充分混合获得R2试剂。

[0072] (3)稀释液的制备:取95ml 50mmol/LPB缓冲液加入3%氯化钠、5‰牛血清蛋白、4‰对羟基苯甲酸、1‰对羟基苯甲酸充分混合获得稀释液。

[0073] (4)校准品的制备:从国内知名生物公司购买血清淀粉样蛋白A校准品抗原,用稀释液配制不同浓度梯度校准品10ml。校准品:0mg/L、10mg/L、50mg/L、100mg/L、200mg/L、250mg/L。

[0074] (5)质控品的制备:从国内知名生物公司购买血清淀粉样蛋白A校准品抗原,用稀释液配制10mg/L、50mg/L、100mg/L浓度的样品。

[0075] 实施例4

[0076] 标准曲线的制备:

[0077] 取实施例1中5ul的各浓度校准品溶液,R1试剂180ul,R2试剂180ul,使用上海奥普生物医药有限公司的Ottoman全自动特定蛋白即时检测分析仪在37℃、650nm波长、光径0.6cm下进行测定制备标准曲线,检测结果如图1。

[0078] 实施例5

[0079] 标准曲线的制备:

[0080] 取实施例2中5ul的各浓度校准品溶液,R1试剂180ul,R2试剂180ul,使用上海奥普

生物医药有限公司的Ottoman全自动特定蛋白即时检测分析仪在37℃、650nm波长、光径0.6cm下进行测定制备标准曲线,检测结果如图1。

[0081] 实施例6

[0082] 标准曲线的制备:

[0083] 取实施例3中5ul的各浓度校准品溶液,R1试剂180ul,R2试剂180ul,使用上海奥普生物医药有限公司的Ottoman全自动特定蛋白即时检测分析仪在37℃、650nm波长、光径0.6cm下进行测定制备标准曲线,检测结果如图3。

[0084] 实施例7

[0085] 最低检出限的检测(分析灵敏度)

[0086] 以空白(零值企业校准品)作样品对试剂盒进行测试,重复测试10次,计算空白响应量的均值和空白响应量的标准差(SD),将(均值+2SD)代入以多点折线拟合方式拟合的定标曲线中,计算浓度结果,浓度结果为0.21mg/L。因此本试剂盒在Ottman全自动仪器上的最低检出限为0.21mg/L。

[0087] 测定结果见下表

[0088]

测定次数	实施例1(OD)	实施例2(OD)	实施例3(OD)
1	5212	5127	5174
2	5204	5195	5068
3	5148	5054	5117
4	5092	5087	5203
5	5115	5104	5018
6	5064	5178	5169
7	5227	5218	5185
8	5220	5195	4996
9	4956	5047	5237
10	5044	4977	5166
平均值	5128.2	5118.2	5133.3
SD	90.49	78.68	80.94
CV	1.76%	1.54%	1.58

[0089] 实施例8

[0090] 重复性的检测

[0091] 用10mg/L、100mg/L的SAA企业校准品,作样品测试每个浓度的样品,n=10,计算CV。

[0092] 计算公式: $CV = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$

[0093] 说明: $SD \text{ (标准偏差)} = \sqrt{\frac{n \sum x^2 - (\sum x)^2}{n(n-1)}}$ 为测试数据的平均值。

[0094] 测定结果见下表

[0095]

	实施例 1		实施例 2		实施例 3	
测定次数	测定结果 (10mg/L)	检测结果 (100mg/L)	测定结果 (10mg/L)	检测结果 (100mg/L)	测定结果 (10mg/L)	检测结果 (100mg/L)

[0096]

		)		)		)
1	9.84	109.56	10.79	108.53	10.66	107.56
2	10.37	108.19	10.56	108.69	10.48	109.39
3	9.89	101.04	9.92	107.52	11.36	108.49
4	10.57	109.61	9.81	105.75	9.87	107.44
5	10.24	107.37	10.57	109.87	10.15	107.87
6	10.3	107.75	11.13	107.68	10.63	111.33
7	10.38	103.81	10.39	111.03	10.77	110.16
8	10.93	107.51	10.53	108.33	11.18	108.38
9	11.28	107.95	11.06	107.48	10.59	107.49
10	10.75	111.23	10.21	110.21	10.38	105.79
平均值	10.43	107.53	10.50	108.51	10.61	108.39
SD	0.4	3.01	0.44	1.55	0.44	1.57
CV	3.90%	2.80%	4.19%	1.43%	4.15%	1.45

[0097] 实施例9

[0098] 批间差的考核

[0099] 取3个批号的试剂,分别用10mg/L的企业校准品作样品测试,n=10,分别计算10份试剂测定均值($\bar{x}_T$)和每个批号10份试剂的测定均值($\bar{x}_1$ 、 $\bar{x}_2$ 、 $\bar{x}_3$),并按下列公式求出三个批号试剂测定均值的相对极差绝对值(%),批间相对极差绝对值应 $\leq 15\%$ 。

[0100] 公式:相对极差 (%) = $(\bar{x}_{\max} - \bar{x}_{\min}) / \bar{x}_T \times 100\%$

[0101] 其中: $\bar{x}_{\max}$ — $\bar{x}_1$ 、 $\bar{x}_2$ 、 $\bar{x}_3$ 中的最大值

[0102] $\bar{x}_{\min}$ — $\bar{x}_1$ 、 $\bar{x}_2$ 、 $\bar{x}_3$ 中的最小值

[0103] 测定结果下表

[0104]

测定次数	实施例 1 测定结果 (10mg/L)		
	批号: 20150523	批号: 20150529	批号: 20150609
1	10.22	9.83	9.24
2	9.92	10.13	9.25
3	9.89	9.30	9.39
4	9.52	9.97	8.96

[0105]

5	10.51	9.57	10.33
6	10.23	10.26	11.95
7	10.03	10.33	11.46
8	10.37	10.46	11.55
9	10.75	9.97	9.33
10	10.55	10.17	11.51
均值	10.20	10.01	10.29
总均值	10.17		
极差	2.75%		

[0106]

测定次数	实施例 2 测定结果 (10mg/L)		
	批号: 20150523	批号: 20150529	批号: 20150609
1	9.84	10.30	10.39
2	10.54	10.13	10.75
3	10.37	9.47	9.60
4	9.69	10.38	9.71
5	10.66	9.95	10.66
6	10.64	10.58	11.38
7	10.23	10.24	11.16
8	10.09	10.17	10.55
9	10.88	11.02	9.59
10	9.55	10.45	10.45
均值	10.25	10.27	10.42
总均值	10.31		
极差	1.64%		

[0107]

测定次数	实施例 3 测定结果 (10mg/L)		
	批号: 20150523	批号: 20150529	批号: 20150609
1	10.39	9.77	10.43
2	9.88	10.06	9.78
3	10.03	10.47	10.70
4	10.41	9.83	9.96
5	11.32	9.58	10.33
6	9.64	10.97	11.58
7	10.03	10.27	11.36

[0108]

8	10.56	10.56	11.63
9	10.90	11.10	10.33
10	10.52	10.41	11.01
均值	10.37	10.35	10.71
总均值	10.48		
极差	3.43%		

[0109] 由上表可得极差均小于5%，完全符合要求。

[0110] 实施例10

[0111] 对27份血清(包括正常样本和异常样本)。对照试剂为国外某知名厂家SAA免疫比浊试剂及其配套全自动蛋白分析仪。按照各自的参数进行测试,对测定结果进行相关性分析。分析结果见图4。R值大于0.95,符合临床要求。

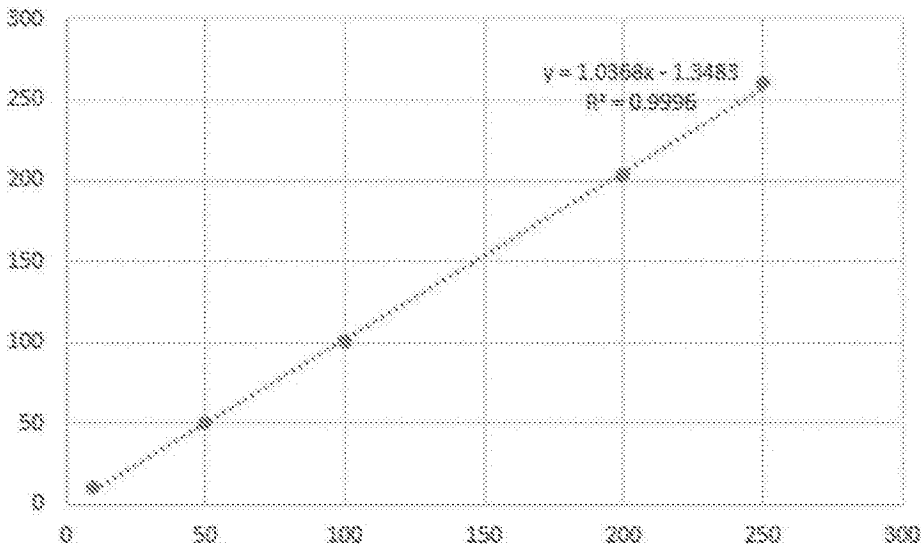


图1

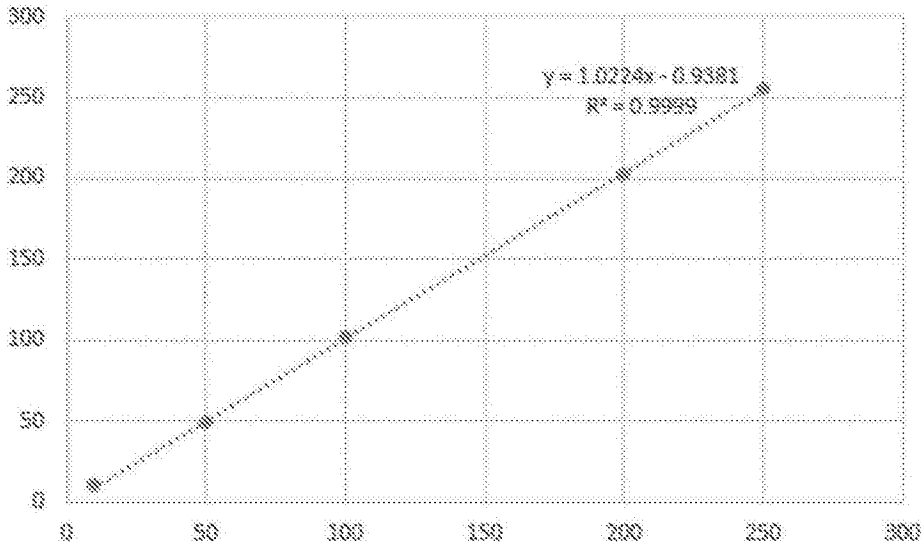


图2

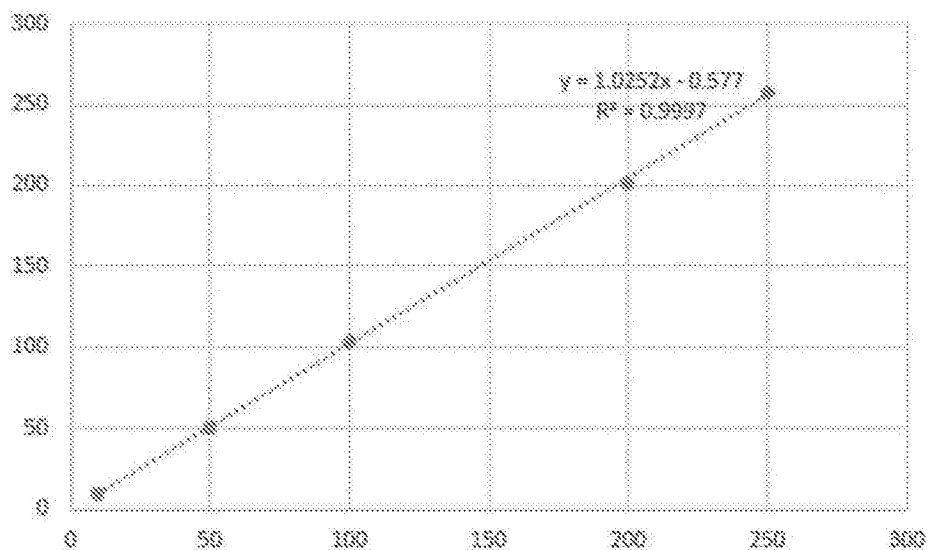


图3

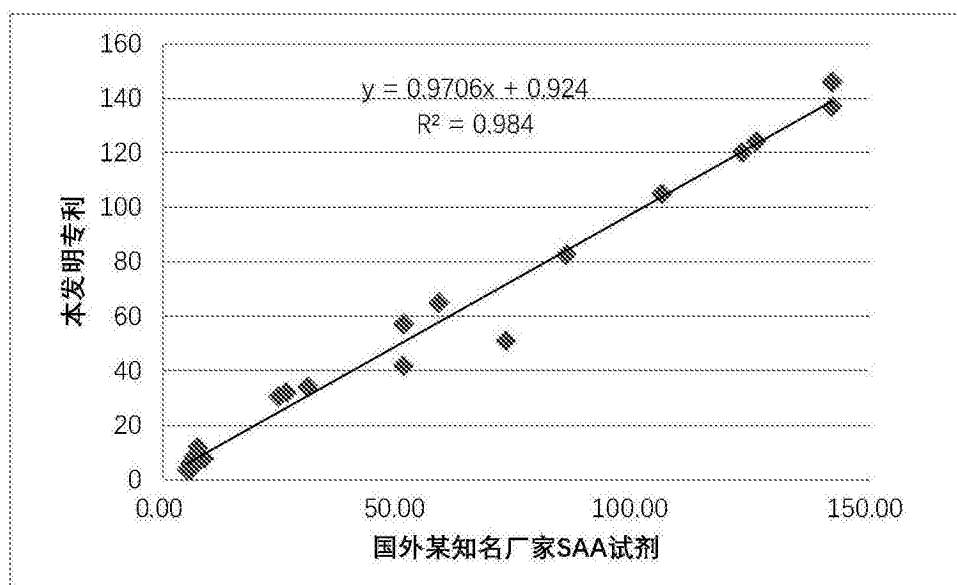


图4

专利名称(译)	一种定量检测血清淀粉样蛋白A的乳胶增强免疫比浊试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN106198961A	公开(公告)日	2016-12-07
申请号	CN201610575085.5	申请日	2016-07-21
[标]申请(专利权)人(译)	上海奥普生物医药有限公司		
申请(专利权)人(译)	上海奥普生物医药有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	上海奥普生物医药有限公司		
[标]发明人	陈海燕 顾金华 杨晶 李福刚 徐建新		
发明人	陈海燕 顾金华 杨晶 李福刚 徐建新		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/539		
CPC分类号	G01N33/54313 G01N33/539		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明属于临床医学诊断领域，特别涉及一种定量检测血清淀粉样蛋白A的乳胶增强免疫比浊试剂盒及其制备方法,该试剂盒包括R1试剂、R2试剂、血清淀粉样蛋白A质控品、血清淀粉样蛋白A校准品。该方法使用的样本量较少。与其他检测方法相比具有简单、准确、快速的特点，并可直接在全自动分析仪上批量分析实现高通量。该试剂盒稳定性好、灵敏度高、线性范围宽、使用样本量少、可检测全血、并可与配套仪器使用实现高通量。且价格低廉，可广泛应用大、中、小医院，用于门诊临床快速诊断感染及其感染预后的评估。

