



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104569410 B

(45)授权公告日 2017.01.11

(21)申请号 201510003917.1

G01N 33/533(2006.01)

(22)申请日 2015.01.04

审查员 周洋

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104569410 A

(43)申请公布日 2015.04.29

(73)专利权人 深圳市艾瑞生物科技有限公司

地址 518100 广东省深圳市宝安区西乡街道臣田社区宝田三路宝田工业区22栋5楼西边

(72)发明人 谢爱武

(74)专利代理机构 北京联瑞联丰知识产权代理

事务所(普通合伙) 11411

代理人 朱广存

(51)Int.Cl.

G01N 33/577(2006.01)

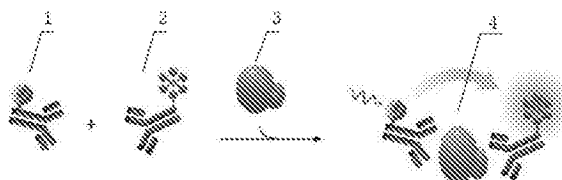
权利要求书1页 说明书6页 附图2页

(54)发明名称

一种快速定量检测D-二聚体的均相荧光免疫试剂组及其制备方法

(57)摘要

本发明提供了一种快速定量检测D-二聚体的均相荧光免疫试剂组及其制备方法。本发明所述的快速定量检测D-二聚体的均相荧光免疫试剂组,包括稀土元素螯合物标记的抗D-二聚体单克隆抗体(anti-DD)、近红外荧光化合物标记的抗D-二聚体单克隆抗体和系列浓度的D-二聚体校准品。本发明可同时检测高值和低值D-dimer,尤其是低值D-dimer,且成本低廉,操作简单、快速、灵敏,且特异性好,只需要配套专用均相荧光免疫检测仪,因此可广泛应用于各级医疗检验场所,尤其是基层医疗机构,包括乡镇卫生院等均可开展,对于心脑血管事件发生的预防有极为重要的意义。



1. 一种快速定量检测D-二聚体的均相荧光免疫试剂组,其特征在于,包括稀土元素螯合物标记的抗D-二聚体单克隆抗体、荧光化合物标记的抗D-二聚体单克隆抗体和系列浓度的D-二聚体校准品,稀土元素螯合物为BHHCT-Eu³⁺或BHHBCB-Eu³⁺,荧光化合物Alexa Fluor647、DyLight-DY647和CF647中的至少一种,且所述试剂组的制备方法包括以下步骤:

1) 稀土元素螯合物标记的抗D-二聚体单克隆抗体的制备:

取0.5-5mg/ml的抗D-二聚体单克隆抗体溶液,加入0.05-0.5mol/L的NaHCO₃溶液后,调pH至8.5-10,滴加10-100μg/ml配体化合物溶液,搅拌反应0.6-2h,分离得到配体化合物标记的抗D-二聚体单克隆抗体,加入终浓度为0.05-0.5wt%的BSA和0.01-1wt%的NaN₃,调pH至5.5-6.5,免疫分析前,加入Eu³⁺溶液,使配体化合物与Eu³⁺等摩尔浓度,即得,其中,抗D-二聚体单克隆抗体溶液、NaHCO₃溶液和配体化合物溶液的体积比为0.1-1:1:0.01-0.05;

2) 荧光化合物标记的抗D-二聚体单克隆抗体的制备:

将抗D-二聚体单克隆抗体用0.05-0.5mol/L的NaHCO₃溶液稀释至0.5-5mg/ml,加入荧光化合物溶解液,搅匀,室温孵育0.5-2h,分离得到荧光化合物标记的抗D-二聚体单克隆抗体;

3) 系列浓度的D-二聚体校准品的制备:

将D-二聚体用校准品稀释液稀释配制成系列浓度,即得,

其中,1)、2)和3)的顺序可以任意颠倒。

2. 根据权利要求1所述的均相荧光免疫试剂组,其特征在于,所述系列浓度的D-二聚体校准品由校准品稀释液稀释D-二聚体配制而成,所述校准品稀释液为含0.01-0.5wt% PEG800、1-5wt% BSA、5-20wt% 甘油、0.01-0.05wt% 表面活性剂的Tris缓冲液。

3. 根据权利要求1所述的均相荧光免疫试剂组,其特征在于,抗D-二聚体单克隆抗体在与配体化合物反应之前,先进行透析处理。

一种快速定量检测D-二聚体的均相荧光免疫试剂组及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于医学检验领域,具体涉及一种快速定量检测D-二聚体的均相荧光免疫试剂及其制备方法。

背景技术

[0002] 在血凝过程中,纤维蛋白原在凝血酶的作用下,释放出肽A、肽B后,生成纤维蛋白单体(FM),FM在钙离子及 α III因子的作用下,形成交联纤维蛋白,其在纤溶酶的作用下发生降解,降解产物之一就是D-二聚体(D-dimer,DD)。它是交联纤维蛋白的特异性降解产物,血液中D-二聚体升高,说明有纤维蛋白的形成和降解,有继发纤溶的发生。DD的含量变化可以作为体内高凝状态、血栓形成和纤溶亢进的分子标志物之一。DD反映出的特异性并不是指在某一种特定的具体疾病中的表现,而是针对有凝血和纤溶过程的这一大类疾病的共同病理特点。大量研究表明,静脉血栓栓塞病人、肺栓塞病人及深静脉血栓的病人,体内循环的D-二聚体含量明显增加。

[0003] D-二聚体在临床检验中应用的十分广泛。研究表明,发生弥漫性内出血(DIC)时,由于广泛的微血栓形成,以及继发性纤溶亢进,导致D-Dimer水平显著增高,其敏感性和特异性显著高于血小板计数、纤维蛋白原定量、纤维蛋白(原)降解产物(FDP)等筛选检测试验。急性心肌梗死及脑血栓患者急性发病时血浆D-Dimer水平明显增高,D-Dimer检测不仅可作为观察心肌梗死病情的一项指标,而且也是观察溶栓治疗的一种理想检测方法。深静脉血栓(DVT)形成时几乎所有的DVT患者D-Dimer呈阳性,血浆D-Dimer阴性可以基本排除DVT可能。D-Dimer可反映血栓大小的变化,因此可作为溶栓治疗和肝素抗凝的用药指导及疗效观察:治疗期间持续较高,说明治疗无效;含量再升高,预示血栓再发生。继发性纤溶亢进时,D-Dimer水平显著增高,原发性纤溶症时,D-Dimer不增高。陈旧性血栓形成时,D-Dimer不增高。正常妊娠后期的生理性高凝状态下,D-Dimer水平增高,孕妇血浆D-二聚体水平明显高于非孕妇女($p < 0.05$),但低于妊高征孕妇($p < 0.05$),测定血浆D-二聚体含量对妊高征患者高凝状态的诊断、疗效检测和预后判定有重要意义。组织损伤后对凝血系统的激活可使D-Dimer水平显著增高,另外,除组织损伤可以导致出现血栓形成趋势外,如果患者自身存在遗传性抗凝缺陷,或者存在风险因素的情况下,易发生静脉血栓,导致D-Dimer水平显著增高。

[0004] 目前临床检测D-二聚体的方法有自身红细胞凝集法、乳胶凝集法、酶联免疫吸附法(ELISA)、基于酶免疫法的荧光抗体检测法和免疫金标法。自身红细胞凝集法为半定量方法,其优点是可在全血中检测,省略了离心制备血浆的步骤。乳胶凝集法用于定性或根据其稀释度半定量测定标本中的D-二聚体的含量。酶联免疫吸附法(ELISA)检测D-二聚体不受胆红素、血红蛋白、纤维蛋白原、FDP干扰,因此更精确,敏感性更高。但操作要求严格费时,每次均需同时做标准曲线,不适于单个标本的测定。荧光抗体检测法是目前研究最多的一种检测方法,敏感性很高,与经典ELISA法有很好的一致性,但需要在专用的免疫分析仪上

进行,设备成本昂贵。免疫金标法通过肉眼观察或用折射仪读数。与提供的标准色价或者测定标准品的折射读数,可计算出标本中D-二聚体的含量。该法既具有胶乳凝集法的操作简单、快速,适用于急诊测定的优点,不受胆红素、Hb、纤维蛋白原、可溶性的纤维蛋白及FDP等干扰,但对类风湿因子、肝素及脂血等有一定的干扰。

[0005] 均相荧光分析法(homogeneous fluoroimmunoassay, HF1A)是在时间分辨荧光免疫分析(time-resolved fluoroimmunoassay, TRF1A)技术的基础上形成的一种新的荧光免疫分析技术。TRF1A技术采用的荧光物质与传统的荧光染料完全不同,采用的是镧系元素铕(Eu)、铽(Tb)等作为荧光材料,灵敏度非常高,稳定性好,低温条件可保存三年,因而成为二十一世纪最热门的免疫分析技术。

[0006] 均相荧光免疫检测法是用同一抗原的两个抗体分别标记 Eu^{3+} 和荧光染料Alexa647。 Eu^{3+} 标记抗体在游离状态时,受到340nm光线激发,只发射平均波长为615nm荧光,而在抗原、抗体复合物形成时,发生能量传递,激发荧光染料Alexa647发射出665nm荧光。标记抗体直接与待测样品进行抗原、抗体反应,如果能形成抗原、抗体复合物,则在665nm出可测得荧光信号。这种方法省却了酶联免疫法反复孵育和洗板等烦琐操作步骤,几分钟就能获得结果,省时省力。并且,此法也相应地避免了许多人为操作因素和试剂、环境等外界因素的干扰,稳定性和重复性都较好,能较真实地反映被测物质的含量。此外, Eu^{3+} 和Alexa647这对荧光物质的最大发射光波长之间相差较大,未发生抗原抗体反应的本底荧光值就非常低。而人血清中非特异性物质产生的300~500nm荧光,不能激发Alexa647发射荧光信号650nm激发光。因此非特异性荧光非常低。

[0007] 本发明采用均相荧光免疫快速检测技术,利用荧光的高灵敏特点,同样也避免了胶体金或者荧光D-Dimer干式免疫试纸中的硝酸纤维素膜本身孔隙不均一特性对检测准确度和重复性的不良影响。由于均相荧光免疫检测中样品与荧光标记抗体全过程都在液相中全面接触,反应充分,因此可大幅度提高检测灵敏度和线性范围,同时反应在液相进行也增加了样品的稀释倍数,消除了样品的基质效应影响,使定量结果有很好的可重复性,提高了定量结果的精密度和准确度,可满足临床诊断大规模检测的要求。

发明内容

[0008] 本发明的目的在于克服现有D-Dimer检测技术的不足,提供一种快速定量检测D-Dimer的均相荧光免疫试剂组。本发明根据荧光免疫技术特点和D-Dimer抗原抗体系统特点,设计新的原材料,试剂和工艺流程,应用本发明提供的试剂组检测D-Dimer水平,具有简单,快速,灵敏和特异性好等特点,可同时定量检测高值和低值样品,并且性价比高,适用于临床快速检测。

[0009] 本发明的第一个方面是提供一种快速定量检测D-二聚体的均相荧光免疫试剂组,包括稀土元素螯合物标记的抗D-二聚体单克隆抗体(anti-DD)、近红外荧光化合物标记的抗D-二聚体单克隆抗体和系列浓度的D-二聚体校准品。

[0010] 优选地,稀土元素螯合物为 Eu^{3+} 螯合物。

[0011] 更优选地,稀土元素螯合物为BHHCT- Eu^{3+} 或1,2-二(1'',1'',1'',2'',2'',3'',3''-七氟-4'',6''-己二酮-6''-基-对苄基)-4-氯磺酰基苯与铕(III)的配合物(BHHBCB- Eu^{3+})。

[0012] 优选地,所述近红外荧光化合物为Alexa系列近红外荧光化合物、DyLight系列近

红外荧光化合物和CF系列近红外荧光化合物中的至少一种。

[0013] 更优选地,所述近红外荧光化合物Alexa647、DyLight-DY647和CF647中的至少一种。

[0014] 优选地,所述系列浓度的D-二聚体校准品由校准品稀释液稀释D-二聚体配制而成,所述校准品稀释液为含0.01-0.5wt% PEG800、1-5wt% BSA、5-20wt% 甘油、0.01-0.05wt% 表面活性剂的Tris缓冲液。

[0015] D-二聚体校准品可用塑料瓶密封包装。

[0016] 本发明的第二个方面是提供本发明第一个方面所述的均相荧光免疫试剂组的制备方法,包括以下步骤:

[0017] 1)稀土元素螯合物标记的抗D-二聚体单克隆抗体的制备:

[0018] 取0.5-5mg/ml的抗D-二聚体单克隆抗体溶液,加入0.05-0.5mol/L的NaHCO₃溶液后,调pH至8.5-10,滴加10-100μg/ml配体化合物溶液,搅拌反应0.6-2h,分离得到配体化合物标记的抗D-二聚体单克隆抗体,加入终浓度为0.05-0.5wt%的BSA和0.01-1wt%的NaN₃,调pH至5.5-6.5,免疫分析前,加入Eu³⁺溶液,使配体化合物与Eu³⁺等摩尔浓度,即得,其中,抗D-二聚体单克隆抗体溶液、NaHCO₃溶液和配体化合物溶液的体积比为0.1-1:1:0.01-0.05;

[0019] 2)近红外荧光化合物标记的抗D-二聚体单克隆抗体的制备:

[0020] 将抗D-二聚体单克隆抗体用0.05-0.5mol/L的NaHCO₃溶液稀释至0.5-5mg/ml,加入近红外荧光化合物溶解液,搅匀,室温孵育0.5-2h,分离得到近红外荧光化合物标记的抗D-二聚体单克隆抗体;

[0021] 3)系列浓度的D-二聚体校准品的制备:

[0022] 将D-二聚体用校准品稀释液稀释配制成系列浓度,即得,

[0023] 其中,1)、2)和3)的顺序可以任意颠倒。

[0024] 其中,稀土元素螯合物标记的抗D-二聚体单克隆抗体用于免疫分析时,用标记物稀释液稀释使用,2-8℃分装保存。

[0025] 其中,近红外荧光化合物标记的抗D-二聚体单克隆抗体用磷酸盐缓冲液稀释,2-6℃保存。

[0026] 其中,D-二聚体校准品2-6℃保存。

[0027] 优选地,抗D-二聚体单克隆抗体在于配体化合物反应之前,先进行透析处理。

[0028] 优选地,步骤1)中配体化合物为BHHCT或BHHBCB。

[0029] 优选地,步骤1)中分离得到配体化合物标记的anti-D-Dimer通过离心和柱层析方式进行。柱层析采用SephadexG-50柱,0.01-0.1mol/L NH₄HCO₃(pH8.0)洗脱。

[0030] 优选地,步骤2)中,分离得到近红外荧光化合物标记的anti-D-Dimer通过柱层析的方式进行。

[0031] 进一步优选地,步骤2)中,柱层析采用G25凝胶柱。

[0032] 优选地,步骤2)中,室温孵育时,每隔10-20min混匀一次。

[0033] 本发明的均相荧光免疫试剂的使用:先将稀土元素螯合物标记的anti-D-Dimer溶液加入反应微孔中,再加入近红外荧光化合物标记的anti-D-Dimer溶液,最后分别加入D-Dimer校准品和临床检测样品,37℃反应20分钟后,用均相荧光免疫分析仪检测判读结果。

[0034] 本发明提供的快速定量检测D-二聚体的均相荧光免疫试剂组,其反应原理为双抗体夹心法的均相荧光免疫法。待测样品与适当比例的稀土元素(例如 Eu^{3+})和荧光标记抗体在液相均质介质中充分混和均匀,在此过程中样品中的D-Dimer既能专一性地与稀土元素标记的抗D-Dimer抗体充分结合,也能与荧光标记的D-Dimer抗体充分反应,形成“稀土元素-anti-DD-DD-anti-DD-荧光化合物”免疫复合物,荧光强度可用专用均相荧光免疫分析仪器定量测定,荧光强度与样品中D-Dimer浓度成正比。

[0035] 本发明可同时检测高值和低值D-Dimer,尤其是低值D-Dimer,且成本低廉,操作简单、快速、灵敏,且特异性好,只需要配套专用均相荧光免疫检测仪,因此可广泛应用于各级医疗检验场所,尤其是基层医疗机构,包括乡镇卫生院等均可开展,对于心脑血管事件发生的预防有极为重要的意义。

附图说明

[0036] 图1为本发明的一种实施例的作用原理图,其中,1:Eu³⁺标记anti-DD,2:Alexa647标记anti-DD,3:校准品或待测样本中D-Dimer,4:Eu³⁺-anti-DD-DD-anti-DD-Alexa647免疫复合物;

[0037] 图2为D-Dimer浓度的标准曲线;

[0038] 图3为D-Dimer相关性分析曲线。

具体实施方式

[0039] 下面参照附图,结合具体的实施例对本发明做进一步的说明,以更好地理解本发明。其中,下述内容中若无特别规定物质浓度均为质量百分比浓度。

[0040] 实施例1

[0041] 1、标记用anti-DD的准备:

[0042] 选用纯化的基因工程表达的抗D-二聚体单克隆抗体。Eu³⁺标记用抗D-二聚体单克隆抗体商品编号为DD1;荧光素标记用抗D-二聚体单克隆抗体商品编号为DD4和DD6。

[0043] 2、稀土元素螯合物标记anti-DD的制备:

[0044] 用3L 0.9%NaCl于4℃透析鼠抗人D-Dimer单抗DD1溶液(3mg/ml)两次,每次24hr。加水调浓度至1.5mg/ml。取0.6ml该抗体溶液,加入1ml NaHCO₃(0.2mol/L),并用1mol/L NaOH调pH至9.1。将20μl BHHCT甲醇溶液(30μg/ml)滴加到搅拌下的抗体溶液中,并继续搅拌反应1hr。离心(10000rpm,10min)除去不溶物后,上SephadexG-50柱,用0.05mol/L NH₄HCO₃(pH8.0)洗脱,分离标记蛋白质和游离的标记物。紫外/可见分光光度计检测各收集液的A₃₃₀值,合并含有标记抗体的溶液。加入终浓度为0.1%的BSA和0.05%的NaN₃,用1mol/L HCl调pH至6.2。分装后-20℃储存备用。用于免疫分析前,加入EuCl₃溶液(BHHCT与Eu³⁺等摩尔浓度)。用于免疫分析时,用标记物稀释液稀释使用,2-8℃分装保存。

[0045] 3、Alexa647标记抗体的制备:

[0046] 将抗D-Dimer单克隆抗体DD4、DD6,分别用0.1M碳酸氢钠溶液稀释至1mg/ml,各取5ml抗体溶液,分别加入30mg荧光素Alexa647溶解液,搅匀,室温孵育1小时,每隔15分钟混匀一次。最后用G25凝胶柱过柱分离纯化,收集标记好的荧光素标记抗体,用含0.02% PEG800、2.5%BSA、5%甘油、0.01%表面活性剂的0.01M磷酸盐缓冲液稀释,用塑料瓶密封

包装,于4℃保存。

[0047] 4、系列浓度D-Dimer校准品的制备:

[0048] 用含0.05%PEG、2.5%BSA、10%甘油、0.025%表面活性剂的0.01M磷酸盐缓冲液,按照0mg/L、500ng/ml、2500ng/ml、5000ng/ml、10000ng/ml的浓度稀释溶解D-Dimer纯品,混匀后于4℃保存。

[0049] 实施例2

[0050] 本实施例的制备方法与实施例1基本相同,不同点在于:

[0051] 步骤2中,稀土元素螯合物标记anti-D-Dimer的制备方法是:用3L0.9%NaCl于4℃透析鼠抗人D-Dimer溶液(3mg/ml)两次,每次24hr。加水调浓度至1.5mg/ml。取0.6ml该抗体溶液,加入1ml NaHCO₃(0.2mol/L),并用1mol/L NaOH调pH至9.1。将20μl BHHBCB甲醇溶液(30μg/ml)滴加到搅拌下的抗体溶液中,并继续搅拌反应1hr。离心(10000rpm,10min)除去不溶物后,上SephadexG-25柱,用0.05mol/L NH₄HCO₃(pH8.0)洗脱,分离标记蛋白质和游离的标记物。紫外/可见分光光度计检测各收集液的A₃₃₀值,合并含有标记抗体的溶液。加入终浓度为0.1%的BSA和0.05%的NaN₃,用1mol/LHCl调pH至6.2。分装后-20℃储存备用。用于免疫分析前,加入EuCl₃溶液(BHHBCB与Eu³⁺等摩尔浓度)。用于免疫分析时,用标记物稀释液稀释使用,2-8℃分装保存。

[0052] 实施例3

[0053] 本实施例的制备方法与实施例1基本相同,不同点在于:

[0054] 步骤3中,将抗D-Dimer单克隆抗体DD4、DD6,分别用0.1M碳酸氢钠溶液稀释至1mg/ml,各取5ml抗体溶液,分别加入40mg荧光素DyLight-DY647溶解液,搅匀,室温孵育1.5小时,每隔15分钟混匀一次。最后用G25凝胶柱过柱分离纯化,收集标记好的荧光素标记抗体,用含0.025%PEG600、2.5%BSA、10%甘油、0.03%表面活性剂的0.01M磷酸盐缓冲液稀释,用塑料瓶密封包装,于4℃保存。

[0055] 实施例4

[0056] 本实施例的制备方法与实施例1基本相同,不同点在于:

[0057] 步骤3中,将抗D-Dimer单克隆抗体DD4、DD6,分别用0.1M碳酸氢钠溶液稀释至1mg/ml,各取5ml抗体溶液,分别加入50mg荧光素CF647溶解液,搅匀,室温孵育2小时,每隔15分钟混匀一次。最后用G25凝胶柱过柱分离纯化,收集标记好的荧光素标记抗体,用含0.035%PEG600、5.5%BSA、8%甘油、0.025%表面活性剂的0.01M磷酸盐缓冲液稀释,用塑料瓶密封包装,于4℃保存。

[0058] 实施例5

[0059] 在临床检测中,实验步骤为:先将50μl的稀土元素螯合物标记anti-D-Dimer溶液加入反应微孔中,再加入50μl的近红外荧光化合物标记的anti-D-Dimer溶液,最后分别加入50μl的D-Dimer校准品、临床检测样品,37℃反应20分钟后,用均相荧光免疫分析仪检测判读结果。

[0060] 实施例6

[0061] 用专用的均相荧光免疫分析仪检测荧光强度,各浓度校准品检测结果如下:

[0062]

D-Dimer浓度(ng/ml)	0	500	2500	5000	10000
------------------	---	-----	------	------	-------

相对荧光强度	623	1078	2856	4937	8364
--------	-----	------	------	------	------

[0063] 依据相对荧光强度数据,制作D-Dimer的标准曲线,见图2。D-Dimer的标准曲线计算公式为 $Y=0.7753X+780.37$, $R^2=0.9961$ 。

[0064] 实施例7

[0065] 采用本发明实施例1,用专用的均相荧光免疫分析仪检测51例临床冠心病患者血清样本,同步采用瑞士Roche公司的电化学法D-Dimer试剂进行对比检测,进行相关性分析,见图3,结果说明本研究方法与以上市产品检测结果一致,具有临床等效性。实施例2-4的临床试验结果与实施例1一致。

[0066] 以上对本发明的具体实施例进行了详细描述,但其只是作为范例,本发明并不限制于以上描述的具体实施例。对于本领域技术人员而言,任何对本发明进行的等同修改和替代也都在本发明的范畴之中。因此,在不脱离本发明的精神和范围下所作的均等变换和修改,都应涵盖在本发明的范围内。

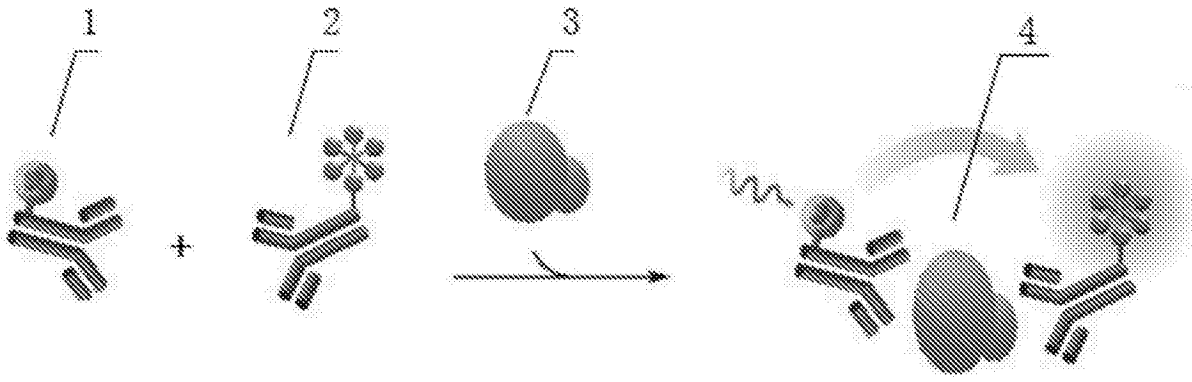


图1

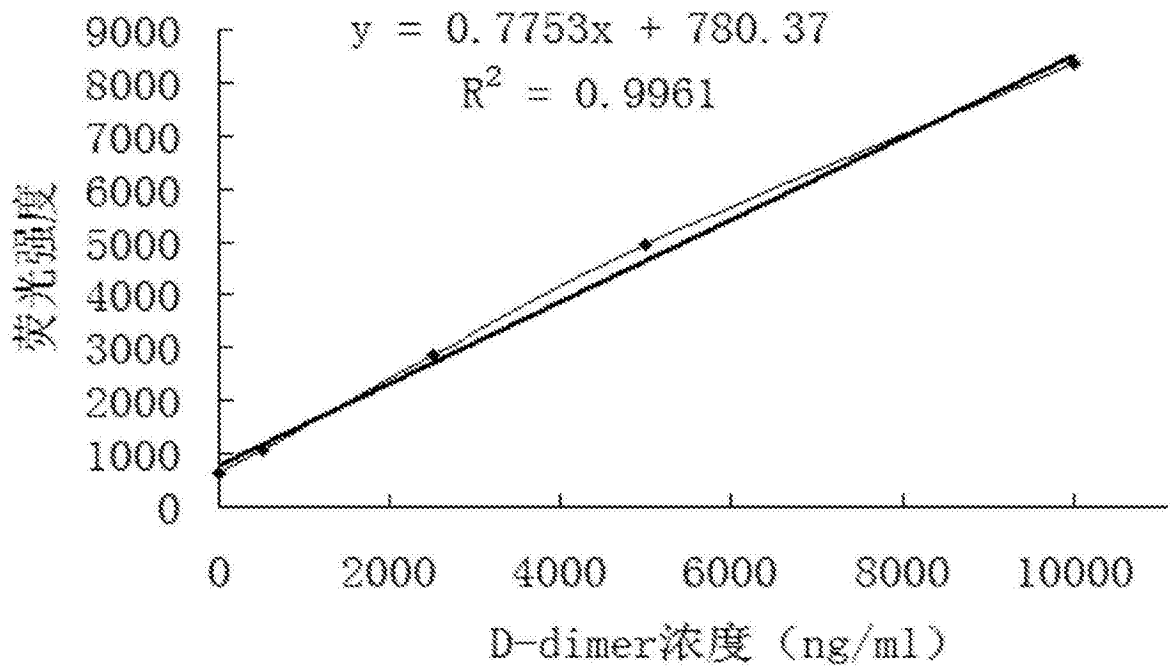


图2

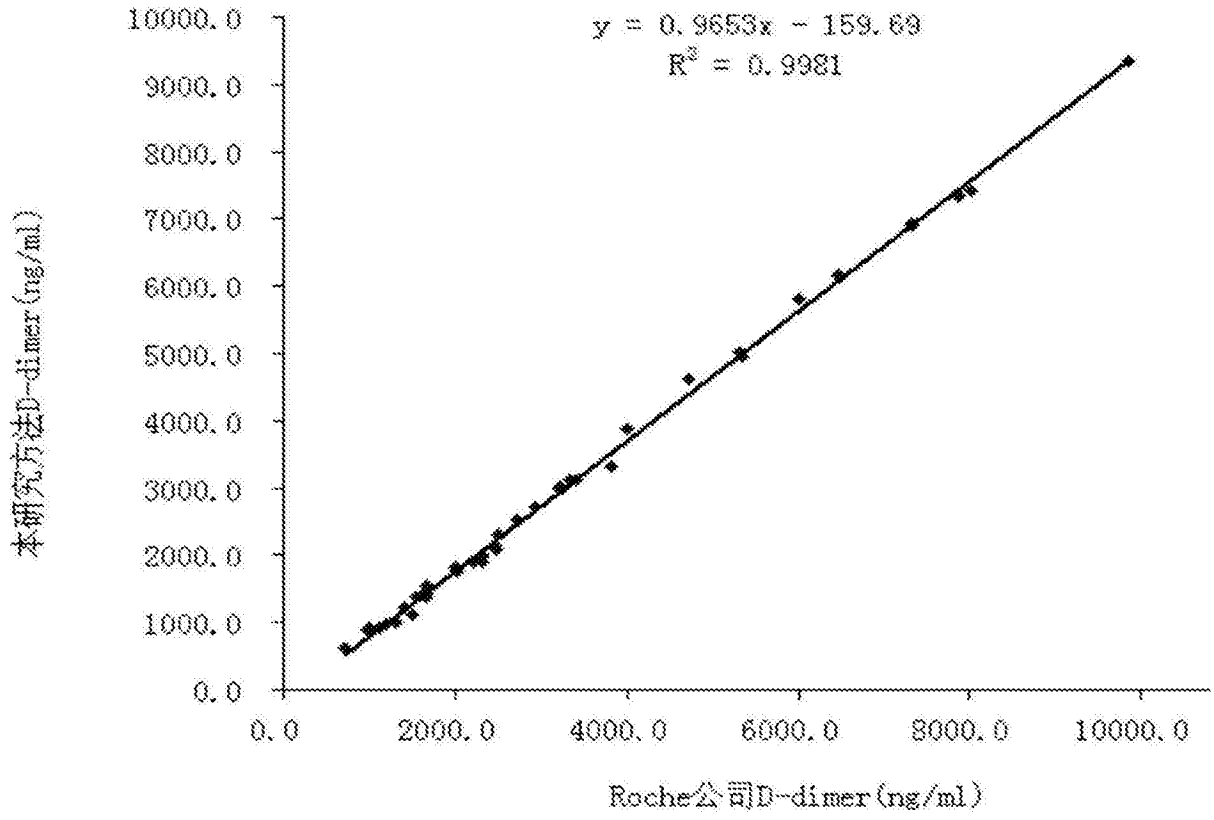


图3

专利名称(译)	一种快速定量检测D-二聚体的均相荧光免疫试剂组及其制备方法		
公开(公告)号	CN104569410B	公开(公告)日	2017-01-11
申请号	CN201510003917.1	申请日	2015-01-04
[标]申请(专利权)人(译)	深圳市艾瑞生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	深圳市艾瑞生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	深圳市艾瑞生物科技有限公司		
[标]发明人	谢爱武		
发明人	谢爱武		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/577		
代理人(译)	朱广存		
审查员(译)	周洋		
其他公开文献	CN104569410A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种快速定量检测D-二聚体的均相荧光免疫试剂组及其制备方法。本发明所述的快速定量检测D-二聚体的均相荧光免疫试剂组，包括稀土元素螯合物标记的抗D-二聚体单克隆抗体(anti-DD)、近红外荧光化合物标记的抗D-二聚体单克隆抗体和系列浓度的D-二聚体校准品。本发明可同时检测高值和低值D-dimer，尤其是低值D-dimer，且成本低廉，操作简单、快速、灵敏，且特异性好，只需要配套专用均相荧光免疫检测仪，因此可广泛应用于各级医疗检验场所，尤其是基层医疗机构，包括乡镇卫生院等均可开展，对于心脑血管事件发生的预防有极为重要的意义。

