



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105738617 B

(45)授权公告日 2018.05.04

(21)申请号 201610201530.1

审查员 张绚

(22)申请日 2016.04.01

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105738617 A

(43)申请公布日 2016.07.06

(73)专利权人 武汉生之源生物科技股份有限公司

地址 430206 湖北省武汉东湖开发区高新大道818号高科医疗器械园B11号2楼

(72)发明人 华权高 来祥兵 徐春雷

(74)专利代理机构 北京华沛德权律师事务所
11302

代理人 房德权

(51)Int.Cl.

G01N 33/539(2006.01)

权利要求书1页 说明书11页

(54)发明名称

一种胱抑素C胶乳增强比浊检测试剂盒及其用途

(57)摘要

本发明提供了一种胱抑素C胶乳增强比浊检测试剂盒及其用途,所述试剂盒包括试剂R1和试剂R2,所述试剂R1包括缓冲液,无机盐,表面活性剂,防腐剂,稳定剂及干扰消除蛋白;所述试剂R2包括缓冲液,无机盐,表面活性剂,防腐剂,稳定剂及聚苯乙烯胶乳颗粒混合物;所述聚苯乙烯胶乳颗粒混合物交联有抗胱抑素C抗体;本发明所述试剂盒基于胶乳增强免疫透射比浊法(PETIA),可普遍用于各类全自动生化分析仪分析,使用时所需的测定时间短,特异性好,精密度高,准确度高。

1. 一种胱抑素C胶乳增强比浊检测试剂盒,其特征在于:包括试剂R1和试剂R2,所述试剂R1的各组分及含量分别为:

2-(N-吗啡啉)乙磺酸	9.5-25 g/L
月桂酸聚氧乙烯酯	2-7 g/L
氯化钠	5-15g/L
鸡卵清蛋白	1-5g/L
酪素	1-5g/L
Proclin300	0.1-0.5g/L
干扰消除蛋白	0.1-1%

余量为去离子水;

所述试剂R2的各组分及含量分别为:

2-(N-吗啡啉)乙磺酸	9.5-25 g/L
氯化钠	5-15g/L
月桂酸聚氧乙烯酯	2-7 g/L
鸡卵清蛋白	1-5g/L
酪素	1-5g/L
Proclin300	0.1-0.5g/L
干扰消除蛋白	0.1-1%
聚苯乙烯胶乳颗粒混合物	0.4-0.6%

余量为去离子水;

所述聚苯乙烯胶乳颗粒混合物交联有抗胱抑素C抗体;

所述聚苯乙烯胶乳颗粒混合物为大直径聚苯乙烯胶乳颗粒和小直径聚苯乙烯胶乳颗粒的混合物,所述大直径聚苯乙烯胶乳颗粒平均粒径为400nm~600nm,所述小直径聚苯乙烯胶乳平均粒径为16nm~32nm,大直径聚苯乙烯胶乳颗粒与小直径聚苯乙烯胶乳颗粒的配比为(1-3):(7-9)。

2. 根据权利要求1所述的胱抑素C胶乳增强比浊检测试剂盒,其特征在于:所述试剂盒还包括胱抑素C试剂的参考标准品,所述参考标准品为添加人重组胱抑素C蛋白的人血清。

3. 根据权利要求2所述的胱抑素C胶乳增强比浊检测试剂盒,其特征在于:所述胱抑素C试剂的参考标准品有5个浓度,分别为0.5mg/L,1mg/L,2mg/L,4mg/L及8mg/L。

一种胱抑素C胶乳增强比浊检测试剂盒及其用途

技术领域

[0001] 本发明涉及免疫学测定分析领域,特别涉及一种胱抑素C胶乳增强比浊检测试剂盒及其用途。

背景技术

[0002] 自从1985年以来,胱抑素C(cystatin C)已被视为检测肾功能的良好标志物,由于其不受许多生理病理因素的影响,同肾小球滤过率(GFR)的其他标志物相比具有众多优越性。cystatin C在一系列生理病理过程中也发挥着作用,有重要的临床意义。胱抑素C是一种由CST3基因编码的蛋白质,是用于肾功能诊断的良好的标志物,存在于体内的所有核细胞中。胱抑素C可自由滤过肾小球膜,是指示肾小球率过滤(GFR)功能的重要标志。

[0003] 免疫测定技术的发展可回溯至20世纪中期,此时测量液相免疫凝集致光密度变化的光学技术得以发展。20世纪70年代起出现了微量免疫沉淀测定法,即免疫透射比浊测定和免疫散射比浊测定,自此免疫比浊测定逐渐被广泛应用于临床体液中蛋白质含量检测的领域。免疫透射比浊测定技术被广泛使用在全自动生化分析仪上,免疫散射比浊测定则依托于特定蛋白仪,都实现了高速、灵敏和自动化。

[0004] 目前比较常用的是胶体金免疫层析法,但此方法敏感性不好,重复性不好,只能用于定性检测,对于临床病人的疗效观察有局限性。胶乳颗粒增强比浊法是目前较准确,稳定的检测方法。透射比浊法(Turbidimetry):一束光线通过带有微小粒子的悬浮液和胶体溶液时,此溶液受到光散射和光吸收两个因素影响可使光的强度减弱,减弱的程度与溶液中微小粒子的含量成正比,通过测量透射光强度,推导出溶液中待测物质的浓度。以检测抗原为例,在反应液中抗体量足够的情况下,待测抗原越多,形成的抗原抗体复合物也越多,透射光的强度减弱越多,同时与其它物理因素,如抗原抗体反应时间、光源强弱和波长、光检测器与反应杯间的距离等密切相关。但目前的工艺也存在着精密度不好线性相关性不强的问题。

发明内容

[0005] 针对现有技术中的上述问题,本发明提供了一种胱抑素C胶乳增强比浊检测试剂盒及其用途,所述试剂盒基于胶乳增强免疫透射比浊法(PETIA),可普遍用于各类全自动生化分析仪分析,使用时所需的测定时间短,特异性好,精密度高,准确度好。

[0006] 为了达到上述目的,本发明采用如下技术方案:一种胱抑素C胶乳增强比浊检测试剂盒,包括试剂R1和试剂R2,所述试剂R1包括缓冲液,无机盐,表面活性剂,防腐剂,稳定剂及干扰消除蛋白;所述试剂R2包括缓冲液,无机盐,表面活性剂,防腐剂,稳定剂及聚苯乙烯胶乳颗粒混合物;所述聚苯乙烯胶乳颗粒混合物交联有抗胱抑素C抗体;

[0007] 所述聚苯乙烯胶乳颗粒混合物为大直径聚苯乙烯胶乳颗粒和小直径聚苯乙烯胶乳颗粒的混合物,所述大直径聚苯乙烯胶乳颗粒平均粒径为400nm~600nm,所述小直径聚苯乙烯胶乳平均粒径为16nm~32nm,大直径聚苯乙烯胶乳颗粒:小直径聚苯乙烯胶乳颗粒

= (1-3) : (7-9)。

[0008] 作为进一步的优选,所述大直径聚苯乙烯胶乳颗粒和小直径聚苯乙烯胶乳颗粒上都交联有抗胱抑素C多克隆抗体。所述试剂R2中聚苯乙烯胶乳颗粒交联抗胱抑素C抗体的制备方法为化学交联法,具体为抗胱抑素C抗体序列中的氨基残基与活化后的聚苯乙烯胶乳颗粒表面羧基通过EDC进行化学交联。

[0009] 作为进一步的优选,所述试剂R1的各组分及含量为:

[0010] 缓冲液30~120mmol/L

[0011] 无机盐80~300mmol/L

[0012] 表面活性剂3~10mmol/L

[0013] 防腐剂0.01%~1.0%

[0014] 干扰消除蛋白0.5~1%

[0015] 稳定剂1~10%。

[0016] 以试剂R1的质量作为基础,百分比为质量百分比。

[0017] 作为进一步的优选,所述试剂R2的各组分及含量为:

[0018] 缓冲液30~120mmol/L

[0019] 无机盐80~300mmol/L

[0020] 表面活性剂3~10mmol/L

[0021] 防腐剂0.01%~1.0%

[0022] 稳定剂1~10%

[0023] 聚苯乙烯胶乳颗粒混合物0.1-1%。

[0024] 以试剂R2的质量作为基础,百分比为质量百分比。

[0025] 作为进一步的优选,所述缓冲液为3-吗啉-2-羟基丙磺酸(MOPSO)、2-(N-吗啡啉)乙磺酸(MES)、4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES)、3-[N-N-双(2-羟乙基)氨基]-2-羟基丙磺酸(DIPSO)、N-三(羟甲基)甲氨基-2-羟基丙磺酸(TAPSO)、N-2-羟乙基哌嗪-N'-3-丙磺酸(HEPPS)和3-(三(羟甲基)氨基)-1-丙磺酸(TAPS)中的一种或多种;所述表面活性剂为脂肪醇聚氧乙烯醚,辛基酚聚氧乙烯醚,硬脂酸聚氧乙烯酯,月桂酸聚氧乙烯酯,油酸聚氧乙烯酯和十二胺聚氧乙烯醚中的一种或多种;所述稳定剂为蛋白质、无机盐、金属络合剂和抗氧化剂中的一种或多种;所述干扰消除蛋白为Scantibodies公司的HBR阻断剂;所述无机盐为氯化钠,氯化钾及硫酸镁中的一种或多种;所述防腐剂为叠氮钠、硫柳汞和ProClin-300中的一种或多种。

[0026] 作为进一步的优选,所述稳定剂为鸡卵清蛋白和酪素(酪蛋白)。

[0027] 作为进一步的优选,所述试剂R1的各组分及含量分别为:

	2-(N-吗啡啉)乙磺酸	9.5-25 g/L
	月桂酸聚氧乙烯酯	2-7 g/L
	氯化钠	5-15g/L
[0028]	鸡卵清蛋白	1-5g/L
	酪素	1-5g/L
	Proclin300	0.1-0.5g/L
	干扰消除蛋白	0.1-1%
	余量为去离子水。	

[0029] 作为进一步的优选,所述试剂R2的各组分及含量分别为:

[0030]	2-(N-吗啡啉)乙磺酸	9.5-25 g/L
	氯化钠	5-15g/L
	月桂酸聚氧乙烯酯	2-7 g/L
	鸡卵清蛋白	1-5g/L
	酪素	1-5g/L

[0031]	Proclin300	0.1-0.5g/L
	干扰消除蛋白	0.1-1%
	聚苯乙烯胶乳颗粒混合物	0.4-0.6%

余量为去离子水。

[0032] 作为进一步的优选,所述2-(N-吗啡啉)乙磺酸(MES)的pH值为5.5-6.7。

[0033] 作为进一步的优选,所述试剂盒还包括胱抑素C试剂的参考标准品,所述参考标准品为添加人重组胱抑素C蛋白的人血清或者类似血清基质的液体。

[0034] 作为进一步的优选,所述人重组胱抑素C蛋白由毕赤酵母表达、经过亲和离子交换纯化后得到。

[0035] 作为进一步的优选,所述胱抑素C试剂的参考标准品有5个浓度,分别为0.5mg/L, 1mg/L, 2mg/L, 4mg/L, 8mg/L。

[0036] 如上所述的胱抑素C胶乳增强比浊检测试剂盒在检测血清中胱抑素C含量的用途。

[0037] 综上所述,本发明的有益效果如下:

[0038] (1)、本发明试剂盒利用胶乳增强免疫透射比浊法测定胱抑素C,放大了检测信号,提高了检测灵敏度,缩短了检测时间。

[0039] (2)、本发明采用混合粒径的胶乳试剂,其中小粒径的胶乳颗粒比例大,提高了线性;同时含有一定比例的大粒径的胶乳颗粒,灵敏度也比较高。

[0040] (3)、本发明试剂盒特别加入了防止干扰的物质,抗干扰性能好。同时,表面活性剂的添加也提高了精密度。

[0041] (4)、使用全自动生化分析仪测定抗胱抑素C抗体,不仅使操作更为简便,提高自动

化程度,而且还节约了少量样品检测实验的经济成本。全自动生化分析仪在多批次对少量样品进行检测,和单批次对大量样品检测的成本几乎相同;因此,全自动生化分析仪可以用于对少量样品的检测,并且不提高经济成本。

具体实施方式

[0042] 本发明通过提供一种胱抑素C胶乳增强比浊检测试剂盒及其用途,所述试剂盒基于胶乳增强免疫透射比浊法(PETIA),可普遍用于各类全自动生化分析仪分析,使用时所需的测定时间短,特异性好,精密度高,准确度高。

[0043] 为了更好的理解上述技术方案,下面将结合具体的实施方式对上述技术方案做详细的说明。

[0044] 本申请实施例胱抑素C胶乳增强比浊检测试剂盒,包括试剂R1和试剂R2,所述试剂R1包括缓冲液,无机盐,表面活性剂,防腐剂,稳定剂及干扰消除蛋白;所述试剂R2包括缓冲液,无机盐,表面活性剂,防腐剂,稳定剂及聚苯乙烯胶乳颗粒混合物;

[0045] 所述聚苯乙烯胶乳颗粒混合物为大直径聚苯乙烯胶乳颗粒和小直径聚苯乙烯胶乳颗粒的混合物,所述大直径聚苯乙烯胶乳颗粒平均粒径为400nm~600nm,所述小直径聚苯乙烯胶乳平均粒径为16nm~32nm,大直径聚苯乙烯胶乳颗粒:小直径聚苯乙烯胶乳颗粒=(1-3):(7-9)。

[0046] 所述聚苯乙烯胶乳颗粒混合物交联有抗胱抑素C抗体;所述大直径聚苯乙烯胶乳颗粒和小直径聚苯乙烯胶乳颗粒上都交联有抗胱抑素C多克隆抗体。所述聚苯乙烯胶乳颗粒交联抗胱抑素C抗体的制备方法为化学交联法,具体为抗胱抑素C抗体序列中的氨基残基与活化后的聚苯乙烯胶乳颗粒表面羧基通过EDC进行化学交联。

[0047] 所述试剂R1的各组分及含量分别为:

[0048] 缓冲液30~120mmoI/L

[0049] 无机盐80~300mmoI/L

[0050] 表面活性剂3~10mmoI/L

[0051] 防腐剂0.01%~1.0%

[0052] 干扰消除蛋白0.5~1%

[0053] 稳定剂1~10%。

[0054] 以试剂R1的质量作为基础,百分比为质量百分比。

[0055] 所述试剂R2的各组分及含量为:

[0056] 缓冲液30~120mmoI/L

[0057] 无机盐80~300mmoI/L

[0058] 表面活性剂3~10mmoI/L

[0059] 防腐剂0.01%~1.0%

[0060] 稳定剂1~10%

[0061] 聚苯乙烯胶乳颗粒混合物0.1-1%。

[0062] 以试剂R2的质量作为基础,百分比为质量百分比。

[0063] 所述缓冲液为3-吗啉-2-羟基丙磺酸(MOPSO)、2-(N-吗啡啉)乙磺酸(MES)、4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES)、3-[N-N-双(2-羟乙基)氨基]-2-羟基丙磺酸(DIPSO)、N-三(羟甲基)

甲氨基-2-羟基丙磺酸 (TAPSO)、N-2-羟乙基哌嗪-N'-3-丙磺酸 (HEPPS) 和3-(三(羟甲基)甲基)氨基-1-丙磺酸 (TAPS) 中的一种或多种;所述表面活性剂为脂肪醇聚氧乙烯醚,辛基酚聚氧乙烯醚,硬脂酸聚氧乙烯酯,月桂酸聚氧乙烯酯,油酸聚氧乙烯酯和十二胺聚氧乙烯醚中的一种或多种;所述稳定剂为蛋白质、无机盐、金属络合剂和抗氧化剂中的一种或多种;所述干扰消除蛋白为Scantibodies公司的HBR阻断剂;所述无机盐为氯化钠,氯化钾及硫酸镁中的一种或多种;所述防腐剂为叠氮钠、硫柳汞和Proclin-300中的一种或多种。

[0064] 所述稳定剂优选为鸡卵清蛋白和酪素(酪蛋白)。

[0065] 具体的,所述试剂R1的各组分及浓度范围分别为:

2-(N-吗啡啉)乙磺酸	9.5-25 g/L
月桂酸聚氧乙烯酯	2-7 g/L
氯化钠	5-15g/L
鸡卵清蛋白	1-5g/L
酪素	1-5g/L
Proclin300	0.1-0.5g/L
干扰消除蛋白	0.1-1%
余量为去离子水。	

[0067] 具体的,所述试剂R2的各组分及浓度范围分别为:

2-(N-吗啡啉)乙磺酸 9.5-25 g/L

[0068] 氯化钠 5-15g/L

月桂酸聚氧乙烯酯 2-7 g/L

鸡卵清蛋白 1-5g/L

酪素 1-5g/L

[0069] Proclin300 0.1-0.5g/L

干扰消除蛋白 0.1-1%

聚苯乙烯胶乳颗粒混合物 0.4-0.6%

余量为去离子水。

[0070] 所述2-(N-吗啡啉)乙磺酸(MES)的pH值为5.5-6.7。

[0071] 所述试剂盒还包括胱抑素C试剂的参考标准品,所述参考标准品为添加人重组胱抑素C蛋白的人血清或者类似血清基质的液体。

[0072] 所述人重组胱抑素C蛋白由毕赤酵母表达、经过亲和离子交换纯化后得到。

[0073] 所述胱抑素C试剂的参考标准品有5个浓度,分别为0.5mg/L,1mg/L,2mg/L,4mg/L,8mg/L。

[0074] 实施例1

[0075] 所述试剂R1的各组分及浓度范围为:

- | | | |
|--------|---|----------|
| | 2-(N-吗啡啉)乙磺酸 | 19.5 g/L |
| | 氯化钠 | 12.5g/L |
| | 鸡卵清蛋白 | 3.2g/L |
| [0076] | 月桂酸聚氧乙烯酯 | 5g/L |
| | 酪素 | 4g/l |
| | Proclin300 | 0.3g/L |
| | 干扰消除蛋白 | 0.5% |
| | 余量为去离子水。 | |
| [0077] | 所述试剂R2的各组分及浓度范围为： | |
| | 2-(N-吗啡啉)乙磺酸 | 19.5 g/L |
| | 氯化钠 | 12.5g/L |
| [0078] | 鸡卵清蛋白 | 3.2g/L |
| | 月桂酸聚氧乙烯酯 | 5 g/L |
| | 酪素 | 4g/L |
| | Proclin300 | 0.3g/L |
| | 干扰消除蛋白 | 0.5% |
| [0079] | 偶联抗胱抑素 C 抗体的胶乳 | 0.55% |
| | 大直径聚苯乙烯胶乳颗粒:小直径聚苯乙烯胶乳颗粒=3:7; | |
| | 余量为去离子水。 | |
| [0080] | 试剂R1为无色透明溶液,试剂R2为均一的乳白色溶液,胱抑素C试剂的参考校准品也为无色透明溶液。 | |
| [0081] | 实施例2 | |
| [0082] | 所述试剂R1的各组分及浓度范围为： | |
| | 2-(N-吗啡啉)乙磺酸 | 9.5 g/L |
| | 氯化钠 | 5g/L |
| | 鸡卵清蛋白 | 1.2g/L |
| [0083] | 月桂酸聚氧乙烯酯 | 2g/L |
| | 酪素 | 3g/L |
| | Proclin300 | 0.5g/L |
| | 干扰消除蛋白 | 1% |
| | 余量为去离子水。 | |
| [0084] | 所述试剂R2的各组分及浓度范围为： | |

	2-(N-吗啡啉)乙磺酸	9.5 g/L
	氯化钠	5g/L
	鸡卵清蛋白	1.2g/L
	月桂酸聚氧乙烯酯	2g/L
[0085]	酪素	3g/L
	Proclin300	0.5g/L
	偶联抗胱抑素 C 抗体的胶乳	0.55%
	大直径聚苯乙烯胶乳颗粒:小直径聚苯乙烯胶乳颗粒=1:9	

余量为去离子水。

[0086] 试剂R1为无色透明溶液,R2为均一的乳白色溶液,胱抑素C试剂的参考校准品也为无色透明溶液。

[0087] 对比实施例1 R1试剂成分和实施例1相同,R2试剂成分和实施例1除胶乳直径不同外,其余成分相同,R2胶乳直径分别为:所述大直径聚苯乙烯胶乳颗粒平均粒径为400nm~600nm,所述小直径聚苯乙烯胶乳平均粒径为16nm~32nm,大直径聚苯乙烯胶乳颗粒:小直径聚苯乙烯胶乳颗粒=(7-10):(0-3)。

[0088] 对比实施例2 R1试剂成分和实施例2相同,R2试剂成分和实施例2除胶乳直径不同外,其余成分相同,R2胶乳直径分别为:所述大直径聚苯乙烯胶乳颗粒平均粒径为400nm~600nm,所述小直径聚苯乙烯胶乳平均粒径为10nm~12nm,大直径聚苯乙烯胶乳颗粒:小直径聚苯乙烯胶乳颗粒=(1-3):(7-9)。

[0089] 对比实施例3 R1试剂成分和实施例1相同,R2试剂成分和实施例1除胶乳直径不同外,其余成分相同,R2胶乳直径分别为:所述大直径聚苯乙烯胶乳颗粒平均粒径为400nm~600nm,所述小直径聚苯乙烯胶乳平均粒径为40nm~100nm,大直径聚苯乙烯胶乳颗粒:小直径聚苯乙烯胶乳颗粒=(1-3):(7-9)。

[0090] 对比实施例4 R1试剂成分和实施例2相同,R2试剂成分和实施例2除胶乳直径不同外,其余成分相同,R2胶乳直径分别为:所述大直径聚苯乙烯胶乳颗粒平均粒径为200nm~300nm,所述小直径聚苯乙烯胶乳平均粒径为16nm~32nm,大直径聚苯乙烯胶乳颗粒:小直径聚苯乙烯胶乳颗粒=(1-3):(7-9)。

[0091] 对比实施例5 R1试剂成分和实施例1相同,R2试剂成分和实施例1除胶乳直径不同外,其余成分相同,R2胶乳直径分别为:所述大直径聚苯乙烯胶乳颗粒平均粒径为700nm~1000nm,所述小直径聚苯乙烯胶乳平均粒径为16nm~32nm,大直径聚苯乙烯胶乳颗粒:小直径聚苯乙烯胶乳颗粒=(1-3):(7-9)。

[0092] 对比实施例6 R1试剂成分和实施例2相同,R2试剂成分和实施例2除胶乳直径不同外,其余成分相同,R2胶乳直径分别为:所述大直径聚苯乙烯胶乳颗粒平均粒径为400nm~600nm,所述小直径聚苯乙烯胶乳平均粒径为16nm~32nm,大直径聚苯乙烯胶乳颗粒:小直径聚苯乙烯胶乳颗粒=(5-6):(4-5)。

[0093] 本申请实施例胱抑素C试剂盒的相关性、灵敏度、精密度试验:

[0094] 所选的临床样本均为医院收集的病人血清,本申请实施例检测试剂盒检测样本中胱抑素C含量的流程如下:向5uL待检测样本(校准管以校准品做样品,空白以蒸馏水为样品,校准品购自英国朗道公司)中加入150uL的试剂R1充分混匀,于37℃恒温5分钟,再向混合体系中加入50uL试剂R2,混匀,37℃恒温1分钟后,空白管调零,波长540nm,测定各管吸光度A1,4分钟后测定各管吸光度A2,计算 $\Delta A=A2-A1$ 。根据多点校准品浓度和对应吸光度变化值 ΔA ,采用多点非线性校准模式确定工作曲线,样本吸光度变化在工作曲线上相对应的浓度值即为测定浓度。以下对照试剂为宁波美康的双胶乳试剂方法的胱抑素C胶乳增强比浊试剂盒。

[0095] 1相关性实验

[0096] 分别使用本发明实施例1和实施例2的两种试剂和对照试剂采用日立7180全自动生化分析仪对50份人血清(包含正常和异常标本)按各自参数同时进行测定。对测定值进行线性回归,得回归方程式为: $y_1=1.014x+1.8423$, $y_2=1.024x+1.6553$ 相关系数为: $R_{21}=0.9965$,相关系数为: $R_{22}=0.9947$ (y_1 为本发明实施例1试剂, y_2 为本发明实施例2试剂, x 为对照试剂),结果表明本发明试剂与对照试剂相关性很好,进而说明本发明试剂具有很好的特异性和准确度。此外本试剂不仅适用于日立7180全自动生化分析仪,还可用于日立、贝克曼等其他系列的全自动和半自动生化分析仪,具体参数可据主要参数做适当调整。分别使用本发明对比实施例1到对比实施例6的两种试剂和对照试剂采用日立7180全自动生化分析仪对50份人血清(包含正常和异常标本)按各自参数同时进行测定。对测定值进行线性回归,得回归方程式为: $y_1=1.113x+2.8526$, $y_2=1.210x+2.0417$, $y_3=1.035x+1.9591$, $y_4=1.073x+1.7660$, $y_5=1.014x+1.9873$, $y_6=1.009x+1.7860$ 。 $R_1^2=0.9878$, $R_1^2=0.9274$, $R_1^2=0.9782$, $R_1^2=0.9679$, $R_1^2=0.9769$, $R_1^2=0.9790$, $R_1^2=0.9567$,

[0097] 2灵敏度实验

[0098] 检测灵敏度的评估方法用10-20个空白样本讯号强度的标准差,及3-15个最低非零样本讯号强度的标准差,用统计软件EP Evaluator release 6计算所得。实验结果显示本发明试剂有很好的灵敏度,能完全符合美国临床实验室改进修正法规。灵敏度分别为:本发明的胱抑素C分别为0.26mg/L和0.32mg/L,优于对照试剂0.37mg/L。

[0099] 表1 试剂检测灵敏度

[0100]

检测指标(胱抑素C)	非零样本浓度	系统检测灵敏度
实施例1试剂	0.78 mg/L	0.26 mg/L

[0101]

实施例2试剂	0.78 mg/L	0.32 mg/L
对照试剂	0.78 mg/L	0.37mg/L

[0102] 3.精密度试验

[0103] 使用2种不同胱抑素C含量的人血清样品,测定本发明检测试剂盒的批内精密度。结果表明,本发明实施例1和2的检测试剂盒的批内精密度为1.47%和2.86%;2.2%和3.295%,按照NCCLS EP15-A文件提供的方案进行精密度的性能验证。用不同厂家三种试剂

每日测定该五种血清标本4次,共测定5d,计算不同厂家血脂试剂检测的批内百分变异(CV),判断是否小于厂家提供的数据。

[0104] 表2

[0105]

	朗道高值	朗道低值
	5.35 mg/L	0.78 mg/L
实施例 1 的试剂盒实测均值	5.29 mg/L	0.74 mg/L
均值与标示值偏差	1.47%	2.86%
实施例 1 的试剂精密度(n=20)	1.5%	2.89%
实施例 2 的试剂盒实测均值	5.38 mg/L	0.83 mg/L
均值与标示值偏差	2.17%	3.26%
实施例 2 的试剂精密度(n=20)	2.2%	3.295%
现有的试剂盒实测均值	5.47	0.65
均值与标示值偏差	2.65%	4.28%
现有的试剂盒精密度(n=20)	2.6%	4.2%

[0106] 同样方法测定对比实施例1到对比实施例6的试剂,结果如下表,可见数据表现明显不及本发明的实施例1和2:

[0107] 表3

[0108]

	朗道高值	朗道低值
	5.35 mg/L	0.78 mg/L
对比实施例 1 的试剂盒实测均值	5.53	0.62
均值与标示值偏差	3.36%	20.51%
对比实施例 1 的试剂精密度(n=20)	3.4%	21%

[0109]

对比实施例 2 的试剂盒实测均值	5.59	0.83
均值与标示值偏差	4.49%	6.41%
对比实施例 2 的试剂精密度 (n=20)	4.5%	6.4%
对比实施例 3 试剂盒实测均值	5.68	0.56
均值与标示值偏差	6.17%	28.21%
对比实施例 3 试剂盒精密度 (n=20)	6.2%	28%
对比实施例 4 试剂盒实测均值	5.63	0.95
均值与标示值偏差	5.23%	21.79%
对比实施例 4 试剂盒精密度 (n=20)	5.2%	22.1%
对比实施例 5 试剂盒实测均值	5.88	0.87
均值与标示值偏差	9.91%	11.54%
对比实施例 5 试剂盒精密度 (n=20)	10.1%	12%
对比实施例 6 试剂盒实测均值	5.86	0.5
均值与标示值偏差	9.53%	35.90%
对比实施例 6 试剂盒精密度 (n=20)	9.6%	36%

[0110] 4. 两种试剂盒的抗干扰性能的比较:

[0111] 在罗氏质控品 (标示值 8.2mg/l) 中加入四种干扰物形成混合血清, 测定结果如下:
本发明总胆红素测定试剂盒和现有的试剂盒测定抗干扰性能对比:

[0112] 表 4

[0113]

	游离胆红素 60 mg/dl	结合胆红素 60 mg/dl	甘油三酯 1200 mg/dl	血红蛋白 750 mg/dl
实施例 1 的测值	8.12	8.03	8.09	8.08
测值与标示偏差	0.95%	2.10%	1.40%	1.44%
实施例 2 的测值	8.11	8.04	8.06	8.10
测值与标示偏差	1.12%	1.90%	1.70%	1.25%
现有试剂的测值	8.10	8.01	8.05	8.06
测值与标示偏差	1.25%	2.30%	1.80%	1.70%

[0114] 上述本申请实施例中的技术方案,至少具有如下的技术效果或优点:

[0115] (1)、本发明试剂盒利用胶乳增强免疫透射比浊法测定胱抑素C,放大了检测信号,提高了检测灵敏度,缩短了检测时间。

[0116] (2)、本发明采用混合粒径的胶乳试剂,其中小粒径的胶乳颗粒比例大,提高了线性;同时含有一定比例的大粒径的胶乳颗粒,灵敏度也比较高。

[0117] (3)、本发明试剂盒特别加入了防止干扰的物质,抗干扰性能好。同时,表面活性剂的添加也提高了精密度。

[0118] (4)、使用全自动生化分析仪测定抗胱抑素C抗体,不仅使操作更为简便,提高自动化程度,而且还节约了少量样品检测实验的经济成本。全自动生化分析仪在多批次对少量样品进行检测,和单批次对大量样品检测的成本几乎相同;因此,全自动生化分析仪可以适用于对少量样品的检测,并且不提高经济成本。

[0119] 尽管已描述了本发明的优选实施例,但本领域内的技术人员一旦得知了基本创造性概念,则可对这些实施例作出另外的变更和修改。所以,所附权利要求意欲解释为包括优选实施例以及落入本发明范围的所有变更和修改。显然,本领域的技术人员可以对本发明进行各种改动和变型而不脱离本发明的精神和范围。这样,倘若本发明的这些修改和变型属于本发明权利要求及其等同技术的范围之内,则本发明也意图包含这些改动和变型在内。

专利名称(译)	一种胰抑素C胶乳增强比浊检测试剂盒及其用途		
公开(公告)号	CN105738617B	公开(公告)日	2018-05-04
申请号	CN201610201530.1	申请日	2016-04-01
[标]申请(专利权)人(译)	武汉生之源生物科技股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	武汉生之源生物科技股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	武汉生之源生物科技股份有限公司		
[标]发明人	华权高 来祥兵 徐春雷		
发明人	华权高 来祥兵 徐春雷		
IPC分类号	G01N33/539		
CPC分类号	G01N33/539		
审查员(译)	张绚		
其他公开文献	CN105738617A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)	2-(N-吗啡啉)乙磺酸	9.5-25 g/L
<p>本发明提供了一种胰抑素C胶乳增强比浊检测试剂盒及其用途，所述试剂盒包括试剂R1和试剂R2，所述试剂R1包括缓冲液，无机盐，表面活性剂，防腐剂，稳定剂及干扰消除蛋白；所述试剂R2包括缓冲液，无机盐，表面活性剂，防腐剂，稳定剂及聚苯乙烯胶乳颗粒混合物；所述聚苯乙烯胶乳颗粒混合物交联有抗胰抑素C抗体；本发明所述试剂盒基于胶乳增强免疫透射比浊法(PETIA)，可普遍用于各类全自动生化分析仪分析，使用时所需的测定时间短，特异性好，精密度高，准确度好。</p>	月桂酸聚氧乙烯酯	2-7 g/L
	氯化钠	5-15g/L
	鸡卵清蛋白	1-5g/L
	酪素	1-5g/L
	Proclin300	0.1-0.5g/L
	干扰消除蛋白	0.1-1%
	余量为去离子水。	