



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102135535 B

(45) 授权公告日 2015.06.24

(21) 申请号 201010100433.6

CN 101556279 A, 2009.10.14,

(22) 申请日 2010.01.25

CN 1220397 A, 1999.06.23,

JP 3859027 B2, 2006.12.20,

(73) 专利权人 常州博闻迪医药科技有限公司

地址 213144 江苏省常州市东方大道 111-9 号 401

审查员 舒霏霏

(72) 发明人 刘凤鸣

(74) 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245

代理人 关畅

(51) Int. Cl.

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/545(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

(56) 对比文件

CN 1892223 A, 2007.01.10,

CN 1403818 A, 2003.03.19,

CN 1727898 A, 2006.02.01,

CN 1896740 A, 2007.01.17,

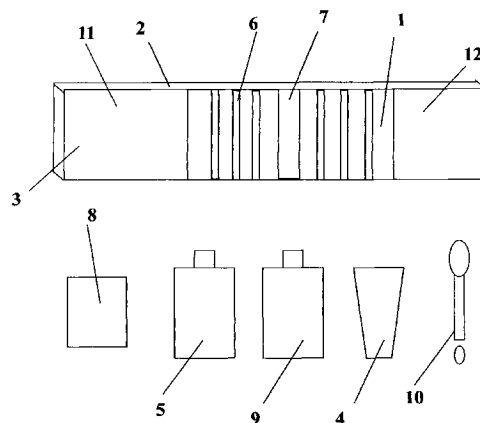
权利要求书1页 说明书8页 附图1页

(54) 发明名称

一种直接进行半定量分析的免疫胶体金属检测技术及其制备方法和用途

(57) 摘要

本发明公开了一种用于待测物含量的半定量固相反应检测技术及其制备方法和用途,是一种将待测物样品与已知浓度的待测物标准比对品在同一反应体系下进行反应的直接检测待测物含量的半定量胶体金属免疫层析检测技术,由固相膜、支撑片、显色剂、点样器、标准比对品组成,可制成多种即用型的待测物含量检测产品,可有效地用于临床检测、食品、药品和实验用品等的待测物含量检测,具有良好的适用价值和市场前景。



1. 一种免疫胶体金属检测方法,其特征在於所述的检测方法是一种将待测物样品与已知浓度的一种以上的待测物标准比对品在同一反应体系下进行反应的直接检测待测物含量的半定量胶体金属免疫层析检测方法,该方法由支撑片、固相膜、显色剂垫、样品垫、点样器、标准比对品、吸水垫、上样缓冲液、移液管组成,其中在支撑底片上依次装有样品垫、显色剂垫、固相膜、吸水垫,包括以下步骤:

- 1) 将一种以上的不同浓度的标准比对品预先固定至固相膜上;
- 2) 用胶体金属溶液标记能与待测物特异性结合的抗体或抗原,制备显色剂;
- 3) 将标记后的显色剂喷涂至显色剂垫上,干燥;
- 4) 检测时用点样器直接将待测样品点样转移到固相膜上,干燥固定;

5) 在样品垫加上样缓冲液,使其向前泳动带动显色剂流经固相膜进入吸水垫,此时形成特异性显色剂使标准比对品和待检样品中的待测物在同一反应体系下进行特异性着色反应;

6) 将待检样品中待测物的显色强度与标准比对品的显色强度进行比较,找出与待检样品中待测物的显色强度相近的标准比对品的浓度区间,进而进行待测样品中待测物含量的半定量分析。

2. 根据权利要求 1 所述的检测方法,其特征在於其中固相膜具有明显的蛋白质结合特性,显色剂为胶体金属溶液标记的能与待测物特异性结合的抗体或抗原,点样器为能将微量待测样品转移至固相膜的移液装置,支撑片用于固定固相膜和其它检测材料,标准比对品为已知浓度的待测物及其具有相同免疫特性的衍生物。

3. 根据权利要求 1 所述的检测方法,其特征在於所述的固相膜包括硝酸纤维素膜、PVDF 膜、尼龙膜、DEAE 纤维素膜。

4. 根据权利要求 1 所述的检测方法,其特征在於所述的胶体金属溶液包括胶体金、胶体硒、胶体银、胶体铜、胶体铁。

5. 根据权利要求 1 所述的检测方法,其特征在於其检测方法为胶体金属免疫层析法。

6. 根据权利要求 1 所述的检测方法,其特征在於联合使用多种胶体金属显色信号放大技术提高检测灵敏度,包括免疫金银染色放大技术、生物素-亲和素放大技术、生物素-链霉亲和素放大技术、第二抗体结合放大技术。

7. 权利要求 1 所述的检测方法在胶体金属免疫层析检测技术产品开发中的用途。

一种直接进行半定量分析的免疫胶体金属检测技术及其制备方法 and 用途

[0001] [技术领域] 一种免疫胶体金属检测技术,特别是一种可直接进行半定量分析的胶体金属免疫层析检测技术及其制备方法和用途。

[背景技术]

[0002] 胶体金属标记技术是以胶体金属作为示踪标志物或显色剂,应用于抗原抗体反应的一种新型免疫标记技术。由于它不存在内源酶干扰及放射性同位素污染等问题,且利用不同颗粒大小的胶体金属还可以作双重甚至多重标记,使定位更加精确。因此已成为继荧光素、酶、同位素及乳胶标记技术之后的一种新型标记技术。现已广泛应用于电镜、流式细胞仪、免疫印迹、体外诊断试剂、食品药品质量检测试剂的制造等领域。

[0003] 胶体金是由氯金酸在还原剂如白磷、抗坏血酸、枸橼酸钠、鞣酸等作用下,聚合成为特定大小的金颗粒,并由于静电作用成为一种稳定的胶体状态。胶体金在弱碱环境下带负电荷,可与蛋白质分子的正电荷基团形成牢固的结合,由于这种结合是静电结合,所以不影响蛋白质的生物特性。胶体金除了与蛋白质结合以外,胶体金颗粒还可以与其他多种生物大分子物质(如毒素、抗生素、激素、核酸、多肽等)结合。根据胶体金的一些物理性状,如高电子密度、颗粒大小、形状及颜色反应,加上结合物的免疫和生物学特性,因而使胶体金广泛地应用于免疫学、组织学、病理学和细胞生物学等领域。

[0004] 免疫胶体金属检测技术大体上可分为以液相反应为主的检测技术和以固相载体反应为主的检测技术,其中以液相反应为主的检测技术,如流式细胞检测技术和用于光镜、电镜水平定位、定性或定量研究特定抗原物质的组织、细胞或亚细胞结构的分布特性的液相免疫组化测定技术,以固相载体反应为主的检测技术,如广泛使用的胶体金属免疫层析法等。与其他检测方法比较,具有以下一些优点:1) 快捷迅速:不论是免疫层析法还是斑点免疫渗滤法都具有快速的特点,一般在几分钟之内就可得出结果,这是目前其它快速检测方法所无法达到的。2) 灵敏度高:免疫胶体金属检测方法并不因为其快速而牺牲了它的检测灵敏度,最低检出量可达到 0.1ng/ml 以下,如心肌肌钙蛋白 T 快速检测试剂。3) 安全简便,由于胶体金属本身具有颜色,定性检测不需任何仪器和设备,肉眼即可判断结果。4) 生产成本低廉。

[0005] 然而,目前被广泛使用的以固相载体反应为主的检测技术如不配备相应的检测仪器,仅依靠肉眼判断结果,还仍局限在定性水平,只能在某一检测水平上判断有还是无,如用于早孕检测的早早孕胶体金法检测试纸的尿液人绒毛膜促性腺激素最低检出量为 25U/L,而正常尿液人绒毛膜促性腺激素的浓度 1U/L 以下,用于急性心肌梗死早期诊断的血液心肌肌钙蛋白 I 胶体金检测试剂的最低检出量为 1.5ng/ml,而正常血液心肌肌钙蛋白 I 浓度低于 0.15ng/ml。因此,只有存在如此大的阴性和阳性差异的情况下,现有的依靠肉眼判断的检测方法才能判定检测为阳性或阴性,但无法确定其具有进一步的临床诊断和治疗价值的动态变化结果。因此,开发一种使用方便,操作快捷的可依靠肉眼判断进行半定量分析的胶体金属快速检测技术将对提高医疗卫生、畜牧业、农业等领域服务质量和质量控制

水平具有重要的意义。

[发明内容]

[0006] 本发明的目的是提供一种免疫胶体金属检测技术,特别是一种不需要依赖仪器设备可直接进行半定量分析的免疫胶体金属层析检测技术及其制备方法和用途。

[0007] 为实现上述目的,本发明采用了如下技术方案。

[0008] 本发明所述的一种免疫胶体金属检测技术,其特征在于所述的检测技术是一种将待测物样品与已知浓度的待测物标准比对品在同一反应体系下进行反应的不需要依赖仪器设备可直接检测待测物含量的半定量免疫胶体金属层析检测技术。所述的检测技术由固相膜、支撑片、显色剂、点样器、标准比对品组成,其中固相膜具有明显的蛋白质结合特性包括硝酸纤维素膜、PVDF 膜、尼龙膜、DEAE 纤维素膜,显色剂为胶体金属溶液标记的能与待测物特异性结合的抗体或抗原,点样器为能将微量待测样品转移至固相膜的移液装置,支撑片用于固定固相膜和其它检测材料,标准比对品为已知浓度的待测物及其具有相同免疫特性的衍生物,包括以下步骤:

[0009] 1) 将一种或一种以上的不同浓度的标准比对品预先固定至固相膜上,固相膜贴附于支撑片上;

[0010] 2) 用胶体金属溶液标记能与待测物特异性结合的抗体或抗原,制备显色剂;

[0011] 3) 检测时用点样器直接将待测样品点样转移到固相膜上,干燥固定;

[0012] 4) 用特异性显色剂对标准比对品和待检样品中的待测物在同一反应体系下进行特异性着色;

[0013] 5) 将待检样品中待测物的显色强度与标准比对品的显色强度进行比较,找出与待检样品中待测物的显色强度相近的标准比对品的浓度区间,进而进行待测样品中待测物含量的半定量分析。

[0014] 常用的具有明显的蛋白质结合特性的固相膜有硝酸纤维素膜(Nitrocellulose Blotting Membranes, NC) 和 PVDF 膜(Polyvinylidene-Fluoride)、尼龙膜、DEAE 纤维素膜等。硝酸纤维素膜是最广泛使用的蛋白质转移结合介质,对蛋白有很强的结合能力,而且适用于各种显色方法,包括同位素,化学发光(Luminol 类)、常规显色、染色和荧光显色,背景低,信噪比高。聚偏二氟乙烯(PVDF)膜作为基质的转印膜,与硝酸纤维素膜相比,PVDF 膜在蛋白质截留能力,机械强度和化学相容性上都更优越的性能,市售硝酸纤维素膜的典型结合量是 80-100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$,而 PVDF 膜结合量是 100-200 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。尼龙膜也有用于蛋白结合,比较于硝酸纤维素膜来说,它的优点是结合力强,结实又柔软且不易卷曲,机械强度大,便于操作,缺点是背景高。

[0015] 所述的支撑片用于固定固相膜和承载显色剂及其它检测材料的承载结构包括支撑底片、塑料外壳中的一种或一种以上的组分。

[0016] 本发明技术含有清洗剂,能清除非特异性与固相膜相结合的显色剂,提高结合在固相膜上的待测物的显色效果。

[0017] 所属的点样器包括微量移液器、微型滴管及其它微量液体移印装置。

[0018] 所述的胶体金属溶液包括常用的胶体金以及其它胶体金属显色剂,如胶体硒、胶体银、胶体铜、胶体铁。

[0019] 所述的固相检测技术包括胶体金属免疫层析法、胶体金属双球夹心法、胶体金属微板法。

[0020] 所述的检测技术为胶体金属免疫层析法,由包括支撑片、固相膜、显色剂垫、样品垫、点样器、标准比对品、吸水垫、上样缓冲液、移液管组成,其中在支撑底片上依次装有样品垫、显色剂垫、固相膜、吸水垫,包括以下步骤:

[0021] 1) 将一种或一种以上的不同浓度的标准比对品预先固定至固相膜上;

[0022] 2) 用胶体金属溶液标记能与待测物特异性结合的抗体或抗原,制备显色剂;

[0023] 3) 将标记后的显色剂喷涂至显色剂垫上,干燥;

[0024] 4) 检测时用点样器直接将待测样品点样转移到固相膜上,干燥固定;

[0025] 5) 在样品垫加上样缓冲液,使其向前泳动带动显色剂流经固相膜进入吸水垫,此时显色剂特异性地与标准比对品和待检样品中的待测物在同一反应体系下进行特异性着色反应;

[0026] 6) 将待检样品中待测物的显色强度与标准比对品的显色强度进行比较,找出与待检样品中待测物的显色强度相近的标准比对品的浓度区间,进而进行待测样品中待测物含量的半定量分析。

[0027] 所述的检测技术,其特征在于联合使用多种胶体金属显色信号放大技术提高检测灵敏度,包括免疫金银染色放大技术、生物素-亲和素放大技术、生物素-链霉亲和素放大技术、第二抗体结合放大技术。

[0028] 所述的技术结合荧光显色、显色定量分析等设备,可进行待测物含量的全定量分析。

[0029] 所述的检测技术在胶体金属固相检测技术产品开发中的用途,包括医疗卫生、畜牧业、农业等多个领域。目前免疫胶体金属检测技术已广泛用于各个领域,所述的检测技术在医疗卫生检测产品以及食品、药品和实验用品中的目标检测物含量检测中的用途。本发明技术可制成多种即用型产品,不仅使用方便、易于储藏,便于携带,而且检测所需时间短,如进行半定量分析,不需要专用设备,也不需要专用的实验条件以及相关的专业知识。

[0030] [有益效果]

[0031] 1、首次采用胶体金属标记显色技术将待测物样品与已知浓度的待测物标准比对品在同一反应体系下进行反应,不借助仪器设备可通过肉眼观察直接检测待测物的含量,进行半定量分析,提高了该检测技术的准确性。

[0032] 2、操作简单,使用方便快捷,显著缩短待检样品的检测时间。操作简单、使用方便快捷是人们对目前广泛用于医疗卫生疾病诊断和病情监测的检测试剂和用于畜牧业和农业等多个领域的产品质量控制的检测试剂的共同要求和愿望,但现行的免疫胶体金属检测技术的半定量和定量分析方法均需要相应的实验设备、实验条件和相应的人员技术要求。这给检测带来不便,同时需要较长的检测时间。而检测耗时在某些情况下非常关键,如急性心肌梗死病人从发病至完成必要的检测明确诊断而实施介入或溶栓治疗的时间对疾病预后非常关键,时间越短预后越好。而检测的方便程度在多数情况下直接影响技术产品的普及使用和被检产品的质量,如牛奶三聚氰胺浓度检测如做到方便快捷,就不会造成牛奶搁置太久变质而不得不倾倒的现象。

[0033] 3、可进行样品中待测物含量的半定量直接测定,克服目前胶体金属目测检测技术

只能进行直接定性分析的缺点,提高了检测质量和适用范围。以肌红蛋白胶体金检测试剂盒为例,肌红蛋白是反映心肌受损的一重要标志物,正常情况下血液浓度很低,低于 50ng/ml。心肌受损时血液浓度会有所升高,最高可达每毫升几微克(ug),与心肌受损的程度相关。大多数心肌损伤性疾病如心肌炎、心力衰竭、心肌病、心绞痛等其血液肌红蛋白浓度多数在 100ng/ml 以下,大于 100ng/ml 的心脏病病例不足 10%。急性心肌梗死表现有明显的心肌组织缺血坏死,90%以上急性心肌梗死发病后 2 小时其血液中肌红蛋白的浓度大于 100ng/ml,并且随着病情变化而变化。大多数心肌组织坏死严重的病例其血液中肌红蛋白的浓度大于 200ng/ml。目前临床上使用的不用仪器仅用肉眼判断结果的胶体金快速检测试剂盒,只能提供阳性或阴性的检测结果,即血液浓度大于 100ng/ml 时显色为阳性,血液浓度小于 100ng/ml 时不显色为阴性,只对急性心肌梗死的病例提供辅助诊断价值,对其它心肌损伤性疾病及心肌梗死后的病情变化动态及治疗效果无法提供有价值的检测资料。本发明技术不用仪器仅用肉眼判断可直接进行血液肌红蛋白浓度的半定量分析,既做到快速方便,又可有效地提高监测质量、扩大检测有效范围。

[0034] 4、使用方便。本发明产品使用方便、携带方便,为产品的使用提供了更为便捷的途径。

[0035] 5、生产工艺简单价格低廉,非常利于市场推广。

[0036] 因此,本发明技术在医疗卫生、畜牧业、农业等多个领域对提高服务质量和产品质量控制具有重要的意义和良好的应用前景。

附图说明

[0037] 图 1 为本发明层析法检测试剂盒结构示意图

[具体实施方式]

[0038] 通过以下具体实施实例,可以进一步了解本发明,但以下实例不是对本发明的限定。所用的标准比对品均经过化学发光法确定其待测物浓度。

[0039] 实施例 1- 本发明层析法检测试剂盒的制作

[0040] 如图 1 所示,本发明层析法的基本结构由包括固相膜 1、支撑片 2、显色剂 3、点样器 4、上样缓冲液 5、标准比对品 6、点样窗口 7、混样槽 8、稀释液 9、滴管 10、样品垫 11 和吸水垫 12 组成,其中样品垫 11、喷涂有显色剂 3 的膜垫、固相膜 1 和吸水垫 12 依次附着于支撑片 2 上,不同浓度的标准比对品 6 预转移固定至固相膜 1 上。待检测样品用滴管 10 转移至混样槽 8 内,根据需要滴加适量稀释液 9 至混样槽 8 内,与样品混匀,用点样器 4 粘吸一定量的稀释样品,经点样槽点印至固相膜上,干燥,滴加上样缓冲液 5 至样品垫 11 上,向前泳动,流经喷涂有显色剂 3 的膜垫和固相膜 1,使标准比对品 6 和样品 7 着色,并由吸水垫 12 吸收,需要时滴加一定量的清洗剂 5 至样品垫 11,向前泳动,流经固相膜清洗着色本底,并由吸水垫 12 吸收,将点样槽内样品的显色程度与标准比对品 6 比对,进而确定样品待测物含量水平。

[0041] 实施例 2- 本发明 C- 反应蛋白胶体金层析法半定量检测试剂盒的制作及实验观察

[0042] 实验材料 :C- 反应蛋白、抗人 C- 反应蛋白单克隆抗体、氯金酸、柠檬酸三钠、碳酸钾、结晶牛血清蛋白、硝酸纤维素膜、PVC 底片、多聚酯膜、吸水纸、样品垫、微量加样器、滴

管、牛血清上样缓冲液、正常人血清样品和急性心肌梗死病人血清样品。

[0043] 方法:用去离子水将氯金酸配成浓度为 0.01% 的溶液,加热至沸腾,每 100ml 加入 100u110% 的柠檬酸三钠溶液,迅速搅拌均匀,待颜色变成酒红色、稳定不变时,继续加热 10min,冷却至室温,装入试剂瓶中,保存备用。取 10ml 已制备的胶体金溶液,用 1% 碳酸钾调 pH 至 8.0,加入 10ug/ml (终浓度) 抗人 C- 反应蛋白单克隆抗体,混匀,静置 30 分钟,加入 25u1/ml 10% 结晶牛血清蛋白 (BSA) 水溶液,静置 30 分钟,12000rpm,离心 20 分钟,弃上清,沉淀溶于 100u1/ml 含 0.2% BSA 的 PBS 中,制成胶体金标记物,喷于多聚酯膜上,37°C 干燥后,待用,即为显色剂膜垫。

[0044] 在硝酸纤维素膜上依次包被浓度分别为 0.5、1、3、5、8、13ug/ml 的 C- 反应蛋白的标准比对品,浓度为 1.0mg/ml 的羊抗鼠 IgG 作为检测对照,37°C 干燥后,待用,即为包被有标准比对品的固相膜。

[0045] 测试条的组装:依次将样品垫、显色剂膜垫、包被有标准比对品的固相膜、吸水纸垫粘贴在 PVC 底片,切成 8mm 宽的试纸条,干燥,室温保存,备用,即为测试条。

[0046] 检测前用微量加样器在测试条样品窗口上点印待测血清样品,自然干燥,用滴管向样品垫点加约 80u1 牛血清上样缓冲液,向前泳动,流经显色剂膜垫和包被有标准比对品的固相膜,使标准比对品和样品着色,并由吸水垫吸收,15 分钟后观察检测结果。样品同时用免疫化学发光法检测的 C- 反应蛋白浓度。

[0047] 结果见表 1,本发明检测结果与免疫化学发光法检测的血清样品浓度一致。我国健康人群 C- 反应蛋白水平多数为 0.58 ~ 1.13mg/L。目前普遍认为 C- 反应蛋白与心脏冠状动脉事件发生有关,< 1mg/L 为相对低危险,1.0 ~ 3.0mg/L 为中度危险,> 3.0mg/L 为高度危险。大多数急性心肌梗死病人血清样品 C- 反应蛋白浓度大于 8ug/ml,中位值多分布在 10-13ug/ml。本发明检测技术的检测结果不仅与免疫化学发光法检测结果相一致,同时 8 例急性心肌梗死病例中有 6 例血清样品 C- 反应蛋白浓度大于 8ug/ml,与临床报道结果相一致。这些检测结果同时提示病例号为 10、12、16 的病人的预后较差,病例号为 9、15 的病人的预后较好,样品号 8 的正常人属于心脏冠状动脉事件高危人群,应给与适当的预防措施。

[0048] 表 1、血清 C- 反应蛋白浓度检测结果比较 (ug/ml)

[0049]

样品号	正常人血清样品		样品号	急性心肌梗死病人血清样品	
	化学发光	本发明		化学发光	本发明
1	0.9	0.5-1	9	6.1	3-8
2	1.1	1-3	10	13.8	>13
3	0.5	0.5-1	11	9.2	8-13
4	0.8	0.5-1	12	14.3	>13
5	1.2	1-3	13	9.9	8-13
6	2.1	1-3	14	8.7	8-13
7	0.9	0.5-1	15	5.5	5-8
8	5.5	3-8	16	17.2	>13

[0050] 实施例 3- 本发明人肌红蛋白胶体金层析法半定量检测试剂盒的制作及实验观察

[0051] 实验材料：人肌红蛋白、抗人肌红蛋白单克隆抗体、氯金酸、柠檬酸三钠、碳酸钾、结晶牛血清蛋白、硝酸纤维素膜、PVC 底片、多聚酯膜、吸水纸、样品垫、微量加样器、滴管、牛血清上样缓冲液、正常人血清样品和急性心肌梗死病人血清。

[0052] 方法：用去离子水将氯金酸配成浓度为 0.01% 的溶液，加热至沸腾，每 100ml 加入 100ul 10% 的柠檬酸三钠溶液，迅速搅拌均匀，待颜色变成酒红色、稳定不变时，继续加热 10min，冷却至室温，装入试剂瓶中，保存备用。取 10ml 已制备的胶体金溶液，用 1% 碳酸钾调 pH 至 8.8，加入 10ug/ml（终浓度）抗人肌红蛋白单克隆抗体，混匀，静置 30 分钟，加入 25ul/ml 10% 结晶牛血清蛋白水溶液，静置 30 分钟，12 000rpm，离心 20 分钟，弃上清，沉淀溶于 100ul/ml 含 0.2% BSA 的 PBS 中，制成胶体金标记物，喷于多聚酯膜上，37℃ 干燥后，待用，即为显色剂膜垫。

[0053] 在硝酸纤维素膜上依次包被浓度分别为 50、100、200、300、500ng/ml 的人肌红蛋白的标准比对品，浓度为 1.0mg/ml 的羊抗鼠 IgG 作为检测对照，37℃ 干燥后，待用，即为包被有标准比对品的固相膜。

[0054] 测试条的组装：依次将样品垫、显色剂膜垫、包被有标准比对品的固相膜、吸水纸垫粘贴在 PVC 底片，切成 8mm 宽的试纸条，干燥，室温保存，备用，即为测试条。

[0055] 检测前用微量加样器在测试条样品窗口上点印待测血清样品，自然干燥，用滴管向样品垫点加约 80ul 牛血清上样缓冲液，向前泳动，流经显色剂膜垫和包被有标准比对品的固相膜，使标准比对品和样品着色，并由吸水垫吸收，15 分钟后观察检测结果。

[0056] 实验选取来自正常人和急性心肌梗死病人血清样品各 8 份，采用本发明方法测定血清样品中肌红蛋白的浓度区间，然后样品进行免疫化学发光法检测，比较本发明方法与目前广泛使用的免疫化学发光法检测结果的符合程度。

[0057] 结果见表 2，本发明检测方法所得结果与免疫化学发光法检测所得一致，正常人和

心肌梗死病人血清样品免疫化学发光法检测所得肌红蛋白浓度均落到了本发明检测方法检测所得的结果区间内。

[0058] 表 2、血清肌红蛋白浓度检测结果比较 (ng/ml)

[0059]

正常人血清样品			急性心肌梗死病人血清样品		
样品号	化学发光	本发明	样品号	化学发光	本发明
1	20	< 50	9	118	100—200
2	31	< 50	10	553	>500
3	22	< 50	11	218	200—300
4	8	< 50	12	353	300—500
5	17	< 50	13	158	100—200
6	36	< 50	14	236	200—300
7	9	< 50	15	132	100—200
8	8	< 50	16	489	300—500

[0060] 实施例 4- 本发明方法对不同来源的血清样品肌红蛋白水平的半定量检测实验观察

[0061] 实验材料和方法采用实施例 3 所述方案。待测样品包括来自正常人、Q 波性急性心肌梗死、非 Q 波性急性心肌梗死、心力衰竭轻度、心力衰竭中度、心力衰竭重度、急性心肌炎、不稳定性心绞痛病人血清各 15 份。实验将本发明的检测结果以如下方式表示：
 < 50ng/ml 为“+”，50-100ng/ml 为“++”，100-200ng/ml 为“+++”，200-300ng/ml 为“++++”，
 300-500ng/ml 为“+++++”，> 500ng/ml 为“++++++”。

[0062] 结果见表 3，本发明检测方法所得结果与免疫化学发光法检测所得结果一致，均呈现无心肌损伤的正常人和以心肌功能改变为主而无明显心肌结构损伤的心力衰竭轻度病人血清肌红蛋白浓度最低，伴有心肌轻度损伤的心力衰竭中度、急性心肌炎、不稳定性心绞痛病人血清肌红蛋白浓度次之，伴有轻度心肌组织坏死或结构损伤的非 Q 波性急性心肌梗死和心力衰竭重度病人血清肌红蛋白浓度明显升高，伴有明显心肌组织坏死的 Q 波性急性心肌梗死病人血清肌红蛋白浓度则升高非常显著，因此，对血清肌红蛋白浓度进行量化分析，有助于疾病的鉴别诊断及对病变进程的分析，及时采用相应的治疗方法。

[0063] 本发明检测结果同时说明本发明方法的最重要之处是提供了一种快速、不通过仪器检测而经目测就可获得与仪器定量分析相一致的同时具有相同的临床诊断价值的检测结果，具有重要的临床意义。

[0064] 表 3、血清肌红蛋白浓度检测结果比较 (ng/ml)

[0065]

样品号	化学发光	本发明
正常人	33±12	+
Q波性急性心肌梗死	421±158	+++++
非Q波性急性心肌梗死	165±88	+++
心力衰竭轻度	42±23	+
心力衰竭中度	65±33	++
心力衰竭重度	129±78	+++
急性心肌炎	82±41	++
不稳定性心绞痛	54±33	++

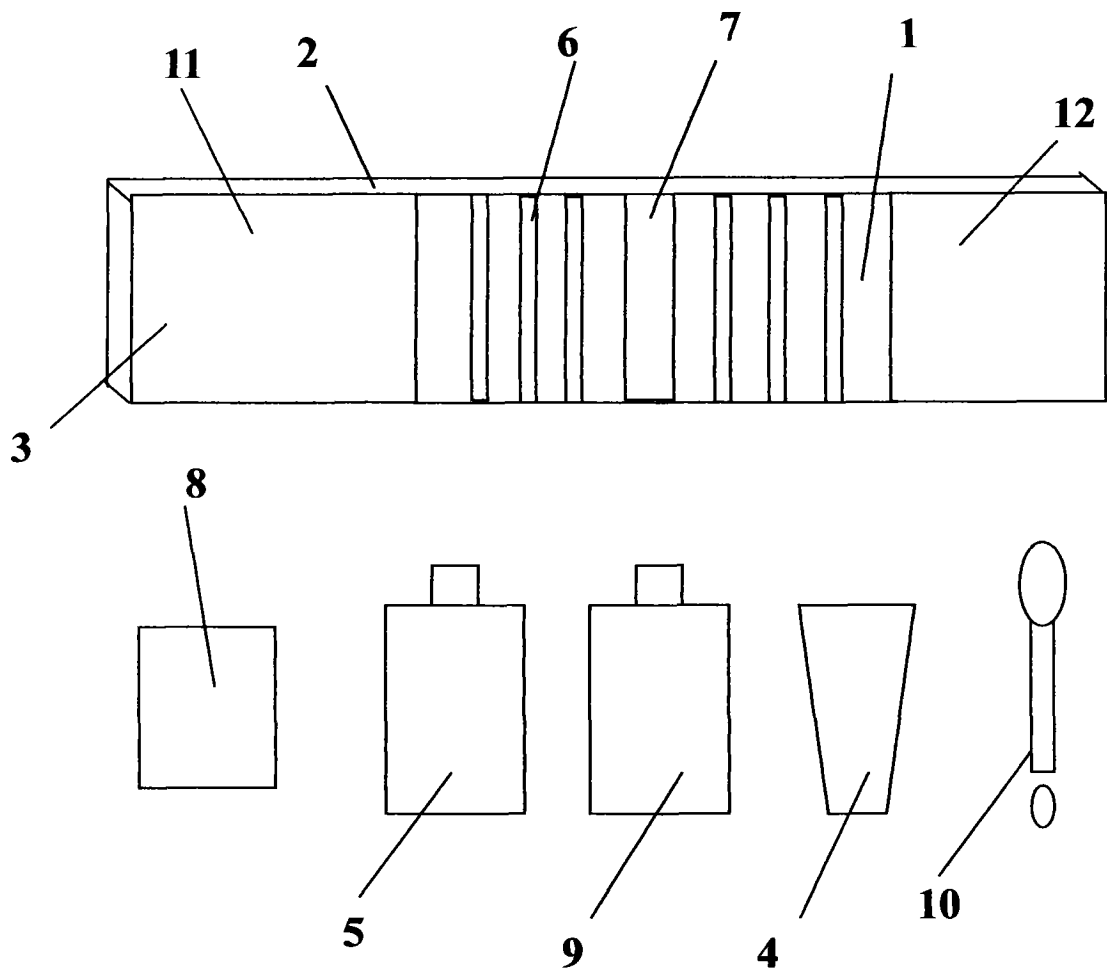


图 1

专利名称(译)	一种直接进行半定量分析的免疫胶体金属检测技术及其制备方法和用途		
公开(公告)号	CN102135535B	公开(公告)日	2015-06-24
申请号	CN201010100433.6	申请日	2010-01-25
[标]申请(专利权)人(译)	刘凤鸣		
申请(专利权)人(译)	刘凤鸣		
当前申请(专利权)人(译)	常州博闻迪医药科技有限公司		
[标]发明人	刘凤鸣		
发明人	刘凤鸣		
IPC分类号	G01N33/558 G01N33/545 G01N33/532		
代理人(译)	关畅		
其他公开文献	CN102135535A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种用于待测物含量的半定量固相反应检测技术及其制备方法和用途，是一种将待测物样品与已知浓度的待测物标准比对品在同一反应体系下进行反应的直接检测待测物含量的半定量胶体金属免疫层析检测技术，由固相膜、支撑片、显色剂、点样器、标准比对品组成，可制成多种即用型的待测物含量检测产品，可有效地用于临床检测、食品、药品和实验用品等的待测物含量检测，具有良好的适用价值和市场前景。

