



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107340395 A

(43)申请公布日 2017. 11. 10

(21)申请号 201710543451.3

(22)申请日 2017.07.05

(71)申请人 深圳开立生物医疗科技股份有限公司

地址 518051 广东省深圳市南山区玉泉路
毅哲大厦4、5、8、9、10楼

(72)发明人 蒋玉林 刘兵 陈彬 陈智峰

(74)专利代理机构 深圳市深佳知识产权代理事
务所(普通合伙) 44285

代理人 王仲凯

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

G01N 21/51(2006.01)

权利要求书1页 说明书8页 附图3页

(54)发明名称

一种检测降钙素原的免疫比浊试剂盒

(57)摘要

本发明涉及医学免疫领域,特别涉及一种检测降钙素原的免疫比浊试剂盒。该试剂盒包括试剂R1和试剂R2;试剂R1由缓冲液、稳定剂、保护剂、增凝剂、溶血剂和防腐剂组成;试剂R2由缓冲液、稳定剂、保护剂、防腐剂、聚苯乙烯乳胶微球-降钙素原抗体复合物组成;所述试剂R2中,聚苯乙烯乳胶微球由80nm~150nm和150nm~400nm的两种不同粒径的微球组成。试验表明本发明所述试剂盒稳定性好,保存期长,可直接检测全血中的PCT,检测的结果准确性高、灵敏度高、线性检测范围宽。

1. 一种检测降钙素原的免疫比浊试剂盒,其特征在于,包括试剂R1和试剂R2;
所述试剂R1由缓冲液A和溶血剂组成;所述试剂R2由缓冲液B和聚苯乙烯乳胶微球-降钙素原抗体复合物组成;
所述聚苯乙烯乳胶微球由80nm~150nm和150nm~400nm的两种不同粒径的微球组成。
2. 根据权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,所述降钙素原抗体与所述聚苯乙烯乳胶微球通过共价偶联和物理吸附方式连接。
3. 根据权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,所述溶血剂为十二烷基三甲基氯化铵、SDS、吐温80和曲拉通X-100中的一种或两者以上的混合物。
4. 根据权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,所述缓冲液A和所述缓冲液B独立选自Tris-HCL缓冲液、PBS缓冲液、MOPS缓冲液、Hepes缓冲液和甘氨酸缓冲液中的一种或多种,pH为7.4-9.0。
5. 根据权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,所述降钙素原抗体选自羊抗人降钙素原、鼠抗人降钙素原和兔抗人降钙素原中的一种或多种。
6. 根据权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,所述试剂R1还包括稳定剂A、保护剂A、防腐剂A和增凝剂;所述试剂R2还包括稳定剂B、保护剂B和防腐剂B。
7. 根据权利要求6所述的试剂盒,其特征在于,所述稳定剂A和稳定剂B独立选自NaCl、KCl、Na₂SO₄、K₂SO₄、CaCl₂和EDTA中的一种或两者以上的混合物。
8. 根据权利要求6所述的试剂盒,其特征在于,所述保护剂A和保护剂B独立选自牛血清白蛋白、明胶和卵清蛋白中的一种或两者以上的混合物。
9. 根据权利要求6所述的试剂盒,其特征在于,所述增凝剂选自PEG6000、PEG8000、PEG20000、葡聚糖和蔗糖中的一种或两者以上的混合物。
10. 根据权利要求6所述的试剂盒,其特征在于,所述防腐剂A和所述防腐剂B为叠氮钠、ProClin300和硫柳汞中的一种或两者以上的混合物。

一种检测降钙素原的免疫比浊试剂盒

技术领域

[0001] 本发明涉及医学免疫领域,特别涉及一种检测降钙素原的免疫比浊检测试剂盒。

背景技术

[0002] 降钙素原(procalcitonin,PCT)是一种糖蛋白,由116个氨基酸组成,分子量约为13Kd,其结构稳定,不受体内激素活性的影响,在人体内的半衰期为25-30h,稳定好比较好。PCT主要由肝脏产生,同时脾、肾、肺的神经内分泌细胞也是其产生的重要场所。

[0003] PCT是一种临床标志物,是诊断和监测细菌炎性疾病感染的一个重要参数。广泛应用于血液肿瘤科、麻醉科、内科、移植外科、新生儿科和儿科等诊疗科室。在正常情况下,PCT以游离形式存在于人体血清中,其水平含量很低,一般低于0.1ng/ml,0.5ng/ml是全身性感染(脓毒症)诊断的分界值,脓症患者PCT含量明显升高,当严重细菌、真菌、寄生虫感染及脓毒症和多脏器功能衰竭时,PCT在血浆中的水平升高,自身免疫、过敏和病毒感染时,PCT不会升高,局部有限的细菌感染、轻微的和慢性炎症不会导致其升高。PCT的测定可以预示为:作为一个急性的参数来鉴别诊断细菌性和非细菌性感染和炎症;监测有感染危险的患者(如外科术后和器官移植后免疫抑制期,多处创伤)以及需要重症监护患者,用来探测细菌感染的全身影响或检测脓毒性并发症;评价严重炎症性疾病临床进程及预后,如腹膜炎、脓毒症、SIRS和MODS等。

[0004] 目前,对于PCT的检测方法有很多种,既有定性检测,也有定量分析检测。其中,常用检测方法有放射免疫学分析法、高效液相色谱分析法、酶联免疫吸附分析法、双抗夹心免疫化学发光法,胶体金比色法和透射免疫比浊法等。放射免疫学分析法可以检测正常人的血清PCT,但是不能区分游离PCT、结合型PCT和降钙素基因相关肽前体三种物质,而且耗时太长(19-22h),在临床应用中有一定局限性;高效液相色谱分析法既耗时,又不易自动化;酶联免疫吸附法操作复杂,需较多时间,一般为定性或半定量,结果偏差较大;化学发光法具有高灵敏度的优点,能满足临床PCT检测要求,但其需要匹配专门仪器,价格昂贵;胶体金比色法为定性检测,快速简便,能得出PCT浓度范围,但不能得到准确值。透射免疫比浊法是一种比较稳定的PCT检测方法,该测定方法简单、快速、可自动化,但由于方法的局限性,现有公开的采用这种检测原理的比浊试剂盒存在检测低限灵敏度不高、线性范围较窄的问题,并且需要以血清或血浆为待测样本进行检测,在检测之前,需要对血液进行分离处理,提取血清或血浆,操作冗杂,费时费力。而且,获得血清或血浆时需要大量的采集静脉血,无疑增加了受试者的痛苦且不适合某些采血困难的特殊患者,如儿童患者尤其是婴幼儿和大面积烧烫伤人群。

发明内容

[0005] 有鉴于此,本发明目的在于提供一种检测降钙素原的免疫比浊检测试剂盒,使得该试剂盒能够以全血作为测试样本进行检测,并且获得较高的灵敏度和较宽的线性范围。

[0006] 为实现本发明的目的,本发明采用如下技术方案:

[0007] 本发明提供的降钙素原的免疫比浊检测试剂盒,包括试剂R1和试剂R2;试剂R1由缓冲液A和溶血剂组成;试剂R2由缓冲液B和聚苯乙烯乳胶微球-降钙素原抗体复合物组成;聚苯乙烯乳胶微球由80nm~150nm和150nm~400nm的两种不同粒径的微球组成。

[0008] 其中,聚苯乙烯乳胶微球-降钙素原抗体复合物中,降钙素原抗体与聚苯乙烯乳胶微球通过共价偶联和物理吸附方式连接。聚苯乙烯乳胶微球的表面官能团为氨基、羧基、醛基、酰肼,因此,聚苯乙烯乳胶微球可通过氨基、羧基、醛基、酰肼与降钙素原抗体共价偶联,优选通过羧基共价偶联。

[0009] 本发明提供的试剂盒中,聚苯乙烯乳胶微球的粒径优选为80nm~150nm和150nm~400nm的粒径组合,更优选为80nm和198nm的组合,123nm和220nm的组合或107nm和309nm的组合。

[0010] 优选的,本发明试剂盒中,所述溶血剂选自十二烷基三甲基氯化铵、SDS、吐温80和曲拉通X-100中的一种或两者以上的混合物。

[0011] 优选的,本发明试剂盒中,所述缓冲液A和所述缓冲液B独立选自Tris-HCL缓冲液、PBS缓冲液、MOPS缓冲液、Hepes缓冲液和甘氨酸缓冲液中的一种或多种,pH为7.4-9.0,浓度优选为20-250mmol/L。

[0012] 优选的,本发明试剂盒中,所述降钙素原抗体选自羊抗人降钙素原、鼠抗人降钙素原和兔抗人降钙素原中的一种或多种。

[0013] 优选的,本发明试剂盒中,所述试剂R1还包括稳定剂A、保护剂A、防腐剂A和增凝剂;所述试剂R2还包括稳定剂B、保护剂B和防腐剂B。

[0014] 其中,稳定剂A和稳定剂B独立选自NaCl、KCl、Na₂SO₄、K₂SO₄、CaCl₂和EDTA中的一种或两者以上的混合物,浓度优选为2-50g/L。保护剂A和保护剂B独立选自牛血清白蛋白(BSA)、明胶和卵清蛋白(OVA)中的一种或两者以上的混合物,浓度优选为1-50g/L。增凝剂选自PEG6000、PEG8000、PEG20000、葡聚糖和蔗糖中的一种或两者以上的混合物,浓度优选为1-50g/L。防腐剂A和防腐剂B独立选自叠氮钠、ProClin300和硫柳汞中的一种或两者以上的混合物,浓度优选为0.3-2g/L。

[0015] 在本发明提供的上述试剂盒中,所述试剂R1由如下方法制备得到:

[0016] 配置所述缓冲液A,加入所述稳定剂A、所述保护剂A、所述增凝剂、所述溶血剂和所述防腐剂A,搅拌混匀过滤,即得试剂R1;

[0017] 所述试剂R2由如下方法制备得到:

[0018] 1):将粒径为80nm~150nm和150nm~400nm的聚苯乙烯乳胶微球按质量比1~3:1组合,用蒸馏水洗涤3次后,加入缓冲液B稀释聚苯乙烯乳胶微球至浓度为0.01mg/ml;

[0019] 2):向稀释后的乳胶微球中加入EDC(碳二亚胺)和NHS(N-羟基琥珀酰亚胺),室温下搅拌均匀活化30分钟,离心,用蒸馏水洗涤以除去未反应的EDC和NHS,并稀释至0.01mg/ml得到活化的聚苯乙烯乳胶微球悬液;

[0020] 3):用缓冲液B溶解PCT抗体,获得0.1-1mg/ml的PCT抗体稀释液,加入上述活化后的乳胶微球悬液中,室温搅拌反应3h;

[0021] 4)加入反应终止液终止反应,将得到的反应液离心洗涤,重复三次,最后加入缓冲液B、稳定剂B、保护剂B、防腐剂B搅拌均匀,得到试剂R2。

[0022] 本发明提供的降钙素原的免疫比浊检测试剂盒,包括试剂R1和试剂R2;试剂R1由

缓冲液A和溶血剂组成；试剂R2由缓冲液B和聚苯乙烯乳胶微球-降钙素原抗体复合物组成；聚苯乙烯乳胶微球由粒径为80nm~150nm和150nm~400nm的两种微球组成。本发明所述试剂盒具有以下优势：

[0023] (1) 本发明可以直接检测全血中PCT的含量，免除了现有方法需要对血液样本进行分离提取血清或血浆的预处理步骤，省时省力，由于无需大量的采集静脉血，尤其适合采血困难的特殊患者，如儿童患者尤其是婴幼儿和大面积烧烫伤人群；

[0024] (2) 采用乳胶增强散射免疫比浊法，具有更高的检测灵敏度和更宽的线性范围；样本用量小，只需要10-30微升；检测时间短，单个样本检测时间只需要5分钟；

[0025] (3) 采用粒径为80nm~150nm和150nm~400nm的两种聚苯乙烯乳胶微球的特定组合，在保证较高检测灵敏度的同时拓宽了线性范围。

[0026] (4) 发明所述试剂盒稳定性好，保存期长。

附图说明

[0027] 图1示不同浓度降钙素原校准品的含量(mg/mL)及其散光度建立的标准曲线图；

[0028] 图2示本发明试剂盒降钙素原浓度检测值与理论值(mg/mL)的线性关系图；

[0029] 图3示本发明降钙素原检测试剂盒与对比试剂盒检测结果的相关性比较；

[0030] 图4示对比例1的检测试剂盒的线性范围分析图；

[0031] 图5示对比例2的检测试剂盒的线性范围分析图；

具体实施方式

[0032] 本发明公开了一种降钙素原的免疫比浊检测试剂盒，本领域技术人员可以借鉴本文内容，适当改进工艺参数实现。特别需要指出的是，所有类似的替换和改动对本领域技术人员来说是显而易见的，它们都被视为包括在本发明。本发明的方法及应用已经通过较佳实施例进行了描述，相关人员明显能在不脱离本发明内容、精神和范围内对本文所述的方法和应用进行改动或适当变更与组合，来实现和应用本发明技术。

[0033] 实施例1本发明所述试剂盒

[0034] 1) 试剂R1的制备：

[0035] 按配方质量称取24.2g Trizma-base、7.9g NaCl、10g BSA、10g PEG6000、3g SDS、5g吐温80、1g EDTA和1g叠氮钠溶于0.8L蒸馏水中，调节pH值至8.0，定容至1L刻度线，过滤即得R1；

[0036] 2) 试剂R2的制备：

[0037] 步骤一：将80nm和198nm高低两种粒径的羧基化聚苯乙烯乳胶微球按一定比例组合后用蒸馏水洗涤3次后，加入200mmol/L PBS缓冲液稀释聚苯乙烯乳胶微球到0.01mg/ml；

[0038] 步骤二：向10ml稀释后的乳胶微球中加入4mgEDC和2mgNHS，室温下不断搅拌反应30分钟，然后离心，用PBS缓冲液洗涤以除去未反应的EDC和NHS，并稀释至0.01mg/ml；

[0039] 步骤三：将PCT抗体用pH8.0的Tris缓冲液溶解稀释至1mg/ml，再将PCT抗体稀释液加入上述活化后的聚苯乙烯乳胶微球中，室温搅拌反应3h；

[0040] 步骤四：加入浓度为2%的乙醇胺反应终止反应，将得到的反应液离心，弃去上清液，沉淀物用PBS缓冲液混匀，15000rpm转速下离心10分钟，弃去上清液，重复三次，最后沉

淀物加入200mmol/L Tris缓冲液中,再加入0.1g NaCl、0.2g BSA、0.01g叠氮钠、0.8g蔗糖搅拌均匀,即得试剂R2。

[0041] 实施例2本发明所述试剂盒

[0042] 1) 试剂R1的制备:

[0043] 按配方质量称取12.1g Trizma-base、15g NaCl、10g BSA、20g PEG6000、5g SDS、3g吐温80、1g EDTA和1g叠氮钠溶于0.8L蒸馏水中,调节pH值至8.0,定容至1L刻度线,过滤即得R1;

[0044] 2) 试剂R2的制备:

[0045] 步骤一:将123nm和220nm高低两种粒径的羧基化聚苯乙烯乳胶微球按一定比例组合后用蒸馏水洗涤3次后,加入100mmol/L PBS缓冲液稀释聚苯乙烯乳胶微球到0.01mg/ml;

[0046] 步骤二:向10ml稀释后的乳胶微球中加入2mgEDC和4mgNHS,室温下不断搅拌反应30分钟,然后离心,用PBS缓冲液洗涤以除去未反应的EDC和NHS,并稀释至0.01mg/ml;

[0047] 步骤三:将PCT抗体用Ph8.0的Tris缓冲液溶解稀释至1mg/ml,再将PCT抗体稀释液加入上述活化后的聚苯乙烯乳胶微球中,室温搅拌反应3h;

[0048] 步骤四:加入浓度为2%的乙醇胺反应终止反应,将得到的反应液离心,弃去上清液,沉淀物用PBS缓冲液混匀,15000rpm转速下离心10分钟,弃去上清液,重复三次,最后沉淀物加入100mmol/L Tris缓冲液中,再加入0.2g NaCl、0.15g BSA、0.01g叠氮钠、0.8g蔗糖搅拌均匀,即得试剂R2。

[0049] 实施例3本发明所述试剂盒

[0050] 1) 试剂R1的制备:

[0051] 按配方质量称取23.83g Hepes、20g NaCl、30g BSA、30g PEG6000、5g十二烷基三甲基氯化铵、3g吐温80、1g EDTA和1g叠氮钠溶于0.8L蒸馏水中,调节pH值至8.0,定容至1L刻度线,过滤即得R1;

[0052] 2) 试剂R2的制备:

[0053] 步骤一:将107nm和309nm高低两种粒径的羧基化聚苯乙烯乳胶微球按一定比例组合后用蒸馏水洗涤3次后,加入100mmol/L MES缓冲液稀释聚苯乙烯乳胶微球到0.01mg/ml;

[0054] 步骤二:向10ml稀释后的乳胶微球中加入2mgEDC和4mgNHS,室温下不断搅拌反应30分钟,然后离心,用200mmol/LPBS缓冲液洗涤以除去未反应的EDC和NHS,并稀释至0.01mg/ml;

[0055] 步骤三:将PCT抗体用Ph8.0的100mmol/L Hepes缓冲液溶解稀释至1mg/ml,再将PCT抗体稀释液加入上述活化后的聚苯乙烯乳胶微球中,室温搅拌反应3h;

[0056] 步骤四:加入浓度为2%的乙醇胺反应终止反应,将得到的反应液离心,弃去上清液,沉淀物用100mmol/L Hepes缓冲液混匀,15000rpm转速下离心10分钟,弃去上清液,重复三次,最后沉淀物加入100mmol/L Hepes缓冲液中,再加入0.15g NaCl、0.3g BSA、0.01g叠氮钠、0.5g蔗糖搅拌均匀,即得试剂R2。

[0057] 实施例4本发明试剂盒的性能评估:

[0058] 对上述实施例1~3制备的试剂盒用开立自制散射比浊特定蛋白仪进行测试,在反应杯中加入360 μ L试剂R1,向其中加入20 μ L全血样本,摇匀溶血1min,再加入60 μ L试剂R2混匀,30S后读取散光度A1,4分30秒后读取散光度A2,则反应散光度变化值为 $\Delta A=A_2-A_1$ 。先

用校准品进行多点定标,做出定标曲线。样本通过散射光变化值 ΔA ,从标准曲线中得出其中PCT浓度。以实施例3制备的试剂盒为例对线性范围、准确度、灵敏度、精密度、抗干扰性、相关性和稳定性等相关性能进行验证。

[0059] (1) 标准曲线制定

[0060] 采用六点定标法进行定标,PCT标准品浓度分别为0ng/ml、0.57ng/ml、2.26ng/ml、9.21ng/ml、19.28ng/ml和51.48ng/ml,测试结果如下:

[0061] 表1标准曲线制作

[0062]

PCT (ng/ml)	0	0.57	2.26	9.21	19.28	51.48
ΔA	27	152	394	1203	1598	1978

[0063] 根据表2数据,制作标准曲线,如图1所示。

[0064] (2) 线性范围检测

[0065] 取线性范围上限值51.48ng/ml的标准品,用生理盐水将其按1、1/2、1/4、1/8、1/16、1/32、1/64进行稀释,共配成7个浓度的溶液及0.2ng/ml的浓度,用特定蛋白仪进行测试,以理论PCT浓度作为横坐标自变量 X_i ,以实际测试值作为纵坐标应变量 Y_i 求出线性回归方程,计算线性回归相关系数 r ,结果显示线性回归方程为 $Y=0.9849X+0.2073$,其相关系数 $r=0.999$,表明本发明在线性范围0.2ng/ml—50ng/ml内相关性较好。

[0066] 表2线性范围分析结果

[0067]

理论值 X_i	0.2	0.8	1.61	3.22	6.43	12.87	25.74	51.48
实测值 Y_i	0.22	0.77	1.65	3.26	6.56	12.02	26.03	50.55

[0068] 根据表2的数据,制作线性范围曲线,如图2。

[0069] (3) 最低检测限

[0070] 以5%的BSA溶液作为空白试剂,在特定蛋白仪上连续测试20次,计算实验数据,以20次空白均值加上2SD作为最低检测限,最终结果显示本发明的最低检测限为0.2ng/ml。

[0071] (4) 精密度检测

[0072] 分别取PCT浓度高低两支全血样本,分别连续测试十次,计算其变异系数,结果见表3。

[0073] 表3精密度检测结果

[0074]

全血样本	测试次数	平均值	变异系数
低浓度PCT	10	0.633	3.25%
高浓度PCT	10	43.53	2.44%

[0075] (5) 回收率检测

[0076] 用纯品PCT标准品分别配制成浓度为100ng/ml、500ng/ml和900ng/ml的高标溶液,将人全血样本分成4份,1份直接测试,另外三份按样本:高标溶液=19:1加入上述三种高标溶液后再测试,平行测试3次求平均值,按下列公式进行回收率计算:

$$[0077] \quad R = \frac{C \times (V_0 + V) - C_0 \times V_0}{V \times C_s} \times 100\%$$

[0078] 式中R:回收率;

[0079] V:加高标溶液的体积;

[0080] V₀:人全血样本的体积;

[0081] C₀:人全血样本的浓度;

[0082] C:人全血样本加入高标溶液后的浓度;

[0083] C_s:高标溶液的浓度;

[0084] 测试结果见表4。

[0085] 表4回收率检测结果

[0086]	高标溶液浓度	C ₀	C	回收率 R
	100ng/ml	0.83	4.92	103%
[0087]	500ng/ml	0.83	23.88	100.3%
	900ng/ml	0.83	41.63	97.3%

[0088] 结果显示,本发明的回收率在97.3%-103%之间,准确度高。

[0089] (6) 抗干扰检测

[0090] 去浓度为0.57ng/ml的PCT校准品,加入相同体积的生理盐水与甘油三酯、抗坏血酸、胆红素和内风湿因子干扰物质,使其干扰浓度分别为甘油三酯30g/L、抗坏血酸1g/L、胆红素0.3g/L和内风湿因子500IU/mL,用本发明每个测试三次求平均值,对比加入生理盐水的样本,计算偏差,评价其抗干扰能力,结果如下:

[0091] 表5抗干扰检测结果

[0092]

干扰物质	测试结果	相对偏差
生理盐水	0.55	0
甘油三酯30g/L	0.53	-3.6%
抗坏血酸1g/L	0.57	3.6%
胆红素0.3g/L	0.59	7.2%
内风湿因子500IU/mL	0.58	5.5%

[0093] 结果表明,本发明试剂盒对于上述几种浓度干扰物质的抗干扰性都在±10%以内,具有较强的抗干扰性。

[0094] (7) 稳定性测试

[0095] 对本发明实施例3的试剂盒进行开瓶稳定性和长期稳定性测试。取本发明试剂盒于测试仪器上定标,开瓶后在2-8℃环境下贮存30天,每天进行开瓶30min操作,30天后对浓度分别为0.57ng/ml和51.48ng/ml的校准品进行开瓶稳定性测试,计算开瓶30天后测试结果偏差值,结果见表6。

[0096] 取本发明试剂盒于测试仪器上定标,在2-8℃环境下密封贮存12个月,12个月后对浓度分别为0.55ng/ml和50.88ng/ml的校准品进行长期稳定测试,计算开瓶12月后测试结

果偏差值,结果见表6。

[0097] 表6稳定性测试结果

[0098]		2-8℃开瓶 30 天稳定性		2-8℃长期存储 12 个月稳	
				定性	
[0099]	校准品标示值	0.57ng/ml	51.48ng/ml	0.55ng/ml	50.88ng/ml
	测试平均值	0.55ng/ml	50.53ng/ml	0.53 ng/ml	49.58ng/ml
	相对偏差	2.11%	1.85%	3.08%	2.55%

[0100] 结果表明,开瓶30天后,本发明试剂盒对0.57ng/ml和51.48ng/ml两种浓度校准品的测试偏差分别为2.11%和1.85%,稳定性良好。开瓶12个月后,本发明试剂盒对0.55ng/ml和50.88ng/ml两种浓度校准品的测试偏差分别为3.08%和2.55%,稳定性良好。

[0101] (8) 相关性检测

[0102] 从医院取40支经罗氏化学发光法试剂盒测试过的全血样本,用本发明试剂盒进行测试,每个样本测试三次取平均值,对比医院测试结果求相关性,结果见表7。

[0103] 以对比试剂盒测试结果为横坐标自变量,以本发明试剂盒测试结果为纵坐标应变量,做线性回归曲线,得回归方程为 $Y=1.0199X-0.0973$,线性相关系数 $R=0.996$,线性关系良好,测试结果可以有效作为临床检验。相关性曲线见图3。

[0104] 表7相关性检测结果

序号	化学发光法	本发明	序号	化学发光法	本发明	
1	0.35	0.32	21	0	0	
2	0.22	0.15	22	1.36	1.33	
3	0.81	0.9	23	0.93	0.86	
4	1.23	1.07	24	0.37	0.23	
5	0.56	0.5	25	6.52	6.41	
6	6.82	7.2	26	12.2	13.0	
7	15.56	14.88	27	0.64	0.55	
8	0.26	0.2	28	0.5	0.44	
[0105]	9	2.39	2.16	29	0.87	0.81
	10	7.92	8.21	30	2.24	2.16
	11	22.3	20.65	31	0.12	0
	12	0.63	0.59	32	0.56	0.63
	13	0.89	0.92	33	0.24	0.15
	14	0.5	0.63	34	0.1	0.3
	15	3.46	3.62	35	30.6	28.34
	16	7.26	7.22	36	0.8	0.69
	17	11.2	12.3	37	0.25	0.33
	18	26.3	25.55	38	1.36	1.45
	19	44.5	48.7	39	0.43	0.32
[0106]	20	0.11	0	40	0.62	0.58

[0107] 将实施例1~2制备的试剂盒进行线性范围、准确度、灵敏度、精密性、抗干扰性、相

关性和稳定性的验证,结果与实施例3制得的试剂盒的效果相同或相近。

[0108] 对比试验

[0109] 按照本发明实施例1制备方法制备检测降钙素原的试剂盒,与实施例1的区别在于,在试剂R2的制备中,聚苯乙烯乳胶微球由粒径为68nm和粒径为418nm的两种微球组成,其他步骤条件均相同,制备得到对比例1的检测试剂盒。聚苯乙烯乳胶微球由粒径为77nm和粒径为444nm两种微球组成,其他步骤条件均相同,制备得到对比例2的检测试剂盒。按照本发明实施例4的方法,对对比例1和对比例2的试剂盒的灵敏度和线性范围进行检测,结果显示对比例1和对比例2的试剂盒最低检测限分别为0.80ng/ml、1.0ng/ml,线性范围分析结果见表8和图4、图5。

[0110] 表8对比例1和对比例2试剂盒的线性范围分析结果

[0111]

对比例1试剂盒	理论值 X_i	0.20	0.80	1.61	3.22	6.43	12.87	25.74	51.48
	实测值 Y_i	0.58	0.85	1.47	2.84	6.15	14.92	28.12	47.34
对比例2试剂盒	理论值 X_i	0.20	0.80	1.61	3.22	6.43	12.87	25.74	51.48
	实测值 Y_i	0.87	0.97	1.48	2.94	5.28	14.68	28.29	46.11

[0112] 结果显示,对比例1和对比例2的试剂盒灵敏度均不如本发明试剂盒高,线性检测范围也不如本发明试剂盒宽。

[0113] 以上所述仅是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

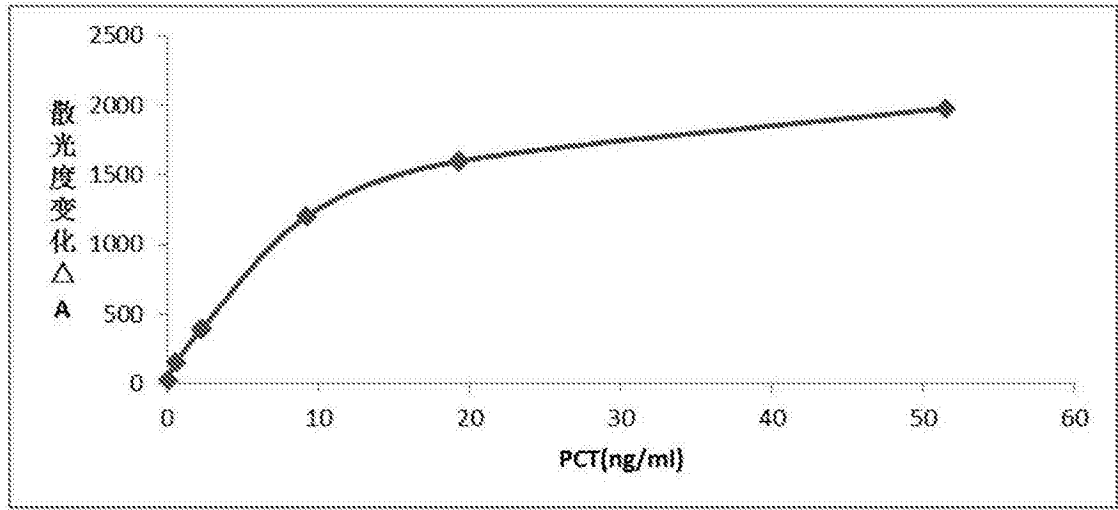


图1

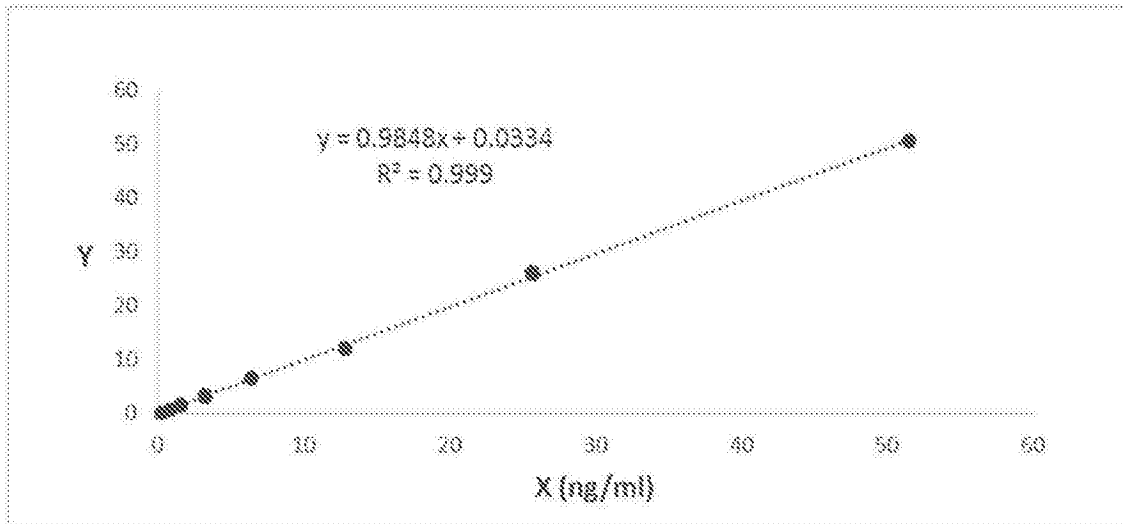


图2

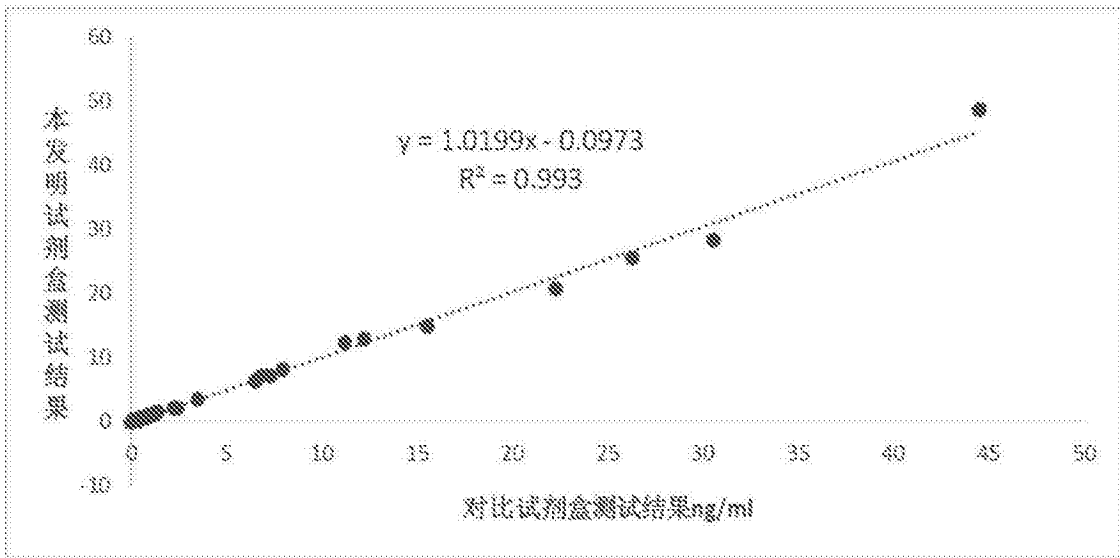


图3

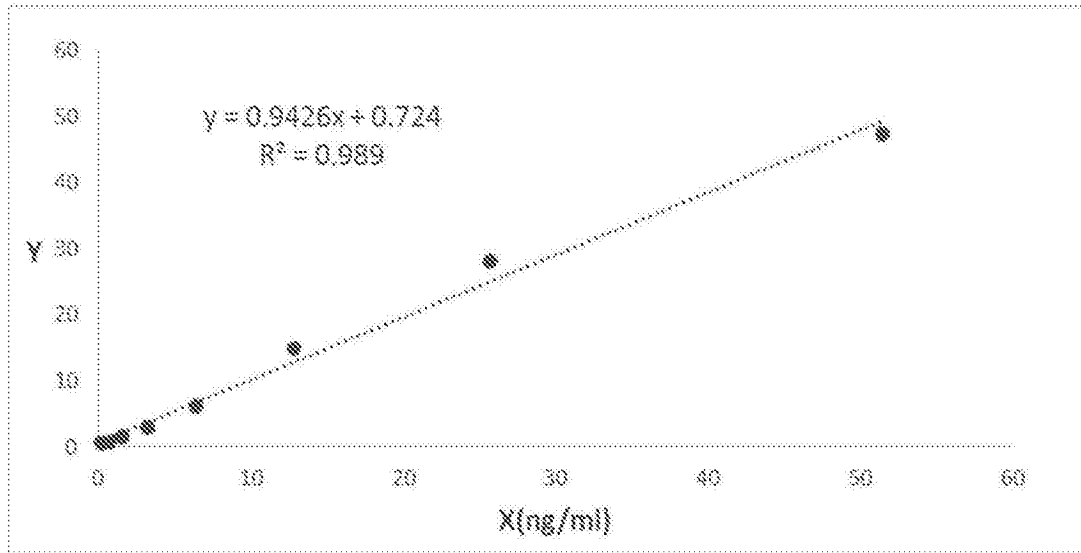


图4

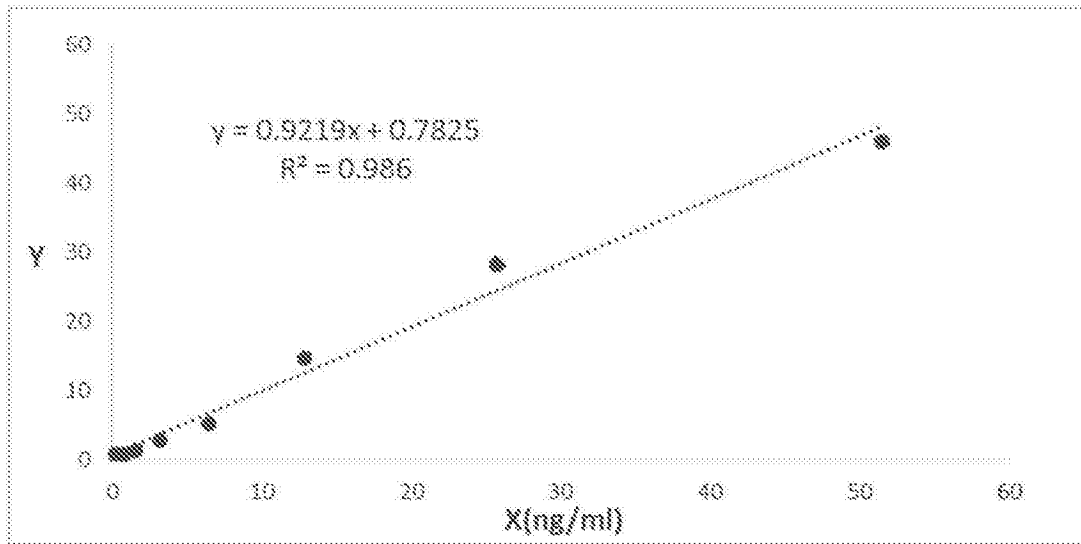


图5

专利名称(译)	一种检测降钙素原的免疫比浊试剂盒		
公开(公告)号	CN107340395A	公开(公告)日	2017-11-10
申请号	CN201710543451.3	申请日	2017-07-05
[标]申请(专利权)人(译)	深圳开立生物医疗科技股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	深圳开立生物医疗科技股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	深圳开立生物医疗科技股份有限公司		
[标]发明人	蒋玉林 刘兵 陈彬 陈智峰		
发明人	蒋玉林 刘兵 陈彬 陈智峰		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/543 G01N33/531 G01N21/51		
CPC分类号	G01N21/51 G01N33/531 G01N33/54313 G01N33/68		
代理人(译)	王仲凯		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及医学免疫领域，特别涉及一种检测降钙素原的免疫比浊试剂盒。该试剂盒包括试剂R1和试剂R2；试剂R1由缓冲液、稳定剂、保护剂、增凝剂、溶血剂和防腐剂组成；试剂R2由缓冲液、稳定剂、保护剂、防腐剂、聚苯乙烯乳胶微球-降钙素原抗体复合物组成；所述试剂R2中，聚苯乙烯乳胶微球由80nm~150nm和150nm~400nm的两种不同粒径的微球组成。试验表明本发明所述试剂盒稳定性好，保存期长，可直接检测全血中的PCT，检测的结果准确性高、灵敏度高、线性检测范围宽。

PCT (ng/ml)	0	0.57	2.26	9.21	19.28	51.48
ΔA	27	152	394	1203	1598	1978