



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107918009 A

(43)申请公布日 2018.04.17

(21)申请号 201711140846.5

(22)申请日 2017.11.16

(71)申请人 山东诺安爱迪尔生物工程有限公司

地址 271000 山东省泰安市泰山区泰山工
业园区华益路66号

(72)发明人 刘振平 赵学彬

(74)专利代理机构 北京弘权知识产权代理事务

所(普通合伙) 11363

代理人 逯长明 许伟群

(51) Int. Cl.

G01N 33/531(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

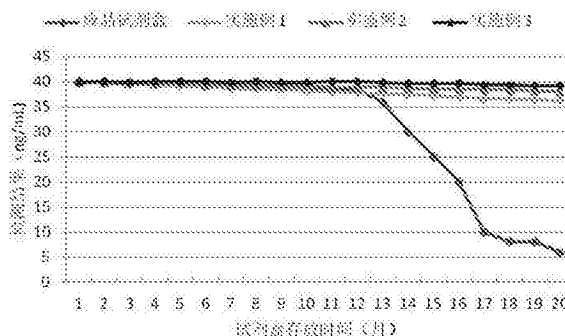
权利要求书1页 说明书5页 附图1页

(54)发明名称

一种稳定的降钙素原检测试剂盒

(57)摘要

本发明是一种稳定的降钙素原检测试剂盒,属于临床体外检测试剂领域,本发明对常规现有试剂进行了改进,加入了聚乙二醇、牛血清白蛋白(BSA)和EDTA在试剂中,有效增强了抗体的免疫活性,从而提供一种稳定高效、保存时间长的降钙素原PCT检测试剂,保证试剂能在2-8℃条件下稳定放置20个月,降钙素原PCT免疫比浊法检测试剂盒包含试剂R1、试剂R2,本发明提供的降钙素原检测试剂抗体活性高,准确性好。



1. 一种稳定的降钙素原检测试剂盒,其特征在于,包括:体积比为3:1的试剂R1和试剂R2,所述试剂R1和试剂R2的组成及含量如下:

试剂R1:

磷酸盐缓冲液 40mmol/L

聚乙二醇 0.1mmol/L

氯化钠 1mmol/L

ProClin300 0.1%;

试剂R2:

羊抗人降钙素原抗体包被乳胶颗粒 2%

磷酸盐缓冲液 40mmol/L

牛血清白蛋白 20-40g/L

EDTA 0.1-1mmol/L

氯化钠 1mmol/L

ProClin300 0.1%。

一种稳定的降钙素原检测试剂盒

技术领域

[0001] 本发明涉及一种稳定的降钙素原检测试剂盒,属于临床体外检测试剂领域。

背景技术

[0002] 降钙素原是降钙素的前体物,具有116个氨基酸糖蛋白,在人体内的半衰期约为20-24小时,稳定性好,降钙素原在正常人血清中含量极低,在系统炎症反应综合症(SIRS)、败血症、急慢性肺炎、急性胰腺炎、活动性肝炎、创伤等患者血清中显著升高,而在病素毒感染时则保持低水平,降钙素原在严重细菌感染(2-3小时后)早期即可升高,因此具有早期诊断价值。在局部感染、病毒感染、慢性非特异性炎症、移植物宿主排斥反应或自身免疫性等疾病时降钙素原的浓度不增加或轻微增加,而只在严重的全身系统性感染时才明显增加,这就决定了降钙素原的高度特异性,因此也可用于各种临床情况的鉴别诊断。降钙素原的浓度和炎症严重程度成正相关,并随着炎症的控制和病情的缓解而降低至正常水平,因而降钙素原又可作为判断病情与预后以及疗效观察的可靠指标。

[0003] 降钙素原的检测方法有放射免疫学分析法、双抗夹心免疫化学法、胶体金比色法和免疫比浊法。放射免疫学分析法耗时长(19-22h),而且有放射性元素的污染导致其使用受到限制。胶体金比色法有快速简便,易观察的特点,但只能进行定性或半定量检测,灵敏度低。双抗夹心免疫化学法操作简便,特异性强,但灵敏度较低、线性范围较窄。与其他方法相比,免疫比浊法操作简便,结果准确可靠,自动化程度高,且检测快速,具有较高的临床可用度。

[0004] 常规的降钙素原免疫比浊法检测试剂盒抗体的免疫活性随着放置时间逐渐衰减,降低降钙素原免疫比浊法检测试剂盒的稳定性,制约了免疫比浊法对降钙素原的检测应用。

发明内容

[0005] 针对降钙素原免疫比浊法检测试剂盒的应用存在的问题,本发明对常规现有试剂进行了改进,加入了聚乙二醇、牛血清白蛋白(BSA)和EDTA在试剂中,有效增强了抗体的免疫活性,从而提供一种稳定高效、保存时间长的降钙素原检测试剂,保证试剂能在2-8℃条件下稳定放置20个月。

[0006] 本发明是通过以下措施实现的:

[0007] 一种稳定的降钙素原检测试剂盒,包括试剂R1和试剂R2,各组分原料含量如下:

[0008] 试剂R1:

	磷酸盐缓冲液	40mmol/L
[0009]	聚乙二醇	0.1mmol/L
	氯化钠	1mmol/L
[0010]	ProClin300	0.1%;
	试剂R2:	
	羊抗人降钙素原抗体包被乳胶颗粒	2%
	磷酸盐缓冲液	40mmol/L
[0011]	牛血清白蛋白	20-40g/L
	EDTA	0.1-1mmol/L
	氯化钠	1mmol/L
	ProClin300	0.1%。

[0012] 本发明的有益效果包括:

[0013] 本发明提供了一种稳定的降钙素原检测试剂盒的抗体活性高,准确性好,并且本试剂在2-8℃能稳定保存20个月。

附图说明

[0014] 图1为成品试剂盒与本发明实施例1、2、3试剂放置在2-8℃条件下的稳定性曲线图。

具体实施方式

[0015] 为了更好的理解本发明,下面结合具体的实施例进行说明。

[0016] 实施例1

[0017] 一种稳定的降钙素原检测试剂盒,包括体积比为3:1的试剂R1和试剂R2,试剂R1和试剂R2的组分组成如下:

[0018] 试剂R1:

	磷酸盐缓冲液	40mmol/L
[0019]	聚乙二醇	0.1mmol/L
	氯化钠	1mmol/L
	ProClin300	0.1%;

[0020] 试剂R2:

	羊抗人降钙素原抗体包被乳胶颗粒	2%
	磷酸盐缓冲液	40mmol/L
	牛血清白蛋白	20g/L
[0021]	EDTA	0.1mmol/L
	氯化钠	1mmol/L
	ProClin300	0.1%。

[0022] 本实施例描述的降钙素原检测试剂盒,在使用时采用迪瑞CS-600B全自动生化分析仪进行测定,具体操作步骤如表1所示。

[0023] 表1降钙素原检测试剂盒的检测方法

[0024]

加入物	空白管	标准管	测定管
试剂 R1	225 μ L	225 μ L	225 μ L
纯化水	18 μ L	-	-
校准液	-	18 μ L	-
样本	-	-	18 μ L
混匀, 37°C 孵育 3~5 分钟			
试剂 R2	75 μ L	75 μ L	75 μ L
混匀, 延迟 1 分钟, 在 600nm 波长下, 读取各管吸光度 A1, 5 分钟后读取吸光度 A2, 计算 $\Delta A, \Delta A=(A2-A1)$			

[0025] 计算方法: 样本浓度 = (样本 $\Delta A \div$ 校准 ΔA) \times 校准浓度。

[0026] 实施例2

[0027] 一种稳定的降钙素原检测试剂盒,包括体积比为3:1的试剂R1和试剂R2,试剂R1和试剂R2的组分组成如下:

[0028] 试剂R1:

	磷酸盐缓冲液	40mmol/L
	聚乙二醇	0.1mmol/L
[0029]	氯化钠	1mmol/L
	ProClin300	0.1%;

[0030] 试剂R2:

- | | | |
|--------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| | 羊抗人降钙素原抗体包被乳胶颗粒 | 2% |
| | 磷酸盐缓冲液 | 40mmol/L |
| | 牛血清白蛋白 | 30g/L |
| [0031] | EDTA | 0.5mmol/L |
| | 氯化钠 | 1mmol/L |
| | ProClin300 | 0.1%。 |
| [0032] | 测试方法与实施例1相同。 | |
| [0033] | 实施例3 | |
| [0034] | 一种稳定的降钙素原检测试剂盒,包括体积比为3:1的试剂R1和试剂R2,试剂R1和试剂R2的组分组成如下: | |
| [0035] | 试剂R1: | |
| | 磷酸盐缓冲液 | 40mmol/L |
| | 聚乙二醇 | 0.1mmol/L |
| [0036] | 氯化钠 | 1mmol/L |
| | ProClin300 | 0.1%; |
| [0037] | 试剂R2: | |
| | 羊抗人降钙素原抗体包被乳胶颗粒 | 2% |
| | 磷酸盐缓冲液 | 40mmol/L |
| | 牛血清白蛋白 | 40g/L |
| [0038] | EDTA | 1mmol/L |
| | 氯化钠 | 1mmol/L |
| | ProClin300 | 0.1%。 |
| [0039] | 测试方法与实施例1相同。 | |
| [0040] | 相关性检测: | |
| [0041] | 利用降钙素原标准溶液与生理盐水配置成不同浓度的样本,降钙素原检测试剂盒(胶乳增强免疫比浊法)(下面简称为成品试剂盒)作为对照,对制备的降钙素原检测试剂盒进行准确度验证,检测结果如表2所示。 | |
| [0042] | 表2相关性检测结果 | |

[0043]

理论浓度 (ng/mL)	成品试剂盒检测 结果 (ng/mL)	实施例 1 检测结 果 (ng/mL)	实施例 2 检测结 果 (ng/mL)	实施例 3 检测结 果 (ng/mL)
20.00	20.02	19.58	20.10	19.67
10.00	9.57	9.48	9.62	9.64
5.00	5.07	5.15	4.92	4.75
2.00	2.12	1.91	1.93	2.26
1.00	1.17	0.95	1.00	1.09
0.10	0.23	0.05	0.26	0.06
相关系数	0.9993	0.9994	0.9994	0.9995

[0044] 通过检测数据可知成品试剂盒检测不同浓度降钙素原标准液得到的相关系数为0.9993,而实施例1,2,3所制备的试剂盒检测相关系数分别为0.9994、0.9994、0.9995,其相关性类似于成品检测试剂盒,说明实施例1,2,3制备的降钙素原检测试剂盒的准确度等同于市场认可的降钙素原检测试剂盒。

[0045] 降钙素原检测试剂盒稳定性验证:

[0046] 对比成品试剂盒及实施例1、实施例2、实施例3的稳定性。具体操作步骤为:分别将成品试剂盒和实施例1、实施例2、实施例3的检测试剂盒放置在2~8℃的冰箱中,每月定时取出一组,按照操作流程对降钙素原质控品(理论值为40ng/mL)进行检测,测定其浓度,取平均值,从而确定试剂的稳定时间,检测数据如图1所示。

[0047] 经过稳定性验证,在试剂放置20个月以后,实施例1,2,3所配置的检测试剂抗体免疫活性衰减很小,检测结果稳定,而成品试剂盒检测试剂放置一年以后其抗体免疫活性出现显著衰减,因此,在常规配方的基础上,同时加入聚乙二醇、牛血清白蛋白(BSA)和EDTA在试剂中可使得试剂在2~8℃放置20个月其中抗体的免疫活性依然稳定,检测效果依然能够达到要求的结果。

[0048] 综合上述分析,本发明提供一种稳定的降钙素原检测试剂盒,通过在试剂中加入聚乙二醇、牛血清白蛋白(BSA)和EDTA,对试剂的准确度没有影响,同时试剂的稳定性提升较大。因此,本发明一种稳定的降钙素原检测试剂盒有利于在市场中推广。

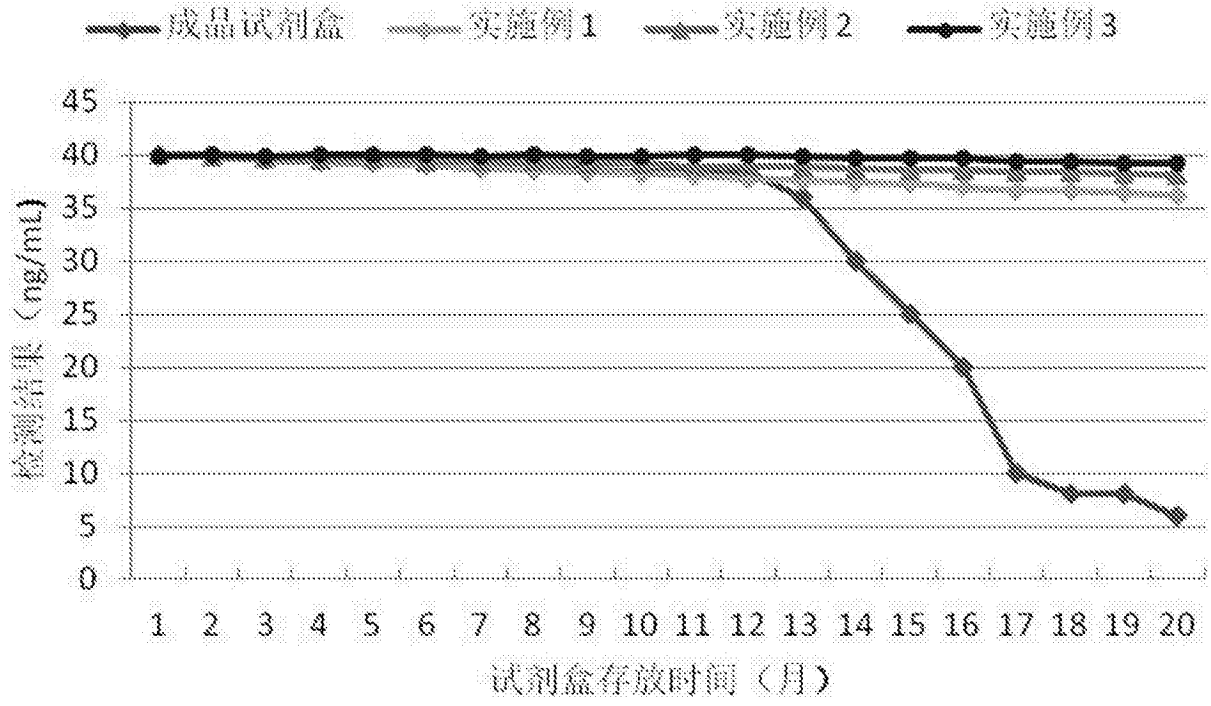


图1

专利名称(译)	一种稳定的降钙素原检测试剂盒		
公开(公告)号	CN107918009A	公开(公告)日	2018-04-17
申请号	CN201711140846.5	申请日	2017-11-16
[标]发明人	刘振平 赵学彬		
发明人	刘振平 赵学彬		
IPC分类号	G01N33/531 G01N33/543		
CPC分类号	G01N33/531 G01N33/54313		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明是一种稳定的降钙素原检测试剂盒，属于临床体外检测试剂领域，本发明对常规现有试剂进行了改进，加入了聚乙二醇、牛血清白蛋白(BSA)和EDTA在试剂中，有效增强了抗体的免疫活性，从而提供一种稳定高效、保存时间长的降钙素原PCT检测试剂，保证试剂能在2-8°C条件下稳定放置20个月，降钙素原PCT免疫比浊法检测试剂盒包含试剂R1、试剂R2，本发明提供的降钙素原检测试剂抗体活性高，准确性好。

