



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109490530 A

(43)申请公布日 2019.03.19

(21)申请号 201811390936.4

(22)申请日 2018.11.21

(71)申请人 长沙金域医学检验所有限公司

地址 410000 湖南省长沙市高新开发区麓
天路28号金瑞麓谷科技园D1-D2栋1-8
层101-801号

(72)发明人 邓文博 李姣

(51)Int.Cl.

G01N 33/535(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

(54)发明名称

一种抗精子抗体检测方法

(57)摘要

本申请公开一种抗精子抗体检测方法,包括:步骤一:血清提取及试剂准备;步骤二:准备包被孔与未包被孔,将步骤一准备的试剂中的稀释后的标准品、质控物及已稀释血清至包被孔与被包被孔中,水浴下进行第一次温育;步骤三:根据所述步骤二中温育后的溶液孵育后,清洗并干燥微孔条,在所述微孔条每孔中加入稀释后酶标记抗体100u1,水浴进行第二次温育;步骤四:清洗并干燥微孔条,每孔中加入底物液100u1,避光室温显色10-15分钟;步骤五:每孔中加入终止液50u1,在酶标仪波长450nm比色读消光系数;步骤六:结果读取为0-75U/ml判读为正常;操作简单便利并且灵活、降低检测成本,减少步骤流程,提高劳动效率,流程科学,标准明确,实践操作效果好。

1. 一种抗精子抗体检测方法,其特征在于,包括:

步骤一:血清提取及试剂准备;

步骤二:准备包被孔与未包被孔,将步骤一准备的试剂中的稀释后的标准品、质控物及已稀释血清至包被孔与被包被孔中,水浴下进行第一次温育;

步骤三:根据所述步骤二中温育后的溶液孵育后,清洗并干燥微孔条,在所述微孔条每孔中加入稀释后酶标记抗体100u1,水浴进行第二次温育;

步骤四:清洗并干燥微孔条,每孔中加入底物液100u1,避光室温显色10—15分钟;

步骤五:每孔中加入终止液50u1,在酶标仪波长450nm比色读消光系数;

步骤六:结果读取为0—75U/ml判读为正常。

2. 根据权利要求1所述的抗精子抗体检测方法,其特征在于,所述步骤三和步骤四中的清洗并干燥微孔条包括:将微孔条在滤纸上轻轻拍打以除去微孔中的残液.采用挤压式清洗瓶,则让每个微孔充满清洗液,然后弃去清洗液.在清洗过程中应避免气泡的产生.重复清洗操作两次以上,最后在滤纸上拍干微孔条。

3. 根据权利要求2所述的抗精子抗体检测方法,其特征在于,还包括质控步骤:

每次实验均要进行高低浓度质控,并绘制质控图;

每块板均带阴阳性质控品,质控品位置可随机放置在ELISA板中,也可放置在板的前面、中间、后面,阴性质控品为之前检测结果小于75U/ml的病人样本,阳性质控品为试剂盒内自带的质控品。

每批次质控结果录入URT,阳性质控使用westgard多规则中的1—3S和2—2S规则,阴性质控只需为阴性即可,若在控,则当批次实验结果有效;若失控,则需分析失控原因并按失控类型对当批次实验结果进行复查,并填写室内质控失控报告。

4. 根据权利要求3所述的抗精子抗体检测方法,其特征在于,所述标准品稀释方式为倍比稀释。

5. 根据权利要求4所述的抗精子抗体检测方法,其特征在于,所述底物液为TMB底物液。

6. 根据权利要求5所述的抗精子抗体检测方法,其特征在于,所述酶标记抗体包括过氧化酶标记的抗人免疫球蛋白,抗人免疫球蛋白包括IgA、IgG和IgM。

一种抗精子抗体检测方法

技术领域

[0001] 本发明属于基因检测领域,具体是指一种抗精子抗体检测方法。

背景技术

[0002] 抗精子抗体既可在女性也可在男性体内产生。男性产生AsAb的主要机制是血屏障因疾病或创伤受损,使隐藏的精子或其可溶性膜抗原逸出,刺激机体免疫系统产生抗精子自身免疫抗体,简称AsAb。AsAb可抑制精子活动或受精,引起男性不育。女性产生AsAb的主要机制是正常生殖道中能降解精子抗原的酶系统缺陷,致使进入的精子抗原得以保存完整,而作为同种异物抗原刺激女性免疫系统则产生AsAb,影响生育。

[0003] 人类精子抗原十分复杂,包括附着于精子表面的“精子附着抗原”和精子核抗原、胞质抗原、膜固有抗原等,共100余种,其中有些是精子特有的,有些是非特异性的有些与生育有关,有些无关。这些抗原均能引发机体产生相关抗体,抗精子抗体按其对抗精子的作用分为凝集性、制动性和结合性3类。

[0004] 通常不育症患者血清中AsAb检出率为20%—30%左右,而在梗阻性无精患者中,AsAb患者,AsAb阳性率可高达60%。不孕患者血清与精浆中AsAb的Ig种类有所不同,血清中通常以IgM、IgG类为主;而精浆中则以IgG、IgA类出现较多。

[0005] AsAb阳性也可见于其它原因,如输精管阻塞以及睾丸和附睾的损伤和炎症。鉴于AsAb的异质性以及其中很多AsAb针对的靶抗原与生育并不相关,因此,AsAb的阳性结果必须结合临床综合考虑。

[0006] 因此,如何研发一种抗精子抗体检测方法,能够解决上述问题,便成为亟待解决的技术问题。

发明内容

[0007] 本申请解决的主要问题是提供一种抗精子抗体检测方法,操作简单、流程科学,标准明确,实践操作效果好,以解决一种抗精子抗体检测方法成本高、流程不科学,标准不明确,实践操作效果不佳、操作难度高、难以复制操作的技术问题。

[0008] 为了解决上述技术问题,本发明公开了一种抗精子抗体检测方法,其特征在于,包括:

[0009] 步骤一:血清提取及试剂准备;

[0010] 步骤二:准备包被孔与未包被孔,将步骤一准备的试剂中的稀释后的标准品、质控物及已稀释血清至包被孔与未包被孔中,水浴下进行第一次温育;

[0011] 步骤三:根据所述步骤二中温育后的溶液孵育后,清洗并干燥微孔条,在所述微孔条每孔中加入稀释后酶标记抗体100u1,水浴进行第二次温育;

[0012] 步骤四:清洗并干燥微孔条,每孔中加入底物液100u1,避光室温显色10—15分钟;

[0013] 步骤五:每孔中加入终止液50u1,在酶标仪波长450nm比色读消光系数;

[0014] 步骤六:结果读取为0-75U/ml判读为正常。

[0015] 进一步的,所述步骤三和步骤四中的清洗并干燥微孔条包括:将微孔条在滤纸上轻轻拍打以除去微孔中的残液.采用挤压式清洗瓶,则让每个微孔充满清洗液,然后弃去清洗液.在清洗过程中应避免气泡的产生.重复清洗操作两次以上,最后在滤纸上拍干微孔条。

[0016] 进一步的,还包括质控步骤:

[0017] 每次实验均要进行高低浓度质控,并绘制质控图;

[0018] 每块板均带阴阳性质控品,质控品位置可随机放置在ELISA板中,也可放置在板的前面、中间、后面,阴性质控品为之前检测结果小于75U/ml的病人样本,阳性质控品为试剂盒内自带的质控品。

[0019] 每批次质控结果录入URT,阳性质控使用westgard多规则中的1-3S和2-2S规则,阴性质控只需为阴性即可,若在控,则当批次实验结果有效;若失控,则需分析失控原因并按失控类型对当批次实验结果进行复查,并填写室内质控失控报告。

[0020] 进一步的,所述标准品稀释方式为倍比稀释。

[0021] 进一步的,所述底物液为TMB底物液。

[0022] 进一步的,所述酶标记抗体包括过氧化酶标记的抗人免疫球蛋白,抗人免疫球蛋白包括IgA、IgG和IgM。

[0023] 本申请提供的抗精子抗体检测方法操作简单便利并且灵活、降低检测成本,减少步骤流程,提高劳动效率,流程科学,标准明确,实践操作效果好。

具体实施方式

[0024] 如在说明书及权利要求当中使用了某些词汇来指称特定组件。本领域技术人员应可理解,硬件制造商可能会用不同名词来称呼同一个组件。本说明书及权利要求并不以名称的差异来作为区分组件的方式,而是以组件在功能上的差异来作为区分的准则。说明书后续描述为实施本申请的较佳实施方式,然所述描述乃以说明本申请的一般原则为目的,并非用以限定本申请的范围。本申请的保护范围当视所附权利要求所界定者为准。

[0025] 实施例一:

[0026] 取患者坐位静脉血,血清或血浆1ml,标本应无溶血,无脂血,无微生物污染;对溶血++++,黄疸++++,脂血++++的标本拒收,标本的采集应使用清洁无菌的一次性干燥管,标本用量最少100u1,血清和血浆样本在2-8℃保存,保存10天,若室温保存,可存放1天,若长期保存,需置-20℃保存、同时避免反复冻融血清。

[0027] 试剂应在2-8℃保存,未用的包被板应放置防潮剂密封保存。已开封的包被板可在2-8℃稳定6周。

[0028] 已稀释的洗涤液在温室可保存1天,要求现配先用,2-8℃可保存4周。

[0029] 浓缩酶可保存到试剂有效期,但稀释后酶仅能在常温中稳定20分钟。

[0030] 复融后稀释液在2-8℃可保存2天,-20℃可保存2个月。

[0031] 试剂盒包括:(1)反应板;(2)600倍稀释后使用的浓缩液1瓶;(3)标准品S53瓶;(4)质控K3瓶;(5)稀释液3瓶;(6)20倍稀释后使用的浓缩洗液(7)底物液1瓶;(8)终止液1瓶。

[0032] 操作步骤包括:

[0033] 将试剂从冰箱中取出并平衡至室温约30min.将浓缩洗涤液用蒸馏水按所需量以

要求比例进行稀释待用。

[0034] 所用试剂使用前应充分混匀:不同的试剂瓶盖、不同批号的试剂不能混用。

[0035] 洗涤液:25ml浓缩洗涤液+去离子水475ml,2-8℃保存4周。

[0036] 稀释液:每瓶冻干稀释液粉末+20ml释后洗涤液,2-8℃保存2天。

[0037] 标准品:标准品稀释为一个倍比稀释过程。

[0038] 质控物:1瓶质控物冻干粉末+1ml稀释后洗涤液溶解。

[0039] 联物稀释:用溶解后样本稀释液将浓缩酶联物按1:601倍稀释,需加酶前20分钟以内配制。

[0040] 样本稀释:待检血清5u1+稀释液500u1。

[0041] 根据需要准备包被孔与未包被孔、各标准品、质控物、病人样本都应做包被与未包被孔,将未用的包被条立即密封放回2-8℃;

[0042] 分别加100u1标准品、质控物及已稀释血清至包被孔与被包被孔中,37℃水浴下温育60分钟。

[0043] 解育后,将微孔条在滤纸上轻轻拍打以除去微孔中的残液。采用挤压式清洗瓶,则让每个微孔充满清洗液,然后弃去清洗液。在清洗过程中应避免气泡的产生。重复清洗操作两次以上,最后在滤纸上拍干微孔条。

[0044] 每孔中加入稀释后酶标记抗体100u1,37℃水浴温育60分钟;

[0045] 洗板,将微孔条在滤纸上轻轻拍打以除去微孔中的残液。采用挤压式清洗瓶,则让每个微孔充满清洗液,然后弃去清洗液。在清洗过程中应避免气泡的产生。重复清洗操作两次以上,最后在滤纸上拍干微孔条。

[0046] 每孔中加入底物液100u1,避光室温显色10-15分钟。

[0047] 每孔中加入终止液50u,在酶标仪波长450nm,参考波长600nm-650nm比色读消光系数。

[0048] 还包括质控步骤:

[0049] 每次实验均要进行高低浓度质控,并绘制质控图;

[0050] 每块板均带阴阳性质控品,质控品位置可随机放置在ELISA板中,也可放置在板的前面、中间、后面,阴性质控品为之前检测结果小于75U/ml的病人样本,阳性质控品为试剂盒内自带的质控品。

[0051] 每批次质控结果录入URT,阳性质控使用westgard多规则中的1-3S和2-2S规则,阴性质控只需为阴性即可,若在控,则当批次实验结果有效;若失控,则需分析失控原因并按失控类型对当批次实验结果进行复查,并填写室内质控失控报告。

[0052] 所述标准品稀释方式为倍比稀释。

[0053] 所述底物液为TMB底物液。

[0054] 所述酶标记抗体包括过氧化酶标记的抗人免疫球蛋白,抗人免疫球蛋白包括IgA、IgG和IgM。

[0055] 上述说明示出并描述了本申请的若干优选实施例,但如前所述,应当理解本申请并非局限于本文所披露的形式,不应看作是对其他实施例的排除,而可用于各种其他组合、修改和环境,并能够在本文所述申请构想范围内,通过上述教导或相关领域的技术或知识进行改动。而本领域人员所进行的改动和变化不脱离本申请的精神和范围,则都应在本申

请所附权利要求的保护范围内。

专利名称(译)	一种抗精子抗体检测方法		
公开(公告)号	CN109490530A	公开(公告)日	2019-03-19
申请号	CN201811390936.4	申请日	2018-11-21
[标]申请(专利权)人(译)	长沙金城医学检验所有限公司		
申请(专利权)人(译)	长沙金城医学检验所有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	长沙金城医学检验所有限公司		
[标]发明人	邓文博 李姣		
发明人	邓文博 李姣		
IPC分类号	G01N33/535 G01N33/68		
CPC分类号	G01N33/535 G01N33/6854		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本申请公开一种抗精子抗体检测方法，包括：步骤一：血清提取及试剂准备；步骤二：准备包被孔与未包被孔，将步骤一准备的试剂中的稀释后的标准品、质控物及已稀释血清至包被孔与被包被孔中，水浴下进行第一次温育；步骤三：根据所述步骤二中温育后的溶液孵育后，清洗并干燥微孔条，在所述微孔条每孔中加入稀释后酶标记抗体100u1，水浴进行第二次温育；步骤四：清洗并干燥微孔条，每孔中加入底物液100u1，避光室温显色10 - 15分钟；步骤五：每孔中加入终止液50u1，在酶标仪波长450nm比色读消光系数；步骤六：结果读取为0-75U/ml判读为正常；操作简单便利并且灵活、降低检测成本，减少步骤流程，提高劳动效率，流程科学，标准明确，实践操作效果好。