



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112352161 A

(43) 申请公布日 2021. 02. 09

(21) 申请号 201980046731.0

(22) 申请日 2019.06.28

(30) 优先权数据

62/697651 2018.07.13 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.01.12

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/039790 2019.06.28

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2020/014012 EN 2020.01.16

(71) 申请人 美国西门子医学诊断股份有限公司

地址 美国纽约州

(72) 发明人 T·魏

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 任晓华 黄希贵

(51) Int.Cl.

G01N 33/92 (2006.01)

G01N 33/72 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

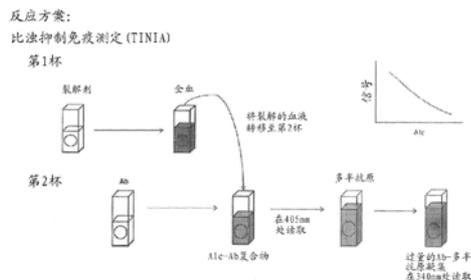
权利要求书3页 说明书12页 附图3页

(54) 发明名称

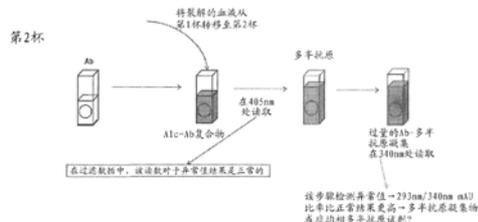
用于检测由免疫测定试剂的不完全分散引起的异常结果的方法

(57) 摘要

公开了检测和标记和/或压制由比浊免疫测定中使用的免疫测定试剂的不完全分散引起的异常结果的方法。



在哪个步骤发生异常值(不精确)?



1. 检测由比浊免疫测定法中使用的试剂的不完全分散引起的异常结果的方法,所述方法包括以下步骤:

(A) 在反应杯中,使怀疑含有靶标分析物的生物样品与靶标分析物-特异性结合配偶体反应,由此形成可溶性分析物/特异性结合配偶体复合物;

(B) 将多半抗原试剂添加至所述反应杯中,其中所述多半抗原试剂与过量的靶标分析物-特异性结合配偶体反应以形成不溶性的多半抗原/靶标分析物-特异性结合配偶体复合物;

(C) 用光照射所述反应杯;

(D) 通过测量第一波长处的吸光度值和第二波长处的吸光度值,比浊检测反应混合物中的不溶性的多半抗原/靶标分析物-特异性结合配偶体复合物和未分散的多半抗原试剂;

(E) 将测量的第一和第二波长吸光度值与在测定校准期间获得自在不同分析物浓度下的第一和第二波长吸光度的建立回归的预测值进行比较;和

(F) 如果测量的第二波长吸光度值与所述预测值相比,超出建立的标记常数,则将通过分开算法获得的靶标分析物的浓度值标记为不可接受。

2. 权利要求1的方法,其中所述靶标分析物-特异性结合配偶体是针对所述靶标分析物的抗体。

3. 权利要求2的方法,其中所述分析物是糖化血红蛋白(HbA1c),所述靶标分析物-特异性结合配偶体是HbA1c抗体,且所述多半抗原包含多个HbA1c表位。

4. 权利要求1的方法,其中所述第一波长在约190 nm至约300 nm的范围内,且所述第二波长在约300 nm至约650 nm的范围内。

5. 权利要求4的方法,其中所述第一波长是约293 nm,且所述第二波长是约340 nm。

6. 权利要求1的方法,其进一步包括测量第三波长,且其中在第一波长处的吸光度是作为定义为 $(mAU_{\text{第一波长}} - mAU_{\text{第三波长}})$ 的吸光度的第一变化计算的双色值,且在第二波长处的吸光度是作为定义为 $(mAU_{\text{第二波长}} - mAU_{\text{第三波长}})$ 的吸光度的第二变化计算的双色值。

7. 权利要求6的方法,其中所述第三波长在约600 nm至约850 nm的范围内。

8. 权利要求1的方法,其进一步包括建立(E)的回归的步骤。

9. 权利要求1的方法,其中(E)的回归是线性回归。

10. 权利要求1的方法,其中步骤(F)进一步被定义为:如果测量的第二波长吸光度值与所述预测值相比,超出建立的标记常数,则将通过分开算法获得的靶标分析物的浓度值标记并压制,且其中所述方法进一步包括以下步骤:

(G) 如果测量的第二波长吸光度值与所述预测值相比,没有超出建立的标记常数,则报告靶标分析物浓度。

11. 检测由比浊免疫测定法中使用的多半抗原试剂的不完全分散引起的异常结果的方法,所述方法包括以下步骤:

(A) 在反应杯中,使怀疑含有包含糖化血红蛋白(HbA1c)的靶标分析物的生物样品与针对靶标分析物的抗HbA1c抗体反应,由此形成可溶性HbA1c-抗体复合物;

(B) 将多半抗原试剂添加至所述反应杯中,其中所述多半抗原试剂与过量的抗HbA1c抗体反应以形成不溶性的多半抗原/靶标分析物-特异性结合配偶体复合物;

(C) 用光照射所述反应杯;

(D) 通过测量第一波长处的吸光度值和第二波长处的吸光度值,比浊检测反应混合物中的不溶性的多半抗原/靶标分析物-特异性结合配偶体复合物和未分散的多半抗原试剂;

(E) 将测量的第一和第二波长吸光度值与在测定校准期间获得自在不同分析物浓度下的第一和第二波长吸光度的建立回归的预测值进行比较;和

(F) 如果测量的第二波长吸光度值与所述预测值相比,超出建立的标记常数,则将通过分开算法获得的靶标分析物的浓度值标记为不可接受。

12. 权利要求11的方法,其中所述第一波长在约190 nm至约300 nm的范围内,且所述第二波长在约300 nm至约650 nm的范围内。

13. 权利要求12的方法,其中所述第一波长是约293 nm,且所述第二波长是约340 nm。

14. 权利要求11的方法,其进一步包括测量第三波长,且其中在第一波长处的吸光度是作为定义为 $(mAU_{\text{第一波长}} - mAU_{\text{第三波长}})$ 的吸光度的第一变化计算的双色值,且在第二波长处的吸光度是作为定义为 $(mAU_{\text{第二波长}} - mAU_{\text{第三波长}})$ 的吸光度的第二变化计算的双色值。

15. 权利要求14的方法,其中所述第三波长在约600 nm至约850 nm的范围内。

16. 权利要求11的方法,其进一步包括建立(E)的回归的步骤。

17. 权利要求11的方法,其中(E)的回归是线性回归。

18. 权利要求11的方法,其中步骤(F)进一步被定义为:如果测量的第二波长吸光度值与所述预测值相比,超出建立的标记常数,则将通过分开算法获得的靶标分析物的浓度值标记并压制,且其中所述方法进一步包括以下步骤:

(G) 如果测量的第二波长吸光度值与所述预测值相比,没有超出建立的标记常数,则报告HbA1c浓度。

19. 检测由比浊免疫测定法中使用的多半抗原试剂的不完全分散引起的异常结果的方法,所述方法包括以下步骤:

(A) 在反应杯中,使怀疑含有包含糖化血红蛋白(HbA1c)的靶标分析物的生物样品与针对靶标分析物的抗HbA1c抗体反应,由此形成可溶性HbA1c-抗体复合物;

(B) 将多半抗原试剂添加至所述反应杯中,其中所述多半抗原试剂与过量的抗HbA1c抗体反应以形成不溶性的多半抗原/靶标分析物-特异性结合配偶体复合物;

(C) 用光照射所述反应杯;

(D) 通过测量第一波长处的吸光度值和第二波长处的吸光度值,比浊检测反应混合物中的不溶性的多半抗原/靶标分析物-特异性结合配偶体复合物和未分散的多半抗原试剂;

(E) 将测量的第一和第二波长吸光度值与在测定校准期间获得自在不同分析物浓度下的第一和第二波长吸光度的建立回归的预测值进行比较;

(F) 如果测量的第二波长吸光度值与所述预测值相比,超出建立的标记常数,则将通过分开算法获得的靶标分析物的浓度值标记并压制;和

(G) 如果测量的第二波长吸光度值与所述预测值相比,没有超出建立的标记常数,则报告靶标分析物浓度。

20. 权利要求19的方法,其中:

(i) 所述第一波长在约190 nm至约300 nm的范围内,且所述第二波长在约300 nm至约650 nm的范围内;且

(ii) (E)的回归是线性回归。

21. 权利要求1-3中任一项的方法,其中所述第一波长在约190 nm至约300 nm的范围内,且所述第二波长在约300 nm至约650 nm的范围内。

22. 权利要求21的方法,其中所述第一波长是约293 nm,且所述第二波长是约340 nm。

23. 权利要求1-5和11-13中任一项的方法,其进一步包括测量第三波长,且其中在第一波长处的吸光度是作为定义为 $(mAU_{\text{第一波长}} - mAU_{\text{第三波长}})$ 的吸光度的第一变化计算的双色值,且在第二波长处的吸光度是作为定义为 $(mAU_{\text{第二波长}} - mAU_{\text{第三波长}})$ 的吸光度的第二变化计算的双色值。

24. 权利要求23的方法,其中所述第三波长在约600 nm至约850 nm的范围内。

25. 权利要求1-7和11-15中任一项的方法,其进一步包括建立(E)的回归的步骤。

26. 权利要求1-8和11-16中任一项的方法,其中(E)的回归是线性回归。

27. 权利要求1-9和11-17中任一项的方法,其中步骤(F)进一步被定义为:如果测量的第二波长吸光度值与所述预测值相比,超出建立的标记常数,则将通过分开算法获得的靶标分析物的浓度值标记并压制,且其中所述方法进一步包括以下步骤:

(G) 如果测量的第二波长吸光度值与所述预测值相比,没有超出建立的标记常数,则报告靶标分析物浓度。

用于检测由免疫测定试剂的不完全分散引起的异常结果的方法

[0001] 相关申请的交叉引用/通过引用并入声明

本申请根据35 USC § 119(e) 要求2018年7月13日提交的美国临时申请号62/697,651的权益。上述引用的专利申请的全部内容在此明确以其整体通过引入并入本文。

[0002] 关于联邦资助的研究或开发的声明

不适用。

[0003] 背景

血液葡萄糖的精确控制可以改善与糖尿病相关的许多发病率和死亡率。因此,基于血红蛋白的物理和化学特性或基于其特异性抗体识别的表位,已经开发了许多不同的血红蛋白的测定法。临床研究已经显示,HbA1c结果改进决策、患者依从性和预后(Thaler等人(1999) *Diabetes Care*, 22:1415-1421; 和Miller等人(2003) *Diabetes Care*, 26:1158-1163)。

[0004] 免疫测定法是目前在临床实验室环境中使用的最常见类型的血红蛋白测定方法。这些免疫测定法利用这样的抗体,其识别血红蛋白表位,并且在特定情况下识别糖化血红蛋白(HbA1c)的表位,诸如(但不限于)其N-末端糖化氨基酸的至少一部分。例如,针对分析物HbA1c的比浊抑制免疫测定法(TINIA)利用抗HbA1c抗体和多半抗原凝集剂(即,含有多个HbA1c表位以引起与游离抗体凝集的合成分子)。当不存在HbA1c分析物时,所述多半抗原与游离的抗HbA1c抗体反应以形成不溶性的抗体-多半抗原复合物,并且这导致当样品用光源照射时的混浊和光散射。当靶标分析物HbA1c存在于生物样品(诸如但不限于全血样品)中时,HbA1c分析物与抗HbA1c抗体反应并形成减少观察到的光散射量的可溶性分析物-抗体复合物。反应的速率可以比浊测量,并且与生物样品中存在的HbA1c分析物的量成反比。

[0005] 该测定法的主要干扰是不完全分散的多半抗原试剂,其基本上模拟不溶性抗体-多半抗原复合物;不完全分散的多半抗原试剂引起光散射,随后比浊测量所述光散射,并且由于吸光度和分析物浓度之间的反比关系,所述光散射因此转化为错误的低HbA1c值。因此,需要新的和改进的检测和减少由免疫测定试剂(诸如但不限于多半抗原试剂)的不完全分散引起的异常结果的存在的的方法。

[0006] 附图简述

图1示意性描绘用于比浊抑制测定法(TINIA)的反应方案,以及其中发生一个或多个异常值(不精确度)的步骤的确认。

[0007] 图2图示描绘多半抗原添加后(实心蓝色圆圈)和异常值检测(红色圆圈)和压制的正常293 nm相比304 nm回归的校准。

[0008] 图3含有举例说明根据本公开且基于图2中图示描绘的结果的异常值标记的一个实例的图表。

[0009] 详细描述

在通过示例性语言和结果的方式详细解释发明构思的至少一个实施方案之前,应理解,所述发明构思不限于下面的描述中阐述的其对组分的构造和排列的细节的应用。所述

发明构思能够具有其他实施方案,或者能够以各种方式实践或实施。因此,本文使用的语言意欲给出最广泛的可能范围和含义,并且实施方案意味着是示例性的一而非穷举性的。而且,应该理解,本文采用的措辞和术语是仅为了描述的目的,并且不应被认为是限制性的。

[0010] 除非本文另有定义,否则结合本公开使用的科学和技术术语应具有本领域普通技术人员通常理解的含义。进一步,除非上下文另有要求,否则单数术语应包括复数,并且复数术语应包括单数。前述技术和程序通常根据本领域众所周知的常规方法、并且如在本说明书通篇引用和讨论的各种一般和更具体的参考文献中所述而实施。与本文所述的分析化学、合成有机化学以及药用和药物化学结合利用的命名及其实验室程序和技术是本领域中众所周知和常用的那些。标准技术用于化学合成和化学分析。

[0011] 本说明书中提及的所有专利、公开的专利申请和非专利出版物指示本公开所属领域的技术人员的技术水平。在本申请的任何部分中引用的所有专利、公开的专利申请和非专利出版物在本文中明确地通过引用以其整体并入,其程度如同每个单独的专利或出版物被具体和个别地指出通过引用并入一样。

[0012] 鉴于本公开,无需过度实验即可制备和执行本文公开的所有物品、组合物、试剂盒和/或方法。尽管已经在具体实施方案的方面描述了所述物品、组合物、试剂盒和/或方法,但对于本领域技术人员将显而易见的是,在不脱离本公开的构思、精神和范围的情况下,可对所述物品、组合物、试剂盒和/或方法、以及在本文描述的方法的步骤或步骤顺序中应用变化。认为对于本领域技术人员显而易见的所有此类类似的取代和修改在如所附权利要求书限定的发明构思的精神、范围和构思内。

[0013] 如根据本公开所利用,除非另有指示,否则以下术语应理解为具有以下含义:

与权利要求和/或说明书中的术语“包括”结合使用时,术语“一个/种(a)”或“一个/种(an)”的使用可意味着“一个/种(one)”,但它也与“一个/种或多个/种”、“至少一个/种”和“一个/种或多于一个/种”的含义一致。因此,术语“一个/种(a)”、“一个/种(an)”和“该/所述(the)”包括复数指示物,除非上下文另有明确指示。因此,例如,对“一种化合物”的提及可指一种或多种化合物、2种或更多种化合物、3种或更多种化合物、4种或更多种化合物或更大数目的化合物。术语“多个/种”是指“两个/种或更多个/种”。

[0014] 术语“至少一个/种”的使用将被理解为包括一个/种以及多于一个/种的任何数量,包括但不限于2、3、4、5、10、15、20、30、40、50、100个/种等。术语“至少一个/种”可延伸多至100或1000或更多个/种,这取决于它所附接的术语;此外,100/1000的数量不视为限制性的,因为更高的限值也可产生令人满意的结果。此外,术语“X、Y和Z中的至少一种”的使用将被理解为包括单独的X,单独的Y和单独的Z,以及X、Y和Z的任何组合。序数术语(即,“第一”、“第二”、“第三”、“第四”等)的使用仅用于区分两个或更多个项目的目的,并且不意味着暗示例如一个项目相对于另一项目的任何顺序或次序或重要性、或任何添加顺序。

[0015] 在权利要求中使用术语“或”用于意指包括性的“和/或”,除非明确指出仅指替代方案或者除非替代方案是互相排斥的。例如,以下任一种都满足条件“A或B”:A为真(或存在)且B为假(或不存在),A为假(或不存在)且B为真(或存在),并且A和B两者均为真(或存在)。

[0016] 如本文所用,对“一个实施方案(one embodiment)”、“一个实施方案(an embodiment)”、“一些实施方案”、“一个实例(one example)”、“例如”或“一个实例(an

example)”的任何引用意指结合该实施方案描述的具体要素、特征、结构或特征包括在至少一个实施方案中。例如,说明书中各个地方出现短语“在一些实施方案中”或“一个实例”不一定全部是指同一实施方案。此外,对一个或多个实施方案或实例的所有引用都应被解释为对权利要求非限定性的。

[0017] 在整个申请中,术语“约”用于指示值包括用于测定该值的组合物/仪器/装置、方法的误差的固有变化,或研究受试者间存在的变化。例如,但不限于,当利用术语“约”时,指定值可以与列举值相差正负20%,或15%,或12%,或11%,或10%,或9%,或8%,或7%,或6%,或5%,或4%,或3%,或2%,或1%,因为此类变化适用于执行公开的方法并由本领域普通技术人员所理解。

[0018] 如在本说明书和一个或多个权利要求中所用,术语“包含 (comprising)” (和任何形式的包含,例如“包含 (comprise)”和“包含 (comprises)”、“具有 (having)” (和任何形式的具有,例如“具有 (have)”和“具有 (has)”、“包括 (including)” (和任何形式的包括,例如“包括 (includes)”和“包括 (include)”或“含有 (containing)” (和任何形式的含有,例如“含有 (contains)”和“含有 (contain)”都是包括性的或开放式的,并且不排除另外的未列举的要素或方法步骤。

[0019] 如本文所用的术语“或其组合”是指所述术语之前列出的事项的所有排列和组合。例如,“A、B、C或其组合”意欲包括以下中的至少一个:A、B、C、AB、AC、BC或ABC,并且如果顺序在特定上下文中是重要的,则也包括BA、CA、CB、CBA、BCA、ACB、BAC或CAB。继续该实例,明确包括的是含有一个或多个事项或术语的重复的组合,例如BB、AAA、AAB、BBC、AAABCCCC、CBBAAB、CABABB等等。本领域技术人员将理解,除非从上下文可见,否则通常对任何组合中的事项或术语的数量没有限制。

[0020] 如本文所用,术语“实质上 (substantially)”意味着随后描述的事件或情况完全发生或者随后描述的事件或情况在大范围或程度上发生。例如,当与具体事件或环境相关时,术语“实质上”意味着随后描述的事件或情况发生在至少80%的时间、或至少85%的时间、或至少90%的时间、或至少95%的时间。术语“实质上相邻”可以意指两个事项与彼此100%相邻,或者两个事项与彼此密切接近,但与彼此不是100%相邻,或者两个事项之一的一部分与另一事项不是100%相邻,而是与另一事项密切接近。

[0021] 如本文所用,短语“与…缔合 (associated with)”和“与…偶联 (coupled to)”包括两个部分彼此直接缔合/结合以及两个部分彼此间接缔合/结合二者。缔合/偶联的非限制性实例包括例如通过直接的键或通过间隔基团将一个部分与另一个部分共价结合,直接或借助与所述部分结合的特异性结合对成员将一个部分与另一个部分非共价结合,例如通过将一个部分溶解在另一个部分中而将一个部分掺入另一个部分,和将一个部分涂覆在另一个部分上。

[0022] 如本文所用的术语“样品”将理解为包括可根据本公开利用的任何类型的生物样品。可使用的流体生物样品的实例包括但不限于:全血或其任何部分(包括,但不限于,血浆或血清)、完整或裂解的血细胞(包括,但不限于,完整或裂解的红血细胞)、尿液、唾液、痰、脑脊液 (CSF)、皮肤、肠液、腹膜内液、囊液 (cystic fluid)、汗液、间质液、细胞外液、泪液、粘液、膀胱洗液 (bladder wash)、精液、粪便、胸膜液、鼻咽液、其组合等。

[0023] 如本文所用的术语“靶标分析物-特异性结合配偶体”应理解为是指能够与靶标分

析物特异性缔合的任何分子。例如但非限定地,所述结合配偶体可以是抗体、受体、配体、适体、分子印迹聚合物(即,无机基质)、其组合或衍生物,以及能够特异性结合靶标分析物的任何其他分子。

[0024] 术语“抗体”在本文中以最广义使用,并且是指例如完整单克隆抗体和多克隆抗体,多特异性抗体(例如,双特异性抗体),其表现出结合分析物的期望生物活性的抗体片段及缀合物(诸如但不限于Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、Fd、双抗体、单链抗体和其他抗体片段及其缀合物,其保留完整抗体的可变区的至少一部分),抗体替代蛋白或肽(即,工程改造的结合蛋白/肽)及其组合或衍生物。所述抗体可以是任何类型或类别(例如,IgG、IgE、IgM、IgD和IgA)或子类(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)。

[0025] 如本文所用的术语“半抗原”是指能够被靶标分析物-特异性结合配偶体、诸如(但不限于)抗体识别的小的蛋白性或非蛋白抗原决定簇(或“表位”)。如本文所用的术语“多半抗原”应理解为是指含有多个与其附接的表位/抗原决定簇的合成分子。

[0026] “分析物”是能够被靶标分析物-特异性结合配偶体、诸如(但不限于)抗体识别的大分子。分析物和半抗原两者均包含至少一个抗原决定簇或“表位”,其为结合靶标分析物-特异性结合配偶体(即抗体)的抗原或半抗原的区域。通常,半抗原上的表位是整个分子。

[0027] 如本文所用的术语“反应杯”包括能够执行如本文所述的至少一种诊断测定的任何装置。所述反应杯可以手动执行诊断测定,但在大多数情况下,所述反应杯将插入自动执行诊断测定的系统中。在一个非限制性实施方案中,所述反应杯包括用于自动诊断测定的反应杯,所述自动诊断测定通过例如但不限于由Siemens Healthcare Diagnostics, Inc. (Newark, DE)市售的DIMENSION[®]集成化学系统之一执行。然而,应理解,所述反应杯可以是本文描述或以其他方式考虑的能够执行根据本公开的一种或多种诊断测定的任何市售产品或杯。

[0028] 如本文所用的术语“比浊法”应理解为是指测量由于悬浮在溶液中的颗粒的散射效应而导致的透射光的强度损失的方法。通过滤光片的光产生已知波长的光,然后该光通过包含测试溶液的杯。光电室收集通过该杯的光,且然后给出吸收光量的测量值。因此,比浊法是一种通过物质引起的浑浊或混浊的程度或通过其在混浊溶液中诱导的澄清程度,来测定溶液中的物质浓度的方法。

[0029] 现在转向发明构思,本公开的某些非限制性实施方案总体上涉及用于提高免疫测定的性能和可靠性的试剂盒、装置和方法。具体而言,本公开的某些实施方案涉及用于检测和标记和/或压制由免疫测定试剂的不完全分散引起的异常结果的试剂盒、装置和方法。

[0030] 本公开的某些非限制性实施方案涉及用于检测生物样品中的靶标分析物的存在和/或浓度的方法。在某些具体(但非限制性)实施方案中,所述方法可以进一步定义为使由免疫测定试剂的不完全分散引起的免疫测定中的干扰最小化的方法。

[0031] 所述方法包括同时或全部或部分依次地组合:(1)怀疑含有靶标分析物的样品;(2)至少一种靶标分析物-特异性结合配偶体(诸如但不限于抗体);和(3)至少一种能够特异性结合靶标分析物-特异性结合配偶体的免疫测定试剂(诸如但不限于多半抗原试剂或其他类型的不完全分散的颗粒凝集测定试剂)。然后,允许所述至少一种靶标分析物-特异性结合配偶体结合靶标分析物或所述至少一种免疫测定试剂。

[0032] 在某些非限制性实施方案中,可以经由比浊(即,凝集)测定法检测由免疫测定试

剂生成的信号。所述方法还包括使用双重校准(一者用于分析物,且另一者用于至少一种免疫测定试剂的状态),其可以实施用于检测对于分析物浓度获得的异常结果。在一个具体(但非限制性)实施方案中,所述双重校准在一个单一校准事件中同时实施。

[0033] 可以经由本公开的方法检测能够经由免疫测定法检测的任何靶标肽或蛋白分析物。靶标分析物的实例包括但不限于糖化血红蛋白(HbA1C)、白蛋白、人绒毛膜促性腺激素(hCG)、铁蛋白、生长激素、催乳激素、甲状腺球蛋白(Tg)、C-反应蛋白(CRP)、类风湿因子(RF)等。

[0034] 或者,所述免疫测定可以是治疗药物监测(TDM)免疫测定,其测量药物的血清水平以确保其浓度在其治疗范围内。能够经由TDM免疫测定检测的靶标药物分析物的实例包括但不限于庆大霉素、妥布霉素、CRP、地高辛、阿米卡星、咖啡因、卡马西平、洋地黄毒苷、双异丙吡胺、乙琥胺、利多卡因、甲氨蝶呤锂、NAPA、苯巴比妥、苯妥英、普里米酮、普鲁卡因酰胺、奎尼丁、茶碱、妥布霉素、丙戊酸、万古霉素等。

[0035] 根据本公开,可以利用本领域中已知的用于与如本文所述的免疫测定一起使用的任何生物样品。可以利用的生物样品的实例包括但不限于尿液、全血或其任何部分(包括但不限于血浆或血清)、完整(即实质上未裂解)或裂解的血细胞(包括但不限于完整或裂解的红血细胞)、唾液、痰液、脑脊液(CSF)、肠液、腹膜内液、囊液、汗液、间质液、泪液、粘液、膀胱洗液、精液,组合等。

[0036] 在某些非限制性实施方案中,本公开涉及检测由比浊免疫测定法中使用的试剂的不完全分散引起的异常结果的方法。所述方法包括以下步骤:(A)在反应杯中,使怀疑含有靶标分析物的生物样品与靶标分析物-特异性结合配偶体反应,由此形成可溶性分析物/靶标分析物-特异性结合配偶体复合物;(B)将多半抗原试剂添加至反应杯中,其中所述多半抗原试剂与过量的靶标分析物-特异性结合配偶体反应以形成不溶性的多半抗原/靶标分析物-特异性结合配偶体复合物;(C)用光照射所述反应杯;(D)通过测量第一波长处的吸光度值和第二波长处的吸光度值,比浊检测反应混合物中的不溶性的多半抗原/靶标分析物-特异性结合配偶体复合物和未分散的多半抗原试剂;(E)将测量的第一和第二波长吸光度值与在测定校准期间获得自在不同分析物浓度下的第一和第二波长吸光度的建立回归的预测值进行比较;和(F)如果测量的第二波长吸光度值与上述预测值相比,超出建立的标记常数,则将通过分开算法获得的靶标分析物的浓度值标记为不可接受。

[0037] 在某些非限制性实施方案中,本公开涉及检测由比浊免疫测定法中使用的试剂的不完全分散引起的异常结果的方法。所述方法包括以下步骤:(A)在反应杯中,使怀疑含有靶标分析物的生物样品与靶标分析物-特异性结合配偶体反应,由此形成可溶性分析物/靶标分析物-特异性结合配偶体复合物;(B)将多半抗原试剂添加至反应杯中,其中所述多半抗原试剂与过量的靶标分析物-特异性结合配偶体反应以形成不溶性的多半抗原/靶标分析物-特异性结合配偶体复合物;(C)用光照射所述反应杯;(D)通过测量第一波长处的吸光度值和第二波长处的吸光度值,比浊检测反应混合物中的不溶性的多半抗原/靶标分析物-特异性结合配偶体复合物和未分散的多半抗原试剂;(E)将测量的第一和第二波长吸光度值与在测定校准期间获得自在不同分析物浓度下的第一和第二波长吸光度的建立回归的预测值进行比较;(F)如果测量的第二波长吸光度值与上述预测值相比,超出建立的标记常数,则将通过分开算法获得的靶标分析物的浓度值标记(为不可接受)并压制;和(G)如果测

量的第二波长吸光度值与预测值相比,没有超出建立的标记常数,则报告靶标分析物浓度。

[0038] 可以通过本文描述的方法检测本文描述或以其他方式考虑的任何靶标分析物。在任何上述方法的某些具体(但非限制性)实施方案中,所述分析物是HbA1c,所述抗体是HbA1c抗体,且所述多半抗原包含多个HbA1c表位。

[0039] 在某些非限制性实施方案中,本公开涉及检测由比浊免疫测定法中使用的试剂的不完全分散引起的异常结果的方法。所述方法包括以下步骤:(A)在反应杯中,使怀疑含有包含糖化血红蛋白(HbA1c)的靶标分析物的生物样品与HbA1c-特异性结合配偶体(诸如但不限于针对靶标分析物的抗HbA1c抗体)反应,由此形成可溶性HbA1c/HbA1c-特异性结合配偶体复合物(诸如但不限于可溶性HbA1c-抗体复合物);(B)将多半抗原试剂添加至反应杯中,其中所述多半抗原试剂与过量的HbA1c-特异性结合配偶体(诸如但不限于抗HbA1c抗体)反应以形成不溶性的多半抗原/HbA1c-特异性结合配偶体复合物(诸如但不限于不溶性的多半抗原/抗HbA1c抗体复合物);(C)用光照射所述反应杯;(D)通过测量第一波长处的吸光度值和第二波长处的吸光度值,比浊检测反应混合物中的不溶性的多半抗原/HbA1c-特异性结合配偶体复合物和未分散的多半抗原试剂;(E)将测量的第一和第二波长吸光度值与在测定校准期间获得自在不同分析物浓度下的第一和第二波长吸光度的建立回归的预测值进行比较;和(F)如果测量的第二波长吸光度值与所述预测值相比,超出建立的标记常数,则将通过分开算法获得的靶标分析物的浓度值标记为不可接受。

[0040] 在某些非限制性实施方案中,本公开涉及检测由比浊免疫测定法中使用的试剂的不完全分散引起的异常结果的方法。所述方法包括以下步骤:(A)在反应杯中,使怀疑含有包含糖化血红蛋白(HbA1c)的靶标分析物的生物样品与HbA1c-特异性结合配偶体(诸如但不限于针对靶标分析物的抗HbA1c抗体)反应,由此形成可溶性HbA1c/HbA1c-特异性结合配偶体复合物(诸如但不限于可溶性HbA1c-抗体复合物);(B)将多半抗原试剂添加至反应杯中,其中所述多半抗原试剂与过量的HbA1c-特异性结合配偶体(诸如但不限于抗HbA1c抗体)反应以形成不溶性的多半抗原/HbA1c-特异性结合配偶体复合物(诸如但不限于不溶性的多半抗原/抗HbA1c抗体复合物);(C)用光照射所述反应杯;(D)通过测量第一波长处的吸光度值和第二波长处的吸光度值,比浊检测反应混合物中的不溶性的多半抗原/HbA1c-特异性结合配偶体复合物和未分散的多半抗原试剂;(E)将测量的第一和第二波长吸光度值与在测定校准期间获得自在不同分析物浓度下的第一和第二波长吸光度的建立回归的预测值进行比较;(F)如果测量的第二波长吸光度值以与所述预测值相比,超出建立的标记常数,则将通过分开算法获得的靶标分析物的浓度值标记(为不可接受)并压制;和(G)如果测量的第二波长吸光度值与预测值相比,没有超出建立的标记常数,则报告靶标分析物浓度。

[0041] 本文描述或以其他方式考虑的任何方法可以进一步包括以下步骤:在第一容器/杯中裂解生物样品,且然后将裂解的生物样品转移至步骤(A)中使用的反应杯中。

[0042] 根据本公开的任何方法,可以将任何波长用作第一和第二波长,只要在选择的第二和第一波长之间存在关系;这种关系提供了关于多半抗原聚集/分散的指示,由此可以在测定校准期间在不同的分析物浓度下建立回归,由此允许建立标记常数,且因此当测定生物样品时检测异常的异常值结果。具体而言,可以利用任何波长作为第一波长,只要该波长可以检测蛋白/肽的存在且因此可以检测试剂分散且由此提供多半抗原(或任何其他类型的蛋白/多肽)的聚集状态的指示。同样,可以利用任何波长作为第二波长,只要在该波长处

的蛋白/肽检测最少;因此,可以利用任何波长作为第二波长,只要多半抗原分散体的状态对所述波长的影响最小,由此允许第二波长充当对照波长(即,吸光度不像第一波长那样大地变化的波长)。例如(但非限定地),所述第一波长可以在约190 nm至约300 nm的范围内,且所述第二波长可以在约300 nm至约650 nm的范围内。在一个具体(但非限制性)实施方案中,所述第一波长为约293 nm,且所述第二波长为约340 nm。

[0043] 在某些具体(但非限制性)实施方案中,任何以上方法的步骤(D)进一步包括测量第三波长;当存在时,所述第三波长仅充当“空白波长”,其确保第一和第二波长的测量是可靠且可重复的。在这些实施方案中,在第一波长处的吸光度是作为定义为 $(mAU_{\text{第一波长}} - mAU_{\text{第三波长}})$ 的吸光度的第一变化计算的双色值,且在第二波长处的吸光度是作为定义为 $(mAU_{\text{第二波长}} - mAU_{\text{第三波长}})$ 的吸光度的第二变化计算的双色值。可以利用本文描述或以其他方式考虑的将充当“空白波长”并允许计算双色值的任何波长作为根据本公开的第三波长。可以用作第三波长的波长的非限制性实例包括在约600 nm至约850 nm的范围内的那些,包括(但不限于)约600 nm、约650 nm、约700 nm、约750 nm、约800 nm和约850 nm。

[0044] 在一个具体(但非限制性)实施方案中,所述第三波长是700 nm,且在第一波长处的吸光度是作为定义为 $(mAU_{293\text{nm}} - mAU_{700\text{nm}})$ 的吸光度的第一变化计算的双色值,且在第二波长处的吸光度是作为定义为 $(mAU_{340\text{nm}} - mAU_{700\text{nm}})$ 的吸光度的第二变化计算的双色值。

[0045] 可以采用任何合适的回归分析作为在本文公开或以其他方式考虑的方法的步骤(E)中的建立回归。可以利用的回归分析的非限制性实例包括线性回归以及非线性回归,诸如(但不限于)对数曲线、指数曲线、双曲线、抛物曲线、S形曲线、Michaelis Menten曲线、多项式曲线、逻辑回归(或logit)曲线等。

[0046] 在某些非限制性实施方案中,所述方法进一步包括建立步骤(E)的回归的步骤。该步骤包括通过如下进行测定校准:获得在不同的已知分析物浓度下的第一和第二波长吸光度,且然后从其中建立回归。在一个具体(但非限制性)实施方案中,建立回归的步骤涉及建立回归系数(例如,斜率和截距),其可用于基于第一波长的每个测量吸光度值来预测第二波长的正常吸光度值。

[0047] 如本文所用的术语“建立的标记常数”是指作为截止值的值,超过该截止值,观察到预测值与测量值之间的显著差异,所述预测值是从使用各种校准水平及其重复在校准期间获得的数学回归计算的。建立的标记常数代表这样的值,当与其从回归分析预测的值相比时,基于样品的测量值,该值超出对于样品获得的吸光度的可接受的变化幅度/范围。建立的标记常数可以是指示可接受的变化幅度/范围的上限的任何任意数值,诸如但不限于5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100等,或其之间的任何非整数数值,或上面列出的任何值的任何细微变化(即“约11”、“约15”等)。或者,建立的标记常数可以是指示可接受的变化幅度/范围的上限的百分比,诸如但不限于5000%、4000%、3000%、2000%、1000%、900%、800%、700%、600%、500%、450%、400%、350%、300%、250%、200%、150%、100%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81%、80%、79%、78%、77%、76%、75%、74%、73%、72%、71%、70%、69%、68%、67%、66%、65%、64%、63%、62%、

61%、60%、59%、58%、57%、56%、55%、54%、53%、52%、51%、50%、49%、48%、47%、46%、45%、44%、43%、42%、41%、40%、39%、38%、37%、36%、35%、34%、33%、32%、31%、30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%等,或其之间的任何整数或非整数百分比值,或上面列出的任何百分比值的任何细微变化(即“约85%”、“约70%”等)。

[0048] 在某些非限制性实施方案中,独立于对生物样品中的靶标分析物的存在和/或浓度的实际测定,来测量和计算在本文描述或以其他方式考虑的检测异常结果的方法中获得的测量值。或者,可以在生物样品中的靶标分析物的存在和/或浓度的实际测定中利用通过本文描述和/或考虑的方法获得的一种或多种测量值。

[0049] 在某些非限制性实施方案中,当在步骤(F)中标记(或标记和压制)一个或多个值时,所述方法可以进一步包括以下步骤:指示用户增加多半抗原试剂的混合,且然后重复测定步骤(A)-(F)。

[0050] 应理解,尽管上文描述了与多半抗原试剂一起使用的方法,但本公开的检测异常结果的方法也适用于与其他类型的不完全分散的颗粒凝集测定试剂一起使用。因此,本公开的范围进一步包括上文描述的方法的任何和所有变式,其中术语“多半抗原试剂”被“颗粒凝集测定试剂”代替。

[0051] 本文描述的任何方法步骤可以例如但不限于由用户执行。然而,如本文所用,术语“用户”不限于由人类使用;反而,术语“用户”可以包括(例如但不限于)计算机、服务器、网站、处理器、网络接口、人、用户终端、虚拟计算机、其组合等。

[0052] 本公开的各个实施方案可以与能够(或已经被修改以能够)根据本文描述的方法发挥功能的任何反射光谱诊断仪器一起使用。在某些非限制性实施方案中,所述仪器可以是护理点仪器。反射光谱诊断仪器可以是能够体现和/或执行本文描述的方法/过程的逻辑的一个或多个系统。以软件指令和/或固件的形式体现的逻辑可以在任何适当的硬件上执行。例如,以软件指令和/或固件的形式体现的逻辑可以由一个或多个专用系统、个人计算机系统、分布式处理计算机系统和/或类似物上的一个或多个组件执行。在一些实施方案中,整个逻辑可以在仪器(诸如但不限于护理点仪器)上操作的独立环境中执行。在其他实施方案中,所述逻辑可以在联网环境、诸如分布式系统中执行,在所述分布式系统中,多个仪器收集数据,所述数据被发送至集中式计算机系统用于分析数据并将分析的结果提供给仪器。仪器的每个元件都可以部分或完全基于网络或基于云,并且可以位于或可以不位于单个物理位置。

[0053] 本文使用的电路包括(但不限于)模拟和/或数字组件,或一个或多个合适编程的处理器(例如,微处理器)以及相关硬件和软件,或硬连线逻辑。同样,“组件”可以执行一个或多个功能。术语“组件”可以包括硬件,诸如但不限于处理器(例如,微处理器),专用集成电路(ASIC),现场可编程门阵列(FPGA),硬件和软件的组合,和/或类似物。

[0054] 本文利用的软件可以包括一个或多个计算机可读介质(即,计算机可读指令),其当由一个或多个组件执行时引起该组件执行指定的功能。应当理解,本文描述的算法可以存储在一个或多个非瞬时存储器上。非限制性示例性非瞬时存储器可以包括随机存取存储器、只读存储器、闪存和/或类似物。这种非瞬时存储器可以是基于电的,基于光学的和/或类似的。

[0055] 本公开的某些非限制性实施方案涉及可用于方便地执行上文所述的免疫测定方法的试剂盒。所述试剂盒包括至少一种靶标-分析物-特异性结合配偶体(诸如但不限于针对靶标分析物的抗体)和至少一种多半抗原试剂,各自如上文所详述。

[0056] 本公开的某些其他非限制性实施方案涉及免疫测定装置(诸如但不限于免疫测定盒),其含有上文所述的试剂盒并且用于上文所述的免疫测定方法中。例如,所述免疫测定装置可以包括至少一个隔室,其能够接收怀疑含有靶标肽或蛋白分析物的样品,其中至少一个隔室包括至少一种如上文所详述的靶标分析物-特异性结合配偶体(诸如但不限于针对靶标分析物的抗体)和至少一种如上文所详述的多半抗原试剂。

[0057] 另外,本公开的试剂盒和/或免疫测定装置可以进一步含有用于进行本文描述或以其他方式考虑的任何特定免疫测定的其他组分和/或试剂。这些额外的组分/试剂的性质将取决于特定的免疫测定形式,并且其鉴定完全在本领域普通技术人员的技能范围内。可以存在于本公开的试剂盒和/或免疫测定装置中的额外的试剂/组分的实例包括但不限于稀释剂、裂解剂(用于裂解红血细胞)、洗涤溶液(诸如但不限于等渗溶液)、阳性对照、阴性对照、质量对照和/或致动剂(actuator)以及其任何组合。

[0058] 所述试剂盒和/或免疫测定装置中的各种组分/试剂的相对量可以广泛变化,以提供组分/试剂的浓度,其实质上优化测定方法期间需要发生的反应,并且进一步实质上优化测定的灵敏度。

[0059] 本公开的试剂盒可以进一步包括一组解释如何使用试剂盒的书面说明书。这种性质的试剂盒可以与任何免疫测定装置一起使用和/或在本文所述或以其他方式考虑的任何方法中使用。

[0060] 所述免疫测定装置可以具有与其相关的一种或多种手动功能(即,其中一种或多种试剂的添加和/或混合物在两个隔室之间的移动需要吸液);或者,所述免疫测定装置可以是完全自动的、封闭的系统,其中在免疫测定装置的构建期间,将必要的试剂/组分设置于各个隔室中(其中各个隔室处于连续流体连通(或能够处于连续流体连通),且因此在将样品添加至免疫测定装置后,对于进行测定无需手动操作样品和/或试剂。

[0061] 所述免疫测定装置包括一个或多个隔室,所述隔室含有上文所述的组分/试剂;所述免疫测定装置可以提供有任何数量的隔室、隔室的任何排列以及其之间的组分/试剂的任何分布,只要所述装置能够根据本公开发挥功能。当提供有多个隔室时,所述隔室可以与彼此完全分开,或者一个或多个隔室能够与彼此流体连通。能够根据本公开使用的免疫测定装置的各种结构在本领域中是众所周知的,且因此认为不必对其进一步描述。

[0062] 在某些实施方案中,所述免疫测定装置包括至少第一和第二隔室。第一隔室能够接收生物样品,并且如果期望(但非限定性地),可以包括用于从样品的主体分离蛋白/肽、裂解红血细胞等的机构。所述分离机构是在免疫测定装置的领域中是众所周知的,且因此认为不必对其进一步描述。第二隔室能够与第一隔室流体连通,并且包括至少一种靶标分析物-特异性结合配偶体(诸如但不限于针对靶标分析物的抗体)和/或至少一种用于进行上文详述的免疫测定方法的免疫测定试剂。或者,所述免疫测定装置可以包括用于储存至少一种免疫测定试剂的第三隔室,并且其中至少一种免疫测定试剂可以从第三隔室转移至第二隔室中。

[0063] 所述免疫测定装置还可以包括能够由光谱仪光学询问的光学读取室。所述光学读

取室可以与上文所述的任何隔室相关联,或者所述光学读取室可以与和来自上文所述的那些分开的隔室相关联。

[0064] 入口通道和一个隔室,以及两个隔室可以被描述为“能够与彼此流体连通”;该短语指示所述隔室仍可以被密封,但在刺穿在其中或在其之间形成的密封物后,两个隔室能够在其之间具有流体流动。

[0065] 本公开的试剂盒/免疫测定装置可以提供有本领域中已知的或本文考虑的其他任何期望特征。例如但非限定性地,本公开的试剂盒/免疫测定装置可以进一步包括一个或多个额外的隔室,其含有其他溶液,诸如但不限于裂解剂(用于裂解红血细胞)、稀释剂、洗涤溶液、标记剂、干扰溶液、阳性对照、阴性对照、质量对照和/或致动剂以及其任何组合。

[0066] 实施例

下文提供了实施例。然而,应理解本公开,其应用不限于本文公开的具体实验、结果和实验室程序。反而,该实施例仅作为各个实施方案之一提供,并且仅意在是示例性的,而非穷举性的。

[0067] 用于比浊免疫测定的多半抗原试剂的不完全分散,甚至用优化的混合参数,也导致异常的免疫测定结果。异常的结果是高吸光度异常值,由于吸光度和分析物值之间的反比关系,其转化为错误的低分析物值。例如,错误的低HbA1c结果不仅使免疫测定不准确,而且还可能引起糖尿病患者中的血液葡萄糖控制的误诊和错误评价。

[0068] 克服该问题的尝试已经包括优化当存在多半抗原试剂时使用的混合参数;使用优化的混合参数将这种类型的异常值的频率大大降低约5-10倍。然而,优化混合参数不足以解决免疫测定结果异常的问题。进一步优化混合参数的尝试并不导致异常值的减少,并且甚至当利用优化的混合参数时,异常值的频率仍然为约1/750 (0.13%)。

[0069] 因此,本公开涉及检测由免疫测定试剂(诸如但不限于多半抗原试剂)的不完全分散引起的异常结果的方法。尽管不防止多半抗原的不完全分散,但本公开提供了用于使用波长吸收信息来检测免疫测定试剂的不完全分散且然后标记和压制任何异常值结果的方法和程序。

[0070] 通过标记和压制异常值,提高免疫测定的准确性,并且避免误诊,连同(诸如但不限于)对葡萄糖控制的不正确评价。通过本公开的方法,异常值的频率从0.13%降低至0.006%,这是超过20倍降低。

[0071] 多半抗原试剂的不完全分散留下以mAU(毫吸光度单位)计的足迹。当多半抗原聚集体没有良好地分散时,发生这种足迹,并且观察到该足迹(在一个非限制性实施方案中),因为多半抗原试剂生成比良好分散的试剂更高的293 nm/340 nm吸光度比率。基于该特征,可以由测定校准建立在不同的分析物浓度下正常的293 nm和340 nm吸光度之间的回归,且然后可以利用回归统计以测试每种测试样品的293 nm相比340 nm吸光度。当293 nm:340 nm比率与正常回归一致时,测试结果是可接受的;否则,检测多半抗原聚集体,并且标记和压制结果。

[0072] 在本公开中,因此在一个单一的校准事件中同时实施双重校准的利用—一者用于分析物,且一者用于反应混合物中的试剂的状态。通过应用从其校准建立的参数来检测试剂状态的异常。

[0073] 图1提供了用于比浊抑制测定(TINIA)的反应方案。在测定中,将全血与裂解剂混

合(参见上小图,标记为“第1杯”的行),且然后将裂解的血液转移至第2杯中,所述第2杯含有针对待检测的分析物(诸如但不限于HbA1c)的抗体(参见上小图,标记为“第2杯”的行)。然后在405 nm处读取含有抗体-抗原复合物(诸如但不限于HbA1c-Ab复合物)的杯,且随后添加多半抗原试剂。在孵育后,在340 nm处读取过量的抗体-多半抗原凝集。下小图标识发生并可以检测到异常值(不精确)的步骤。

[0074] 图2图示描绘多半抗原添加后的正常的293 nm相比304 nm回归的校准(实心蓝色圆圈)和异常值检测(红色圆圈)和压制,如下文所述。

[0075] 在添加多半抗原试剂并混合之后,在DIMENSION® 仪器(Siemens Healthcare Diagnostics, Inc., Newark, DE)上读取反应混合物的光度读数。使用在校准期间获得的光度读数,对于五个重复的所有五个校准水平,在340 nm和293 nm处的双色吸光度之间进行线性回归。然后生成该回归的斜率(α)和截距(β)并对于340 nm和293 nm进行存储,以基于以下公式定义其正常关系:

$$mAU_{340nm} - mAU_{700nm} = \alpha \cdot (mAU_{293nm} - mAU_{700nm}) + \beta.$$

[0076] 然后将 α 和 β 与从样品测试获得的 $(mAU_{293nm} - mAU_{700nm})$ 一起使用以预测双色 mAU_{340nm} (即, $mAU_{340nm} - mAU_{700nm}$)。如果样品测试的双色 mAU_{340nm} 以特定幅度低于预测值,则触发标记。在样品测试期间:

- (1) 从校准取回 α 和 β ;
- (2) 使用 α 和 β 标记多半抗原混合不足;
- (3) 如果 $(\text{双色}mAU_{340nm_预测值} - \text{双色}mAU_{340nm_测量值}) \geq C$,则标记;
- (4) 其中 $\text{双色}mAU_{340nm_测量值} = mAU_{340nm_测量值} - mAU_{700nm_测量值}$,且
- (5) 其中C是基于图2中显示的数据分析建立的11.0的常数。

[0077] 在图2中,检查来自研究的所有%HbA1c异常值,以查看异常值是否与回归线和测量的340 nm之间的较大距离相关。测量的340 nm和回归线之间的截取点是从校准获得的340 nm的预测(或正常)值,并且实质上指示测量的340 nm值应当落到的位置。如可以看出,大多数%HbA1c结果遵循该规则(绿色圆圈)。然而,当测量的340 nm值偏离回归线太远时,%HbA1c结果是异常值(红色圆圈)。

[0078] 确定如果建立的标记常数(C)定位在11.0(即红色圆圈和回归线之间的距离),则标记绝大多数低%HbA1c异常值,而没有错误地标记“良好”%HbA1c结果。然而,如果将C被定位在较低值(即,在5.0),则错误地标记一些“良好”%HbA1c结果。这是因为回归线不精确,并且除了多半抗原试剂的不分散以外,还存在一些与回归分析相关的噪声。因此,标记常数必须足够高地定位以克服与测定/回归分析相关的任何噪声。

[0079] 图3含有举例说明根据本公开并且基于图2中图示描绘的结果的异常值标记的一个实例的图表。在该异常值标记的实施例中,8.8% A1c被标记为异常值,因为其计算值 $(mAU_{340nm} - mAU_{700nm}) - \text{测量值}(mAU_{340nm} - mAU_{700nm})$ 等于16,其超过11.0的建立的标记常数。在这里使用双色读数来校正由于光度计定位和杯表面的缺陷而导致的吸光度测量不一致。

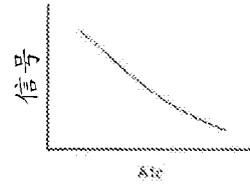
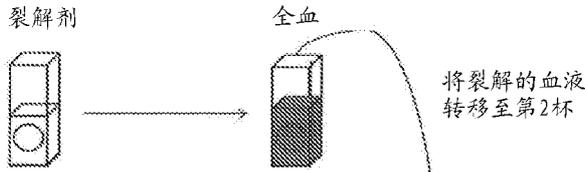
[0080] 因此,根据本公开,已经提供了完全满足上文所述的目的和优点的组合物、试剂盒和装置以及其生产和使用方法。尽管已经结合上文阐述的具体附图、实验、结果和语言描述

了本公开,但显然,许多替代、修改和变化对于本领域技术人员将是显而易见的。因此,意欲涵盖落入当前公开的发明构思的精神和广泛范围内的所有此类替代、修改和变化。

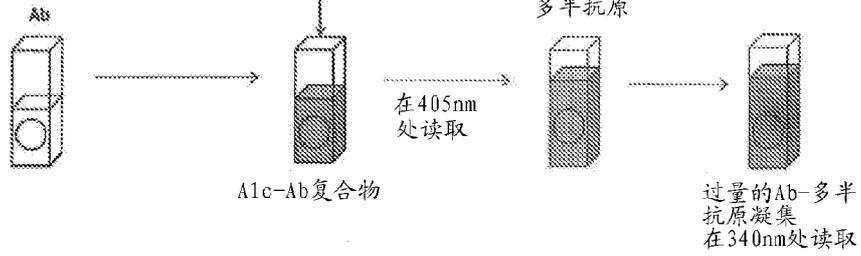
反应方案:

比浊抑制免疫测定 (TINIA)

第1杯



第2杯



在哪个步骤发生异常值(不精确)?

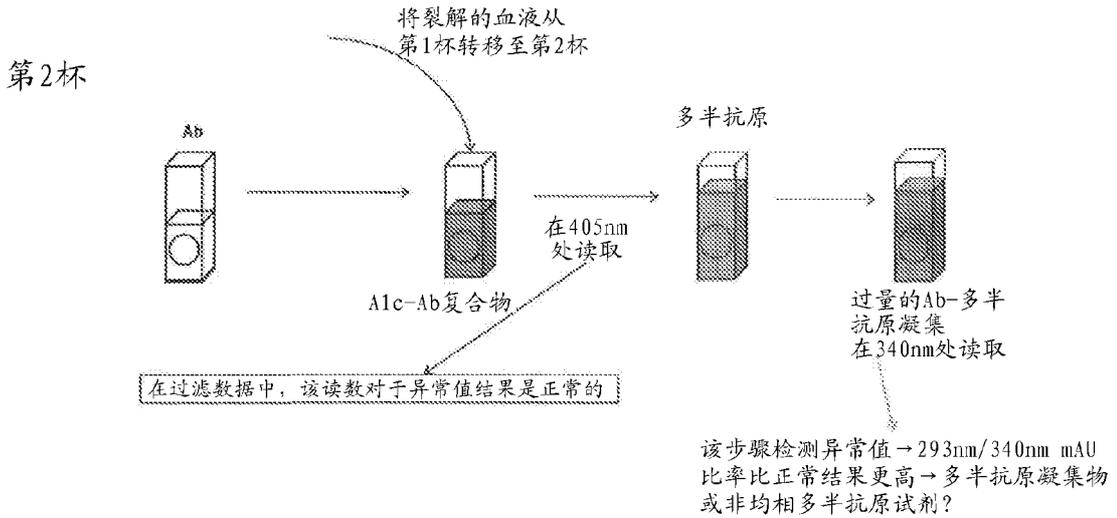


图 1

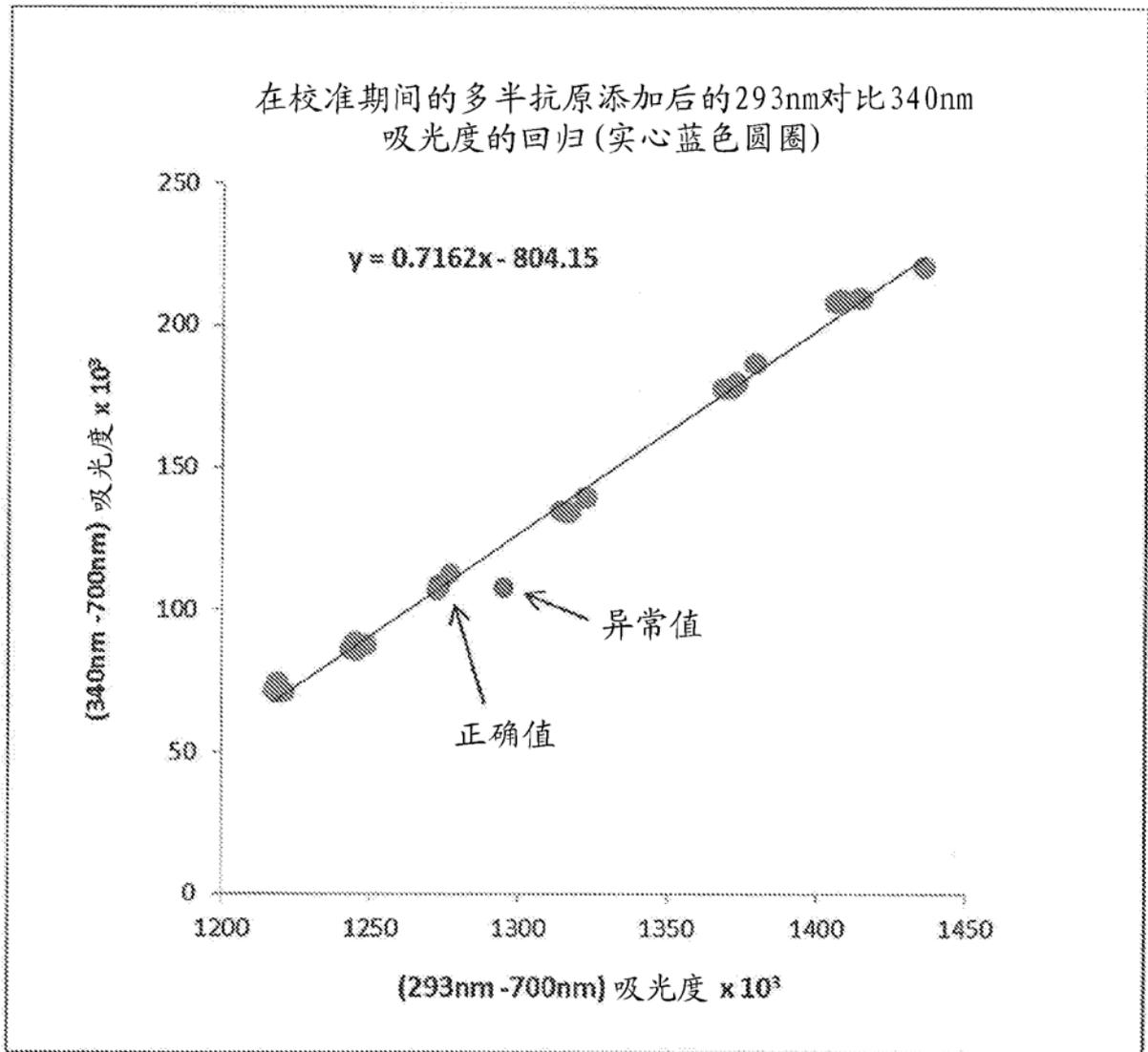


图 2

样品	293nm-700nm	340nm-700nm	计算的 340nm-700nm	计算的- 测量的 340nm-700nm	差异>11.0? 如果是, 则标记和压制	%A1c 值
校准物 L1	1435	221	224	3	标记不应用于 校准本身	
校准物 L1	1406	208	203	-6		
校准物 L1	1407	209	204	-6		
校准物 L1	1415	210	209	0		
校准物 L1	1414	210	209	-1		
校准物 L2	1373	179	179	0		
校准物 L2	1379	187	184	-3		
校准物 L2	1371	178	178	0		
校准物 L2	1368	178	176	-2		
校准物 L2	1373	180	179	-1		
校准物 L3	1314	135	137	3		
校准物 L3	1323	139	143	4		
校准物 L3	1315	134	138	4		
校准物 L3	1322	138	143	4		
校准物 L3	1317	134	140	6		
校准物 L4	1248	88	90	3		
校准物 L4	1244	87	87	1		
校准物 L4	1243	86	87	1		
校准物 L4	1245	89	88	-1		
校准物 L4	1245	88	88	2		
校准物 L5	1221	71	71	0		
校准物 L5	1219	71	69	-2		
校准物 L5	1220	71	70	-1		
校准物 L5	1218	74	69	-5		
校准物 L5	1217	72	68	-4		
样品	1273	108	108	0	否	9.6
样品	1295	108	123	16	是,结果 标记的/压制的	8.8
样品	1273	107	108	1	否	9.5
样品	1272	107	107	0	否	9.6
样品	1277	113	111	-2	否	9.6
样品	1273	109	108	-1	否	9.6

图 3