



# (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106443004 A

(43)申请公布日 2017.02.22

(21)申请号 201610223300.5

(22)申请日 2016.04.12

(71)申请人 上海奥普生物医药有限公司

地址 201201 上海市浦东新区瑞庆路526号

(72)发明人 朱传增 石晓强 朱奇朗 安永君  
张蕾

(74)专利代理机构 上海伯瑞杰知识产权代理有  
限公司 31227

代理人 曹莉

(51) Int. Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/545(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

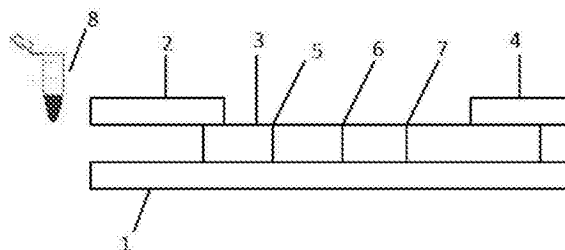
权利要求书2页 说明书8页 附图3页

## (54)发明名称

一种快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试剂及制备方法

## (57)摘要

本发明属于临床医学诊断领域,特别涉及一种快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试剂及其制备方法。该试剂由试纸条和荧光液两部分组成。其中,试纸条包括底板、Fusion5、硝酸纤维素膜和吸水垫;本发明利用时间分辨荧光微球提高荧光强度,降低背景信号,同时定量检测全血、血清或血浆中的cTnI、H-FABP两项指标,样本仅需要10~20微升。该试纸条具有方便快捷、操作简单、检测时间短、特异性强、灵敏度高、检测结果更加准确,适用于临床POCT的快速诊断。



1. 一种快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试剂,其特征在于:该试剂由试纸条和荧光液两部分组成;

所述的试纸条包括底板(1)、Fusion5(2)、硝酸纤维素膜(3)和吸水垫(4);所述Fusion5(2)、硝酸纤维素膜(3)和吸水垫(4)水平方向顺序连接固定于底板上;

所述的荧光液(8)包含H-FABP单克隆抗体2标记的时间分辨荧光微球、cTnI单克隆抗体2标记的时间分辨荧光微球、羊抗兔抗体标记的时间分辨荧光微球。

2. 根据权利要求1所述的快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试剂,其特征在于:所述硝酸纤维素膜(3)上包被有H-FABP单克隆抗体1(5)、cTnI单克隆抗体1或多克隆抗体1(6)构成的检测线和兔IgG抗体(7)构成的质控线。

3. 根据权利要求1所述的快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试剂,其特征在于:所述的时间分辨荧光微球选自修饰过的聚苯乙烯微球。

4. 根据权利要求3所述的快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试剂,其特征在于:所述的聚苯乙烯微球,表面修饰官能团为羧基、羟基或环氧基的一种,粒径为100~500nm。

5. 根据权利要求1所述的快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试剂,其特征在于:所述的时间分辨荧光微球内部填充镧系元素的螯合物。

6. 根据权利要求5所述的快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试剂,其特征在于:所述的镧系元素为铈、钐、钕、镨中的一种。

7. 根据权利要求1所述的一种快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试剂,其特征在于:所述的时间分辨荧光微球标记步骤如下:

(1) 肌钙蛋白I单克隆抗体2标记时间分辨荧光微球的制备及稀释:将时间分辨荧光微球溶于MES缓冲液中,加入活化剂活化;随后加入氨基乙酸,使得微球表面连接手臂;洗涤、离心后,再次加入活化剂活化;再次洗涤、离心,将时间分辨荧光微球用硼酸缓冲液复溶,随后加入肌钙蛋白I单克隆抗体2进行反应,硼酸缓冲液、微球与抗体的质量比在10mg:0.01mg~10mg:2.0mg范围内;反应完后加入封闭剂进行封闭;封闭过后,洗涤、离心,再次用硼酸缓冲液及封闭剂复溶、超声,使微球均匀分散在缓冲液中,2~8℃避光保存,选择合适的缓冲液稀释荧光微球,工作浓度在0.5~50μg/ml,用于肌钙蛋白I性能的评估。

(2) H-FABP单克隆抗体2标记时间分辨荧光微球的制备及稀释羊抗兔抗体标记的荧光微球的制备及稀释过程同(1)所述。

8. 一种制备权利要求1所述的快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试剂的方法,包括如下步骤:

(1) 制备检测线和质控线:硝酸纤维素膜(3)在免疫荧光试纸条中用于固定包被抗体,同时也是免疫反应的发生的场所;检测线(5)是将H-FABP单克隆抗体1使用柠檬酸盐或蔗糖稀液稀释,划线于所述硝酸纤维素膜(3)上;检测线(6)是将cTnI单克隆抗体1或多克隆抗体1使用柠檬酸盐或蔗糖稀液稀释,划线于所述硝酸纤维素膜(3)上;质控线(7)是将兔IgG抗体使用柠檬酸盐或蔗糖稀液稀释,划线与所述硝酸纤维素膜(3)上,将划好的硝酸纤维素膜置于真空干燥箱,在37~45℃下,烘干24~48小时,检测线(5)、(6)位于同一位置或不同位置,若为不同位置,则检测线(5)、(6)均位于质控线(7)同一侧,即液体首先接触的位置;

(2) 试纸条的组装:在试纸条底板(1)由左到右依次粘附Fusion5(2)、硝酸纤维素膜(3)、吸水纸(4),将组装好的大板切成小条,即得到所述快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试纸条。

9. 根据权利要求8所述的快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试剂的制备方法,其特征在于:所述的柠檬酸盐或蔗糖稀释液中柠檬酸盐或蔗糖占5-20%。

## 一种快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试剂及制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于临床医学诊断领域,特别涉及一种快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试剂及其制备方法。

### 背景技术

[0002] 心血管疾病是危害人类健康及生命的严重疾病,已成为21世纪人类健康的头号杀手。2009年8月拜耳医药在欧洲心脏病学会年会上报道指出2005年全球约有1750万人死于心血管疾病,预计2015年这一数字将攀升到2000万人,大约有一半病例发生在亚太地区。生活条件的改善和生活方式的转变,使中国人发生心血管疾病的风险迅速赶超美国等发达国家。

[0003] 我国1990年城市居民心血管疾病死亡率为92/10万人,2000年为106/10万人,平均每年死亡增长率为1.3%。2008年死亡率已达到121/10万人,相比2000年时,平均死亡增长率为1.4%,其中急性心肌梗塞的死亡率占到其中的三分之一,说明心肌梗塞死亡率仍呈不断增长趋势。随着中国人口老龄化趋势,按平均死亡增长率为1.5%计算,到2015年,血管疾病死亡率将达到141/10万人,急性心肌梗塞的死亡率将达到47/10万人。

[0004] 中国卫生部2008年公布的急性心肌梗塞的死亡率为39.72/10万人,每年急性心肌梗塞的发病人数超过500万人,至少有超过200万的人群去医院就医进行心肌梗塞疾病的相关检测,这并不包含每年因胸痛怀疑为心肌梗塞的病人人数,实际医院每年检测人数已达千万人次。

[0005] 心肌梗塞的典型临床症状是胸痛,心律失常,心力衰竭等。但实际临床上胸痛的症状表现复杂多样,危险性差异也较大,还有心梗病人无典型症状。医学上将急性心肌梗死发病后6小时以内作为抢救的“黄金时间”,超过这个时间段,治疗效果就会大打折扣,甚至产生严重后果危及生命。中华医学检验分会2006年制定的“冠状动脉疾病和心力衰竭时心脏标志物临床检测应用建议”指出,适用于临床的心脏标记物应具有较好的诊断、危险分层和预后估计的价值,分析检测方法应特异、灵敏、快速,而且心脏标志物的检测周转时间<60min。

[0006] 肌酸激酶同工酶(CK-MB)是一种中晚期心肌标志物,在临床诊断中有十分重要的意义,在各种病变包括肌肉萎缩和心肌梗塞发生时,人的血清中肌酸激酶水平迅速提高,认为在心肌梗塞的诊断中测定肌酸激酶的活性比做心电图更为可靠。心肌梗死时,肌酸激酶在起病6小时内升高,24小时达高峰,3-4日内恢复正常。肌酸激酶因其具有重要的生理功能和临床应用价值已引起人们广泛的重视和深入的研究。

[0007] 传统上CK-MB多用化学发光法及胶体金免疫层析法或者荧光免疫层析法等方法测定。化学发光法对技术要求高,操作步骤相对比较繁琐,需要多步试剂添加过程。胶体金免疫层析法虽然具有标本用量少,简便快速,便宜的优势,然而当遇到某些样品中抗原或抗体含量极低时,胶体金的颜色将很浅甚至无显色,很难用肉眼来判断结果,容易出现误判,灵

灵敏度较低。荧光免疫层析法虽然灵敏度比胶体金免疫层析法要高,但是其检测精密度并不理想,灵敏度与大型化学发光或者电化学发光仪器仍有差距。

[0008] 脂肪酸结合蛋白(FABPs)在活性脂肪酸代谢的组织中大量存在,如心脏和肝脏,它们的主要功能促进细胞内的长链脂肪酸运输。现已确定九个不同类型的FABP,其中,H-FABP(心脏型脂肪酸结合蛋白)是最广泛的,因为它大量存在于心肌细胞。其低分子量和细胞质的位置相结合,使H-FABP成为急性冠脉综合症(尤其是胸痛发作6小时内)的一个高敏的早期标志物,缺血性发作30分钟后即可检测。这可能是因为在心肌缺血和心肌坏死以后,它迅速从细胞质进入血液循环。H-FABP在6-8小时左右达到浓度峰值,然后在24-30小时左右恢复至正常水平。如此迅速恢复至正常水平得益于高肾清除率,这意味着H-FABP不仅能够用作AMI早期标志物,还是理想的心肌梗死复发诊断标志物。尽管H-FABP的释放特点与肌红蛋白相似,但其心肌特异性是肌红蛋白的15-20倍;因此H-FABP是更有效的心肌损伤标志物。此外,H-FABP的正常血清/血浆值比肌红蛋白低,从而降低假阳性比率。

[0009] 相较于单独使用肌钙蛋白的情况,使用H-FABP和肌钙蛋白的组合已证实,在症状出现后的早期(<4小时或<6小时),可显著改善MI/ACS的诊断敏感性。关于预后,一些大型临床试验中肌钙蛋白阳性和肌钙蛋白阴性的患者分层长期ACS的风险已经说明了H-FABP的价值。即使在使用高度敏感的肌钙蛋白的情况下,诊断和预后,也常增添H-FABP。除了ACS,H-FABP还用于其他范围,例如肺栓塞(PE),冠状动脉搭桥手术(CABG)和脑血管疾病。

[0010] 时间分辨荧光(Time-resolved Fluorescence,TRF)是一种非同位素荧光标记物,与普通荧光相比,具有stock位移大,荧光寿命长等特点,可以有效的避免样品中的本底荧光,以及激发光等杂散光的影响,因此相比普通荧光具有更高的灵敏度和抗干扰能力。

[0011] 目前市面上采用时间分辨荧光检测的试剂均采用解离增强镧系元素荧光免疫分析(DELFLIA),它采用具有双功能基团结构的螯合物,使其一段与铕(Eu)连接,另一端与抗体/抗原分子上的自由氨基连接,形成EU标记的抗体/抗原,经过免疫反应后形成免疫复合物,由于这种复合物在水中的荧光强度非常弱,需要加入一种解离增强剂,使得铕离子从复合物上解离下来,并与增强剂中的另一种螯合剂形成胶态分子团,这种分子团在紫外光的激发下能发出很强的荧光。

## 发明内容

[0012] 本发明的目的是提供一种快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试剂,该试剂能在较短的检测时间内完成cTnI、H-FABP的检测,检测时间短,检测灵敏度高。

[0013] 本发明还提供了快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试剂的制备方法。

[0014] 一种快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试剂,其特征在于:所述的试纸条包括底板(1)、Fusion5(2)、硝酸纤维素膜(3)和吸水垫(4)。

[0015] 所述Fusion5(2)、硝酸纤维素膜(3)和吸水垫(4)水平方向顺序连接固定于底板上。

[0016] 所述硝酸纤维素膜(3)上包被有H-FABP单克隆抗体1(5)、cTnI单克隆抗体1或多克隆抗体1(6)构成的检测线和兔IgG抗体(7)构成的质控线。

[0017] 所述的荧光液(8)包含H-FABP单克隆抗体2标记的时间分辨荧光微球、cTnI单克隆抗体2标记的时间分辨荧光微球、羊抗兔抗体标记的时间分辨荧光微球。

[0018] 所述的时间分辨荧光微球选自修饰过的聚苯乙烯微球。

[0019] 所述的聚苯乙烯微球,表面修饰官能团为羧基、羟基或环氧基的一种,粒径为100~500nm。

[0020] 所述的时间分辨荧光微球内部填充镧系元素的螯合物。

[0021] 所述的镧系元素为铈、钐、铈、镨中的一种。

[0022] 所述的时间分辨荧光微球标记步骤如下:

[0023] (1) 肌钙蛋白I单克隆抗体2标记时间分辨荧光微球的制备及稀释:将时间分辨荧光微球溶于MES缓冲液中,加入活化剂活化;随后加入氨基乙酸,使得微球表面连接手臂;洗涤、离心后,再次加入活化剂活化;再次洗涤、离心,将时间分辨荧光微球用硼酸缓冲液复溶,随后加入肌钙蛋白I单克隆抗体2进行反应,硼酸缓冲液、微球与抗体的质量比在10mg:0.01mg~10mg:2.0mg;反应完后加入封闭剂进行封闭;封闭过后,洗涤、离心,再次用硼酸缓冲液及封闭剂复溶、超声,使微球均匀分散在缓冲液中,2~8℃避光保存,选择合适的缓冲液稀释荧光微球,工作浓度在0.5~50μg/ml,用于肌钙蛋白I性能的评估。

[0024] (2) H-FABP单克隆抗体2标记时间分辨荧光微球的制备及稀释羊抗兔抗体标记的荧光微球的制备及稀释过程同(1)所述。

[0025] 优选的,采用铈粒子螯合物填充的时间分辨荧光微球,粒径为:100~500nm;

[0026] 优选的,硼酸缓冲液、微球与抗体的质量比例为:10mg:0.01mg~10mg:2.0mg;

[0027] 优选的,荧光液的工作浓度为:0.5~50μg/ml;

[0028] (1) 制备检测线和质控线:硝酸纤维素膜(3)在免疫荧光试纸条中用于固定包被抗体,同时也是免疫反应的发生的场所;检测线(5)是将H-FABP单克隆抗体1使用柠檬酸盐或蔗糖稀释液稀释,划线于所述硝酸纤维素膜(3)上;检测线(6)是将cTnI单克隆抗体1或多克隆抗体1使用柠檬酸盐或蔗糖稀释液稀释,划线于所述硝酸纤维素膜(3)上;质控线(7)是将兔IgG抗体使用柠檬酸盐或蔗糖稀释液稀释,划线与所述硝酸纤维素膜(3)上,将划好的硝酸纤维素膜置于真空干燥箱,在37~45℃下,烘干24~48小时,检测线(5)、(6)位于同一位置或不同位置,若为不同位置,则检测线(5)、(6)均位于质控线(7)同一侧,即液体首先接触的位置;

[0029] (2) 试纸条的组装:在试纸条底板(1)由左到右依次粘附Fusion5(2)、硝酸纤维素膜(3)、吸水纸(4),将组装好的大板切成小条,即得到所述快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试纸条。

[0030] 优选的,柠檬酸盐或蔗糖稀释液稀中柠檬酸盐或蔗糖占5~20%;

[0031] 优选的,检测线和质控线抗体的划膜浓度为0.5~2mg/ml;

[0032] 优选的,检测线和质控线抗体的划膜喷量为0.5~2.0μl/cm;

[0033] 以上快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试剂的检测方法,其步骤包括:

[0034] (1) 标准曲线的绘制:取10~20μl的cTnI、H-FABP混合标准品与80~500μl的荧光混合液(cTnI、H-FABP、羊抗兔荧光液)混合,取混合液70~100μl滴加到试纸条的Fusion5上,反应时间15~20分钟,通过与试纸条配套的时间分辨免疫层析定量分析仪读取系统检

测信号1、系统检测信号2,然后以标准品的各浓度为横坐标,各浓度T/C的平均值为纵坐标,拟合制备标准品曲线;

[0035] (2) 待测样品的检测,分别取10~20 $\mu$ I的待测样品与80~500 $\mu$ I的荧光混合液(cTnI、H-FABP、羊抗兔荧光液)混合,取混合液70~100 $\mu$ I滴加到试纸条的Fusion5上,反应时间15~20分钟,通过T/C的值即可得到待测样品中的cTnI、H-FABP的浓度值。

[0036] (1) 中,cTnI、H-FABP混合标准品的浓度分别为:

[0037] cTnI:0、0.1、0.5、1.0、5.0、25.0、50.0ng/ml;

[0038] H-FABP:0、1.0、5.0、20.0、40.0、80.0、120.0ng/ml;

[0039] 本发明的有益效果是:

[0040] (1) 本发明采用Fusion5为样品垫,摒弃了传统的样品垫及结合物释放垫,无需预处理,可以进行全血、血清、血浆样本的检测,能够极大的提高检测精密度和准确性。

[0041] (2) 本发明将荧光液置于硝酸纤维素膜之外,不同于传统方法将荧光微球固定于结合物释放垫上,不存在荧光微球释放不均一的现象,同样能够极大的提高检测精密度和准确性。

[0042] (3) 本发明采用铈粒子螯合物填充的时间分辨荧光微球,由于其大的Stokes位移(激发波长为340nm左右,发射波长为615nm左右,差值为275nm左右),能够明显降低背景信号值,提高检测的灵敏度。

[0043] (4) 本发明的采用极少的样本量(10~20 $\mu$ I),能够有效的排除样本的干扰。

## 附图说明

[0044] 图1是本发明快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试剂的结构示意图(1为底板、2为Fusion5、3为硝酸纤维素膜、4为吸水垫、5为H-FABP检测线、6为cTnI检测线、7为兔IgG质控线)。

[0045] 图2是本发明H-FABP的标准品曲线。

[0046] 图3是本发明cTnI的标准品曲线。

[0047] 图4是本发明奥普与胶乳增强免疫比浊H-FABP的相关性曲线。

[0048] 图5是本发明奥普与化学发光法cTnI的相关性曲线。

## 具体实施方式

[0049] 下面结合实施例,对本发明作进一步说明:

[0050] 本发明中,H-FABP抗体、cTnI抗体和荧光微球的供应商和货号如下所示

[0051]

抗体名称	目录号	厂家
Anti-h FABP3 cIone 2302	100292	Medix
Anti-h FABP3 cIone 2303	100293	Medix
19C7单克隆抗体(cTnI)	4T21	Hytest
16A11单克隆抗体(cTnI)	4T21	Hytest
G-129-C多克隆抗体(cTnI)	G-129-C	Biospacific
200nm荧光微球	FC02F	Bangs Laboratories

[0052] 实施例1

[0053] (1) cTnI、H-FABP时间分辨荧光免疫层析试纸条的制备:

[0054] A. 检测线(T1、T2)溶液的制备:用10倍、50mM的柠檬酸盐溶液分别稀释cTnI单克隆抗体及多克隆抗体、H-FABP单克隆抗体至1~2mg/ml;

[0055] B. 质控线(C)溶液的制备:用10倍、50mM的柠檬酸盐溶液稀释兔IgG抗体至1~2mg/ml;

[0056] 在带有背胶的底板(1)上采用搭接的方式,首先粘贴硝酸纤维素膜(3),然后再硝酸纤维素膜(3)的两端分别粘贴Fusion5膜(2)和吸水纸(4)。在硝酸纤维素膜(3)且靠近Fusion5膜(2)处,分别划T1(H-FABP捕获线(5))、T2(cTnI捕获线(6)),在靠近吸水纸(4)的一端划C(兔IgG)线,T1、T2、C的间距都为4mm。

[0057] 在T线处,分别划T1、T2,在C线处划C线。T1、T2线抗体的终浓度为1mg/ml,C线兔IgG的终浓度为1mg/ml,C、T线的喷量为1.0 $\mu$ l/cm。

[0058] 将喷好的大卡置于37℃恒温烘箱中烘烤24小时。烘烤完后,在湿度小于40%的房间,用切条机将其切成3.85mm宽度的试纸条,将其装入塑料壳中压实,然后装入一袋干燥剂,封口置于干燥柜中保存,待用。具体如图1所示。

[0059] 实施例2

[0060] cTnI、H-FABP时间分辨荧光免疫层析试纸条的检测

[0061] (1) 制备cTnI、H-FABP羊抗兔时间分辨荧光微球

[0062] 将时间分辨荧光微球(粒径为200nm左右)溶于100mM MES缓冲液(PH为6.0)中,加入活化剂(NHS,20mg/ml;EDC,20mg/ml)活化15分钟;洗涤、离心,将时间分辨荧光微球用60mM硼酸缓冲液(PH为8.5)复溶,随后加入肌钙蛋白I单克隆抗体2进行反应2小时(微球与抗体的质量比在10mg:0.5mg);反应完后加入封闭剂(BSA,100mg/ml)进行封闭2小时;封闭过后,洗涤、离心,再次用60mM硼酸缓冲液(PH为8.5)及封闭剂(BSA,100mg/ml)复溶、超声,使微球均匀分散在缓冲液中,2-8℃避光保存。

[0063] H-FABP单克隆抗体2标记的荧光微球的制备、羊抗兔抗体标记的荧光微球的制备过程同cTnI制备微球的过程相同。

[0064] (2) 滴配

[0065] 用PH为8.0、100mM的Tris缓冲液将步骤(1)中的cTnI、H-FABP、羊抗兔包被的荧光微球进行稀释。其中,cTnI、H-FABP包被的荧光微球稀释200~300倍,羊抗兔包被的荧光微球稀释2000~3000倍,混合后即为其所需要的荧光混合液。

[0066] (3) 标准曲线的绘制

[0067] 用小牛血清稀释cTnI、H-FABP混合标准品,浓度分别为:cTnI:0、0.1、0.5、1.0、5.0、25.0、50.0ng/ml;H-FABP:0、1.0、5.0、20.0、40.0、80.0、120.0ng/ml。分别取10 $\mu$ l混合标准品与80 $\mu$ l荧光混合液混合,再取80 $\mu$ l混合液滴加载实施例1中的cTnI、H-FABP时间分辨荧光免疫层析试纸条上,反应15分钟后,通过与cTnI、H-FABP时间分辨荧光免疫层析试纸条配套的免疫层析读数仪,分别读取系统检测信号1、系统检测信号2,每个混合标准品的浓度检测三次。

[0068] 实施例3

[0069] 精密度检测

[0070] 用实施例2中的测试方法,分别测试cTnI、H-FABP的混合标准品(cTnI的浓度为1和25ng/ml、H-FABP的浓度为10和80ng/ml),每个标准品重复检测十次,具体检测数值如下表1所示。

[0071] 表1精密度测试结果表

[0072]

H-FABP 校准品 (ng/ml)			cTnI 校准品 (ng/ml)		
序号	10	80	序号	1	25
1	10.9	83.8	1	0.86	27.07
2	9.0	88.0	2	1.09	26.84
3	10.8	82.3	3	0.96	24.69
4	10.2	75.9	4	0.92	25.72
5	9.1	83.8	5	1.12	25.71
6	10.9	77.5	6	0.97	24.22
7	10.4	73.6	7	1.04	24.80

[0073]

8	10.5	80.0	8	0.98	24.21
9	9.8	86.4	9	0.92	26.76
10	9.6	84.9	10	0.95	23.53
mean	10.123	81.611	mean	0.981	25.355
SD	0.714	4.730	SD	0.080	1.250
CV	7%	6%	CV	8%	5%

[0074] 如表1数据可知,采用本发明的三联检测试纸条,cTnI、H-FABP的精密度均小于10%,完全符合POCT产品精密度小于15%的要求。

[0075] 实施例4

[0076] 临床样本的相关性检测

[0077] 用实施例2中的测试方法,分别选取40例国外化学发光法检测cTnI及胶乳增强免疫比浊法检测H-FABP的临床样本(样本浓度分别覆盖标准品的检测范围),用上海奥普生物的两联检测试剂进行检测。具体检测结果如表2所示。

[0078] 表2上海奥普两联检测与化学发光法及胶乳增强免疫比浊法检测数据

[0079]

样本 序号	H-FABP 40 例		样本 序号	cTnI 40 例	
	胶乳增强免 疫比浊法	奥普检测		化学发光法 检测	奥普检测
1	23.8	29.8	1	1.223	2.64
2	14.5	10.7	2	1.721	6.13
3	48.2	50.7	3	2.461	9.72
4	61.2	58.4	4	3.871	7.52
5	33.6	34.5	5	15.957	21.93
6	2.2	2.8	6	1.645	5.59
7	4.4	3.8	7	1.050	2.29
8	17.4	24.4	8	7.995	10.19
9	1.7	1.2	9	0.898	1.26
10	6.6	5.3	10	15.854	17.91
11	17.6	14.3	11	2.255	5.06

12	8.5	8.6	12	6.221	9.60
13	58.7	57.2	13	2.840	5.44
14	4.8	4.3	14	2.048	6.84
15	18.1	17.4	15	12.905	23.35
16	36.9	45.1	16	10.286	17.33
17	3.9	3.0	17	5.213	8.64
18	103.3	84.6	18	0.021	0.34
19	3.2	3.3	19	0.377	0.83
20	1.6	1.9	20	0.032	0.31
21	78.0	69.6	21	38.764	35.86
22	4.9	4.0	22	0.006	0.08
23	18.3	21.8	23	42.527	53.04
24	8.9	11.3	24	0.491	0.74
25	14.4	12.3	25	25.400	30.50
[0080] 26	63.1	61.7	26	0.021	0.53
27	27.3	21.1	27	30.210	34.84
28	87.1	89.5	28	0.296	0.69
29	6.8	5.5	29	0.010	0.69
30	40.0	48.9	30	0.027	1.23
31	122.7	95.9	31	0.042	1.14
32	4.9	4.5	32	0.018	0.54
33	106.5	109.2	33	0.011	0.43
34	115.6	112.4	34	18.911	21.86
35	74.0	87.4	35	5.181	8.76
36	45.5	36.2	36	1.292	3.20
37	6.0	7.7	37	5.216	8.06
38	1.6	1.4	38	0.125	0.82
39	77.6	72.4	39	0.071	0.55
40	24.6	29.1	40	42.739	47.62

[0081] 分别以化学发光法检测的cTnI浓度、胶乳增强免疫比浊检测的H-FABP为横坐标，上海奥普生物检测cTnI、H-FABP浓度为纵坐标，绘制样本相关性曲线。如图4、图5所示。其中，H-FABP的相关性方程为 $y=0.924x+1.760$ ， $R^2=0.966$ ；cTnI的相关性方程为 $y=1.095x+1.968$ ， $R^2=0.964$ 。两个项目的相关性系数R均大于0.95，完全符合临床试验的要求。

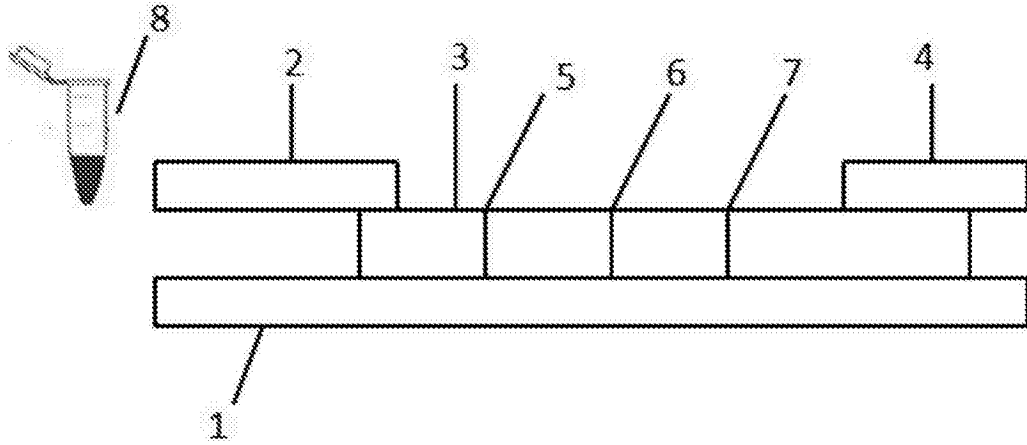


图1

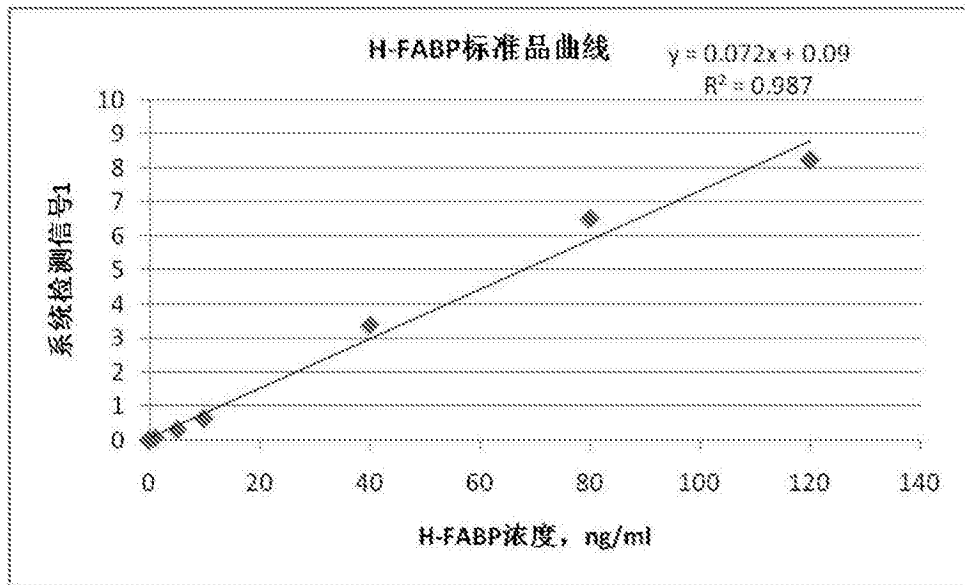


图2

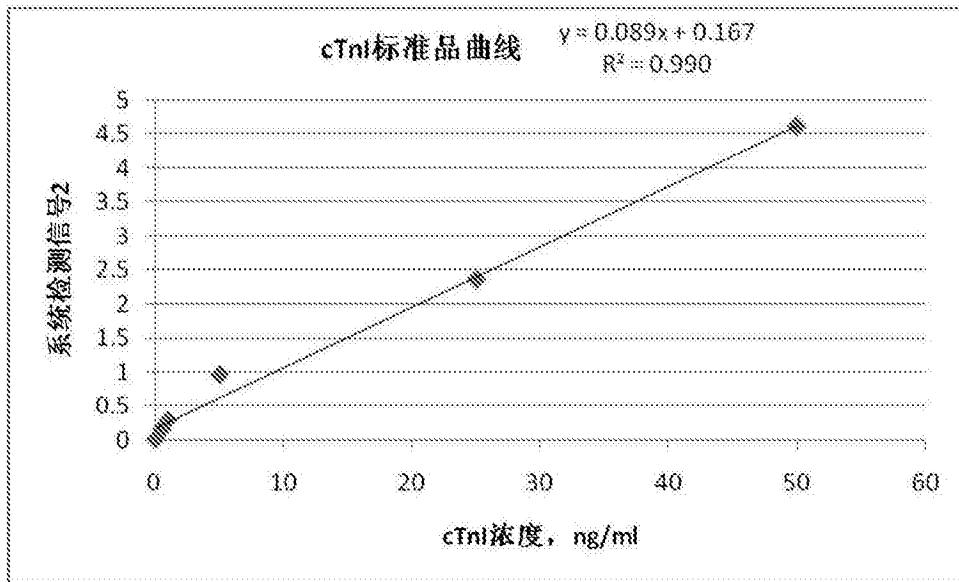


图3

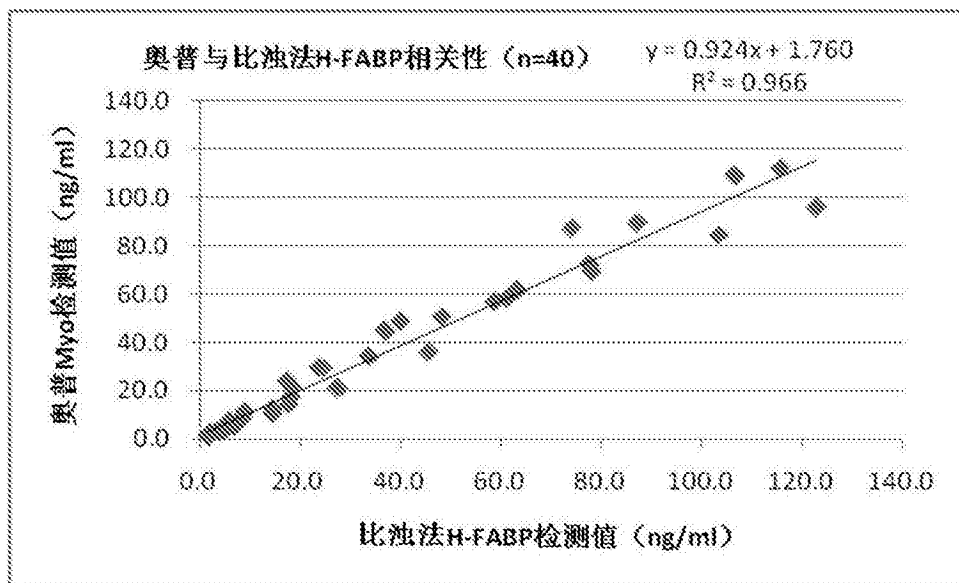


图4

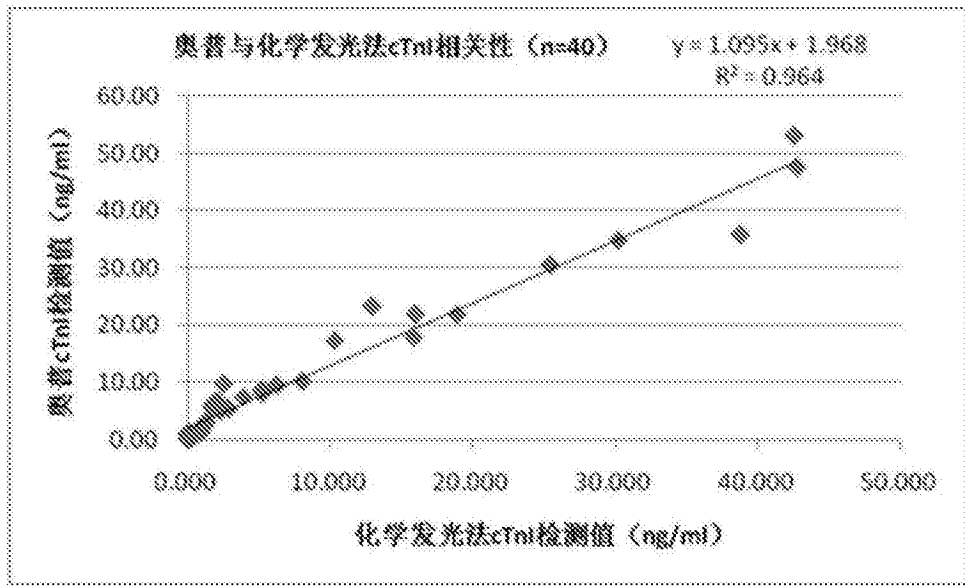


图5

专利名称(译)	一种快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试剂及制备方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN106443004A</a>	公开(公告)日	2017-02-22
申请号	CN201610223300.5	申请日	2016-04-12
[标]申请(专利权)人(译)	上海奥普生物医药有限公司		
申请(专利权)人(译)	上海奥普生物医药有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	上海奥普生物医药有限公司		
[标]发明人	朱传增 石晓强 朱奇朗 安永君 张蕾		
发明人	朱传增 石晓强 朱奇朗 安永君 张蕾		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/577 G01N33/558 G01N33/545 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/6893 G01N33/533 G01N33/54313 G01N33/558 G01N33/577 G01N2333/47 G01N2333/4712 G01N2800/324		
代理人(译)	曹莉		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明属于临床医学诊断领域，特别涉及一种快速定量同时检测cTnI、H-FABP的时间分辨荧光免疫层析试剂及其制备方法。该试剂由试纸条和荧光液两部分组成。其中，试纸条包括底板、Fusion5、硝酸纤维素膜和吸水垫；本发明利用时间分辨荧光微球提高荧光强度，降低背景信号，同时定量检测全血、血清或血浆中的cTnI、H-FABP两项指标，样本仅需要10~20微升。该试纸条具有方便快捷、操作简单、检测时间短、特异性强、灵敏度高、检测结果更加准确，适用于临床POCT的快速诊断。

