



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102998442 A

(43) 申请公布日 2013. 03. 27

(21) 申请号 201210473189. 7

(22) 申请日 2012. 11. 20

(71) 申请人 博奥赛斯(天津)生物科技有限公司
地址 300300 天津市东丽区开发区四纬路
10 号

(72) 发明人 刘萍 张影 宋启超 范利花

(74) 专利代理机构 天津滨海科纬知识产权代理
有限公司 12211

代理人 李莉华

(51) Int. Cl.

G01N 33/543 (2006. 01)

G01N 33/531 (2006. 01)

G01N 21/76 (2006. 01)

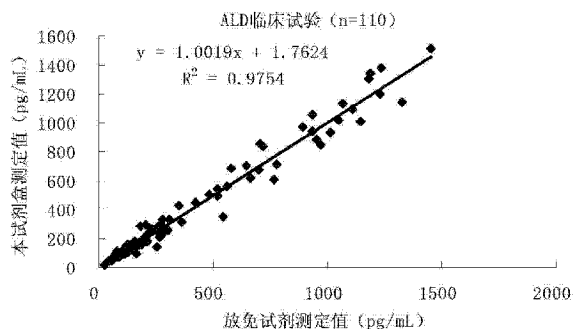
权利要求书 2 页 说明书 7 页 附图 1 页

(54) 发明名称

醛固酮磁微粒化学发光免疫定量检测试剂盒及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种醛固酮磁微粒化学发光免疫定量检测试剂盒,所述试剂盒包括:醛固酮校准品;偶联有链霉亲和素的磁微粒悬浮液;生物素标记的醛固酮抗体;醛固酮酶结合物,所用的酶为辣根过氧化物酶,辣根过氧化物酶纯度 $RZ \geq 3.0$,活性 $\geq 250U/mL$;醛固酮质控品;化学发光液 A 液和 B 液;20 倍浓缩洗液;反应管。另外本发明还公开了本发明试剂盒的制备方法。本发明试剂盒与现有试剂盒相比操作简便,安全无环境污染。此外,本发明还具有检测样品的浓度范围宽、成本低、稳定性好等优点。



1. 醛固酮磁微粒化学发光免疫定量检测试剂盒,其特征在于,所述试剂盒包括:

1)醛固酮校准品,浓度为 0,60,150,450,1500,4000pg/mL,校准品稀释液为含有 50% 牛血清的磷酸缓冲液;

2) 偶联有链霉亲和素的磁微粒悬浮液;

3) 生物素标记的醛固酮抗体;

4)醛固酮抗体酶结合物,所用的酶为辣根过氧化物酶,辣根过氧化物酶纯度 $RZ \geq 3.0$,活性 $\geq 250U/mL$;

5) 醛固酮质控品;

6) 化学发光液 A 液和 B 液;

7) 20 倍浓缩洗液;

8) 反应管。

2. 根据权利要求 1 所述的醛固酮磁微粒化学发光免疫定量检测试剂盒,其特征在于,所述的发光液 A 液的主要成分为鲁米诺,B 液的主要成分是过氧化脲。

3. 根据权利要求 1 所述的醛固酮磁微粒化学发光免疫定量检测试剂盒,其特征在于,所述的磁微粒是表面包裹带有氨基或羧基活性基团的四氧化三铁,粒径 $1 \sim 2\mu m$ 。

4. 根据权利要求 1 所述的醛固酮磁微粒化学发光免疫定量检测试剂盒,其特征在于,所述的醛固酮质控品包括低值质控品和高值质控品。

5. 根据权利要求 1 所述的醛固酮磁微粒化学发光免疫定量检测试剂盒,其特征在于,所述的反应管的材料是透明聚苯乙烯、聚乙烯、聚丙烯或玻璃。

6. 一种制备所述权利要求 1 的试剂盒的方法,其特征在于包括以下步骤:

(1) 醛固酮校准品的配制:

将 ALD 纯品用含有 50% 牛血清的磷酸缓冲液稀释成系列梯度,浓度分别为 0,60,150,450,1500,4000pg/mL;

(2) 醛固酮质控品的配制:

将 ALD 纯品用 50% 牛血清的校准品稀释液配制低值质控品和高值质控品,浓度分别为 $196 \sim 294pg/mL$ 和 $1880 \sim 2820pg/mL$;

(3) 磁性颗粒-链霉亲和素悬浮液的制备:

取 100mL0.1mol/L2- 吗啉乙磺酸溶液,依次加入 10mg 磁性颗粒和 3mg 链霉亲和素,搅拌 30min,然后加入 10mg/mL 碳二亚胺盐酸盐溶液 3.5uL,反应 1h 后,使用磁力架吸附,静置 10min,移去液体,加入 10mL0.01mol/LPBS,重复上述过程,共洗涤 3 次,最后用 0.01mol/LPBS 定溶至 1L 即可;

(4) 生物素标记的醛固酮抗体的制备

取 0.5mg 醛固酮抗体,用硼酸盐缓冲液在 $2 \sim 8^{\circ}C$ 下透析 $1 \sim 3h$;将透析后的抗体加入 25ug 生物素,同时加入二甲基亚砜,最终浓度为 10%,避光反应 3h,缓慢振荡;在上述溶液中加入 250uL1mol/L 氯化铵溶液,常温避光反应 $30 \sim 60min$;用 0.01mol/LPBS 溶液在 $2 \sim 8^{\circ}C$ 下透析 2 天,期间换液 $3 \sim 5$ 次;

(5) 醛固酮酶结合物的制备

将 0-(羧甲基)羟胺和 ALD 溶解在乙醇中,使其浓度分别为 5mmol/L 和 2mmol/L,在沸水浴中反应 90min;浓缩后,加入 40mL 水,用乙醚抽提,抽提物用 Na_2SO_4 干燥,将其溶于

0.01mol/L 的氢氧化钠溶液中,得 II 液;将 EDC 溶解在 pH8.0 的 PBS 缓冲液中,得 I 液;将 HRP 溶于 pH7.4 的 PBS 缓冲液中,得 III 液;将 II 液与 III 液混合,然后逐滴加入 I 液,在 4℃ 搅拌 16 小时,用 0.01MPBS 使之充分透析;

(6) 20 倍浓缩洗液的配制

20 倍浓缩洗液包括 58g/L 磷酸氢二钠,5.92g/L 磷酸二氢钠,180g/L NaCl,10mL/L Tween-20 和 1‰ Proclin300;

(7) 化学发光液 A 液和 B 液的配制

A 液为 0.7g/L 鲁米诺,0.165g/L 对碘酚,缓冲液为 pH8.6 的 5mmol/L Tris·HCl,避光保存;B 液为 0.675g/L 过氧化脲,用工艺用水配制;A 液和 B 液在使用前 5min 混合;(8) 组装:将上述试剂组装成盒,储存于 2~8℃;

(9) 对采用该方法制的试剂盒的进行物理检查,准确度、剂量-反应曲线的线性、精密性、特异性、灵敏度、质控品的测定值和稳定性进行测定。

醛固酮磁微粒化学发光免疫定量检测试剂盒及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及免疫分析医学领域,具体的,本发明提供了一种醛固酮(ALD)磁微粒化学发光免疫定量检测试剂盒及其制备方法。

背景技术

[0002] 高血压是最常见的心血管病,是全球范围内的重大公共卫生问题。据卫生部最新数据,我国现有高血压患者 2 亿多人,在前十种慢性疾病患病率中高血压位居第一,且在逐年增加。高血压是引发高血压心脏病、冠心病、心力衰竭、慢性肾功能衰竭、脑血管疾病等的主要危险因素。临床上醛固酮、血管紧张素 I、血管紧张素 II、去甲肾上腺素对高血压的诊断与分型,以及评估冠心病、心力衰竭等疾病的严重程度和预后都有重要意义。

[0003] 醛固酮是由肾上腺皮质球状带细胞合成和分泌的一种盐皮质激素。是人体内调节血容量的激素,通过调节肾脏对钠的重吸收,维持水平衡;醛固酮的分泌主要受肾素-血管紧张素系统的调,当细胞外液容量下降时,刺激肾小球旁细胞分泌肾素,激活肾素-血管紧张素-醛固酮系统、醛固酮分泌增加,使肾脏重吸收钠增加,进而引起水重吸收增加,细胞外液容量增多;相反细胞外液容量增多时,通过上述相反的机制,使醛固酮分泌减少,肾重吸收钠水减少,细胞外液容量下降。血钠降低,血钾升高同样刺激肾上腺皮质,使醛固酮分泌增加。

[0004] 目前,测定醛固酮的方法有放射性免疫法、酶联免疫法、化学发光免疫分析等,例如 RIA 存在放射性污染、标记物半衰期短、对操作者具有放射性损伤,且操作繁琐,时间长等缺点;而 ELISA 灵敏度低,检测范围窄;化学发光免疫分析(CLIA)是当今最为敏感的微量免疫测定法。

[0005] 将化学发光免疫分析和磁微粒技术结合,与以微孔板为固相载体的 ALD 化学发光试剂盒相比,具有以下优势:(1)以磁微粒为固相载体,大大增加了抗体的有效包被量,节约了抗体的用量,从而节约了成本;(2)以磁微粒为固相载体包被抗体,增加了抗原-抗体的接触面积,及发光面积,提高了反应的灵敏度;(3)反应在液相中进行,且利用旋转磁场使磁微粒其搅拌作用,大大缩短了反应时间;(4)在反应过程中引入了生物素-亲和素系统(biotin-avidin system, BAS),它是 70 年代末发展起来的一种新型反应放大系统,由于具有与标记试剂高亲和力的牢固结合、多级放大效应,使其具有灵敏度高、特异性好、稳定性高的特点,目前已成为广泛用于微量抗原、抗体定性、定量检测及定位观察研究的新技术;(5)本试剂盒与管式化学发光仪配套使用,在样本测定过程中灵活性更好。但目前将化学发光免疫分析和磁微粒技术结合用于 ALD 检测还没有广泛用于临床。

发明内容

[0006] 本发明要解决的问题是提供 ALD 的磁微粒化学发光免疫定量检测试剂盒及其制备方法,避免了放射性免疫分析的试剂有效期短、存在放射性污染、操作繁琐等缺点,且解决了灵敏度低,检测范围窄,成本高的缺陷。

[0007] 为解决上述技术问题,本发明采用的技术方案是:醛固酮磁微粒化学发光免疫定量检测试剂盒,包括:醛固酮校准品,浓度为为 0,60,150,450,1500,4000pg/mL,校准品稀释液为含有 50% 牛血清的磷酸缓冲液;偶联有链霉亲和素的磁微粒悬浮液;生物素标记的 ALD 抗体;ALD 酶结合物,所用的酶为辣根过氧化物酶,辣根过氧化物酶纯度 $RZ \geq 3.0$,活性 $\geq 250U/mL$;醛固酮质控品;化学发光液 A 液和 B 液;20 倍浓缩洗液;反应管。

[0008] 进一步,所述的发光液 A 液的主要成分为鲁米诺,B 液的主要成分是过氧化脲。A 液为 0.7g/L 鲁米诺,0.165g/L 对碘酚,缓冲液为 pH8.6 的 5mmol/L Tris·HCl,避光保存;B 液为 0.675g/L 过氧化脲,用工艺用水配制。

[0009] 进一步,所述的磁微粒是表面包裹带有氨基或羧基活性基团的四氧化三铁,粒径 1-2 μm 。

[0010] 进一步,所述的醛固酮质控品包括低值质控品和高值质控品。

[0011] 进一步,所述的反应管的材料是透明聚苯乙烯、聚乙烯、聚丙烯或玻璃。

[0012] 试剂盒的制备方法,包括以下步骤:

[0013] (1) 醛固酮校准品的配制:

[0014] 将 ALD 纯品用含有 50% 牛血清的磷酸缓冲液稀释成系列梯度,浓度分别为 0,60,150,450,1500,4000pg/mL。

[0015] (2) 醛固酮质控品的配制:

[0016] 将 ALD 纯品用 50% 牛血清的校准品稀释液配制低值质控品和高值质控品,浓度允许范围分别为 196 ~ 294pg/mL 和 1880 ~ 2820pg/mL。

[0017] (3) 磁性颗粒-链霉亲和素悬浮液的制备:

[0018] 取 100mL0.1mol/L2- 吗啉乙磺酸溶液(MES 溶液),依次加入 10mg 磁性颗粒和 3mg 链霉亲和素(SA),搅拌 30min,然后加入 10mg/mL 碳二亚胺盐酸盐溶液(1- 乙基-(3- 二甲基氨基)丙基,EDC)3.5 μL ,反应 1h 后,使用磁力架吸附,静止 10min,移去液体,加入 10mL0.01mol/L PBS,重复上述过程,共洗涤 3 次,最后用 0.01mol/L PBS 定溶至 1L 即可。

[0019] (4) 生物素标记的醛固酮抗体的制备

[0020] 取 0.5mg 醛固酮抗体,用硼酸盐缓冲液在 2 ~ 8 $^{\circ}C$ 下透析 1 ~ 3h;将透析后的抗体加入 25 μg 生物素,同时加入二甲基亚砜,最终浓度为 10%,避光反应 3h,缓慢振荡;在上述溶液中加入 250 μL 1mol/L 氯化铵溶液,常温避光反应 30-60min;用 0.01mol/L PBS 溶液在 2 ~ 8 $^{\circ}C$ 下透析 2 天,期间换液 3 ~ 5 次;

[0021] (5) 醛固酮酶结合物的制备

[0022] 将 O-(羧甲基)羟胺和 ALD 溶解在乙醇中,使其浓度分别为 5mmol/L 和 2mmol/L,在沸水浴中反应 90min;浓缩后,加入 40mL 水,用乙醚抽提,抽提物用 Na_2SO_4 干燥,将其溶于 0.01mol/L 的氢氧化钠溶液中,得 II 液;将 EDC 溶解在 pH8.0 的 PBS 缓冲液中,得 I 液;将 HRP 溶于 pH7.4 的 PBS 缓冲液中,得 III 液;将 II 液与 III 液混合,然后逐滴加入 I 液,在 4 $^{\circ}C$ 搅拌 16 小时,用 0.01MPBS 使之充分透析;

[0023] (6) 20 倍浓缩洗液的配制

[0024] 20 倍浓缩洗液包括 58g/L 磷酸氢二钠,5.92g/L 磷酸二氢钠,180g/L NaCl,10mL/L Tween-20 和 1% Proclin300;

[0025] (7) 化学发光液 A 液和 B 液的配制

[0026] A 液为 0.7g/L 鲁米诺,0.165g/L 对碘酚,缓冲液为 pH8.6 的 5mmol/L Tris·HCl,避光保存;B 液为 0.675g/L 过氧化脲,用工艺用水配制;A 液和 B 液在使用前 5min 混合;

[0027] (8) 组装:将上述试剂组装成盒,储存于 2~8℃;

[0028] (9) 对采用该方法制的的试剂盒的进行物理检查,准确度、剂量-反应曲线的线性、精密度、特异性、灵敏度、质控品的测定值和稳定性进行测定。

[0029] 本发明的原理是,本试剂盒采用竞争法原理测定血清或血浆中的 ALD,在亲和素-磁微粒悬浮液中加入生物素-ALD 抗体结合物,通过亲和素和生物素的亲和反应,形成磁微粒-亲和素-生物素-ALD 抗体复合物,加入样本和酶结合物后,酶结合物与样本中的 ALD 竞争结合磁微粒表面的 ALD 抗体,形成磁微粒-亲和素-生物素-ALD 抗体-ALD-HRP 复合物,用磁场将复合物吸附在试管底部,清洗掉游离的成分,加入底物工作液,在氧化剂作用下,HRP 催化鲁米诺生成处于激发态的氨基邻苯二甲酸离子,其恢复到基态时,释放出 425nm 的光子,于第 5 分钟测定各加样孔的发光值(RLU)。样本的发光值与样本中 ALD 浓度呈负相关。样本中的 ALD 浓度依据由校准品 ALD 浓度和对应的 RLU 建立的 LogX-LogY 数学模型进行定量,从而检测人血清、血浆中的 ALD 含量。

[0030] 本专利发明的醛固酮(ALD)磁微粒化学发光免疫定量测定试剂盒,具有以下优点:(1)反应快速,可在 40 分钟内判断检测结果;操作简便,无污染。(2)灵敏度高,本试剂盒的分析灵敏度不高于 2pg/mL。(3)特异性强,本产品与 B 型脑钠肽(BNP)、心钠素(ANP)、血管紧张素 II(Ang II)交叉特异性均小于 1%。(4)精密度良好,批内和批间精密度不高于 10%。(5)稳定性良好,本产品可在 37℃ 可存放 7 天以上,在 2~8℃ 可存放 1 年。(6)成本低,与市场上同类产品比较,本试剂盒性能良好,成本低,具有临床应用价值。

附图说明

[0031] 图 1 是本发明的博奥赛斯化学发光试剂盒测定醛固酮与放免试剂盒测定醛固酮的测定结果比较图,其中纵坐标为博奥赛斯测得的醛固酮值,横坐标为放免试剂盒测定醛固酮值,两种方法相关系数(r^2)=0.9754,直线方程 $y=1.0019x+1.7624$ 。

具体实施方式

[0032] 实施例 1:制备醛固酮(ALD)磁微粒化学发光免疫定量测定试剂盒 I

[0033] (1) 醛固酮校准品的配制:

[0034] 将 ALD 纯品用含有 50% 牛血清的磷酸缓冲液稀释成系列梯度,浓度分别为 0,60,150,450,1500,4000pg/mL。

[0035] (2) 醛固酮质控品的配制:

[0036] 将 ALD 纯品用 50% 牛血清的校准品稀释液配制低值质控品和高值质控品,浓度分别为 196pg/mL 和 2820pg/mL。

[0037] (3) 磁性颗粒-链霉亲和素悬浮液的制备:

[0038] 取 100mL0.1mol/L2-吗啉乙磺酸溶液(MES 溶液),依次加入 10mg 磁性颗粒和 3mg 链霉亲和素(SA),搅拌 30min,然后加入 10mg/mL 碳二亚胺盐酸盐溶液(1-乙基-(3-二甲基氨基丙基,EDC)3.5uL,反应 1h 后,使用磁力架吸附,静止 10min,移去液体,加入 10mL0.01mol/L PBS,重复上述过程,共洗涤 3 次,最后用 0.01mol/L PBS 定溶至 1L 即可。

[0039] (4) 生物素标记的醛固酮抗体的制备

[0040] 取 0.5mg 醛固酮抗体,用硼酸盐缓冲液在 2~8℃下透析 1h;将透析后的抗体加入 25ug 生物素,同时加入二甲基亚砜,最终浓度为 10%,避光反应 3h,缓慢振荡;在上述溶液中加入 250uL1mol/L 氯化铵溶液,常温避光反应 30min;用 0.01mol/L PBS 溶液在 2~8℃下透析 2 天,期间换液 5 次;

[0041] (5) 醛固酮酶结合物的制备

[0042] 将 O-(羧甲基)羟胺和 ALD 溶解在乙醇中,使其浓度分别为 5mmol/L 和 2mmol/L,在沸水浴中反应 90min;浓缩后,加入 40mL 水,用乙醚抽提,抽提物用 Na₂SO₄ 干燥,将其溶于 0.01mol/L 的氢氧化钠溶液中,得 II 液;将 EDC 溶解在 pH8.0 的 PBS 缓冲液中,得 I 液;将 HRP 溶于 pH7.4 的 PBS 缓冲液中,得 III 液;将 II 液与 III 液混合,然后逐滴加入 I 液,在 4℃搅拌 16 小时,用 0.01MPBS 使之充分透析;

[0043] (6) 20 倍浓缩洗液的配制

[0044] 20 倍浓缩洗液包括 58g/L 磷酸氢二钠,5.92g/L 磷酸二氢钠,180g/L NaCl,10mL/L Tween-20 和 1‰ Proclin300;

[0045] (7) 化学发光液 A 液和 B 液的配制

[0046] A 液为 0.7g/L 鲁米诺,0.165g/L 对碘酚,缓冲液为 pH8.6 的 5mmol/L Tris·HCl,避光保存;B 液为 0.675g/L 过氧化脲,用工艺用水配制;A 液和 B 液在使用前 5min 混合;

[0047] (8) 组装:将上述试剂组装成盒,储存于 2~8℃;

[0048] (9) 对采用该方法制的的试剂盒的进行物理检查,准确度、剂量-反应曲线的线性、精密度、特异性、灵敏度、质控品的测定值和稳定性进行测定。

[0049] 实施例 2:制备醛固酮(ALD)磁微粒化学发光免疫定量测定试剂盒 II

[0050] (1) 同实施例 1 醛固酮校准品的配制

[0051] (2) 醛固酮质控品的配制:

[0052] 将 ALD 纯品用 50% 牛血清的校准品稀释液配制低值质控品和高值质控品,浓度分别为 294pg/mL 和 1880pg/mL。

[0053] (3) 同实施例 1 磁性颗粒-链霉亲和素悬浮液的制备

[0054] (4) 生物素标记的醛固酮抗体的制备

[0055] 取 0.5mg 醛固酮抗体,用硼酸盐缓冲液在 2~8℃下透析 2h;将透析后的抗体加入 25ug 生物素,同时加入二甲基亚砜,最终浓度为 10%,避光反应 3h,缓慢振荡;在上述溶液中加入 250uL1mol/L 氯化铵溶液,常温避光反应 60min;用 0.01mol/L PBS 溶液在 2~8℃下透析 2 天,期间换液 3 次;

[0056] (5)-(9) 同实施例 1 步骤。

[0057] 实施例 3:制备醛固酮(ALD)磁微粒化学发光免疫定量测定试剂盒 III

[0058] (1) 同实施例 1 醛固酮校准品的配制

[0059] (2) 醛固酮质控品的配制:

[0060] 将 ALD 纯品用 50% 牛血清的校准品稀释液配制低值质控品和高值质控品,浓度分别为 205pg/mL 和 2540pg/mL。

[0061] (3) 同实施例 1 磁性颗粒-链霉亲和素悬浮液的制备

[0062] (4) 生物素标记的醛固酮抗体的制备

[0063] 取 0.5mg 醛固酮抗体,用硼酸盐缓冲液在 2~8℃下透析 3h;将透析后的抗体加入 25ug 生物素,同时加入二甲基亚砷,最终浓度为 10%,避光反应 3h,缓慢振荡;在上述溶液中加入 250uL1mol/L 氯化铵溶液,常温避光反应 50min;用 0.01mol/L PBS 溶液在 2~8℃下透析 2 天,期间换液 4 次;

[0064] (5)-(9) 同实施例 1 步骤。

[0065] 实施例 4:本发明试剂盒的使用方法

[0066] 1 将待检试剂盒在室温(18~25℃)下平衡 30 分钟。

[0067] 2 配制洗液:用蒸馏水将浓缩洗液按 1:20 稀释(1mL 洗液加 19mL 蒸馏水)。若浓缩洗液有结晶,可将浓缩洗液置于室温或 37℃待结晶溶解后再进行稀释。

[0068] 3 配制发光液:使用前 5 分钟取适量发光液 A 与发光液 B 等体积混合。

[0069] 4 将反应管编号,向试管中依次加入 10-50uL 校准品或血清标本、100uL 磁性颗粒-链霉亲和素悬浮液、100uL 生物素-ALD 抗体结合物、100uLALD 酶结合物,37℃下振荡反应 10-30min,将试管架置于磁分离器上分离 5min,然后倒出上清液,加入 500uL 洗液,充分混匀后,于磁分离器上分离,倒出洗液,重复 3 次,在各管中加入化学发光底物液 200-400uL,充分混匀,暗置 5min,在管式化学发光仪上测定各管的发光值(RLU),以校准品浓度的 Log 值为横坐标,以发光值的 Log 为纵坐标,绘制标准曲线,根据血清标本的发光值即可计算出 ALD 的浓度。

[0070] 实施例 3 本试剂盒的方法学评价结果

[0071]

项目			质检标准	结果 合格/不合格	
物理检查			液体组分澄清, 无沉淀或絮状物	合格	
精密度	QcL	浓度值	196~294pg/mL	合格	
		精密度	CV<10%	合格	
	QcH	浓度值	1880~2820pg/mL	合格	
		精密度	CV<10%	合格	
特异性		C1 (BNP 5ng/mL)	<50pg/mL	合格	
		C2 (ANP 5ng/mL)	<50pg/mL	合格	
		C3 (Ang II 5ng/mL)	<50pg/mL	合格	
分析灵敏度			<2pg/mL	合格	
校准品线性			r>0.99	合格	
准确性		定值结果	实测值/理论值平均值在 0.9-1.1 之间	合格	
		平行判定	t <2.447, 两条直线不偏离平行	合格	
物理检查			液体组分澄清, 无沉淀或絮状物	合格	
稳定性	精密度	QcL	浓度值	196~294pg/mL	合格
			精密度	CV<10%	合格
		QcH	浓度值	1880~2820pg/mL	合格
			精密度	CV<10%	合格
	特异性		C1 (BNP 5ng/mL)	<50pg/mL	合格
			C2 (ANP 5ng/mL)	<50pg/mL	合格
			C3 (Ang II 5ng/mL)	<50pg/mL	合格
	分析灵敏度			<15pg/mL	合格
	校准品线性			r>0.99	合格
	准确性		定值结果	实测值/理论值平均值在 0.9-1.1 之间	合格
平行判定			t <2.447, 两条直线不偏离平行	合格	

[0072]

[0073] 实施例 4 本试剂盒的临床对比实验

[0074] 本专利发明的试剂盒已进行了临床考核, 本次临床试验的样本总数 110 例, 先以 ALD 放射性免疫试剂盒测试后, 再用本专利发明的试剂盒(化学发光)进行测定, 结果表明, 直线方程为 $y=1.0019x+1.7624$, 相关系数为 $R^2=0.9754$ 。可见本方法制备的试剂盒与医院测值有较好的一致性。以 SPSS13.0 统计分析软件对两种方法的 ALD 测值进行 t 检验(检验水

准 $\alpha = 0.05$), $P = 0.256 > 0.05$, 两种方法测定的 ALD 测值无显著性差异。灵敏度(真阳性率)为 97.25%、特异性(真阴性率)为 97.31%, 都较高; 而假阳性率(误诊率)为 2.13%、假阴性率(漏诊率)为 3.42%, 都较低, 可见本试剂盒的测量值与实际值(原测值)的符合程度良好。粗一致性反映试剂盒诊断病人与非病人的能力, 本试剂盒的粗一致性为 98.12%, 接近于 1, 说明试剂盒的诊断能力较强。

[0075] 为了确定本试剂盒的临床参考值, 对 589 份正常人血清、血浆样本采用本试剂盒进行了检测, 结果表明本试剂盒的参考值(参考范围)为:

[0076] 普食: 卧位 60~180pg/mL

[0077] 立位 70~300pg/mL

[0078] 低钠: 卧位 120~360pg/mL

[0079] 立位 150~650pg/mL

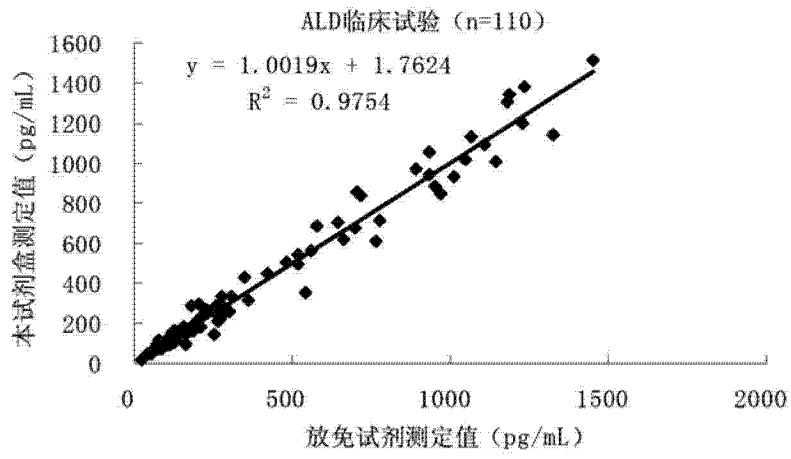


图 1

专利名称(译)	醛固酮磁微粒化学发光免疫定量检测试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN102998442A	公开(公告)日	2013-03-27
申请号	CN201210473189.7	申请日	2012-11-20
[标]申请(专利权)人(译)	博奥赛斯(天津)生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	博奥赛斯(天津)生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	博奥赛斯(天津)生物科技有限公司		
[标]发明人	刘萍 张影 宋启超 范利花		
发明人	刘萍 张影 宋启超 范利花		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/531 G01N21/76		
代理人(译)	李莉华		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种醛固酮磁微粒化学发光免疫定量检测试剂盒，所述试剂盒包括：醛固酮校准品；偶联有链霉亲和素的磁微粒悬浮液；生物素标记的醛固酮抗体；醛固酮酶结合物，所用的酶为辣根过氧化物酶，辣根过氧化物酶纯度RZ≥3.0，活性≥250U/mL；醛固酮质控品；化学发光液A液和B液；20倍浓缩洗液；反应管。另外本发明还公开了本发明试剂盒的制备方法。本发明试剂盒与现有试剂盒相比操作简便，安全无环境污染。此外，本发明还具有检测样品的浓度范围宽、成本低、稳定性好等优点。

