(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109187955 A
(43)申请公布日 2019.01.11

(21)申请号 201810865319.9

(22)申请日 2018.08.01

(71)申请人 深圳市锦瑞生物科技有限公司
地址 518000 广东省深圳市南山区桃源街道留仙大道1183号南山云谷创新产业园山水楼6楼B

(72)发明人 朱漩 汪建德

(74)专利代理机构 深圳市六加知识产权代理有限公司 44372
代理人 罗水江

(51)Int.Cl.
G01N 33/543(2006.01)
G01N 33/536(2006.01)

权利要求书1页 说明书10页

(54)发明名称

一种用于检测D-二聚体的试剂盒及其检测方法

(57)摘要

本发明涉及化学分析检测技术领域，公开一种用于检测D-二聚体的试剂盒及其检测方法，试剂盒由抗血清、缓冲液，质控品，磁卡和搅拌子组成，其中，抗血清由磷酸盐缓冲液与鼠抗人D-二聚体单克隆抗体偶联的乳胶颗粒组成，所述缓冲液由磷酸盐缓冲液与氯化钠组成，质控品为含D-二聚体的溶液，磷酸盐缓冲液与鼠抗人D-二聚体单克隆抗体偶联的乳胶颗粒的质量比为(10-30):1，所述磷酸盐缓冲液与氯化钠的质量比为1:(2-3)，所述磁卡用于存储试剂盒的标准曲线信息；所述搅拌子用于搅拌待测样本，采用试剂盒测试D-二聚体时，不用再现场配置所需试剂以及单独做标准曲线，不仅节省检测时间，降低检测人员的劳动力，而且简化了测试D-二聚体时的操作过程。

CN 109187955 A

1.一种用于检测D-二聚体的试剂盒，其特征在于，所述试剂盒由抗血清、缓冲液，质控品，磁卡和搅拌子组成，其中，所述抗血清由磷酸盐缓冲液与鼠抗人D-二聚体单克隆抗体偶联的乳胶颗粒组成，所述缓冲液由磷酸盐缓冲液与氯化钠组成，所述质控品为含D-二聚体的溶液，所述磷酸盐缓冲液与鼠抗人D-二聚体单克隆抗体偶联的乳胶颗粒的质量比为(10-30)：1，所述磷酸盐缓冲液与氯化钠的质量比为1：(2-3)，所述磁卡用于存储试剂盒的标准曲线信息，所述搅拌子用于搅拌待测样本。

2.根据权利要求1所述的试剂盒，其特征在于，所述磷酸盐缓冲液与鼠抗人D-二聚体单克隆抗体偶联的乳胶颗粒的质量比优选为20：1。

3.根据权利要求1所述的试剂盒，其特征在于，所述磷酸盐缓冲液与氯化钠的质量比优选为1:2.51。

4.根据权利要求1所述的试剂盒，其特征在于，所述质控品中D-二聚体溶液浓度为3-4mg/L。

5.根据权利要求1所述的试剂盒，其特征在于，所述磷酸盐缓冲液的浓度为20mmol/L。

6.根据权利要求1所述的试剂盒，其特征在于，所述鼠抗人D-二聚体单克隆抗体偶联的乳胶颗粒的浓度为1.2g/L。

7.根据权利要求1所述的试剂盒，其特征在于，所述氯化钠的浓度为15.8g/L。

8.根据权利要求1所述的试剂盒，其特征在于，所述试剂盒内的试剂测试温度为18-25℃。

9.根据权利要求1所述的试剂盒，其特征在于，所述搅拌子由不锈钢制成。

10.一种检测D-二聚体的方法，应用如权利要求1-9任一项权利要求所述的试剂盒，其特征在于，包括以下步骤：

(a)打开仪器主测试界面，选择需要测试项目和样本类型；

(b)打开刷卡界面，将相应项目的磁卡与仪器磁卡感应区上方接触，刷卡成功后，界面自动返回测量主界面，其中，同一批试剂，只需要刷卡一次；

(c)按照仪器的界面提示，放入测量杯；

(d)取出测试杯，在测试杯中加入一粒搅拌子，并准确加入300μl的缓冲液；然后加入6μl的血浆样本；将测试杯放入测量通道，仪器自动搅拌一次；

(e)向测试杯中加入抗血清，然后用移液器准确加入100μl的抗血清；

(f)按下相应通道的触发按键，仪器自动搅拌，测试完成后，仪器将显示测量结果并自动打印测试结果；

(g)测量完毕后，把反应杯从测试槽取出，进行下一个测试。

一种用于检测D-二聚体的试剂盒及其检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及化学分析检测技术领域，具体涉及一种用于检测D-二聚体的试剂盒及其检测方法。

背景技术

[0002] D-二聚体(D-dimer)是交联纤维蛋白经纤溶酶作用后降解生成若干种多聚体中特异性产物之一。生理状态下，正常机体内纤溶酶和抑制酶之间保持动态平衡，以保证纤维蛋白及时形成和及时清除，使血液循环能正常进行。若这一平衡遭到破坏，血管内凝血倾向增强，纤维蛋白聚集，纤维蛋白降解产物增加，D-二聚体含量增加。D-二聚体水平的上升，代表血块在血管循环系统中形成，是急性血栓形成的一个敏感的标记物。因此，D-二聚体的检测可以反映体内凝血酶和纤溶活性，其含量的升高表示体内继发性纤溶活性增高，可作为体内高凝状态和血栓形成的标志之一，是目前鉴别原发性和继发性纤溶等方面颇有价值的重要指标。

[0003] 目前，常采用酶联免疫吸附法检测D-二聚体，具有敏感性高、特异性较强的优点，被认为是D-二聚体检测的经典方法，但是，由于酶联免疫吸附法操作步骤复杂，而且，每次检测时均需同时做标准曲线，耗时且耗力。

发明内容

[0004] 本发明实施例提供一种用于检测D-二聚体的试剂盒及其使用方法，解决了检测D-二聚体时操作步骤复杂且耗时耗力的技术问题。

[0005] 为了解决上述技术问题，本发明实施例采用的一个技术方案是：

[0006] 第一方面，本发明实施例提供一种用于检测D-二聚体的试剂盒，所述试剂盒由抗血清、缓冲液，质控品，磁卡和搅拌子组成，其中，所述抗血清由磷酸盐缓冲液与鼠抗人D-二聚体单克隆抗体偶联的乳胶颗粒组成，所述缓冲液由磷酸盐缓冲液与氯化钠组成，所述质控品为含D-二聚体的溶液，所述磷酸盐缓冲液与鼠抗人D-二聚体单克隆抗体偶联的乳胶颗粒的质量比为(10-30)：1，所述磷酸盐缓冲液与氯化钠的质量比为1：(2-3)，所述磁卡用于存储试剂盒的标准曲线信息；所述搅拌子用于搅拌待测样本。

[0007] 优选地，所述磷酸盐缓冲液与鼠抗人D-二聚体单克隆抗体偶联的乳胶颗粒的质量比优选为20：1。

[0008] 优选地，所述磷酸盐缓冲液与氯化钠的质量比优选为1:2.51。

[0009] 优选地，所述质控品中D-二聚体溶液浓度为3-4mg/L。

[0010] 优选地，所述磷酸盐缓冲液的浓度为20mmol/L。

[0011] 优选地，所述鼠抗人D-二聚体单克隆抗体偶联的乳胶颗粒的浓度为1.2g/L。

[0012] 优选地，所述氯化钠的浓度为15.8g/L。

[0013] 优选地，所述试剂盒内的试剂测试温度为18-25℃。

[0014] 优选地，所述搅拌子由不锈钢制成。

[0015] 第二方面，本发明实施例提供一种检测D-二聚体的方法，应用如上所述的试剂盒，其特征在于，包括以下步骤：

[0016] (a)打开仪器主测试界面，选择需要测试项目和样本类型；

[0017] (b)打开刷卡界面，将相应项目的磁卡与仪器磁卡感应区上方接触，刷卡成功后，界面自动返回测量主界面，其中，同一批试剂，只需要刷卡一次；

[0018] (c)按照仪器的界面提示放入测量杯；

[0019] (d)取出测试杯，在测试杯中加入一粒搅拌子，并准确加入300μl的缓冲液；然后加入6μl的血浆样本；将测试杯放入测量通道，仪器自动搅拌一次；

[0020] (e)向测试杯中加入抗血清，然后用移液器准确加入100μl的抗血清；

[0021] (f)按下相应通道的触发按键，仪器自动搅拌，测试完成后，仪器将显示测量结果并自动打印测试结果；

[0022] (g)测量完毕后，把反应杯从测试槽取出，进行下一个测试。

[0023] 与现有技术相比，本发明实施例的有益效果为：通过提供一个检测D-二聚体的试剂盒，试剂盒内包含测试样本中D-二聚体中所用的试剂，以及标准曲线信息，因此，测试D-二聚体时，不用再现场配置所需试剂以及单独做标准曲线，不仅节省检测时间，降低检测人员的劳动力，而且简化了测试D-二聚体时的操作过程，同时，使用试剂盒检测D-二聚体的测试结果比较精准，误差较小。

具体实施方式

[0024] 为了使本发明的目的、技术方案及优点更加清楚明白，下面结合具体实施例对本发明作进一步详细说明。应当理解，此处所描述的具体实施例仅仅用以解释本发明，并不用于限定本发明。

[0025] 本发明提供的用于检测D-二聚体的试剂盒由抗血清、缓冲液，质控品，磁卡和搅拌子组成。其中，抗血清由磷酸盐缓冲液与鼠抗人D-二聚体单克隆抗体偶联的乳胶颗粒组成，抗血清用于与样本中的抗原产生抗原抗体反应，抗血清由磷酸盐缓冲液与鼠抗人D-二聚体单克隆抗体偶联的乳胶颗粒的质量比为(10-30):1，本实施例中优选抗血清由磷酸盐缓冲液与鼠抗人D-二聚体单克隆抗体偶联的乳胶颗粒的质量比为20:1。

[0026] 磷酸盐缓冲液，由磷酸二氢钠和磷酸氢二钠组成，其中，磷酸二氢钠酸性较强，如果血液中的pH值过高时，多余的碱就会与磷酸二氢钠结合生成磷酸氢二钠，反之，pH值过低的时，多余的酸会与磷酸氢二钠反应产生磷酸二氢钠，从而调节人体血液的pH值。本实施例中，磷酸盐缓冲液的溶度为20mmol/L。

[0027] 鼠抗人D-二聚体单克隆抗体偶联的乳胶颗粒用于与样本发生抗原抗体反应产生凝集，其中，所述鼠抗人D-二聚体单克隆抗体偶联的乳胶颗粒的浓度为1.2g/L。

[0028] 缓冲液由磷酸盐缓冲液与氯化钠组成，其中，磷酸盐缓冲液的浓度与上述抗血清中磷酸盐缓冲液中的浓度相同，均为20mmol/L，磷酸盐缓冲液与氯化钠的质量比为1:(2-3)，其中，优选磷酸盐缓冲液与氯化钠的质量比为1:2.51。

[0029] 氯化钠用于调节溶液的离子强度，避免引起细胞渗透压的改变，本实施例中氯化钠的浓度为15.8g/L。

[0030] 质控品为含D-二聚体的溶液，其中D-二聚体溶液的浓度为3-4mg/L，质控品的靶值

已知,用于仪器测量来鉴定该仪器测量结果是否准确。

[0031] 磁卡,磁卡内已经储存试剂盒标准曲线信息,测试前,通过将磁卡与测试仪器上的磁卡感应区的上方接触,刷卡成功后,磁卡感应区会识别储存于磁卡内的标准曲线信息,不用再测试前再通过反复实验确定标准曲线,节省了大量的检测时间。

[0032] 搅拌子,每个试剂盒内均放有搅拌子,搅拌子用于搅拌待测样本与试剂,使样本与试剂充分混合,增加测试结果的精确度,其中,搅拌子采用不锈钢制作。

[0033] 可以理解的是,采用上述试剂盒检测样本中D-二聚体的含量均通过深圳市锦瑞生物科技有限公司生产的PA50、PA54型特定蛋白分析仪和PA120、PA200型全自动特定蛋白分析仪。

[0034] 本发明试剂盒的工作原理为:将特异性的D-二聚体抗体偶联到乳胶颗粒上,与标本中的D-二聚体发生特异性的结合形成乳胶-抗体-D-二聚体抗原的免疫复合物且免疫复合物的生成量和标本中的D-二聚体浓度正相关。此免疫复合物可被特定蛋白分析仪检测。试剂已预先定标,每批特定的定标曲线参数已存入在磁卡中,每盒试剂盒配一张磁卡。

[0035] 本发明实施例的有益效果为:通过提供一个检测D-二聚体的试剂盒,试剂盒内包含测试样本中D-二聚体中所用的试剂以及标准曲线信息,因此,测试D-二聚体时,不用再现场配置所需试剂以及单独做标准曲线,不仅节省检测时间,降低检测人员的劳动力,而且简化了测试D-二聚体时的操作过程,同时,使用试剂盒检测D-二聚体的测试结果比较精准,误差较小。

[0036] 本发明提供的使用上述试剂盒通过特定蛋白分析仪(PA50、PA54)检测D-二聚体的方法包括以下步骤:

[0037] ①打开仪器主测试界面,选择需要测试项目和样本类型(选择确认后,以后将直接默认为该项目及样本类型);

[0038] ②打开刷卡界面,将相应项目的磁卡与仪器磁卡感应区上方接触,刷卡成功后,界面自动返回测量主界面,同一批试剂,只需刷卡一次;

[0039] ③仪器界面提示“请放入测量杯”;

[0040] ④取出测试杯,在测试杯中加入一粒搅拌子,并准确加入300μl的缓冲液;然后加入6μl的血浆样本;将测试杯放入测量通道,仪器自动搅拌一次;

[0041] ⑤仪器提示“请加入抗血清”,然后用移液器准确加入100μl的抗血清;

[0042] ⑥立即按下相应通道的触发按键,仪器自动搅拌,测试完成后,仪器将显示测量结果并自动打印测试结果;

[0043] ⑦测量完毕后,把反应杯从测试槽取出,仪器提示“请放入测量杯”,进行下一个测试。

[0044] 本发明中采用不同的仪器,测试方法有所不同,采用PA120、PA200型全自动特定蛋白分析仪测试D-二聚体方法步骤如下:

[0045] ①开机进入刷卡界面,将相应项目的磁卡与仪器磁卡感应区上方接触,根据仪器提示来判定刷卡成功,同一批试剂,只需刷卡一次;

[0046] ②进入主测试界面,根据需要测试的项目和样本类型申请测试;

[0047] ③放置好测试样本,试剂放置在试剂盘对应的试剂位,启动测试,然后仪器会自动吸样,并自动完成测量过程。测试完成后,可查看测量结果并能打印测试结果。

[0048] 由上述检测方法可知，开机后，通过将试剂盒内的磁卡接触感应区刷卡，刷卡成功后，测试仪器获取标准曲线信息后，即可测试，省略了现有的测试方法检测时需要现场配置测试所用的试剂并做标准曲线测试，不仅节省测试时间，提高检测效率，也简化了测试步骤，降低工作人员的劳动力。

[0049] 下面通过实验方法评价采用试剂盒测试D-Dimer各性能的测试，评价结果如下：

[0050] 1.阳性参考范围的确定

[0051] (1)样本准备

[0052] ①排除标准：自觉健康，无消化系统疾病(肝硬化、肝炎、脂肪性肝病、胆结石、胆囊炎和慢性腹泻等)，无急慢性感染(急性呼吸道感染、肺炎和肺结核)，无肾脏疾病(慢性肾脏疾病、急性肾损伤等)，无代谢和营养疾病(糖尿病、代谢综合征、血脂异常等)，无风湿性疾病(类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮等)，无甲状腺疾病(甲状腺亢进症、甲状腺功能减退症)，无血液系统疾病(贫血，白血病等)，无肥胖、高血压、烧伤和肌肉创伤；近期未曾献血、输血、大量失血、手术或者服用药物，女性未处于怀孕或者哺乳期的正常人标本。

[0053] ②年龄、性别及样本数：参考区间无性别差异，无年龄段要求。选择20岁-79岁的标本，要求每10岁作为一个年龄段，每个年龄段3-4人，男女均分，共20人。

[0054] ③采取上述人体的血液，剔除脂血、溶血和黄疸等不合格样本。

[0055] (2)操作方法

[0056] 依照上述标准操作程序检测样本，记录检测结果。

[0057] (3)数据采集和处理

[0058] ①原始数据从仪器中截图的方式保存。

[0059] ②检测数据用EXCEL电子表格进行统计，详见表1阳性参考范围验证数据统计表。

[0060] (4)判读标准

[0061] ①在检测的数据中，如果有疑似离群的数据，应将疑似离群值的检测结果和其相邻值的差D和数据全距R相除，若$D/R \geq 1/3$，考虑为离群值。剔除离群值后不满20例需补足。

[0062] ②将20个测得值与需验证的参考范围比较，若落在参考限外的测定值不超过2个，则该参考范围可直接使用。

[0063] 如果3个或3个以上测得值超出参考限，则重新筛选20人进行验证，若不超过2个测定值超出该参考范围的则可以使用，若仍然有3个或3个以上测定值超出参考限，则应重新检查所用分析系统，考虑是否有人群差异，考虑是否需要自己建立参考范围。

[0064] 表1阳性参考范围验证数据统计表

[0065]

样本			测值（mg/L）		
标本编号	年龄	性别	PA54	PA120	PA200
1	24	女	0.15	0.121	0.12
2	28	女	0.13	0.096	0.14
3	27	男	0.18	0.173	0.16
4	31	女	0.22	0.184	0.28
5	39	男	0.16	0.185	0.24
6	35	男	0.23	0.247	0.21
7	37	女	0.19	0.192	0.15
8	42	女	0.37	0.353	0.33
9	48	女	0.25	0.236	0.29
10	41	男	0.19	0.184	0.22
11	55	女	0.14	0.162	0.18
12	53	男	0.31	0.395	0.37
13	59	男	0.23	0.267	0.27
14	54	女	0.26	0.299	0.25
15	67	男	0.11	0.144	0.11
16	62	男	0.27	0.228	0.23
17	65	女	0.18	0.101	0.13
18	78	男	0.15	0.162	0.19
19	74	男	0.24	0.288	0.26
20	77	女	0.32	0.323	0.37

[0066] 由表1可知，按照上述样本准备的步骤，将筛选的样本通过采用上述检测方法测试，得到阳性参考范围为0-0.5mg/L，符合测试标准，因此，采用上述试剂盒测试人体的D-Dimer，其阳性参考范围符合测试标准。

[0067] 2.分析灵敏度的确定

[0068] 以生理盐水为空白样本重复测试10次，分别按公式(1)和公式(2)计算测试结果的平均值($\overline{X}$)和标准差(S)，则检测低限(LLD，Lower Limit of Detection)＝$\overline{X}+2S$应小于分析灵敏度，测试结果参考表2D-Dimer分析灵敏度测试结果。

[0069] $$\overline{X}=\frac{\sum X_i}{n} \qquad (1)$$

[0070] $$S=\sqrt{\frac{\sum X_i^2-\frac{(\sum X_i)^2}{n}}{n-1}} \qquad (2)$$

[0071] 式中：

[0072] x_i—第i次测试浓度值；

[0073] n—测试次数。

[0074] 表2D-Dimer分析灵敏度测试结果

[0075]

D-Dimer 分析灵敏度测试结果 mg/L			
重复次数	生理盐水		
	PA54	PA120	PA200
1	0.05	0.051	0.03
2	0.04	0.014	0.02
3	0.06	0.026	0.02
4	0.03	0.052	0.05
5	0.05	0.033	0.03
6	0.04	0.015	0.06
7	0.09	0.022	0.05
8	0.05	0.016	0.05
9	0.06	0.011	0.01
10	0.04	0.026	0.02
Mean	0.051	0.0266	0.034
SD	0.0166333	0.014728657	0.017126977
LLD	0.0842666	0.056057314	0.068253954
评判标准	<0.1mg/L		
结果	合格	合格	合格

[0076] 由表2可知,采用试剂盒测试D-Dimer的分析灵敏度,测试结果均小于0.1mg/L,符合测试灵敏度的测试标准,因此,采用该试剂盒测试D-Dimer的分析灵敏度满足测试要求。

[0077] 3.线性范围的确定

[0078] 用接近线性区间上限的高浓度(活性)样品和样品稀释液,按表3所示的稀释比例混合成6个稀释浓度(xi)。分别检测试剂盒,每个稀释浓度测试3次,分别求出检测结果的均值(yi)。以稀释浓度(xi)为自变量,以检测结果均值(yi)为因变量求出线性回归方程。按公式(3)计算线性回归的相关系数(r),若测试结果在0-20范围内符合r≥0.990,测试结果参见表4。

[0079] 表3稀释比例示例表

[0080]

序号	0	1	2	3	4	5
高浓度(活性)样品	0份	1份	2份	3份	4份	5份
样品稀释液	5份	4份	3份	2份	1份	0份

[0081] $$r=\frac{\sum[(x_i-\bar{x})(y_i-\bar{y})]}{\sqrt{\sum(x_i-\bar{x})^2\sum(y_i-\bar{y})^2}} \quad (3)$$

[0082] 式中:

[0083] x_i—第i次测试浓度值;

[0084] $\bar{x}$—试剂测试结果平均值;

[0085] y_i—第i次的估算值；

[0086] $\bar{y}$—试剂估算结果的平均值；

[0087] i—1,2,3,……,n。

[0088] 表4D-Dimer线性测试结果mg/L

[0089]

D-Dimer 线性测试结果 mg/L				
理论值	测试 1	测试 2	测试 3	平均值
20	19.85	18.76	18.98	19.19666667
16.12	15.96	16.01	15.89	15.95333333
12.24	12.05	11.98	12.15	12.06
8.36	7.98	8.02	8.11	8.036666667
4.48	4.25	4.22	4.32	4.263333333
0.6	0.48	0.51	0.52	0.503333333
线性回归系数 r	r=0.9993>0.990			
斜率 K	0.9761			
结果	合格			

[0090] 由表4可知,按公式(3)计算线性回归的相关系数(r),测得第i次的估算值以及试剂估算结果的平均值均在0-20范围内且测得线性回归的相关系数r为0.9993大于0.990,因此,采用试剂盒测试D-Dimer,其线性回归系数满足线性范围的规定。

[0091] 4.准确度(相对偏差≤±10%)

[0092] 分别测试可用于评价常规方法的有证参考物质(CRM)或其他公认(IFCC)的参考物质,或由参考方法定值的高、中两个浓度的朗道质控品4次,根据公式(4)计算的相对偏差(B)如果四次测试结果的均值≤±10%,即判为合格,测试结果如表5所示。

[0093] $$B=\frac{M-T}{T}\times 100\% \qquad (4)$$

[0094] 式中：

[0095] M—测试均值；

[0096] T—有证参考物质标示值(靶值),或各浓度人源样品定值。

[0097] 表5D-Dimer准确度质控测试结果

[0098]

D-Dimer 准确度质控测试结果						
质控	机型	测值均值（mg/l）	靶值（mg/l）	相对偏差	判读标准	结果
质控 1	PA54	4.02	4.375	-8.11%	≤±10%	合格
	PA120	3.986		-8.89%	≤±10%	合格
	PA200	3.96		-9.49%	≤±10%	合格
质控 2	PA54	1.72	1.725	-0.29%	≤±10%	合格
	PA120	1.709		-0.93%	≤±10%	合格
	PA200	1.71		-0.87%	≤±10%	合格

[0099] 由表5可知，将表5中的测试均值和靶值分别带入公式4计算，得出相对偏差B均位于±10％以内，因此，该试剂盒的准确性高，符合测试要求。

[0100] 5.批内重复性(CV≤5％)

[0101] 用同一个质控品重复测试10次，分别按公式(5)和公式(6)计算测量值的平均值（$\overline{X}$）和标准差(S)，按公式(7)计算变异系数(CV)，应符合CV≤5％，测试结果参见表6。

[0102] $$\overline{X}=\frac{\sum X_i}{n} \qquad (5)$$

[0103] $$S=\sqrt{\frac{\sum X_i^2-\frac{(\sum X_i)^2}{n}}{n-1}} \qquad (6)$$

[0104] $$CV=\frac{S}{\overline{X}}\times 100\% \qquad (7)$$

[0105] 式中：

[0106] CV—变异系数

[0107] x_i—第i次测试浓度值；

[0108] n—测试次数；

[0109] 表6D-Dimer批内重复性质控测试结果

[0110]

D-Dimer 批内重复性质控测试结果																
质控	机型	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	$\overline{X}$	S	CV	评判标准	结果
	PA54	2.16	2.12	2.08	2.19	2.17	2.19	2.28	2.12	2.26	2.3	2.187	0.073	3.35%	<5%	合格
	PA120	3.526	3.197	3.004	3.189	3.183	3.052	3.187	3.23	3.229	3.136	3.1933	0.138	4.34%	<5%	合格
	PA200	3.25	3.59	3.26	3.35	3.69	3.58	3.36	3.41	3.45	3.52	3.446	0.147	4.27%	<5%	合格

[0111] 由表6可知，采用试剂盒测试D-Dimer批内重复性质控测试实验，实验结果表明，采用三个不同的仪器测试同一个试剂盒内的质控品测试10次后，其测试结果的变异系数均小于5%，同一批试剂盒内测试D-Dimer重复性好。

[0112] 6.批间差(R≤5%)

[0113] 用3个不同批号的试剂盒测试同一浓度的样本，每个批号测试3次，按公式(5)计算每个批号3次重复测定的均值($\overline{X_1}$、$\overline{X_2}$、$\overline{X_3}$)，按公式(8)计算所有次测定结果的均值($\overline{X_T}$)，并按公式(9)求出三个批号试剂测定的相对极差(R)，所得结果应≤5%，测试结果参见表7。

[0114] $$\overline{X}_T = \frac{\overline{X}_1 + \overline{X}_2 + \overline{X}_3}{3} \quad (8)$$

[0115] $$R = (\overline{X}_{max} - \overline{X}_{min})/\overline{X}_T \times 100\% \quad (9)$$

[0116] 式中：

[0117] $\overline{X}_{max}$—$\overline{X_1}$、$\overline{X_2}$、$\overline{X_3}$中的最大值；

[0118] $\overline{X}_{min}$—$\overline{X_1}$、$\overline{X_2}$、$\overline{X_3}$中的最小值；

[0119] $\overline{X_T}$—总均值。

[0120] 表7试剂批间差测试结果

[0121]

试剂批间差数据							
样本浓度	机型	批号 / 次数	20170602	20170615	20170701	$\overline{X_T}$	R
3.96mg/L	PA54	1	3.95	3.99	3.87	3.900	2.31%
		2	3.71	3.86	4.01		
		3	3.88	3.9	3.93		
		平均值	3.847	3.917	3.937		
	PA120	1	3.914	3.695	3.851	3.868	2.43%
		2	3.766	3.972	3.963		
		3	3.829	3.847	3.977		
		平均值	3.836	3.838	3.930		
	PA200	1	3.77	3.86	3.94	3.897	2.91%
		2	3.98	3.99	3.85		
		3	3.81	4.05	3.82		
		平均值	3.853	3.967	3.870		

[0122] 由表7可知，分别采用特定蛋白分析仪和全自动蛋白分析仪通过3个不同批号的试剂盒测试同一浓度的样本，测试结果表明，三个批号试剂测定的相对极差(R)分别为2.31%，2.43%和2.91%，测试结果均小于5%，说明试剂盒批间差相对较小，符合测试要求。

[0123] 7.特异性(Bias≤±10%)

[0124] 本实验方法参照CLSI EP07-A2临床化学检验的干扰评价文件制定，评估待检试剂盒的常规抗干扰能力。

[0125] 取一已知浓度的质控品或者校准品作为样本，将样本分装于7支离心管中，标号为0-6号，将0号样本重复测试5次，按公式(5)求取测定结果均值(TV)作为样本标示值，再分别将约13.5mg/dl、18.4mg/dl游离胆红素加入1-2号样本，分别将440mg/dl、460mg/dl血红蛋白加入3-4号样本，分别将450IU/ml、500IU/ml风湿因子加入5-6号样本中进行测定，重复测定3次，根据公式(5)求取加入干扰物质后的测定结果均值($\bar{x}$)，根据公式(4)计算结果，结果应符合“加入干扰物质”后，测试结果与参考物质或者校准品靶值的相对偏差应符合≤±10％”的要求。

[0126] 表8D-Dimer特异性测试结果

[0127]

D-Dimer 特异性测试结果								
机型	质控品靶值 4.375mg/l						均值	相对偏差
PA54	0 号测值	4.11	4.03	3.96	3.89	4.05	4.008	/
	干扰物	游离胆红素	13.5mg/dl	4.17	3.95	4.03	4.050	1.05%
			18.4mg/dl	4.19	4.07	4.01	4.090	2.05%
		血红蛋白	440mg/dl	4.13	4.08	4.04	4.083	1.88%
			460mg/dl	4.06	4.19	4.11	4.120	2.79%
		风湿因子	450 IU/ml	3.96	4.14	4.08	4.060	1.30%
			500 IU/ml	4.11	4.08	4.15	4.113	2.63%
PA120	0 号测值	4.006	3.921	3.927	3.989	4.015	3.972	/
	干扰物	游离胆红素	13.5mg/dl	3.922	3.983	4.118	4.008	0.91%
			18.4mg/dl	4.041	4.126	4.014	4.060	2.23%
		血红蛋白	440mg/dl	3.907	4.121	4.038	4.022	1.27%
			460mg/dl	3.959	4.095	4.166	4.073	2.56%
		风湿因子	450 IU/ml	3.964	3.988	4.092	4.015	1.08%
			500 IU/ml	3.971	4.055	4.151	4.059	2.20%
PA200	0 号测值	4.01	3.97	3.92	3.94	3.99	3.966	/
	干扰物	游离胆红素	13.5mg/dl	3.95	4.11	4.06	4.040	1.87%
			18.4mg/dl	4.21	3.95	4.04	4.067	2.54%
		血红蛋白	440mg/dl	4.07	3.93	4.12	4.040	1.87%
			460mg/dl	4.05	3.99	4.18	4.073	2.71%
		风湿因子	450 IU/ml	4.00	4.13	3.96	4.030	1.61%
			500 IU/ml	4.11	4.01	4.14	4.087	3.04%

[0128] 由表8可知，取试剂盒内已知浓度的质控品，分别加入不同的干扰因子进行测试，结果表明，得到测试结果与参考物质的相对偏差均位于±10％内，试剂盒的特异性好，符合测试要求。

[0129] 本发明实施例的有益效果：通过提供一个检测D-二聚体的试剂盒，试剂盒内包含测试样本中D-二聚体中所用的试剂，以及标准曲线信息，因此，测试D-二聚体时，不用再现场配置所需试剂以及单独做标准曲线，不仅节省检测时间，降低检测人员的劳动力，而且简化了测试D-二聚体时的操作过程，同时，使用试剂盒检测D-二聚体的测试结果比较精准，误差较小。

[0130] 以上所述仅为本发明的较佳实施例而已，并不用以限制本发明，凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换和改进等，均应包含在本发明的保护范围之内。

专利名称(译)	一种用于检测D-二聚体的试剂盒及其检测方法		
公开(公告)号	CN109187955A	公开(公告)日	2019-01-11
申请号	CN201810865319.9	申请日	2018-08-01
[标]申请(专利权)人(译)	深圳市锦瑞生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	深圳市锦瑞生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	深圳市锦瑞生物科技有限公司		
[标]发明人	朱漩 汪建德		
发明人	朱漩 汪建德		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/536		
CPC分类号	G01N33/54313 G01N33/536		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及化学分析检测技术领域，公开一种用于检测D-二聚体的试剂盒及其检测方法，试剂盒由抗血清、缓冲液，质控品，磁卡和搅拌子组成，其中，抗血清由磷酸盐缓冲液与鼠抗人D-二聚体单克隆抗体偶联的乳胶颗粒组成，所述缓冲液由磷酸盐缓冲液与氯化钠组成，质控品为含D-二聚体的溶液，磷酸盐缓冲液与鼠抗人D-二聚体单克隆抗体偶联的乳胶颗粒的质量比为(10-30)：1，所述磷酸盐缓冲液与氯化钠的质量比为1：(2-3)，所述磁卡用于存储试剂盒的标准曲线信息；所述搅拌子用于搅拌待测样本，采用试剂盒测试D-二聚体时，不用再现场配置所需试剂以及单独做标准曲线，不仅节省检测时间，降低检测人员的劳动力，而且简化了测试D-二聚体时的操作过程。

样本			测值（mg/L）		
标本编号	年龄	性别	PA54	PA120	PA200
1	24	女	0.15	0.121	0.12
2	28	女	0.13	0.096	0.14
3	27	男	0.18	0.173	0.16
4	31	女	0.22	0.184	0.28
5	39	男	0.16	0.185	0.24
6	35	男	0.23	0.247	0.21
7	37	女	0.19	0.192	0.15
8	42	女	0.37	0.353	0.33
9	48	女	0.25	0.236	0.29
10	41	男	0.19	0.184	0.22
11	55	女	0.14	0.162	0.18
12	53	男	0.31	0.395	0.37
13	59	男	0.23	0.267	0.27
14	54	女	0.26	0.299	0.25
15	67	男	0.11	0.144	0.11
16	62	男	0.27	0.228	0.23
17	65	女	0.18	0.101	0.13
18	78	男	0.15	0.162	0.19
19	74	男	0.24	0.288	0.26
20	77	女	0.32	0.323	0.37