



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102236013 A

(43) 申请公布日 2011. 11. 09

(21) 申请号 201010158134. 8

(22) 申请日 2010. 04. 28

(71) 申请人 上海捷瑞医用试剂有限公司

地址 200000 上海市宝山区牡丹江路 1325
号 3D-147

(72) 发明人 吴维杰

(51) Int. Cl.

G01N 33/531 (2006. 01)

G01N 21/76 (2006. 01)

G01N 33/576 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 6 页

(54) 发明名称

化学发光免疫分析仪用浓缩缓冲液及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种化学发光免疫分析仪用浓缩缓冲液及其制备方法。其组分和含量包括：三羟甲基氨基甲烷 15 ~ 17g/L, 盐酸 10 ~ 12ml/L, 氯化钠 60 ~ 62g/L, 表面活性剂 F-6815 ~ 17g/L, 防腐剂 CY-12 ~ 4ml/L, 丙二醇 15 ~ 17ml/L, 吐温-205 ~ 7ml/L; 制备方法如下：将三羟甲基氨基甲烷投放于无离子水中, 搅拌 20 分钟; 然后投放盐酸, 搅拌 20 分钟; 然后投放氯化钠, 搅拌 20 分钟; 将上述溶液加温至 40℃, 同时投放丙二醇及表面活性剂 F-68, 搅拌 20 分钟; 水温恢复至 25℃ 以下时, 投放防腐剂 CY-1 搅拌 20 分钟; 然后投放吐温-20 并搅拌 20 分钟; 用紫外线将该溶液杀毒 20 分钟后无尘无菌车间灌装。本发明浓缩缓冲液配置容易, 成本低廉, 能广泛适用于进口的化学发光免疫分析仪, 具有较大的社会效益和经济效益。

1. 一种化学发光免疫分析仪用浓缩缓冲液,为一种水溶液组合物,其特征在于,其组分和含量包括:

三羟甲基氨基甲烷	15 ~ 17g/L
盐酸	10 ~ 12ml/L
氯化钠	60 ~ 62g/L
表面活性剂 F-68	15 ~ 17g/L
防腐剂 CY-1	2 ~ 4ml/L
丙二醇	15 ~ 17ml/L
吐温 -20	5 ~ 7ml/L。

2. 根据权利要求 1 所述的浓缩缓冲液,其特征在于,所述浓缩缓冲液的 PH 值为 8.0 ~ 8.5,电导率为 120 ~ 130ms/cm,渗透压为 2950 ~ 2980mosm。

3. 根据权利要求 1-2 任一项所述浓缩缓冲液的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:
将三羟甲基氨基甲烷投放于无离子水中,并搅拌 20 分钟;然后投放盐酸,并搅拌 20 分钟;然后投放氯化钠,搅拌 20 分钟;将上述水溶液加温至 40℃,同时投放丙二醇及表面活性剂 F-68,并搅拌 20 分钟;水温恢复至 25℃以下时,投放防腐剂 CY-1 并搅拌 20 分钟;然后投放吐温 -20 并搅拌 20 分钟;即获得该浓缩缓冲液。

4. 根据权利要求 3 所述的方法,其特征在于,包括步骤:用紫外线将上述浓缩缓冲液杀毒 20 分钟。

5. 根据权利要求 4 所述的方法,包括步骤:在上述溶液通往灌装机的管路中,串联的置有 1.0 微米滤芯二只、0.2 微米滤芯一只;所述灌装过程在无尘无菌车间中进行。

化学发光免疫分析仪用浓缩缓冲液及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种浓缩缓冲液及其制备方法,特别是一种用于化学发光免疫分析仪的浓缩缓冲液及其制备方法。

背景技术

[0002] 20 世纪 70 年代,欧美发达国家医学界出现了用化学发光免疫分析方法学分析检测人体疾病,化学发光免疫分析方法结合了化学发光反应与免疫反应,即具有免疫反应的特异性,又兼有发光反应的高敏感性;且化学发光免疫分析方法为非放射标记测定技术,优于放射免疫分析测定方法;化学发光免疫分析方法与酶免疫分析测定方法相比较无吸光度比色必须遵循比尔定律的限制;化学发光免疫分析方法与荧光免疫测定法相比较不受自然荧光的干扰;基于以上优越性 20 世纪 90 年代后各种化学发光免疫分析仪器相继问世。

[0003] 化学发光免疫分析仪可检测多种项目:如心脏标志物;肿瘤标志物;甲状腺功能;代谢物质;性激素;移植药物;治疗性药物;肝炎;逆转性病毒;先天性疾病等。

[0004] 化学发光免疫分析是用化学发光剂(如吖啶酯)直接标记的抗原或抗体与待测标本中相应抗体或抗原、磁颗粒性的抗原或抗体反应,通过磁场把结合状态和游离状态的化学发光剂标记物分离开来,然后在结合状态部分中加入发光促进剂进行发光反应,通过对结合状态发光强度的检测进行定量或定性检测。

[0005] 当抗原和抗体在体外结合时,会出现凝集、沉淀、补体结合、中和反应等四种类型的血清反应,可广泛的应用于研究机体的体液免疫应答,抗原与抗体的特性及疾病的辅助诊断。但影响抗原抗体反应的因素很多,除了受抗原抗体自身的性质、活性及浓度影响外,还受到化学发光免疫分析仪仪器环境中的电解质、酸碱度、温度等的影响。故化学发光免疫分析仪器都配套使用浓缩缓冲液,使抗原抗体的反应在该浓缩缓冲液稀释后的缓冲液中进行。

[0006] 化学发光免疫分析仪的操作步骤:加样、温育、洗涤、比色。其中洗涤是化学发光免疫分析仪操作过程中决定试验成败的一个关键步骤。目的是去除未结合的免疫反应物,终止抗原抗体的继续结合,除去样品与反应无关的成分和游离的结合物以及反应过程中吸附于固相载体上的非特异性干扰物质。否则就会使空白值更高。尤其非特异性干扰物质,会影响检测项目的结果。

[0007] 洗涤的过程就是在浓缩缓冲液中进行的(具体应用时化学发光免疫分析仪会自动将其稀释 10 倍)。

[0008] 浓缩缓冲液不仅为免疫反应提供适宜的酸碱环境及电解质,更重要的是除掉反应过程中未结合免疫反应物,终止抗原抗体继续结合,通过缓冲液内的非离子表面活性剂,特异性与未结合免疫反应物及吸附于固相载体上的非特异性干扰物质发生化学反应,从而除掉这些干扰免疫的杂质,保证化学发光免疫检验能正常进行。

[0009] 目前国内医院使用的化学发光免疫分析仪通常使用进口的浓缩缓冲液,如美国雅培 i-2000 化学发光免疫分析仪原装使用的浓缩缓冲液,但该原装进口的浓缩缓冲液价格

昂贵,增加了使用者的负担,不利于推广使用。

发明内容

[0010] 本发明需要解决的技术问题是公开一种化学发光免疫分析仪用浓缩缓冲液及其制备方法,以克服现有技术存在的上述缺陷,满足医疗领域的需要。

[0011] 为解决上述技术问题,本发明提供了如下的技术方案:

[0012] 本发明的化学发光免疫分析仪用浓缩缓冲液是一种水溶液组合物,其组分和含量包括:

[0013] 三羟甲基氨基甲烷 15 ~ 17g/L

[0014] 盐酸 10 ~ 12ml/L

[0015] 氯化钠 60 ~ 62g/L

[0016] 表面活性剂 F-68 15 ~ 17g/L

[0017] 防腐剂 CY-1 2 ~ 4ml/L

[0018] 丙二醇 15 ~ 17ml/L

[0019] 吐温 -20 5 ~ 7ml/L

[0020] 该水溶液 PH 值为 8.0 ~ 8.5,电导率为 120 ~ 130ms/cm,渗透压为 2950 ~ 2980mosm。

[0021] 所述表面活性剂 F-68 代替了进口浓缩液中的所使用的表面活性剂,表面活性剂 F-68 主要作用是在抗原抗体反应时除去杂质干扰,特别检测肝炎系列时能防止灰区的产生,而且表面活性剂 F-68 来源广泛,价格便宜;

[0022] 所述防腐剂 CY-1 替代了进口浓缩缓冲液中的防腐剂叠代钠,其主要作用避免标本被杂质干扰,在检测肝炎系列时对防止灰区发生也有一定作用,且所述防腐剂 CY-1 价格也远低于防腐剂叠代钠,进一步降低了本发明化学发光免疫分析仪用浓缩缓冲液的制备成本;

[0023] 所述的三羟甲基氨基甲烷和盐酸组成酸碱缓冲液,使该水溶液的 PH 保持相对恒定;

[0024] 所述的氯化钠使该水溶液保持一定的高离子强度;

[0025] 所述的丙二醇为助溶剂并能使该水溶液保持一定高的渗透压;

[0026] 所述的吐温 -20 使该水溶液具有清洗作用。

[0027] 本发明的浓缩缓冲液的制备方法包括如下步骤:

[0028] 按照上述配比,将三羟甲基氨基甲烷投放于无离子水中,并搅拌 20 分钟;然后将盐酸投放于上述溶液,并搅拌 20 分钟;然后将氯化钠投放于上述溶液中,也搅拌 20 分钟;将上述溶液加温至 40℃,同时投放丙二醇及表面活性剂 F-68,并搅拌 20 分钟;水温恢复至 25℃以下时,投放防腐剂 CY-1 并搅拌 20 分钟;然后投放吐温 -20 并搅拌 20 分钟;用紫外线将该溶液杀毒 20 分钟后灌装;在上述溶液通往灌装机的管路中,串联的置有 1.0 微米滤芯二只、0.2 微米滤芯一只,使上述溶液通过上述三只滤芯得以过滤;所述灌装过程在无尘无菌车间中进行。

[0029] 本发明的浓缩缓冲剂,配置容易,成本低廉,适用于美国雅培 i-2000 等进口品牌的化学发光免疫分析仪。进口化学发光免疫分析仪几乎占据国内所有大型三甲医院。浓缩

缓冲液又是该仪器每天大量消耗的必不可少的耗品。一个三甲医院每年需购买浓缩缓冲液 240 套,进口价格约人民币 45 万元左右,全国每年要花费上亿元人民币。而本发明浓缩缓冲液的成本为进口同类产品的十分之一,售价是进口同类产品的六分之一,本发明具有较大的社会效益和经济效益。

具体实施方式

[0030] 实施例 1

[0031] 将 15g 三羟甲基氨基甲烷投放于 1L 无离子水中,并搅拌 20 分钟;然后将 10ml 盐酸投放于上述溶液,并搅拌 20 分钟;然后将 60g 氯化钠投放于上述溶液中,也搅拌 20 分钟;将上述溶液加温至 40℃,同时投放 15ml 丙二醇及 15g 表面活性剂 F-68,并搅拌 20 分钟;水温恢复至 25℃ 以下时,投放 2ml 防腐剂 CY-1 并搅拌 20 分钟;然后投放 5ml 吐温-20 并搅拌 20 分钟;该溶液通过闭型管路循环,在闭型管路中有紫外线灯照射循环 20 分钟后灌装;在上述溶液通往灌装机的管路中,串联置有 1.0 微米滤芯二只、0.2 微米滤芯一只,使上述溶液通过上述三只滤芯得以过滤;所述灌装过程在无尘无菌车间中进行。

[0032] 对比例 1

[0033] 采用按上述配方制备方法制成的浓缩缓冲液,放置 6 个月。在上海曙光医院美国雅培 i-2000 免疫分析仪上与原装试剂进行对比分析,见表 1、表 2、表 3。

[0034] 表 1 本发明浓缩缓冲液与原装试剂的理化指标比较

[0035]

项目	原装试剂	本发明试剂
PH 值	8.5	8.6
电导率 ms/cm	120	122
渗透压	2980	2950

[0036] 表 2 本发明浓缩缓冲液保存 6 个月后测定精密度

[0037]

项目	均数	批内 CV%	批间 CV%	日间 CV%	总 CV%
Total T4	75.6	1.6	2.2	3.0	3.8
CEA	22.1	1.9	2.7	3.5	4.3

[0038] 表 3 本发明浓缩缓冲液与原装试剂对 20 例病人样本测定结果($\bar{x} \pm s$)

[0039]

项目	原装	本发明试剂	P	R
乙肝表面抗原	18.19±2.0	18.22±2.1	> 0.05	0.977
乙肝表面抗体	5.26±0.5	5.30±0.52	> 0.05	0.977

乙肝 e 抗原	0.02±0.005	0.02±0.005	> 0.05	0.977
乙肝 e 抗体	0.93±0.05	0.95±0.05	> 0.05	0.977
乙肝核心抗体	8.94±0.10	8.96±0.11	> 0.05	0.977

[0040] 从表 1 结果可见,本发明浓缩缓冲液放置 6 个月后外观无变化,与原装试剂分别进行对比分析,理化性能仍能保证基本一致。

[0041] 从表 2 结果可见,采用本发明浓缩缓冲液对质控品(连续 7 天)相关数测定,其批内、批间、日间及总的变异数均小于 5%。

[0042] 从表 3 结果可见,分别检测 20 例新鲜标本中,肝系列项目,本发明浓缩缓冲液与原装试剂相比结果差异均无统计学意义($P > 0.05$)且呈高度正相关 R 均大于 0.977。

[0043] 对比例 2

[0044] 采用按上述配方制备方法制成的浓缩缓冲液,放置 6 个月。在湖南省肿瘤医院美国雅培 i-2000 免疫分析仪上与原装试剂进行对比分析,见表 4。

[0045] 表 4 本发明浓缩缓冲液与原装浓缩缓冲液对 60 例病人样本检测结果($\bar{x} \pm s$)

[0046]

项目	原装	本发明试剂	P	R
AFP	24.3±2.5	24.3±2.4	$p > 0.05$	0.977
CEA	18.6±2.7	19.0±3.0	$p > 0.05$	0.945
乙肝表面抗原	0.02±0.002	0.02±0.002	$p > 0.05$	0.969
乙肝表面抗体	0.00	0.00	$p > 0.05$	0.957
乙肝 e 抗原	0.32±0.03	0.30±0.03	$p > 0.05$	0.969
乙肝 e 抗体	1.70±0.15	1.72±0.16	$p > 0.05$	0.955
乙肝核心抗体	0.28±0.03	0.30±0.03	$p > 0.05$	0.950
TSH	2.47±0.25	2.45±0.24	$p > 0.05$	0.948
TT3	0.06±0.05	0.58±0.04	$p > 0.05$	0.957
TT4	6.02±0.05	6.00±0.48	$p > 0.05$	0.977

[0047] 从表 4 的结果可见,检测肿瘤标志物 20 例,本发明浓缩缓冲液与原装试剂相比结果差异均无统计学意义($P > 0.05$)且呈高度正相关 R 均大于 0.945;检测肝炎 20 例,本发明浓缩缓冲液与原装试剂相比结果差异均无统计学意义($P > 0.05$)且呈高度正相关 R 均大于 0.950;检测甲状腺功能 20 例,本发明浓缩缓冲液与原装试剂相比结果差异均无统计学意义($P > 0.05$)且呈高度正相关 R 均大于 0.948。

[0048] 对比例 3

[0049] 采用按上述配方制备方法制成的浓缩缓冲液,放置 6 个月。在衡阳南华大学附属第二医院美国雅培 i-2000 免疫分析仪上与原装试剂进行对比分析,见表 5、表 6。

[0050] 表 5 本发明浓缩缓冲液与原装试剂的理化指标比较

[0051]

项目	原装试剂	本发明试剂
PH 值	8.6	8.5
电导率 ms/cm	125	120
渗透压 mosm	2960	2970

[0052] 表 6 保存 6 个月捷瑞试剂与原装试剂对 20 例病人样本测定结果($\bar{x} \pm s$)

[0053]

项目	原装	本发明试剂	P	R
乙肝表面抗原	25 \pm 2.5	24 \pm 2.5	> 0.05	0.976
乙肝表面抗体	7.3 \pm 0.7	7.5 \pm 0.68	> 0.05	0.980
乙肝 e 抗原	0.03 \pm 0.005	0.03 \pm 0.005	> 0.05	0.982
乙肝 e 抗体	0.10 \pm 0.05	0.10 \pm 0.05	> 0.05	0.987
乙肝核心抗体	12 \pm 0.12	12.5 \pm 0.13	> 0.05	0.980
AFP	3.6 \pm 0.35	3.5 \pm 0.32	> 0.05	0.984
CEA	2.4 \pm 0.22	2.3 \pm 0.21	> 0.05	0.985

[0054] 从表 5 结果可见,本发明浓缩缓冲液放置 6 个月后外观无变化,与原装试剂分别进行对比分析,理化性能仍能保证基本一致。

[0055] 从表 6 结果可见,分别检测 20 例新鲜标本中,肝系列项目,本发明浓缩缓冲液与原装试剂相比结果差异均无统计学意义 ($P > 0.05$) 且呈高度正相关 R 均大于 0.976;分别检测 20 例新鲜标本中,肿瘤标志物项目,本发明浓缩缓冲液与原装试剂相比结果差异均无统计学意义 ($P > 0.05$) 且呈高度正相关 R 均大于 0.984。

[0056] 上述各表中 CV 代表:变异系数;TSH 代表:促甲状腺素;TT3 代表:三碘甲状腺原氨酸;TT4 代表:四碘甲状腺原氨酸;AFP 代表:甲胎蛋白,诊断原发性肝癌;CEA 代表:癌胚抗原,诊断直肠癌等;Total T4 代表:T4 总量。

[0057] 从上述各项实验结果表明。本发明浓缩缓冲液与进口试剂检测结果无显著差异,可以替代原装试剂。

[0058] 以上仅表达了本发明的实施方式,其描述较为具体和详细,但不能因此而理解为对发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发

明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。因此,发明专利的保护范围应以所附权利要求为准。

专利名称(译)	化学发光免疫分析仪用浓缩缓冲液及其制备方法		
公开(公告)号	CN102236013A	公开(公告)日	2011-11-09
申请号	CN201010158134.8	申请日	2010-04-28
[标]发明人	吴维杰		
发明人	吴维杰		
IPC分类号	G01N33/531 G01N21/76 G01N33/576		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种化学发光免疫分析仪用浓缩缓冲液及其制备方法。其组分和含量包括：三羟甲基氨基甲烷15~17g/L，盐酸10~12ml/L，氯化钠60~62g/L，表面活性剂F-6815~17g/L，防腐剂CY-12~4ml/L，丙二醇15~17ml/L，吐温-205~7ml/L；制备方法如下：将三羟甲基氨基甲烷投放于无离子水中，搅拌20分钟；然后投放盐酸，搅拌20分钟；然后投放氯化钠，搅拌20分钟；将上述溶液加温至40℃，同时投放丙二醇及表面活性剂F-68，搅拌20分钟；水温恢复至25℃以下时，投放防腐剂CY-12搅拌20分钟；然后投放吐温-20并搅拌20分钟；用紫外线将该溶液杀毒20分钟后无尘无菌车间灌装。本发明浓缩缓冲液配置容易，成本低廉，能广泛适用于进口的化学发光免疫分析仪，具有较大的社会效益和经济效益。